

**PERMUTANTES CIRCULARES, COMPOSICIONES QUE LOS COMPRENDEN Y
MÉTODOS DE USO DE LOS MISMOS**

**DECLARACIÓN RESPECTO DE PRESENTACIÓN ELECTRÓNICA DE UN
LISTADO DE SECUENCIAS**

Un listado de secuencias en formato XML, titulado 1499-132WO_ST26.xml, de 3.956.249 bytes de tamaño, generado el 3 de octubre de 2024 y presentado junto con el presente documento, se incorpora por la presente como referencia en su totalidad para sus divulgaciones.

CAMPO

Esta invención se refiere a permutantes circulares junto con composiciones y sistemas que los comprenden, y métodos de uso de los mismos, tales como métodos de uso de un permutante circular para modificar o editar un ácido nucleico diana.

ANTECEDENTES

Cas12a y los editores de bases que incluyen un dominio Cas12a tienen una ventana de edición limitada. Nuevas enzimas pueden ser ventajosas.

SÍNTESIS DE LA INVENCION

Un primer aspecto de la presente invención está dirigido a un polipéptido que comprende un permutante circular de un Cas12a, donde el permutante circular se une a un ácido nucleico. En algunas formas de realización, el ácido nucleico comprende un ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, el permutante circular tiene actividad de nucleasa. En algunas formas de realización, el polipéptido comprende un polipéptido de interés, opcionalmente donde el polipéptido de interés está fusionado al extremo N- o C-terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, el polipéptido de interés es una desaminasa y/o transcriptasa inversa que está opcionalmente fusionada al extremo N- o C-terminal del permutante circular.

Un aspecto adicional de la presente invención está dirigido a un polipéptido que comprende un permutante circular de una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a, donde el permutante circular se une a un ácido nucleico. En algunas formas de realización, el ácido nucleico comprende un ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, el permutante circular tiene actividad de nucleasa. En algunas formas de

realización, el polipéptido comprende un polipéptido de interés, opcionalmente, donde el polipéptido de interés está fusionado al extremo N– o C–terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, el polipéptido de interés es una desaminasa y/o transcriptasa inversa que está opcionalmente fusionada al extremo N– o C–terminal del permutante circular.

Otro aspecto de la presente invención está dirigido a un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 234–245, 299–310, 390–399, 537–560, 702–704, 735–740, y 757–760**. En algunas formas de realización, el polipéptido se une a un ácido nucleico y/o tiene actividad de nucleasa. En algunas formas de realización, el polipéptido comprende un polipéptido de interés, opcionalmente donde el polipéptido de interés está fusionado al extremo N– o C–terminal del polipéptido que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 234–245, 299–310, 390–399, 537–560, 702–704, 735–740, y 757–760**. En algunas formas de realización, el polipéptido de interés es una desaminasa y/o transcriptasa inversa que está opcionalmente fusionada al extremo N– o C–terminal del polipéptido que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 234–245, 299–310, 390–399, 537–560, 702–704, 735–740, y 757–760**. En algunas formas de realización, una proteína de fusión de la presente invención comprende una desaminasa y/o transcriptasa inversa que está opcionalmente fusionada al extremo N– o C–terminal de un permutante circular de una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a. En algunas formas de realización, una proteína de fusión de la presente invención comprende una secuencia que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 351–362, 450–461, 486–497, y 609–639**.

Un aspecto adicional de la presente invención está dirigido a un polipéptido que comprende una primera secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una porción de una de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861**, donde la porción de una de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861** incluye el extremo N–terminal de aquella de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861** y menos que la secuencia de aminoácidos entera de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298,**

400–401, 741, 761, y 850–861. En algunas formas de realización, el extremo N-terminal de aquella de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861** está en el residuo de aminoácido 70 del polipéptido o después del residuo. En algunas formas de realización, el polipéptido se une a un ácido nucleico y/o tiene actividad de nucleasa. En algunas formas de realización, el polipéptido que comprende la primera secuencia de aminoácidos además comprende un polipéptido de interés, opcionalmente donde el polipéptido de interés está fusionado al extremo N- o C-terminal del polipéptido que comprende la primera secuencia de aminoácidos. En algunas formas de realización, el polipéptido de interés es una desaminasa y/o transcriptasa inversa que está opcionalmente fusionada al extremo N- o C-terminal del polipéptido que comprende la primera secuencia de aminoácidos.

Un aspecto adicional de la presente invención está dirigido a un complejo que comprende un permutante circular de la presente invención y un ácido nucleico guía. En algunas formas de realización, el complejo comprende una desaminasa y/o a transcriptasa inversa. En algunas formas de realización, el permutante circular está fusionado a un polipéptido de interés, opcionalmente donde el polipéptido de interés está fusionado al extremo N- o C-terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, el polipéptido de interés es una desaminasa y/o transcriptasa inversa que está opcionalmente fusionada al extremo N- o C-terminal del permutante circular.

Otro aspecto de la presente invención está dirigido a un método para modificar un ácido nucleico diana, donde el método comprende poner en contacto el ácido nucleico diana con un permutante circular de la presente invención y un ácido nucleico guía, a fin de modificar así el ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, el método además comprende poner en contacto el ácido nucleico diana con una desaminasa y/o a transcriptasa inversa. En algunas formas de realización, el permutante circular está fusionado a un polipéptido de interés, opcionalmente donde el polipéptido de interés está fusionado al extremo N- o C-terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, el polipéptido de interés es una desaminasa y/o transcriptasa inversa que está opcionalmente fusionada al extremo N- o C-terminal del permutante circular.

Un aspecto adicional de la presente invención está dirigido a una molécula de ácido nucleico que codifica un permutante circular de la presente invención. En algunas formas de realización, la molécula de ácido nucleico tiene por lo menos alrededor de 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 247–258, 286–297, 327–338, 364–375, 402–411, 462–473, 503–514, 561–584, 640–670, 706–708, 742–747, 763–766, 784, y 787.** En algunas formas de

realización, la molécula de ácido nucleico codifica un polipéptido que tiene por lo menos alrededor de 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 234–245, 299–310, 351–362, 390–399, 450–461, 486–497, 537–560, 609–639, 702–704, 735–740, y 757–760.**

Otro aspecto de la presente invención está dirigido a Un casete de expresión optimizado por codones para la expresión en un organismo, donde el casete de expresión comprende un polinucleótido que codifica una secuencia de promotor, y un polinucleótido que codifica un permutante circular de la presente invención, que puede estar optimizado por codones para la expresión en el organismo. En algunas formas de realización, el polinucleótido que codifica el permutante circular tiene por lo menos alrededor de 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 247–258, 286–297, 327–338, 364–375, 402–411, 462–473, 503–514, 561–584, 640–670, 706–708, 742–747, 763–766, 784, y 787.** En algunas formas de realización, el permutante circular tiene por lo menos alrededor de 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 234–245, 299–310, 351–362, 390–399, 450–461, 486–497, 537–560, 609–639, 702–704, 735–740, y 757–760,** y puede estar optimizado por codones para la expresión en el organismo.

Un aspecto adicional de la presente invención está dirigido a un método para modificar un ácido nucleico diana en una célula, donde el método comprende introducir un casete de expresión y/o vector de la presente invención en la célula, a fin de modificar así el ácido nucleico diana en la célula.

Un aspecto adicional de la presente invención está dirigido a un método para producir un polipéptido de la presente invención, donde el método comprende cultivar una célula o grupo de células que han sido transformadas con un ácido nucleico que codifica el polipéptido; y aislar el polipéptido, a fin de producir así el polipéptido.

Se observa que los aspectos de la invención descritos con respecto a una forma de realización pueden incorporarse en una forma de realización diferente aunque no se describan específicamente en relación con ella. Es decir, todas las formas de realización y/o características de cualquier forma de realización pueden combinarse de cualquier manera y/o combinación. El solicitante se reserva el derecho de cambiar cualquier reivindicación presentada originalmente y/o presentar cualquier nueva reivindicación en consecuencia, incluido el derecho de poder modificar cualquier reivindicación presentada originalmente, a fin de depender de, y/o incorporar, cualquier característica de cualquier otra reivindicación o reivindicaciones, aunque no se haya reivindicado originalmente de esa manera. Estos y otros

objetos y/o aspectos de la presente invención se explican en detalle en la memoria descriptiva que se establece a continuación. Las personas con conocimientos ordinarios en la técnica apreciarán otras características, ventajas y detalles de la presente invención a partir de la lectura de las figuras y la descripción detallada de las formas de realización preferidas que siguen, donde dicha descripción es meramente ilustrativa de la presente invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1A es una ilustración esquemática de los dominios de una Cas12a en la dirección del extremo N– al C–terminal.

La FIG. 1B es una ilustración esquemática de los dominios de permutantes circulares ejemplares de algunas formas de realización de la presente invención en la dirección del extremo N– al C–terminal.

La FIG. 2 es un gráfico de los porcentajes de INDEL para permutantes circulares de la presente invención en tres ácidos nucleicos diana diferentes y para el control (LbCas12a; pWISE 121) en los tres ácidos nucleicos diana diferentes. Las barras de error representan la desviación típica en dos réplicas biológicas y dos réplicas técnicas.

La FIG. 3 muestra gráficos del porcentaje de lecturas de secuenciación de próxima generación (NGS, por sus siglas en inglés) de sostén, frente a longitudes de delección para el control LbCas12a (pWISE121) y cada uno de los permutantes circulares (pWISE8345–pWISE8356) para tres sitios objetivo/diana diferentes (PWsp143, PWsp449 y PWsp453) en células HEK293T. Se contó el número de lecturas de sostén para cada longitud de delección (1–68 nt) para cada muestra en cada sitio diana; los SNP y las inserciones se excluyeron de los datos.

La FIG. 4 muestra gráficos de la estimación de la densidad del núcleo frente a la posición en los loci objetivo para el control (pWISE121) y cada uno de los permutantes circulares (pWISE8345–pWISE8356) en tres sitios objetivo diferentes (PWsp143, PWsp449 y PWsp453) en células HEK293T. La estimación de la densidad del núcleo se utiliza para ajustar una curva suave a la distribución observada de los sitios de inicio de la delección. La barra negra representa la secuencia espaciadora, y la línea de puntos vertical representa el lugar donde se espera que el control o el permutante circular corten la hebra no objetivo/diana. Si bien la densidad no es una medida directa de la eficiencia de edición, las dos están relacionadas. El área bajo la curva para cada figura suma 1.

La FIG. 5 es un gráfico de porcentajes de indel para el control LbCas12a (pWISE121) y control un editor REDRAW (RE2; pWISE6099) en tres ácidos nucleicos diana diferentes

(PWsp143, PWsp449 y PWsp453). Las barras de error representan la desviación típica en tres réplicas biológicas y dos réplicas técnicas.

La FIG. 6A es un gráfico que muestra los porcentajes de edición precisos para proteínas de fusión (pWISE9459–9471) de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención en el ácido nucleico diana RNF2 y para el control LbCas12a (pWISE121) y el editor REDRAW de control (RE2; pWISE6099) en el ácido nucleico diana RNF2. Las barras de error representan la desviación típica en tres réplicas biológicas y dos réplicas técnicas.

La FIG. 6B es un gráfico que muestra los porcentajes de indel para las proteínas de fusión (pWISE9459–9471) de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención en el ácido nucleico diana RNF2 y para el control LbCas12a (pWISE121) y el editor REDRAW de control (RE2; pWISE6099) en el ácido nucleico diana RNF2. Las barras de error representan la desviación típica en tres réplicas biológicas y dos réplicas técnicas.

La FIG. 7A es un gráfico que muestra los porcentajes de edición precisos para las proteínas de fusión (pWISE9459–9471) de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención en el ácido nucleico diana FANCF y para el control LbCas12a (pWISE121) y el editor REDRAW de control (RE2; pWISE6099) en el ácido nucleico diana FANCF. Las barras de error representan la desviación típica en tres réplicas biológicas y dos réplicas técnicas.

La FIG. 7B es un gráfico que muestra los porcentajes de indel para las proteínas de fusión (pWISE9459–9471) de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención en el ácido nucleico diana FANCF y para el control LbCas12a (pWISE121) y el editor REDRAW de control (RE2; pWISE6099) en el ácido nucleico diana FANCF. Las barras de error representan la desviación típica en tres réplicas biológicas y dos réplicas técnicas.

La FIG. 8A es un gráfico que muestra los porcentajes de edición precisos para las proteínas de fusión (pWISE9459–9471) de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención en el ácido nucleico diana DNMT1 y para el control LbCas12a (pWISE121) y el editor REDRAW de control (RE2; pWISE6099) en el ácido nucleico diana DNMT1. Las barras de error representan la desviación típica en tres réplicas biológicas y dos réplicas técnicas.

La FIG. 8B es un gráfico que muestra los porcentajes de indel para las proteínas de fusión (pWISE9459–9471) de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención en el ácido nucleico diana DNMT1 y para el control LbCas12a (pWISE121) y el editor REDRAW de control (RE2; pWISE6099) en el ácido nucleico diana DNMT1. Las barras de error representan la desviación típica en tres réplicas biológicas y dos réplicas técnicas.

La FIG. 9A es una imagen animada en 3D que muestra una estructura de proteína predicha de un permutante circular (CP02) de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención; las esferas representan los nuevos extremos N- y C-terminales de la proteína permutante circular.

La FIG. 9B es una imagen animada en 3D que muestra una estructura de proteína predicha de un permutante circular (CP12) de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención; las esferas representan los nuevos extremos N- y C-terminales de la proteína permutante circular.

Las FIGS. 10A–10C muestran gráficos de los porcentajes de edición precisos y la relación de porcentajes de indel para proteínas de fusión (pWISE9459–9471) de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención en tres ácidos nucleicos diana diferentes (RNF2, FIG. 10A; FANCF–002, FIG. 10B; y DNMT1–001, FIG. 10C) y para el control LbCas12a (pWISE121) y el editor REDRAW de control (RE2; pWISE6099) en los mismos tres ácidos nucleicos diana diferentes. Las barras de error representan la desviación típica en tres réplicas biológicas y dos réplicas técnicas.

La FIG. 11 es un gráfico que muestra los porcentajes de INDEL para LbCas12a (pWISE121) en cada uno de los genes diana FANCF (PWsp132 y PWsp449), RUNX1 (PWsp135) y AAVS1 (PWsp389) en células HEK293T. Las barras de error representan la desviación típica en una única réplica biológica y dos réplicas técnicas.

La FIG. 12 es un gráfico que muestra los porcentajes de INDEL para los permutantes circulares EnAsCas12a (pWISE9723–9734) de la presente invención en los ácidos nucleicos diana RNF2 (PWsp1956 y PWsp1959) y FANCF (PWsp1960) y para el control EnAsCas12a (pWISE4494) en los ácidos nucleicos diana RNF2 (PWsp1956 y PWsp1959) y FANCF (PWsp1960) en células HEK293T. Las barras de error representan la desviación típica en tres réplicas biológicas y dos réplicas técnicas.

La FIG. 13 es un gráfico que muestra los porcentajes de indel para permutantes circulares (pWISE9517, pWISE9519, pWISE9521, pWISE9523, pWISE9525, y pWISE9527) de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención en el ácido nucleico diana AHK4 y para el control LbCas12a (pWISE3380) en el ácido nucleico diana AHK4 en soja. Estos permutantes circulares y el control LbCas12a se optimizaron para la expresión en soja. Cada punto representa la suma del porcentaje de INDEL para una planta de soja individual, la línea más gruesa es el porcentaje de INDEL promedio en todas las plantas para cada permutante circular evaluado.

Las FIGS. 14–19 son gráficos que muestran los porcentajes de INDEL para LbCas12a (pWISE121) y permutantes circulares de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención en cada uno de los genes diana FANCF (PWsp449), DNMT1 (PWsp143) y RNF2 (PWsp453) en células HEK293T. Los datos son el promedio de dos réplicas técnicas.

La FIG. 20 es un gráfico que muestra la suma de los porcentajes de INDEL para permutantes circulares que incluyen una mutación de arginina (pWISE9516, pWISE9518, pWISE9520, pWISE9522, pWISE9524 y pWISE9526) de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención en el ácido nucleico diana AHK4 y para el control LbCas12a D156R (pWISE9528) en el ácido nucleico diana AHK4 en soja. Cada punto representa la suma del porcentaje de INDEL para una planta de soja individual, la línea más gruesa es el porcentaje de INDEL promedio en todas las plantas para cada proteína evaluada.

La FIG. 21 es un gráfico que muestra la suma de los porcentajes de INDEL para permutantes circulares que incluyen una mutación de arginina (pWISE9516, pWISE9518, pWISE9520, pWISE9522, pWISE9524 y pWISE9526) en comparación con permutantes circulares sin la mutación de arginina (pWISE9517 (CP02), pWISE9519 (CP04), pWISE9521 (CP06), pWISE9523 (CP08), pWISE9525 (CP10) y pWISE9527 (CP12)) de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención en el ácido nucleico diana AHK4 y para el control LbCas12a (pWISE3380) y el control LbCas12a D156R (pWISE9528) en el ácido nucleico diana AHK4 en soja. Cada punto representa la suma del porcentaje de INDEL para una planta de soja individual, la línea más gruesa es el porcentaje de INDEL promedio en todas las plantas para cada proteína probada.

La FIG. 22 es un gráfico que muestra la suma de los porcentajes de INDEL para permutantes circulares (pWISE10428, pWISE10429, pWISE10430, pWISE10431 y pWISE10432) de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención en el ácido nucleico diana AHK4 y para un LbCas12a de control (pWISE3380) y una enzima diseñada genéticamente de control (pWISE6345) en el ácido nucleico diana AHK4 en soja. Cada punto representa la suma del porcentaje de INDEL para una planta de soja individual, la línea más gruesa es el porcentaje de INDEL promedio en todas las plantas para cada proteína probada.

La FIG. 23 es un gráfico que muestra los porcentajes de INDEL para permutantes circulares enzimáticamente muertos fusionados a una citosina desaminasa o permutantes circulares que comprenden una nickasa catalítica fusionada a una citosina

desaminasa en el gen diana FANCF (PWsp132) en células HEK293T. Las barras de error representan la desviación típica a lo largo de dos réplicas técnicas.

La FIG. 24 es un gráfico que muestra los porcentajes de INDEL para permutantes circulares que incluyen dos mutaciones de arginina (pWISE10850, pWISE10851 y pWISE10852) en comparación con un LbCas12a de control (pWISE121) y un Cas12a de control con dos mutaciones de arginina (pWISE3559) de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención en los sitios PAM indicados en los genes diana AAVS1, DNMT1, EXM1, FANCF, HEK2, HEK3 y RNF2 en células HEK293T. Los datos son el promedio de tres réplicas biológicas.

La FIG. 25 es un gráfico que muestra el aumento en veces de los porcentajes de INDEL sobre un LbCas12a de control (pWISE121) para permutantes circulares que incluyen dos mutaciones de arginina (pWISE10850, pWISE10851 y pWISE10852) y un Cas12a de control con dos mutaciones de arginina (pWISE3559) de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención en los sitios PAM indicados en los genes diana AAVS1, DNMT1, EXM1, FANCF, HEK2, HEK3 y RNF2 en células HEK293T. Los datos son el promedio de tres réplicas biológicas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención se describirá ahora a continuación con referencia a los dibujos y ejemplos adjuntos, en los que se muestran formas de realización de la invención. Esta descripción no pretende ser un catálogo detallado de todas las diferentes formas en que se puede implementar la invención, ni de todas las características que se pueden añadir a la presente invención. Por ejemplo, las características ilustradas con respecto a una forma de realización pueden incorporarse en otras formas de realización, y las características ilustradas con respecto a una forma de realización particular pueden eliminarse de esa forma de realización. Por lo tanto, la invención contempla que en algunas formas de realización de la invención, cualquier característica o combinación de características establecidas en el presente documento puede excluirse u omitirse. Además, numerosas variaciones y adiciones a las diversas formas de realización sugeridas en el presente documento serán evidentes para los expertos en la técnica a la luz de la presente divulgación, que no se apartan de la presente invención. Por lo tanto, las siguientes descripciones tienen como objetivo ilustrar algunas formas de realización particulares de la invención, y no especificar exhaustivamente todas las permutaciones, combinaciones y variaciones de la misma.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente una persona

con conocimientos ordinarios en la técnica a la que pertenece esta invención. La terminología utilizada en la descripción de la invención en este documento tiene como único fin describir formas de realización particulares y no pretende limitar la invención.

Todas las publicaciones, solicitudes de patentes, patentes y otras referencias citadas en este documento se incorporan como referencia en su totalidad para las enseñanzas pertinentes a la oración y/o el párrafo en el que se presenta la referencia.

A menos que el contexto indique lo contrario, se pretende específicamente que las diversas características de la invención descrita en este documento se puedan utilizar en cualquier combinación. Además, la presente invención también contempla que en algunas formas de realización de la invención, cualquier característica o combinación de características establecidas en este documento se pueda excluir u omitir. A modo de ejemplo, si la memoria descriptiva establece que una composición comprende los componentes A, B y C, se pretende específicamente que cualquiera de A, B o C, o una combinación de los mismos, se pueda omitir y rechazar de forma individual o en cualquier combinación.

Tal como se utilizan en la descripción de la invención y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el/la" pretenden incluir también las formas plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

También como se usa en este documento, "y/o" se refiere y abarca todas y cada una de las combinaciones posibles de uno o más de los elementos enumerados asociados, así como la falta de combinaciones cuando se interpreta en la alternativa ("o").

El término "alrededor de", como se usa aquí cuando se refiere a un valor medible como una cantidad o concentración y similares, pretende abarcar variaciones de $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 1\%$, $\pm 0,5\%$ o incluso $\pm 0,1\%$ del valor especificado, así como el valor especificado. Por ejemplo, "alrededor de X", donde X es el valor medible, incluye X, así como variaciones de $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 1\%$, $\pm 0,5\%$ o incluso $\pm 0,1\%$ de X. Un rango proporcionado aquí para un valor medible puede incluir cualquier otro rango y/o valor individual en el mismo.

Como se usa en este documento, frases como "entre X e Y" y "entre alrededor de X e Y" deben interpretarse para incluir X e Y. Tal como se usa en este documento, frases como "entre alrededor de X e Y" significan "entre alrededor de X y alrededor de Y", y frases tales como "desde alrededor de X hasta Y" significan "desde alrededor de X hasta alrededor de Y".

La enumeración de los rangos de valores en este documento tiene la intención meramente de servir como un método abreviado para referirse individualmente a cada valor separado que se encuentra dentro del rango, a menos que se indique lo contrario en este documento, y cada valor separado se incorpora a la memoria descriptiva como si se mencionara

individualmente en este documento. Por ejemplo, si se divulga el rango de 10 a 15, entonces también se divulgan 11, 12, 13 y 14.

Los términos "comprenden", "comprende" y "que comprende/n" tal como se usan en este documento, especifican la presencia de las características, los números enteros, pasos, operaciones, elementos y/o componentes establecidos, pero no excluyen la presencia o adición de una o más otras características, números enteros, pasos, operaciones, elementos, componentes y/o grupos de los mismos.

Como se usa en este documento, la frase de transición "que consiste esencialmente en" significa que el alcance de una reivindicación debe interpretarse para abarcar los materiales o pasos especificados enumerados en la reivindicación y aquellos que no afectan materialmente las características básicas y novedosas de la invención reivindicada. Por lo tanto, el término "que consiste esencialmente en" cuando se usa en una reivindicación de esta invención no pretende ser interpretado como equivalente a "que comprende".

Tal como se utilizan en este documento, los términos "aumentar", "elevar", "elevación/mayor", "mejorar" y "mejora" (y variaciones gramaticales de los mismos) describen una elevación de por lo menos alrededor de 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 100 %, 150 %, 200 %, 300 %, 400 %, 500 % o más, en comparación con otra propiedad o cantidad medible (p. ej., un valor de control).

Tal como se utilizan en este documento, los términos "reducir," "reducido/menor," "reducción", "disminuir", "disminución" y "disminuido" (y sus versiones gramaticales), describen, por ejemplo, una disminución de por lo menos alrededor de 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % en comparación con otra propiedad o cantidad medible (p. ej., un valor de control). En algunas formas de realización, la reducción puede producir nula o esencialmente nula (es decir, una cantidad no significativa, por ejemplo, inferior a alrededor de 10 % o incluso 5 %) cantidad o actividad detectable.

Una "secuencia de nucleótidos heteróloga" o una "secuencia de nucleótidos recombinante" es una secuencia de nucleótidos que no está asociada de forma natural con una célula huésped en la que se introduce, incluidas copias múltiples no naturales de una secuencia de nucleótidos que se produce de forma natural.

Un ácido nucleico, una secuencia de nucleótidos, un polipéptido o una secuencia de aminoácidos "nativo" o "de tipo salvaje" se refiere a un ácido nucleico, secuencia de nucleótidos, polipéptido o secuencia de aminoácidos que se produce de forma natural o

endógeno. Así, por ejemplo, un "ácido nucleico nativo" es un ácido nucleico que se produce de forma natural en un organismo de referencia o es endógeno a este. Una secuencia de ácido nucleico "homóloga" es una secuencia de nucleótidos asociada de forma natural con una célula huésped en la que se introduce.

Como se usan en el presente documento, los términos "ácido nucleico", "molécula de ácido nucleico", "secuencia de nucleótidos" y "polinucleótido" se refieren a ARN o ADN que es lineal o ramificado, monocatenario o bicatenario, o un híbrido de los mismos. El término también abarca híbridos de ARN/ADN. Cuando el ARNs se produce sintéticamente, las bases menos comunes, tales como la inosina, la 5-metilcitosina, la 6-metiladenina, la hipoxantina y otras también se pueden usar para el emparejamiento antisentido, de ARNs y ribozima. Por ejemplo, se ha demostrado que los polinucleótidos que contienen análogos de propino C-5 de uridina y citidina se unen al ARN con alta afinidad y son potentes inhibidores antisentido de la expresión génica. También se pueden realizar otras modificaciones, tales como la modificación del espinazo de fosfodiéster o el 2'-hidroxi en el grupo azúcar ribosa del ARN.

Como se usa en el presente documento, el término "secuencia de nucleótidos" se refiere a un heteropolímero de nucleótidos o la secuencia de estos nucleótidos desde el extremo 5' al 3' de una molécula de ácido nucleico, e incluye moléculas de ADN o ARN, incluido ADNc, un fragmento o una porción de ADN, ADN genómico, ADN sintético (p. ej., sintetizado químicamente), ADN plásmido, ARNm y ARN antisentido, cualquiera de los cuales puede ser monocatenario o bicatenario. Los términos "secuencia de nucleótidos", "ácido nucleico", "molécula de ácido nucleico", "construcción de ácido nucleico", "ácido nucleico recombinante", "oligonucleótido" y "polinucleótido" también se usan indistintamente aquí para referirse a un heteropolímero de nucleótidos. Las moléculas de ácido nucleico y/o las secuencias de nucleótidos que se proporcionan en el presente documento se presentan en la dirección 5' a 3', de izquierda a derecha y se representan utilizando el código estándar para representar los caracteres de nucleótidos tal como se establece en las regulaciones de secuencias de EE. UU. del Título 37 del CFR §§1.821 – 1.825 y la Norma ST.25 de la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (OMPI). Una "región 5'" tal como se usa aquí puede significar la región de un polinucleótido que está más cerca del extremo 5' del polinucleótido. Así, por ejemplo, un elemento en la región 5' de un polinucleótido puede ubicarse en cualquier lugar desde el primer nucleótido ubicado en el extremo 5' del polinucleótido hasta el nucleótido ubicado en la mitad del polinucleótido. Una "región 3'" tal como se usa aquí puede significar la región de un polinucleótido que está más cerca del extremo 3' del polinucleótido. Así, por ejemplo, un elemento en la región 3' de un polinucleótido puede

ubicarse en cualquier lugar desde el primer nucleótido ubicado en el extremo 3' del polinucleótido hasta el nucleótido ubicado en la mitad del polinucleótido.

Como se usa en este documento, el término "gen" se refiere a una molécula de ácido nucleico capaz de usarse para producir ARNm, ARN antisentido, ARNm_i, oligodesoxirribonucleótido antisentido (AMO) anti-microARN y similares. Los genes pueden o no usarse para producir una proteína funcional o un producto génico. Los genes pueden incluir tanto regiones codificantes como no codificantes (p. ej., intrones, elementos reguladores, promotores, mejoradores, secuencias de terminación y/o regiones no traducidas 5' y 3').

Un polinucleótido, gen o polipéptido se puede "aislar", lo que significa un ácido nucleico o polipéptido que está sustancial o esencialmente libre de componentes que normalmente se encuentran en asociación con el ácido nucleico o polipéptido, respectivamente, en su estado natural. En algunas formas de realización, dichos componentes incluyen otro material celular, medio de cultivo de la producción recombinante y/o diversos productos químicos utilizados en la síntesis química del ácido nucleico o polipéptido.

El término "mutación" se refiere a mutaciones puntuales (por ejemplo, sentido erróneo o sin sentido, o inserciones o eliminaciones de pares de bases individuales que dan como resultado cambios de marco), inserciones, deleciones y/o truncamientos. Cuando la mutación es una sustitución de un residuo dentro de una secuencia de aminoácidos con otro residuo, o una delección o inserción de uno o más residuos dentro de una secuencia, las mutaciones se describen típicamente mediante la identificación del residuo original seguido de la posición del residuo dentro de la secuencia, y por la identidad del residuo recién sustituido.

Tal como se utiliza en el presente documento, una "mutación no natural" se refiere a una mutación que se genera a través de la intervención humana y difiere de las mutaciones encontradas en el mismo gen o polipéptido que han ocurrido en la naturaleza (por ejemplo, ocurridas naturalmente y no como resultado de una modificación realizada por un humano).

Los términos "complementario" o "complementariedad", tal como se usan en el presente documento, se refieren a la unión natural de polinucleótidos en condiciones salinas y de temperatura permisivas mediante apareamiento de bases. Por ejemplo, la secuencia "A-G-T" (5' a 3') se une a la secuencia complementaria "T-C-A" (3' a 5'). La complementariedad entre dos moléculas monocatenarias puede ser "parcial", en la que sólo se unen algunos de los nucleótidos, o puede ser completa, cuando existe una complementariedad total entre las moléculas monocatenarias. El grado de complementariedad entre las hebras de ácido nucleico

tiene efectos significativos sobre la eficacia y la fuerza de la hibridación entre las hebras de ácidos nucleicos.

"Complemento", como se usa en el presente documento, puede significar 100 % de complementariedad con la secuencia de nucleótidos de comparación, o puede significar menos de 100 % de complementariedad (por ej., sustancialmente complementario, tal como alrededor de 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, y similares, de complementariedad).

Se entenderá que una "porción" o un "fragmento" de una secuencia de nucleótidos o polipéptido (incluido un dominio) significa una secuencia de nucleótidos o polipéptido de longitud reducida (por ejemplo, reducida en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más residuos (por ejemplo, nucleótido(s) o péptido(s)) con respecto a una secuencia de nucleótidos o polipéptido de referencia, respectivamente, y que comprende, que consiste esencialmente en y/o que consiste en una secuencia de nucleótidos o polipéptido de residuos contiguos, respectivamente, idénticos o casi idénticos (p. ej., 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % idénticos) a la secuencia de nucleótidos o polipéptido de referencia. En algunas formas de realización, una porción de una secuencia de nucleótidos o polipéptido de referencia es alrededor del 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de la secuencia de nucleótidos o polipéptido de referencia de longitud completa. Tal fragmento o porción de ácido nucleico de acuerdo con la invención puede estar, cuando sea apropiado, incluido en un polinucleótido más grande del cual es un constituyente. Como ejemplo, una secuencia de repetición de ácido nucleico guía de esta invención puede comprender una porción de una secuencia de repetición CRISPR–Cas de tipo salvaje (p. ej., una repetición CRISPR Cas de tipo V de tipo salvaje, p. ej., una repetición del sistema CRISPR Cas que incluye, sin limitación, Cas12a (Cpf1), Cas12b, Cas12c (C2c3), Cas12d (CasY), Cas12e (CasX), Cas12g, Cas12h, Cas12i, C2c1, C2c4, C2c5, C2c8, C2c9, C2c10, Cas14a, Cas14b, y/o Cas14c, y similares). De manera similar, una porción de un polipéptido puede estar incluida en un polipéptido más grande del cual es un constituyente.

Los diferentes ácidos nucleicos o proteínas que tienen homología se denominan aquí "homólogos". El término homólogo incluye secuencias homólogas de la misma y de otras especies, y secuencias ortólogas de la misma y de otras especies. "Homología" se refiere al nivel de similitud entre dos o más secuencias de ácidos nucleicos y/o aminoácidos en términos

de porcentaje de identidad posicional (es decir, similitud o identidad de secuencia). La homología también se refiere al concepto de propiedades funcionales similares entre diferentes ácidos nucleicos o proteínas. Por lo tanto, las composiciones y los métodos de la invención comprenden además homólogos de las secuencias de nucleótidos y de los polipéptidos de esta invención. "Ortólogo" y "ortólogos", como se usan en el presente documento, se refieren a secuencias de nucleótidos y/o secuencias de aminoácidos homólogas en diferentes especies que surgieron de un gen ancestral común durante la especiación. Un homólogo u ortólogo de una secuencia de nucleótidos de esta invención tiene una identidad de secuencia sustancial (por ej., por lo menos alrededor de 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 %) con respecto a dicha secuencia de nucleótidos de la invención.

Como se usa en el presente documento, "identidad de secuencia " se refiere al alcance al cual dos secuencias de polinucleótido o polipéptido óptimamente alineadas son invariantes a través de una ventana de alineación de componentes, por ej., nucleótidos o aminoácidos. La "identidad" se puede calcular fácilmente por métodos conocidos que incluyen, sin limitación, aquellos descritos en: *Computational Molecular Biology* (Lesk, A. M., ed.) Oxford University Press, New York (1988); *Biocomputing: Informatics and Genome Projects* (Smith, D. W., ed.) Academic Press, New York (1993); *Computer Analysis of Sequence Data, Part I* (Griffin, A. M., y Griffin, H. G., eds.) Humana Press, New Jersey (1994); *Sequence Analysis in Molecular Biology* (von Heinje, G., ed.) Academic Press (1987); y *Sequence Analysis Primer* (Gribskov, M. y Devereux, J., eds.) Stockton Press, New York (1991).

Como se usa en el presente documento, el término "porcentaje de identidad de secuencia" o "porcentaje de identidad" se refiere al porcentaje de nucleótidos idénticos en una secuencia de polinucleótidos lineal de una molécula de polinucleótido de referencia ("consulta") (o su hebra complementaria) en comparación con una molécula de polinucleótido de prueba ("sujeto") (o su hebra complementaria), cuando las dos secuencias están alineadas de manera óptima. En algunas formas de realización, "porcentaje de identidad" puede hacer referencia al porcentaje de aminoácidos idénticos en una secuencia de aminoácidos en comparación con un polipéptido de referencia.

Como se usa en el presente documento, la frase "sustancialmente idénticas " o "identidad sustancial" en el contexto de dos moléculas de ácido nucleico, secuencias de nucleótidos o secuencias de proteína, se refiere a dos o más secuencias o subsecuencias que tienen por lo menos alrededor de 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79

%, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % de identidad de residuos de aminoácidos o nucleótidos, cuando se comparan y se alinean para la máxima correspondencia, medido usando uno de los siguientes algoritmos de comparación de secuencias o por inspección visual. En algunas formas de realización de la invención, la identidad sustancial existe sobre una región de nucleótidos consecutivos de una secuencia de nucleótidos de la invención que es alrededor de 10 nucleótidos a alrededor de 20 nucleótidos, alrededor de 10 nucleótidos a alrededor de 25 nucleótidos, alrededor de 10 nucleótidos a alrededor de 30 nucleótidos, alrededor de 15 nucleótidos a alrededor de 25 nucleótidos, alrededor de 30 nucleótidos a alrededor de 40 nucleótidos, alrededor de 50 nucleótidos a alrededor de 60 nucleótidos, alrededor de 70 nucleótidos a alrededor de 80 nucleótidos, alrededor de 90 nucleótidos a alrededor de 100 nucleótidos, o más nucleótidos de longitud, y cualquier rango entre ellos, hasta la longitud entera de la secuencia. En algunas formas de realización, las secuencias de nucleótidos pueden ser sustancialmente idénticas sobre por lo menos alrededor de 20 nucleótidos (p. ej., alrededor de 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 nucleótidos). En algunas formas de realización, una secuencia de nucleótidos o proteína sustancialmente idéntica realiza sustancialmente la misma función que el nucleótido (o la secuencia de proteína codificada) al que es sustancialmente idéntica.

Para la comparación de secuencias, típicamente una secuencia actúa como secuencia de referencia con la que se comparan las secuencias de prueba. Cuando se usa un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de prueba y de referencia se ingresan en una computadora, las coordenadas de la subsecuencia se designan si es necesario, y se designan los parámetros del programa del algoritmo de secuencia. A continuación, el algoritmo de comparación de secuencias calcula el porcentaje de identidad de secuencia para la(s) secuencia(s) de prueba en relación con la secuencia de referencia, en función de los parámetros del programa designados.

El alineamiento óptimo de secuencias para alinear una ventana de comparación es bien conocido por los expertos en la técnica, y se puede realizar mediante herramientas tales como el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, el algoritmo de alineamiento de homología de Needleman y Wunsch, el método de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman, y opcionalmente, mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos, tales como GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA, disponibles como parte del paquete GCG® Wisconsin Package® (Accelrys Inc., San Diego, CA), así como programas de alineación en línea tal como Clustal Omega, EMBOSS Needle, EMBOSS Stretcher, EMBOSS Water, LALIGN,

GGSEARCH2SEQ, EMBOS Cons, Kalign, MAFFT, MUSCLE, y T-Coffee. En algunas formas de realización, un “alineamiento óptimo” de dos secuencias (p. ej., dos secuencias polipeptídicas) es la alineación con la puntuación más alta, opcionalmente a partir de una alineación realizada por una herramienta tal como el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, el algoritmo de alineación de homología de Needleman y Wunsch, el método de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman, GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA disponibles como parte del GCG® Wisconsin Package® (Accelrys Inc., San Diego, CA), Clustal Omega, EMBOSS Needle, EMBOSS Stretcher, EMBOSS Water, LALIGN, GGSEARCH2SEQ, EMBOS Cons, Kalign, MAFFT, MUSCLE y/o T-Coffee. En algunas formas de realización, un “alineamiento óptimo” de dos secuencias (p. ej., dos secuencias polipeptídicas) es la alineación que proporciona el porcentaje más alto de identidad de secuencia, opcionalmente, de modo de permitir la introducción de uno o más espacios en una o ambas secuencias. Una "fracción de identidad" para segmentos alineados de una secuencia de prueba y una secuencia de referencia es el número de componentes idénticos que comparten las dos secuencias alineadas dividido por el número total de componentes en el segmento de secuencia de referencia, por ejemplo, la secuencia de referencia completa o una parte definida más pequeña de la secuencia de referencia. El porcentaje de identidad de secuencia se representa como la fracción de identidad multiplicada por 100. La comparación de una o más secuencias de polinucleótidos puede ser con una secuencia de polinucleótidos de longitud completa o una parte de la misma, o con una secuencia de polinucleótidos más larga. Para los fines de esta invención, el "porcentaje de identidad" y/o alineamiento óptimo se puede determinar utilizando la herramienta de búsqueda de alineación local básica (BLAST) proporcionada por el Centro Nacional de Información Biotecnológica, tal como BLASTX, para secuencias de nucleótidos traducidas, BLASTN para secuencias de polinucleótidos, y BLASTP, para secuencias de polipéptidos.

Dos secuencias de nucleótidos también pueden considerarse sustancialmente complementarias cuando las dos secuencias se hibridan entre sí en condiciones rigurosas. En algunas formas de realización representativas, dos secuencias de nucleótidos que se consideran sustancialmente complementarias se hibridan entre sí en condiciones altamente rigurosas.

Las "condiciones de hibridación rigurosas" y las "condiciones de lavado de hibridación rigurosas" en el contexto de los experimentos de hibridación de ácidos nucleicos tales como las hibridaciones Southern y Northern dependen de la secuencia, y son diferentes bajo diferentes parámetros ambientales. En Tijssen, *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology-Hybridization with Nucleic Acid Probes*, parte I, capítulo 2, "Descripción

general de los principios de hibridación y la estrategia de los ensayos de sonda de ácido nucleico", Elsevier, Nueva York (1993), se encuentra una guía completa sobre la hibridación de ácidos nucleicos. En general, las condiciones de hibridación y lavado altamente rigurosas se seleccionan para que sean alrededor de 5°C más bajas que el punto de fusión térmica (T_m) para la secuencia específica a una fuerza iónica y un pH definidos.

La T_m es la temperatura (bajo una fuerza iónica y un pH definidos) a la que el 50 % de la secuencia diana se hibrida en una sonda perfectamente coincidente. Se seleccionan condiciones muy rigurosas para que sean iguales a la T_m para una sonda particular. Un ejemplo de condiciones de hibridación rigurosas para la hibridación de secuencias de nucleótidos complementarias que tienen más de 100 residuos complementarios en un filtro en un Southern o Northern blot es formamida al 50 % con 1 mg de heparina a 42°C, donde la hibridación se lleva a cabo durante la noche. Un ejemplo de condiciones de lavado muy rigurosas es NaCl 0,15 M a 72 °C durante alrededor de 15 minutos. Un ejemplo de condiciones de lavado rigurosas es un lavado de SSC 0,2x a 65°C durante 15 minutos (ver Sambrook, más abajo, para obtener una descripción del tampón SSC). A menudo, un lavado de alta rigurosidad está precedido por un lavado de baja rigurosidad, para eliminar la señal de la sonda de fondo. Un ejemplo de un lavado de rigurosidad media para una dupla de, por ejemplo, más de 100 nucleótidos, es SSC 1x a 45°C durante 15 minutos. Un ejemplo de un lavado de baja rigurosidad para una dupla de, por ejemplo, más de 100 nucleótidos, es SSC 4–6x a 40°C durante 15 minutos. Para sondas cortas (p. ej., alrededor de 10 a 50 nucleótidos), las condiciones rigurosas típicamente implican concentraciones de sal de menos de alrededor de 1,0 M de iones de Na, típicamente alrededor de 0,01 a 1,0 M de concentración de iones de Na (u otras sales) a un pH de 7,0 a 8,3, y la temperatura es típicamente de por lo menos alrededor de 30°C. También se pueden lograr condiciones rigurosas con la adición de agentes desestabilizadores, tales como la formamida. En general, una relación señal a ruido de 2x (o superior) a la observada para una sonda no relacionada en el ensayo de hibridación particular indica la detección de una hibridación específica. Las secuencias de nucleótidos que no se hibridan entre sí en condiciones rigurosas siguen siendo sustancialmente idénticas si las proteínas que codifican son sustancialmente idénticas. Esto puede ocurrir, por ejemplo, cuando se crea una copia de una secuencia de nucleótidos utilizando la máxima degeneración de codones permitida por el código genético.

Un polinucleótido y/o una construcción de ácido nucleico recombinante de esta invención se pueden optimizar con codones para su expresión. En algunas formas de realización, un polinucleótido, una construcción de ácido nucleico, un casete de expresión y/o un vector de la presente invención (por ejemplo, que comprende/codifica un polipéptido de la

presente invención (por ejemplo, un permutante circular), un polipéptido de unión a ácido nucleico (por ejemplo, un polipéptido de unión a ADN, tal como un dominio de unión a ADN específico de secuencia de una endonucleasa guiada por polinucleótido, una nucleasa de dedo de zinc, una nucleasa efectora de tipo activador de la transcripción (TALEN, por sus siglas en inglés), una proteína Argonaute y/o una proteína efectora CRISPR–Cas), un ácido nucleico guía, una desaminasa y/o una transcriptasa inversa) se pueden optimizar con codones para su expresión en un organismo (por ejemplo, un animal, tal como un ser humano, una planta, un hongo, una arquea o una bacteria). En algunas formas de realización, las construcciones de ácidos nucleicos, polinucleótidos, casetes de expresión y/o vectores optimizados por codones de la invención tienen alrededor de 70 % a alrededor de 99,9 % (por ejemplo, 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 %, 99,9 % o 100 %) de identidad o más con las construcciones de ácidos nucleicos, polinucleótidos, casetes de expresión y/o vectores de referencia, pero que no se han optimizado con codones.

En cualquiera de las formas de realización que se describen en este documento, una construcción de polinucleótido o ácido nucleico de la invención se puede asociar operativamente con una diversidad de promotores y/u otros elementos reguladores para la expresión en un organismo o su célula (p. ej., un mamífero y/o una célula de mamífero, una planta y/o una célula de una planta, etc.). Por lo tanto, en algunas formas de realización, una construcción de polinucleótido o ácido nucleico de esta invención puede comprender además uno o más promotores, intrones, mejoradores y/o terminadores unidos operativamente a una o más secuencias de nucleótidos. En algunas formas de realización, un promotor puede asociarse operativamente con un intrón (p. ej., promotor e intrón Ubi1). En algunas formas de realización, un promotor asociado con un intrón puede denominarse "región promotora/de promotor" (p. ej., promotor e intrón Ubi1).

Por "unido operativamente" o "asociado operativamente" como se usa en el presente documento con referencia a los polinucleótidos, se entiende que los elementos indicados están funcionalmente relacionados entre sí y también están generalmente relacionados físicamente. Por lo tanto, el término "unido operativamente" o "asociado operativamente", como se usa en el presente documento, se refiere a secuencias de nucleótidos en una sola molécula de ácido nucleico que están funcionalmente asociadas. Por lo tanto, una primera secuencia de nucleótidos que está unida operativamente a una segunda secuencia de nucleótidos significa una situación en la que la primera secuencia de nucleótidos se coloca en una relación funcional

con la segunda secuencia de nucleótidos. Por ejemplo, un promotor está asociado operativamente con una secuencia de nucleótidos si el promotor efectúa la transcripción o expresión de dicha secuencia de nucleótidos. Los expertos en la técnica apreciarán que las secuencias de control (por ejemplo, el promotor) no necesitan ser contiguas con la secuencia de nucleótidos a la que está asociadas operativamente, siempre que las secuencias de control funcionen para dirigir su expresión. Así, por ejemplo, pueden estar presentes secuencias de ácido nucleico intermedias no traducidas, aunque transcritas, entre un promotor y la secuencia de nucleótidos, y el promotor aún puede considerarse "unido operativamente" a la secuencia de nucleótidos.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "unido" o "fusionado" con referencia a polipéptidos se refiere a la unión covalente de un polipéptido a otro. Un polipéptido puede estar unido o fusionado a otro polipéptido (por ejemplo, en el extremo N-terminal o el extremo C-terminal) directamente (por ejemplo, a través de un enlace peptídico) o a través de un enlazador (por ejemplo, un enlazador peptídico). Dos polipéptidos que se fusionan directamente (por ejemplo, una unión directa) se refiere a la unión covalente de un residuo de aminoácido de un primer polipéptido de los dos polipéptidos a un residuo de aminoácido de un segundo polipéptido de los dos polipéptidos, sin un elemento intermedio entre los dos residuos de aminoácidos. Por ejemplo, el primer y el segundo polipéptidos pueden estar unidos directamente a través de un enlace peptídico entre el primer y el segundo polipéptidos sin un elemento intermedio (por ejemplo, un enlazador) entre el primer y el segundo polipéptidos. Dos polipéptidos que se fusionan indirectamente (por ejemplo, una unión indirecta) se refiere a un elemento intermedio (por ejemplo, un enlazador tal como un enlazador peptídico) que está presente entre los dos polipéptidos y está unido covalentemente a cada uno, opcionalmente el elemento intermedio puede unir un extremo de un primer polipéptido de los dos polipéptidos a un extremo del segundo polipéptido de los dos polipéptidos.

Una "proteína de fusión" como se usa en este documento se refiere a dos o más polipéptidos que están unidos covalentemente (por ejemplo, directa o indirectamente) de modo que se transcriben y traducen como una sola unidad y, por lo tanto, producen un solo polipéptido que comprende los dos o más polipéptidos. En algunas formas de realización, los dos o más polipéptidos pueden estar codificados naturalmente por genes separados, pero, en forma de una proteína de fusión, están codificados por un solo gen.

El término "enlazador" se reconoce en la técnica, y se refiere a un grupo químico, o una molécula que une dos moléculas o restos, por ejemplo, que une dos polipéptidos o dominios de una proteína de fusión, tal como, por ejemplo, una proteína efectora CRISPR-Cas y una

etiqueta peptídica y/o un polipéptido de interés. Un enlazador puede estar compuesto por una sola molécula de unión (p. ej., un solo aminoácido), o puede comprender más de una molécula de unión. En algunas formas de realización, el enlazador puede ser una molécula orgánica, un grupo, un polímero o un resto químico tal como un resto orgánico bivalente. En algunas formas de realización, el enlazador puede ser un aminoácido, o puede ser un péptido. En algunas formas de realización, el enlazador es un péptido (p. ej., un péptido enlazador).

En algunas formas de realización, un enlazador peptídico útil con esta invención puede ser de alrededor de 2 a alrededor de 100 o más aminoácidos de longitud, por ejemplo, alrededor de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 o más aminoácidos de longitud (p. ej., alrededor de 2 a alrededor de 40, alrededor de 2 a alrededor de 50, alrededor de 2 a alrededor de 60, alrededor de 4 a alrededor de 40, alrededor de 4 a alrededor de 50, alrededor de 4 a alrededor de 60, alrededor de 5 a alrededor de 40, alrededor de 5 a alrededor de 50, alrededor de 5 a alrededor de 60, alrededor de 9 a alrededor de 40, alrededor de 9 a alrededor de 50, alrededor de 9 a alrededor de 60, alrededor de 10 a alrededor de 40, alrededor de 10 a alrededor de 50, alrededor de 10 a alrededor de 60, o alrededor de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 aminoácidos a alrededor de 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 o más aminoácidos de longitud (p. ej., alrededor de 105, 110, 115, 120, 130, 140 150 o más aminoácidos de longitud)). En algunas formas de realización, un enlazador peptídico puede ser un enlazador GS. En algunas formas de realización, el enlazador peptídico es un enlazador GS que tiene 2, 3, o 4 residuos de aminoácidos, opcionalmente, 2 o 4 residuos de aminoácidos. En algunas formas de realización, el enlazador peptídico tiene una de las secuencias de aminoácidos de **SEQ ID NOs: 1–36, 313–314, 869–870, 883, y/o 885**. En algunas formas de realización, el enlazador peptídico es codificado por una secuencia de **SEQ ID NO: 311** o **312**. En algunas formas de realización, el enlazador peptídico puede comprender una secuencia de aminoácidos de CA, CF, (GGS)_n, GS, SG, GSSG (**SEQ ID NO: 31**), GSSGSS (**SEQ ID NO: 32**), GSSGSSGS (**SEQ ID NO: 33**), (GSS)_n (**SEQ ID NO: 34**), (GSS)_nGS (**SEQ ID NO: 35**), S(GGS)_n (**SEQ ID NO: 25**), SGGS (**SEQ ID NO: 26**), (GSS)_nG (**SEQ ID NO: 36**), (GGGS)_n (**SEQ ID NO: 27**), (SGS)_n (**SEQ ID NO: 869**), (SGGS)_n (**SEQ ID NO:**

870), o GSPKKKRKVSGGS (**SEQ ID NO: 885**), donde n es un número entero de 1–20 (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, o 20). En algunas formas de realización, el enlazador peptídico puede comprender la secuencia de aminoácidos: SGGSGSGGS (**SEQ ID NO: 28**). En algunas formas de realización, el enlazador peptídico puede comprender la secuencia de aminoácidos: SGSETPGTSESATPES (**SEQ ID NO: 29**), también referida como el enlazador XTEN. En algunas formas de realización, el enlazador peptídico puede comprender la secuencia de aminoácidos: SGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGGS (**SEQ ID NO: 30**), también referida como el enlazador GS–XTEN–GS o un el enlazador BE4. En algunas formas de realización, el enlazador tiene una secuencia de $(GSS)_nG$ (**SEQ ID NO: 36**), donde n es 3. En algunas formas de realización, el enlazador tiene una secuencia de $(GSS)_nG$ (**SEQ ID NO: 36**), donde n es 5. En algunas formas de realización, el enlazador peptídico puede comprender la secuencia de aminoácidos STSQSDGSSVPADIDQSSDSQSSSQGP (**SEQ ID NO: 5**), también referida como el enlazador 5R. En algunas formas de realización, el enlazador peptídico puede comprender la secuencia de aminoácidos: SGGSSGSETPGTSESATPESSGGGS (**SEQ ID NO: 883**), también referida como el enlazador SGGs–XTEN–SGGS.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "unido" o "fusionado", con referencia a polinucleótidos, se refiere a la unión covalente de un polinucleótido a otro polinucleótido. En algunas formas de realización, dos o más moléculas de polinucleótidos pueden estar unidas por un enlazador que puede ser una molécula orgánica, un grupo, un polímero o un resto químico, tal como un resto orgánico bivalente. Un polinucleótido puede estar unido o fusionado a otro polinucleótido (en el extremo 5' o el extremo 3') a través de una unión covalente directa o mediante uno o más nucleótidos de unión. En algunas formas de realización, un motivo de polinucleótido de una determinada estructura puede insertarse dentro de otra secuencia de polinucleótidos (por ejemplo, la extensión de la estructura de horquilla en el ARN guía). En algunas formas de realización, los nucleótidos de unión pueden ser nucleótidos de origen natural. En algunas formas de realización, los nucleótidos de unión pueden ser nucleótidos de origen no natural. Dos polinucleótidos que se fusionan indirectamente (por ejemplo, una unión directa) se refiere a la unión covalente de un nucleótido de un primer polinucleótido de los dos polinucleótidos a un nucleótido de un segundo polinucleótido de los dos polinucleótidos, sin un elemento intermedio entre los dos polinucleótidos. Por ejemplo, el primer y el segundo polinucleótidos pueden estar unidos directamente a través de un enlace fosfodiéster entre el primer y el segundo polinucleótidos sin un elemento intermedio (por ejemplo, un enlazador) entre el primer y el segundo

polinucleótidos. Dos polinucleótidos que se fusionan directamente (por ejemplo, una unión indirecta) se refiere a un elemento intermedio (por ejemplo, un enlazador tal como un enlazador de polinucleótido) que está presente entre los dos polinucleótidos y está unido covalentemente a cada uno, opcionalmente el elemento intermedio une un extremo de un primer polinucleótido de los dos polinucleótidos a un extremo del segundo polinucleótido de los dos polinucleótidos.

Un "promotor" es una secuencia de nucleótidos que controla o regula la transcripción de una secuencia de nucleótidos (por ejemplo, una secuencia de codificación) que está operativamente asociada con el promotor. La secuencia codificante controlada o regulada por un promotor puede codificar un polipéptido y/o un ARN funcional. Normalmente, un "promotor" se refiere a una secuencia de nucleótidos que contiene un sitio de unión para la ARN polimerasa II y dirige la iniciación de la transcripción. En general, los promotores se encuentran 5', o corriente ascendente, con respecto al inicio de la región codificante de la secuencia codificante correspondiente. Un promotor puede comprender otros elementos que actúen como reguladores de la expresión génica; por ejemplo, una región de promotor. Estos incluyen una secuencia de consenso de caja TATA y, a menudo, una secuencia de consenso de caja CAAT (Breathnach y Chambon, (1981), *Annu. Rev. Biochem.* 50: 349). En plantas, la caja CAAT puede ser sustituida por la caja AGGA (Messing et al., (1983), en *Genetic Engineering of Plants*, T. Kosuge, C. Meredith y A. Hollaender (eds.), Plenum Press, pp. 211 –227). En algunas formas de realización, una región de promotor puede comprender por lo menos un intrón (p. ej., **SEQ ID NO: 37** o **SEQ ID NO: 38**).

Los promotores útiles con esta invención pueden incluir, por ejemplo, promotores constitutivos, inducibles, regulados temporalmente, regulados por el desarrollo, regulados químicamente, preferidos de tejido y/o específicos de tejido para el uso en la preparación de moléculas de ácido nucleico recombinante, p. ej., "construcciones de ácido nucleico sintético" o "complejo de proteína-ARN". Estos diversos tipos de promotores son conocidos en la técnica.

La elección del promotor puede variar en función de los requisitos temporales y espaciales para la expresión, y también puede variar en función de la célula huésped que se va a transformar. Los promotores de muchos organismos diferentes son bien conocidos en la técnica. Sobre la base del amplio conocimiento presente en la técnica, se puede seleccionar el promotor apropiado para el organismo huésped particular de interés. Así, por ejemplo, se sabe mucho acerca de los promotores corriente ascendente de los genes expresados de forma altamente constitutiva en organismos modelo, y se puede acceder fácilmente a dicho conocimiento e implementarlo en otros sistemas según corresponda.

En algunas formas de realización, se puede usar un promotor funcional en una planta con las construcciones de esta invención. Los ejemplos no limitativos de un promotor útil para conducir la expresión en una planta incluyen el promotor del gen de la subunidad pequeña de RubisCo 1 (PrbcS1), el promotor del gen de la actina (Pactin), el promotor del gen de la nitrato reductasa (Pnr) y el promotor del gen de la anhidrasa carbónica duplicado 1 (Pdca1) (ver Walker et al. *Plant Cell Rep.* 23: 727–735 (2005); Li et al. *Gene* 403: 132–142 (2007); Li et al. *Mol Biol Rep.*, 37: 1143–1154 (2010)). PrbcS1 y Pactin son promotores constitutivos, y Pnr y Pdca1 son promotores inducibles. Pnr es inducido por nitrato y reprimido por amonio (Li et al., *Gene*, 403: 132–142 (2007)), y Pdca1 es inducido por sal (Li et al. *Mol Biol. Rep.* 37: 1143–1154 (2010)). En algunas formas de realización, un promotor útil con esta invención es el promotor de ARN polimerasa II (Pol II). En algunas formas de realización, un promotor U6 o un promotor 7SL de *Zea mays* pueden ser útiles con construcciones de esta invención. En algunas formas de realización, el promotor U6c y/o el promotor 7SL de *Zea mays* pueden ser útiles para conducir la expresión de un ácido nucleico guía. En algunas formas de realización, un promotor U6c, un promotor U6i y/o un promotor 7SL de *Glycine max* pueden ser útiles con construcciones de esta invención. En algunas formas de realización, el promotor U6c, el promotor U6i y/o el promotor 7SL de *Glycine max* pueden ser útiles para conducir la expresión de un ácido nucleico guía.

Ejemplos de promotores constitutivos útiles para plantas incluyen, sin limitación, el promotor del virus Cestrum (cmp) (Patente de los Estados Unidos Nro. 7.166.770), el promotor de actina 1 del arroz (Wang et al. (1992) *Mol. Cell. Biol.* 12:3399–3406; así como Patente de los Estados Unidos Nro. 5.64.876), promotor de CaMV 35S (Odell et al. (1985) *Nature* 313: 810–812), promotor de CaMV 19S (Lawton et al. (1987) *Plant Mol. Biol.* 9:315–324), promotor nos (Ebert et al. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 84:5745–5749), promotor Adh (Walker et al. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:6624–6629), promotor de sacarosa sintasa (Yang & Russell (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:4144–4148), y el promotor de ubiquitina. El promotor constitutivo derivado de la ubiquitina se acumula en muchos tipos de células. Se han clonado promotores de ubiquitina de varias especies de plantas para su uso en plantas transgénicas, por ejemplo, girasol (Binet et al., 1991. *Plant Science* 79: 87–94), maíz (Christensen et al., 1989. *Plant Molec. Biol.* 12: 619–632), y *Arabidopsis* (Norris et al. 1993. *Plant Molec. Biol.* 21: 895–906). El promotor de ubiquitina de maíz (UbiP) se ha desarrollado en sistemas transgénicos de monocotiledóneas, y su secuencia y sus vectores construidos para la transformación de monocotiledóneas se describen en la Publicación de Patente EP 0 342 926. El promotor de ubiquitina es adecuado para la expresión de las secuencias de nucleótidos

de la invención en plantas transgénicas, especialmente monocotiledóneas. Además, los casetes de expresión de promotores descritos por McElroy et al. (Mol. Gen. Genet. 231: 150–160 (1991)) pueden modificarse fácilmente para la expresión de las secuencias de nucleótidos de la invención y son particularmente adecuados para su uso en huéspedes monocotiledóneas.

En algunas formas de realización, se pueden usar promotores específicos de tejido/preferidos de tejido para la expresión de un polinucleótido heterólogo en una célula vegetal. Los patrones de expresión preferidos o específicos de tejido incluyen, entre otros, específicos o preferidos de tejido verde, específicos o preferidos de raíz, específicos o preferidos de tallo, específicos o preferidos de flor, o específicos o preferidos de polen. Los promotores adecuados para la expresión en tejido verde incluyen muchos que regulan genes implicados en la fotosíntesis, y muchos de estos se han clonado a partir de monocotiledóneas y dicotiledóneas. En una forma de realización, un promotor útil con la invención es el promotor PEPC de maíz del gen de la fosfoenol carboxilasa (Hudspeth & Grula, *Plant Molec. Biol.* 12: 579–589 (1989)). Los ejemplos no limitativos de promotores específicos de tejido incluyen aquellos asociados con genes que codifican las proteínas de almacenamiento de semillas (tales como β -conglucina, cruciferina, napina y faseolina), zeína o proteínas de cuerpo oleoso (tales como oleosina), o proteínas involucradas en la biosíntesis de ácidos grasos (incluida la proteína portadora de acilo, esteroil-ACP desaturasa y ácido graso desaturasa (fad 2–1)), y otros ácidos nucleicos expresados durante el desarrollo del embrión (tales como Bce4; ver, por ejemplo, Kridl et al. (1991) *Seed Sci. Res.* 1: 209–219, así como la Patente EP Nro. 255378). Los promotores específicos de tejido o preferenciales de tejido útiles para la expresión de las secuencias de nucleótidos de la invención en plantas, particularmente maíz, incluyen pero no se limitan a aquellos que dirigen la expresión en raíz, médula, hoja o polen. Dichos promotores se describen, por ejemplo, en el documento WO 93/07278, incorporado aquí como referencia por sus divulgaciones de promotores. Otros ejemplos no limitativos de promotores específicos de tejido o preferidos de tejido útiles con la invención son el promotor rubisco de algodón descrito en la Patente de EE.UU. 6.040.504; el promotor de sacarosa sintasa de arroz descrito en la Patente de EE.UU. 5.604.121; el promotor específico de raíz descrito por de Framond (FEBS 290:103–106 (1991); Patente Europea EP 0 452 269 de Ciba-Geigy); el promotor específico de tallo descrito en la Patente de EE.UU. 5.625.136 (de Ciba-Geigy) y que dirige la expresión del gen *trpA* del maíz; el promotor del virus del enrollamiento de la hoja amarilla *cestrum* descrito en el documento WO 01/73087; y promotores preferidos o específicos de polen que incluyen, entre otros, ProOsLPS10 y ProOsLPS11 de arroz (Nguyen et al. *Plant Biotechnol. Reports* 9(5):297–306 (2015)), ZmSTK2_USP de maíz (Wang et al. *Genome* 60

(6): 485–495 (2017)), LAT52 y LAT59 de tomate (Twell et al. *Development* 109 (3): 705–713 (1990)), Zm13 (Patente de EE. UU. Nro. 10.421.972), promotor PLA₂- δ de *Arabidopsis* (Patente de EE. UU. Nro. 7.141.424), y/o el promotor ZmC5 de maíz (Publicación Internacional PCT Nro. WO1999/042587).

Ejemplos adicionales de promotores preferidos de tejido o específicos de tejido vegetal incluyen, entre otros, los elementos *cis* específicos de pelo de raíz (RHE) (Kim et al. *The Plant Cell* 18: 2958–2970 (2006)), los promotores específicos de raíz RCc3 (Jeong et al. *Plant Physiol.* 153: 185–197 (2010)) y RB7 (Patente de los Estados Unidos Nro. 5459252), el promotor de lectina (Lindstrom et al. (1990) *Der. Genet.* 11:160–167; y Vodkin (1983) *Prog. Clin. Biol. Res.* 138:87–98), el promotor de alcohol deshidrogenasa 1 de maíz (Dennis et al. (1984) *Nucleic Acids Res.* 12:3983–4000), S-adenosil-L-metionina sintetasa (SAMS) (Vander Mijnsbrugge et al. (1996) *Plant and Cell Physiology*, 37(8): 1108–1115), promotor del complejo de luz del maíz (Bansal et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:3654–3658), el promotor de proteína de choque de calor del maíz (O'Dell et al. (1985) *EMBO J.* 5:451–458; y Rochester et al. (1986) *EMBO J.* 5:451–458), el promotor de RuBP carboxilasa de subunidad pequeña de la arveja (Cashmore, "Genes nucleares que codifican la subunidad pequeña de ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa" pp. 29–39, en: *Genetic Engineering of Plants* (Hollaender ed., Plenum Press 1983; y Poulsen et al. (1986) *Mol. Gen. Genet.* 205:193–200), el promotor de manopina sintasa de plásmido Ti (Langridge et al. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:3219–3223), promotor de nopalina sintasa de plásmido Ti (Langridge et al. (1989), supra), el promotor de calcona isomerasa de la petunia (van Tunen et al. (1988) *EMBO J.* 7: 1257–1263), promotor de proteína 1 rica en glicina del poroto (Keller et al. (1989) *Genes Dev.* 3: 1639–1646), promotor CaMV 35S truncado (O'Dell et al. (1985) *Nature* 313: 810–812), promotor de patatina de la papa (Wenzler et al. (1989) *Plant Mol. Biol.* 13: 347–354), promotor de células de raíz (Yamamoto et al. (1990) *Nucleic Acids Res.* 18: 7449), promotor de zeína de maíz (Kriz et al. (1987) *Mol. Gen. Genet.* 207: 90–98; Langridge et al. (1983) *Cell* 34: 1015–1022; Reina et al. (1990) *Nucleic Acids Res.* 18: 6425; Reina et al (1990) *Nucleic Acids Res.* 18:7449 y Wandelt et al. (1989) *Nucleic Acids Res.* 17: 2354), promotor de globulina-1 (Belanger et al. (1991) *Genetics* 129: 863–872), promotor cab de α -tubulina (Sullivan et al. (1989) *Mol. Gen. Genet.* 215: 431–440), promotor PEPCasa (Hudspeth & Grula (1989) *Plant Mol. Biol.* 12: 579–589), promotores asociados al complejo del gen R (Chandler et al. (1989) *Plant Cell* 1: 1175–1183), y promotores de calcona sintasa (Franken et al. (1991) *EMBO J.* 10: 2605–2612).

Útil para la expresión específica de semillas es el promotor de vicilina de la arveja (Czako et al. (1992) *Mol. Gen. Genet.* 235: 33–40; así como los promotores específicos de semillas descritos en la Patente de EE.UU. Nro. 5.625.136. Promotores útiles para la expresión en hojas maduras son aquellos que se cambian al comienzo de la senescencia, tales como el promotor SAG de *Arabidopsis* (Gan et al. (1995) *Science* 270: 1986–1988).

Además, pueden usarse promotores funcionales en cloroplastos. Los ejemplos no limitantes de tales promotores incluyen el gen 9' 5' UTR del bacteriófago T3 y otros promotores descritos en la Patente de EE.UU. Nro. 7.579.516. Otros promotores útiles con la invención incluyen, sin limitación, el promotor de carboxilasa de RuBP de la subunidad pequeña S–E9 y el promotor del gen inhibidor de la tripsina de Kunitz (Kti3).

Los elementos reguladores adicionales útiles con esta invención incluyen, entre otros, intrones, mejoradores, secuencias de terminación y/o regiones no traducidas en 5' y 3'.

Un intrón útil con esta invención puede ser un intrón identificado y aislado de una planta y luego insertado en un casete de expresión para usar en la transformación de una planta. Como entenderán los expertos en la técnica, los intrones pueden comprender las secuencias requeridas para la autoescisión y se incorporan en las construcciones de ácidos nucleicos/casetes de expresión en marco. Se puede usar un intrón como espaciador para separar múltiples secuencias que codifican proteínas en una construcción de ácido nucleico, o se puede usar un intrón dentro de una secuencia que codifica proteína para, por ejemplo, estabilizar el ARNm. Si se usan dentro de una secuencia de codificación de proteína, se insertan "en marco" con los sitios de escisión incluidos. Los intrones también se pueden asociar con promotores para mejorar o modificar la expresión. A modo de ejemplo, una combinación de promotor/intrón útil con esta invención incluye, sin limitación, aquella del promotor e intrón Ubi1 de maíz.

Los ejemplos no limitantes de intrones útiles con la presente invención incluyen intrones del gen ADHI (por ejemplo, los intrones 1, 2 y 6 de Adh1–S), el gen de la ubiquitina (Ubi1), el gen de la subunidad pequeña RuBisCO (rbcS), el gen de la subunidad grande de RuBisCO (rbcL), el gen de la actina (p. ej., intrón de actina–1), el gen de la piruvato deshidrogenasa quinasa (pdk), el gen de la nitrato reductasa (nr), el gen de la anhidrasa carbónica duplicada 1 (Tdca1), el gen *psbA*, el gen *atpA*, o cualquier combinación de los mismos.

Un "sistema de edición" como se utiliza en el presente documento se refiere a cualquier sistema de edición de ácido nucleico específico de sitio (por ejemplo, específico de secuencia) conocido actualmente o desarrollado posteriormente, cuyo sistema puede introducir una modificación (por ejemplo, una mutación) en un ácido nucleico de una manera específica del

objetivo. Por ejemplo, un sistema de edición (por ejemplo, un sistema de edición específico de sitio y/o de secuencia) puede incluir, sin limitación, un sistema de edición CRISPR-Cas, un sistema de edición de meganucleasa, un sistema de edición de nucleasa de dedo de zinc (ZFN), un sistema de edición de nucleasa efectora de tipo activador de la transcripción (TALEN), un sistema de edición de bases y/o un sistema de edición de cebadores, cada uno de los cuales puede comprender uno o más polipéptidos y/o uno o más polinucleótidos que, cuando están presentes y/o se expresan juntos (por ejemplo, como un sistema) en una composición y/o célula, pueden modificar (por ejemplo, mutar) un ácido nucleico objetivo de una manera específica de secuencia. En algunas formas de realización, un sistema de edición (por ejemplo, un sistema de edición específico de sitio y/o secuencia) puede comprender uno o más polinucleótidos y/o uno o más polipéptidos, que incluyen, sin limitación, un polipéptido de unión a ácidos nucleicos (por ejemplo, un dominio de unión a ADN), una nucleasa, otro polipéptido y/o un polinucleótido. En algunas formas de realización, se proporciona y/o se utiliza un sistema de edición CRISPR-Cas que comprende un polipéptido de la presente invención.

En algunas formas de realización, un sistema de edición comprende uno o más polipéptidos de unión a ácidos nucleicos específicos de secuencia (por ejemplo, un dominio de unión a ADN) que pueden ser, por ejemplo, de una endonucleasa guiada por polinucleótidos, una endonucleasa CRISPR-Cas (por ejemplo, proteína efectora CRISPR-Cas), una nucleasa de dedo de zinc, una nucleasa efectora de tipo activador de la transcripción (TALEN) y/o una proteína Argonaute. En algunas formas de realización, un sistema de edición comprende uno o más polipéptidos de escisión (por ejemplo, nucleasas) que incluyen, entre otros, una endonucleasa (por ejemplo, Fok1), una endonucleasa guiada por polinucleótidos, una endonucleasa CRISPR-Cas (por ejemplo, proteína efectora CRISPR-Cas), una nucleasa de dedo de zinc y/o una nucleasa efectora de tipo activador de la transcripción (TALEN).

Un "polipéptido de unión a ácido nucleico" como se utiliza en el presente documento se refiere a un polipéptido o dominio que se une y/o es capaz de unirse a un ácido nucleico (por ejemplo, un ácido nucleico diana). Un dominio de unión al ADN es un polipéptido de unión a ácido nucleico ejemplar y puede ser un dominio de unión a ácido nucleico específico de sitio y/o secuencia. En algunas formas de realización, un polipéptido de unión a ácido nucleico puede ser un polipéptido de unión a ácido nucleico específico de secuencia tal como, sin limitación, un dominio de unión específico de secuencia de, por ejemplo, una endonucleasa guiada por polinucleótidos, una proteína efectora CRISPR-Cas (por ejemplo, una endonucleasa CRISPR-Cas), una nucleasa de dedo de zinc, una nucleasa efectora de tipo activador de la transcripción (TALEN) y/o una proteína Argonaute. En algunas formas de

realización, un polipéptido de unión a ácidos nucleicos comprende un dominio de escisión (por ejemplo, un dominio de nucleasa) tal como, sin limitación, una endonucleasa (por ejemplo, Fok1), una endonucleasa guiada por polinucleótidos, una endonucleasa CRISPR–Cas, una nucleasa de dedo de zinc y/o una nucleasa efectora de tipo activador de la transcripción (TALEN). En algunas formas de realización, el polipéptido de unión a ácidos nucleicos se asocia y/o es capaz de asociarse con (por ejemplo, forma un complejo con) una o más moléculas de ácidos nucleicos (por ejemplo, forma un complejo con un ácido nucleico guía como se describe en el presente documento), lo que puede dirigir y/o guiar el polipéptido de unión a ácido nucleico a una secuencia de nucleótidos diana específica (por ejemplo, un locus génico de un genoma) que es complementaria a una o más moléculas de ácidos nucleicos (o una parte o región de las mismas), haciendo así que el polipéptido de unión a ácido nucleico se una a la secuencia de nucleótidos en el sitio diana específico. En algunas formas de realización, el polipéptido de unión a ácido nucleico es una proteína efectora CRISPR–Cas como se describe en el presente documento.

En algunas formas de realización, un sistema de edición comprende o es una ribonucleoproteína, tal como un complejo de ribonucleoproteína ensamblado (por ejemplo, una ribonucleoproteína que comprende una proteína efectora CRISPR–Cas, un ácido nucleico guía y, opcionalmente, una desaminasa y/o transcriptasa inversa). En algunas formas de realización, una ribonucleoproteína de un sistema de edición puede ensamblarse entre sí (por ejemplo, una ribonucleoproteína preensamblada que incluye una proteína efectora CRISPR–Cas, un ácido nucleico guía y, opcionalmente, una desaminasa y/o transcriptasa inversa), tal como cuando se pone en contacto con un ácido nucleico diana o cuando se introduce en una célula (por ejemplo, una célula de mamífero o una célula vegetal) (por ejemplo, en el momento de poner en contacto los componentes de la ribonucleoproteína con un ácido nucleico diana, y/o en el momento de introducir los componentes de la ribonucleoproteína en una célula). En algunas formas de realización, una ribonucleoproteína de un sistema de edición puede ensamblarse en un complejo (por ejemplo, un complejo unido de forma no covalente), mientras una parte de la ribonucleoproteína está en contacto con un ácido nucleico diana, y/o puede ensamblarse después y/o durante la introducción en una célula vegetal. En algunas formas de realización, un sistema de edición puede ensamblarse (por ejemplo, en un complejo unido de forma no covalente) cuando se introduce en una célula vegetal. En algunas formas de realización, una ribonucleoproteína de un sistema de edición puede ponerse en contacto con un ácido nucleico diana y/o puede introducirse en una célula vegetal. En algunas formas de realización, un sistema de edición puede ensamblarse (por ejemplo, en un complejo unido de forma no

covalente) cuando se introduce en una célula vegetal. En algunas formas de realización, una ribonucleoproteína puede comprender un polipéptido de la presente invención (por ejemplo, un polipéptido que comprende un permutante circular), un ácido nucleico guía y, opcionalmente, una desaminasa y/o transcriptasa inversa. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención se utiliza en lugar de (p. ej., sustituye) una proteína efectora CRISPR–Cas (p. ej., en una composición, en un complejo, equipo, método y/o sistema tal como un sistema de edición descrito en el presente documento), y/o funciona como una proteína efectora CRISPR–Cas, opcionalmente en una composición, en un complejo, una ribonucleoproteína, un equipo, método, sistema y/o sistema de edición de la presente invención.

En algunas formas de realización, un sistema de edición de la presente invención comprende una transcriptasa inversa, un ácido nucleico guía extendido y una proteína efectora CRISPR–Cas y/o un polipéptido de la presente invención. En algunas formas de realización, la proteína efectora CRISPR–Cas y/o un polipéptido de la presente invención, la transcriptasa inversa y el ácido nucleico guía extendido pueden formar un complejo o pueden estar comprendidos en un complejo que es capaz de interactuar con un ácido nucleico diana.

En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía comprende además una plantilla de transcriptasa inversa y puede denominarse ácido nucleico guía extendido. Un “ácido nucleico guía extendido” como se usa en el presente documento es un ácido nucleico guía como se describe en el presente documento que comprende además una plantilla de transcriptasa inversa (RTT, por sus siglas en inglés) y/o un sitio de unión de cebador (PBS, por sus siglas en inglés). En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía extendido es un ARN guía de edición de cebado diseñado (ARNpeg). Un ácido nucleico guía extendido puede ser un ARN guía de alelo dirigido (ARNtag) o un ARN guía de alelo dirigido estabilizado (ARNstag). Un “ARNtag” como se usa en el presente documento se refiere a un ácido nucleico guía extendido que comprende un PBS y un RTT y tiene complementariedad de hebra objetivo. Un “ARNstag” como se usa en el presente documento se refiere a un ARNtag que comprende un motivo de estabilización. Un motivo de estabilización puede estar presente en el extremo 3’ y/o 5’ de un ARNtag. En algunas formas de realización, un motivo de estabilización está presente en el extremo 3’ de un ARNtag. Los motivos de estabilización ejemplares incluyen, entre otros, motivos de reclutamiento, horquillas de ARN, secuencias de pseudonudos y/o motivos PP7 (p. ej., una secuencia de horquilla de ARN PP7). En algunas formas de realización, un ARNstag es un ARNtag que comprende una secuencia de horquilla de ARN PP7. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas (p. ej., una proteína

efectora CRISPR–Cas de tipo II o tipo V), una transcriptasa inversa y un ácido nucleico guía extendido pueden formar un complejo o están comprendidos en un complejo.

En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía extendido comprende una porción extendida que incluye un sitio de unión de cebador y una plantilla de transcriptasa inversa, donde la plantilla de transcriptasa inversa comprende la modificación (p. ej., edición) que se incorporará en un ácido nucleico objetivo. En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía extendido comprende, en su extremo 3', un sitio de unión de cebador y una modificación (por ejemplo, una edición) que se incorporará en el ácido nucleico diana (por ejemplo, una plantilla de transcriptasa inversa). En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía extendido comprende: (1) una secuencia que interactúa (por ejemplo, recluta y/o se une) con una proteína efectora CRISPR–Cas (por ejemplo, una nucleasa CRISPR–Cas), (2) un espaciador que tiene una complementariedad sustancial con un primer sitio en un ácido nucleico diana (por ejemplo, un ARN CRISPR (ARNcr) (un primer ARNcr) y/o ARNtracr + ARNcr (ARNsg)), y (3) una plantilla de reparación codificada por ácido nucleico (por ejemplo, una plantilla de reparación codificada por ARN) que comprende un sitio de unión de cebador y una plantilla de ARN (por ejemplo, que codifica la modificación que se incorporará en el ácido nucleico diana). En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía extendido (por ejemplo, un ARN guía extendido) puede comprender, 5'–3', una secuencia espaciadora, una secuencia de repetición y una porción extendida, donde la porción extendida comprende, 5' a 3', una plantilla de transcriptasa inversa y un sitio de unión de cebador. En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía extendido puede comprender, 5'–3', una secuencia espaciadora, una secuencia de repetición y una porción extendida, donde la porción extendida comprende, 5' a 3', un sitio de unión de cebador y una plantilla de transcriptasa inversa. En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía extendido puede comprender, 5'–3', una porción extendida, una secuencia espaciadora y una secuencia de repetición, donde la porción extendida comprende, 5' a 3', una plantilla de transcriptasa inversa y un sitio de unión de cebador. En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía extendido puede comprender, 5'–3', una porción extendida, una secuencia espaciadora y una secuencia de repetición, donde la porción extendida comprende, 5' a 3', un sitio de unión de cebador y una plantilla de transcriptasa inversa.

De acuerdo con algunas formas de realización, un ácido nucleico guía extendido (por ejemplo, un ARNpeg) puede tener una estructura y/o estar diseñado como se describe en Anzalone et al., *Nature*, 2019 dic; 576 (7785): 149–157. En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía extendido comprende un sitio de unión de cebador (PBS) que

opcionalmente tiene una secuencia de 1, 2, 3, 4 o 5 a 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 nucleótidos y una secuencia de plantilla de transcriptasa inversa (plantilla RT) que opcionalmente tiene una secuencia de 65 nucleótidos o más. En algunas formas de realización, un PBS de un ácido nucleico guía extendido tiene una secuencia de menos de 15 nucleótidos y tiene una secuencia de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 nucleótidos (por ejemplo, una secuencia de 5 o 6 nucleótidos de longitud). La secuencia de plantilla RT puede estar después de la secuencia PBS en la dirección 5' a 3'. En algunas formas de realización, la secuencia de plantilla RT del ácido nucleico guía extendido tiene una longitud de más de 65 nucleótidos y puede comprender alrededor de 50 o más nucleótidos de heterología con respecto al sitio diana (por ejemplo, ácido nucleico diana), seguido de alrededor de 15 o más nucleótidos de homología con respecto al sitio diana. En algunas formas de realización, la secuencia de plantilla RT del ácido nucleico guía extendido se encuentra después de la secuencia PBS, y la secuencia de plantilla RT tiene una longitud de más de 65 nucleótidos con la secuencia que incluye más de 50 nucleótidos de heterología con respecto al sitio diana, seguidos de más de 15 nucleótidos de homología con respecto al sitio diana. En consecuencia, en algunas formas de realización, cuando el ácido nucleico guía extendido se transcribe de forma inversa, la secuencia recién transcrita resultante puede hibridar y/o está configurada para hibridar con la hebra no cortada del sitio diana, lo que puede crear de ese modo un ADN heterodupla con una inserción grande en la hebra recién sintetizada. Al reparar este ADN desajustado, el ADN reparado resultante puede contener una inserción grande (p. ej., más de 50 nucleótidos) de secuencia de ADN. En algunas formas de realización, el método puede proporcionar una delección grande (p. ej., más de 50 nucleótidos) de secuencia de ADN. En algunas formas de realización, el PBS y los 15 o más nucleótidos de homología con el sitio diana pueden comprender brazos de homología, que pueden servir para insertar la heterología en el sitio diana utilizando opcionalmente una reparación dirigida por homología. El ADN insertado puede corresponder a cualquier secuencia funcional de ADN tal como, sin limitación: un transgén funcional; un fragmento de ADN que se inserta en un gen de una manera que, cuando el gen se transcribe, produciría un ARN en horquilla que es suficiente para silenciar genes homólogos a través de iARN; y/o uno o más sitios de recombinación específicos de sitio funcionales, por ejemplo, lox, frt, que luego podrían usarse en procesos de recombinación específicos de sitio mediados por Cre o Flp posteriores. En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía extendido puede ser demasiado grande para producir utilizando un promotor PolIII *in vivo*. En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía extendido puede estar asociado operativamente con y/o producirse utilizando un promotor PolII. En

algunas formas de realización, un polipéptido de unión al ADN (p. ej., un dominio de unión al ADN) y/o una endonucleasa de ADN pueden tener una estructura y/o estar diseñados como se describe en Anzalone et al., *Nature*, diciembre de 2019; 576 (7785): 149–157. En algunas formas de realización, un dominio de unión al ADN y/o una endonucleasa de ADN es un polipéptido CRISPR Cas, tal como una nickasa Cas9, una variante de mellado de otro polipéptido CRISPR Cas o Cas12a.

En algunas formas de realización, se pueden utilizar dos ácidos nucleicos guía extendidos (p. ej., ARNpeg) (p. ej., un sistema de edición puede comprender dos ácidos nucleicos guía extendidos). Uno o ambos de los dos ácidos nucleicos guía extendidos pueden tener una estructura y/o estar diseñados como se describe en Anzalone et al., *Nature*, 2019 Dic; 576 (7785): 149–157. Los dos ácidos nucleicos guía extendidos pueden comprender un sitio de unión de cebador (PBS) que opcionalmente tiene una secuencia de 1, 2, 3, 4 o 5 a 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 nucleótidos y una secuencia de plantilla de transcriptasa inversa (plantilla RT) que opcionalmente tiene una secuencia de 50 nucleótidos o más. Las secuencias de plantilla RT de los dos ácidos nucleicos guía extendidos pueden ser complementarias entre sí y, de este modo, los polinucleótidos que se transcriben de forma inversa respectivamente a partir de cada una de las plantillas RT serán complementarios entre sí y podrán hibridarse entre sí. Esto puede permitir que los intermediarios que se producen mediante este sistema y/o método unan dos secciones de ADN que de otro modo están separadas por más de 50 nucleótidos, por ejemplo, dentro de un cromosoma, o que están ubicadas en dos trozos separados de ADN, por ejemplo, en dos cromosomas diferentes. Después de la reparación de los intermediarios, los productos resultantes pueden producir, de acuerdo con el diseño de la plantilla RT, grandes deleciones, grandes inversiones o recombinaciones intercromosómicas. Dado que todos estos productos se producen mediante reparación dirigida por homología, los productos pueden ser predeciblemente precisos y/o reproducibles. En algunas formas de realización, un polipéptido de unión al ADN (p. ej., un dominio de unión al ADN) y/o una endonucleasa de ADN pueden tener una estructura y/o estar diseñados como se describe en Anzalone et al., *Nature*, diciembre de 2019; 576 (7785): 149–157. En algunas formas de realización, un polipéptido de unión al ADN y/o una endonucleasa de ADN es un polipéptido CRISPR Cas, tal como una nickasa Cas9, una variante de mellado similar de otro polipéptido CRISPR Cas o Cas12a. En algunas formas de realización, un polipéptido de unión al ADN y/o una endonucleasa de ADN es una nucleasa Cas9, una nucleasa similar de otro polipéptido CRISPR Cas o Cas12a. El uso de una nucleasa (en lugar de una nickasa) puede facilitar los procesos de recombinación intra o intercromosómica a través de la hibridación monocatenaria

de los más de 50 nucleótidos salientes en 3' que se producirían en cada uno de los dos sitios diana correspondientes a los dos ácidos nucleicos diana de ARNpeg. En algunas formas de realización, un sistema de edición comprende un ácido nucleico guía extendido y un ácido nucleico guía que carece de una plantilla de transcriptasa inversa y/o un sitio de unión de cebador.

Un ácido nucleico guía extendido puede comprender un ácido nucleico CRISPR (por ejemplo, ARN CRISPR, ADN CRISPR, ARNcr, ADNcr) y/o un ácido nucleico CRISPR y un ácido nucleico tracr; y (b) una porción extendida que comprende un sitio de unión de cebador y una plantilla de transcriptasa inversa (plantilla RT), donde la plantilla RT codifica una modificación que se incorporará en el ácido nucleico objetivo. El ácido nucleico CRISPR puede ser un ácido nucleico CRISPR Tipo II o Tipo V, y/o el ácido nucleico tracr puede ser cualquier tracr correspondiente al ácido nucleico CRISPR Tipo II o Tipo V apropiado. En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía extendido comprende: (i) un ácido nucleico CRISPR Tipo V o un ácido nucleico CRISPR Tipo II (por ejemplo, un ARN CRISPR Tipo II o Tipo V, ADN CRISPR Tipo II o Tipo V, ARNcr Tipo II o Tipo V, o ADNcr Tipo II o Tipo V) y/o un ácido nucleico CRISPR y un ácido nucleico tracr (por ejemplo, un ARNtracr Tipo II o Tipo V, ADNtracr Tipo II o Tipo V); y (ii) una porción extendida que comprende un sitio de unión de cebador y una plantilla de transcriptasa inversa (plantilla RT), donde el ácido nucleico CRISPR Tipo V o el ácido nucleico CRISPR Tipo II comprende un espaciador que se une a una primera hebra (por ejemplo, la hebra objetivo) de un ácido nucleico objetivo (por ejemplo, el espaciador es complementario a una porción de nucleótidos consecutivos en la primera hebra del ácido nucleico objetivo), y el sitio de unión del cebador se une a la primera hebra (por ejemplo, la hebra objetivo). En algunas formas de realización, la porción extendida se puede fusionar al extremo 5' o al extremo 3' del ácido nucleico CRISPR (p. ej., de 5' a 3': repetición–espaciador–porción extendida, o porción extendida–repetición–espaciador) y/o al extremo 5' o 3' del ácido nucleico tracr. En algunas formas de realización, la porción extendida de un ácido nucleico guía extendido comprende, de 5' a 3', una plantilla RT (RTT) y un sitio de unión del cebador (PBS) (p. ej., 5'–ARNcr–espaciador–RTT(edición codificada)–PBS–3'), o comprende de 5' a 3', un PBS y un RTT, de acuerdo con la ubicación de la porción extendida en relación con el ácido nucleico CRISPR del ácido nucleico guía extendido (p. ej., 5'–ARNcr–espaciador–PBS–RTT(edición codificada)–3'). Por ejemplo, en algunas formas de realización, una porción extendida del ácido nucleico guía extendido puede comprender, de 5' a 3', una plantilla RT y un sitio de unión de cebador (cuando la guía extendida está unida al extremo 3' del ácido nucleico CRISPR). En algunas formas de realización, una porción extendida de la

guía extendida puede comprender, de 5' a 3', un sitio de unión de cebador y una plantilla RT (cuando la guía extendida está unida al extremo 5' del ácido nucleico CRISPR).

En algunas formas de realización, un ácido nucleico diana es bicatenario y comprende una primera hebra y una segunda hebra, y un sitio de unión del cebador de un ácido nucleico guía extendido se une a la segunda hebra (p. ej., la hebra superior, no diana) del ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, un ácido nucleico diana es bicatenario y comprende una primera hebra y una segunda hebra, y un sitio de unión de cebador de un ácido nucleico guía extendido se une a la primera hebra (p. ej., se une a la hebra diana, opcionalmente la misma hebra a la que se recluta una proteína efectora CRISPR–Cas, hebra inferior) del ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, un ácido nucleico diana es bicatenario y comprende una primera hebra y una segunda hebra, y el sitio de unión del cebador de un ácido nucleico guía extendido se une a la segunda hebra (p. ej., la hebra no diana, opcionalmente la hebra opuesta a aquella a la que se recluta la proteína efectora CRISPR–Cas) del ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, una transcriptasa inversa (RT) puede agregarse a la hebra diana de un ácido nucleico objetivo (por ejemplo, la hebra a la que el espaciador del ácido nucleico CRISPR del ácido nucleico guía extendido es complementario y a la que se recluta la proteína efectora CRISPR–Cas). En algunas formas de realización, la transcriptasa inversa (RT) se agrega a la hebra no objetivo de un ácido nucleico objetivo (por ejemplo, la hebra que es complementaria a la hebra a la que el espaciador del ácido nucleico CRISPR es complementario y a la que se recluta la proteína efectora CRISPR–Cas). Se describen métodos de ejemplo y sistemas de edición en la Publicación de Patente Internacional Nro. WO 2021/092130, la Publicación de Patente Internacional Nro. WO 2022/098993 y las Publicaciones de Solicitud de Patente de EE. UU. Nros. 2021/0147862, 2021/0130835, 2021/0147862 y 2022/0145334, cada una de las cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

La plantilla RT de un ácido nucleico guía extendido puede codificar una o más modificaciones (por ejemplo, ediciones) que se incorporarán en un ácido nucleico diana. La una o más modificaciones pueden estar ubicadas en cualquier posición dentro de una plantilla RT (por ejemplo, donde la ubicación de la posición puede ser relativa a la posición de un motivo adyacente al protoespaciador (PAM, por sus siglas en inglés) del ácido nucleico diana). En algunas formas de realización, una plantilla RT tiene una modificación en una o más posiciones de –1 a 23 (por ejemplo, –1, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 o 23) en relación con la posición de un motivo adyacente al protoespaciador (PAM) (por ejemplo, TTTG, TCCG, CCCC y TTTV) en un ácido nucleico objetivo. En algunas formas de

realización, una plantilla RT puede comprender una modificación ubicada en la posición de nucleótido -1, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 o 23. En algunas formas de realización, una plantilla RT puede comprender una modificación ubicada en la posición de nucleótido 4 a la posición de nucleótido 17 (por ejemplo, posición 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17) de la plantilla RT con respecto a la posición de un PAM de un ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, una plantilla RT puede comprender una modificación ubicada en la posición de nucleótido 10 a la posición de nucleótido 17 (por ejemplo, posición 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17) de la plantilla RT con respecto a la posición de un PAM de un ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, una plantilla RT puede comprender una modificación ubicada en la posición de nucleótido 12 a la posición de nucleótido 15 (por ejemplo, posición 12, 13, 14 o 15) de la plantilla RT con respecto a la posición de un PAM de un ácido nucleico diana.

En algunas formas de realización, una porción extendida de un ácido nucleico guía extendido puede comprender, de 5' a 3', una plantilla RT y un sitio de unión de cebador (por ejemplo, cuando la porción extendida está unida al extremo 3' de un ácido nucleico CRISPR). En algunas formas de realización, una porción extendida de un ácido nucleico guía extendido puede comprender, de 5' a 3', un sitio de unión de cebador y una plantilla RT (RTT) (por ejemplo, cuando la porción extendida está unida al extremo 5' del ácido nucleico CRISPR). En algunas formas de realización, una plantilla RT puede tener una longitud de alrededor de 1 nucleótido a alrededor de 100 nucleótidos (p. ej., alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 o más nucleótidos, y cualquier rango o valor entre ellos), p. ej., alrededor de 1 nucleótido a alrededor de 10 nucleótidos, alrededor de 1 nucleótido a alrededor de 15 nucleótidos, alrededor de 1 nucleótido a alrededor de 20 nucleótidos, alrededor de 1 nucleótido a alrededor de 25 nucleótidos, alrededor de 1 nucleótido a alrededor de 30 nucleótidos, alrededor de 1 nucleótido a alrededor de 35, 36, 37, 38, 39 o 40 nucleótidos, alrededor de 1 nucleótido a alrededor de 50 nucleótidos, alrededor de 5 nucleótidos a alrededor de 15 nucleótidos, alrededor de 5 nucleótidos a alrededor de 20 nucleótidos, alrededor de 5 nucleótidos a alrededor de 25 nucleótidos, alrededor de 5 nucleótidos a alrededor de 30 nucleótidos, alrededor de 5 nucleótidos a alrededor de 35, 36, 37, 38, 39 o 40 nucleótidos, alrededor de 5 nucleótidos a alrededor de 50 nucleótidos, alrededor de 8 nucleótidos a alrededor de 15 nucleótidos, alrededor de 8 nucleótidos a alrededor de 20 nucleótidos, alrededor de 8

nucleótido a alrededor de 25 nucleótidos, alrededor de 8 nucleótido a alrededor de 30 nucleótidos, alrededor de 8 nucleótido a alrededor de 35, 36, 37, 38, 39 o 40 nucleótidos, alrededor de 8 nucleótido a alrededor de 50 nucleótidos de longitud, alrededor de 8 nucleótidos a alrededor de 100 nucleótidos, alrededor de 10 nucleótido a alrededor de 15 nucleótidos, alrededor de 10 nucleótido a alrededor de 20 nucleótidos, alrededor de 10 nucleótido a alrededor de 25 nucleótidos, alrededor de 10 nucleótido a alrededor de 30 nucleótidos, alrededor de 10 nucleótido a alrededor de 36 nucleótidos, alrededor de 10 nucleótido a alrededor de 40 nucleótidos, alrededor de 10 nucleótido a alrededor de 50 nucleótidos, alrededor de 10 nucleótidos a alrededor de 100 nucleótidos de longitud y cualquier rango o valor entre ellos. En algunas formas de realización, la longitud de una plantilla RT puede ser por lo menos 8 nucleótidos, opcionalmente alrededor de 8 nucleótidos a alrededor de 100 nucleótidos. En algunas formas de realización, la longitud de una plantilla RT es 36, 37, 38, 39 o 40 nucleótidos o menos (p. ej., alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, o 40 nucleótidos de longitud, o cualquier valor o rango entre ellos (p. ej., alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, o 15 nucleótidos de longitud a alrededor de 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, o 40 nucleótidos de longitud)). En algunas formas de realización, la longitud de una plantilla RT puede ser por lo menos 30 nucleótidos, opcionalmente alrededor de 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, o 40 nucleótidos de longitud a alrededor de a alrededor de 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, o 80 nucleótidos de longitud, o cualquier rango o valor entre ellos. En algunas formas de realización, la longitud de una plantilla RT puede ser alrededor de 36, 40, 44, 47, 50, 52, 55, 63, 72 o 74 nucleótidos. Dentro de la longitud de la RTT, pueden estar presentes una o más modificaciones. Las una o más modificaciones pueden ubicarse en cualquier parte dentro de la RTT, donde la posición de la modificación puede describirse relativa a la posición de un motivo adyacente de protoespaciador (PAM) de un ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, una plantilla RT puede comprender una modificación ubicada en la posición de nucleótido -1, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 o 23. En algunas formas de realización, una plantilla RT puede comprender una modificación ubicada en la posición de nucleótido 4 a posición de nucleótido 17 (p. ej., posición 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, o 17) de la plantilla RT relativa a la posición de un motivo adyacente de protoespaciador (PAM) de un ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, una plantilla RT puede comprender una modificación ubicada en la posición de nucleótido 10 a

posición de nucleótido 17 (p. ej., posición 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, o 17) de la plantilla RT relativa a la posición de un motivo adyacente de protoespaciador (PAM) de un ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, una plantilla RT puede comprender una modificación ubicada en la posición de nucleótido 12 a posición de nucleótido 15 (p. ej., posición 12, 13, 14, o 15) de la plantilla RT relativa a la posición de un motivo adyacente de protoespaciador (PAM) de un ácido nucleico diana.

Como se utiliza en el presente documento, un "sitio de unión de cebador" (PBS) de una porción extendida de un ácido nucleico guía extendido (por ejemplo, un ARNtag) se refiere a una secuencia de nucleótidos consecutivos que se puede unir a una región o "cebador" en un ácido nucleico diana. por ejemplo, es complementario al cebador del ácido nucleico diana. A modo de ejemplo, una proteína efectora CRISPR Cas (por ejemplo, un Tipo II o Tipo V, por ejemplo, Cas 9 o Cas12a) puede mellar/cortar el ADN y el extremo 3' del ADN cortado actúa como cebador para la porción de PBS del ácido nucleico guía extendido. El PBS puede ser complementario al extremo 3' de una hebra del ácido nucleico diana y puede unirse y/o puede estar configurado para unirse a la hebra diana o a la hebra no diana. Un sitio de unión de cebador puede ser totalmente complementario al cebador o puede ser sustancialmente complementario (p. ej., por lo menos 70 % complementario (p. ej., 70 % o alrededor de 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99.5 %, 99.6 %, 99.7 %, 99.8 %, 99.9 % o más)) la cebador de un ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, la longitud de un sitio de unión de cebador de una porción extendida puede ser de alrededor de 1 nucleótido a alrededor de 100 nucleótidos de longitud (p. ej., alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 o más nucleótidos, o cualquier valor o rango entre ellos), o alrededor de 4 nucleótido a alrededor de 85 nucleótidos, alrededor de 10 nucleótido a alrededor de 80 nucleótidos, alrededor de 20 nucleótido a alrededor de 80 nucleótidos, alrededor de 25 nucleótidos a alrededor de 80 nucleótidos alrededor de 30 nucleótido a alrededor de 80 nucleótidos, alrededor de 40 nucleótido a alrededor de 80 nucleótidos, alrededor de 45 nucleótido a alrededor de 80 nucleótidos, alrededor de 45 nucleótido a alrededor de 75 nucleótidos, o alrededor de 45 nucleótido a alrededor de 60 nucleótidos, o cualquier rango o valor entre ellos. En algunas formas de realización, la longitud de un PBS puede ser por lo menos 30 nucleótidos,

opcionalmente alrededor de 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, o 40 nucleótidos a alrededor de 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, o 80 nucleótidos de longitud, o cualquier rango o valor entre ellos. En algunas formas de realización, la longitud de un PBS puede ser alrededor de 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64, 72, o 80 nucleótidos.

En algunas formas de realización, una RTT puede tener una longitud de alrededor de 35 nucleótidos a alrededor de 75 nucleótidos, y un PBS puede tener una longitud de alrededor de 30 nucleótidos a alrededor de 80 nucleótidos, opcionalmente donde el PBS puede comprender una longitud de alrededor de 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64, 72, o 80 nucleótidos y la RTT puede comprender una longitud de alrededor de 36, 40, 44, 47, 50, 52, 55, 63, 72 o 74 nucleótidos, o cualquiera de sus combinaciones de la longitud de RTT y/o la longitud de PBS.

En algunas formas de realización, una porción extendida de un ácido nucleico guía extendido puede fusionarse con el extremo 5' o el extremo 3' de un ácido nucleico CRISPR Tipo II o Tipo V (por ejemplo, 5' a 3': repetición–espaciador–porción extendida, o porción extendida–repetición–espaciador) y/o con el extremo 5' o 3' del ácido nucleico tracr. En algunas formas de realización, cuando una porción extendida se ubica en el extremo 5' del ARNcr, se modifica una proteína efectora CRISPR–Cas Tipo V para reducir (o eliminar) la actividad de la ARNasa de autoprosesamiento.

En algunas formas de realización, la porción extendida de un ácido nucleico guía extendido puede estar unida al ácido nucleico CRISPR Tipo II o Tipo V y/o al ARNtracr Tipo II o Tipo V a través de un enlazador. En algunas formas de realización, un enlazador tiene una longitud de alrededor de 1 a alrededor de 100 nucleótidos o más (p. ej., alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 o más nucleótidos de longitud, y cualquier rango entre ellos (p. ej., alrededor de 2 a alrededor de 40, alrededor de 2 a alrededor de 50, alrededor de 2 a alrededor de 60, alrededor de 4 a alrededor de 40, alrededor de 4 a alrededor de 50, alrededor de 4 a alrededor de 60, alrededor de 5 a alrededor de 40, alrededor de 5 a alrededor de 50, alrededor de 5 a alrededor de 60, alrededor de 9 a alrededor de 40, alrededor de 9 a alrededor de 50, alrededor de 9 a alrededor de 60, alrededor de 10 a alrededor de 40, alrededor de 10 a alrededor de 50, alrededor de 10 a alrededor de 60, alrededor de 40 a alrededor de 100, alrededor de 50 a alrededor de 100, o alrededor de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 nucleótidos a alrededor de 26,

27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 o más nucleótidos de longitud (p. ej., alrededor de 105, 110, 115, 120, 130, 140 150 o más nucleótidos de longitud).

Un ácido nucleico guía y/o un ácido nucleico guía extendido pueden comprender uno o más motivos de reclutamiento como se describe en este documento, que pueden estar unidos al extremo 5' y/o al extremo 3' del ácido nucleico guía y/o pueden estar insertados en el ácido nucleico guía (por ejemplo, dentro de un bucle de horquilla del ácido nucleico guía). En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía extendido puede estar unido a un motivo de reclutamiento de ARN. Un ácido nucleico guía extendido y/o un ácido nucleico guía pueden estar unidos a uno o dos o más motivos de reclutamiento de ARN (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más motivos; por ejemplo, por lo menos 10 a alrededor de 25 motivos), opcionalmente, donde los dos o más motivos de reclutamiento de ARN pueden ser el mismo motivo de reclutamiento de ARN o diferentes motivos de reclutamiento de ARN. En algunas formas de realización, un motivo de reclutamiento de ARN puede estar ubicado en el extremo 3' de la porción extendida de un ácido nucleico guía extendido (por ejemplo, 5'–3', repetición–espaciador–porción extendida (plantilla RT–sitio de unión de cebador)–motivo de reclutamiento de ARN). En algunas formas de realización, un motivo de reclutamiento de ARN puede estar incrustado en la porción extendida de un ácido nucleico guía extendido.

En algunas formas de realización, un sistema de edición comprende un ácido nucleico guía extendido que está unido a un motivo de reclutamiento de ARN y una transcriptasa inversa que es una proteína de fusión de transcriptasa inversa, donde la proteína de fusión de transcriptasa inversa comprende un polipéptido de transcriptasa inversa fusionado a un polipéptido de afinidad que se une al motivo de reclutamiento de ARN, donde el ácido nucleico guía extendido se une a un ácido nucleico objetivo y el motivo de reclutamiento de ARN se une al polipéptido de afinidad, a fin de reclutar de ese modo la proteína de fusión de transcriptasa inversa al ácido nucleico guía extendido, y poner en contacto el ácido nucleico objetivo con la transcriptasa inversa. En algunas formas de realización, se pueden reclutar dos o más proteínas de fusión de transcriptasa inversa en un ácido nucleico guía extendido, a fin de poner así en contacto el ácido nucleico diana con dos o más proteínas de fusión de transcriptasa inversa.

Los términos “transgén” o “transgénico” como se utilizan en el presente documento se refieren a por lo menos una secuencia de ácido nucleico que se toma del genoma de un

organismo o se produce de forma sintética, y que luego se introduce en una célula huésped (por ejemplo, una célula vegetal) u organismo o tejido de interés y que posteriormente se integra en el genoma del huésped por medio de enfoques de transformación o transfección “estables”. Por el contrario, el término transformación o transfección o introducción “transitoria” se refiere a una forma de introducir herramientas moleculares que incluyen por lo menos un ácido nucleico (ADN, ARN, monocatenarios o bicatenarios, o una mezcla de los mismos) y/o por lo menos una secuencia de aminoácidos, que comprende opcionalmente agentes químicos o biológicos adecuados, para lograr una transferencia a por lo menos un compartimento de interés de una célula, que incluye, sin limitación, el citoplasma, un orgánulo, que incluye el núcleo, una mitocondria, una vacuola, un cloroplasto, o en una membrana, para producir la transcripción y/o traducción y/o asociación y/o actividad de la por lo menos una molécula introducida, sin lograr una integración o incorporación estable en el genoma y, por lo tanto, sin herencia de la respectiva por lo menos una molécula introducida en el genoma de una célula. El término “libre de transgenes” se refiere a una condición en la que un transgén no está presente o no se encuentra en el genoma de una célula o tejido huésped u organismo de interés.

En algunas formas de realización, un polinucleótido y/o una construcción de ácido nucleico de la invención puede ser un "casete de expresión" o puede estar comprendido dentro de un casete de expresión. Como se utiliza en el presente documento, "casete de expresión" significa una molécula de ácido nucleico recombinante que comprende, por ejemplo, una construcción de ácido nucleico de la invención (por ejemplo, un polinucleótido que codifica un polipéptido (por ejemplo, un permutante circular) de la presente invención, un polinucleótido que codifica una nucleasa, un polinucleótido que codifica una transcriptasa inversa, un polinucleótido que codifica una proteína de fusión de transcriptasa inversa, un polinucleótido que codifica una etiqueta peptídica, un polinucleótido que codifica un polipéptido de afinidad, un polinucleótido que codifica una glicosilasa y/o un polinucleótido que comprende un ácido nucleico guía), donde la construcción de ácido nucleico está asociada operativamente con por lo menos una secuencia de control (por ejemplo, un promotor). Por tanto, algunas formas de realización de la invención proporcionan casetes de expresión diseñados para expresar, por ejemplo, una construcción de ácido nucleico de la invención. Cuando un casete de expresión comprende más de un polinucleótido, los polinucleótidos pueden estar unidos operativamente a un único promotor que impulsa la expresión de todos los polinucleótidos, o los polinucleótidos pueden estar unidos operativamente a uno o más promotores separados (por ejemplo, tres polinucleótidos pueden estar impulsados por uno, dos o tres promotores en cualquier combinación). Así, por ejemplo, un polinucleótido que codifica un polipéptido de la

presente invención y un polinucleótido que comprende un ácido nucleico guía comprendido en un casete de expresión pueden estar asociados operativamente cada uno con un único promotor, o uno o más de los polinucleótidos pueden estar asociados operativamente con promotores separados (por ejemplo, dos o tres promotores) en cualquier combinación, que pueden ser iguales o diferentes entre sí.

En algunas formas de realización, un casete de expresión que comprende los polinucleótidos/construcciones de ácido nucleico de la invención puede optimizarse para la expresión en un organismo (por ejemplo, un animal, una planta, una bacteria y similares).

Un casete de expresión que comprende una construcción de ácido nucleico de la invención puede ser quimérico, lo que significa que por lo menos uno de sus componentes es heterólogo con respecto a por lo menos uno de sus otros componentes (p. ej., un promotor del organismo huésped unido operativamente a un polinucleótido de interés para ser expresado en el organismo huésped, donde el polinucleótido de interés es de un organismo diferente al huésped o no se encuentra normalmente en asociación con ese promotor). Un casete de expresión también puede ser uno que se produzca de forma natural pero que se haya obtenido en una forma recombinante útil para la expresión heteróloga.

Un casete de expresión puede incluir opcionalmente una región de terminación de transcripción y/o traducción (es decir, una región de terminación) y/o una región de mejorador que es funcional en la célula huésped seleccionada. Se conocen en la técnica una diversidad de terminadores y mejoradores de la transcripción, que están disponibles para su uso en casetes de expresión. Los terminadores de la transcripción son responsables de la terminación de la transcripción y la correcta poliadenilación del ARNm. Una región de terminación y/o la región de mejorador pueden ser nativas de la región de inicio de la transcripción, pueden ser nativas de un gen que codifica una proteína efectora CRISPR-Cas, o un gen que codifica un polipéptido de la presente invención, pueden ser nativas de una célula huésped, o pueden ser nativas de otra fuente (por ejemplo, extraña o heteróloga al promotor, al gen que codifica la proteína efectora CRISPR-Cas, a una célula huésped, o cualquier combinación de los mismos).

Un casete de expresión de la invención también puede incluir un polinucleótido que codifica un marcador seleccionable, que puede usarse para seleccionar una célula huésped transformada. Como se usa en el presente documento, "marcador seleccionable" significa una secuencia de polinucleótidos que, cuando se expresa, imparte un fenotipo distinto a la célula huésped que expresa el marcador y, por lo tanto, permite que dichas células transformadas se distingan de aquellas que no tienen el marcador. Dicha secuencia de polinucleótidos puede codificar un marcador seleccionable o rastreable, según si el marcador confiere un rasgo que

puede seleccionarse por medios químicos, tal como mediante el uso de un agente selectivo (p. ej., un antibiótico y similares), o si el marcador es simplemente un rasgo que se puede identificar a través de la observación o la prueba, tal como, por ejemplo, mediante el cribado (por ejemplo, fluorescencia). Muchos ejemplos de marcadores seleccionables adecuados se conocen en la técnica y se pueden usar en los casetes de expresión descritos en el presente documento.

Los casetes de expresión, las moléculas/construcciones de ácido nucleico y las secuencias de polinucleótidos descritas en el presente documento se pueden usar en relación con los vectores. El término "vector" se refiere a una composición para transferir, suministrar o introducir un ácido nucleico (o ácidos nucleicos) en una célula. Un vector puede comprender una construcción de ácido nucleico que comprende una o más secuencias de nucleótidos por transferir, suministrar o introducir en una célula. Los vectores para uso en la transformación de organismos huéspedes son bien conocidos en la técnica. Los ejemplos no limitantes de clases generales de vectores incluyen vectores virales (p. ej., vectores de virus adenoasociados (AAV), vectores de plásmidos, vectores de fagos, vectores de fagémidos, vectores de cósmidos, vectores de fósidos, bacteriófagos, cromosomas artificiales, minicírculos o vectores binarios de *Agrobacterium* en forma lineal o circular de cadena doble o sencilla que pueden o pueden no ser autotransmisibles o movilizables. En algunas formas de realización, un vector viral puede incluir, entre otros, un vector viral retroviral, lentiviral, adenoviral, adenoasociado o de herpes simplex. Un vector como se define en el presente documento puede transformar un huésped procariota o eucariota mediante integración en el genoma celular, o puede existir extracromosómicamente (p. ej., plásmido de replicación autónoma con un origen de replicación). Además, se incluyen vectores lanzadera, por los que se entiende un vehículo de ADN capaz, de forma natural o por diseño, de replicarse en dos organismos huéspedes diferentes, que pueden seleccionarse de actinomicetos y especies relacionadas, bacterias y eucariotas (p. ej., células de plantas superiores, mamíferos, levaduras o fúngicas). En algunas formas de realización, el ácido nucleico en el vector está bajo el control de un promotor apropiado u otros elementos reguladores para la transcripción en una célula huésped y está operativamente unido a ellos. El vector puede ser un vector de expresión bifuncional que funcione en múltiples huéspedes. En el caso del ADN genómico, este puede contener su propio promotor y/u otros elementos reguladores, y en el caso del ADNc, este puede estar bajo el control de un promotor apropiado y/u otros elementos reguladores para la expresión en la célula huésped. Por consiguiente, un ácido nucleico de esta invención y/o los casetes de expresión

que comprenden los mismos pueden estar incluidos en vectores como se describe en el presente documento y como se conoce en la técnica.

Tal como se utiliza en este documento, "contacto", "poner en contacto", "contactado" y variaciones gramaticales de los mismos, se refieren a colocar los componentes de una reacción deseada juntos en condiciones adecuadas para llevar a cabo la reacción deseada (por ejemplo, transformación, control de transcripción, edición del genoma, mellado y/o escisión). Por lo tanto, por ejemplo, un ácido nucleico diana puede ponerse en contacto con una construcción de ácido nucleico de la invención que comprende, por ejemplo, un polinucleótido que codifica un polipéptido de la presente invención y opcionalmente un ácido nucleico guía, en condiciones en las que se expresa el polipéptido (por ejemplo, que comprende un permutante circular), y el polipéptido forma un complejo con un ácido nucleico guía, el complejo se hibrida con el ácido nucleico diana, y opcionalmente el polipéptido de la presente invención puede reclutar uno o más componentes adicionales (por ejemplo, una transcriptasa inversa, un inhibidor de la glicosilasa y/o una desaminasa) para sí mismo (y, por lo tanto, para el ácido nucleico diana), o uno o más componentes adicionales se fusionan al polipéptido, para modificar de ese modo el ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención se localiza en un ácido nucleico diana, opcionalmente a través de interacciones no covalentes. Se pueden utilizar métodos para reclutar uno o más componentes adicionales (por ejemplo, una transcriptasa inversa y/o una desaminasa) que aprovechen otras interacciones de proteína–proteína, interacciones de ARN–proteína y/o interacciones químicas. En algunas formas de realización, un ácido nucleico diana se puede poner en contacto con una ribonucleoproteína que comprende un polipéptido de la presente invención (por ejemplo, que comprende un permutante circular) y opcionalmente un ácido nucleico guía, y la ribonucleoproteína se hibrida con el ácido nucleico diana, y opcionalmente el polipéptido de la presente invención puede reclutar uno o más componentes adicionales (por ejemplo, una transcriptasa inversa, un inhibidor de la glicosilasa y/o una desaminasa) para sí mismo (y, por lo tanto, para el ácido nucleico diana), o uno o más componentes adicionales se fusionan al polipéptido, para modificar así el ácido nucleico diana.

En algunas formas de realización, un ácido nucleico diana puede ponerse en contacto con una construcción de ácido nucleico de la invención que codifica un polipéptido de la presente invención y opcionalmente un ácido nucleico guía, en condiciones en las que se expresa el polipéptido, o un ácido nucleico diana puede ponerse en contacto con un polipéptido de la presente invención y opcionalmente un ácido nucleico guía. El polipéptido de la presente invención puede formar un complejo con el ácido nucleico guía, y el complejo puede hibridarse

con el ácido nucleico diana, y/o un polipéptido de la presente invención puede ser reclutado al ácido nucleico diana, lo que puede dar como resultado la modificación del ácido nucleico diana.

Como se usa en el presente documento, "modificar" o "modificación" con referencia a un ácido nucleico diana incluye edición (por ejemplo, mutación), modificación covalente, intercambio/sustitución de ácidos nucleicos/bases de nucleótidos, delección, escisión y/o mellado de un ácido nucleico diana para proporcionar de ese modo un ácido nucleico modificado y/o alterar el control de transcripción de un ácido nucleico diana para proporcionar de ese modo un ácido nucleico modificado. En algunas formas de realización, una modificación puede incluir una inserción y/o delección de cualquier tamaño y/o un cambio de base única (SNP) de cualquier tipo. En algunas formas de realización, una modificación comprende un SNP. En algunas formas de realización, una modificación comprende intercambiar y/o sustituir uno o más nucleótidos (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5 o más). En algunas formas de realización, una inserción o delección puede ser de alrededor de 1 base a alrededor de 30.000 bases o más de longitud (p. ej., alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 9500, 10.000, 10.500, 11.000, 11.500, 12.000, 12.500, 13.000, 13.500, 14.000, 14.500, 15.000, 15.500, 16.000, 16.500, 17.000, 17.500, 18.000, 18.500, 19.000, 19.500, 20.000, 20.500, 21.000, 21.500, 22.000, 22.500, 23.000, 23.500, 24.000, 24.500, 25.000, 25.500, 26.000, 26.500, 27.000, 27.500, 28.000, 28.500, 29.000, 29.500, 30.000 bases de longitud o más, o cualquier valor o rango entre ellos). Así, en algunas formas de realización, una inserción o delección puede ser alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300 a

alrededor de 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990, 1000 bases de longitud, o cualquier rango o valor entre ellos; alrededor de 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300 bases a alrededor de 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000 bases o más de longitud, o cualquier valor o rango entre ellos; alrededor de 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000 bases a alrededor de 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 9500, o 10,000 bases o más de longitud, o cualquier valor o rango entre ellos; o alrededor de 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, o 700 bases a alrededor de 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, o 5000 bases o más de longitud, o cualquier valor o rango entre ellos. En algunas formas de realización, una inserción o delección puede ser alrededor de 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 9500, o 10.000 bases a alrededor de 10.500, 11.000, 11.500, 12.000, 12.500, 13.000, 13.500, 14.000, 14.500, 15.000, 15.500, 16.000, 16.500, 17.000, 17.500, 18.000, 18.500, 19.000, 19.500, 20.000, 20.500, 21.000, 21.500, 22.000, 22.500, 23.000, 23.500, 24.000, 24.500, 25.000, 25.500, 26.000, 26.500, 27.000, 27.500, 28.000, 28.500, 29.000, 29.500, o 30.000 bases o más de longitud, o cualquier valor o rango entre ellos.

"Reclutar" o "reclutamiento" como se usan en este documento se refieren a atraer uno o más polipéptidos o polinucleótidos a otro polipéptido o polinucleótido (por ejemplo, a una

ubicación particular en un genoma) utilizando interacciones de proteína–proteína, interacciones de proteína–ácido nucleico (por ejemplo, interacciones de proteína–ARN) y/o interacciones químicas. Las interacciones de proteína–proteína pueden incluir, sin limitación, etiquetas de péptidos (epítomos, epítomos multimerizados) y polipéptidos de afinidad correspondientes, motivos de reclutamiento de ARN y polipéptidos de afinidad correspondientes, y/o interacciones químicas. Las interacciones químicas de ejemplo que pueden ser útiles con polipéptidos y polinucleótidos para el propósito del reclutamiento pueden incluir, sin limitación, dimerización inducible por rapamicina de FRB – FKBP; interacción de biotina–estreptavidina; etiqueta SNAP (Hussain et al. *Curr Pharm Des.* 19 (30): 5437–42 (2013)); etiqueta Halo (Los et al. *ACS Chem Biol.* 3 (6): 373–82 (2008)); etiqueta CLIP (Gautier et al. *Chemistry & Biology* 15: 128–136 (2008)); heterodímero DmrA–DmrC inducido por un compuesto (Tak et al. *Nat Methods* 14 (12): 1163–1166 (2017)); y/o enfoques de ligando bifuncional (p. ej., dimerización inducida químicamente (Voß et al. *Curr Opin Chemical Biology* 28: 194–201 (2015) (p. ej. dihidrofolato reductasa (DHFR) (Kopyteck et al. *Cell Cehm Biol* 7 (5): 313–321 (2000))). En algunas formas de realización, un método y/o sistema de reclutamiento de la presente invención utiliza una interacción proteína–proteína y/o interacción ácido nucleico–proteína (p. ej., interacciones ARN–proteína) para atraer un polipéptido o polinucleótido a otro polipéptido o polinucleótido (p. ej., a una ubicación particular en un genoma).

"Introducir", "introducción", "introducido" (y variaciones gramaticales de los mismos) en el contexto de un polinucleótido de interés o sistema de edición significa presentar una secuencia de nucleótidos de interés (p. ej., polinucleótido, una construcción de ácido nucleico y/o un ácido nucleico guía) y/o un sistema de edición (por ejemplo, un polinucleótido, polipéptido y/o ribonucleoproteína) a un organismo huésped o célula de dicho organismo (por ejemplo, célula huésped; por ejemplo, una célula vegetal) de tal manera que la secuencia de nucleótidos y/o el sistema de edición obtengan acceso al interior de una célula. Así, por ejemplo, una construcción de ácido nucleico de la invención que codifica un polipéptido de la presente invención y/o un ácido nucleico guía pueden introducirse en una célula de un organismo, de modo de transformar así la célula con el polipéptido, la proteína efectora CRISPR–Cas, el ácido nucleico guía y la transcriptasa inversa. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención y/o un ácido nucleico guía pueden introducirse en una célula de un organismo, opcionalmente en donde el polipéptido y el ácido nucleico guía pueden estar comprendidos en un complejo (por ejemplo, una

ribonucleoproteína). En algunas formas de realización, el organismo es un eucariota (por ejemplo, un mamífero tal como un ser humano).

El término "transformación" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a la introducción de un ácido nucleico, polipéptido y/o ribonucleoproteína (por ejemplo, un ácido nucleico, polipéptido y/o ribonucleoproteína heterólogos) en una célula. La transformación de una célula puede ser estable o transitoria. Por lo tanto, en algunas formas de realización, una célula huésped o un organismo huésped pueden transformarse de forma estable con una molécula de polinucleótido/ácido nucleico de la invención. En algunas formas de realización, una célula huésped o un organismo huésped pueden transformarse de forma transitoria con una construcción de ácido nucleico, un polipéptido y/o una ribonucleoproteína de la invención.

"Transformación transitoria" en el contexto de un polinucleótido, polipéptido y/o ribonucleoproteína significa que un polinucleótido, polipéptido y/o ribonucleoproteína se introduce en la célula y no se integra en el genoma de la célula

Por "introducir de forma estable" o "introducido de forma estable" en el contexto de un polinucleótido introducido en una célula se pretende que el polinucleótido introducido se incorpora de forma estable en el genoma de la célula y, por tanto, la célula se transforma de forma estable con el polinucleótido.

"Transformación estable" o "transformado/a de forma estable", como se usa en el presente documento, significa que una molécula de ácido nucleico se introduce en una célula y se integra en el genoma de la célula. De este modo, la molécula de ácido nucleico integrada puede ser heredada por su progenie, más particularmente, por la progenie de múltiples generaciones sucesivas. "Genoma", como se usa en el presente documento, incluye el genoma nuclear y plástido y, por lo tanto, incluye la integración del ácido nucleico en, por ejemplo, el cloroplasto o el genoma mitocondrial. La transformación estable, como se usa en el presente documento, también puede referirse a un transgén que se mantiene extracromosómicamente, por ejemplo, como un minicromosoma o un plásmido.

La transformación transitoria puede detectarse, por ejemplo, mediante un ensayo inmunosorbente ligado a enzimas (ELISA, conforme a sus siglas en inglés) o transferencia Western, que puede detectar la presencia de un péptido o polipéptido codificado por uno o más transgenes introducidos en un organismo. La transformación estable de una célula puede detectarse, por ejemplo, mediante un ensayo de hibridación de transferencia Southern del ADN genómico de la célula con secuencias de ácido nucleico que se hibridan específicamente con una secuencia de nucleótidos de un transgén introducido en un organismo (por ejemplo, un mamífero, una planta, etc.). La transformación estable de una célula puede detectarse, por

ejemplo, mediante un ensayo de hibridación de transferencia Northern del ARN de la célula con secuencias de ácido nucleico que se hibridan específicamente con una secuencia de nucleótidos de un transgén introducido en un organismo huésped. La transformación estable de una célula también puede detectarse, por ejemplo, mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) u otras reacciones de amplificación, como se conoce bien en la técnica, empleando secuencias de cebadores específicas que se hibridan con la(s) secuencia(s) diana de un transgén, lo que produce la amplificación de la secuencia transgénica, que puede detectarse de acuerdo con métodos estándares. La transformación también puede detectarse mediante secuenciación directa y/o protocolos de hibridación bien conocidos en la técnica.

Por consiguiente, en algunas formas de realización, las secuencias de nucleótidos, los polinucleótidos, las construcciones de ácidos nucleicos y/o los casetes de expresión de la invención pueden expresarse de forma transitoria y/o pueden incorporarse de forma estable en el genoma del organismo huésped. Por lo tanto, en algunas formas de realización, una construcción de ácido nucleico de la invención puede introducirse de forma transitoria en una célula con un ácido nucleico guía y, de este modo, no se mantiene ADN en la célula

Una construcción de ácido nucleico, un polipéptido y/o una ribonucleoproteína de la invención se pueden introducir en una célula mediante cualquier método conocido por los expertos en la técnica. En algunas formas de realización, los métodos de transformación incluyen, sin limitación, la transformación a través del suministro de ácidos nucleicos mediado por bacterias (p. ej., a través de *Agrobacterias*), el suministro de ácidos nucleicos mediado por virus, el suministro de ácidos nucleicos mediado por virutas de ácido nucleico y/o carburo de silicio, el suministro de ácidos nucleicos mediado por liposomas, la microinyección, el bombardeo de micropartículas, transformación mediada por fosfato de calcio, transformación mediada por ciclodextrina, electroporación, transformación mediada por nanopartículas, sonicación, infiltración, captación de ácido nucleico mediada por PEG, así como cualquier otro mecanismo eléctrico, químico, físico (mecánico) y/o biológico que logre la introducción de ácido nucleico en la célula (por ejemplo, una célula vegetal o una célula animal), incluida cualquier combinación de las mismas. En algunas formas de realización de la invención, la transformación de una célula comprende la transformación nuclear. En algunas formas de realización, la transformación de una célula comprende la transformación de plástidos (por ejemplo, la transformación de cloroplastos). En algunas formas de realización, una construcción de ácido nucleico recombinante de la invención se puede introducir en una célula mediante técnicas de reproducción convencionales.

Los procedimientos para transformar organismos eucarióticos y procarióticos son bien conocidos y rutinarios en la técnica y se describen en toda la bibliografía (ver, por ejemplo, Jiang et al. 2013. *Nat. Biotechnol.* 31: 233–239; Ran et al. *Nature Protocols* 8: 2281–2308 (2013)). Las guías generales para diversos métodos de transformación de plantas conocidos en la técnica incluyen Miki et al. ("Procedures for Introducing Foreign DNA into Plants" en *Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*, Glick, B. R., y Thompson, J. E., Eds. (CRC Press, Inc., Boca Raton, 1993), pp. 67–88) y Rakowoczy–Trojanowska (*Cell. Mol. Biol. Lett.* 7: 849–858 (2002)).

Por lo tanto, una secuencia de nucleótidos, un polipéptido y/o una ribonucleoproteína se pueden introducir en un organismo huésped o en su célula de cualquier número de formas que son bien conocidas en la técnica. Los métodos de la invención no dependen de un método particular para introducir una o más secuencias de nucleótidos, polipéptidos y/o ribonucleoproteínas en el organismo, solo que obtengan acceso al interior de por lo menos una célula del organismo. Cuando se van a introducir más de una secuencia de nucleótidos, polipéptidos y/o ribonucleoproteína, se pueden ensamblar como parte de una única construcción de ácido nucleico, o como construcciones de ácido nucleico separadas, y se pueden ubicar en la misma o en diferentes construcciones de ácido nucleico. En consecuencia, una secuencia de nucleótidos, un polipéptido y/o una ribonucleoproteína se pueden introducir en la célula de interés en un único evento de transformación, y/o en eventos de transformación separados, o, alternativamente, cuando sea pertinente, una secuencia de nucleótidos se puede incorporar en una planta, por ejemplo, como parte de un protocolo de mejora. En algunas formas de realización, la célula es una célula eucariota (por ejemplo, una célula vegetal o una célula de mamífero, tal como una célula humana).

En algunas formas de realización, una construcción de ácido nucleico de la invención (por ejemplo, un polinucleótido que codifica un polipéptido de la presente invención, y/o un ácido nucleico guía y/o casetes de expresión y/o vectores que los comprenden) puede estar operativamente unida a por lo menos una secuencia reguladora, opcionalmente, donde la por lo menos una secuencia reguladora puede estar optimizada por codones para la expresión en una planta. En algunas formas de realización, la por lo menos una secuencia reguladora puede ser, por ejemplo, un promotor, un operón, un terminador o un mejorador. En algunas formas de realización, la por lo menos una secuencia reguladora puede ser un promotor. En algunas formas de realización, la secuencia reguladora puede ser un intrón. En algunas formas de realización, la por lo menos una secuencia reguladora puede ser, por ejemplo, un promotor asociado operativamente con un intrón, o una región de promotor que comprende un intrón. En

algunas formas de realización, la por lo menos una secuencia reguladora puede ser, por ejemplo, un promotor de ubiquitina y su intrón asociado (p. ej., *Medicago truncatula* y/o *Zea mays* y sus intrones asociados). En algunas formas de realización, la por lo menos una secuencia reguladora puede ser una secuencia de nucleótidos terminadora y/o una secuencia de nucleótidos mejoradora.

En algunas formas de realización, una construcción de ácido nucleico de la invención puede estar asociada operativamente con una región promotora, donde la región promotora comprende un intrón, opcionalmente en donde la región promotora puede ser un promotor de ubiquitina e intrón (p. ej., un promotor y un intrón de ubiquitina de *Medicago* o de maíz, p. ej., **SEQ ID NO: 37** o **SEQ ID NO: 38**). En algunas formas de realización, la construcción de ácido nucleico de la invención que está asociada operativamente con una región promotora que comprende un intrón puede estar optimizada por codones para la expresión en una planta.

En algunas formas de realización, una construcción de ácido nucleico de la invención puede codificar uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o más) polipéptidos de interés. El uno o más polipéptidos de interés pueden estar optimizados por codones para la expresión en un eucariota (por ejemplo, un ser humano o una planta). En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención puede comprender uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o más) polipéptidos de interés.

Un polipéptido de interés útil con esta invención puede incluir, sin limitación, un dominio de proteína o polipéptido que tiene actividad de desaminasa, actividad de nickasa, actividad de recombinasa, actividad de transposasa, actividad de metilasa, actividad de glicosilasa (ADN glicosilasa), actividad inhibidora de glicosilasa (p. ej., inhibidor de uracilo-ADN glicosilasa (UGI)), una transcriptasa inversa, una etiqueta peptídica (p. ej., una etiqueta peptídica GCN4), actividad de desmetilasa, actividad de activación de la transcripción, actividad de represión de la transcripción, actividad de factor de liberación de la transcripción, actividad de modificación de histonas, actividad de nucleasa, actividad de escisión de ARN monocatenario, actividad de escisión de ARN bicatenario, actividad de endonucleasa de restricción (p. ej., Fok1), actividad de unión de ácidos nucleicos, actividad de metiltransferasa, actividad de reparación de ADN, actividad de daño de ADN, actividad de dismutasa, actividad de alquilación, actividad de despurinación, actividad de oxidación, actividad de formación de dímeros de pirimidina, actividad de integrasa, actividad de transposasa actividad, actividad de polimerasa, actividad de ligasa, actividad de helicasa, una secuencia o actividad de localización nuclear, un polipéptido de afinidad, una etiqueta peptídica y/o actividad de fotoliasa. En algunas formas de realización, el polipéptido de interés es una nucleasa Fok1 o un inhibidor de

la uracilo–ADN glicosilasa. En algunas formas de realización, el polipéptido de interés es una citosina desaminasa (p. ej., enzima de edición de ARNm de apolipoproteína B, polipéptido catalítico de tipo 3A (A3A)). En algunas formas de realización, el polipéptido de interés es una adenina desaminasa (p. ej., TadA8e). Cuando se codifica en un ácido nucleico (polinucleótido, casete de expresión y/o vector), el dominio de proteína o polipéptido codificado puede estar optimizado por codones para la expresión en un organismo. En algunas formas de realización, un polipéptido de interés puede estar unido a un dominio de proteína efectora CRISPR–Cas para proporcionar una proteína de fusión CRISPR–Cas. En algunas formas de realización, una proteína de fusión CRISPR–Cas que comprende un dominio de proteína efectora CRISPR–Cas unido a una etiqueta peptídica también puede estar unida a un polipéptido de interés (por ejemplo, un dominio de proteína efectora CRISPR–Cas puede estar, por ejemplo, unido tanto a una etiqueta peptídica (o un polipéptido de afinidad) como, por ejemplo, a un polipéptido de interés).

En algunas formas de realización, un sistema de edición de la presente invención comprende una proteína efectora CRISPR–Cas y/o un polipéptido de la presente invención (por ejemplo, un permutante circular). Como se utiliza en el presente documento, una "proteína efectora CRISPR–Cas" es una proteína o polipéptido que escinde, corta o mella un ácido nucleico; se une a un ácido nucleico (por ejemplo, un ácido nucleico diana y/o un ácido nucleico guía); y/o que identifica, reconoce o se une a un ácido nucleico guía como se define en el presente documento. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una enzima (por ejemplo, una nucleasa, endonucleasa, nickasa, etc.) y/o puede funcionar como una enzima. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas se refiere a una nucleasa CRISPR–Cas. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas comprende actividad de nucleasa y/o actividad de nickasa, comprende un dominio de nucleasa cuya actividad de nucleasa y/o actividad de nickasa se ha reducido o eliminado, comprende actividad de escisión de ADN monocatenario (actividad de DNasa ss) o tiene actividad de DNasa ss que se ha reducido o eliminado, y/o comprende actividad de ARNasa de autoprocesamiento o tiene actividad de ARNasa de autoprocesamiento que se ha reducido o eliminado. Una proteína efectora CRISPR–Cas puede unirse a un ácido nucleico diana. Una proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una proteína efectora CRISPR–Cas de tipo I, II, III, IV, V o VI. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas puede ser de un sistema CRISPR–Cas Tipo I, un sistema CRISPR–Cas Tipo II, un sistema CRISPR–Cas Tipo III, un sistema CRISPR–Cas Tipo IV, un sistema CRISPR–Cas Tipo V o un sistema CRISPR–Cas Tipo VI. En algunas formas de realización, una proteína efectora

CRISPR–Cas puede ser de un sistema CRISPR–Cas Tipo II o de un sistema CRISPR–Cas Tipo V. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una proteína efectora CRISPR–Cas Tipo II, por ejemplo, una proteína efectora Cas9. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una proteína efectora CRISPR–Cas Tipo V, por ejemplo, una proteína efectora Cas12. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas puede ser Cas12a y opcionalmente puede tener una secuencia de aminoácidos de cualquiera de las **SEQ ID NO: 39–65, 298 y 850–852** y/o una secuencia de nucleótidos de cualquiera de las **SEQ ID NO: 66–68, 246 y 949**. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una Cas12a activa y opcionalmente puede tener una secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 46, 55 o 56**. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una Cas12a inactiva (es decir, muerta) y opcionalmente puede tener una secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 59, 60, 61 u 850–852**.

Las proteínas efectoras CRISPR–Cas ejemplares incluyen, entre otras, una nucleasa Cas9, C2c1, C2c3, Cas12a (también referida como Cpf1), Cas12b, Cas12c, Cas12d, Cas12e, Cas13a, Cas13b, Cas13c, Cas13d, Cas1, Cas1B, Cas2, Cas3, Cas3', Cas3'', Cas4, Cas5, Cas6, Cas7, Cas8, Cas9 (también conocida como Csn1 y Csx12), Cas10, Csy1, Csy2, Csy3, Cse1, Cse2, Cse1, Csc2, Csa5, Csn2, Csm2, Csm3, Csm4, Csm5, Csm6, Cmr1, Cmr3, Cmr4, Cmr5, Cmr6, Csbl, Csb2, Csb3, Csx17, Csx14, Csx10, Csx16, CsaX, Csx3, Csx1, Csx15, Csfl, Csf2, Csf3, Csf4 (dinG), y/o Csf5, opcionalmente, donde la proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una proteína efectora Cas9, Cas12a (Cpf1), Cas12b, Cas12c (C2c3), Cas12d (CasY), Cas12e (CasX), Cas12g, Cas12h, Cas12i, C2c4, C2c5, C2c8, C2c9, C2c10, Cas14a, Cas14b, y/o Cas14c.

En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas útil con la invención puede comprender una mutación en su sitio activo de nucleasa y/o dominio de nucleasa (p. ej., un RuvC, HNH, p. ej., un sitio RuvC de un dominio de nucleasa Cas12a; p. ej., un sitio RuvC y/o sitio HNH de un dominio de nucleasa Cas9). Una proteína efectora CRISPR–Cas que tiene una mutación en su sitio activo de nucleasa y/o dominio de nucleasa que hace que la proteína no tenga actividad de nucleasa se denomina comúnmente "inactiva" o "muerta", p. ej., dCas9. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas que tiene una mutación en su sitio activo de nucleasa y/o dominio de nucleasa puede tener una actividad deteriorada o una actividad reducida (p. ej., actividad de nickasa) en comparación con la misma proteína efectora CRISPR–Cas sin la mutación. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas que tiene una mutación en su sitio activo de nucleasa puede

comprender una mutación de arginina a alanina en su sitio activo de nucleasa. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas que tiene una mutación en su sitio activo de nucleasa puede ser una nickasa Cas12a que comprende una mutación R1138A y/o puede tener la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 62**. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una nickasa catalítica de hebra no diana.

Una proteína efectora CRISPR Cas9 o Cas9 útil con esta invención puede ser cualquier nucleasa Cas9 conocida o identificada posteriormente. En algunas formas de realización, una Cas9 puede ser una proteína de, por ejemplo, el género *Streptococcus* (p. ej., *S. pyogenes*, *S. thermophilus*), género *Lactobacillus*, género *Bifidobacterium*, género *Kandleria*, género *Leuconostoc*, género *Oenococcus*, género *Pediococcus*, género *Weissella*, y/o género *Olsenella*. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una Cas9 y opcionalmente puede tener una secuencia de nucleótidos de cualquiera de **SEQ ID NOs: 141–155** y/o una secuencia de aminoácidos de cualquiera de **SEQ ID NOs: 133–140 y 156–157**.

En algunas formas de realización, la proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una Cas9 derivada de *Streptococcus pyogenes* y/o puede reconocer el motivo de secuencia PAM NGG, NAG, NGA (Mali et al, Science 2013; 339(6121): 823–826). En algunas formas de realización, la proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una Cas9 derivada de *Streptococcus thermophiles* y/o puede reconocer el motivo de secuencia PAM NGGNG y/o NNAGAAW (W = A o T) (ver, p. ej., Horvath et al, Science, 2010; 327 (5962): 167–170, y Deveau et al, J Bacteriol 2008; 190 (4): 1390–1400). En algunas formas de realización, la proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una Cas9 derivada de *Streptococcus mutans* y/o puede reconocer el motivo de secuencia PAM NGG y/o NAAR (R = A o G) (ver, p. ej., Deveau et al, J BACTERIOL 2008; 190 (4): 1390–1400). En algunas formas de realización, la proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una Cas9 derivada de *Streptococcus aureus* y/o puede reconocer el motivo de secuencia PAM NNGRR (R = A o G). En algunas formas de realización, la proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una Cas9 derivada de *S. aureus* y/o puede reconocer el motivo de secuencia PAM NGRRT (R = A o G). En algunas formas de realización, la proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una Cas9 derivada de *S. aureus* y/o puede reconocer el motivo de secuencia PAM NGRRV (R = A o G). En algunas formas de realización, la proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una Cas9 que es derivada de *Neisseria meningitidis* y/o puede reconocer el motivo de secuencia PAM N GATT o N GCTT (R = A o G, V = A, G o C) (ver, p. ej., Hou et al, PNAS 2013, 1–6). En las formas de realización mencionadas anteriormente en este párrafo, N en el motivo de secuencia PAM puede ser cualquier residuo de nucleótido, p. ej., cualquiera de A, G, C o T.

En algunas formas de realización, la proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una Cas13a derivada de *Leptotrichia shahii* y/o puede reconocer un motivo de secuencia de secuencia flanqueante de protoespaciador (PFS) (o ARN PAM (rPAM)) de un solo 3' A, U, o C, que puede ubicarse dentro del ácido nucleico diana.

Una proteína efectora CRISPR–Cas de tipo V útil con las formas de realización de la invención puede ser cualquier nucleasa CRISPR–Cas de tipo V. Las proteínas efectoras CRISPR–Cas de tipo V ejemplares incluyen, sin limitación, nucleada Cas12a (Cpf1), Cas12b, Cas12c (C2c3), Cas12d (CasY), Cas12e (CasX), Cas12g, Cas12h, Cas12i, C2c1, C2c4, C2c5, C2c8, C2c9, C2c10, Cas14a, Cas14b, y/o Cas14c. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas de tipo V puede ser una Cas12a. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas de tipo V puede ser una nickasa, opcionalmente, una nickasa Cas12a.

En algunas formas de realización, la proteína efectora CRISPR–Cas puede ser una nucleasa Cas de repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas (CRISPR) de tipo V. Cas12a difiere en varios aspectos de la nucleasa Cas9 de tipo II CRISPR más conocida. Por ejemplo, Cas9 reconoce un motivo protoespaciador adyacente (PAM) rico en G que está 3' respecto de su sitio de unión de ARN guía (ARNg, ARNsg, ARNcr, ADNcr, matriz CRISPR) (protoespaciador, ácido nucleico diana, ADN diana) (3'–NGG), mientras que Cas12a reconoce un PAM rico en T que está ubicado 5' al ácido nucleico diana (5'–TTN, 5'–TTTN). De hecho, las orientaciones en las que Cas9 y Cas12a se unen a sus ARN guía están casi invertidas en relación con sus extremos N y C–terminales. Además, las enzimas Cas12a utilizan un solo ARN guía (ARNg, matriz CRISPR, ARNcr) en lugar del ARN guía dual (ARNsg (p. ej., ARNcr y ARNtracr)) que se encuentra en los sistemas Cas9 naturales, y Cas12a procesa sus propios ARNg. Además, la actividad de la nucleasa Cas12a produce roturas de doble hebra de ADN escalonadas en lugar de extremos romos se producen por la actividad de la nucleasa Cas9, y Cas12a depende de un solo dominio RuvC para escindir ambas hebras de ADN, mientras que Cas9 utiliza un dominio HNH y un dominio RuvC para la escisión.

Una proteína efectora Cas12a de CRISPR útil con esta invención puede ser cualquier Cas12a conocida o identificada posteriormente (anteriormente conocida como Cpf1) (véase, por ejemplo, la Patente de EE. UU. Nro. 9.790.490, que se incorpora como referencia por sus divulgaciones de secuencias de Cpf1 (Cas12a)). El término "Cas12a" se refiere a una proteína guiada por ARN que puede tener actividad de nucleasa, donde la proteína comprende un dominio de unión de ácido nucleico guía y un dominio de escisión de ADN activo, inactivo o parcialmente activo, por lo que la actividad de nucleasa guiada por ARN de la Cas12a puede

ser activa, inactiva o parcialmente activa, respectivamente. En algunas formas de realización, una Cas12a útil con la invención puede comprender una mutación en el sitio activo de la nucleasa (por ejemplo, un sitio RuvC del dominio Cas12a). Una Cas12a que tiene una mutación en su dominio de nucleasa y/o sitio activo de nucleasa y, por lo tanto, que ya no comprende actividad de nucleasa, se denomina comúnmente Cas12a muerta (p. ej., dCas12a). En algunas formas de realización, una Cas12a que tiene una mutación en su dominio de nucleasa y/o sitio activo de nucleasa puede tener una actividad deteriorada, p. ej., puede tener una actividad de nickasa reducida. En algunas formas de realización, una Cas12a puede tener una secuencia de aminoácidos de cualquiera de las **SEQ ID NO: 39–65, 298 y 850–852**.

En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas puede optimizarse para la expresión en un organismo, por ejemplo, en un animal (p. ej., un mamífero como un ser humano), una planta, un hongo, una arquea o una bacteria. En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas (por ejemplo, un polipéptido/dominio Cas12a o un polipéptido/dominio Cas9) puede optimizarse para su expresión en una planta.

Un polipéptido de la presente invención puede usarse en combinación con un ácido nucleico guía (por ejemplo, ARN guía (ARNg), matriz CRISPR, ARN CRISPR, ARNcr o ácido nucleico guía extendido) que está diseñado para funcionar con una proteína efectora CRISPR–Cas para modificar un ácido nucleico diana. Un ácido nucleico guía útil con esta invención puede comprender por lo menos una secuencia espaciadora y por lo menos una secuencia de repetición. El ácido nucleico guía puede ser capaz de formar un complejo con una proteína efectora CRISPR–Cas (por ejemplo, con un dominio nucleasa de la proteína) y/o un polipéptido de la presente invención, y la secuencia espaciadora es capaz de hibridarse con un ácido nucleico diana, para guiar así el complejo hacia el ácido nucleico diana, donde el ácido nucleico diana puede ser modificado (por ejemplo, escindido o editado) y/o modulado (por ejemplo, modulando la transcripción) por un polipéptido de la presente invención, opcionalmente presente en y/o reclutado en el complejo).

En algunas formas de realización, una proteína efectora CRISPR–Cas que comprende un dominio Cas9 (o una construcción de ácido nucleico que lo codifica) se puede utilizar en combinación con un ácido nucleico guía Cas9 para modificar un ácido nucleico objetivo, y puede estar en un complejo o puede formar un complejo.

Asimismo, una proteína efectora CRISPR–Cas puede comprender un dominio Cas12a (u otra nucleasa CRISPR–Cas seleccionada, p. ej., C2c1, C2c3, Cas12b, Cas12c, Cas12d, Cas12f, Cas12i, Cas12e, Cas13a, Cas13b, Cas13c, Cas13d, Cas1, Cas1B, Cas2, Cas3, Cas3', Cas3'', Cas4, Cas5, Cas6, Cas7, Cas8, Cas9 (también conocida como Csn1 y Csx12), Cas10,

Csyl, Csy2, Csy3, Csel, Cse2, Cscl, Csc2, Csa5, Csn2, Csm2, Csm3, Csm4, Csm5, Csm6, Cmr1, Cmr3, Cmr4, Cmr5, Cmr6, Csbl, Csb2, Csb3, Csx17, Csx14, Csx10, Csx16, CsaX, Csx3, Csx1, Csx15, Csfl, Csf2, Csf3, Csf4 (dinG), y/o Csf5), que puede usarse en combinación con un ácido nucleico guía Cas12a (o el ácido nucleico guía para la otra nucleasa CRISPR–Cas seleccionada) para modificar un ácido nucleico diana, a fin de editar así el ácido nucleico diana.

Un “ácido nucleico guía,” “ARN guía,” “ARNg,” “ARN/ADN CRISPR,” “ARNcr” o “ADNcr” como se usa en este documento significa un ácido nucleico que comprende por lo menos una secuencia espaciadora, que es complementario a (y se hibrida con) un ácido nucleico objetivo (por ejemplo, un ADN objetivo y/o un protoespaciador), y por lo menos una secuencia de repetición (por ejemplo, una repetición de un sistema CRISPR–Cas Cas12a Tipo V, o un fragmento o porción de la misma; una repetición de un sistema CRISPR–Cas Cas9 Tipo II, o un fragmento de la misma; una repetición de un sistema CRISPR Cas C2c1 Tipo V, o un fragmento de la misma; una repetición de un sistema CRISPR–Cas de, por ejemplo, por ejemplo, C2c3, Cas12a (también referida como Cpf1), Cas12b, Cas12c, Cas12d, Cas12e, Cas12f, Cas12i, Cas13a, Cas13b, Cas13c, Cas13d, Cas1, Cas1B, Cas2, Cas3, Cas3’, Cas3”, Cas4, Cas5, Cas6, Cas7, Cas8, Cas9 (también conocida como Csn1 y Csx12), Cas10, Csy1, Csy2, Csy3, Csel, Cse2, Cscl, Csc2, Csa5, Csn2, Csm2, Csm3, Csm4, Csm5, Csm6, Cmr1, Cmr3, Cmr4, Cmr5, Cmr6, Csbl, Csb2, Csb3, Csx17, Csx14, Csx10, Csx16, CsaX, Csx3, Csx1, Csx15, Csfl, Csf2, Csf3, Csf4 (dinG), y/o Csf5, o un fragmento de las mismas), donde la secuencia de repetición puede estar unida al extremo 5' y/o al extremo 3' de la secuencia espaciadora. En algunas formas de realización, el ácido nucleico guía comprende ADN. En algunas formas de realización, el ácido nucleico guía comprende ARN (por ejemplo, es un ARN guía). El diseño de un ARNg de esta invención puede ser sobre la base de un sistema CRISPR–Cas de tipo I, tipo II, tipo III, tipo IV, tipo V o tipo VI.

En algunas formas de realización, una secuencia espaciadora de la presente invención comprende un polinucleótido que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de cualquiera de **SEQ ID NOs: 275–277, 799–802, 804–808, 865–866, 873–877, y 889–917**. En algunas formas de realización, una secuencia espaciadora de la presente invención puede estar comprendida en un vector. En algunas formas de realización, un vector que comprende una secuencia espaciadora de la presente invención comprende un polinucleótido que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de cualquiera de **SEQ ID NOs: 278–280, 809–816, 867–868, 878–882, y 918–946**.

En algunas formas de realización, un ARNg Cas12a puede comprender, de 5' a 3', una secuencia de repetición (de longitud completa o parte de la misma ("asa")); p. ej., estructura de tipo pseudonudo) y una secuencia espaciadora.

En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía puede comprender más de una secuencia de repetición–secuencia espaciadora (p. ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más secuencias de repetición–espaciadoras) (p. ej., repetición–espaciador–repetición, p. ej., repetición–espaciador–repetición–espaciador–repetición–espaciador–repetición–espaciador–repetición–espaciador, y similares). Los ácidos nucleicos guía de esta invención son sintéticos, fabricados por humanos, y no hallados en la naturaleza. Un ARNg puede ser bastante largo y puede usarse como un aptámero (como en la estrategia de reclutamiento MS2) u otras estructuras de ARN que cuelgan del espaciador.

Una “secuencia de repetición” como se utiliza en el presente documento, se refiere, por ejemplo, a cualquier secuencia de repetición de un locus CRISPR Cas de tipo salvaje (por ejemplo, un locus Cas9, un locus Cas12a, un locus C2c1, etc.) o una secuencia de repetición de un ARNcr sintético que es funcional con la proteína efectora CRISPR–Cas codificada por las construcciones de ácido nucleico de la invención. Una secuencia de repetición útil con esta invención puede ser cualquier secuencia de repetición conocida o identificada posteriormente de un locus CRISPR–Cas (por ejemplo, Tipo I, Tipo II, Tipo III, Tipo IV, Tipo V o Tipo VI) o puede ser una repetición sintética diseñada para funcionar en un sistema CRISPR–Cas de Tipo I, II, III, IV, V o VI. Una secuencia de repetición puede comprender una estructura de horquilla y/o una estructura de tallo y bucle. En algunas formas de realización, una secuencia de repetición puede formar una estructura de tipo pseudonudo en su extremo 5' (es decir, “asa”). Por lo tanto, en algunas formas de realización, una secuencia de repetición puede ser idéntica o sustancialmente idéntica a una secuencia de repetición de loci CRISPR–Cas de tipo I, loci CRISPR–Cas de tipo II, loci CRISPR–Cas de tipo III, loci CRISPR–Cas de tipo IV, loci CRISPR–Cas de tipo V y/o loci CRISPR–Cas de tipo VI de tipo salvaje. Una secuencia de repetición de un locus CRISPR–Cas de tipo salvaje puede determinarse mediante algoritmos establecidos, tales como el uso del CRISPRfinder ofrecido a través de CRISPRdb (véase Grissa et al. *Nucleic Acids Res.* 35 (edición del servidor web): W52–7). En algunas formas de realización, una secuencia de repetición o una porción de la misma está unida en su extremo 3' al extremo 5' de una secuencia espaciadora, para formar así una secuencia de repetición–espaciadora (p. ej., ácido nucleico guía, ARN/ADN guía, ARNcr, ADNcr).

En algunas formas de realización, una secuencia de repetición comprende, consiste esencialmente en, o consiste en por lo menos 10 nucleótidos, de acuerdo con la repetición

particular, y según si el ácido nucleico guía que comprende la repetición esté procesado o no procesado (p. ej., alrededor de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50 a 100 o más nucleótidos, o cualquier rango o valor entre ellos). En algunas formas de realización, una secuencia de repetición comprende, consiste esencialmente en, o consiste en alrededor de 10 a alrededor de 20, alrededor de 10 a alrededor de 30, alrededor de 10 a alrededor de 45, alrededor de 10 a alrededor de 50, alrededor de 15 a alrededor de 30, alrededor de 15 a alrededor de 40, alrededor de 15 a alrededor de 45, alrededor de 15 a alrededor de 50, alrededor de 20 a alrededor de 30, alrededor de 20 a alrededor de 40, alrededor de 20 a alrededor de 50, alrededor de 30 a alrededor de 40, alrededor de 40 a alrededor de 80, alrededor de 50 a alrededor de 100 o más nucleótidos.

Una secuencia de repetición unida al extremo 5' de una secuencia espaciadora puede comprender una porción de una secuencia de repetición (p. ej., 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 o más nucleótidos contiguos de una secuencia de repetición de tipo salvaje). En algunas formas de realización, una porción de una secuencia de repetición unida al extremo 5' de una secuencia espaciadora puede ser alrededor de cinco a alrededor de diez nucleótidos consecutivos de longitud (p. ej., alrededor de 5, 6, 7, 8, 9, 10 nucleótidos) y tener por lo menos 90 % de identidad de secuencia (p. ej., por lo menos alrededor de 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más) con respecto a la misma región (p. ej., extremo 5') de una secuencia de nucleótidos de repetición CRISPR Cas de tipo salvaje. En algunas formas de realización, una porción de una secuencia de repetición puede comprender una estructura de tipo pseudonudo en su extremo 5' (p. ej., “asa”).

Una “secuencia espaciadora” como se usa aquí es una secuencia de nucleótidos que es complementaria a un ácido nucleico diana (p. ej., ADN diana) (p. ej., protoespaciador). La secuencia espaciadora puede ser completamente complementaria o sustancialmente complementaria (p. ej., por lo menos alrededor de 70 % complementaria (p. ej., alrededor de 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más)) a un ácido nucleico diana. Por lo tanto, la secuencia espaciadora puede tener uno, dos, tres, cuatro o cinco desajustes en comparación con el ácido nucleico diana, donde dichos desajustes pueden ser contiguos o no contiguos. En algunas formas de realización, la secuencia espaciadora puede tener 70 % de complementariedad a un ácido nucleico objetivo. En otras formas de realización, la secuencia de nucleótidos espaciadora puede tener 80 % de

complementariedad a un ácido nucleico objetivo. En aún otras formas de realización, la secuencia de nucleótidos espaciadora puede tener 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 99,5 % de complementariedad, y similares, al ácido nucleico objetivo (protoespaciador). En algunas formas de realización, la secuencia espaciadora es 100 % complementaria al ácido nucleico objetivo. Una secuencia espaciadora puede tener una longitud de alrededor de 15 nucleótidos a alrededor de 30 nucleótidos (p. ej., 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, o 30 nucleótidos, o cualquier rango o valor entre ellos). En algunas formas de realización, una secuencia espaciadora puede tener complementariedad completa o complementariedad sustancial sobre una región de un ácido nucleico objetivo (p. ej., protoespaciador) que es por lo menos alrededor de 15 nucleótidos a alrededor de 30 nucleótidos de longitud. En algunas formas de realización, el espaciador es de alrededor de 20 nucleótidos de longitud. En algunas formas de realización, el espaciador es de alrededor de 21, 22, o 23 nucleótidos de longitud. La numeración y/o el posicionamiento de nucleótidos en una secuencia espaciadora comienza en el primer nucleótido en el extremo 5' de la secuencia espaciadora (es decir, nucleótido 1), y es consecutivamente numerada hasta el último nucleótido en el extremo 3' de la secuencia espaciadora. En consecuencia, un espaciador que tiene una longitud de 30 nucleótidos tiene el nucleótido 1 hasta el nucleótido 30 en la dirección 5' a 3'.

En algunas formas de realización, la región 5' de una secuencia espaciadora de un ácido nucleico guía puede ser completamente complementaria a un ácido nucleico diana, mientras que la región 3' del espaciador puede ser sustancialmente complementaria al ácido nucleico diana (tal como para un espaciador en un sistema CRISPR–Cas Tipo V), o la región 3' de una secuencia espaciadora de un ácido nucleico guía puede ser completamente complementaria a un ácido nucleico diana, mientras que la región 5' del espaciador puede ser sustancialmente complementaria al ácido nucleico diana (tal como para un espaciador en un sistema CRISPR–Cas de Tipo II), y por lo tanto, la complementariedad general de la secuencia espaciadora con el ácido nucleico diana puede ser inferior al 100 %. Así, por ejemplo, en un ácido nucleico guía para un sistema CRISPR–Cas de Tipo V, los primeros 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 nucleótidos en la región 5' (es decir, la región semilla) de, por ejemplo, una secuencia espaciadora de 20 nucleótidos pueden ser 100 % complementarios al ácido nucleico diana, mientras que los nucleótidos restantes en la región 3' de la secuencia espaciadora son sustancialmente complementarios (por ejemplo, por lo menos alrededor de 70 % complementarios) al ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, los primeros 1 a 8 nucleótidos (p. ej., los primeros 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 nucleótidos y cualquier rango de los mismos) del extremo 5' de la secuencia espaciadora pueden ser 100 % complementario al ácido nucleico diana, mientras que

los nucleótidos restantes en la región 3' de la secuencia espaciadora son sustancialmente complementarios (p. ej., por lo menos alrededor de 50 % complementarios (p. ej., 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más)) al ácido nucleico diana.

Como ejemplo adicional, en un ácido nucleico guía para un sistema CRISPR–Cas de Tipo II, los primeros 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 nucleótidos en la región 3' (es decir, la región semilla) de, por ejemplo, una secuencia espaciadora de 20 nucleótidos pueden ser 100 % complementarios con el ácido nucleico diana, mientras que los nucleótidos restantes en la región 5' de la secuencia espaciadora son sustancialmente complementarios (por ejemplo, por lo menos alrededor de 70 % complementarios) con el ácido nucleico diana. . En algunas formas de realización, los primeros 1 a 10 nucleótidos (p. ej., los primeros 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 nucleótidos y cualquier rango de los mismos) del extremo 3' de la secuencia espaciadora pueden ser 100 % complementarios al ácido nucleico diana, mientras que los nucleótidos restantes en la región 5' de la secuencia espaciadora son sustancialmente complementarios (p. ej., por lo menos alrededor de 50 % complementarios (p. ej., por lo menos alrededor de 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más o cualquier rango o valor entre ellos)) al ácido nucleico diana, Un ARN guía de reclutamiento comprende además uno o más motivos de reclutamiento como se describe en este documento, que pueden estar unidos al extremo 5' de la guía o al extremo 3' o pueden insertarse en el ácido nucleico guía de reclutamiento (por ejemplo, dentro del bucle de horquilla).

En algunas formas de realización, una región semilla de un espaciador puede ser alrededor de 8 a alrededor de 10 nucleótidos de longitud, alrededor de 5 a alrededor de 6 nucleótidos de longitud, o alrededor de 6 nucleótidos de longitud.

En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía además comprende una plantilla de transcriptasa inversa y puede ser referida como un ácido nucleico guía extendido.

Un ácido nucleico guía y/o un ácido nucleico guía extendido puede comprender uno o más motivos de reclutamiento como se describe en este documento, que pueden estar unidos al extremo 5' y/o al extremo 3' del ácido nucleico guía y/o pueden insertarse en el ácido nucleico guía (por ejemplo, dentro de un bucle de horquilla del ácido nucleico guía).

Un “ácido nucleico diana/objetivo”, “ADN diana/objetivo”, “secuencia de nucleótidos diana/objetivo”, “región diana/objetivo” y “región diana/objetivo en el genoma” se usan

indistintamente en el presente documento y se refieren a una región del genoma de un organismo (por ejemplo, una planta) que comprende una secuencia que es completamente complementaria (100 % complementaria) o sustancialmente complementaria (por ejemplo, por lo menos 70 % complementaria (por ejemplo, 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más)) a una secuencia espaciadora en un ácido nucleico guía como se define en este documento. Un ácido nucleico objetivo es seleccionado como objetivo por un sistema de edición (o un componente del mismo) como se describe en este documento. Una región objetivo útil para un sistema CRISPR–Cas puede estar ubicada inmediatamente en 3' (p. ej., sistema CRISPR–Cas Tipo V) o inmediatamente en 5' (p. ej., sistema CRISPR–Cas Tipo II) a una secuencia PAM en el genoma del organismo (p. ej., un genoma vegetal o un genoma de mamífero (p. ej., humano)). Una región objetivo puede seleccionarse de cualquier región de por lo menos 15 nucleótidos consecutivos (p. ej., 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 nucleótidos y similares) ubicada inmediatamente adyacente a una secuencia PAM.

Una “secuencia protoespaciadora” o “protoespaciador” como se usa en el presente documento se refiere a una secuencia que es totalmente o sustancialmente complementaria a (y puede hibridar con) una secuencia espaciadora de un ácido nucleico guía. En algunas formas de realización, el protoespaciador es la totalidad o una parte de un ácido nucleico diana como se define en el presente documento que es totalmente o sustancialmente complementario (y se hibrida) con la secuencia espaciadora de las secuencias de repetición–espaciador CRISPR (por ejemplo, ácidos nucleicos guía, matrices CRISPR, ARNcr).

En el caso de los sistemas CRISPR–Cas Tipo V (p. ej., Cas12a) y CRISPR–Cas Tipo II (Cas9), la secuencia de protoespaciador está flanqueada por (p. ej., inmediatamente adyacente a) un motivo adyacente a protoespaciador (PAM). Para los sistemas CRISPR–Cas Tipo V, el PAM está ubicado en el extremo 5' de la hebra no objetivo y en el extremo 3' de la hebra objetivo (ver a continuación, como ejemplo).

5'–NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN–3' ARN espaciador

| | | | | | | | | | | | | | |

3'AAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN–5' Hebra objetivo

| | | |

5'TTNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN–3' Hebra no objetivo

En el caso de los sistemas CRISPR–Cas Tipo II (p. ej., Cas9), el PAM se ubica inmediatamente 3' de la región objetivo. El PAM para los sistemas CRISPR–Cas Tipo I se encuentra 5' de la hebra objetivo. No hay PAM conocido para los sistemas CRISPR–Cas Tipo III. Makarov et al. describe la nomenclatura de todas las clases, tipos y subtipos de sistemas CRISPR (*Nature Reviews Microbiology* 13: 722–736 (2015)). Las estructuras guía y los PAM se describen en R. Barrangou (*Genome Biol.* 16: 247 (2015)).

Los PAM Cas12a canónicos son ricos en T. En algunas formas de realización, una secuencia PAM Cas12a canónica puede ser 5'-TTN, 5'-TTTN o 5'-TTTV. En algunas formas de realización, los PAM Cas9 canónicos (p. ej., *S. pyogenes*) pueden ser 5'-NGG-3'. En algunas formas de realización, se pueden usar PAM no canónicos, pero pueden ser menos eficientes. En algunas formas de realización, las secuencias PAM no canónicas pueden incluir, sin limitación, 5'-CCCC-3' o 5'-TCCG-3'.

Los expertos en la técnica pueden determinar secuencias de PAM adicionales a través de enfoques experimentales y computacionales establecidos. Por lo tanto, por ejemplo, los enfoques experimentales incluyen el direccionamiento de una secuencia flanqueada por todas las secuencias de nucleótidos posibles y la identificación de miembros de la secuencia que no se someten a direccionamiento, tal como a través de la transformación del ADN del plásmido objetivo (Esvelt et al. 2013. *Nat. Methods* 10:1116–1121; Jiang et al. 2013. *Nat. Biotechnol.* 31:233–239). En algunos aspectos, un enfoque computacional puede incluir realizar búsquedas BLAST de espaciadores naturales para identificar las secuencias de ADN objetivo originales en bacteriófagos o plásmidos y alinear estas secuencias para determinar secuencias conservadas adyacentes a la secuencia objetivo (Briner and Barrangou. 2014. *Appl. Environ. Microbiol.* 80:994–1001; Mojica et al. 2009. *Microbiology* 155:733–740).

En algunas formas de realización, la presente invención proporciona casetes de expresión y/o vectores que comprenden las construcciones de ácidos nucleicos de la invención (por ejemplo, uno o más componentes de un sistema de edición de la invención). En algunas formas de realización, se pueden proporcionar casetes de expresión y/o vectores que comprenden las construcciones de ácidos nucleicos de la invención y/o uno o más ácidos nucleicos guía. En algunas formas de realización, una construcción de ácidos nucleicos de la invención codifica un polipéptido de la presente invención y/o una proteína efectora CRISPR–Cas, y cada uno puede estar comprendido en el mismo casete de expresión o vector o en uno distinto del que comprende los uno o más ácidos nucleicos guía. Cuando la construcción de ácido nucleico que codifica un polipéptido de la presente invención o los componentes de un sistema de edición está(n) comprendido(s) en casetes de expresión o vectores separados de los

que comprenden el ácido nucleico guía, un ácido nucleico diana puede ponerse en contacto con (por ejemplo, proporcionarse con) los casetes de expresión o vectores que codifican el polipéptido de la presente invención o los componentes de un sistema de edición en cualquier orden entre sí y el ácido nucleico guía, por ejemplo, antes, simultáneamente o después de proporcionar el casete de expresión que comprende el ácido nucleico guía (por ejemplo, el contacto con el ácido nucleico diana).

Los métodos para reclutar uno o más componentes de un sistema de edición entre sí y/o a un ácido nucleico diana son conocidos en la técnica y pueden incluir el uso de una etiqueta peptídica o un polipéptido de afinidad que interactúa con la etiqueta peptídica. En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía puede estar unido a un motivo de reclutamiento de ARN, y un polipéptido de la presente invención puede estar unido a un polipéptido de afinidad capaz de interactuar con el motivo de reclutamiento de ARN, para reclutar de ese modo el polipéptido de la invención al ácido nucleico diana. Alternativamente, se pueden utilizar interacciones químicas para reclutar un polipéptido (por ejemplo, un polipéptido de la invención) a un ácido nucleico diana.

Un “motivo de reclutamiento” como se utiliza en el presente documento se refiere a una mitad de un par de unión que se puede utilizar para reclutar un compuesto al que el motivo de reclutamiento está unido, a otro compuesto que incluye la otra mitad del par de unión (es decir, un “motivo correspondiente”). El motivo de reclutamiento y el motivo correspondiente pueden unirse de forma no covalente. En algunas formas de realización, un motivo de reclutamiento es un motivo de reclutamiento de ARN (por ejemplo, un motivo de reclutamiento de ARN que es capaz de unirse y/o está configurado para unirse a un polipéptido de afinidad), un polipéptido de afinidad (por ejemplo, un polipéptido de afinidad que es capaz de unirse y/o está configurado para unirse a un motivo de reclutamiento de ARN y/o una etiqueta peptídica), o una etiqueta peptídica (por ejemplo, una etiqueta peptídica que es capaz de unirse y/o está configurada para unirse a un polipéptido de afinidad). Por ejemplo, cuando un motivo de reclutamiento es un motivo de reclutamiento de ARN, el motivo correspondiente para el motivo de reclutamiento de ARN puede ser un polipéptido de afinidad que se une al motivo de reclutamiento de ARN. Un ejemplo adicional es que cuando un motivo de reclutamiento es una etiqueta peptídica, el motivo correspondiente para la etiqueta peptídica puede ser un polipéptido de afinidad que se une a la etiqueta peptídica. Por lo tanto, un compuesto que comprende un motivo de reclutamiento (por ejemplo, un polipéptido de afinidad) puede ser reclutado en otro compuesto (por ejemplo, un ácido nucleico guía) que comprende un motivo correspondiente para el motivo de reclutamiento (por ejemplo, un motivo de reclutamiento de ARN).

Una etiqueta peptídica (por ejemplo, un epítopo) útil con esta invención puede incluir, sin limitación, una etiqueta peptídica GCN4 (por ejemplo, Sun-Tag), una etiqueta de afinidad c-Myc, una etiqueta de afinidad HA, una etiqueta de afinidad His, una etiqueta de afinidad S, una etiqueta de afinidad metionina-His, una etiqueta de afinidad RGD-His, un octapéptido FLAG, una etiqueta estrep o etiqueta estrep II, una etiqueta V5 y/o un epítopo VSV-G. Cualquier epítopo que pueda unirse a un polipéptido y para el cual exista un polipéptido de afinidad correspondiente que pueda unirse a otro polipéptido puede usarse con esta invención como etiqueta peptídica. En algunas formas de realización, una etiqueta peptídica puede comprender 1 o 2 o más copias de una etiqueta peptídica (p. ej., unidad de repetición, epítopo multimerizado (p. ej., repeticiones en tándem)) (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 o más unidades de repetición). En algunas formas de realización, un polipéptido de afinidad que interactúa con/se une a una etiqueta peptídica puede ser un anticuerpo. En algunas formas de realización, el anticuerpo puede ser un anticuerpo scFv. En algunas formas de realización, un polipéptido de afinidad que se une a una etiqueta peptídica puede ser sintético (p. ej., desarrollado para la interacción por afinidad), lo que incluye, entre otros, un aficuerpo, una anticalina, un monocuerpo y/o un DARPin (véase, por ejemplo, Sha et al., *Protein Sci.* 26(5):910–924 (2017)); Gilbreth (*Curr Opin Struc Biol* 22(4):413–420 (2013)),^oPatente de EE. UU. Nro. 9.982.053, cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad para las enseñanzas pertinentes a aficuerpos, anticalinas, monocuerpos y/o DARPins.

En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía puede estar unido a un motivo de reclutamiento de ARN, y un polipéptido que se va a reclutar (por ejemplo, un polipéptido de la presente invención) puede fusionarse a un polipéptido de afinidad que se une al motivo de reclutamiento de ARN, donde la guía se une al ácido nucleico diana, y el motivo de reclutamiento de ARN se une al polipéptido de afinidad, de modo de reclutar así el polipéptido a la guía y poner en contacto el ácido nucleico diana con el polipéptido (por ejemplo, un polipéptido de la presente invención). En algunas formas de realización, dos o más polipéptidos pueden reclutarse a un ácido nucleico guía, para poner en contacto así el ácido nucleico diana con dos o más polipéptidos (por ejemplo, uno o más polipéptidos de la presente invención).

En algunas formas de realización de la invención, un ARN guía puede estar unido a uno o dos o más motivos de reclutamiento de ARN (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más motivos; por ejemplo, por lo menos 10 a alrededor de 25 motivos), opcionalmente donde los dos o más motivos de reclutamiento de ARN pueden ser el mismo motivo de reclutamiento de ARN o diferentes motivos de reclutamiento de ARN. En algunas formas de realización, un

motivo de reclutamiento de ARN y un polipéptido de afinidad correspondiente pueden incluir, entre otros, un motivo de unión de telomerasa Ku (p. ej., horquilla de unión de Ku) y el polipéptido de afinidad correspondiente Ku (p. ej., heterodímero Ku), un motivo de unión de telomerasa Sm7 y el polipéptido de afinidad correspondiente Sm7, un tallo–bucle de operador de fago MS2 y el polipéptido de afinidad correspondiente Proteína de recubrimiento MS2 (MCP), un tallo–bucle de operador de fago PP7 y el polipéptido de afinidad correspondiente Proteína de recubrimiento PP7 (PCP), un tallo–bucle Com de fago SfMu y el polipéptido de afinidad correspondiente proteína de unión de ARN Com, un sitio de unión PUF (PBS) y el factor de unión de ARNm (PUF) del polipéptido de afinidad Pumilio/fem–3, y/o un aptámero de ARN sintético y el ligando de aptámero como el correspondiente polipéptido de afinidad. En algunas formas de realización, el motivo de reclutamiento de ARN y el polipéptido de afinidad correspondiente pueden ser un tallo–bucle de operador de fago MS2, y el polipéptido de afinidad proteína de recubrimiento MS2 (MCP). En algunas formas de realización, el motivo de reclutamiento de ARN y el polipéptido de afinidad correspondiente pueden ser un sitio de unión PUF (PBS) y el factor de unión de ARNm de polipéptido de afinidad Pumilio/fem–3 (PUF). Los motivos de reclutamiento de ARN ejemplares y los polipéptidos de afinidad correspondientes que pueden ser útiles con esta invención pueden incluir, sin limitación, **SEQ ID NOs: 220–230**.

En algunas formas de realización, los componentes para reclutar polipéptidos y ácidos nucleicos pueden incluir aquellos que funcionan a través de interacciones químicas que pueden incluir, entre otras, dimerización inducible por rapamicina de FRB – FKBP; biotina–estreptavidina; etiqueta SNAP; etiqueta Halo; etiqueta CLIP; heterodímero DmrA–DmrC inducido por un compuesto; ligando bifuncional (p. ej., dimerización inducida químicamente).

Como se describe en el presente documento, se puede emplear una “etiqueta peptídica” para reclutar uno o más polipéptidos. Una etiqueta peptídica puede ser cualquier polipéptido que sea capaz de ser unido por un motivo correspondiente, tal como un polipéptido de afinidad. Una etiqueta peptídica también puede denominarse un “epítopo” y, cuando se proporciona en múltiples copias, un “epítopo multimerizado”. Los ejemplos de etiquetas de péptidos pueden incluir, entre otros, una etiqueta de péptido GCN4 (por ejemplo, Sun–Tag), una etiqueta de afinidad c–Myc, una etiqueta de afinidad HA, una etiqueta de afinidad His, una etiqueta de afinidad S, una etiqueta de afinidad metionina–His, una etiqueta de afinidad RGD–His, un octapéptido FLAG, una etiqueta estrep o etiqueta estrep II, una etiqueta V5 y/o un epítopo VSV–G. En algunas formas de realización, una etiqueta de péptido también puede incluir tirosinas fosforiladas en contextos de secuencia específicos reconocidos por dominios SH2,

secuencias de consenso características que contienen fosfoserinas reconocidas por proteínas 14-3-3, motivos de péptidos ricos en prolina reconocidos por dominios SH3, dominios de interacción de proteínas PDZ o las secuencias de señal PDZ y un motivo de gancho AGO de plantas. Las etiquetas de péptidos se describen en el documento WO2018/136783 y en la Publicación de Solicitud de Patente de EE. UU. Nro. 2017/0219596, que se incorporan como referencia por sus descripciones de etiquetas de péptidos. Las etiquetas de péptidos que pueden ser útiles con esta invención pueden incluir, entre otras, las **SEQ ID NO: 231** y **SEQ ID NO: 232**. Un polipéptido de afinidad útil con las etiquetas de péptidos incluye, sin limitación, **SEQ ID NO: 233**.

Una etiqueta peptídica puede comprender o estar presente en una copia o en 2 o más copias de la etiqueta peptídica (por ejemplo, etiqueta peptídica multimerizada o epítipo multimerizado) (por ejemplo, alrededor de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 9, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 o más etiquetas peptídicas). Cuando se multimerizan, las etiquetas peptídicas se pueden fusionar directamente entre sí o se pueden unir entre sí a través de uno o más aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más aminoácidos, opcionalmente, alrededor de 3 a alrededor de 10, alrededor de 4 a alrededor de 10, alrededor de 5 a alrededor de 10, alrededor de 5 a alrededor de 15, o alrededor de 5 a alrededor de 20 aminoácidos, y similares, y cualquier valor o rango dentro de los mismos. Por lo tanto, en algunas formas de realización, una proteína y/o polipéptido efector CRISPR-Cas de la invención se puede fusionar a una etiqueta peptídica o a dos o más etiquetas peptídicas, opcionalmente donde las dos o más etiquetas peptídicas se fusionan entre sí a través de uno o más residuos de aminoácidos. En algunas formas de realización, una etiqueta peptídica útil con la invención puede ser una única copia de una etiqueta peptídica o epítipo GCN4, o puede ser un epítipo GCN4 multimerizado que comprende alrededor de 2 a alrededor de 25 o más copias de la etiqueta peptídica (por ejemplo, alrededor de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 o más copias de un epítipo GCN4 o cualquier rango dentro de los mismos).

En algunas formas de realización, una etiqueta peptídica puede fusionarse a un polipéptido o dominio CRISPR-Cas. En algunas formas de realización, una etiqueta peptídica puede fusionarse o unirse al extremo C-terminal de una proteína efectora CRISPR-Cas para formar una proteína de fusión CRISPR-Cas. En algunas formas de realización, una etiqueta peptídica puede fusionarse o unirse al extremo N-terminal de una proteína efectora CRISPR-Cas para formar una proteína de fusión CRISPR-Cas. En algunas formas de realización, una etiqueta peptídica puede fusionarse dentro de una proteína efectora CRISPR-Cas (p. ej., una

etiqueta peptídica puede estar en una región de bucle de una proteína efectora CRISPR–Cas). En algunas formas de realización, la etiqueta peptídica puede fusionarse a un polipéptido de la presente invención.

Un "polipéptido de afinidad" (por ejemplo, "polipéptido de reclutamiento") se refiere a cualquier polipéptido que sea capaz de unirse a su correspondiente etiqueta peptídica, etiqueta peptídica o motivo de reclutamiento de ARN. Un polipéptido de afinidad para una etiqueta peptídica puede ser, por ejemplo, un anticuerpo y/o un anticuerpo monocatenario que se une específicamente a la etiqueta peptídica, respectivamente. En algunas formas de realización, un anticuerpo para una etiqueta peptídica puede ser, entre otros, un anticuerpo scFv. En algunas formas de realización, un polipéptido de afinidad puede fusionarse o unirse al extremo N-terminal de un polipéptido de la presente invención. En algunas formas de realización, el polipéptido de afinidad es estable en las condiciones reductoras de una célula o un extracto celular.

Las construcciones de ácidos nucleicos de la invención y/o los ácidos nucleicos guía pueden estar comprendidos en uno o más casetes de expresión como se describe en el presente documento. En algunas formas de realización, una construcción de ácido nucleico de la invención puede estar comprendida en el mismo casete de expresión o vector o en uno separado del que comprende un ácido nucleico guía y/o un ácido nucleico guía extendido.

En algunas formas de realización, una construcción de ácido nucleico, casete de expresión o vector de la invención que está optimizado para la expresión en un organismo (por ejemplo, un ser humano o una planta) puede ser alrededor de 70 % a 100 % idéntico (p. ej., alrededor de 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 %) a una construcción de ácido nucleico, casete de expresión o vector que comprende los mismos polinucleótidos pero que no han sido optimizados por codones para la expresión en el organismo.

Cuando se utiliza en combinación con un ácido nucleico guía, una construcción de ácido nucleico de la invención (y un casete de expresión y/o vector que la comprende) se puede utilizar para modificar un ácido nucleico diana y/o su expresión. Un ácido nucleico diana puede ponerse en contacto con una construcción de ácido nucleico de la invención y/o casetes de expresión y/o vectores que la comprenden, antes, simultáneamente o después de poner en contacto el ácido nucleico diana con el ácido nucleico guía/ácido nucleico guía de reclutamiento (y/o casetes de expresión y vectores que lo comprenden).

De acuerdo con formas de realización de la presente invención, se proporcionan en este documento polipéptidos que comprenden un permutante circular. Un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de una Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a. "Permutante circular" como se usa en este documento se refiere a un polipéptido alterado en comparación con un polipéptido original (por ejemplo, un polipéptido inicial, un polipéptido de referencia y/o un polipéptido de control), donde el orden de los residuos de aminoácidos en el polipéptido alterado es diferente del orden de los residuos de aminoácidos en el polipéptido original, y el polipéptido alterado tiene el residuo de aminoácido N-terminal y el residuo de aminoácido C-terminal del polipéptido original unidos covalentemente entre sí (directa o indirectamente). El polipéptido alterado puede tener así un nuevo extremo N-terminal y un nuevo extremo C-terminal en comparación con el extremo N-terminal y el extremo C-terminal, respectivamente, del polipéptido original. En consecuencia, el permutante circular tiene una secuencia diferente de la del polipéptido original. Un "polipéptido alterado" como se utiliza en el presente documento se refiere a un polipéptido que comprende una mutación no natural en comparación con otro polipéptido (por ejemplo, un polipéptido original). Por ejemplo, un polipéptido alterado puede ser un permutante circular, y la mutación no natural es la unión covalente de los extremos N- y C-terminales de un polipéptido original y/o la formación de nuevos extremos N- y C-terminales en comparación con los extremos N- y C-terminales, respectivamente, de un polipéptido original. "Extremo N-terminal" y "residuo de aminoácido N-terminal" como se utilizan en este documento se refieren al residuo de aminoácido al comienzo de un polipéptido (es decir, residuo de aminoácido 1) que tiene un grupo amino libre (por ejemplo, un catión amina o amonio). "Extremo C-terminal" y "residuo de aminoácido C-terminal" como se utilizan en este documento se refieren al residuo de aminoácido al final de un polipéptido que tiene un grupo carboxilato libre. "Extremo N-terminal" como se utiliza en este documento se refiere a todos o una parte de los residuos de aminoácidos que comienzan en el extremo N-terminal inclusive, hasta la mitad del polipéptido. "Extremo C-terminal" como se utiliza en este documento se refiere a todos o una parte de los residuos de aminoácidos que comienzan en el extremo C-terminal inclusive hasta la mitad del polipéptido. Por lo tanto, para un polipéptido que incluye 500 residuos de aminoácidos, el extremo N-terminal puede incluir toda o una parte de la secuencia que comienza en el residuo de aminoácido 1 (el extremo N-terminal) hasta el residuo de aminoácido 250, y el extremo C-terminal puede incluir toda o una parte de la secuencia que comienza en el residuo de aminoácido 251 hasta el residuo de aminoácido 500 (el extremo C-terminal). Como otro ejemplo, para un polipéptido que incluye 223 residuos de

aminoácidos, el extremo N-terminal puede incluir toda o una parte de la secuencia que comienza en el residuo de aminoácido 1 (el extremo N-terminal) hasta el residuo de aminoácido 111, y el extremo C-terminal puede incluir toda o una parte de la secuencia que comienza en el residuo de aminoácido 113 hasta el residuo de aminoácido 223 (el extremo C-terminal).

En general, un permutante circular puede conceptualizarse de modo de tener los extremos N- y C-terminales de un polipéptido (por ejemplo, un polipéptido original) unidos entre sí y nuevos extremos N- y C-terminales que resultan de la ruptura de un enlace peptídico en el polipéptido. Por ejemplo, un permutante circular de la presente invención puede comprender extremos N- y C-terminales fusionados de una proteína Cas12a o diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a con el permutante circular que tiene nuevas secuencias en los extremos N- y C-terminales que son diferentes de las secuencias en los extremos N- y C-terminales de la proteína Cas12a o diseñada genéticamente, y/o que tiene un nuevo residuo N-terminal y/o un nuevo residuo C-terminal en comparación con el residuo N-terminal y/o el nuevo residuo C-terminal, respectivamente, de la proteína Cas12a o diseñada genéticamente como se muestra, por ejemplo, en la FIG. 1A y la FIG. 1B. Un permutante circular de la presente invención se deriva y/o se obtiene de un Cas12a, o se deriva y/o se obtiene de una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a, y/o puede ser una variante de un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a. “Variante”, como se usa en el presente documento con referencia a un permutante circular de la presente invención que es una variante de un polipéptido de referencia, significa que el permutante circular tiene los extremos N- y C-terminales del polipéptido de referencia (por ejemplo, un polipéptido original tal como un Cas12a o una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a) unidos covalentemente (por ejemplo, directa o indirectamente), y los extremos N- y C-terminales del permutante circular se pueden proporcionar rompiendo un enlace peptídico en la secuencia del polipéptido de referencia. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es una variante de una Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a (por ejemplo, una variante de por lo menos una de las **SEQ ID NO: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761 y 850–861**), y el permutante circular tiene una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o más) mutaciones en comparación con el Cas12a o la proteína diseñada de la que es una variante. Por ejemplo, un permutante circular de la presente invención puede ser una variante de un Cas12a, y el permutante circular puede incluir una mutación en el sitio activo de la nucleasa (por ejemplo, en un sitio RuvC) que no está presente en el Cas12a. En

algunas formas de realización, un permutante circular de la presente puede tener una secuencia que, cuando se reordena para tener los mismos extremos N- y C-terminales que un polipéptido de referencia del cual el permutante circular es una variante, tiene por lo menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia del polipéptido de referencia.

Una “proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a” como se utiliza en el presente documento se refiere a un polipéptido que comprende (i) un polipéptido y/o dominio Cas12a y (ii) un polipéptido que es heterólogo al polipéptido y/o dominio Cas12a. El polipéptido y/o dominio Cas12a puede ser una porción de un Cas12a (por ejemplo, un Cas12a de tipo salvaje o un Cas12a inactivado). Por ejemplo, una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a puede comprender una porción de cualquiera de las **SEQ ID NO: 39–65, 298 y 850–852** y otro polipéptido que es heterólogo al polipéptido Cas12a. Una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a puede comprender por lo menos una mutación no natural en comparación con un Cas12a (por ejemplo, un Cas12a de tipo salvaje o un Cas12a inactivado). En algunas formas de realización, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a tiene una estructura y/o función similar en comparación con un Cas12a y/o comprende la totalidad o una parte de un Cas12a (por ejemplo, un Cas12a de tipo salvaje o un Cas12a inactivado). Una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a no se encuentra en la naturaleza (por ejemplo, comprende una mutación no natural) y puede estar alterada (por ejemplo, mutada) en comparación con un Cas12a de tipo salvaje o un Cas12a inactivado. En algunas formas de realización, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a carece de una parte de un Cas12a.

En algunas formas de realización, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a comprende un dominio que no está presente en un Cas12a. En algunas formas de realización, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a comprende la totalidad o una parte de un dominio en cuña, un dominio Rec1, un dominio Rec2, un dominio de interacción PAM, un dominio RuvC, una hélice puente y/o un dominio Nuc, cada uno de los cuales puede ser de un Cas12a y/o una proteína que tiene una secuencia de cualquiera de las **SEQ ID NO: 39–65, 298 y 850–852**. En algunas formas de realización, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a comprende la totalidad o una parte de un dominio Cas12a que tiene una estructura como se describe en Yamano, Takashi, et al., Mol Cell 67: 633–645 (2017). En algunas formas de realización, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a comprende la totalidad o una parte de un lóbulo de reconocimiento de hélice alfa (REC), opcionalmente, donde los dominios de la totalidad o una

parte del lóbulo REC en la proteína diseñada pueden estar en un orden y/o estructura diferente que en un Cas12a. Un lóbulo REC puede contener un dominio Rec1 y un dominio Rec2. Un dominio Rec1 puede comprender 13 hélices alfa, y/o un dominio Rec2 puede comprender 10 hélices alfa y dos hebras beta que pueden formar una lámina antiparalela pequeña. En algunas formas de realización, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a puede comprender un dominio HNH (por ejemplo, un dominio HNH de un Cas9, opcionalmente Cas9 que tiene una secuencia de cualquiera de las **SEQ ID NO: 133–140 y 156–157**) entre un primer polipéptido que comprende la totalidad o una parte de un dominio Rec1 y un segundo polipéptido que comprende la totalidad o una parte de un dominio Rec2, donde el primer y el segundo polipéptidos pueden ser cada uno independientemente de un Cas12a y/o una proteína que tiene una secuencia de cualquiera de las **SEQ ID NO: 39–65, 298 y 850–852**. En algunas formas de realización, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a comprende la totalidad o una parte de un dominio RuvC.

En algunas formas de realización, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a puede comprender un dominio HNH (por ejemplo, un dominio HNH de un Cas9, opcionalmente Cas9 que tiene una secuencia de cualquiera de las **SEQ ID NO: 133–140 y 156–157**) entre un primer polipéptido que comprende la totalidad o una parte de un dominio Rec1 y un segundo polipéptido que comprende la totalidad o una parte de un dominio Rec2, donde el primer y el segundo polipéptidos pueden ser cada uno independientemente de un Cas12a y/o una proteína que tiene una secuencia de cualquiera de las **SEQ ID NO: 39–65, 298 y 850–852**, y la proteína diseñada puede comprender la totalidad o una parte de un dominio RuvC. En algunas formas de realización, una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a puede ser una proteína diseñada genéticamente como se describe en la Publicación de Solicitud de Patente de EE. UU. Nro. 2002/0112473 y/o PCT/US2023/063398. Como comprendería un experto en la técnica, algunos dominios (p. ej., los dominios de cuña y RuvC de Cas12a) no son continuos en secuencia, y pueden dividirse en dos o más (p. ej., 2, 3, 4 o más) secuencias no continuas. En algunas formas de realización, una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a comprende un dominio Cas12a.

En algunas formas de realización, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a comprende, opcionalmente en la dirección del extremo N– al C–terminal, la totalidad o una porción de uno o más de los siguientes: primera porción del dominio de cuña (WED–1), dominio Rec1, dominio Rec2, segunda porción del dominio de cuña (WED–2), dominio de interacción con PAM (PI), tercera porción del dominio de cuña (WED–3), primera porción del dominio RuvC (RuvC–1), hélice puente, segunda porción del dominio RuvC (RuvC–2),

dominio Nuc y/o tercera porción del dominio RuvC (RuvC-3). Por ejemplo, en función de **SEQ ID NO: 246**, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a puede estar codificada por la totalidad o una parte de uno o más de los siguientes: nucleótidos 1–69 que componen WED-1, nucleótidos 70–1560 que componen el lóbulo REC, nucleótidos 1561–1755 que componen WED-2, nucleótidos 1756–2031 que componen PI, nucleótidos 2032–2421 WED-3, nucleótidos 2422–2613 que componen RuvC-1, nucleótidos 2614–2667 que componen la hélice puente, nucleótidos 2668–2988 que componen RuvC-2, nucleótidos 2989–3534 que componen el dominio Nuc, y/o nucleótidos 3535–3681 que componen RuvC-3. Como otro ejemplo, en función de SEQ ID NO: 56, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a puede comprender, opcionalmente en la dirección del extremo N-terminal al C-terminal, la totalidad o una porción de uno o más de los siguientes: residuos de aminoácidos 1–23 que forman WED-1, residuos de aminoácidos 24–520 que forman el lóbulo REC, residuos de aminoácidos 521–585 que forman WED-2, residuos de aminoácidos 586–677 que forman PI, residuos de aminoácidos 678–807 WED-3, residuos de aminoácidos 808–871 que forman RuvC-1, residuos de aminoácidos 872–889 que forman la hélice puente, residuos de aminoácidos 890–996 que forman RuvC-2, residuos de aminoácidos 997–1178 que forman el dominio Nuc, y/o residuos de aminoácidos 1179–1227 que componen RuvC-3. En algunas formas de realización, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a comprende la totalidad o una parte de un dominio RuvC activo. En algunas formas de realización, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a comprende la totalidad o una parte de un dominio RuvC inactivado, opcionalmente la totalidad o una parte de un dominio RuvC inactivado que tiene una mutación D10A. En algunas formas de realización, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a comprende la totalidad o una parte de un dominio RuvC inactivado y tiene una alanina en una posición correspondiente al residuo de aminoácido 831 de **SEQ ID NO: 59** cuando la proteína diseñada está alineada de manera óptima con **SEQ ID NO: 59**, opcionalmente donde la mutación se denomina mutación D10A y/o D832A. En algunas formas de realización, una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a comprende un polipéptido que comprende todo o una parte de un dominio RuvC inactivado y tiene una mutación de: D832A y/o E925A con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 44, 45, 55, 56**, y/o **59** (LbCas12a), D908A y/o E993A con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 39** (AsCas12a), D917A y/o E1006A con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 43** y/o **58** (FnCas12a), o una mutación correspondiente. En algunas formas de realización, una proteína

diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a tiene una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 69–132, 159–182, 281–284, 400–401, 761, y 853–861**. En algunas formas de realización, una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a es una nickasa de hebra diana y/o una nickasa de hebra no diana. En algunas formas de realización, una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a es una nickasa de hebra no diana.

Un permutante circular de la presente invención tiene una secuencia de aminoácidos en un orden diferente en comparación con la secuencia de aminoácidos de un Cas12a o en comparación con la secuencia de aminoácidos de una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a. Por ejemplo, con referencia ahora a **FIG. 1A** y **FIG. 1B**, un Cas12a puede tener una secuencia en la cual sus dominios están ordenados como se muestra en la **FIG. 1A**, y un permutante circular de la presente invención puede tener uno o más dominios en una ubicación diferente como se muestra en la **FIG. 1B** en comparación con la ubicación en Cas12a como se muestra en la **FIG. 1A**. Alfa, Beta, Gamma, Delta, Épsilon y Zeta, como se muestra en la **FIG. 1B**, son, cada uno, ejemplos de permutantes circulares de la presente invención. En algunas formas de realización, en un permutante circular de la presente invención, el dominio WED–1 de un Cas12a o una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a puede no estar ubicado en el extremo N–terminal y/o N–terminal. En algunas formas de realización, en un permutante circular de la presente invención, todo o una parte del dominio WED–1 de un Cas12a o una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a puede estar ubicado en el extremo C–terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, en un permutante circular de la presente invención, todo o una parte del lóbulo REC de un Cas12a o una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a puede estar ubicado en el extremo C–terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, en un permutante circular de la presente invención, la totalidad o una parte del dominio Rec1 y/o la totalidad o una parte del dominio Rec2 de un Cas12a o una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a puede estar ubicado en el extremo C–terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención puede tener la totalidad o una parte de un dominio correspondiente a un dominio WED–1, lóbulo REC, dominio Rec1 y/o dominio Rec2 en su extremo C–terminal. En algunas formas de realización, en un permutante circular de la presente invención, la totalidad o una parte del dominio RuvC–3 de un Cas12a o una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a puede estar ubicado en el extremo N–terminal del permutante circular. En algunas

formas de realización, en un permutante circular de la presente invención, la totalidad o una parte del dominio Nuc de un Cas12a o una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a puede estar ubicado en el extremo N-terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención puede tener la totalidad o una parte de un dominio correspondiente a un dominio RuvC-3 y/o un dominio Nuc en su extremo C-terminal. En algunas formas de realización, el extremo N-terminal de un permutante circular de la presente invención puede ser un residuo de aminoácido que se encuentra en el lóbulo REC (por ejemplo, en el dominio Rec1 o el dominio Rec2) de un Cas12a o una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a. Por ejemplo, el extremo N-terminal de un permutante circular de la presente invención puede ser uno de los residuos de aminoácidos 24–520 de Cas12a que tiene una secuencia de **SEQ ID NO: 56** o una secuencia alineada óptimamente con la misma. En algunas formas de realización, el extremo N-terminal de un permutante circular de la presente invención puede ser un residuo de aminoácido que se encuentra en el dominio Nuc de un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a. Por ejemplo, el extremo N-terminal de un permutante circular de la presente invención puede ser uno de los residuos de aminoácidos 997–1178 de Cas12a que tiene una secuencia de **SEQ ID NO: 56** o una secuencia alineada óptimamente con la misma. En algunas formas de realización, el extremo N-terminal de un permutante circular de la presente invención puede ser uno de los residuos de aminoácidos 50–100, 70–100, 80–90, 100–200, 110–140, 120–130, 700–800, 710–740, 720–730, 780–810, 790–800, 900–1000, 940–970, 1100–1200, 1140–1170, o 1150–1160 de Cas12a que tiene una secuencia de **SEQ ID NO: 56** o una secuencia óptimamente alineada con la misma. Por ejemplo, el extremo N-terminal de un permutante circular de la presente invención puede ser el residuo de aminoácido 85, 292, 443, 517, 1118, o 1156 de Cas12a que tiene una secuencia de **SEQ ID NO: 56** o una secuencia óptimamente alineada con la misma. En algunas formas de realización, el extremo N-terminal de un permutante circular de la presente invención puede ser uno de los residuos de aminoácidos 50–1300 de Cas12a que tiene una secuencia de **SEQ ID NO: 298** o una secuencia óptimamente alineada con la misma. En algunas formas de realización, el extremo N-terminal de un permutante circular de la presente invención puede ser uno de los residuos de aminoácidos 50–100, 70–100, 80–90, 85–95, 300–400, 315–325, 320–330, 400–500, 440–460, 455–465, 500–600, 520–530, 525–535, 1150–1250, 1205–1215, 1200–1300, o 1240–1250 de Cas12a que tiene una secuencia de **SEQ ID NO: 298** o una secuencia óptimamente alineada con la misma. Por ejemplo, el extremo N-terminal de un permutante circular de la presente invención puede ser el residuo de aminoácido 88, 322, 457, 529, 1208, o 1245 de

Cas12a que tiene una secuencia de **SEQ ID NO: 298** o una secuencia óptimamente alineada con la misma. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de cualquiera de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861** o es un permutante circular de una secuencia que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad de secuencia con respecto a una de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861**.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es una proteína o polipéptido que escinde, corta o mella un ácido nucleico; se une a un ácido nucleico (por ejemplo, un ácido nucleico diana y/o un ácido nucleico guía); y/o que identifica, reconoce o se une a un ácido nucleico guía como se define en el presente documento. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención puede ser una enzima (por ejemplo, una nucleasa, endonucleasa, nickasa, etc.) y/o puede funcionar como una enzima. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es una nucleasa y/o tiene por lo menos una función y/o actividad similar a una nucleasa CRISPR–Cas (por ejemplo, una nucleasa Cas12a). En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención comprende actividad de nucleasa y/o actividad de nickasa, comprende un dominio de nucleasa cuya actividad de nucleasa y/o actividad de nickasa se ha reducido o eliminado, comprende actividad de escisión de ADN monocatenario (actividad de DNasa ss) o tiene actividad de DNasa ss que se ha reducido o eliminado, y/o comprende actividad de ARNasa de autoprosesamiento o tiene actividad de ARNasa de autoprosesamiento que se ha reducido o eliminado. Un permutante circular de la presente invención puede unirse a un ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es una nickasa de hebra diana y/o una nickasa de hebra no diana. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es una nickasa de hebra no diana.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de un Cas12a (p. ej., un Cas12a que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 39–65, 298, y 850–852**), donde el Cas12a es una nickasa de hebra no diana que puede modificar la hebra no diana de un ácido nucleico diana, y el permutante circular del Cas12a es una nickasa de hebra no diana y/o modifica la hebra no diana de un ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de un Cas12a (p. ej., un Cas12a que tiene por lo

menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 39–65, 298, y 850–852**), donde el Cas12a es una nickasa de hebra no diana que puede modificar la hebra no diana de un ácido nucleico diana, y el permutante circular del Cas12a es una nickasa de hebra diana y/o modifica la hebra diana de un ácido nucleico diana, y opcionalmente el permutante circular del Cas12a puede ser una nickasa de hebra no diana y/o puede modificar la hebra no diana de un ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de un Cas12a (p. ej., un Cas12a que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 39–65, 298, y 850–852**), donde el Cas12a es una nickasa de hebra no diana que puede modificar la hebra no diana de un ácido nucleico diana, y el permutante circular del Cas12a modifica la hebra diana de un ácido nucleico diana, y el permutante circular del Cas12a es una nickasa de hebra no diana. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de un Cas12a (p. ej., un Cas12a que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 39–65, 298, y 850–852**), donde el Cas12a es una nickasa desactivada de hebra no diana que puede modificar la hebra no diana de un ácido nucleico diana, y el permutante circular de la Cas12a desactivada es una nickasa desactivada de hebra no diana y/o modifica la hebra no diana de un ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de un Cas12a (p. ej., un Cas12a que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 39–65, 298, y 850–852**), donde el Cas12a es una nickasa desactivada de hebra no diana que puede modificar la hebra no diana de un ácido nucleico diana, y el permutante circular de la Cas12a desactivada es una nickasa desactivada de hebra diana y/o modifica la hebra diana de un ácido nucleico diana, y opcionalmente, el permutante circular de la Cas12a desactivada además puede ser una nickasa desactivada de hebra no diana y/o puede modificar la hebra no diana de un ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de una Cas12a muerta, y el permutante circular de la Cas12a muerta no tiene actividad de nucleasa. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de un polipéptido (p. ej., un polipéptido que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 69–132, 159–182, 281–284,**

400–401, 761, y 853–861), donde el polipéptido es una nickasa de hebra diana y/o una nickasa de hebra no diana que puede modificar la hebra no diana y/o la hebra diana de un ácido nucleico diana, y el permutante circular del polipéptido es una nickasa de hebra diana y/o una nickasa de hebra no diana que puede modificar la hebra diana y/o no diana de un ácido nucleico diana.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención puede comprender una mutación en su sitio activo de nucleasa y/o dominio de nucleasa (p. ej., un RuvC, HNH, p. ej., un sitio RuvC de un dominio de nucleasa Cas12a; p. ej., un sitio RuvC y/o un sitio HNH de un dominio de nucleasa Cas9). Un permutante circular de la presente invención que tiene una mutación en su sitio activo de nucleasa y/o dominio de nucleasa que hace que el permutante circular no tenga actividad de nucleasa se denomina comúnmente permutante circular "inactivo" o "muerto". En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención que tiene una mutación en su sitio activo de nucleasa y/o dominio de nucleasa puede tener una actividad deteriorada o una actividad reducida (p. ej., actividad de nickasa) en comparación con el mismo permutante circular sin la mutación y/o en comparación con una proteína efectora CRISPR–Cas sin la mutación.

Un permutante circular de la presente invención puede unirse a un ácido nucleico (por ejemplo, puede unirse a un ácido nucleico diana). En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención puede unirse a un ácido nucleico diana y/o a un ácido nucleico guía. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención puede utilizarse para dirigirse a un ácido nucleico deseado (por ejemplo, un ácido nucleico diana) y/o para llevar otro componente a un ácido nucleico deseado. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención tiene actividad de nucleasa. La actividad de nucleasa puede medirse y/o evaluarse utilizando métodos conocidos en la técnica. En algunas formas de realización, la actividad de nucleasa se puede medir y/o evaluar midiendo la capacidad de un polipéptido (por ejemplo, un permutante circular y/o enzima) para realizar una inserción y/o delección de una o más bases (por ejemplo, INDEL) en uno o más ácidos nucleicos diana (por ejemplo, en alrededor de 3 a alrededor de 5 ácidos nucleicos diana diferentes) en una célula, tal como las células HEK293T. En algunas formas de realización, un polipéptido que tiene una actividad de inserción y/o delección medible (por ejemplo, actividad INDEL) indica que el polipéptido se expresa, se pliega y/o realiza una o más funciones tales como el procesamiento de ARNcr, la unión de ácidos nucleicos (por ejemplo, la unión de ARNcr y/o la unión de ADN) y/o la actividad de nucleasa.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención comprende un enlazador (por ejemplo, un enlazador peptídico) entre dos residuos de

aminoácidos, tal como entre dos residuos de aminoácidos consecutivos. En comparación con la secuencia de aminoácidos de un polipéptido original (por ejemplo, un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a) sobre el que se sustenta el permutante circular, el enlazador puede estar entre dos residuos de aminoácidos no consecutivos del polipéptido original. En algunas formas de realización, para un enlazador que está entre dos residuos de aminoácidos de un permutante circular de la presente invención, uno de los dos residuos de aminoácidos está en el extremo N-terminal del polipéptido original y el otro de los dos aminoácidos está en el extremo C-terminal del polipéptido original. En algunas formas de realización, para un enlazador que está entre dos residuos de aminoácidos de un permutante circular de la presente invención, uno de los dos residuos de aminoácidos es el residuo de aminoácido N-terminal del polipéptido original y el otro de los dos aminoácidos es el residuo de aminoácido C-terminal del polipéptido original. Un enlazador presente en un permutante circular de la presente invención puede tener una longitud de alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 15, 16, 17, 18, 19, o 20 aminoácidos. En algunas formas de realización, un enlazador presente en un permutante circular de la presente invención puede tener una longitud de alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 aminoácidos a alrededor de 11, 12, 13, 14, 15, 15, 16, 17, 18, 19, o 20 aminoácidos. En algunas formas de realización, un enlazador presente en un permutante circular de la presente invención tiene una longitud de 10 aminoácidos o 16 aminoácidos. En algunas formas de realización, un enlazador presente en un permutante circular de la presente invención es un enlazador de aminoácidos que comprende glicina y/o serina. En algunas formas de realización, un enlazador presente en un permutante circular de la presente invención tiene una de las secuencias de aminoácidos de **SEQ ID NOs: 1–36, 313–314, 869–870, 883 y/o 885**. En algunas formas de realización, el enlazador peptídico es codificado por una secuencia de **SEQ ID NO: 311** o **312**. En algunas formas de realización, un enlazador presente en un permutante circular de la presente invención tiene una secuencia de (GSS)_nG (**SEQ ID NO: 36**), (SGS)_n (**SEQ ID NO: 869**), o (SGGS)_n (**SEQ ID NO: 870**) donde n es un número entero de 1–20 (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, o 20). En algunas formas de realización, un enlazador presente en un permutante circular de la presente invención tiene una secuencia de (GSS)_nG (**SEQ ID NO: 36**), (SGS)_n (**SEQ ID NO: 869**), o (SGGS)_n (**SEQ ID NO: 870**) donde n es 2, 3, 4, o 5. En algunas formas de realización, un enlazador presente en un permutante circular de la presente invención tiene una secuencia de STSQSDGSSVPADIDQSSDSDQSSSQGQPG (**SEQ ID NO: 5**), SGSETPGTSESATPES (**SEQ ID NO: 29**), SGGSSGSETPGTSESATPESSGGS (**SEQ ID NO: 883**), SGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGS (**SEQ ID NO: 30**),

SGGSSGSETPGTSESATPESSGGS (**SEQ ID NO: 883**), o GSPKKRKVSGGS (**SEQ ID NO: 885**). En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención está desprovisto de un enlazador. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención está desprovisto de un enlazador entre una primera porción de un polipéptido original que comprende el extremo C-terminal del polipéptido original y una segunda porción del polipéptido original que comprende el extremo N-terminal del polipéptido original.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención puede fusionarse a un polipéptido de interés (p. ej., una desaminasa, a transcriptasa inversa, etc.) con un enlazador entre el permutante circular y el polipéptido de interés. El enlazador puede tener una longitud de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 15, o 16 aminoácidos. En algunas formas de realización, el enlazador tiene una longitud de 4 aminoácidos. En algunas formas de realización, el enlazador tiene una longitud de 6 aminoácidos. En algunas formas de realización, el enlazador tiene una longitud de 8 aminoácidos.

Un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención pueden tener una ventana de edición diferente de aquella para un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a, opcionalmente, medido y/o evaluado en las mismas condiciones. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención tienen una ventana de edición diferente de aquella del polipéptido original sobre el cual se sustenta el permutante circular y/o para el cual el permutante circular es una variante, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención tiene una ventana de edición que es mayor o menor en longitud en comparación con la longitud de la ventana de edición para un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención tiene una ventana de edición que es mayor o menor en longitud en comparación con la longitud de la ventana de edición para el polipéptido original sobre el cual se sustenta el permutante circular y/o para el cual el permutante circular es una variante, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones. El polipéptido y/o permutante circular puede tener una alterada (p. ej., mayor o

menor) ventana de edición para la edición de bases y/o la edición REDRAW. La ventana de edición de un sistema de edición (por ejemplo, para un sistema de edición de bases y/o un sistema REDRAW) se puede medir y/o determinar utilizando métodos conocidos en la técnica. En algunas formas de realización, una ventana de edición para un sistema de edición se puede medir y/o determinar midiendo la eficiencia de edición de C, A y/o ediciones precisas dentro de un espaciador utilizando secuenciación (por ejemplo, secuenciación de próxima generación (NGS)). En algunas formas de realización, una ventana de edición para un sistema de edición puede medirse y/o determinarse mediante un experimento en el que un plásmido que comprende una proteína efectora CRISPR-Cas y/o un permutante circular de la presente invención se cotransfecta transitoriamente en una célula (por ejemplo, una célula HEK293T) junto con un plásmido que comprende un ARN guía o ARNstag, y se detecta y/o se mide la capacidad de la proteína efectora CRISPR-Cas y/o un permutante circular para realizar una edición (por ejemplo, una edición dentro del espaciador del ARN guía o ARNstag) en uno o más ácidos nucleicos diana (por ejemplo, en alrededor de 1 a alrededor de 3 o 5 ácidos nucleicos diana diferentes) en la célula.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención tiene una ventana de edición en una región de un ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 9 a nucleótido 23 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana (es decir, la región son los correspondientes nucleótidos del ácido nucleico diana que están opuestos (p. ej., ajustados o desajustados) a nucleótido 9 a nucleótido 23 de la secuencia espaciadora). En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención que está fusionado a un polipéptido de interés (p. ej., una desaminasa, a transcriptasa inversa, etc.) con un enlazador (p. ej., un enlazador que tiene una longitud de 4, 5, 6, 7, o 8 aminoácidos) entre el permutante circular y el polipéptido de interés tiene una ventana de edición en una región de un ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 9 a nucleótido 23 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, una proteína de la presente invención comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 453, 459, y 629–639** y tiene una ventana de edición en una región de un ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 9 a nucleótido 23 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana.

En algunas formas de realización, una proteína de la presente invención tiene una ventana de edición en una región de un ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 9 a nucleótido 33 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, una proteína de la presente invención tiene una ventana de edición en una región de un ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 24 a nucleótido 33 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, una proteína de la presente invención comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 453, 459, y 629–639** y tiene una ventana de edición en una región de un ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 9 a nucleótido 33 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, una proteína de la presente invención comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 453, 459, y 629–639** y tiene una ventana de edición en una región de un ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 24 a nucleótido 33 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana.

En algunas formas de realización, un permutante circular y/o proteína de la presente invención deleciona uno o más nucleótidos (p. ej., 1, 2, 5, 10, 20, 30, 40, o 50 nucleótido(s) o más) de un ácido nucleico diana, opcionalmente donde la deleción es más larga que la secuencia espaciadora para el ácido nucleico diana, y/o la deleción es en una región que se extiende fuera de la secuencia espaciadora. En algunas formas de realización, una proteína de la presente invención comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 234–245, 299–310, 390–399, 537–560, 702–704, 735–740, y 757–760** y deleciona uno o más nucleótido(s) (p. ej., 1, 2, 5, 10, 20, 30, 40, o 50 nucleótido(s) o más) de un ácido nucleico diana, opcionalmente donde la deleción es más larga que la secuencia espaciadora para el ácido nucleico diana, y/o la deleción es en una región que se extiende fuera de la secuencia espaciadora.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención tiene una ventana de edición en una región de un ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 6 a nucleótido 23 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que

tiene complementariedad al ácido nucleico diana (es decir, la región son los correspondientes nucleótidos del ácido nucleico diana que están opuestos (p. ej., ajustados o desajustados) a nucleótido 6 a nucleótido 23 de la secuencia espaciadora). En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención que está fusionado a un polipéptido de interés (p. ej., una desaminasa, a transcriptasa inversa, etc.) con un enlazador (p. ej., un enlazador que tiene una longitud de 4, 5, 6, 7, o 8 aminoácidos) entre el permutante circular y el polipéptido de interés tiene una ventana de edición en una región del ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 6 a nucleótido 23 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, una proteína de la presente invención comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 450–452, 454–458, 560–461, y 624–628** y tiene una ventana de edición en una región del ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 6 a nucleótido 23 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana.

En algunas formas de realización, una proteína de la presente invención tiene una ventana de edición en una región de un ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 6 a nucleótido 30 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana (es decir, la región son los correspondientes nucleótidos del ácido nucleico diana que están opuestos (p. ej., ajustados o desajustados) a nucleótido 6 a nucleótido 30 de la secuencia espaciadora). En algunas formas de realización, una proteína de la presente invención tiene una ventana de edición en una región del ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 24 a nucleótido 30 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, una proteína de la presente invención comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 450–452, 454–458, 560–461, y 624–628** y tiene una ventana de edición en una región de un ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 6 a nucleótido 30 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, una proteína de la presente invención comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 450–452, 454–458, 560–461, y 624–628** y tiene una ventana de edición

en una región del ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 24 a nucleótido 30 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención tiene una ventana de edición en una región de un ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 8 a nucleótido 21 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana (es decir, la región son los correspondientes nucleótidos del ácido nucleico diana que están opuestos (p. ej., ajustados o desajustados) a nucleótido 8 a nucleótido 21 de la secuencia espaciadora). En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención que está fusionado a un polipéptido de interés (p. ej., una desaminasa, a transcriptasa inversa, etc.) con un enlazador (p. ej., un enlazador que tiene una longitud de 4, 5, 6, 7, o 8 aminoácidos) entre el permutante circular y el polipéptido de interés tiene una ventana de edición en una región del ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 8 a nucleótido 21 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, una proteína de la presente invención comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 486–497 y 609–623** y tiene una ventana de edición en una región del ácido nucleico diana correspondiente a nucleótido 8 a nucleótido 21 (o cualquier rango o nucleótido entre ellos) de la secuencia espaciadora que tiene complementariedad al ácido nucleico diana.

Un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención puede tener mayor actividad de nucleasa en comparación con la actividad de nucleasa de un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención tiene mayor actividad de nucleasa en comparación con el polipéptido original sobre el cual se sustenta el permutante circular y/o para el cual el permutante circular es una variante, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones.

En algunas formas de realización, el extremo N-terminal y/o extremo C-terminal de un permutante circular de la presente invención están más cerca (p. ej., en distancia tal como Angstroms) de un ácido nucleico diana (p. ej., un ácido nucleico diana unido) que el extremo

N-terminal y/o extremo C-terminal de un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones. En algunas formas de realización, el extremo N-terminal y/o extremo C-terminal de un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención están más cerca (p. ej., en distancia tal como Angstroms) de un ácido nucleico diana (p. ej., un ácido nucleico diana unido) que el extremo N-terminal y/o extremo C-terminal de un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones. En algunas formas de realización, el extremo N-terminal y/o extremo C-terminal de un permutante circular de la presente invención están más cerca de la hebra no diana de un ácido nucleico diana que el extremo N-terminal y/o extremo C-terminal de un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones. En algunas formas de realización, el extremo N-terminal y/o extremo C-terminal de un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención están más cerca de la hebra no diana de un ácido nucleico diana que el extremo N-terminal y/o extremo C-terminal de un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones. En algunas formas de realización, el extremo N-terminal y/o extremo C-terminal de un permutante circular de la presente invención están más cerca (p. ej., en distancia tal como Angstroms) de un ácido nucleico diana (p. ej., un ácido nucleico diana unido) que el extremo N-terminal y/o extremo C-terminal del polipéptido original sobre el cual se sustenta el permutante circular y/o para el cual el permutante circular es una variante, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones. En algunas formas de realización, el extremo N-terminal y/o extremo C-terminal de un permutante circular de la presente invención están más cerca de la hebra no diana de un ácido nucleico diana que el extremo N-terminal y/o extremo C-terminal del polipéptido original sobre el cual se sustenta el permutante circular y/o para el cual el permutante circular es una variante, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones. En algunas formas de realización, un dominio de unión de ácido nucleico (p. ej., ADN /o ARN) de un permutante circular de la presente invención está más cerca (p. ej., en distancia tal como Angstroms) de un ácido nucleico diana (p. ej., un ácido nucleico diana unido) que el dominio de unión de ácido nucleico de un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones. En algunas formas de realización, un dominio de unión de ácido nucleico (p. ej., ADN /o ARN) de un polipéptido de la presente invención

que comprende un permutante circular de la presente invención está más cerca (p. ej., en distancia tal como Angstroms) de un ácido nucleico diana (p. ej., un ácido nucleico diana unido) que el dominio de unión de ácido nucleico de un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones. El acceso y/o la distancia se pueden determinar utilizando métodos conocidos en la técnica. En algunas formas de realización, el acceso (por ejemplo, el acceso de un extremo N–o C–terminal a un ácido nucleico, o el acceso de un dominio de unión a un ácido nucleico) y/o la distancia (por ejemplo, una distancia de un extremo N–o C–terminal a un ácido nucleico, o una distancia de un extremo N–o C–terminal a un ácido nucleico) se pueden determinar y/o medir en función de un análisis estructural del polipéptido y/o ácido nucleico (por ejemplo, una estructura determinada mediante modelado, resonancia magnética nuclear y/o cristalografía).

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención tiene mejorado (p. ej., mejor) acceso a un ácido nucleico (p. ej., un ácido nucleico diana, un ARN ss) en comparación con el acceso de un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención tiene mejorado (p. ej., mejor) acceso a un ácido nucleico (p. ej., un ácido nucleico diana, un ARN ss) en comparación con el acceso del polipéptido original sobre el cual se sustenta el permutante circular y/o para el cual el permutante circular es una variante, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención y un segundo polipéptido (p. ej., una desaminasa y/o transcriptasa inversa) proporciona al segundo polipéptido un mejorado (p. ej., mejor) acceso a un ácido nucleico (p. ej., un ácido nucleico diana, un ARN ss) en comparación con el acceso de un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas condiciones. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención y un segundo polipéptido (p. ej., una desaminasa y/o transcriptasa inversa) proporciona al segundo polipéptido un mejorado (p. ej., mejor) acceso a un ácido nucleico (p. ej., un ácido nucleico diana, un ARN ss) en comparación con el acceso del polipéptido original sobre el cual se sustenta el permutante circular y/o para el cual el permutante circular es una variante, opcionalmente medido y/o evaluado en las mismas

condiciones. En algunas formas de realización, el mejorado acceso a un ácido nucleico (p. ej., un ácido nucleico diana) puede producir y/o proporcionar una mayor eficiencia de edición y/o modificada (p. ej., mayor o menor) ventana de edición, lo que puede indicar el mejorado acceso al ácido nucleico.

Un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención puede unirse a un ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, el polipéptido y/o permutante circular se une al ácido nucleico diana en una mejorada (p. ej., más accesible) orientación en comparación con un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a y/o con el polipéptido original sobre el cual se sustenta el permutante circular y/o para el cual el permutante circular es una variante.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención pueden tener una actividad de ARNasa aumentada en comparación con un Cas12a o una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a y/o con el polipéptido original sobre el que se sustenta el permutante circular y/o para el que el permutante circular es una variante. Un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención pueden ser capaces de autoprocesar un ácido nucleico guía. La actividad de ARNasa y/o la capacidad de autoprocesar un ácido nucleico guía se pueden medir y/o determinar utilizando métodos conocidos en la técnica. En algunas formas de realización, la actividad de ARNasa y/o la capacidad de autoprocesar un ácido nucleico guía se pueden medir y/o determinar probando la longitud de una matriz que un polipéptido (por ejemplo, un permutante circular de la presente invención) puede procesar. Por ejemplo, se puede generar una matriz de ARNcr con ácidos nucleicos guía dirigidos a uno o más ácidos nucleicos diana diferentes (por ejemplo, al comienzo, en el medio y al final de la matriz) en una célula (por ejemplo, una célula HEK293T), luego la eficiencia de INDEL en cada uno de los ácidos nucleicos diana se puede determinar usando secuenciación (por ejemplo, NGS).

Un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención puede tener modificada (p. ej., mayor) unión a ARNcr en comparación con Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a y/o con el polipéptido original sobre el cual se sustenta el permutante circular y/o para el cual el permutante circular es una variante. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un

polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención puede tener modificado (p. ej., mayor) acceso PAM en comparación con un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a y/o con el polipéptido original sobre el cual se sustenta el permutante circular y/o para el cual el permutante circular es una variante. El acceso a PAM y/o la unión a ARNcr se pueden medir y/o determinar utilizando métodos conocidos en la técnica. En algunas formas de realización, el acceso a PAM se puede medir y/o determinar realizando un ensayo de unión a PAM *in vivo* bacteriano (PAM-SCANR) en un polipéptido (por ejemplo, un permutante circular de la presente invención) y secuenciando el resultado del ensayo (por ejemplo, NGS).

Un permutante circular de la presente invención puede incluir un sitio y/o secuencia de reconocimiento de PAM no natural. Por ejemplo, un permutante circular de la presente invención puede ser una nucleasa que comprende una especificidad de reconocimiento de PAM no natural (por ejemplo, afinidad de unión alterada) además, o en lugar de la especificidad de reconocimiento de PAM natural (por ejemplo, afinidad de unión de tipo salvaje) para una Cas12a. Como se utiliza en el presente documento con referencia a un permutante circular, una proteína modificada, proteína diseñada y/o nucleasa, "especificidad de PAM alterada" significa que la especificidad de PAM del permutante circular, la proteína modificada, proteína diseñada y/o nucleasa está alterada con respecto a la de la nucleasa de tipo salvaje (por ejemplo, las secuencias de PAM no nativas son reconocidas por el permutante circular, la proteína modificada, proteína diseñada y/o nucleasa además de y/o en lugar de la secuencia de PAM nativa, que son reconocidas por la nucleasa de tipo salvaje). Por ejemplo, una nucleasa Cas12a modificada (p. ej., una proteína modificada) o un permutante circular se alteraría en su especificidad de PAM si reconoce una secuencia de PAM distinta de y/o además de la secuencia de PAM Cas12a nativa de TTTV, donde V es A, C o G. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención comprende un polipéptido que es una porción de Cas12a, y el permutante circular tiene una especificidad de PAM alterada porque reconoce una secuencia de PAM distinta de y/o además de la secuencia de PAM Cas12a nativa de TTTV, donde V es A, C o G. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención reconoce una secuencia de PAM nativa (p. ej., una secuencia de PAM de TTTV, donde V es A, C o G) y/o reconoce una secuencia de PAM no nativa (p. ej., una secuencia de PAM de CCCC, TCCA, TCCC, TCCG, TTCA, TTCC, TATA, TATC y TATG, y/o TTCCG).

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención puede comprender una alterada especificidad de motivo adyacente de protoespaciador (PAM)

en comparación con LbCas12a de tipo salvaje (p. ej., **SEQ ID NO: 56**) y/o un Cas12a modificado que tiene una secuencia de una de **SEQ ID NOs: 850–852**. Un permutante circular de la presente invención puede tener una alterada especificidad de PAM, donde la alterada especificidad de PAM incluye, sin limitación, NNNG, NNNT, NNNA, NNNC, NNG, NNT, NNC, NNA, NG, NT, NC, NA, NN, NNN, NNNN, donde cada N de cada secuencia se selecciona de manera independiente de cualquiera de T, C, G, o A. En algunas formas de realización, la alterada especificidad de PAM puede incluir, sin limitación, TTTA, TTTC, TTTG, TTTT, TTCA, TTCC, TTCG, TATA, TATC, TCCG, TCCC, TCCA, y/o TATG. En algunas formas de realización, la alterada especificidad de PAM puede ser NNNN, donde cada N de cada secuencia es seleccionado de manera independiente de cualquiera de T, C, G, o A.

Además de tener una especificidad de reconocimiento de PAM alterada, un permutante circular de la presente invención puede comprender además una mutación en el sitio activo de la nucleasa (p. ej., dominio RuvC) (p. ej., LbCas12amuerta, dLbCas12a). Dichas modificaciones pueden dar como resultado que el permutante circular tenga una actividad de nucleasa reducida (p. ej., actividad de nickasa) o nula actividad de nucleasa.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención puede tener una estabilidad aumentada (p. ej., estabilidad térmica, estabilidad de expresión y/o estabilidad purificada aumentadas) en comparación con un Cas12a o una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a y/o con el polipéptido original sobre el que se sustenta el permutante circular y/o para el que el permutante circular es una variante. La estabilidad se puede medir y/o determinar utilizando métodos conocidos en la técnica. En algunas formas de realización, la estabilidad (por ejemplo, la estabilidad de expresión y/o purificación) se puede medir y/o determinar cuantificando el rendimiento de expresión de proteína en bacterias (por ejemplo, *E. coli*), opcionalmente, en comparación con el rendimiento de expresión de proteína para un control (por ejemplo, un Cas12a tal como LbCas12a y/o una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a). En algunas formas de realización, la estabilidad térmica se puede medir *in vitro* realizando un ensayo de corte a dos o más temperaturas diferentes, o *in vivo*, midiendo la eficiencia de corte de un polipéptido (por ejemplo, un permutante circular de la presente invención) en comparación con un Cas12a o una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a en una célula (por ejemplo, una célula HEK293T o una célula vegetal) o en una planta. En algunas formas de realización, la estabilidad térmica se puede medir utilizando calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés).

Un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención puede tener por lo menos una mejora (p. ej., modificada ventana de edición, mayor actividad de nucleasa, mayor estabilidad, mayor unión a un ácido nucleico, etc.) en comparación con un polipéptido (p. ej., un Cas12a y/o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a) que tiene una secuencia de aminoácidos de cualquiera de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861**.

El residuo de aminoácido N-terminal y/o el residuo de aminoácido C-terminal de un permutante circular de la presente invención puede ser un residuo de aminoácido que está presente en un bucle del polipéptido original (por ejemplo, un Cas12a o una proteína diseñada que comprende un polipéptido Cas12a) en el que se sustenta el permutante circular y/o para el que el permutante circular es una variante, o puede ser un residuo ácido que está presente inmediatamente antes o inmediatamente después de un bucle del polipéptido original en el que se sustenta el permutante circular y/o para el que el permutante circular es una variante. El bucle puede ser un bucle expuesto en la superficie. En algunas formas de realización, el residuo de aminoácido N-terminal y el residuo de aminoácido C-terminal del permutante circular son cada uno residuos de aminoácidos que están presentes en un bucle (por ejemplo, un bucle expuesto en la superficie) del polipéptido original. En algunas formas de realización, uno del residuo de aminoácido N-terminal y el residuo de aminoácido C-terminal del permutante circular es un residuo de aminoácido que está presente en un bucle (por ejemplo, un bucle expuesto en la superficie) del polipéptido original, y el otro del residuo de aminoácido N-terminal y el residuo de aminoácido C-terminal del permutante circular es un residuo de aminoácido que está inmediatamente antes o inmediatamente después de un bucle del polipéptido original. Un Cas12a y/o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a puede tener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o más bucles. En algunas formas de realización, el residuo de aminoácido N-terminal y/o el residuo de aminoácido C-terminal de un permutante circular de la presente invención puede ser un residuo de aminoácido que está presente, opcionalmente en la dirección del extremo N- al C-terminal, en el primer, segundo, tercero, cuarto, quinto, sexto, séptimo, octavo, noveno, décimo, décimo primero, décimo segundo, decimo tercero o decimo cuarto bucle, etc., (por ejemplo, Bucle 1, Bucle 2, ...Bucle 14, etc., respectivamente) del polipéptido original en el que se sustenta el permutante circular y/o para el que el permutante circular es una variante, o puede ser un residuo de aminoácido que está inmediatamente antes o inmediatamente después, opcionalmente en la dirección del extremo N- al C-terminal, del primer, segundo, tercero,

cuarto, quinto, sexto, séptimo, octavo, noveno, décimo, décimo primero, décimo segundo, decimo tercero o decimo cuarto bucle, etc. del polipéptido original. El residuo de aminoácido N-terminal y/o el residuo de aminoácido C-terminal del permutante circular puede estar presente en un bucle de un Cas12a que tiene una secuencia de **SEQ ID NO: 55** o **56** y/o presente en una región correspondiente (p. ej., bucle) que está óptimamente alineada con **SEQ ID NO: 55** o **56**, o puede ser un residuo de aminoácido que está inmediatamente antes o inmediatamente después de un bucle de un Cas12a que tiene una secuencia de **SEQ ID NO: 55** o **56** y/o presente en una región correspondiente (p. ej., bucle) que está óptimamente alineada con **SEQ ID NO: 55** o **56**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención se sustenta en, y/o es una variante de **SEQ ID NO: 55** o un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a que está óptimamente alineada con **SEQ ID NO: 55**, donde en **SEQ ID NO: 55** Bucle 1 es residuos de aminoácidos 1141–1145, Bucle 2 es residuos de aminoácidos 997–1019, Bucle 3 es residuos de aminoácidos 84–86, Bucle 4 es residuos de aminoácidos 268–295, Bucle 5 es residuos de aminoácidos 1156–1160, Bucle 6 es residuos de aminoácidos 1138–1141, Bucle 7 es residuos de aminoácidos 1170–1177, Bucle 8 es residuos de aminoácidos 1101–1110, Bucle 9 es residuos de aminoácidos 513–520, Bucle 10 es residuos de aminoácidos 438–448, Bucle 11 es residuos de aminoácidos 476–482, Bucle 12 es residuos de aminoácidos 405–408, Bucle 13 es residuos de aminoácidos 332–336, y Bucle 14 es residuos de aminoácidos 1118–1119, y donde el residuo de aminoácido N-terminal y/o el residuo de aminoácido C-terminal del permutante circular es un residuo de aminoácido que está presente en un bucle de **SEQ ID NO: 55** o una secuencia óptimamente alineada con la misma, o es un residuo ácido que está presente inmediatamente antes o inmediatamente después de un bucle de **SEQ ID NO: 55** o una secuencia óptimamente alineada con la misma. El residuo de aminoácido N-terminal y/o el residuo de aminoácido C-terminal del permutante circular puede estar presente en un bucle de un Cas12a que tiene una secuencia de **SEQ ID NO: 298** y/o presente en una región correspondiente (p. ej., bucle) que está óptimamente alineada con **SEQ ID NO: 298**, o puede ser un residuo de aminoácido que está inmediatamente antes o inmediatamente después de un bucle de un Cas12a que tiene una secuencia de **SEQ ID NO: 298** y/o presente en una región correspondiente (p. ej., bucle) que está óptimamente alineada con **SEQ ID NO: 298**. En algunas formas de realización, el residuo de aminoácido N-terminal y/o el residuo de aminoácido C-terminal de un permutante circular de la presente invención está en un dominio Nuc del polipéptido original (p. ej., un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a), opcionalmente en un bucle en el dominio Nuc del polipéptido original, o es un residuo de aminoácido que está

inmediatamente antes o inmediatamente después de un bucle en el dominio Nuc del polipéptido original. En algunas formas de realización, el residuo de aminoácido N-terminal y/o el residuo de aminoácido C-terminal de un permutante circular de la presente invención está en un dominio Rec (p. ej., dominio Rec1 y/o dominio Rec2) del polipéptido original (p. ej., un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a), opcionalmente en un bucle en el dominio Rec (p. ej., dominio Rec1 y/o dominio Rec2) del polipéptido original, o es un residuo de aminoácido que está inmediatamente antes o inmediatamente después de un bucle en el dominio Rec (p. ej., dominio Rec1 y/o dominio Rec2) del polipéptido original.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención se sustenta en, y/o es una variante de **SEQ ID NO: 55** o un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a, que está óptimamente alineada con **SEQ ID NO: 55**, donde el residuo de aminoácido N-terminal del permutante circular es residuo de aminoácido 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, o 89 de **SEQ ID NO: 55** o una secuencia óptimamente alineada con la misma, y el residuo de aminoácido C-terminal del permutante circular es el residuo ácido de **SEQ ID NO: 55** o la secuencia óptimamente alineada con la misma que está presente inmediatamente antes de aquella correspondiente al aminoácido N-terminal del permutante circular. Por ejemplo, si el residuo de aminoácido N-terminal de un permutante circular de la presente invención es residuo de aminoácido 85 de **SEQ ID NO: 55**, entonces el residuo de aminoácido C-terminal del permutante circular es residuo ácido 84 de **SEQ ID NO: 55**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención se sustenta en, y/o es una variante de **SEQ ID NO: 55** o un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a que está óptimamente alineada con **SEQ ID NO: 55**, donde el residuo de aminoácido N-terminal del permutante circular es residuo de aminoácido 264, 265, 266, 267, 276, 277, 278, 279, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, o 298 de **SEQ ID NO: 55** o una secuencia óptimamente alineada con la misma, y el residuo de aminoácido C-terminal del permutante circular es el residuo ácido de **SEQ ID NO: 55** o la secuencia óptimamente alineada con la misma que está presente inmediatamente antes de aquella correspondiente al aminoácido N-terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención se sustenta en, y/o es una variante de **SEQ ID NO: 55** o un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a que está óptimamente alineada con **SEQ ID NO: 55**, donde el residuo de aminoácido N-terminal del permutante circular es residuo de aminoácido 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, o 450 de **SEQ ID NO: 55** o una secuencia óptimamente alineada con la misma, y el residuo de aminoácido C-

terminal del permutante circular es el residuo ácido de **SEQ ID NO: 55** o la secuencia óptimamente alineada con la misma que está presente inmediatamente antes de aquella correspondiente al aminoácido N-terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención se sustenta en, y/o es una variante de **SEQ ID NO: 55** o un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a que está óptimamente alineada con **SEQ ID NO: 55**, donde el residuo de aminoácido N-terminal del permutante circular es residuo de aminoácido 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, o 525 de **SEQ ID NO: 55** o una secuencia óptimamente alineada con la misma, y el residuo de aminoácido C-terminal del permutante circular es el residuo ácido de **SEQ ID NO: 55** o la secuencia óptimamente alineada con la misma que está presente inmediatamente antes de aquella correspondiente al aminoácido N-terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención se sustenta en, y/o es una variante de **SEQ ID NO: 55** o un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a que está óptimamente alineada con **SEQ ID NO: 55**, donde el residuo de aminoácido N-terminal del permutante circular es residuo de aminoácido 1110, 1111, 1112, 1113, 1114, 1115, 1116, 1117, 1118, 1119, 1120, 1121, 1122, 1123, 1124, o 1125 de **SEQ ID NO: 55** o una secuencia óptimamente alineada con la misma, y el residuo de aminoácido C-terminal del permutante circular es el residuo ácido de **SEQ ID NO: 55** o la secuencia óptimamente alineada con la misma que está presente inmediatamente antes de aquella correspondiente al aminoácido N-terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención se sustenta en, y/o es una variante de **SEQ ID NO: 55** o un Cas12a o una proteína diseñada genéticamente que comprende un polipéptido Cas12a que está óptimamente alineada con **SEQ ID NO: 55**, donde el residuo de aminoácido N-terminal del permutante circular es residuo de aminoácido 1150, 1151, 1152, 1153, 1154, 1155, 1156, 1157, 1158, 1159, 1160, 1161, 1162, 1163, 1164, o 1165 de **SEQ ID NO: 55** o una secuencia óptimamente alineada con la misma, y el residuo de aminoácido C-terminal del permutante circular es el residuo ácido de **SEQ ID NO: 55** o la secuencia óptimamente alineada con la misma que está presente inmediatamente antes de aquella correspondiente al aminoácido N-terminal del permutante circular.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención comprende una primera secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una primera porción de una de **SEQ ID NOS: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–**

401, 741, 761, y 850–861, donde la primera porción incluye el extremo N–terminal y/o la totalidad o una porción del extremo N–terminal de aquella de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861** y la primera porción es menos que la secuencia de aminoácidos entera de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861**. En algunas formas de realización, el extremo N–terminal de aquella de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861** está en o después del residuo de aminoácido 50, 70, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, o 1300 del permutante circular. En algunas formas de realización, el extremo N–terminal de aquella de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861** está entre los residuos de aminoácidos 50 y 100, 70 y 100, 80 y 90, 100 y 200, 110 y 140, 120 y 130, 700 y 800, 710 y 740, 720 y 730, 780 y 810, 790 y 800, 900 y 1000, 940 y 970, 1100 y 1200, 1140 y 1170, o 1150 y 1160 del permutante circular. En algunas formas de realización, la primera porción de aquella de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861** incluye una porción del extremo C–terminal de aquella de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861**. En algunas formas de realización, la primera porción de aquella de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861** incluye el extremo C–terminal del permutante circular, y/o la primera secuencia de aminoácidos del permutante circular incluye el extremo C–terminal. En algunas formas de realización, el permutante circular comprende una segunda secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una segunda porción de aquella de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861**, donde la segunda porción incluye el extremo C–terminal y/o la totalidad o una porción del extremo C–terminal de aquella de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861**, y la segunda porción es menos que la secuencia de aminoácidos entera de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861**. En algunas formas de realización, la segunda porción de aquella de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861** incluye el extremo N–terminal del permutante circular, y/o la segunda secuencia de aminoácidos del permutante circular incluye el extremo N–terminal. En algunas formas de realización, el permutante circular comprende, en la dirección de extremo N–terminal a extremo C–terminal, la segunda porción de aquella de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861** y la primera porción de aquella de **SEQ ID NOs: 39–65, 69–132, 159–182, 281–284, 298, 400–401, 741, 761, y 850–861**,

donde la primera y segunda porciones están unidas de manera covalente opcionalmente a través de un enlazador (p. ej., un enlazador peptídico).

Un permutante circular de la presente invención puede tener una secuencia de aminoácidos que comprende por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 234–245, 299–310, 390–399, 537–560, 702–704, 735–740, y 757–760**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención puede ser codificado por un ácido nucleico que comprende por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 247–258, 286–297, 327–338, 402–411, 561–584, 706–708, 742–747, y 763–766**.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de un polipéptido diseñado, donde el polipéptido diseñado, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 56**, comprende una o más mutaciones de aminoácidos en una posición seleccionada del grupo que consiste en: D155, G531, K594, D831, R1137, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 56**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de un polipéptido diseñado que, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 56**, comprende una o más mutaciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: D155R, G531R, K594R, D831A, R1137A, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 56**. En algunas formas de realización, el polipéptido diseñado, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 56**, comprende mutaciones G531R y K594R, con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 56**.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de un polipéptido diseñado, donde el polipéptido diseñado, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 55**, comprende una o más mutaciones de aminoácidos en una posición seleccionada del grupo que consiste en: D156, G532, K595, D832, R1138, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 55**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de un polipéptido diseñado que, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 55**, comprende una o más mutaciones de

aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: D156R, G532R, K595R, D832A, R1138A, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 55**. En algunas formas de realización, el polipéptido diseñado, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 55**, comprende las mutaciones G532R y K595R, con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 55**.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 235**, comprende una o más mutaciones de aminoácidos en una posición seleccionada del grupo que consiste en: D71, G447, K510, D747, R1053, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 235**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 235**, comprende una o más mutaciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: D71R, G447R, K510R, D747A, R1053A, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 235**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 235**, comprende las mutaciones G447R y K510R, con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 235**.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 237**, puede comprender una o más mutaciones de aminoácidos en una posición seleccionada del grupo que consiste en: D1107, D540, R846, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 237**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 237**, comprende una o más mutaciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: D1107R, D540A, R846A, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 237**.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 239**, comprende una o más mutaciones de aminoácidos en una posición seleccionada del grupo que consiste en: D243, G619, K682, D919, R1225, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 239**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 239**, comprende una o más mutaciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: D243R, G619R, K682R, D919A, R1225A, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 239**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 239**, comprende las mutaciones G619R y K682R, con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 239**.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 241**, comprende una o más mutaciones de aminoácidos en una posición seleccionada del grupo que consiste en: D882, G15, K78, D315, R621, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 241**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 241**, comprende una o más mutaciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: D882R, G15R, K78R, D315A, R621A, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 241**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 241**, comprende las mutaciones G15R y K78R, con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 241**.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente

invención, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 243**, comprende una o más mutaciones de aminoácidos en una posición seleccionada del grupo que consiste en: D956, D389, R695, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 243**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 243**, comprende una o más mutaciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: D956R, D389A, R695A, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 243**.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 245**, comprende una o más mutaciones de aminoácidos en una posición seleccionada del grupo que consiste en: D281, R20, D957, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 245**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención y/o un polipéptido de la presente invención que comprende un permutante circular de la presente invención, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 245**, comprende una o más mutaciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: D281R, R20A, D957A, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 245**.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de un polipéptido diseñado, donde el polipéptido diseñado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 55** y, en relación con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 55** (p. ej., óptimamente alineada a **SEQ ID NO: 55**), el polipéptido diseñado comprende una mutación en una o más de las siguientes posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: N100, K116, K120, K121, D122, E125, T148, T149, T152, D156, E159, N211, N263, T296, E330, K387, A404, D405, D423, E484, L498, N527, Q529, G532, D535, K538, E539, D541, Y542, Y553, Y554, D572, L585, K591, M592, K595, V596, S599, K600, K601, Y616, Y646, W649, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 55**.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de un polipéptido diseñado, donde el polipéptido diseñado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 55** y, en relación con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 55** (p. ej., óptimamente alineada a **SEQ ID NO: 55**), el polipéptido diseñado comprende una o más mutaciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: N100S, K116D, K116R, K116N, K120R, K120H, K120N, K120T, K120Y, K120Q, K121S, K121T, K121H, K121R, K121G, K121D, K121Q, D122R, D122K, D122H, D122E, D122N, E125G, E125R, E125K, E125Q, E125Y, T148H, T148S, T148A, T148C, T149A, T149C, T149S, T149G, T149H, T149P, T149F, T149N, T149D, T149V, T152R, T152K, T152W, T152Y, T152H, T152Q, T152E, T152L, T152F, D156R, D156K, D156Y, D156W, D156Q, D156H, D156I, D156V, D156L, D156E, E159K, E159R, E159H, E159Y, E159Q, N211S, N263I, T296I, E330V, K387E, A404V, D405G, D423V, E484D, L498M, N527S, Q529N, Q529T, Q529H, Q529A, Q529F, Q529G, Q529S, Q529P, Q529W, Q529D, G532D, G532N, G532S, G532H, G532F, G532K, G532R, G532Q, G532A, G532L, G532C, D535N, D535H, D535V, D535T, D535S, D535A, D535W, D535K, K538R, K538V, K538Q, K538W, K538Y, K538F, K538H, K538L, K538M, K538C, K538G, K538A, K538P, E539V, D541N, D541H, D541R, D541K, D541Y, D541I, D541A, D541S, D541E, Y542R, Y542K, Y542H, Y542Q, Y542F, Y542L, Y542M, Y542P, Y542V, Y542N, Y542T, Y553H, Y554N, D572G, L585Q, L585G, L585H, L585F, K591W, K591F, K591Y, K591H, K591R, K591S, K591A, K591G, K591P, M592R, M592K, M592Q, M592E, M592A, K595R, K595Q, K595Y, K595L, K595W, K595H, K595E, K595S, K595D, K595M, V596T, V596H, V596G, V596A, S599G, S599H, S599N, S599D, K600R, K600H, K600G, K601R, K601H, K601Q, K601T, Y616K, Y616R, Y616E, Y616F, Y616H, Y646R, Y646E, Y646K, Y646H, Y646Q, Y646W, Y646N, W649H, W649K, W649Y, W649R, W649E, W649S, W649V, W649T, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 55**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de un polipéptido diseñado que, opcionalmente cuando se alinea de manera óptima con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 55**, comprende una o más mutaciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: N100S, K116D, E125G, T152R, D156E, N211S, N263I, T296I, E330V, K387E, A404V, D405G, D423V, E484D, L498M, N527S, G532R, K538V, E539V, Y542R, Y553H, Y554N,

D572G, L585Q, K595R, K595Y, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 55**.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de un polipéptido diseñado, donde el polipéptido diseñado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 951** y, en relación con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 951** (p. ej., óptimamente alineada a **SEQ ID NO: 951**), el polipéptido diseñado comprende una mutación en una o más de las siguientes posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: N100, K116, K120, K121, D122, E125, T148, T149, T152, D156, E159, N211, N263, T443, E478, K535, A552, D553, D571, E632, L646, N675, Q677, G680, D683, K686, E687, D689, Y690, Y701, Y702, D720, L733, K739, M740, K743, V744, S747, K748, K749, Y764, Y794, W797, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 951**.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es un permutante circular de un polipéptido diseñado, donde el polipéptido diseñado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 951** y, en relación con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 951** (p. ej., óptimamente alineada a **SEQ ID NO: 951**), el polipéptido diseñado comprende una o más mutaciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en: N100S, K116D, K116R, K116N, K120R, K120H, K120N, K120T, K120Y, K120Q, K121S, K121T, K121H, K121R, K121G, K121D, K121Q, D122R, D122K, D122H, D122E, D122N, E125G, E125R, E125K, E125Q, E125Y, T148H, T148S, T148A, T148C, T149A, T149C, T149S, T149G, T149H, T149P, T149F, T149N, T149D, T149V, T152R, T152K, T152W, T152Y, T152H, T152Q, T152E, T152L, T152F, D156R, D156K, D156Y, D156W, D156Q, D156H, D156I, D156V, D156L, D156E, E159K, E159R, E159H, E159Y, E159Q, N211S, N263I, T443I, E478V, K535E, A552V, D553G, D571V, E632D, L646M, N675S, Q677N, Q677T, Q677H, Q677A, Q677F, Q677G, Q677S, Q677P, Q677W, Q677D, G680D, G680N, G680S, G680H, G680F, G680K, G680R, G680Q, G680A, G680L, G680C, D683N, D683H, D683V, D683T, D683S, D683A, D683W, D683K, K686R, K686V, K686Q, K686W, K686Y, K686F, K686H, K686L, K686M, K686C, K686G, K686A, K686P, E687V, D689N, D689H, D689R, D689K, D689Y, D689I, D689A, D689S, D689E, Y690R, Y690K, Y690H, Y690Q, Y690F, Y690L, Y690M, Y690P, Y690V, Y690N,

Y690T, Y701H, Y702N, D720G, L733Q, L733G, L733H, L733F, K739W, K739F, K739Y, K739H, K739R, K739S, K739A, K739G, K739P, M740R, M740K, M740Q, M740E, M740A, K743R, K743Q, K743Y, K743L, K743W, K743H, K743E, K743S, K743D, K743M, V744T, V744H, V744G, V744A, S747G, S747H, S747N, S747D, K748R, K748H, K748G, K749R, K749H, K749Q, K749T, Y764K, Y764R, Y764E, Y764F, Y764H, Y794R, Y794E, Y794K, Y794H, Y794Q, Y794W, Y794N, W797H, W797K, W797Y, W797R, W797E, W797S, W797V, W797T, y cualquiera de sus combinaciones con referencia a la numeración de posición de **SEQ ID NO: 951**.

Un permutante circular de la presente invención puede ser fusionado (p. ej., directa o indirectamente tal como mediante un enlazador) a uno o más polipéptidos que son iguales o diferentes entre sí. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención es fusionado (p. ej., directa o indirectamente tal como mediante un enlazador) a un segundo polipéptido. En algunas formas de realización, el segundo polipéptido está fusionado al extremo N-terminal o el extremo C-terminal del permutante circular a través de un enlace peptídico entre un residuo de aminoácido del permutante circular y un residuo de aminoácido del segundo polipéptido. En algunas formas de realización, el segundo polipéptido está fusionado al extremo N-terminal o el extremo C-terminal del permutante circular a través de un enlazador (p. ej., un enlazador peptídico). El segundo polipéptido puede ser un polipéptido de interés. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención está fusionado a uno o más (p. ej., 2, 3, 4, 5, o más) polipéptidos de interés. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención está fusionado a una citosina desaminasa (p. ej., la totalidad o una porción de una citosina desaminasa que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 183–193 y 798**), opcionalmente donde la citosina desaminasa está fusionada (directa o indirectamente) al extremo N- o C-terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención está fusionado a un inhibidor de glicosilasa, opcionalmente donde el inhibidor de glicosilasa es un inhibidor de uracilo glicosilasa (UGI), p. ej., la totalidad o una porción de un UGI que tiene una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a **SEQ ID NO: 204**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención está fusionado (directa o indirectamente) a una citosina desaminasa y un inhibidor de glicosilasa en cualquier orden. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención está fusionado a una adenina desaminasa (p. ej., la totalidad o una porción

de una adenina desaminasa que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 194–203 y 884**), opcionalmente donde la adenina desaminasa está fusionada (directa o indirectamente) al extremo N– o C–terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención está fusionado (directa o indirectamente) a una adenina desaminasa y una citosina desaminasa en cualquier orden, opcionalmente donde la adenina desaminasa está fusionada (directa o indirectamente) a uno del extremo N– o C–terminal del permutante circular, y la citosina desaminasa está fusionada (directa o indirectamente) al otro del extremo N– o C–terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, una secuencia de nucleótidos que codifica una desaminasa (p. ej., una citosina desaminasa o adenina desaminasa) comprende una secuencia de nucleótidos intrónica. En algunas formas de realización, la secuencia de nucleótidos intrónica tiene por lo menos alrededor de 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad de secuencia con respecto a **SEQ ID NO: 950**. En algunas formas de realización, un intrón (p. ej., que tiene por lo menos alrededor de 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad de secuencia con respecto a **SEQ ID NO: 950**) puede estar entre una primera secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido de interés (p. ej., una citosina desaminasa, adenina desaminasa, transcriptasa inversa, etc.) y una segunda secuencia de nucleótidos que codifica un permutante circular de la presente invención.

En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención está fusionado a una transcriptasa inversa, opcionalmente donde la transcriptasa inversa está fusionada (directa o indirectamente) al extremo N– o C–terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, una transcriptasa inversa puede tener una secuencia que tiene por lo menos alrededor de 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 205–216**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención está fusionado a una señal de localización nuclear. En algunas formas de realización, una señal de localización nuclear tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 217–219 y 842–844**. En algunas formas de realización, una señal de localización nuclear (NLS, por sus siglas en inglés) de la presente invención está codificada por un polinucleótido que tiene por lo menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una o más de cualquiera de **SEQ ID NOs: 845–849**. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención comprende una NLS

que está fusionada (directa o indirectamente) al extremo N- o C-terminal del permutante circular. En algunas formas de realización, una NLS está presente en el extremo N-terminal y/o extremo C-terminal de un permutante circular de la presente invención.

En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención comprende un permutante circular de la presente invención y tiene actividad de polimerasa. La actividad de polimerasa puede ser medida usando métodos conocidos en la técnica. Los ensayos ejemplares para medir y/o determinar la actividad de la polimerasa incluyen, sin limitación, medir la incorporación de un nucleótido etiquetado, por ejemplo, un nucleótido radiomarcado/radioetiquetado y/o marcado colorimétricamente (por ejemplo, fluorescentemente). En algunas formas de realización, el radiomarcado se utiliza para medir y/o determinar la actividad de la polimerasa (por ejemplo, medir la cantidad de un nucleótido radiomarcado incluido en un ácido nucleico polimerizado). En algunas formas de realización, se utiliza un ensayo de extensión de cebador para medir y/o determinar la actividad de la polimerasa, opcionalmente, donde el ensayo de extensión de cebador utiliza un cebador marcado/etiquetado (por ejemplo, un cebador marcado fluorescentemente tal como un cebador marcado Cy3 o Cy5) para determinar la tasa de síntesis. En algunas formas de realización, se utiliza un ensayo de escisión para medir y/o determinar la actividad de la polimerasa (por ejemplo, la actividad de la ARNasa).

En algunas formas de realización, la actividad de un polipéptido de la presente invención se mide por la cantidad de nucleótidos generados (por ejemplo, polimerizados) durante una división celular y/o en alrededor de 20 minutos. La división celular y/o el período de tiempo para una división celular pueden ser determinados fácilmente por un experto en la técnica. En algunas formas de realización, la división celular es una división celular para una célula bacteriana, una célula humana o una célula vegetal. En algunas formas de realización, el tiempo de una división celular es alrededor de 18 a alrededor de 22 minutos, alrededor de 19 a alrededor de 21 minutos, o alrededor de 20 minutos. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención genera (p. ej., polimeriza) por lo menos 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 o más nucleótidos durante una división celular y/o en alrededor de 20 minutos, opcionalmente, a una temperatura de alrededor de 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, u 80°C. La actividad de polipéptido puede ser medida por la tasa de nucleótidos generados (p. ej., polimerizados) en un período de tiempo. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención polimeriza por lo menos 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, o 25 nucleótidos en 20 minutos. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención polimeriza por lo menos 0,9, 0,95, 1,0,

1,05, 1,1, 1,15, 1,20, 1,25 o más nucleótidos por minuto a una temperatura fisiológicamente pertinente. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención genera nucleótidos a una tasa de por lo menos 0,9, 0,95, 1,0, 1,05, 1,1, 1,15, 1,20, o 1.25 nucleótidos por minuto a una temperatura de alrededor de 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, o 80°C. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención genera (p. ej., polimeriza) por lo menos 23 nucleótidos durante un ciclo de división y/o en alrededor de 20 minutos, opcionalmente a una temperatura de alrededor de 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, o 80°C.

En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención genera ADN a partir de ARN a una temperatura en un rango de alrededor de 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C o 50°C a alrededor de 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, o 80°C. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención genera ADN a partir de ARN a una temperatura de alrededor de 50°C o menos, tal como a una temperatura de alrededor de 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, o 45°C. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención genera ADN a partir de ARN a una temperatura en un rango de alrededor de 10°C a alrededor de 40°C, alrededor de 15°C a alrededor de 35°C, alrededor de 15°C a alrededor de 40°C, alrededor de 15°C a alrededor de 50°C, alrededor de 18°C a alrededor de 30°C, alrededor de 18°C a alrededor de 25°C, alrededor de 20°C a alrededor de 25°C, alrededor de 20°C a alrededor de 80°C, alrededor de 20°C a alrededor de 50°C, alrededor de 20°C a alrededor de 45°C, alrededor de 30°C a alrededor de 50°C, alrededor de 30°C a alrededor de 45°C, alrededor de 30°C a alrededor de 40°C, alrededor de 20°C a alrededor de 22°C, alrededor de 18°C, 19°C, 20°C, 21°C, 22°C, 23°C, 24°C, o 25°C, o alrededor de temperatura ambiente.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término “procesividad” se refiere a la cantidad de nucleótidos generados (por ejemplo, sintetizados) en un único evento de unión de un polipéptido de la presente invención. La procesividad se puede medir *in vitro* y/o *in vivo* utilizando métodos conocidos en la técnica. En algunas formas de realización, la procesividad se puede medir por la cantidad de bases generadas durante un período de tiempo por unidad de enzima (por ejemplo, polipéptido de la presente invención), donde 1 unidad de enzima es la cantidad de enzima que incorporará 1 nmol de dTTP en material insoluble en ácido en un volumen de reacción total de 50 µL en 10 minutos a 37°C utilizando poli(rA)•oligo(dT) como cebador de plantilla con 50 mM de Tris-HCl (pH 8,3), 6 mM de MgCl₂, 10 mM de ditiotreitól, 0,5 mM de [3H]-dTTP y 0,4 mM de poli(rA)•oligo(dT)₁₂₋₁₈. En algunas formas de

realización, un polipéptido de la presente invención tiene una procesividad de por lo menos alrededor de 100, 250, 500, 1000, 1500, o 2000 nucleótidos o más, p. ej. alrededor de 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, 1500, 1550, 1600, 1650, 1700, 1750, 1800, 1850, 1900, 1950, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, o 5000 nucleótidos o más. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención tiene una procesividad de alrededor de 100 a alrededor de 600 nucleótidos, alrededor de 200 a alrededor de 500 nucleótidos, o por lo menos alrededor de 300 nucleótidos.

Un polipéptido de la presente invención puede tener una procesividad que se incrementa en comparación con la procesividad de una transcriptasa inversa de control. Una "transcriptasa inversa de control" o "RT de control" como se usa en este documento se refiere a una transcriptasa inversa de origen natural o una transcriptasa inversa disponible comercialmente. Las RT de control ejemplares incluyen, sin limitación, la transcriptasa inversa del virus de la leucemia murina de Moloney (MMLV-RT o M-MuLV-RT), MMLV mutada (por ejemplo, 5M-MMLV), la transcriptasa inversa del virus de la mieloblastosis aviar (AMV-RT), la transcriptasa inversa del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV-RT). En algunas formas de realización, la RT de control puede ser MMLV y/o 5M-MMLV. En algunas formas de realización, una RT de control puede tener una secuencia de una de las **SEQ ID NO: 205-216**. La procesividad de un polipéptido de la presente invención y de una RT de control se puede medir utilizando una o más secuencias en las mismas condiciones de reacción (p. ej., mismo tiempo, temperatura, concentración, identidad de secuencia, modificación, etc.). En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención puede tener una procesividad reducida en comparación con (p. ej., menor que) la procesividad de una RT de control y/o puede tener una procesividad que sea más rápida que la capacidad de una enzima reparadora de ADN para corregir una modificación, de modo que el polipéptido pueda superar a la enzima reparadora de ADN. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención tiene una procesividad a una primera temperatura que es igual o mejor que la procesividad de una transcriptasa inversa de control a una segunda temperatura, donde la primera temperatura es menor que la segunda temperatura. Por ejemplo, un polipéptido de la presente invención puede tener una procesividad a temperatura ambiente que es igual o mejor que la procesividad de una transcriptasa inversa de control tal como 5M-MMLV a una temperatura mayor que la temperatura ambiente, por ejemplo, alrededor de 42°C o alrededor de 55°C. En algunas formas de realización, la procesividad de un polipéptido de la presente invención está dentro de $\pm$ alrededor de 5 %, alrededor de 10 %, alrededor de 15 %, alrededor

de 20 % o alrededor de 25 % de la procesividad de la ADN polimerasa en la célula. En algunas formas de realización, la procesividad del polipéptido de la presente invención está dentro de alrededor de 5 %, alrededor de 10 %, alrededor de 15 %, alrededor de 20 % o alrededor de 25 % de la tasa de una o más polimerasas replicativas de la célula, una o más polimerasas reparadoras de la célula o una combinación de las mismas.

En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención carece de por lo menos una porción de un dominio de ARNasa H. Los dominios de ARNasa H se conservan en las RT virales y son estructuralmente similares a los dominios de ARNasa H en *Escherichia coli*, *Bacillus halodurans* y ARNasa H1 humana. Ver, por ejemplo, Champoux et al., FEBS Journal, 276: 6, 1506–1516 (2009). La actividad enzimática es conferida por el motivo de secuencia DEDD, una secuencia conservada compuesta de residuos aspartato y glutamato, que, en la ARNasa H del HIV–1, son Asp443, Glu478, Asp498 y Asp549, con los aminoácidos del sitio activo correspondientes en la enzima M–MLV de Asp524, Glu562, Asp583 y Asp653.

En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención tiene reducida (p. ej., alrededor de 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, o menos) o nula actividad de ribonucleasa (ARNasa). En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención tiene reducida (p. ej., alrededor de 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, o menos) o nula actividad de ribonucleasa (ARNasa) en comparación con una RT de control. En algunas formas de realización, la transcriptasa inversa de control puede ser una RT con alta actividad de ARNasa, por ejemplo, virus de mieloblastosis aviar (AMV) o actividad de ARNasa media, por ejemplo, MMLV–RT.

En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención genera y/o es capaz de generar ADN a partir de ARN en dos o más diferentes especies (p. ej., 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10, o más diferentes especies). En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención genera ADN a partir de ARN en dos o más diferentes especies y tiene una procesividad de por lo menos alrededor de 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, o 2,000 nucleótidos o más, opcionalmente a una temperatura en un rango de alrededor de 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C o 50°C a alrededor de 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, o 80°C. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención genera ADN a partir de ARN en dos o más diferentes especies a una temperatura en un rango de alrededor de 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C o 50°C a alrededor de 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, u 80°C para cada una de las dos o más diferentes especies. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención genera ADN a partir de ARN en dos o más diferentes especies y tiene una

procesividad de por lo menos alrededor de 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, o 2,000 nucleótidos o más, opcionalmente a una temperatura de menos de 50°C (p. ej., alrededor de 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, o 45°C) o a una temperatura en un rango de alrededor de 20°C, 25°C, o 30°C a alrededor de 35°C, 40°C, o 45°C.

Un polipéptido de la presente invención puede generar ADN a partir de ARN en una procariota o una eucariota. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención genera ADN a partir de ARN en una planta y/o un animal. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención genera ADN a partir de ARN en maíz, soja, canola, trigo, arroz, algodón, caña de azúcar, remolacha azucarera, cebada, avena, alfalfa, girasol, cártamo, palma aceitera, sésamo, coco, tabaco, papa, batata, mandioca, café, manzana, ciruela, damasco, durazno, cereza, pera, higo, banana, cítricos, cacao, palta, olivo, almendra, nuez, frutilla, sandía, pimienta, uva, tomate, pepino, mora, frambuesa, frambuesa negra y/o una planta del género *Brassica*.

Un polipéptido de la presente invención puede ser una proteína de fusión. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención se fusiona (por ejemplo, directa o indirectamente, tal como a través de un enlazador) a un segundo polipéptido (por ejemplo, una desaminasa y/o transcriptasa inversa).

Un polipéptido de la presente invención (opcionalmente en un complejo de la presente invención) puede tener una eficiencia de edición (por ejemplo, porcentaje de indel) que es igual o mayor que (por ejemplo, aumentada en comparación con) una Cas12a (opcionalmente en un complejo con componentes comparables a los del complejo con el polipéptido de la presente invención). En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención tiene una eficiencia de edición que es igual o mayor que una Cas12a cuando se realiza a una temperatura de menos de 50°C, tal como alrededor de 45°C, alrededor de 42°C, alrededor de 37°C, alrededor de 30°C, alrededor de 25°C o alrededor de la temperatura ambiente.

De acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención, se proporciona un complejo que comprende un permutante circular de la presente invención y un ácido nucleico guía. En algunas formas de realización, el ácido nucleico guía es un ácido nucleico guía extendido, y/o el complejo comprende además un ácido nucleico guía extendido. En algunas formas de realización, el permutante circular se fusiona con un segundo polipéptido (por ejemplo, una desaminasa y/o transcriptasa inversa). En algunas formas de realización, el permutante circular puede fusionarse (por ejemplo, directa o indirectamente) con una etiqueta peptídica, opcionalmente una etiqueta peptídica que es capaz de unirse a un polipéptido de

afinidad. En algunas formas de realización, el permutante circular puede fusionarse (por ejemplo, directa o indirectamente) con un polipéptido de afinidad, opcionalmente un polipéptido de afinidad que es capaz de unirse a una etiqueta peptídica. En algunas formas de realización, el permutante circular puede fusionarse (por ejemplo, directa o indirectamente) a un polipéptido de afinidad que es capaz de unirse a un motivo de reclutamiento de ARN. En algunas formas de realización, un sistema y/o una composición de la presente invención comprende un permutante circular de la presente invención que comprende una etiqueta peptídica y una desaminasa y/o transcriptasa inversa que comprende un polipéptido de afinidad que es capaz de unirse a la etiqueta peptídica. En algunas formas de realización, un sistema y/o una composición de la presente invención comprende un permutante circular de la presente invención que comprende un polipéptido de afinidad y una desaminasa y/o transcriptasa inversa que comprende una etiqueta peptídica que es capaz de unirse al polipéptido de afinidad. En algunas formas de realización, un polipéptido de la presente invención puede fusionarse a un polipéptido de afinidad que es capaz de unirse a un polipéptido de reclutamiento de ARN. Un complejo de la presente invención puede comprender además un ácido nucleico guía que opcionalmente está desprovisto de una plantilla de transcriptasa inversa. En algunas formas de realización, el ácido nucleico guía se dirige a un ácido nucleico diana diferente del ácido nucleico guía extendido.

Una molécula de ácido nucleico puede codificar un polipéptido de la presente invención, que puede estar presente en un casete de expresión y/o vector. Un polinucleótido y/o una construcción de ácido nucleico recombinante de esta invención puede estar optimizado por codones para la expresión. En algunas formas de realización, un polinucleótido, una construcción de ácido nucleico, un casete de expresión y/o vector de la presente invención (por ejemplo, que comprende/codifica un polipéptido de la presente invención, un polipéptido de unión a ácido nucleico (por ejemplo, un dominio de unión a ADN tal como un dominio de unión a ADN específico de secuencia de una endonucleasa guiada por polinucleótido, tal como una proteína efectora CRISPR–Cas), y/o un ácido nucleico guía extendido) puede estar optimizado por codones para la expresión en un organismo (por ejemplo, un animal, una planta, un hongo, una arquea o una bacteria). En algunas formas de realización, un polinucleótido de la presente invención comprende un intrón, opcionalmente un intrón que tiene por lo menos alrededor de 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con **SEQ ID NO: 950**. En algunas formas de realización, un intrón (por ejemplo, que tiene por lo menos alrededor de 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con **SEQ ID NO: 950**) puede estar entre una primera

secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido de interés (por ejemplo, una citosina desaminasa, adenina desaminasa, transcriptasa inversa, etc.) y una segunda secuencia de nucleótidos que codifica un permutante circular de la presente invención.

En algunas formas de realización, un casete de expresión y/o vector de la presente invención comprende un polinucleótido que tiene por lo menos alrededor de 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 247–258, 260–271, 286–297, 327–338, 364–375, 377–388, 402–411, 414–423, 462–485, 503–514, 520–531, 561–608, 640–701, 706–708, 710–712, 728–733, 742–747, 749–754, 763–766, 768–772, 782, 784, 787, y 792–797**. En algunas formas de realización, un casete de expresión y/o vector de la presente invención comprende un polinucleótido que codifica una secuencia de promotor y un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene por lo menos alrededor de 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 234–245, 299–310, 351–362, 390–399, 450–461, 486–497, 537–560, 609–639, 702–704, 735–740, y 757–760**. En algunas formas de realización, el vector que comprende el polinucleótido que codifica un polipéptido tiene por lo menos alrededor de 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 260–271, 286–297, 377–388, 414–423, 474–485, 520–531, 585–608, 671–701, 710–712, 728–733, 749–754, 768–772, y 792–797**. El polinucleótido que codifica el polipéptido de la presente invención puede ser optimizado por codones para la expresión en un organismo particular (p. ej., un humano o una planta). En algunas formas de realización, el organismo es un animal (p. ej., un humano), una planta, un hongo, una arquea o una bacteria.

Se proporcionan métodos para modificar un ácido nucleico diana en una célula, que pueden comprender la introducción de un casete de expresión y/o vector de la presente invención en la célula para proporcionar un ácido nucleico diana modificado. En algunas formas de realización, la célula es una célula de mamífero (por ejemplo, una célula humana). En algunas formas de realización, la célula es una célula vegetal, y el método comprende además la regeneración de la célula vegetal que comprende el ácido nucleico diana modificado para producir una planta que comprende el ácido nucleico diana modificado. En algunas formas de realización, la introducción del casete de expresión se lleva a cabo a una temperatura de alrededor de 20°C a alrededor de 42°C.

Se proporcionan en el presente documento métodos para producir un polipéptido de la presente invención, que pueden comprender el cultivo de una célula o una pluralidad de células que se han transformado con un ácido nucleico que codifica un polipéptido de la presente

invención; y el aislamiento del polipéptido de la presente invención para producir de ese modo el polipéptido. En algunas formas de realización, el paso de aislamiento se realiza mediante diálisis, centrifugación, purificación en columna y/o similares.

Se proporcionan en el presente documento métodos para realizar la transcripción inversa, que pueden comprender poner en contacto un ácido nucleico diana con un polipéptido de la presente invención. En algunas formas de realización, la totalidad o una porción del polipéptido tiene por lo menos alrededor de 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 234–245, 299–310, 390–399, 537–560, 702–704, 735–740, y 757–760**. Un polipéptido de la presente invención puede transcribir de manera inversa el ácido nucleico diana para proporcionar un ADN (p. ej., un ADNc). En algunas formas de realización, el ácido nucleico diana está en una planta y/o en una célula vegetal que incluye una pared celular. En algunas formas de realización, el ácido nucleico diana está en un mamífero y/o está en una célula de mamífero.

Se proporcionan en el presente documento métodos para modificar un ácido nucleico diana que pueden comprender poner en contacto el ácido nucleico diana con un polipéptido de la presente invención y un ácido nucleico guía. En algunas formas de realización, la totalidad o una porción del polipéptido tiene por lo menos alrededor de 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más identidad de secuencia con respecto a una o más de **SEQ ID NOs: 234–245, 299–310, 351–362, 390–399, 450–461, 486–497, 537–560, 609–639, 702–704, 735–740, y 757–760**. En algunas formas de realización, el ácido nucleico diana está en una planta y/o en una célula vegetal que incluye una pared celular. En algunas formas de realización, el método de modificación del ácido nucleico diana es un método de edición con plantillas.

Un método de la presente invención puede comprender poner en contacto el ácido nucleico diana con un ácido nucleico guía extendido. En algunas formas de realización, el ácido nucleico guía extendido comprende un sitio de unión de cebador, y el ácido nucleico diana es bicatenario y comprende una primera hebra y una segunda hebra. En algunas formas de realización, el sitio de unión de cebador del ácido nucleico guía extendido se une a la primera hebra o a la segunda hebra del ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, la segunda hebra es la hebra no diana del ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, el ácido nucleico diana es bicatenario y comprende una primera hebra y una segunda hebra, y el sitio de unión de cebador se une a la primera hebra del ácido nucleico diana. La primera hebra puede ser la hebra diana del ácido nucleico diana, y/o un polipéptido de la presente

invención puede ser reclutado a la primera hebra. En algunas formas de realización, el ácido nucleico diana es bicatenario y comprende una primera hebra y una segunda hebra, y el sitio de unión de cebador del ácido nucleico guía extendido se une a la segunda hebra del ácido nucleico diana. En algunas formas de realización, la segunda hebra es la hebra no diana del ácido nucleico diana, y/o el polipéptido de la presente invención se recluta a la segunda hebra. En algunas formas de realización, el polipéptido de la presente invención es una nucleasa bicatenaria que corta la primera hebra y la segunda hebra del ácido nucleico diana para producir una rotura de doble hebra. En algunas formas de realización, el polipéptido de la presente invención y el ácido nucleico guía extendido forman un complejo o están comprendidos en un complejo.

Un método de la presente invención puede comprender poner en contacto un ácido nucleico diana con un ácido nucleico guía extendido, y/o introducir en una célula dicho ácido nucleico guía extendido, que comprende (i) un ácido nucleico CRISPR y/o un ácido nucleico CRISPR y un ácido nucleico tracr; y (ii) una porción extendida que comprende un sitio de unión de cebador y una plantilla de transcriptasa inversa (plantilla RT). En algunas formas de realización, la porción extendida del ácido nucleico guía extendido se fusiona al extremo 5' o al extremo 3' del ácido nucleico CRISPR (por ejemplo, 5' a 3': repetición–espaciador–porción extendida, o porción extendida–repetición–espaciador) y/o al extremo 5' o 3' del ácido nucleico tracr. En algunas formas de realización, la porción extendida del ácido nucleico guía extendido comprende, 5' a 3', una plantilla RT y un sitio de unión de cebador. En algunas formas de realización, la porción extendida del ácido nucleico guía extendido se encuentra en 5' del ARNcr.

En algunas formas de realización, el sitio de unión de cebador tiene una longitud de alrededor de un nucleótido a alrededor de 100 nucleótidos. En algunas formas de realización, el sitio de unión de cebador es de por lo menos 45 nucleótidos de longitud o alrededor de 45 nucleótidos a alrededor de 100 nucleótidos, p. ej., 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, o 100 nucleótidos de longitud.

En algunas formas de realización, la plantilla RT tiene una longitud de alrededor de uno a alrededor de 100 nucleótidos, o la plantilla RT puede tener una longitud de alrededor de 40 nucleótidos o menos, p. ej., 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, o 1 nucleótidos.

En algunas formas de realización, la porción extendida del ácido nucleico guía extendido está unida al ácido nucleico CRISPR y/o el ARNtracr mediante un enlazador. El enlazador puede ser alrededor de 1 a alrededor de 100 nucleótidos de longitud, p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, o 100 nucleótidos de longitud.

En algunas formas de realización, en un método de la presente invención, un polipéptido de la presente invención es una proteína de fusión. En algunas formas de realización, el polipéptido de la presente invención se fusiona con uno o más componentes que reclutan una desaminasa y/o transcriptasa inversa al polipéptido. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención se fusiona, por ejemplo, se une, a una etiqueta peptídica, por ejemplo, un epítipo o un epítipo multimerizado, y una transcriptasa inversa se fusiona, por ejemplo, se une, a un polipéptido de afinidad que se une a la etiqueta peptídica. En algunas formas de realización, un permutante circular de la presente invención se fusiona, por ejemplo, se une, a una etiqueta peptídica, por ejemplo, un epítipo o un epítipo multimerizado, y una transcriptasa inversa se fusiona (se une) a un polipéptido de afinidad que se une a la etiqueta peptídica. En algunas formas de realización, el ácido nucleico diana se pone en contacto con dos o más transcriptasas inversas.

En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía extendido se une a un motivo de reclutamiento de ARN, y una transcriptasa inversa se fusiona, por ejemplo, se une, a un polipéptido de afinidad que se une al motivo de reclutamiento de ARN. En algunas formas de realización, el ácido nucleico diana se pone en contacto con dos o más transcriptasas inversas. En algunas formas de realización, el ácido nucleico guía extendido, por ejemplo, el ARN guía extendido, se une a dos o más motivos de reclutamiento de ARN, opcionalmente donde los dos o más motivos de reclutamiento de ARN son el mismo motivo de reclutamiento de ARN o diferentes motivos de reclutamiento de ARN. En algunas formas de realización, por lo menos uno de los dos o más motivos de reclutamiento de ARN se encuentra ubicado en el extremo 3' de la porción extendida del ácido nucleico guía extendido, o está incrustado en la porción extendida.

Un método de la presente invención puede comprender poner en contacto el ácido nucleico diana con un polipéptido Dna2 y/o una endonucleasa de aleta 5' (FEN, por sus siglas en inglés). En algunas formas de realización, la FEN y/o el polipéptido Dna2 se sobreexpresa

(por ejemplo, se sobreexpresa en presencia del ácido nucleico diana). En algunas formas de realización, la FEN es una proteína de fusión que comprende un dominio FEN fusionado a la proteína efectora CRISPR–Cas, y/o en donde el polipéptido Dna2 es una proteína de fusión que comprende un dominio Dna2 fusionado a la proteína efectora CRISPR–Cas. En algunas formas de realización, la proteína efectora CRISPR–Cas es una primera proteína efectora CRISPR–Cas, y el método incluye un paso de poner en contacto el ácido nucleico diana con una segunda proteína efectora CRISPR–Cas. En algunas formas de realización, la primera proteína efectora CRISPR–Cas mella o corta un primer sitio en la primera hebra de un ácido nucleico diana bicatenario. En algunas formas de realización, el sitio de corte o mella se ubica alrededor de 10 a alrededor de 125 pares de bases corriente ascendente o corriente descendente, por ejemplo, 5' o 3', desde un segundo sitio en la segunda hebra del ácido nucleico diana que ha sido mellado por una segunda proteína efectora CRISPR–Cas.

En algunas formas de realización, un método de la presente invención tiene una mayor eficiencia en la modificación de un ácido nucleico diana en comparación con la eficiencia de un método de control (por ejemplo, un método que utiliza un Cas12a de control y se realiza en las mismas condiciones). Un método de la presente invención puede generar mayores indeles y/o mayores niveles de modificación (por ejemplo, modificaciones precisas) en comparación con un método de control.

En algunas formas de realización, un complejo y/o método de la presente invención puede ser un complejo y/o método como se describe en la Publicación de Solicitud de Patente de EE. UU. Nro. 2021/0130835 y/o en la Publicación de Solicitud de Patente de EE. UU. Nro. 2022/0145334, cuyos contenidos se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad.

En algunas formas de realización, se utiliza un sistema de edición de la presente invención en la edición de calidad. El término “edición de calidad” y sus variantes gramaticales, tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a una tecnología de edición de ácidos nucleicos que utiliza un dominio de nickasa Cas9 fusionado a una transcriptasa inversa y modifica un ácido nucleico diana sin una rotura de doble hebra o una plantilla de ADN donante. En la edición de calidad, el dominio de nickasa Cas9 corta la hebra no complementaria de ADN corriente ascendente del sitio PAM, lo que proporciona una aleta 3' que se extiende, y la extensión incluye una modificación. Se pueden encontrar más detalles sobre la edición de calidad en Anzalone et al. (2019) Nature 576, 149–157, y/o en la Publicación de Solicitud de Patente de EE. UU. Nro. 2021/0147862, cuyos contenidos se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad.

En algunas formas de realización, un sistema de edición de la presente invención utiliza el sistema de edición Redraw. Se pueden encontrar más detalles sobre el sistema de edición Redraw en la Publicación de Solicitud de Patente de EE. UU. Nro. 2021/0130835 y/o en la Publicación de Solicitud de Patente de EE. UU. Nro. 2022/0145334, cuyo contenido se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

Como se describe en el presente documento, los polipéptidos de la presente invención, los ácidos nucleicos, los casetes de expresión y/o los vectores de la presente invención pueden estar optimizados por codones para la expresión en un organismo. Un organismo útil con esta invención puede ser cualquier organismo o célula del mismo para el que la modificación de ácidos nucleicos puede ser útil. Un organismo puede incluir, entre otros, cualquier animal (p. ej., un mamífero), cualquier planta, cualquier hongo, cualquier arquea o cualquier bacteria. En algunas formas de realización, el organismo puede ser una planta o una célula de la misma. En algunas formas de realización, el organismo es un animal tal como un mamífero (p. ej., un ser humano). En algunas formas de realización, un casete de expresión y/o un vector se pueden optimizar para la expresión en un organismo mediante la inclusión de una secuencia promotora específica del organismo, una secuencia terminadora, una secuencia de localización nuclear (NLS) y/o una optimización de codones. En algunas formas de realización, un casete de expresión y/o un vector se pueden optimizar para la expresión en una planta (por ejemplo, soja).

El ácido nucleico diana puede ser una secuencia genómica de cualquier organismo (por ejemplo, eucariota, tal como un mamífero o una planta). En algunas formas de realización, el ácido nucleico diana es una secuencia genómica de un organismo modelo, tal como, entre otros, *Escherichia coli*, una línea celular humana inmortalizada (por ejemplo, HEK293, HeLa, etc.), *Caenorhabditis elegans* y/o *Drosophila Melanogaster*. En algunas formas de realización, el ácido nucleico diana es una secuencia genómica de un organismo no modelo. Los organismos no modelo ejemplares incluyen, entre otros, plantas de cultivos (por ejemplo, plantas de cultivo de frutas, plantas de cultivo de vegetales y/o plantas de cultivo de campo) y/o animales tales como seres humanos, primates y/o ratones. En algunas formas de realización, el organismo no modelo es una planta de cultivo, tal como maíz, soja, trigo o canola. En algunas formas de realización, el organismo no modelo es un animal para la prueba y/o el uso de un agente terapéutico humano.

Un ácido nucleico diana de cualquier planta o parte de planta puede modificarse utilizando las construcciones de ácido nucleico de la invención. Cualquier planta (o agrupaciones de plantas, por ejemplo, en un género o clasificación de orden superior) puede modificarse utilizando un polipéptido de la presente invención, que incluye una angiosperma,

una gimnosperma, una monocotiledónea, una dicotiledónea, una planta C3, C4, CAM, una briofita, un helecho y/o un helecho aliado, una microalga y/o una macroalga. Una planta y/o parte de planta útil con esta invención puede ser una planta y/o parte de planta de cualquier especie/variedad/cultivar de planta. El término "parte de la planta", como se utiliza en el presente documento, incluye, entre otros, embriones, polen, óvulos, semillas, hojas, tallos, brotes, flores, ramas, frutos, granos, raquíes, mazorcas, cáscaras, tallos, raíces, puntas de raíces, anteras, células vegetales, incluidas las células vegetales que están intactas en plantas y/o partes de plantas, protoplastos vegetales, tejidos vegetales, cultivos de tejido celular vegetal, callos vegetales, grupos vegetales y similares. Como se utiliza en el presente documento, "brote" se refiere a las partes que se encuentran por encima del suelo, incluidas las hojas y los tallos. Además, como se utiliza en el presente documento, "célula vegetal" se refiere a una unidad estructural y fisiológica de la planta, que comprende una pared celular y también puede referirse a un protoplasto. Una célula vegetal puede tener la forma de una célula individual aislada, o puede ser una célula cultivada, o puede ser parte de una unidad de organización superior, tal como, por ejemplo, un tejido vegetal o un órgano vegetal.

Los ejemplos no limitativos de plantas útiles con la presente invención incluyen pastos de césped (por ejemplo, pasto azul, pasto doblado, raigrás, **Festuca**), junco de plumas, hierba de mata, *Miscanthus*, Arundo, pasto varilla, cultivos de vegetales, incluidos alcauciles, colinabo, rúcula, puerros, espárragos, lechuga (p. ej., arrepollada, de hoja, romana), malanga, melones (p. ej., melón, sandía, *Cucumis melo*, melón dulce, cantalupo), cultivos de col (p. ej., coles de Bruselas, repollo, coliflor, brócoli, col forrajera, kale, col china, bok choy), cardo, zanahorias, repollo chio, okra, cebollas, apio, perejil, garbanzo, chirivías, achicoria, pimientos, papas, cucurbitáceas (por ejemplo, tuétano, pepino, zucchini, calabacín, calabaza, melón dulce, sandía, melón cantaloupe), rábanos, cebollas de bulbo seco, colinabo, berenjena, salsifí, escarola, chalotes, endivia, ajo, espinacas, cebollas verdes, calabaza, verduras de hoja verde, remolacha (remolacha azucarera y remolacha forrajera), batatas, acelga, rábanos picantes, tomates, nabos y especias; un cultivo de fruto tal como manzanas, damascos, cerezas, nectarinas, duraznos, peras, ciruelas, cerezas, membrillos, higos, nueces (por ejemplo, castañas, nueces de pecán, pistachos, avellanas, maníes, nueces, nueces de macadamia, almendras, y similares), cítricos (por ejemplo, clementina, quinoto, naranja, pomelo, tangerina, mandarina, limón, lima y similares), arándanos, frambuesas negras, moras, arándanos rojos, grosellas, grosellas espinosas, loganas, frambuesas, frutillas, moras, uvas (de vino y de mesa), paltas, bananas, kiwi, caquis, granada, piña, frutas tropicales, de pepitas, melón, mango, papaya y lichi, una planta de cultivo de campo tal como trébol, alfalfa, fleo, onagra, prado espuma,

maíz (de campo, dulce, de pochoclo), lúpulo, jojoba, trigo sarraceno, cártamo, quinua, trigo, arroz, cebada, centeno, mijo, sorgo, avena, triticale, sorgo, tabaco, kapok, una planta leguminosa (porotos (p. ej., verdes y secos), lentejas, arvejas, soja), una planta oleaginosa (colza, canola, mostaza, amapola, olivo, girasol, coco, ricino, cacao en grano, maní, palma), lenteja de agua, *Arabidopsis*, una planta de fibra (algodón, lino, cáñamo, yute), *Cannabis* (p. ej., *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* y *Cannabis ruderalis*), laurácea (canela, alcanfor), o una planta tal como el café, la caña de azúcar, el té y las plantas de caucho natural; y/o una planta de cama de cultivo, tal como una planta con flores, un cactus, una planta suculenta y/u ornamental (p. ej., rosas, tulipanes, violetas), así como árboles tales como árboles forestales (árboles de hoja ancha y árboles de hoja perenne, tales como coníferas; por ejemplo, olmo, fresno, roble, arce, abeto, picea, cedro, pino, abedul, ciprés, eucalipto, sauce), así como arbustos y otras plantas de vivero. En algunas formas de realización, las construcciones de ácido nucleico de la invención y/o los casetes de expresión y/o los vectores que los codifican pueden usarse para modificar, por ejemplo, maíz, soja, trigo, canola, arroz, tomate, pimiento, girasol, frambuesa, mora, frambuesa negra o cereza.

En algunas formas de realización, la invención proporciona células (por ejemplo, células vegetales, células animales, células bacterianas, células arqueanas y similares) que comprenden los polipéptidos, polinucleótidos, las construcciones de ácidos nucleicos, los casetes de expresión o vectores de la invención.

La presente invención comprende además un equipo o equipos para llevar a cabo los métodos de esta invención. Un equipo de esta invención puede comprender reactivos, tampones y aparatos para mezclar, medir, clasificar, etiquetar, etc., así como instrucciones y similares que serían apropiados para modificar un ácido nucleico diana.

En algunas formas de realización, la invención proporciona un equipo para comprender uno o más polipéptidos de la presente invención (por ejemplo, permutantes circulares), construcciones de ácidos nucleicos de la presente invención y/o casetes de expresión y/o vectores y/o células que comprenden los mismos como se describe en este documento, con instrucciones opcionales para su uso. En algunas formas de realización, un equipo puede comprender además un ácido nucleico guía CRISPR–Cas (que corresponde a una proteína Cas12a como se proporciona en este documento, que puede estar codificado por un polinucleótido) y/o casetes de expresión y/o vectores y/o células que lo comprenden. En algunas formas de realización, un ácido nucleico guía puede proporcionarse en el mismo casete de expresión y/o vector que una o más construcciones de ácido nucleico de la invención. En algunas formas de realización, el ácido nucleico guía puede proporcionarse en un casete de

expresión o vector separado del que comprende una o más construcciones de ácido nucleico de la invención.

En consecuencia, en algunas formas de realización, se proporcionan equipos que comprenden una construcción de ácido nucleico que comprende (a) uno o más polinucleótidos como se proporcionan en este documento y (b) un promotor que impulsa la expresión de los polinucleótidos de (a). En algunas formas de realización, el equipo puede comprender además una construcción de ácido nucleico que codifica un ácido nucleico guía, donde la construcción comprende un sitio de clonación para la clonación de una secuencia de ácido nucleico idéntica o complementaria a una secuencia de ácido nucleico diana en la estructura principal del ácido nucleico guía.

En algunas formas de realización, el constructo de ácido nucleico de la invención puede ser un ARNm que puede codificar uno o más intrones dentro de los polinucleótidos codificados. En algunas formas de realización, las construcciones de ácido nucleico de la invención, y/o los casetes de expresión y/o vectores que los comprenden, pueden codificar además uno o más marcadores seleccionables útiles para identificar transformantes (por ejemplo, un ácido nucleico que codifica un gen de resistencia a antibióticos, un gen de resistencia a herbicidas y similares).

Un polipéptido, polinucleótido, una construcción de ácido nucleico, un casete de expresión, vector, una composición, un equipo, sistema y/o una célula de la presente invención puede comprender la totalidad o una porción de una secuencia de una o más de **SEQ ID NOs: 1–951**. En algunas formas de realización, si no están presentes en una secuencia de aminoácidos descrita en este documento y/o codificadas en una secuencia de nucleótidos descrita en el presente documento, la secuencia de aminoácidos y/o la secuencia nucleótidos pueden incluir además 1, 2, 3, 4, o 5 aminoácidos adicionales o correspondientes nucleótidos tales como una metionina en el residuo de aminoácido 1 de la secuencia de aminoácidos o los correspondientes nucleótidos y/o 1, 2, 3, o 4 aminoácidos adicionales tales como glicina o alanina o los correspondientes nucleótidos, que pueden ayudar en la expresión o permitir la construcción o clonación, según sea necesario para la construcción de un plásmido o construcción o vector. En algunas formas de realización, si están presentes en una secuencia de aminoácidos descrita en el presente documento y/o codificadas en una secuencia de nucleótidos descrita en el presente documento, la secuencia de aminoácidos y/o la secuencia de nucleótidos pueden estar desprovistas de 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos presentes en los residuos de aminoácidos 1–5 en el extremo N-terminal de la secuencia de aminoácidos o los nucleótidos correspondientes, tales como una metionina en el residuo de aminoácido 1 de la secuencia de

aminoácidos o los nucleótidos correspondientes, y/o 1, 2, 3 o 4 aminoácidos adicionales, tales como glicina o alanina o los nucleótidos correspondientes, que pueden ayudar en la expresión o permitir la construcción o clonación según sea necesario para la construcción de un plásmido o construcción o vector. En algunas formas de realización, un polipéptido, polinucleótido, construcción de ácido nucleico, casete de expresión, vector, composición, equipo, sistema y/o célula de la presente invención puede comprender por lo menos alrededor de 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más aminoácidos o nucleótidos consecutivos de una secuencia de una o más de **SEQ ID NOs: 1–951**.

La invención se describirá ahora con referencia a los siguientes ejemplos. Debe apreciarse que estos ejemplos no tienen como objetivo limitar el alcance de las reivindicaciones de la invención, sino que, en cambio, tienen como objetivo ser ejemplos de ciertas formas de realización. Cualquier variación en los métodos ejemplificados que se le ocurra al experto en la técnica está destinada a encontrarse dentro del alcance de la invención.

EJEMPLOS

Ejemplo 1:

Se prepararon permutantes circulares a base de LbCas12a (**SEQ ID NO: 56**). La Tabla 1 describe la ubicación en la que se seleccionó el extremo N-terminal para el permutante circular para comenzar en relación con LbCas12a.

Tabla 1. Permutación circular de diseños de LbCas12a.

Número de bucle de LbCas12a	Punto de corte seleccionado	Residuo de aminoácido de LbCas12a que corresponde al extremo N-terminal del permutante circular
3	Después de residuo de aminoácido 84 de LbCas12a	85
4	Después de residuo de aminoácido 291 de LbCas12a	292
5	Después de residuo de aminoácido 1155 de LbCas12a	1156
9	Después de residuo de aminoácido 516 de LbCas12a	517
10	Después de residuo de aminoácido 442 de LbCas12a	443
14	Después de residuo de aminoácido 1117 de LbCas12a	1118

Se utilizó un enlazador de glicina–serina para conectar los extremos N– y C–terminales nativos de LbCas12a. El enlazador de glicina–serina tenía o bien 10 aminoácidos y una secuencia de (GSS)_nG (SEQ ID NO: 36), donde n es 3, o 16 aminoácidos y una secuencia de (GSS)_nG (SEQ ID NO: 36), donde n es 5. Los permutantes circulares se enumeran en la Tabla 2.

Tabla 2. Permutantes circulares.

pWISE	Vector SEQ ID NO:	ADN SEQ ID NO:	Descripción	Proteína SEQ ID NO:
pWISE121	259	246	WT–LbCas12a (control)	56
pWISE8345	260	247	Bucle 3; 10–aa enlazador GS	234
pWISE8346	261	248	Bucle 3; 16–aa enlazador GS	235
pWISE8347	262	249	Bucle 4; 10–aa enlazador GS	236
pWISE8348	263	250	Bucle 4; 16–aa enlazador GS	237
pWISE8349	264	251	Bucle 5; 10–aa enlazador GS	238
pWISE8350	265	252	Bucle 5; 16–aa enlazador GS	239
pWISE8351	266	253	Bucle 9; 10–aa enlazador GS	240
pWISE8352	267	254	Bucle 9; 16–aa enlazador GS	241
pWISE8353	268	255	Bucle 10; 10–aa enlazador GS	242
pWISE8354	269	256	Bucle 10; 16–aa enlazador GS	243
pWISE8355	270	257	Bucle 14; 10–aa enlazador GS	244
pWISE8356	271	258	Bucle 14; 16–aa enlazador GS	245

Ejemplo 2:

Los permutantes circulares del Ejemplo 1 se evaluaron para establecer su capacidad para generar INDELES en tres diferentes ácidos nucleicos diana (SEQ ID NOs: 272–274) en células HEK293T. Como control, LbCas12a también se evaluó para determinar su capacidad para generar INDELES en los tres ácidos nucleicos dianas (SEQ ID NOs: 272–274) en células HEK293T (Tabla 3).

Tabla 3. Dianas.

Ácido nucleico diana	Diana SEQ ID NO:	Espaciador	Espaciador SEQ ID NO:	pWISE	Vector SEQ ID NO:
DNMT1 humano	272	PWsp143	275	pWISE264	278
FANCF humano	273	PWsp449	276	pWISE878	279
RNF2 humano	274	PWsp453	277	pWISE882	280

La caracterización de la edición se realizó utilizando un flujo de trabajo bioinformático. Primero, los pares de bases de baja calidad y las bases coincidentes en las secuencias del

adaptador Illumina se recortaron utilizando HtStream. Luego, las lecturas de alta calidad se alinearon con las referencias de amplicón utilizando bbmap. La cadena CIGAR, que representa la cantidad de coincidencias/ajustes e INDEL, se analizó para cada lectura alineada para generar una cadena de edición. La cadena de edición incluye la ubicación inicial y la longitud de cada INDEL en relación con la referencia.

Los resultados se muestran en las FIGS. 2–4 y demuestran que todos los permutantes circulares son funcionales. Como se muestra en la FIG. 2, se observaron INDEL excelentes para el control (WT–LbCas12a) en los tres sitios objetivo, y se generaron INDEL a un nivel lo suficientemente alto para los permutantes circulares. Para el control (pWISE121) y cada permutante circular (pWISE8345–pWISE8356), se analizaron las longitudes de delección para cada edición observada. Como se muestra en la FIG. 3, se examinó la distribución de la longitud de la delección en los tres sitios diana (PWsp143, PWsp449 y PWsp453). La mayoría de las deleciones tienen una longitud de entre 1 y 5 pares de bases (pb) independientemente de la diana. Al observar los permutantes circulares en comparación con los controles, se observan cambios en la distribución del tamaño de la delección como se muestra en la FIG. 3. Por ejemplo, para pWISE8351 con PWsp143, se puede ver que las deleciones de 9 pb fueron las más comunes, mientras que, para el control (pWISE121) con PWsp143, las deleciones de 4 pb fueron las más comunes. Mientras que en PWsp449 para pWISE8351, se observó un aumento en las deleciones de 1 y 2 pb en comparación con el control en PWsp449.

Para el control (pWISE121) y cada permutante circular (pWISE8345–pWISE8356) se analizaron las posiciones de delección para cada edición observada. Como se muestra en la FIG. 4, se examinó la distribución de la ubicación de inicio de la delección en los tres sitios diana/objetivo (PWsp143, PWsp449 y PWsp453). Se utilizó la estimación de densidad de Kernerl (kde) para ajustar una línea suavizada a la distribución observada a fin de ayudar en la visualización. Como se puede ver en la FIG. 4, existen claras diferencias en la ubicación del primer pb de la delección entre los permutantes circulares y el control. Por ejemplo, como se muestra en la FIG. 4, pWISE8352 muestra un desplazamiento en la ubicación de inicio hacia el sitio de corte esperado en la hebra objetivo (línea discontinua) en los tres sitios. Por el contrario, como se muestra en la FIG. 4, pWISE8354 muestra un ensanchamiento de la distribución con un desplazamiento que se aleja del sitio de corte esperado en PWsp449 y PWsp453.

Ejemplo 3:

Se probaron los permutantes circulares de LbCas12a de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención para la edición REDRAW fusionando una transcriptasa

inversa del virus de la leucemia murina de Moloney mutada (MMLV–RT(5M); SEQ ID NO: 209) al extremo N– o al extremo C–terminal del permutante circular para proporcionar una proteína de fusión. Estas proteínas de fusión, junto con los controles, se enumeran en la Tabla 4.

Tabla 4. Construcciones REDRAW evaluadas.

pWISE	Vector SEQ ID NO:	ADN SEQ ID NO:	Proteína SEQ ID NO:
pWISE121	259	246	56
pWISE6099	886	948	158
pWISE9459	377	364	351
pWISE9460	378	365	352
pWISE9461	379	366	353
pWISE9462	380	367	354
pWISE9463	381	368	355
pWISE9464	382	369	356
pWISE9465	383	370	357
pWISE9466	384	371	358
pWISE9467	385	372	359
pWISE9468	386	373	360
pWISE9469	387	374	361
pWISE9470	388	375	362
pWISE9471	389	376	363

Las proteínas de fusión se probaron para determinar su capacidad de edición precisa y su capacidad para generar INDELES en tres ácidos nucleicos diana diferentes (**SEQ ID NO: 272–274**) en células HEK293T utilizando tres espaciadores (**SEQ ID NO: 275–277**). Los controles utilizados en estos experimentos fueron LbCas12a (**SEQ ID NO: 56**), RE2 (**SEQ ID NO: 158**) y RE2 inverso (**SEQ ID NO: 363**). Se probaron tres réplicas biológicas (HCF806, HCF807 y HCF808) y dos réplicas técnicas. Las células HEK293T se sembraron en placas de 48 pocillos recubiertas con colágeno (Corning) en ausencia de un antibiótico utilizando un medio DMEM. Con una confluencia del 70–80 %, las células se transfectaron con 1,5 µL de LTX (ThermoFisher Scientific) utilizando 500 ng del plásmido de proteína de fusión o control y 500 ng del plásmido de ARN guía de acuerdo con el protocolo del fabricante. Después de 3 días, las células se lisaron con un método de extracción de bruto utilizando el tampón TritonX. Cada proteína de fusión o control se puntuó en función de la edición precisa de pares de bases y el porcentaje de colocación de indel en los genes DNMT1, FANCF y RNF2 utilizando los ARN guía. Los resultados se proporcionan en las **FIGS. 6A, 6B, 7A, 7B, 8A, 8B y 10A–10C** y demuestran que ciertas proteínas de fusión mostraron una significativa edición precisa y

frecuencia de indel. En general, las proteínas de fusión con un MMLV–RT(5M) C–terminal mostraron una ligeramente mejorada edición y eficiencia de INDEL en comparación con las proteínas de fusión con un MMLV–RT(5M) N–terminal. Además, la proteína de fusión con el permutante circular CP02 y MMLV–RT(5M) en el extremo C–terminal (**SEQ ID NO: 357**) y la proteína de fusión con el permutante circular CP12 y MMLV–RT(5M) en el extremo C–terminal (**SEQ ID NO: 362**) tuvieron la más alta edición y eficiencia de INDEL. Las **FIGS. 9A** y **9B** muestran que los extremos recién colocados de CP02 y CP12 se colocan cerca de hebra objetivo. La frecuencia de indel de los ARN guía probados, como ARNcr, contra los loci objetivo DNMT1, FANCF y RNF2 se probaron como control (**FIG. 5**).

Ejemplo 4:

Se probaron permutantes circulares de LbCas12a de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención para la edición de bases de citosina mediante la fusión de una citosina desaminasa (**SEQ ID NO: 798**) o bien al extremo N–terminal o C–terminal del permutante circular para proporcionar una proteína de fusión. Las construcciones probadas se proporcionan en la Tabla 5.

Tabla 5. Construcciones evaluadas.

pWISE	Vector SEQ ID NO:	ADN SEQ ID NO:	Proteína SEQ ID NO:
pWISE121	259	246	56
pWISE1921	444	436	428
pWISE1925	445	437	429
pWISE4332	446	438	430
pWISE4339	447	439	431
pWISE6852	448	440	432
pWISE6853	449	441	433
pWISE9117	474	462	450
pWISE9118	475	463	451
pWISE9119	476	464	452
pWISE9120	477	465	453
pWISE9121	478	466	454
pWISE9122	479	467	455
pWISE9123	480	468	456
pWISE9124	481	469	457
pWISE9125	482	470	458
pWISE9126	483	471	459
pWISE9127	484	472	460
pWISE9128	485	473	461
pWISE9134	442	434	426

pWISE9135	443	435	427
-----------	-----	-----	-----

Las proteínas de fusión y los controles se probaron para determinar su capacidad de realizar la edición de bases en cinco sitios diferentes en tres ácidos nucleicos diana (**SEQ ID NOs: 273, 863 y 864**) en células HEK293T utilizando cinco espaciadores (**SEQ ID NOs: 276 y 799–802**). Se probaron una única réplica biológica y dos réplicas técnicas. Los controles utilizados en este estudio fueron: pWISE9134, que es una LbCas12a muerta fusionada a una citosina desaminasa mediante un enlazador GS–XTEN–GS; pWISE9135, que es una LbCas12a muerta fusionada a una citosina desaminasa en el extremo C–terminal de la LbCas12a muerta mediante un enlazador GS–XTEN–GS; y pWISE121, que es una LbCas12a de tipo salvaje. Las células HEK293T se sembraron en placas de 48 pocillos recubiertas con colágeno (Corning) en ausencia de antibiótico utilizando un medio DMEM. Con una confluencia del 70–80 %, las células se transfectaron con 1,5 µL de LTX (ThermoFisher Scientific) utilizando 500 ng del plásmido de proteína de fusión o control y 500 ng de plásmido de ARN guía de acuerdo con el protocolo del fabricante. Después de 3 días, las células se lisaron con un método de extracción de bruto utilizando un tampón TritonX. Cada proteína de fusión o control se puntuó en función de la edición precisa de pares de bases en los genes FANCF, RUNX1 y AAVS1 utilizando los ARN guía (**SEQ ID NO: 276 y 799–802**). Estos ARN guía también se probaron utilizando LbCas12a de control (**SEQ ID NO: 56**) como se muestra en la FIG. 11. Los resultados se proporcionan en las **Tablas 6–25**. Como se observa en las **Tablas 6, 7, 10, 11, 14, 15, 18, 19, 22 y 23**, la fusión de una citosina desaminasa en el extremo N–terminal de un permutante circular produjo una edición eficaz de C a T en la hebra de ADN no diana en casi todos los genes. Sorprendentemente, la proteína de fusión con el permutante circular CP08 (**SEQ ID NO: 453**) demostró una edición de G a A en la hebra no diana, correspondiente a los cambios de C a T en la hebra diana (**Tablas 8, 9, 12, 13, 16, 17, 20, 21, 24 y 25**). Los valores en las **Tablas 6–25** que están por debajo del 0,1 % se consideran ruido del instrumento (por debajo del límite de detección) y no son indicativos de edición. Los valores que se encuentran entre el 0,1 % y el 0,5 % indican que hay edición presente en el experimento en la ubicación especificada, pero el ensayo no es lo suficientemente sensible como para cuantificar con precisión la cantidad de edición de bases. Esto fue inesperado, ya que los editores de bases de citosina típicos (p. ej., **SEQ ID NO: 426–429**) no son capaces de desaminar las citosinas en la hebra diana dentro de la secuencia espaciadora.

Tabla 6.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico no diana						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-7	C.-6	C.-4	C.-1	C.2	C.3	C.11
pWISE121	56	0,004 %	0,002 %	0,000 %	0,004 %	0,000 %	0,063 %	0,138 %
pWISE1921	428	0,127 %	0,068 %	0,030 %	0,445 %	0,049 %	0,183 %	24,432 %
pWISE1925	429	0,132 %	0,086 %	0,054 %	0,481 %	0,028 %	0,100 %	18,509 %
pWISE4332	430	0,086 %	0,052 %	0,006 %	0,348 %	0,004 %	0,028 %	13,214 %
pWISE4339	431	0,541 %	0,548 %	0,008 %	0,119 %	0,003 %	0,011 %	14,075 %
pWISE6852	432	0,045 %	0,020 %	0,004 %	0,128 %	0,001 %	0,009 %	13,502 %
pWISE6853	433	0,005 %	0,004 %	0,000 %	0,396 %	0,005 %	0,033 %	20,059 %
pWISE9117	450	0,090 %	0,079 %	0,014 %	0,498 %	0,024 %	0,024 %	22,359 %
pWISE9118	451	0,826 %	0,832 %	0,000 %	0,828 %	0,003 %	0,001 %	7,529 %
pWISE9119	452	0,289 %	0,075 %	0,000 %	0,717 %	0,005 %	0,011 %	31,457 %
pWISE9120	453	0,005 %	0,005 %	0,000 %	0,432 %	0,000 %	0,005 %	1,165 %
pWISE9121	454	0,068 %	0,049 %	0,011 %	0,200 %	0,009 %	0,003 %	5,654 %
pWISE9122	455	0,146 %	0,060 %	0,017 %	0,822 %	0,016 %	0,331 %	19,868 %
pWISE9123	456	0,132 %	0,030 %	0,003 %	0,639 %	0,042 %	0,066 %	33,596 %
pWISE9124	457	0,045 %	0,027 %	0,013 %	0,203 %	0,002 %	0,009 %	12,865 %
pWISE9125	458	0,347 %	0,116 %	0,031 %	0,907 %	0,063 %	0,046 %	24,770 %
pWISE9126	459	0,052 %	0,027 %	0,000 %	0,065 %	0,010 %	0,012 %	2,197 %
pWISE9127	460	0,027 %	0,002 %	0,012 %	0,072 %	0,006 %	0,003 %	2,337 %
pWISE9128	461	0,193 %	0,064 %	0,028 %	1,092 %	0,009 %	0,009 %	26,677 %
pWISE9134	426	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9135	427	0,495 %	0,225 %	0,071 %	1,249 %	0,065 %	0,106 %	30,645 %

Tabla 6. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.14	C.17	C.19	C.21	C.24	C.28
pWISE121	56	0,277 %	0,166 %	0,468 %	0,077 %	0,141 %	0,100 %
pWISE1921	428	14,118 %	0,888 %	12,688 %	12,201 %	0,077 %	0,000 %
pWISE1925	429	9,889 %	0,804 %	10,183 %	7,735 %	0,065 %	0,000 %
pWISE4332	430	10,446 %	0,655 %	7,603 %	4,914 %	0,088 %	0,004 %
pWISE4339	431	10,742 %	0,229 %	3,610 %	1,972 %	0,030 %	0,006 %
pWISE6852	432	9,480 %	0,205 %	7,076 %	4,012 %	0,000 %	0,001 %
pWISE6853	433	14,378 %	0,274 %	7,868 %	3,897 %	0,056 %	0,005 %
pWISE9117	450	15,118 %	1,821 %	13,456 %	7,506 %	0,068 %	0,017 %

pWISE9118	451	4,418 %	1,974 %	7,519 %	10,685 %	0,001 %	0,001 %
pWISE9119	452	29,350 %	5,438 %	25,789 %	29,548 %	1,016 %	0,075 %
pWISE9120	453	0,742 %	0,005 %	0,785 %	2,237 %	0,371 %	0,000 %
pWISE9121	454	3,083 %	0,809 %	2,868 %	4,221 %	0,030 %	0,006 %
pWISE9122	455	22,961 %	1,819 %	18,625 %	18,934 %	0,530 %	0,015 %
pWISE9123	456	30,464 %	3,149 %	25,577 %	18,123 %	0,084 %	0,021 %
pWISE9124	457	10,678 %	1,617 %	13,999 %	10,984 %	0,088 %	0,013 %
pWISE9125	458	13,647 %	3,699 %	17,469 %	5,738 %	0,065 %	0,029 %
pWISE9126	459	0,858 %	0,193 %	1,201 %	1,043 %	0,072 %	0,002 %
pWISE9127	460	0,791 %	0,040 %	0,819 %	0,713 %	0,013 %	0,002 %
pWISE9128	461	16,895 %	0,743 %	9,214 %	10,269 %	0,101 %	0,000 %
pWISE9134	426	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9135	427	17,210 %	4,584 %	20,697 %	7,073 %	0,079 %	0,010 %

Tabla 7.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico no diana						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-7	C.-6	C.-4	C.-1	C.2	C.3	C.11
pWISE121	56	0,000 %	0,003 %	0,000 %	0,005 %	0,000 %	0,089 %	0,149 %
pWISE1921	428	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1925	429	0,139 %	0,025 %	0,064 %	0,151 %	0,027 %	0,058 %	0,616 %
pWISE4332	430	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE4339	431	0,708 %	0,688 %	0,011 %	0,168 %	0,004 %	0,006 %	2,500 %
pWISE6852	432	0,064 %	0,020 %	0,005 %	0,173 %	0,001 %	0,012 %	2,875 %
pWISE6853	433	0,007 %	0,004 %	0,000 %	0,335 %	0,007 %	0,047 %	0,156 %
pWISE9117	450	0,091 %	0,065 %	0,020 %	0,114 %	0,015 %	0,012 %	0,380 %
pWISE9118	451	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9119	452	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9121	454	0,088 %	0,069 %	0,016 %	0,248 %	0,004 %	0,005 %	0,060 %
pWISE9122	455	0,199 %	0,077 %	0,024 %	0,101 %	0,022 %	0,329 %	4,707 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9124	457	0,063 %	0,038 %	0,001 %	0,067 %	0,002 %	0,012 %	1,371 %

pWISE9125	458	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9126	459	0,072 %	0,034 %	0,000 %	0,082 %	0,014 %	0,017 %	0,007 %
pWISE9127	460	0,039 %	0,002 %	0,017 %	0,085 %	0,009 %	0,004 %	0,227 %
pWISE9128	461	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9134	426	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9135	427	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos

Tabla 7. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.14	C.17	C.19	C.21	C.24	C.28
pWISE121	56	0,345 %	0,235 %	0,318 %	0,085 %	0,195 %	0,141 %
pWISE1921	428	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1925	429	0,182 %	0,041 %	0,079 %	0,074 %	0,005 %	0,000 %
pWISE4332	430	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE4339	431	1,628 %	0,323 %	2,811 %	1,947 %	0,042 %	0,002 %
pWISE6852	432	0,924 %	0,291 %	1,374 %	0,030 %	0,000 %	0,002 %
pWISE6853	433	2,280 %	0,388 %	1,603 %	0,517 %	0,079 %	0,007 %
pWISE9117	450	0,302 %	0,302 %	0,402 %	0,432 %	0,032 %	0,022 %
pWISE9118	451	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9119	452	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9121	454	0,089 %	0,044 %	0,432 %	0,199 %	0,026 %	0,001 %
pWISE9122	455	5,263 %	0,317 %	5,876 %	5,510 %	0,335 %	0,013 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9124	457	0,495 %	0,194 %	0,979 %	0,717 %	0,042 %	0,009 %
pWISE9125	458	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9126	459	0,161 %	0,015 %	0,187 %	0,023 %	0,067 %	0,003 %
pWISE9127	460	0,101 %	0,057 %	0,104 %	0,036 %	0,010 %	0,002 %
pWISE9128	461	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9134	426	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9135	427	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos

Tabla 8.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-5	G.6	G.7	G.9	G.12
pWISE121	56	0,000 %	0,002 %	0,000 %	0,152 %	0,000 %
pWISE1921	428	0,019 %	0,005 %	0,035 %	0,056 %	0,089 %
pWISE1925	429	0,016 %	0,007 %	0,002 %	0,115 %	0,026 %
pWISE4332	430	0,017 %	0,009 %	0,010 %	0,033 %	0,038 %
pWISE4339	431	0,021 %	0,001 %	0,001 %	0,038 %	0,014 %
pWISE6852	432	0,011 %	0,005 %	0,004 %	0,008 %	0,003 %
pWISE6853	433	0,001 %	0,003 %	0,006 %	0,023 %	0,012 %
pWISE9117	450	0,006 %	0,005 %	0,003 %	0,025 %	0,003 %
pWISE9118	451	0,008 %	0,002 %	0,001 %	0,001 %	1,265 %
pWISE9119	452	0,037 %	0,037 %	0,075 %	0,257 %	0,059 %
pWISE9120	453	0,000 %	0,000 %	0,000 %	1,560 %	8,974 %
pWISE9121	454	0,005 %	0,136 %	0,216 %	0,122 %	0,391 %
pWISE9122	455	0,002 %	0,025 %	0,051 %	0,118 %	0,059 %
pWISE9123	456	0,021 %	0,012 %	0,009 %	0,264 %	0,054 %
pWISE9124	457	0,026 %	0,002 %	0,013 %	0,191 %	1,569 %
pWISE9125	458	0,007 %	0,007 %	0,055 %	0,118 %	0,082 %
pWISE9126	459	0,011 %	0,009 %	0,004 %	2,134 %	3,260 %
pWISE9127	460	0,009 %	0,015 %	0,014 %	0,002 %	0,025 %
pWISE9128	461	0,037 %	0,000 %	0,009 %	0,101 %	0,101 %
pWISE9134	426	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9135	427	0,025 %	0,019 %	0,065 %	0,133 %	0,071 %

Tabla 8. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.13	G.15	G.23	G.25	G.30
pWISE121	56	0,004 %	0,000 %	0,666 %	0,008 %	0,016 %
pWISE1921	428	0,045 %	0,391 %	0,087 %	0,023 %	2,625 %
pWISE1925	429	0,030 %	0,244 %	0,020 %	0,045 %	1,279 %
pWISE4332	430	0,018 %	0,170 %	0,119 %	0,119 %	1,136 %
pWISE4339	431	0,010 %	0,102 %	0,029 %	0,079 %	0,342 %
pWISE6852	432	0,011 %	0,081 %	0,012 %	0,037 %	0,349 %
pWISE6853	433	0,009 %	0,183 %	0,025 %	0,059 %	0,391 %
pWISE9117	450	0,001 %	0,417 %	0,321 %	0,825 %	3,152 %
pWISE9118	451	0,589 %	2,668 %	1,004 %	0,653 %	1,403 %
pWISE9119	452	0,128 %	0,717 %	2,743 %	1,962 %	10,667 %
pWISE9120	453	9,416 %	10,981 %	2,763 %	0,470 %	3,007 %

pWISE9121	454	0,204 %	0,868 %	0,213 %	0,208 %	0,793 %
pWISE9122	455	0,253 %	0,674 %	0,552 %	0,835 %	5,303 %
pWISE9123	456	0,039 %	0,874 %	1,039 %	2,152 %	7,802 %
pWISE9124	457	1,563 %	7,892 %	3,097 %	1,319 %	2,874 %
pWISE9125	458	0,109 %	0,702 %	0,188 %	0,492 %	6,920 %
pWISE9126	459	3,110 %	6,625 %	0,798 %	0,193 %	0,538 %
pWISE9127	460	0,000 %	0,235 %	0,140 %	0,116 %	0,222 %
pWISE9128	461	0,046 %	0,587 %	0,422 %	1,037 %	5,249 %
pWISE9134	426	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9135	427	0,054 %	0,814 %	0,318 %	0,458 %	7,906 %

Tabla 9.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-5	G.6	G.7	G.9	G.12
pWISE121	56	0,000 %	0,003 %	0,000 %	0,209 %	0,000 %
pWISE1921	428	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1925	429	0,011 %	0,003 %	0,003 %	0,078 %	0,036 %
pWISE4332	430	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE4339	431	0,030 %	0,001 %	0,001 %	0,054 %	0,020 %
pWISE6852	432	0,016 %	0,001 %	0,002 %	0,011 %	0,004 %
pWISE6853	433	0,001 %	0,005 %	0,001 %	0,033 %	0,016 %
pWISE9117	450	0,000 %	0,002 %	0,005 %	0,035 %	0,005 %
pWISE9118	451	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9119	452	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9121	454	0,007 %	0,137 %	0,189 %	0,172 %	0,236 %
pWISE9122	455	0,003 %	0,035 %	0,072 %	0,167 %	0,084 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9124	457	0,019 %	0,002 %	0,018 %	0,191 %	0,380 %
pWISE9125	458	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9126	459	0,013 %	0,004 %	0,000 %	0,230 %	0,285 %
pWISE9127	460	0,004 %	0,021 %	0,019 %	0,002 %	0,035 %
pWISE9128	461	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9134	426	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9135	427	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos

Tabla 9. (cont.)

Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la

		secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.13	G.15	G.23	G.25	G.30
pWISE121	56	0,005 %	0,000 %	0,003 %	0,001 %	0,012 %
pWISE1921	428	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1925	429	0,018 %	0,040 %	0,005 %	0,057 %	0,327 %
pWISE4332	430	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE4339	431	0,003 %	0,113 %	0,041 %	0,101 %	0,473 %
pWISE6852	432	0,008 %	0,115 %	0,009 %	0,037 %	0,486 %
pWISE6853	433	0,013 %	0,099 %	0,035 %	0,037 %	0,516 %
pWISE9117	450	0,002 %	0,064 %	0,011 %	0,207 %	0,688 %
pWISE9118	451	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9119	452	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9121	454	0,041 %	0,254 %	0,037 %	0,079 %	0,038 %
pWISE9122	455	0,266 %	0,321 %	0,781 %	0,635 %	1,675 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9124	457	0,328 %	0,221 %	0,703 %	0,324 %	0,192 %
pWISE9125	458	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9126	459	0,072 %	0,011 %	0,118 %	0,083 %	0,110 %
pWISE9127	460	0,000 %	0,211 %	0,127 %	0,152 %	0,010 %
pWISE9128	461	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9134	426	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9135	427	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos

Tabla 10.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico no diana				
Plásmido proteína	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.-1	C.2	C.10	C.11
pWISE121	56	0,003 %	0,103 %	0,033 %	0,407 %	0,254 %
pWISE1921	428	0,923 %	0,921 %	0,191 %	24,033 %	23,585 %
pWISE1925	429	0,762 %	0,919 %	0,140 %	18,424 %	18,260 %
pWISE4332	430	0,481 %	0,428 %	0,092 %	14,270 %	14,064 %
pWISE4339	431	0,360 %	0,483 %	0,025 %	13,312 %	13,047 %
pWISE6852	432	0,355 %	0,326 %	0,055 %	10,246 %	10,136 %
pWISE6853	433	0,329 %	0,386 %	0,051 %	14,813 %	14,576 %
pWISE9117	450	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9118	451	0,690 %	0,795 %	0,294 %	8,872 %	9,034 %
pWISE9119	452	1,769 %	1,903 %	0,245 %	34,072 %	32,966 %
pWISE9120	453	0,256 %	0,294 %	0,063 %	4,899 %	4,716 %
pWISE9121	454	0,672 %	0,580 %	0,195 %	7,651 %	7,707 %
pWISE9122	455	1,646 %	2,007 %	0,210 %	25,512 %	25,766 %

pWISE9123	456	1,416 %	1,711 %	0,234 %	28,032 %	27,623 %
pWISE9124	457	0,539 %	0,718 %	0,112 %	23,185 %	21,996 %
pWISE9125	458	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9126	459	0,132 %	0,196 %	0,028 %	5,711 %	5,791 %
pWISE9127	460	0,208 %	0,272 %	0,054 %	5,801 %	5,702 %
pWISE9128	461	1,581 %	1,924 %	0,228 %	22,383 %	22,108 %
pWISE9134	426	0,978 %	0,952 %	0,223 %	23,751 %	23,592 %
pWISE9135	427	1,432 %	1,408 %	0,144 %	24,285 %	24,008 %

Tabla 10. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico no diana					
Plásmido proteína	Proteína SEQ ID NO:	C.15	C.20	C.22	C.30	C.32	C.33
pWISE121	56	1,953 %	0,572 %	0,237 %	0,095 %	0,001 %	0,062 %
pWISE1921	428	22,927 %	1,360 %	0,663 %	0,042 %	0,007 %	0,021 %
pWISE1925	429	16,530 %	0,463 %	0,336 %	0,037 %	0,004 %	0,002 %
pWISE4332	430	13,245 %	0,564 %	0,169 %	0,082 %	0,003 %	0,004 %
pWISE4339	431	10,967 %	0,266 %	0,106 %	0,035 %	0,006 %	0,033 %
pWISE6852	432	9,369 %	0,421 %	0,129 %	0,025 %	0,005 %	0,007 %
pWISE6853	433	11,957 %	0,129 %	0,162 %	0,038 %	0,004 %	0,038 %
pWISE9117	450	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9118	451	7,569 %	2,187 %	1,657 %	0,029 %	0,004 %	0,007 %
pWISE9119	452	33,975 %	10,006 %	8,709 %	1,453 %	0,169 %	0,198 %
pWISE9120	453	4,130 %	0,872 %	0,923 %	0,076 %	0,009 %	0,040 %
pWISE9121	454	6,403 %	0,583 %	0,565 %	0,042 %	0,001 %	0,014 %
pWISE9122	455	26,424 %	7,012 %	5,110 %	0,516 %	0,049 %	0,082 %
pWISE9123	456	27,715 %	3,685 %	1,628 %	0,162 %	0,016 %	0,024 %
pWISE9124	457	22,021 %	1,082 %	0,978 %	0,110 %	0,016 %	0,019 %
pWISE9125	458	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9126	459	5,614 %	0,215 %	0,170 %	0,062 %	0,013 %	0,044 %
pWISE9127	460	3,778 %	0,329 %	0,072 %	0,004 %	0,002 %	0,028 %
pWISE9128	461	21,501 %	1,623 %	0,762 %	0,106 %	0,005 %	0,050 %
pWISE9134	426	22,686 %	1,771 %	0,865 %	0,110 %	0,024 %	0,019 %
pWISE9135	427	24,050 %	0,837 %	0,706 %	0,152 %	0,012 %	0,037 %

Tabla 11.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.-1	C.2	C.10	C.11	C.15
pWISE121	56	0,005 %	0,136 %	0,034 %	0,153 %	0,139 %	0,026 %
pWISE1921	428	0,197 %	0,113 %	0,022 %	2,094 %	2,096 %	1,883 %

pWISE1925	429	0,235 %	0,114 %	0,032 %	3,336 %	3,324 %	3,359 %
pWISE4332	430	0,022 %	0,007 %	0,033 %	1,658 %	1,531 %	1,377 %
pWISE4339	431	0,106 %	0,076 %	0,026 %	1,688 %	1,844 %	1,483 %
pWISE6852	432	0,006 %	0,177 %	0,041 %	1,762 %	1,796 %	1,834 %
pWISE6853	433	0,275 %	0,130 %	0,001 %	0,763 %	0,709 %	0,206 %
pWISE9117	450	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9118	451	0,213 %	0,205 %	0,069 %	0,349 %	0,197 %	0,036 %
pWISE9119	452	0,169 %	0,157 %	0,053 %	0,435 %	0,824 %	0,890 %
pWISE9120	453	0,013 %	0,041 %	0,047 %	0,230 %	0,113 %	0,407 %
pWISE9121	454	0,237 %	0,031 %	0,021 %	0,365 %	0,305 %	0,367 %
pWISE9122	455	0,162 %	0,042 %	0,121 %	1,685 %	1,733 %	1,677 %
pWISE9123	456	0,144 %	0,033 %	0,068 %	1,752 %	1,536 %	1,623 %
pWISE9124	457	0,009 %	0,039 %	0,026 %	0,028 %	0,035 %	0,243 %
pWISE9125	458	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9126	459	0,036 %	0,010 %	0,010 %	0,884 %	0,921 %	0,919 %
pWISE9127	460	0,035 %	0,043 %	0,007 %	1,000 %	1,029 %	0,954 %
pWISE9128	461	0,403 %	0,552 %	0,124 %	6,703 %	6,413 %	6,442 %
pWISE9134	426	0,324 %	0,269 %	0,046 %	2,693 %	2,892 %	3,006 %
pWISE9135	427	0,187 %	0,208 %	0,045 %	5,098 %	5,515 %	5,386 %

Tabla 11. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.20	C.22	C.30	C.32	C.33
pWISE121	56	0,259 %	0,093 %	0,060 %	0,002 %	0,085 %
pWISE1921	428	0,071 %	0,083 %	0,029 %	0,003 %	0,023 %
pWISE1925	429	0,119 %	0,107 %	0,049 %	0,003 %	0,002 %
pWISE4332	430	0,366 %	0,021 %	0,045 %	0,002 %	0,006 %
pWISE4339	431	0,032 %	0,063 %	0,001 %	0,006 %	0,041 %
pWISE6852	432	0,022 %	0,010 %	0,034 %	0,002 %	0,000 %
pWISE6853	433	0,046 %	0,220 %	0,048 %	0,006 %	0,044 %
pWISE9117	450	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9118	451	0,252 %	0,034 %	0,011 %	0,003 %	0,004 %
pWISE9119	452	0,055 %	0,010 %	0,009 %	0,084 %	0,052 %
pWISE9120	453	0,085 %	0,084 %	0,024 %	0,012 %	0,040 %
pWISE9121	454	0,161 %	0,027 %	0,019 %	0,002 %	0,001 %
pWISE9122	455	0,697 %	0,284 %	0,164 %	0,009 %	0,035 %
pWISE9123	456	0,485 %	0,078 %	0,101 %	0,020 %	0,002 %
pWISE9124	457	0,039 %	0,197 %	0,029 %	0,014 %	0,007 %
pWISE9125	458	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9126	459	0,029 %	0,059 %	0,001 %	0,015 %	0,011 %

pWISE9127	460	0,005 %	0,053 %	0,000 %	0,003 %	0,009 %
pWISE9128	461	0,501 %	0,191 %	0,023 %	0,004 %	0,054 %
pWISE9134	426	0,442 %	0,164 %	0,075 %	0,010 %	0,022 %
pWISE9135	427	0,145 %	0,109 %	0,071 %	0,014 %	0,004 %

Tabla 12.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.1	G.3	G.4	G.7	G.17
pWISE121	56	0,010 %	0,118 %	0,108 %	0,074 %	0,304 %	0,855 %
pWISE1921	428	0,124 %	0,019 %	0,022 %	0,015 %	0,006 %	0,083 %
pWISE1925	429	0,047 %	0,014 %	0,004 %	0,018 %	0,013 %	0,004 %
pWISE4332	430	0,050 %	0,017 %	0,006 %	0,026 %	0,006 %	0,009 %
pWISE4339	431	0,027 %	0,029 %	0,037 %	0,030 %	0,002 %	0,018 %
pWISE6852	432	0,051 %	0,009 %	0,014 %	0,003 %	0,008 %	0,017 %
pWISE6853	433	0,041 %	0,007 %	0,012 %	0,009 %	0,004 %	0,001 %
pWISE9117	450	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9118	451	0,025 %	0,022 %	0,031 %	0,061 %	0,002 %	2,414 %
pWISE9119	452	0,015 %	0,031 %	0,046 %	0,075 %	0,015 %	0,696 %
pWISE9120	453	0,094 %	0,040 %	0,041 %	0,068 %	0,021 %	6,415 %
pWISE9121	454	0,035 %	0,018 %	0,029 %	0,045 %	0,008 %	1,161 %
pWISE9122	455	0,019 %	0,036 %	0,026 %	0,049 %	0,023 %	2,956 %
pWISE9123	456	0,040 %	0,021 %	0,074 %	0,029 %	0,009 %	0,599 %
pWISE9124	457	0,035 %	0,018 %	0,012 %	0,016 %	0,013 %	1,464 %
pWISE9125	458	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9126	459	0,012 %	0,007 %	0,023 %	0,012 %	0,001 %	1,626 %
pWISE9127	460	0,021 %	0,014 %	0,015 %	0,003 %	0,003 %	0,174 %
pWISE9128	461	0,019 %	0,017 %	0,015 %	0,032 %	0,024 %	0,350 %
pWISE9134	426	0,140 %	0,034 %	0,039 %	0,051 %	0,002 %	0,055 %
pWISE9135	427	0,022 %	0,006 %	0,011 %	0,019 %	0,015 %	0,257 %

Tabla 12. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.21	G.24	G.26	G.28	G.31
pWISE121	56	0,260 %	0,324 %	0,064 %	0,047 %	0,012 %
pWISE1921	428	0,191 %	1,681 %	2,012 %	0,030 %	0,188 %
pWISE1925	429	0,063 %	0,573 %	0,879 %	0,002 %	0,044 %
pWISE4332	430	0,181 %	0,768 %	0,820 %	0,040 %	0,076 %
pWISE4339	431	0,099 %	0,481 %	0,411 %	0,075 %	0,050 %
pWISE6852	432	0,111 %	0,557 %	0,376 %	0,014 %	0,062 %
pWISE6853	433	0,035 %	0,395 %	0,253 %	0,092 %	0,030 %

pWISE9117	450	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9118	451	2,795 %	3,518 %	2,755 %	0,264 %	0,206 %
pWISE9119	452	2,193 %	19,415 %	19,164 %	3,039 %	3,810 %
pWISE9120	453	5,443 %	6,371 %	5,184 %	0,724 %	0,829 %
pWISE9121	454	1,178 %	2,427 %	1,791 %	0,102 %	0,272 %
pWISE9122	455	4,900 %	13,204 %	12,163 %	1,788 %	2,608 %
pWISE9123	456	1,345 %	6,273 %	5,512 %	0,670 %	1,389 %
pWISE9124	457	2,339 %	2,991 %	1,514 %	0,095 %	0,215 %
pWISE9125	458	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9126	459	1,027 %	1,063 %	0,567 %	0,029 %	0,053 %
pWISE9127	460	0,155 %	0,483 %	0,338 %	0,016 %	0,062 %
pWISE9128	461	0,569 %	3,365 %	3,377 %	0,240 %	0,656 %
pWISE9134	426	0,201 %	2,538 %	3,027 %	0,041 %	0,207 %
pWISE9135	427	0,424 %	4,395 %	4,906 %	0,315 %	1,174 %

Tabla 13.

Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico diana opuesta							
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.1	G.3	G.4	G.7	G.17
pWISE121	56	0,007 %	0,164 %	0,108 %	0,102 %	0,194 %	0,052 %
pWISE1921	428	0,054 %	0,020 %	0,027 %	0,016 %	0,008 %	0,016 %
pWISE1925	429	0,004 %	0,014 %	0,001 %	0,018 %	0,010 %	0,002 %
pWISE4332	430	0,043 %	0,019 %	0,001 %	0,034 %	0,001 %	0,006 %
pWISE4339	431	0,003 %	0,041 %	0,046 %	0,043 %	0,003 %	0,020 %
pWISE6852	432	0,008 %	0,008 %	0,017 %	0,002 %	0,001 %	0,019 %
pWISE6853	433	0,058 %	0,010 %	0,008 %	0,002 %	0,000 %	0,001 %
pWISE9117	450	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9118	451	0,015 %	0,028 %	0,005 %	0,007 %	0,003 %	0,019 %
pWISE9119	452	0,002 %	0,015 %	0,003 %	0,004 %	0,007 %	0,189 %
pWISE9120	453	0,091 %	0,031 %	0,058 %	0,046 %	0,005 %	1,054 %
pWISE9121	454	0,019 %	0,022 %	0,019 %	0,029 %	0,008 %	0,003 %
pWISE9122	455	0,016 %	0,005 %	0,019 %	0,031 %	0,027 %	0,195 %
pWISE9123	456	0,021 %	0,009 %	0,027 %	0,041 %	0,012 %	0,079 %
pWISE9124	457	0,001 %	0,018 %	0,002 %	0,001 %	0,006 %	0,130 %
pWISE9125	458	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9126	459	0,003 %	0,003 %	0,008 %	0,000 %	0,001 %	0,275 %
pWISE9127	460	0,018 %	0,013 %	0,011 %	0,001 %	0,002 %	0,054 %
pWISE9128	461	0,021 %	0,013 %	0,017 %	0,012 %	0,023 %	0,054 %
pWISE9134	426	0,059 %	0,004 %	0,009 %	0,020 %	0,003 %	0,009 %
pWISE9135	427	0,010 %	0,006 %	0,001 %	0,024 %	0,012 %	0,131 %

Tabla 13. (cont.)

Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico diana opuesta

pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.21	G.24	G.26	G.28	G.31
pWISE121	56	0,051 %	0,007 %	0,072 %	0,064 %	0,009 %
pWISE1921	428	0,040 %	0,413 %	0,253 %	0,039 %	0,047 %
pWISE1925	429	0,077 %	0,009 %	0,038 %	0,002 %	0,042 %
pWISE4332	430	0,026 %	0,185 %	0,263 %	0,027 %	0,007 %
pWISE4339	431	0,021 %	0,098 %	0,043 %	0,083 %	0,023 %
pWISE6852	432	0,027 %	0,047 %	0,014 %	0,013 %	0,039 %
pWISE6853	433	0,015 %	0,106 %	0,033 %	0,129 %	0,031 %
pWISE9117	450	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9118	451	0,302 %	0,268 %	0,266 %	0,086 %	0,101 %
pWISE9119	452	0,177 %	0,223 %	0,724 %	0,003 %	0,108 %
pWISE9120	453	0,798 %	0,592 %	0,548 %	0,241 %	0,101 %
pWISE9121	454	0,101 %	0,226 %	0,129 %	0,029 %	0,039 %
pWISE9122	455	0,343 %	0,822 %	0,713 %	0,382 %	0,529 %
pWISE9123	456	0,353 %	0,184 %	0,308 %	0,017 %	0,145 %
pWISE9124	457	0,041 %	0,021 %	0,102 %	0,034 %	0,084 %
pWISE9125	458	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9126	459	0,231 %	0,188 %	0,179 %	0,004 %	0,035 %
pWISE9127	460	0,000 %	0,116 %	0,066 %	0,002 %	0,042 %
pWISE9128	461	0,067 %	0,740 %	0,571 %	0,003 %	0,091 %
pWISE9134	426	0,004 %	0,117 %	0,006 %	0,012 %	0,028 %
pWISE9135	427	0,146 %	0,925 %	1,215 %	0,027 %	0,372 %

Tabla 14.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-8	C.-6	C.-1	C.3	C.4	C.6	C.8
pWISE121	56	0,004 %	0,082 %	0,007 %	0,032 %	0,028 %	0,093 %	0,027 %
pWISE1921	428	0,449 %	0,002 %	2,335 %	0,055 %	0,099 %	33,274 %	32,089 %
pWISE1925	429	0,493 %	0,000 %	1,944 %	0,005 %	0,023 %	28,748 %	27,917 %
pWISE4332	430	0,058 %	0,002 %	1,078 %	0,003 %	0,001 %	13,589 %	13,370 %
pWISE4339	431	0,505 %	0,013 %	2,176 %	0,037 %	0,042 %	17,310 %	11,945 %
pWISE6852	432	0,353 %	0,000 %	0,965 %	0,002 %	0,018 %	15,624 %	15,013 %
pWISE6853	433	0,307 %	0,004 %	1,592 %	0,038 %	0,042 %	27,356 %	26,892 %
pWISE9117	450	0,316 %	0,013 %	2,178 %	0,028 %	0,018 %	32,296 %	26,313 %
pWISE9118	451	0,205 %	0,006 %	1,582 %	0,014 %	0,018 %	9,416 %	2,599 %
pWISE9119	452	0,340 %	0,004 %	1,983 %	0,043 %	0,034 %	22,773 %	17,812 %
pWISE9120	453	0,399 %	0,031 %	1,455 %	0,034 %	0,037 %	4,755 %	1,729 %
pWISE9121	454	0,414 %	0,019 %	1,723 %	0,054 %	0,077 %	18,202 %	14,310 %

pWISE9122	455	0,428 %	0,005 %	3,150 %	0,036 %	0,046 %	17,129 %	6,481 %
pWISE9123	456	0,404 %	0,000 %	2,146 %	0,074 %	0,065 %	30,831 %	28,556 %
pWISE9124	457	0,329 %	0,000 %	1,657 %	0,021 %	0,012 %	29,966 %	20,258 %
pWISE9125	458	0,335 %	0,014 %	2,390 %	0,013 %	0,046 %	25,072 %	16,678 %
pWISE9126	459	0,086 %	0,008 %	0,476 %	0,005 %	0,003 %	9,905 %	4,317 %
pWISE9127	460	0,066 %	0,003 %	0,533 %	0,015 %	0,012 %	4,287 %	0,375 %
pWISE9128	461	0,524 %	0,000 %	2,685 %	0,056 %	0,036 %	20,135 %	14,338 %
pWISE9134	426	0,446 %	0,018 %	2,248 %	0,034 %	0,053 %	30,029 %	29,043 %
pWISE9135	427	0,480 %	0,018 %	2,492 %	0,053 %	0,068 %	27,522 %	18,083 %

Tabla 14. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.9	C.10	C.11	C.13	C.17	C.18
pWISE121	56	0,066 %	0,062 %	0,183 %	0,110 %	0,529 %	0,497 %
pWISE1921	428	32,913 %	33,030 %	33,154 %	33,103 %	8,980 %	9,597 %
pWISE1925	429	28,554 %	28,591 %	28,672 %	28,621 %	4,710 %	4,742 %
pWISE4332	430	13,499 %	13,522 %	13,549 %	13,465 %	0,984 %	1,005 %
pWISE4339	431	15,873 %	18,932 %	21,414 %	24,483 %	5,246 %	5,865 %
pWISE6852	432	15,417 %	15,438 %	15,468 %	15,453 %	1,108 %	0,810 %
pWISE6853	433	27,260 %	27,248 %	27,317 %	27,187 %	2,880 %	3,198 %
pWISE9117	450	30,307 %	31,080 %	31,396 %	32,299 %	15,909 %	19,326 %
pWISE9118	451	5,969 %	7,855 %	9,749 %	15,186 %	0,260 %	0,250 %
pWISE9119	452	21,323 %	22,141 %	22,744 %	24,504 %	9,434 %	10,306 %
pWISE9120	453	2,699 %	3,216 %	3,695 %	6,311 %	0,660 %	0,855 %
pWISE9121	454	16,297 %	17,133 %	17,846 %	19,783 %	5,145 %	5,294 %
pWISE9122	455	14,034 %	19,647 %	24,408 %	29,916 %	9,575 %	9,993 %
pWISE9123	456	30,055 %	30,102 %	30,445 %	30,861 %	11,225 %	12,172 %
pWISE9124	457	27,775 %	28,622 %	28,955 %	30,110 %	3,770 %	3,909 %
pWISE9125	458	21,677 %	23,952 %	24,566 %	25,457 %	6,897 %	6,556 %

pWISE9126	459	7,872 %	8,717 %	9,140 %	10,044 %	0,230 %	0,211 %
pWISE9127	460	1,626 %	2,758 %	3,639 %	6,516 %	0,141 %	0,138 %
pWISE9128	461	21,975 %	22,372 %	22,577 %	22,783 %	4,866 %	5,772 %
pWISE9134	426	29,709 %	29,702 %	29,879 %	29,991 %	9,456 %	9,988 %
pWISE9135	427	24,364 %	26,319 %	26,967 %	28,052 %	8,167 %	7,647 %

Tabla 14. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.19	C.22	C.25	C.27	C.29	C.33
pWISE121	56	0,364 %	0,669 %	0,030 %	0,048 %	0,102 %	0,036 %
pWISE1921	428	12,497 %	0,162 %	0,181 %	0,312 %	0,290 %	0,163 %
pWISE1925	429	5,591 %	0,080 %	0,161 %	0,104 %	0,183 %	0,148 %
pWISE4332	430	2,019 %	0,084 %	0,072 %	0,084 %	0,116 %	0,026 %
pWISE4339	431	8,595 %	1,401 %	1,333 %	1,499 %	1,569 %	1,304 %
pWISE6852	432	1,948 %	0,075 %	0,046 %	0,054 %	0,011 %	0,072 %
pWISE6853	433	4,081 %	0,184 %	0,138 %	0,073 %	0,192 %	0,096 %
pWISE9117	450	26,265 %	0,544 %	0,231 %	0,163 %	0,281 %	0,203 %
pWISE9118	451	1,418 %	0,082 %	0,203 %	0,215 %	0,073 %	0,191 %
pWISE9119	452	13,392 %	2,260 %	1,905 %	2,309 %	2,310 %	2,053 %
pWISE9120	453	1,251 %	0,184 %	0,318 %	0,309 %	0,263 %	0,347 %
pWISE9121	454	6,573 %	0,172 %	0,183 %	0,191 %	0,205 %	0,168 %
pWISE9122	455	13,863 %	1,587 %	1,614 %	1,930 %	2,198 %	2,088 %
pWISE9123	456	18,386 %	0,243 %	0,270 %	0,374 %	0,223 %	0,412 %
pWISE9124	457	6,291 %	0,102 %	0,089 %	0,076 %	0,106 %	0,068 %
pWISE9125	458	6,007 %	0,276 %	0,244 %	0,283 %	0,261 %	0,267 %
pWISE9126	459	0,326 %	0,013 %	0,045 %	0,040 %	0,043 %	0,040 %
pWISE9127	460	0,212 %	0,044 %	0,045 %	0,067 %	0,059 %	0,042 %
pWISE9128	461	7,406 %	0,330 %	0,245 %	0,341 %	0,367 %	0,132 %

pWISE9134	426	12,707 %	0,289 %	0,184 %	0,185 %	0,167 %	0,098 %
pWISE9135	427	7,159 %	0,181 %	0,261 %	0,218 %	0,260 %	0,256 %

Tabla 15.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-8	C.-6	C.-1	C.3	C.4	C.6	C.8
pWISE121	56	0,001 %	0,108 %	0,003 %	0,041 %	0,040 %	0,065 %	0,021 %
pWISE1921	428	0,074 %	0,003 %	0,036 %	0,047 %	0,023 %	1,238 %	1,067 %
pWISE1925	429	0,171 %	0,000 %	0,116 %	0,008 %	0,029 %	1,587 %	1,720 %
pWISE4332	430	0,002 %	0,003 %	0,116 %	0,005 %	0,002 %	2,423 %	2,430 %
pWISE4339	431	0,143 %	0,019 %	1,182 %	0,043 %	0,041 %	4,776 %	11,772 %
pWISE6852	432	0,220 %	0,000 %	0,807 %	0,002 %	0,012 %	1,785 %	2,187 %
pWISE6853	433	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9117	450	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9118	451	0,281 %	0,006 %	0,040 %	0,015 %	0,025 %	1,257 %	0,862 %
pWISE9119	452	0,148 %	0,006 %	1,289 %	0,051 %	0,049 %	16,715 %	15,751 %
pWISE9120	453	0,109 %	0,022 %	0,134 %	0,001 %	0,014 %	1,765 %	2,017 %
pWISE9121	454	0,048 %	0,028 %	0,567 %	0,071 %	0,075 %	14,980 %	18,648 %
pWISE9122	455	0,025 %	0,007 %	0,351 %	0,052 %	0,061 %	3,792 %	4,350 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9124	457	0,351 %	0,000 %	0,482 %	0,030 %	0,013 %	1,052 %	0,356 %
pWISE9125	458	0,181 %	0,015 %	0,128 %	0,016 %	0,041 %	0,961 %	0,502 %
pWISE9126	459	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9127	460	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9128	461	0,043 %	0,000 %	0,020 %	0,019 %	0,047 %	0,826 %	0,511 %
pWISE9134	426	0,027 %	0,022 %	0,503 %	0,048 %	0,074 %	1,078 %	1,393 %
pWISE9135	427	0,169 %	0,001 %	0,110 %	0,004 %	0,050 %	1,443 %	0,999 %

Tabla 15. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.9	C.10	C.11	C.13	C.17	C.18
pWISE121	56	0,003 %	0,022 %	0,063 %	0,014 %	0,017 %	0,133 %
pWISE1921	428	1,221 %	1,174 %	1,196 %	1,330 %	0,141 %	0,204 %
pWISE1925	429	1,657 %	1,659 %	1,652 %	1,536 %	0,111 %	0,181 %
pWISE4332	430	2,437 %	2,546 %	2,513 %	2,576 %	0,285 %	0,116 %
pWISE4339	431	6,733 %	2,515 %	0,991 %	5,345 %	5,006 %	5,854 %
pWISE6852	432	1,898 %	1,938 %	1,973 %	1,967 %	0,074 %	0,657 %
pWISE6853	433	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9117	450	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9118	451	0,189 %	0,802 %	1,211 %	2,879 %	0,363 %	0,342 %
pWISE9119	452	18,009 %	17,499 %	17,553 %	16,536 %	8,552 %	9,523 %
pWISE9120	453	2,301 %	2,266 %	2,227 %	1,528 %	0,782 %	0,872 %
pWISE9121	454	17,261 %	15,941 %	15,310 %	12,699 %	5,648 %	6,513 %
pWISE9122	455	3,392 %	1,522 %	0,672 %	2,655 %	1,097 %	1,092 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9124	457	0,673 %	0,902 %	0,794 %	0,910 %	0,118 %	0,075 %
pWISE9125	458	0,475 %	0,622 %	0,892 %	0,916 %	0,003 %	0,004 %
pWISE9126	459	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9127	460	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9128	461	0,713 %	0,690 %	0,795 %	0,620 %	0,894 %	0,613 %
pWISE9134	426	0,950 %	1,111 %	0,937 %	1,095 %	0,065 %	0,252 %
pWISE9135	427	1,275 %	1,333 %	1,204 %	1,394 %	0,114 %	0,182 %

Tabla 15. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.19	C.22	C.25	C.27	C.29	C.33
pWISE121	56	0,188 %	0,023 %	0,040 %	0,065 %	0,064 %	0,043 %
pWISE1921	428	0,160 %	0,004 %	0,088 %	0,112 %	0,161 %	0,033 %
pWISE1925	429	0,288 %	0,013 %	0,060 %	0,000 %	0,009 %	0,098 %
pWISE4332	430	0,292 %	0,051 %	0,065 %	0,048 %	0,121 %	0,003 %
pWISE4339	431	8,805 %	1,879 %	1,667 %	2,018 %	2,112 %	1,741 %
pWISE6852	432	1,310 %	0,102 %	0,059 %	0,076 %	0,012 %	0,092 %
pWISE6853	433	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9117	450	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9118	451	0,222 %	0,114 %	0,076 %	0,114 %	0,103 %	0,131 %

pWISE9119	452	12,311 %	2,064 %	1,683 %	2,184 %	2,135 %	1,832 %
pWISE9120	453	1,057 %	0,042 %	0,113 %	0,001 %	0,004 %	0,045 %
pWISE9121	454	8,103 %	0,170 %	0,136 %	0,153 %	0,151 %	0,075 %
pWISE9122	455	3,246 %	0,051 %	0,122 %	0,318 %	0,502 %	0,833 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9124	457	0,160 %	0,007 %	0,063 %	0,041 %	0,091 %	0,041 %
pWISE9125	458	0,390 %	0,025 %	0,132 %	0,043 %	0,167 %	0,066 %
pWISE9126	459	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9127	460	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9128	461	0,899 %	0,162 %	0,191 %	0,052 %	0,295 %	0,050 %
pWISE9134	426	0,159 %	0,012 %	0,055 %	0,058 %	0,066 %	0,125 %
pWISE9135	427	0,370 %	0,004 %	0,084 %	0,054 %	0,004 %	0,158 %

Tabla 16.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico diana opuesta		
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-4	G.2	G.16
pWISE121	56	0,004 %	0,001 %	0,611 %
pWISE1921	428	0,003 %	0,015 %	0,026 %
pWISE1925	429	0,001 %	0,003 %	0,039 %
pWISE4332	430	0,005 %	0,004 %	0,001 %
pWISE4339	431	0,000 %	0,005 %	0,099 %
pWISE6852	432	0,015 %	0,000 %	0,012 %
pWISE6853	433	0,008 %	0,015 %	0,000 %
pWISE9117	450	0,000 %	0,013 %	0,090 %
pWISE9118	451	0,006 %	0,003 %	0,258 %
pWISE9119	452	0,012 %	0,003 %	0,051 %
pWISE9120	453	0,019 %	0,002 %	6,797 %
pWISE9121	454	0,004 %	0,000 %	0,079 %
pWISE9122	455	0,003 %	0,004 %	0,279 %
pWISE9123	456	0,002 %	0,002 %	0,214 %
pWISE9124	457	0,001 %	0,004 %	1,014 %
pWISE9125	458	0,004 %	0,005 %	0,779 %
pWISE9126	459	0,003 %	0,000 %	2,303 %
pWISE9127	460	0,003 %	0,002 %	0,020 %
pWISE9128	461	0,003 %	0,005 %	0,680 %
pWISE9134	426	0,004 %	0,002 %	0,066 %
pWISE9135	427	0,000 %	0,000 %	0,951 %

Tabla 17.

Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico diana opuesta

pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-4	G.2	G.16
pWISE121	56	0,001 %	0,002 %	0,025 %
pWISE1921	428	0,002 %	0,017 %	0,011 %
pWISE1925	429	0,002 %	0,000 %	0,020 %
pWISE4332	430	0,002 %	0,000 %	0,002 %
pWISE4339	431	0,000 %	0,007 %	0,139 %
pWISE6852	432	0,015 %	0,000 %	0,006 %
pWISE6853	433	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9117	450	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9118	451	0,006 %	0,001 %	0,120 %
pWISE9119	452	0,003 %	0,004 %	0,022 %
pWISE9120	453	0,027 %	0,002 %	0,793 %
pWISE9121	454	0,006 %	0,000 %	0,011 %
pWISE9122	455	0,000 %	0,005 %	0,384 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9124	457	0,002 %	0,002 %	0,081 %
pWISE9125	458	0,000 %	0,004 %	0,095 %
pWISE9126	459	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9127	460	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9128	461	0,001 %	0,001 %	0,026 %
pWISE9134	426	0,005 %	0,002 %	0,037 %
pWISE9135	427	0,000 %	0,000 %	0,094 %

Tabla 18.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.-1	C.4	C.6	C.7	C.11
pWISE121	56	0,000 %	0,004 %	0,011 %	0,051 %	0,125 %	0,323 %
pWISE1921	428	0,008 %	0,456 %	0,513 %	9,800 %	19,476 %	20,965 %
pWISE1925	429	0,000 %	0,843 %	0,536 %	11,402 %	18,213 %	19,821 %
pWISE4332	430	0,000 %	0,000 %	2,086 %	2,095 %	6,942 %	6,942 %
pWISE4339	431	0,000 %	0,435 %	0,274 %	8,060 %	11,558 %	12,045 %
pWISE6852	432	0,007 %	0,238 %	0,163 %	5,269 %	8,548 %	9,071 %
pWISE6853	433	0,000 %	0,213 %	0,180 %	9,374 %	12,452 %	13,227 %
pWISE9117	450	0,010 %	0,552 %	0,480 %	4,521 %	12,347 %	15,308 %
pWISE9118	451	0,024 %	0,477 %	0,467 %	0,217 %	1,897 %	7,253 %
pWISE9119	452	0,005 %	0,573 %	0,556 %	2,548 %	17,092 %	23,577 %
pWISE9120	453	0,010 %	0,185 %	0,292 %	0,058 %	0,301 %	2,158 %

pWISE9121	454	0,000 %	0,294 %	0,311 %	0,177 %	2,178 %	7,121 %
pWISE9122	455	0,032 %	0,871 %	1,003 %	0,392 %	3,083 %	17,531 %
pWISE9123	456	0,034 %	0,660 %	0,901 %	7,263 %	21,480 %	26,577 %
pWISE9124	457	0,007 %	0,276 %	0,317 %	0,774 %	7,124 %	13,284 %
pWISE9125	458	0,010 %	0,632 %	0,805 %	9,056 %	11,011 %	17,307 %
pWISE9126	459	0,004 %	0,061 %	0,041 %	0,063 %	0,471 %	1,067 %
pWISE9127	460	0,001 %	0,072 %	0,102 %	0,138 %	0,838 %	3,744 %
pWISE9128	461	0,000 %	0,937 %	0,860 %	1,562 %	6,108 %	19,437 %
pWISE9134	426	0,022 %	0,579 %	0,776 %	11,143 %	20,723 %	22,302 %
pWISE9135	427	0,014 %	0,985 %	1,065 %	9,861 %	13,922 %	22,716 %

Tabla 18. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.12	C.16	C.17	C.18	C.25	C.26
pWISE121	56	0,338 %	0,536 %	1,449 %	0,404 %	0,004 %	0,084 %
pWISE1921	428	20,946 %	5,889 %	3,032 %	2,926 %	0,012 %	0,000 %
pWISE1925	429	19,800 %	4,399 %	2,128 %	1,868 %	0,024 %	0,003 %
pWISE4332	430	6,942 %	4,494 %	4,494 %	2,418 %	0,000 %	0,000 %
pWISE4339	431	11,975 %	1,598 %	0,749 %	0,767 %	0,009 %	0,006 %
pWISE6852	432	8,969 %	2,465 %	0,903 %	0,828 %	0,014 %	0,000 %
pWISE6853	433	13,300 %	1,329 %	0,406 %	0,362 %	0,004 %	0,008 %
pWISE9117	450	15,149 %	7,565 %	5,997 %	6,612 %	0,003 %	0,000 %
pWISE9118	451	6,845 %	1,855 %	0,913 %	0,793 %	0,004 %	0,006 %
pWISE9119	452	23,420 %	11,357 %	7,858 %	8,294 %	0,032 %	0,029 %
pWISE9120	453	2,090 %	0,612 %	0,525 %	0,496 %	0,039 %	0,049 %
pWISE9121	454	6,928 %	2,363 %	1,152 %	1,228 %	0,008 %	0,008 %
pWISE9122	455	17,449 %	9,848 %	7,807 %	7,926 %	0,026 %	0,036 %
pWISE9123	456	26,625 %	11,755 %	9,196 %	9,581 %	0,021 %	0,028 %

pWISE9124	457	13,199 %	4,884 %	3,348 %	3,193 %	0,003 %	0,001 %
pWISE9125	458	17,053 %	11,007 %	8,898 %	6,027 %	0,008 %	0,000 %
pWISE9126	459	1,057 %	0,369 %	0,249 %	0,203 %	0,012 %	0,021 %
pWISE9127	460	3,387 %	0,810 %	0,362 %	0,142 %	0,002 %	0,004 %
pWISE9128	461	19,402 %	5,747 %	3,305 %	3,069 %	0,003 %	0,008 %
pWISE9134	426	22,340 %	6,183 %	3,064 %	3,048 %	0,005 %	0,005 %
pWISE9135	427	22,433 %	13,279 %	10,219 %	6,828 %	0,009 %	0,008 %

Tabla 18. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana		
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.27	C.28	C.30
pWISE121	56	0,000 %	0,125 %	0,000 %
pWISE1921	428	0,002 %	0,008 %	0,005 %
pWISE1925	429	0,000 %	0,006 %	0,002 %
pWISE4332	430	0,000 %	0,000 %	0,000 %
pWISE4339	431	0,003 %	0,000 %	0,000 %
pWISE6852	432	0,007 %	0,000 %	0,000 %
pWISE6853	433	0,000 %	0,000 %	0,000 %
pWISE9117	450	0,000 %	0,006 %	0,004 %
pWISE9118	451	0,014 %	0,015 %	0,002 %
pWISE9119	452	0,035 %	0,033 %	0,000 %
pWISE9120	453	0,039 %	0,039 %	0,049 %
pWISE9121	454	0,000 %	0,000 %	0,017 %
pWISE9122	455	0,019 %	0,019 %	0,004 %
pWISE9123	456	0,069 %	0,069 %	0,000 %
pWISE9124	457	0,018 %	0,014 %	0,003 %
pWISE9125	458	0,038 %	0,046 %	0,000 %
pWISE9126	459	0,000 %	0,009 %	0,003 %
pWISE9127	460	0,005 %	0,001 %	0,004 %
pWISE9128	461	0,000 %	0,013 %	0,000 %
pWISE9134	426	0,005 %	0,005 %	0,005 %
pWISE9135	427	0,003 %	0,003 %	0,000 %

Tabla 19.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.-1	C.4	C.6	C.7	C.11
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1921	428	0,011 %	0,080 %	0,148 %	0,737 %	0,675 %	0,756 %
pWISE1925	429	0,000 %	0,369 %	0,001 %	0,084 %	0,696 %	1,043 %
pWISE4332	430	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE4339	431	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE6852	432	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE6853	433	0,000 %	0,091 %	0,161 %	0,426 %	0,408 %	0,341 %
pWISE9117	450	0,002 %	0,011 %	0,074 %	0,240 %	1,162 %	1,404 %
pWISE9118	451	0,014 %	0,001 %	0,036 %	0,029 %	0,013 %	0,002 %
pWISE9119	452	0,007 %	0,120 %	0,177 %	0,300 %	1,510 %	0,775 %
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9121	454	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9122	455	0,045 %	0,043 %	0,055 %	0,005 %	0,301 %	2,519 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9124	457	0,008 %	0,003 %	0,028 %	0,033 %	0,538 %	0,444 %
pWISE9125	458	0,014 %	0,097 %	0,067 %	0,804 %	0,756 %	1,033 %
pWISE9126	459	0,006 %	0,001 %	0,029 %	0,023 %	0,215 %	0,192 %
pWISE9127	460	0,001 %	0,037 %	0,025 %	0,026 %	0,055 %	0,194 %
pWISE9128	461	0,000 %	0,078 %	0,263 %	0,318 %	0,004 %	0,689 %
pWISE9134	426	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9135	427	0,010 %	0,050 %	0,065 %	0,240 %	0,059 %	0,984 %

Tabla 19. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.12	C.16	C.17	C.18	C.25	C.26
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1921	428	0,624 %	0,062 %	0,095 %	0,255 %	0,016 %	0,000 %
pWISE1925	429	1,003 %	0,146 %	0,365 %	0,218 %	0,024 %	0,005 %
pWISE4332	430	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE4339	431	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE6852	432	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE6853	433	0,285 %	0,189 %	0,244 %	0,072 %	0,006 %	0,000 %

pWISE9117	450	1,499 %	1,089 %	0,807 %	0,861 %	0,004 %	0,000 %
pWISE9118	451	0,051 %	0,271 %	0,033 %	0,028 %	0,005 %	0,002 %
pWISE9119	452	0,892 %	0,129 %	0,138 %	0,557 %	0,038 %	0,021 %
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9121	454	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9122	455	2,503 %	1,873 %	0,988 %	1,246 %	0,015 %	0,029 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9124	457	0,519 %	0,663 %	0,419 %	0,299 %	0,005 %	0,001 %
pWISE9125	458	1,169 %	0,697 %	0,796 %	0,795 %	0,002 %	0,000 %
pWISE9126	459	0,169 %	0,174 %	0,107 %	0,098 %	0,008 %	0,017 %
pWISE9127	460	0,195 %	0,071 %	0,035 %	0,026 %	0,003 %	0,005 %
pWISE9128	461	0,712 %	0,438 %	0,123 %	0,174 %	0,004 %	0,002 %
pWISE9134	426	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9135	427	0,932 %	0,240 %	0,136 %	0,160 %	0,009 %	0,002 %

Tabla 19. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana		
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.27	C.28	C.30
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1921	428	0,003 %	0,011 %	0,007 %
pWISE1925	429	0,000 %	0,003 %	0,002 %
pWISE4332	430	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE4339	431	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE6852	432	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE6853	433	0,000 %	0,000 %	0,000 %
pWISE9117	450	0,000 %	0,008 %	0,006 %
pWISE9118	451	0,009 %	0,022 %	0,002 %
pWISE9119	452	0,023 %	0,026 %	0,000 %
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9121	454	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9122	455	0,016 %	0,016 %	0,006 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9124	457	0,011 %	0,016 %	0,004 %
pWISE9125	458	0,054 %	0,028 %	0,000 %
pWISE9126	459	0,000 %	0,012 %	0,005 %
pWISE9127	460	0,003 %	0,001 %	0,004 %
pWISE9128	461	0,000 %	0,009 %	0,000 %
pWISE9134	426	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9135	427	0,004 %	0,000 %	0,000 %

Tabla 20.

Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia

		espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.-7	G.-6	G.2
pWISE121	56	0,004 %	0,000 %	0,000 %	0,011 %	0,154 %
pWISE1921	428	0,054 %	0,005 %	0,005 %	0,000 %	0,000 %
pWISE1925	429	0,030 %	0,005 %	0,002 %	0,007 %	0,022 %
pWISE4332	430	0,000 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %
pWISE4339	431	0,003 %	0,003 %	0,000 %	0,003 %	0,009 %
pWISE6852	432	0,068 %	0,000 %	0,007 %	0,007 %	0,068 %
pWISE6853	433	0,004 %	0,004 %	0,000 %	0,008 %	0,000 %
pWISE9117	450	0,038 %	0,034 %	0,003 %	0,000 %	0,000 %
pWISE9118	451	0,078 %	0,053 %	0,001 %	0,000 %	0,008 %
pWISE9119	452	0,039 %	0,006 %	0,002 %	0,013 %	0,002 %
pWISE9120	453	0,000 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %
pWISE9121	454	0,008 %	0,008 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %
pWISE9122	455	0,006 %	0,011 %	0,002 %	0,005 %	0,018 %
pWISE9123	456	0,021 %	0,007 %	0,000 %	0,000 %	0,007 %
pWISE9124	457	0,007 %	0,029 %	0,014 %	0,004 %	0,006 %
pWISE9125	458	0,000 %	0,003 %	0,000 %	0,000 %	0,005 %
pWISE9126	459	0,004 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %
pWISE9127	460	0,002 %	0,006 %	0,001 %	0,001 %	0,004 %
pWISE9128	461	0,016 %	0,000 %	0,000 %	0,005 %	0,013 %
pWISE9134	426	0,060 %	0,000 %	0,005 %	0,000 %	0,000 %
pWISE9135	427	0,023 %	0,005 %	0,008 %	0,003 %	0,005 %

Tabla 20. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.14	G.21	G.23	G.24	G.32
pWISE121	56	1,244 %	0,205 %	0,561 %	0,495 %	0,007 %
pWISE1921	428	0,059 %	0,016 %	0,032 %	0,033 %	0,138 %
pWISE1925	429	0,045 %	0,014 %	0,000 %	0,002 %	0,071 %
pWISE4332	430	0,010 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %	0,010 %
pWISE4339	431	0,021 %	0,006 %	0,003 %	0,000 %	0,079 %
pWISE6852	432	0,014 %	0,007 %	0,007 %	0,007 %	0,081 %
pWISE6853	433	0,021 %	0,000 %	0,004 %	0,000 %	0,063 %
pWISE9117	450	0,156 %	0,008 %	0,046 %	0,094 %	0,233 %
pWISE9118	451	0,064 %	0,036 %	0,021 %	0,014 %	0,090 %
pWISE9119	452	0,065 %	0,076 %	0,200 %	0,126 %	0,448 %
pWISE9120	453	1,264 %	0,301 %	0,146 %	0,146 %	0,117 %
pWISE9121	454	0,101 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %
pWISE9122	455	0,245 %	0,067 %	0,286 %	0,387 %	0,255 %
pWISE9123	456	0,392 %	0,144 %	1,231 %	1,052 %	0,413 %
pWISE9124	457	0,128 %	0,169 %	0,153 %	0,086 %	0,052 %
pWISE9125	458	0,470 %	0,024 %	0,013 %	0,054 %	0,346 %
pWISE9126	459	0,216 %	0,079 %	0,032 %	0,012 %	0,007 %
pWISE9127	460	0,005 %	0,023 %	0,027 %	0,021 %	0,027 %

pWISE9128	461	0,041 %	0,005 %	0,058 %	0,058 %	0,181 %
pWISE9134	426	0,005 %	0,005 %	0,005 %	0,005 %	0,109 %
pWISE9135	427	0,394 %	0,038 %	0,150 %	0,116 %	0,630 %

Tabla 21.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.-7	G.-6	G.2
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1921	428	0,003 %	0,007 %	0,007 %	0,000 %	0,000 %
pWISE1925	429	0,038 %	0,002 %	0,003 %	0,001 %	0,031 %
pWISE4332	430	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE4339	431	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE6852	432	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE6853	433	0,006 %	0,006 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %
pWISE9117	450	0,018 %	0,024 %	0,004 %	0,000 %	0,000 %
pWISE9118	451	0,029 %	0,055 %	0,001 %	0,000 %	0,002 %
pWISE9119	452	0,013 %	0,002 %	0,003 %	0,012 %	0,003 %
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9121	454	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9122	455	0,003 %	0,004 %	0,002 %	0,007 %	0,026 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9124	457	0,009 %	0,013 %	0,010 %	0,003 %	0,000 %
pWISE9125	458	0,000 %	0,005 %	0,000 %	0,000 %	0,007 %
pWISE9126	459	0,006 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %
pWISE9127	460	0,003 %	0,001 %	0,002 %	0,002 %	0,005 %
pWISE9128	461	0,005 %	0,000 %	0,000 %	0,007 %	0,009 %
pWISE9134	426	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9135	427	0,029 %	0,002 %	0,002 %	0,000 %	0,002 %

Tabla 21. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.14	G.21	G.23	G.24	G.32
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1921	428	0,061 %	0,023 %	0,034 %	0,046 %	0,002 %
pWISE1925	429	0,012 %	0,015 %	0,000 %	0,003 %	0,086 %
pWISE4332	430	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE4339	431	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE6852	432	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE6853	433	0,029 %	0,000 %	0,006 %	0,000 %	0,016 %
pWISE9117	450	0,076 %	0,012 %	0,041 %	0,069 %	0,046 %
pWISE9118	451	0,068 %	0,021 %	0,019 %	0,020 %	0,001 %
pWISE9119	452	0,024 %	0,014 %	0,137 %	0,052 %	0,058 %

pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9121	454	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9122	455	0,134 %	0,028 %	0,013 %	0,145 %	0,053 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9124	457	0,088 %	0,056 %	0,029 %	0,023 %	0,016 %
pWISE9125	458	0,072 %	0,021 %	0,019 %	0,036 %	0,141 %
pWISE9126	459	0,033 %	0,001 %	0,017 %	0,008 %	0,009 %
pWISE9127	460	0,002 %	0,031 %	0,002 %	0,017 %	0,035 %
pWISE9128	461	0,058 %	0,007 %	0,055 %	0,082 %	0,004 %
pWISE9134	426	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9135	427	0,085 %	0,005 %	0,062 %	0,068 %	0,181 %

Tabla 22.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.2	C.6	C.7	C.8	C.9
pWISE121	56	0,001 %	0,036 %	0,204 %	0,243 %	0,271 %	0,306 %
pWISE1921	428	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1925	429	0,004 %	4,734 %	16,811 %	16,945 %	17,111 %	17,252 %
pWISE4332	430	0,007 %	1,615 %	9,902 %	10,126 %	10,478 %	10,624 %
pWISE4339	431	0,021 %	1,945 %	12,224 %	12,230 %	12,411 %	12,516 %
pWISE6852	432	0,006 %	1,154 %	6,962 %	7,048 %	7,260 %	7,323 %
pWISE6853	433	0,006 %	1,719 %	12,179 %	12,324 %	12,571 %	12,862 %
pWISE9117	450	0,041 %	1,451 %	10,661 %	11,872 %	12,949 %	13,410 %
pWISE9118	451	0,004 %	1,054 %	1,660 %	2,057 %	3,233 %	4,731 %
pWISE9119	452	0,025 %	2,798 %	14,296 %	16,976 %	18,713 %	19,812 %
pWISE9120	453	0,046 %	0,381 %	0,494 %	0,702 %	0,894 %	1,114 %
pWISE9121	454	0,056 %	1,364 %	2,252 %	2,827 %	4,559 %	6,308 %
pWISE9122	455	0,016 %	2,888 %	4,090 %	5,096 %	7,686 %	9,968 %
pWISE9123	456	0,035 %	1,986 %	13,883 %	15,149 %	16,342 %	17,234 %
pWISE9124	457	0,049 %	1,177 %	3,785 %	4,339 %	6,071 %	7,191 %
pWISE9125	458	0,025 %	2,081 %	15,070 %	15,595 %	17,056 %	17,938 %
pWISE9126	459	0,000 %	0,532 %	0,662 %	0,713 %	1,069 %	1,196 %
pWISE9127	460	0,021 %	0,468 %	1,118 %	1,168 %	2,348 %	3,537 %
pWISE9128	461	0,008 %	2,151 %	7,752 %	8,531 %	11,355 %	14,796 %
pWISE9134	426	0,020 %	4,185 %	16,492 %	16,768 %	17,044 %	17,304 %
pWISE9135	427	0,061 %	2,445 %	15,598 %	16,287 %	17,347 %	18,365 %

Tabla 22. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.11	C.12	C.14	C.15	C.16	C.17
pWISE121	56	0,308 %	0,392 %	0,187 %	0,728 %	1,621 %	2,842 %
pWISE1921	428	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1925	429	17,241 %	17,406 %	8,709 %	9,728 %	9,726 %	9,821 %
pWISE4332	430	10,649 %	10,694 %	6,360 %	6,625 %	6,376 %	6,485 %

pWISE4339	431	12,478 %	12,483 %	8,800 %	9,120 %	8,912 %	8,841 %
pWISE6852	432	7,427 %	7,392 %	4,040 %	4,316 %	4,333 %	4,436 %
pWISE6853	433	12,750 %	12,862 %	8,214 %	8,590 %	8,483 %	8,209 %
pWISE9117	450	13,765 %	13,761 %	3,804 %	5,090 %	5,741 %	7,314 %
pWISE9118	451	9,524 %	9,034 %	0,662 %	1,272 %	1,622 %	1,975 %
pWISE9119	452	20,612 %	20,307 %	8,860 %	11,277 %	11,756 %	12,877 %
pWISE9120	453	1,990 %	1,966 %	0,322 %	0,637 %	0,731 %	0,770 %
pWISE9121	454	12,786 %	12,213 %	0,915 %	1,715 %	2,034 %	2,295 %
pWISE9122	455	16,937 %	17,006 %	6,783 %	9,797 %	10,570 %	11,929 %
pWISE9123	456	17,516 %	17,518 %	7,876 %	9,803 %	10,296 %	10,554 %
pWISE9124	457	8,179 %	8,052 %	2,610 %	4,134 %	4,586 %	5,049 %
pWISE9125	458	19,331 %	19,180 %	7,894 %	9,511 %	10,417 %	10,657 %
pWISE9126	459	1,681 %	1,681 %	0,317 %	0,662 %	0,724 %	0,738 %
pWISE9127	460	7,514 %	7,037 %	0,309 %	0,619 %	0,850 %	1,043 %
pWISE9128	461	15,344 %	15,376 %	5,060 %	5,483 %	5,811 %	6,444 %
pWISE9134	426	17,281 %	17,332 %	7,595 %	8,535 %	8,609 %	8,941 %
pWISE9135	427	19,656 %	19,504 %	6,609 %	8,847 %	10,648 %	10,740 %

Tabla 22. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana			
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.19	C.27	C.28	C.30
pWISE121	56	1,681 %	0,001 %	0,000 %	0,071 %
pWISE1921	428	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1925	429	3,939 %	0,014 %	0,035 %	0,002 %
pWISE4332	430	1,635 %	0,000 %	0,005 %	0,000 %
pWISE4339	431	2,099 %	0,000 %	0,000 %	0,004 %
pWISE6852	432	1,429 %	0,006 %	0,000 %	0,000 %
pWISE6853	433	2,441 %	0,011 %	0,011 %	0,006 %
pWISE9117	450	5,321 %	0,007 %	0,011 %	0,035 %
pWISE9118	451	0,982 %	0,021 %	0,025 %	0,004 %
pWISE9119	452	7,808 %	0,018 %	0,014 %	0,027 %
pWISE9120	453	0,854 %	0,056 %	0,049 %	0,009 %
pWISE9121	454	0,872 %	0,000 %	0,006 %	0,000 %
pWISE9122	455	7,986 %	0,036 %	0,020 %	0,003 %
pWISE9123	456	6,218 %	0,016 %	0,024 %	0,014 %
pWISE9124	457	2,675 %	0,008 %	0,016 %	0,013 %
pWISE9125	458	3,721 %	0,004 %	0,004 %	0,004 %

pWISE9126	459	0,680 %	0,000 %	0,000 %	0,008 %
pWISE9127	460	0,364 %	0,002 %	0,000 %	0,000 %
pWISE9128	461	2,416 %	0,020 %	0,016 %	0,008 %
pWISE9134	426	3,120 %	0,008 %	0,037 %	0,000 %
pWISE9135	427	5,677 %	0,006 %	0,030 %	0,000 %

Tabla 23.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.2	C.6	C.7	C.8	C.9
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1921	428	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1925	429	0,005 %	1,077 %	3,060 %	3,185 %	3,182 %	3,036 %
pWISE4332	430	0,010 %	0,200 %	0,307 %	0,105 %	0,257 %	0,225 %
pWISE4339	431	0,029 %	0,581 %	4,052 %	4,019 %	3,920 %	3,864 %
pWISE6852	432	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE6853	433	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9117	450	0,029 %	0,246 %	1,315 %	1,272 %	1,409 %	1,542 %
pWISE9118	451	0,005 %	0,194 %	0,494 %	0,625 %	0,699 %	1,102 %
pWISE9119	452	0,013 %	0,243 %	1,642 %	2,207 %	2,162 %	2,340 %
pWISE9120	453	0,054 %	0,307 %	0,113 %	0,177 %	0,316 %	0,252 %
pWISE9121	454	0,011 %	0,070 %	0,273 %	0,126 %	0,035 %	0,162 %
pWISE9122	455	0,013 %	0,775 %	0,777 %	0,927 %	1,415 %	2,114 %
pWISE9123	456	0,036 %	0,645 %	2,107 %	1,502 %	1,891 %	1,714 %
pWISE9124	457	0,070 %	1,665 %	5,302 %	6,098 %	8,522 %	10,106 %
pWISE9125	458	0,036 %	0,561 %	3,364 %	3,608 %	4,404 %	4,059 %
pWISE9126	459	0,000 %	0,691 %	0,703 %	0,631 %	0,790 %	0,624 %
pWISE9127	460	0,009 %	0,052 %	0,393 %	0,292 %	0,449 %	0,364 %
pWISE9128	461	0,012 %	0,231 %	0,437 %	0,512 %	0,324 %	0,267 %
pWISE9134	426	0,028 %	0,342 %	1,549 %	1,538 %	1,499 %	1,424 %
pWISE9135	427	0,052 %	0,195 %	1,083 %	1,180 %	1,258 %	1,027 %

Tabla 23. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.11	C.12	C.14	C.15	C.16	C.17
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1921	428	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1925	429	3,064 %	3,114 %	2,169 %	2,252 %	2,163 %	2,319 %
pWISE4332	430	0,101 %	0,125 %	0,758 %	0,973 %	0,448 %	0,629 %

pWISE4339	431	3,885 %	3,818 %	3,164 %	3,477 %	3,289 %	2,889 %
pWISE6852	432	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE6853	433	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9117	450	1,797 %	1,705 %	0,779 %	0,954 %	0,996 %	1,255 %
pWISE9118	451	0,978 %	0,885 %	0,004 %	0,032 %	0,094 %	0,472 %
pWISE9119	452	2,413 %	2,310 %	1,219 %	1,622 %	1,354 %	1,236 %
pWISE9120	453	0,354 %	0,320 %	0,135 %	0,184 %	0,162 %	0,150 %
pWISE9121	454	1,081 %	0,999 %	0,159 %	0,115 %	0,159 %	0,082 %
pWISE9122	455	4,434 %	4,445 %	1,720 %	2,239 %	2,319 %	2,600 %
pWISE9123	456	1,446 %	1,443 %	0,636 %	0,994 %	1,467 %	1,832 %
pWISE9124	457	11,490 %	11,311 %	3,692 %	5,847 %	6,473 %	7,128 %
pWISE9125	458	3,820 %	4,046 %	2,077 %	2,700 %	2,260 %	1,981 %
pWISE9126	459	0,953 %	0,953 %	0,346 %	0,703 %	0,628 %	0,596 %
pWISE9127	460	0,632 %	0,340 %	0,036 %	0,112 %	0,090 %	0,153 %
pWISE9128	461	0,374 %	0,502 %	0,323 %	0,143 %	0,061 %	0,488 %
pWISE9134	426	1,352 %	1,384 %	0,284 %	0,366 %	0,309 %	0,484 %
pWISE9135	427	1,182 %	1,295 %	1,011 %	1,241 %	1,609 %	1,257 %

Tabla 23. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana			
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.19	C.27	C.28	C.30
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1921	428	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1925	429	0,804 %	0,013 %	0,017 %	0,003 %
pWISE4332	430	0,013 %	0,000 %	0,007 %	0,000 %
pWISE4339	431	0,863 %	0,000 %	0,000 %	0,005 %
pWISE6852	432	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE6853	433	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9117	450	1,020 %	0,010 %	0,004 %	0,000 %
pWISE9118	451	0,182 %	0,030 %	0,025 %	0,005 %
pWISE9119	452	1,433 %	0,025 %	0,000 %	0,020 %
pWISE9120	453	0,082 %	0,057 %	0,059 %	0,013 %
pWISE9121	454	0,001 %	0,000 %	0,001 %	0,000 %
pWISE9122	455	1,751 %	0,051 %	0,008 %	0,005 %
pWISE9123	456	0,496 %	0,016 %	0,035 %	0,019 %
pWISE9124	457	3,783 %	0,011 %	0,022 %	0,018 %
pWISE9125	458	0,356 %	0,006 %	0,006 %	0,006 %
pWISE9126	459	0,677 %	0,000 %	0,000 %	0,001 %
pWISE9127	460	0,095 %	0,003 %	0,000 %	0,000 %
pWISE9128	461	0,095 %	0,020 %	0,014 %	0,012 %
pWISE9134	426	0,096 %	0,002 %	0,052 %	0,000 %
pWISE9135	427	0,803 %	0,000 %	0,017 %	0,000 %

Tabla 24.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.4	G.21	G.23
pWISE121	56	0,007 %	0,001 %	0,006 %	0,258 %	0,927 %
pWISE1921	428	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1925	429	0,027 %	0,025 %	0,149 %	0,019 %	0,099 %
pWISE4332	430	0,000 %	0,052 %	0,168 %	0,002 %	0,036 %
pWISE4339	431	0,000 %	0,000 %	0,080 %	0,034 %	0,069 %
pWISE6852	432	0,006 %	0,000 %	0,121 %	0,011 %	0,000 %
pWISE6853	433	0,067 %	0,045 %	0,101 %	0,028 %	0,000 %
pWISE9117	450	0,026 %	0,044 %	0,046 %	0,052 %	0,058 %
pWISE9118	451	0,016 %	0,000 %	0,128 %	0,040 %	0,109 %
pWISE9119	452	0,002 %	0,010 %	0,006 %	0,018 %	0,435 %
pWISE9120	453	0,008 %	0,004 %	0,077 %	0,762 %	0,688 %
pWISE9121	454	0,050 %	0,071 %	0,081 %	0,034 %	0,180 %
pWISE9122	455	0,003 %	0,006 %	0,035 %	0,077 %	0,509 %
pWISE9123	456	0,019 %	0,000 %	0,019 %	0,014 %	0,100 %
pWISE9124	457	0,021 %	0,010 %	0,010 %	0,153 %	0,355 %
pWISE9125	458	0,029 %	0,000 %	0,029 %	0,008 %	0,034 %
pWISE9126	459	0,000 %	0,000 %	0,022 %	0,079 %	0,050 %
pWISE9127	460	0,008 %	0,008 %	0,004 %	0,004 %	0,093 %
pWISE9128	461	0,006 %	0,003 %	0,008 %	0,030 %	0,046 %
pWISE9134	426	0,026 %	0,026 %	0,028 %	0,047 %	0,086 %
pWISE9135	427	0,000 %	0,000 %	0,015 %	0,036 %	0,152 %

Tabla 24. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico diana opuesta			
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.24	G.25	G.26	G.33
pWISE121	56	0,187 %	0,090 %	0,071 %	0,073 %
pWISE1921	428	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1925	429	0,064 %	0,023 %	0,023 %	0,262 %
pWISE4332	430	0,009 %	0,000 %	0,002 %	0,085 %
pWISE4339	431	0,089 %	0,004 %	0,000 %	0,146 %
pWISE6852	432	0,000 %	0,006 %	0,006 %	0,034 %
pWISE6853	433	0,022 %	0,000 %	0,006 %	0,050 %
pWISE9117	450	0,021 %	0,024 %	0,024 %	0,387 %
pWISE9118	451	0,049 %	0,033 %	0,015 %	0,029 %
pWISE9119	452	0,322 %	0,216 %	0,180 %	0,639 %
pWISE9120	453	0,449 %	0,319 %	0,240 %	0,083 %
pWISE9121	454	0,228 %	0,009 %	0,014 %	0,069 %
pWISE9122	455	0,478 %	0,231 %	0,151 %	0,398 %
pWISE9123	456	0,106 %	0,129 %	0,105 %	0,529 %
pWISE9124	457	0,326 %	0,186 %	0,127 %	0,196 %
pWISE9125	458	0,055 %	0,017 %	0,013 %	0,503 %
pWISE9126	459	0,032 %	0,007 %	0,012 %	0,004 %

pWISE9127	460	0,091 %	0,067 %	0,062 %	0,140 %
pWISE9128	461	0,041 %	0,004 %	0,015 %	0,170 %
pWISE9134	426	0,089 %	0,027 %	0,042 %	0,116 %
pWISE9135	427	0,155 %	0,143 %	0,121 %	0,440 %

Tabla 25.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.4	G.21	G.23
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1921	428	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1925	429	0,026 %	0,029 %	0,048 %	0,027 %	0,011 %
pWISE4332	430	0,000 %	0,074 %	0,131 %	0,003 %	0,050 %
pWISE4339	431	0,000 %	0,000 %	0,103 %	0,048 %	0,086 %
pWISE6852	432	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE6853	433	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9117	450	0,037 %	0,062 %	0,046 %	0,074 %	0,042 %
pWISE9118	451	0,002 %	0,000 %	0,036 %	0,057 %	0,032 %
pWISE9119	452	0,002 %	0,005 %	0,002 %	0,016 %	0,095 %
pWISE9120	453	0,011 %	0,006 %	0,057 %	0,104 %	0,042 %
pWISE9121	454	0,042 %	0,071 %	0,008 %	0,009 %	0,022 %
pWISE9122	455	0,004 %	0,001 %	0,030 %	0,022 %	0,150 %
pWISE9123	456	0,020 %	0,000 %	0,020 %	0,019 %	0,135 %
pWISE9124	457	0,029 %	0,015 %	0,001 %	0,216 %	0,464 %
pWISE9125	458	0,042 %	0,000 %	0,030 %	0,012 %	0,048 %
pWISE9126	459	0,000 %	0,000 %	0,031 %	0,112 %	0,071 %
pWISE9127	460	0,001 %	0,001 %	0,005 %	0,006 %	0,036 %
pWISE9128	461	0,009 %	0,004 %	0,012 %	0,042 %	0,030 %
pWISE9134	426	0,017 %	0,017 %	0,001 %	0,000 %	0,026 %
pWISE9135	427	0,000 %	0,000 %	0,022 %	0,026 %	0,111 %

Tabla 25. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico diana opuesta			
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.24	G.25	G.26	G.33
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1921	428	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE1925	429	0,060 %	0,032 %	0,032 %	0,050 %
pWISE4332	430	0,013 %	0,000 %	0,003 %	0,106 %
pWISE4339	431	0,035 %	0,005 %	0,000 %	0,152 %
pWISE6852	432	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE6853	433	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9117	450	0,029 %	0,034 %	0,034 %	0,052 %
pWISE9118	451	0,003 %	0,016 %	0,021 %	0,041 %
pWISE9119	452	0,018 %	0,045 %	0,067 %	0,001 %
pWISE9120	453	0,105 %	0,144 %	0,091 %	0,049 %
pWISE9121	454	0,002 %	0,012 %	0,020 %	0,057 %
pWISE9122	455	0,049 %	0,030 %	0,076 %	0,032 %
pWISE9123	456	0,150 %	0,021 %	0,056 %	0,149 %
pWISE9124	457	0,461 %	0,263 %	0,179 %	0,264 %
pWISE9125	458	0,077 %	0,012 %	0,006 %	0,094 %
pWISE9126	459	0,046 %	0,010 %	0,004 %	0,005 %
pWISE9127	460	0,040 %	0,063 %	0,018 %	0,030 %
pWISE9128	461	0,011 %	0,006 %	0,003 %	0,059 %
pWISE9134	426	0,022 %	0,029 %	0,021 %	0,044 %
pWISE9135	427	0,081 %	0,116 %	0,077 %	0,029 %

Ejemplo 5:

Se probaron permutantes circulares de EnAsCas12a de acuerdo con algunas formas de realización de la presente invención. Se utilizó un enlazador de glicina–serina para conectar los extremos N– y C–terminal nativos de EnAsCas12a (**SEQ ID NO: 298**). El enlazador de glicina–serina tenía 10 aminoácidos y una secuencia de (GSS)_nG (**SEQ ID NO: 36**), donde n es 3, o 16 aminoácidos, y una secuencia de (GSS)_nG (**SEQ ID NO: 36**), donde n es 5. Los permutantes circulares y el control se enumeran en la **Tabla 26**, y las dianas se proporcionan en la **Tabla 27**.

Tabla 26. Construcciones EnAsCas12a evaluadas.

pWISE	Vector SEQ ID NO:	ADN SEQ ID NO:	Descripción	Proteína SEQ ID NO:
pWISE121	285	949	EnAsCas12a nucleasa (control)	298
pWISE8345	286	327	CP13_AsCas12a	299
pWISE8346	287	328	CP14_AsCas12a	300

pWISE8347	288	329	CP15_AsCas12a	301
pWISE8348	289	330	CP16_AsCas12a	302
pWISE8349	290	331	CP17_AsCas12a	303
pWISE8350	291	332	CP18_AsCas12a	304
pWISE8351	292	333	CP19_AsCas12a	305
pWISE8352	293	334	CP20_AsCas12a	306
pWISE8353	294	335	CP21_AsCas12a	307
pWISE8354	295	336	CP22_AsCas12a	308
pWISE8355	296	337	CP23_AsCas12a	309
pWISE8356	297	338	CP24_AsCas12a	310

Tabla 27. Dianas.

Ácido nucleico diana	Diana SEQ ID NO:	Espaciador	Espaciador SEQ ID NO:	pWISE	Vector SEQ ID NO:
DNMT1 humano	272	PWsp1956	804	pWISE5986	814
FANCF humano	273	PWsp1959	805	pWISE5989	815
RNF2 humano	274	PWsp1960	806	pWISE5990	816

Los permutantes circulares y el control se probaron para determinar su capacidad de generar INDELES en tres sitios diferentes a través de dos ácidos nucleicos diana/objetivo (**SEQ ID NOs: 273–274**) en células HEK293T utilizando tres espaciadores (**SEQ ID NOs: 804–806**). Se probaron tres réplicas biológicas y dos réplicas técnicas. Las células HEK293T se sembraron en placas recubiertas con colágeno de 48 pocillos (Corning) en ausencia de un antibiótico utilizando un medio DMEM. Con una confluencia del 70–80 %, las células se transfectaron con 1,5 µL de LTX (ThermoFisher Scientific) utilizando 500 ng del plásmido de control o permutante circular y 500 ng de plásmido de ARN guía de acuerdo con el protocolo del fabricante. Después de 3 días, las células se lisaron con un método de extracción de bruto utilizando tampón TritonX. Cada control o permutante circular se puntuó en función del porcentaje de colocación de indel en los genes FANCF y RNF2 utilizando los ARN guía. Los resultados se muestran en la **FIG. 12**. Como se ve en la **FIG. 12**, varios permutantes circulares EnAsCas12a funcionaron bien para lograr altos porcentajes de INDEL.

Ejemplo 6:

Se probaron permutantes circulares de acuerdo con algunas formas de realización en soja mediante la optimización del uso de codones, la secuencia promotora, la secuencia terminadora y las secuencias de localización nuclear para la expresión en soja. Los permutantes circulares y el control se enumeran en la **Tabla 28**, y las dianas se enumeran en la **Tabla 29**.

Tabla 28. Construcciones evaluadas en soja.

pWISE	Vector SEQ ID NO:	ADN SEQ ID NO:	Descripción de construcción optimizada de soja	Proteína SEQ ID NO:
pWISE3380	734	246	LbCas12a (control)	56
pWISE9517	728	248	CP02–LbCas12a	235
pWISE9519	729	250	CP04–LbCas12a	237
pWISE9521	730	252	CP06–LbCas12a	239
pWISE9523	731	254	CP08–LbCas12a	241
pWISE9525	732	256	CP10–LbCas12a	243
pWISE9529	733	258	CP12–LbCas12a	245

Tabla 29. Dianas.

Ácido nucleico diana	Diana SEQ ID NO:	Espaciador	Espaciador SEQ ID NO:
AHK4 soja Locus 906	840	PWsp1243	807
AHK4 soja Locus 215	841	PWsp2567	808

Los permutantes circulares y el control se probaron para determinar su capacidad de generar INDELES en dos sitios en el gen AHK4 (SEQ ID NOs: 840–841) en plantas de soja utilizando dos espaciadores (SEQ ID NOs: 807–808). Se recuperaron 30 a 40 plantas de soja para cada combinación de locus y permutante circular. Cada control o permutante circular se puntuó en función del porcentaje de colocación de indel en el gen AHK4 utilizando los ARN guía. Los resultados se proporcionan en la **FIG. 13**. Como se ve en la **FIG. 13**, varios permutantes circulares que se optimizaron para la soja rápida alcanzaron altos porcentajes de INDEL y algunos tuvieron una actividad comparable con la de LbCas12a o mejor, en la soja rápida.

Ejemplo 7:

Se probaron permutantes circulares de LbCas12a adicionales a los descritos en el Ejemplo 1. Los permutantes circulares y control (LbCas12a; SEQ ID NO: 56) se enumeran en la **Tabla 30**.

Tabla 30. Construcciones evaluadas.

pWISE	Vector SEQ ID NO:	ADN SEQ ID NO:	Proteína SEQ ID NO:
pWISE121	259	246	56

pWISE8346	261	248	235
pWISE10270	585	561	537
pWISE10271	586	562	538
pWISE10272	587	563	539
pWISE10273	588	564	540
pWISE8348	263	250	237
pWISE10274	589	565	541
pWISE10275	590	566	542
pWISE10276	591	567	543
pWISE10277	592	568	544
pWISE8350	265	252	239
pWISE10278	593	569	545
pWISE10279	594	570	546
pWISE10280	595	571	547
pWISE10281	596	572	548
pWISE8351	266	253	240
pWISE10282	597	573	549
pWISE10283	598	574	550
pWISE10284	599	575	551
pWISE10285	600	576	552
pWISE8354	269	256	243
pWISE10286	601	577	553
pWISE10287	602	578	554
pWISE10288	603	579	555
pWISE10289	604	580	556
pWISE8356	271	258	245
pWISE10290	605	581	557
pWISE10291	606	582	558
pWISE10292	607	583	559
pWISE10293	608	584	560

Se evaluaron los permutantes circulares y el control para determinar su capacidad de generar INDELES en los genes DNMT1, FANCF y RNF2 (**SEQ ID NOs: 272–274**) en células HEK293T utilizando espaciadores de acuerdo con **SEQ ID NOs: 275–277**. Se probaron dos réplicas técnicas. Las células HEK293T se sembraron en placas recubiertas de colágeno de 48 pocillos (Corning) en ausencia de antibiótico utilizando medio DMEM. Al 70–80 % de confluencia, las células se transfectaron con 1,5 μ L de LTX (ThermoFisher Scientific) utilizando 500 ng del control o plásmido permutante circular y 500 ng del plásmido de ARN guía de acuerdo con el protocolo del fabricante. Después de 3 días, las células se lisaron con un método de extracción de bruto utilizando tampón TritonX. Cada control o permutante circular se puntuó en función de la edición precisa de pares de bases y el porcentaje de colocación de indel en los genes DNMT1, FANCF y RNF2 utilizando los ARN guía. Los

resultados se proporcionan en las **FIGS. 14–19** y demuestran que cada uno de los permutantes circulares tuvo una actividad INDEL medible.

Ejemplo 8:

Se probaron en soja las variantes de sustitución de arginina de los permutantes circulares optimizados para soja descritos en el Ejemplo 6. Las mutaciones de arginina fueron análogas a una mutación D156R en LbCas12a. Estos permutantes circulares y el control se enumeran en la **Tabla 31**. Las mutaciones de arginina se numeran de acuerdo con la secuencia de proteína enumerada en la cuarta columna de la **Tabla 31**.

Tabla 31. Construcciones evaluadas.

pWISE	Vector SEQ ID NO:	ADN SEQ ID NO:	Descripción de construcción optimizada de soja	Proteína SEQ ID NO:
pWISE9528	755	748	LbCas12a+ D156R (control)	741
pWISE9516	749	742	CP02+D71R	735
pWISE9518	750	743	CP04+D1107R	736
pWISE9520	751	744	CP06+D243R	737
pWISE9522	752	745	CP08+D882R	738
pWISE9524	753	746	CP10+D957R	739
pWISE9526	754	747	CP12+D282R	740

Los permutantes circulares y el control se probaron para determinar su capacidad de generar INDELES en dos sitios en el gen AHK4 (SEQ ID NOs: 840–841) en plantas de soja rápida utilizando un espaciador (SEQ ID NO: 807). Se transformaron 30–40 plantas de soja para cada combinación de locus y permutante circular optimizado para soja variante. Cada control o permutante circular se puntuó en función del porcentaje de colocación de indel en el gen AHK4 utilizando los ARN guía. Los resultados se proporcionan en las **FIGS. 20 y 21**, y la **FIG. 21** proporciona una comparación con las construcciones descritas en el Ejemplo 6. Como se ve en las **FIGS. 20 y 21**, varios de los permutantes circulares alcanzaron altos porcentajes de INDEL, y algunos tuvieron una actividad comparable o mejor que LbCas12a y LbCas12a+D156R en soja rápida. En la mayoría de los permutantes circulares, la mutación tuvo un efecto similar al observado para LbCas12a D156R en relación con LbCas12a de tipo salvaje.

Ejemplo 9:

Se probaron en soja los permutantes circulares de una nucleasa diseñada optimizada para soja. Estos permutantes circulares (**SEQ ID NOs: 390 y 757–760**) y controles (**SEQ ID NOs: 56 y 761**) se enumeran en la **Tabla 32**.

Tabla 32. Construcciones evaluadas.

pWISE	Vector SEQ ID NO:	ADN SEQ ID NO:	Proteína SEQ ID NO:
pWISE3380	734	246	56
pWISE6345	773	767	761
pWISE10428	768	402	390
pWISE10429	769	763	757
pWISE10430	770	764	758
pWISE10431	771	765	759
pWISE10432	772	766	760

Los permutantes circulares y controles se probaron para determinar su capacidad de generar INDELES en dos sitios en el gen AHK4 (**SEQ ID NOs: 840–841**) en plantas de soja rápidas utilizando un espaciador (**SEQ ID NO: 807**). Se transformaron 30–40 plantas de soja para cada combinación de locus y permutante circular optimizado para soja variante. Cada control o permutante circular se puntuó en función del porcentaje de colocación de indel en el gen AHK4 utilizando los ARN guía. Los resultados se proporcionan en la **FIG. 22**. Varios del permutante circulares lograron altos porcentajes promedio de INDEL similares a LbCas12a (**SEQ ID NO: 56**) y superaron a la nucleasa diseñada optimizada para soja (**SEQ ID NO: 761**).

Ejemplo 10:

Se probaron permutantes circulares de una LbCas12a enzimáticamente inactiva (dLbCas12a (**SEQ ID NO: 59**)) para la edición de bases de citosina fusionando una UGI al extremo C-terminal del permutante circular, y una citosina desaminasa, al extremo N-terminal del permutante circular con un enlazador entre el permutante circular y citosina desaminasa a fin de proporcionar una proteína de fusión. Los enlazadores probados entre el permutante circular y citosina desaminasa incluyeron un enlazador GS–XTEN–GS (**SEQ ID NO: 30**); un enlazador XTEN (**SEQ ID NO: 29**); un enlazador de (SGS)_n de glicina serina de seis aminoácidos (6X–GS) donde n es 2 (**SEQ ID NO: 869**); un enlazador de ocho aminoácidos de glicina–serina (8X–GS) de (SGGS)_n donde n es 2 (**SEQ ID NO: 870**); y un enlazador de (SGGS)_n de glicina–serina de doce aminoácidos (12X–GS) donde n es 3 (**SEQ ID NO: 870**).

Las proteínas de fusión (**SEQ ID NO: 456 y 624–628**) y control (**SEQ ID NO: 56**) se enumeran en la **Tabla 33** y las dianas se proporcionan en la **Tabla 34**.

Tabla 33. Construcciones evaluadas.

pWISE	Vector SEQ ID NO:	ADN SEQ ID NO:	Proteína SEQ ID NO:
pWISE121	259	246	56
pWISE9123	480	468	456
pWISE10643	686	655	624
pWISE10644	687	656	625
pWISE10645	688	657	626
pWISE10646	689	658	627
pWISE10647	690	659	628

Tabla 34. Dianas.

Ácido nucleico diana	Diana SEQ ID NO:	Espaciador	Espaciador SEQ ID NO:	pWISE	Vector SEQ ID NO:
FANCF humano	273	PWsp132	799	pWISE878	809
FANCF humano	273	PWsp449	276	pWISE878	279
AAVS1 humano	863	PWsp390	802	pWISE5986	812
RUNX1 humano	864	PWsp135	800	pWISE5989	810

Las proteínas de fusión y el control se probaron para determinar su capacidad de realizar la edición de bases en cinco sitios diferentes en tres ácidos nucleicos objetivo (**SEQ ID NOs: 273, 863 y 864**) en células HEK293T utilizando cuatro espaciadores (**SEQ ID NOs: 276, 799, 800 y 802**). Se probaron una única réplica biológica y dos réplicas técnicas. Las células HEK293T se sembraron en placas recubiertas con colágeno de 48 pocillos (Corning) en ausencia de antibiótico utilizando un medio DMEM. Con una confluencia del 70–80 %, las células se transfectaron con 1,5 µL de LTX (ThermoFisher Scientific) utilizando 500 ng del plásmido de proteína de fusión o control y 500 ng de plásmido de ARN guía de acuerdo con el protocolo del fabricante. Después de 3 días, las células se lisaron con un método de extracción de bruto utilizando el tampón TritonX. Cada proteína de fusión o control se puntuó en función de la edición precisa de pares de bases en los genes FANCF, RUNX1 y AAVS1 utilizando los ARN guía (**SEQ ID NOs: 276 y 799–802**). Se observaron niveles bajos de fondo de formación de INDEL en las proteínas de fusión, lo que se esperaba al utilizar una LbCas12a muerta. Los resultados se proporcionan en las **Tablas 35–54**. Los valores en las **Tablas 35–54** que están por debajo del 0,1 % se consideran ruido del instrumento (por debajo del límite de detección) y no

son indicativos de edición. Los valores que están entre el 0,1 % y el 0,5 % indican que hay edición presente en el experimento en la ubicación especificada, pero el ensayo no es lo suficientemente sensible como para cuantificar con precisión la cantidad de edición de bases. Como se observa en las **Tablas 35–54**, las proteínas de fusión proporcionaron una edición eficiente de C a T en una amplia ventana de edición, y el cambio de la longitud y/o el tipo del enlazador entre la citosina desaminasa y el permutante circular no modificó significativamente la ventana de edición ni la eficiencia en las posiciones que se demostró que estaban altamente editadas con el control. Además, se encontró que las proteínas de fusión que contenían enlazadores más cortos habían mejorado la edición de C a T hacia el extremo 3' del espaciador (p. ej., aproximadamente en los últimos 5–7 nucleótidos de la secuencia del espaciador).

Tabla 35.

pWISE	Proteína SEQ ID NO:	Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico no diana						
		C.-7	C.-6	C.-4	C.-1	C.2	C.3	C.11
pWISE121	56	0,039 %	0,052 %	0,028 %	0,043 %	0,097 %	0,093 %	0,277 %
pWISE9123	456	0,163 %	0,095 %	0,022 %	0,623 %	0,011 %	0,067 %	18,926 %
pWISE10643	624	0,266 %	0,148 %	0,019 %	0,843 %	0,062 %	0,085 %	29,592 %
pWISE10644	625	0,253 %	0,101 %	0,019 %	0,627 %	0,032 %	0,095 %	27,603 %
pWISE10645	626	0,131 %	0,080 %	0,004 %	0,611 %	0,044 %	0,032 %	19,961 %
pWISE10646	627	0,195 %	0,083 %	0,042 %	0,727 %	0,074 %	0,162 %	28,278 %
pWISE10647	628	0,095 %	0,075 %	0,024 %	0,517 %	0,071 %	0,077 %	19,680 %

Tabla 35. (cont.)

pWISE	Proteína SEQ ID NO:	Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico no diana					
		C.14	C.17	C.19	C.21	C.24	C.28
pWISE121	56	1,076 %	0,870 %	0,687 %	0,477 %	0,153 %	0,176 %
pWISE9123	456	17,483 %	2,140 %	14,776 %	10,536 %	0,067 %	0,067 %
pWISE10643	624	28,137 %	3,954 %	23,827 %	16,232 %	0,039 %	0,000 %
pWISE10644	625	26,456 %	4,167 %	23,170 %	16,952 %	0,025 %	0,019 %
pWISE10645	626	19,542 %	3,876 %	18,300 %	13,597 %	0,135 %	0,021 %

pWISE10646	627	28,197 %	5,506 %	26,825 %	20,603 %	0,193 %	0,135 %
pWISE10647	628	19,619 %	4,468 %	19,085 %	15,061 %	0,306 %	0,224 %

Tabla 36.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico no diana						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-7	C.-6	C.-4	C.-1	C.2	C.3	C.11
pWISE121	56	0,050 %	0,025 %	0,009 %	0,006 %	0,082 %	0,003 %	0,090 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10643	624	0,007 %	0,104 %	0,016 %	0,096 %	0,034 %	0,046 %	0,346 %
pWISE10644	625	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10645	626	0,052 %	0,041 %	0,006 %	0,096 %	0,027 %	0,009 %	2,321 %
pWISE10646	627	0,088 %	0,019 %	0,009 %	0,062 %	0,065 %	0,101 %	4,114 %
pWISE10647	628	0,044 %	0,073 %	0,023 %	0,231 %	0,005 %	0,038 %	12,047 %

Tabla 36. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.14	C.17	C.19	C.21	C.24	C.28
pWISE121	56	0,130 %	0,481 %	0,258 %	0,094 %	0,003 %	0,121 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10643	624	0,455 %	0,450 %	0,190 %	0,857 %	0,023 %	0,000 %
pWISE10644	625	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10645	626	2,262 %	0,363 %	2,534 %	1,382 %	0,131 %	0,012 %
pWISE10646	627	3,968 %	0,479 %	3,774 %	2,106 %	0,102 %	0,145 %
pWISE10647	628	12,044 %	2,759 %	11,764 %	9,300 %	0,270 %	0,219 %

Tabla 37.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-5	G.6	G.7	G.9	G.12
pWISE121	56	0,053 %	0,094 %	0,091 %	0,210 %	0,189 %
pWISE9123	456	0,011 %	0,000 %	0,011 %	0,275 %	0,326 %
pWISE10643	624	0,019 %	0,007 %	0,062 %	0,161 %	0,092 %
pWISE10644	625	0,019 %	0,025 %	0,038 %	0,184 %	0,101 %

pWISE10645	626	0,013 %	0,021 %	0,039 %	0,147 %	0,122 %
pWISE10646	627	0,008 %	0,027 %	0,058 %	0,257 %	0,134 %
pWISE10647	628	0,009 %	0,029 %	0,058 %	0,307 %	0,475 %

Tabla 37. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.13	G.15	G.23	G.25	G.30
pWISE121	56	0,282 %	0,462 %	0,899 %	0,299 %	0,113 %
pWISE9123	456	0,337 %	0,854 %	1,179 %	1,196 %	4,150 %
pWISE10643	624	0,043 %	0,704 %	1,113 %	2,039 %	7,594 %
pWISE10644	625	0,044 %	0,709 %	1,089 %	2,242 %	7,181 %
pWISE10645	626	0,096 %	0,727 %	1,246 %	2,223 %	4,849 %
pWISE10646	627	0,110 %	1,106 %	1,910 %	3,507 %	7,690 %
pWISE10647	628	0,464 %	1,130 %	1,526 %	2,811 %	5,804 %

Tabla 38.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-5	G.6	G.7	G.9	G.12
pWISE121	56	0,075 %	0,078 %	0,074 %	0,102 %	0,026 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10643	624	0,016 %	0,001 %	0,034 %	0,069 %	0,078 %
pWISE10644	625	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10645	626	0,018 %	0,012 %	0,008 %	0,006 %	0,065 %
pWISE10646	627	0,001 %	0,008 %	0,036 %	0,001 %	0,008 %
pWISE10647	628	0,012 %	0,017 %	0,001 %	0,173 %	0,305 %

Tabla 38. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.13	G.15	G.23	G.25	G.30
pWISE121	56	0,052 %	0,055 %	0,291 %	0,014 %	0,077 %
pWISE9123	456	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10643	624	0,018 %	0,266 %	0,105 %	0,475 %	0,545 %
pWISE10644	625	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10645	626	0,001 %	0,133 %	0,249 %	0,611 %	1,151 %
pWISE10646	627	0,031 %	0,025 %	0,216 %	0,364 %	0,954 %
pWISE10647	628	0,273 %	0,187 %	0,647 %	1,725 %	3,185 %

Tabla 39.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.-1	C.2	C.10	C.11	C.15
pWISE121	56	0,095 %	0,158 %	0,123 %	0,401 %	0,431 %	2,083 %
pWISE9123	456	1,400 %	1,976 %	0,215 %	32,361 %	31,901 %	31,984 %
pWISE10643	624	1,672 %	2,237 %	0,297 %	38,859 %	38,221 %	38,715 %
pWISE10644	625	1,296 %	1,994 %	0,326 %	35,125 %	34,600 %	34,817 %
pWISE10645	626	1,343 %	2,371 %	0,369 %	38,229 %	37,569 %	38,221 %
pWISE10646	627	1,075 %	2,088 %	0,349 %	35,195 %	34,944 %	35,296 %
pWISE10647	628	1,198 %	2,470 %	0,348 %	41,096 %	40,766 %	41,317 %

Tabla 39. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.20	C.22	C.30	C.32	C.33
pWISE121	56	0,505 %	1,066 %	1,515 %	1,047 %	1,095 %
pWISE9123	456	4,524 %	1,672 %	0,216 %	0,064 %	0,047 %
pWISE10643	624	6,493 %	2,701 %	0,361 %	0,048 %	0,050 %
pWISE10644	625	5,222 %	1,890 %	0,306 %	0,057 %	0,080 %
pWISE10645	626	7,171 %	3,732 %	0,543 %	0,068 %	0,098 %
pWISE10646	627	6,277 %	3,662 %	0,500 %	0,056 %	0,091 %
pWISE10647	628	7,456 %	4,823 %	0,794 %	0,162 %	0,207 %

Tabla 40.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.-1	C.2	C.10	C.11	C.15
pWISE121	56	0,067 %	0,050 %	0,037 %	0,011 %	0,017 %	0,001 %
pWISE9123	456	0,029 %	0,157 %	0,013 %	1,234 %	1,451 %	1,429 %
pWISE10643	624	0,156 %	0,078 %	0,033 %	2,566 %	2,362 %	2,577 %
pWISE10644	625	0,049 %	0,195 %	0,012 %	1,883 %	1,646 %	1,715 %
pWISE10645	626	0,069 %	0,248 %	0,058 %	0,739 %	0,543 %	0,412 %
pWISE10646	627	0,177 %	0,166 %	0,033 %	2,131 %	2,060 %	2,098 %
pWISE10647	628	0,180 %	0,218 %	0,105 %	1,145 %	1,220 %	1,075 %

Tabla 40. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.20	C.22	C.30	C.32	C.33
pWISE121	56	0,035 %	0,223 %	0,938 %	0,690 %	0,714 %

pWISE9123	456	0,318 %	0,139 %	0,010 %	0,002 %	0,042 %
pWISE10643	624	0,431 %	0,270 %	0,225 %	0,052 %	0,048 %
pWISE10644	625	0,231 %	0,136 %	0,131 %	0,014 %	0,013 %
pWISE10645	626	0,081 %	0,220 %	0,266 %	0,028 %	0,000 %
pWISE10646	627	0,309 %	0,016 %	0,048 %	0,010 %	0,022 %
pWISE10647	628	0,012 %	0,339 %	0,033 %	0,014 %	0,022 %

Tabla 41.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.1	G.3	G.4	G.7	G.17
pWISE121	56	0,048 %	0,105 %	0,144 %	0,133 %	0,178 %	0,670 %
pWISE9123	456	0,068 %	0,021 %	0,036 %	0,064 %	0,019 %	0,682 %
pWISE10643	624	0,016 %	0,016 %	0,022 %	0,034 %	0,005 %	1,130 %
pWISE10644	625	0,026 %	0,034 %	0,033 %	0,049 %	0,010 %	0,921 %
pWISE10645	626	0,010 %	0,008 %	0,020 %	0,031 %	0,015 %	1,235 %
pWISE10646	627	0,035 %	0,035 %	0,047 %	0,042 %	0,026 %	1,278 %
pWISE10647	628	0,011 %	0,032 %	0,046 %	0,066 %	0,038 %	1,642 %

Tabla 41. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.21	G.24	G.26	G.28	G.31
pWISE121	56	0,425 %	0,732 %	0,656 %	0,146 %	0,194 %
pWISE9123	456	1,387 %	7,126 %	6,427 %	0,711 %	1,559 %
pWISE10643	624	2,098 %	10,400 %	9,246 %	1,087 %	2,132 %
pWISE10644	625	2,210 %	9,591 %	8,436 %	1,185 %	2,234 %
pWISE10645	626	2,959 %	13,013 %	11,749 %	2,111 %	3,075 %
pWISE10646	627	2,993 %	11,783 %	10,963 %	1,986 %	2,821 %
pWISE10647	628	4,148 %	15,842 %	14,591 %	3,042 %	4,037 %

Tabla 42.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.1	G.3	G.4	G.7	G.17
pWISE121	56	0,024 %	0,042 %	0,018 %	0,021 %	0,018 %	0,152 %
pWISE9123	456	0,043 %	0,017 %	0,027 %	0,028 %	0,020 %	0,137 %
pWISE10643	624	0,007 %	0,015 %	0,008 %	0,033 %	0,008 %	0,088 %
pWISE10644	625	0,037 %	0,026 %	0,017 %	0,004 %	0,008 %	0,045 %
pWISE10645	626	0,015 %	0,002 %	0,021 %	0,016 %	0,021 %	0,251 %

pWISE10646	627	0,034 %	0,019 %	0,018 %	0,029 %	0,016 %	0,020 %
pWISE10647	628	0,003 %	0,039 %	0,046 %	0,018 %	0,011 %	0,093 %

Tabla 42. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.21	G.24	G.26	G.28	G.31
pWISE121	56	0,144 %	0,201 %	0,297 %	0,083 %	0,045 %
pWISE9123	456	0,061 %	0,422 %	0,566 %	0,083 %	0,033 %
pWISE10643	624	0,134 %	0,774 %	0,628 %	0,087 %	0,435 %
pWISE10644	625	0,028 %	0,419 %	0,469 %	0,081 %	0,123 %
pWISE10645	626	0,564 %	0,378 %	0,411 %	0,232 %	0,158 %
pWISE10646	627	0,055 %	0,029 %	0,044 %	0,170 %	0,080 %
pWISE10647	628	0,130 %	0,097 %	0,086 %	0,202 %	0,008 %

Tabla 43.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-8	C.-6	C.-1	C.3	C.4	C.6	C.8
pWISE121	56	0,012 %	0,011 %	0,054 %	0,017 %	0,030 %	0,342 %	0,327 %
pWISE9123	456	0,234 %	0,009 %	1,556 %	0,027 %	0,064 %	16,533 %	15,417 %
pWISE10643	624	0,244 %	0,002 %	1,736 %	0,017 %	0,041 %	21,563 %	20,357 %
pWISE10644	625	0,287 %	0,008 %	2,409 %	0,039 %	0,047 %	27,834 %	26,754 %
pWISE10645	626	0,211 %	0,026 %	2,402 %	0,059 %	0,088 %	29,354 %	28,047 %
pWISE10646	627	0,304 %	0,014 %	2,513 %	0,122 %	0,127 %	30,168 %	29,065 %
pWISE10647	628	0,254 %	0,005 %	2,280 %	0,082 %	0,073 %	30,279 %	29,132 %

Tabla 43. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.9	C.10	C.11	C.13	C.17	C.18
pWISE121	56	0,368 %	0,359 %	0,352 %	0,382 %	0,512 %	0,540 %
pWISE9123	456	16,268 %	16,358 %	16,514 %	16,635 %	5,964 %	6,610 %
pWISE10643	624	21,206 %	21,283 %	21,423 %	21,650 %	8,925 %	10,127 %
pWISE10644	625	27,616 %	27,715 %	27,786 %	27,959 %	13,392 %	14,599 %

pWISE10645	626	29,037 %	29,233 %	29,436 %	29,733 %	19,309 %	20,354 %
pWISE10646	627	30,163 %	30,294 %	30,483 %	30,583 %	21,660 %	22,612 %
pWISE10647	628	30,141 %	30,210 %	30,396 %	30,585 %	22,017 %	22,833 %

Tabla 43. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.19	C.22	C.25	C.27	C.29	C.33
pWISE121	56	0,501 %	0,378 %	0,115 %	0,085 %	0,123 %	0,057 %
pWISE9123	456	9,843 %	0,173 %	0,198 %	0,225 %	0,201 %	0,226 %
pWISE10643	624	14,063 %	0,349 %	0,253 %	0,324 %	0,352 %	0,265 %
pWISE10644	625	19,052 %	0,465 %	0,398 %	0,439 %	0,403 %	0,339 %
pWISE10645	626	23,992 %	1,459 %	1,081 %	1,189 %	1,207 %	0,972 %
pWISE10646	627	25,918 %	1,725 %	1,205 %	1,383 %	1,321 %	1,103 %
pWISE10647	628	26,311 %	1,921 %	1,331 %	1,408 %	1,379 %	1,111 %

Tabla 44.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-8	C.-6	C.-1	C.3	C.4	C.6	C.8
pWISE121	56	0,002 %	0,015 %	0,064 %	0,011 %	0,014 %	0,411 %	0,437 %
pWISE9123	456	0,098 %	0,009 %	1,050 %	0,024 %	0,069 %	12,400 %	11,665 %
pWISE10643	624	0,037 %	0,002 %	0,347 %	0,005 %	0,010 %	5,778 %	5,450 %
pWISE10644	625	0,051 %	0,001 %	0,050 %	0,010 %	0,007 %	2,156 %	2,039 %
pWISE10645	626	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10646	627	0,057 %	0,014 %	0,043 %	0,032 %	0,025 %	0,711 %	0,374 %
pWISE10647	628	0,048 %	0,008 %	0,275 %	0,046 %	0,015 %	0,860 %	1,143 %

Tabla 44. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.9	C.10	C.11	C.13	C.17	C.18
pWISE121	56	0,454 %	0,441 %	0,409 %	0,435 %	0,456 %	0,378 %
pWISE9123	456	12,240 %	12,293 %	12,418 %	12,446 %	4,241 %	4,813 %
pWISE10643	624	5,658 %	5,695 %	5,663 %	5,699 %	2,346 %	2,455 %
pWISE10644	625	2,220 %	2,196 %	2,172 %	2,152 %	1,202 %	1,207 %

pWISE10645	626	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10646	627	0,790 %	0,722 %	0,755 %	0,909 %	0,658 %	0,810 %
pWISE10647	628	1,016 %	0,928 %	0,918 %	0,829 %	0,644 %	0,549 %

Tabla 44. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.19	C.22	C.25	C.27	C.29	C.33
pWISE121	56	0,467 %	0,079 %	0,073 %	0,021 %	0,076 %	0,056 %
pWISE9123	456	7,183 %	0,087 %	0,136 %	0,110 %	0,162 %	0,122 %
pWISE10643	624	3,867 %	0,123 %	0,126 %	0,173 %	0,153 %	0,099 %
pWISE10644	625	1,510 %	0,085 %	0,064 %	0,029 %	0,037 %	0,023 %
pWISE10645	626	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10646	627	0,704 %	0,106 %	0,183 %	0,007 %	0,006 %	0,095 %
pWISE10647	628	1,205 %	0,083 %	0,184 %	0,067 %	0,047 %	0,180 %

Tabla 45.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico diana opuesta		
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-4	G.2	G.16
pWISE121	56	0,003 %	0,028 %	0,546 %
pWISE9123	456	0,001 %	0,006 %	0,109 %
pWISE10643	624	0,009 %	0,004 %	0,199 %
pWISE10644	625	0,006 %	0,014 %	0,172 %
pWISE10645	626	0,006 %	0,000 %	0,517 %
pWISE10646	627	0,002 %	0,007 %	0,510 %
pWISE10647	628	0,003 %	0,008 %	0,657 %

Tabla 46.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico diana opuesta		
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-4	G.2	G.16
pWISE121	56	0,005 %	0,002 %	0,290 %
pWISE9123	456	0,002 %	0,001 %	0,085 %
pWISE10643	624	0,002 %	0,006 %	0,003 %
pWISE10644	625	0,001 %	0,004 %	0,051 %
pWISE10645	626	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10646	627	0,002 %	0,010 %	0,060 %

pWISE10647	628	0,004 %	0,007 %	0,111 %
------------	------------	---------	---------	---------

Tabla 47.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.-1	C.4	C.6	C.7
pWISE121	56	0,000 %	0,070 %	0,068 %	0,094 %	0,270 %
pWISE9123	456	0,006 %	0,834 %	0,897 %	6,149 %	21,236 %
pWISE10643	624	0,027 %	0,713 %	0,970 %	7,783 %	25,729 %
pWISE10644	625	0,010 %	0,738 %	1,080 %	8,182 %	25,666 %
pWISE10645	626	0,040 %	1,246 %	1,452 %	7,392 %	30,506 %
pWISE10646	627	0,022 %	0,914 %	1,349 %	5,465 %	31,416 %
pWISE10647	628	0,008 %	1,057 %	1,285 %	4,425 %	30,272 %

Tabla 47. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.11	C.12	C.16	C.17	C.18
pWISE121	56	0,168 %	0,254 %	0,726 %	0,805 %	0,793 %
pWISE9123	456	27,208 %	27,249 %	11,176 %	8,338 %	8,484 %
pWISE10643	624	30,862 %	31,021 %	15,051 %	11,834 %	11,892 %
pWISE10644	625	29,986 %	30,157 %	17,982 %	15,163 %	14,980 %
pWISE10645	626	36,301 %	36,625 %	27,609 %	25,063 %	24,404 %
pWISE10646	627	37,283 %	37,658 %	29,920 %	27,394 %	26,508 %
pWISE10647	628	35,584 %	36,017 %	29,926 %	27,729 %	26,942 %

Tabla 47. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.25	C.26	C.27	C.28	C.30
pWISE121	56	0,052 %	0,120 %	0,087 %	0,175 %	0,082 %
pWISE9123	456	0,039 %	0,026 %	0,040 %	0,046 %	0,023 %
pWISE10643	624	0,021 %	0,037 %	0,072 %	0,076 %	0,050 %
pWISE10644	625	0,058 %	0,061 %	0,110 %	0,111 %	0,052 %
pWISE10645	626	0,209 %	0,229 %	0,380 %	0,393 %	0,192 %
pWISE10646	627	0,194 %	0,200 %	0,397 %	0,363 %	0,140 %
pWISE10647	628	0,219 %	0,208 %	0,393 %	0,401 %	0,132 %

Tabla 48.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.-1	C.4	C.6	C.7
pWISE121	56	0,000 %	0,077 %	0,005 %	0,012 %	0,004 %
pWISE9123	456	0,008 %	0,235 %	0,032 %	0,179 %	0,060 %

pWISE10643	624	0,013 %	0,227 %	0,030 %	0,375 %	0,041 %
pWISE10644	625	0,003 %	0,052 %	0,193 %	0,995 %	1,587 %
pWISE10645	626	0,039 %	0,026 %	0,017 %	0,089 %	0,371 %
pWISE10646	627	0,031 %	0,172 %	0,143 %	0,088 %	0,140 %
pWISE10647	628	0,002 %	0,001 %	0,012 %	0,274 %	0,571 %

Tabla 48. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.11	C.12	C.16	C.17	C.18
pWISE121	56	0,040 %	0,101 %	0,050 %	0,043 %	0,083 %
pWISE9123	456	0,040 %	0,050 %	0,170 %	0,138 %	0,045 %
pWISE10643	624	0,075 %	0,150 %	0,002 %	0,359 %	0,227 %
pWISE10644	625	1,207 %	1,313 %	1,135 %	1,335 %	1,398 %
pWISE10645	626	0,600 %	0,475 %	0,381 %	0,427 %	0,726 %
pWISE10646	627	0,038 %	0,029 %	0,138 %	0,336 %	0,437 %
pWISE10647	628	1,054 %	1,034 %	0,768 %	0,695 %	0,618 %

Tabla 48. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.25	C.26	C.27	C.28	C.30
pWISE121	56	0,028 %	0,012 %	0,029 %	0,078 %	0,028 %
pWISE9123	456	0,026 %	0,029 %	0,041 %	0,057 %	0,025 %
pWISE10643	624	0,020 %	0,022 %	0,022 %	0,058 %	0,021 %
pWISE10644	625	0,028 %	0,032 %	0,090 %	0,081 %	0,062 %
pWISE10645	626	0,004 %	0,004 %	0,095 %	0,078 %	0,012 %
pWISE10646	627	0,066 %	0,065 %	0,032 %	0,057 %	0,032 %
pWISE10647	628	0,011 %	0,008 %	0,043 %	0,018 %	0,014 %

Tabla 49.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.-7	G.-6	G.2
pWISE121	56	0,008 %	0,033 %	0,022 %	0,023 %	0,094 %
pWISE9123	456	0,071 %	0,008 %	0,008 %	0,003 %	0,008 %
pWISE10643	624	0,064 %	0,009 %	0,010 %	0,025 %	0,022 %
pWISE10644	625	0,013 %	0,003 %	0,010 %	0,016 %	0,000 %
pWISE10645	626	0,033 %	0,002 %	0,002 %	0,015 %	0,005 %
pWISE10646	627	0,015 %	0,000 %	0,000 %	0,006 %	0,008 %

pWISE10647	628	0,044 %	0,016 %	0,003 %	0,003 %	0,005 %
------------	------------	---------	---------	---------	---------	---------

Tabla 49. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.14	G.21	G.23	G.24	G.32
pWISE121	56	0,491 %	0,310 %	0,243 %	0,248 %	0,358 %
pWISE9123	456	0,278 %	0,229 %	1,639 %	1,345 %	0,227 %
pWISE10643	624	0,601 %	0,230 %	2,273 %	1,943 %	0,277 %
pWISE10644	625	0,651 %	0,425 %	3,452 %	2,995 %	0,421 %
pWISE10645	626	0,887 %	0,696 %	7,875 %	7,992 %	0,501 %
pWISE10646	627	1,158 %	0,667 %	9,351 %	9,530 %	0,566 %
pWISE10647	628	1,353 %	0,790 %	10,882 %	11,041 %	0,536 %

Tabla 50.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.-7	G.-6	G.2
pWISE121	56	0,011 %	0,015 %	0,001 %	0,013 %	0,019 %
pWISE9123	456	0,035 %	0,003 %	0,004 %	0,004 %	0,004 %
pWISE10643	624	0,010 %	0,003 %	0,006 %	0,006 %	0,011 %
pWISE10644	625	0,007 %	0,004 %	0,003 %	0,012 %	0,000 %
pWISE10645	626	0,002 %	0,003 %	0,003 %	0,013 %	0,007 %
pWISE10646	627	0,021 %	0,000 %	0,000 %	0,001 %	0,012 %
pWISE10647	628	0,029 %	0,023 %	0,005 %	0,005 %	0,007 %

Tabla 50. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.14	G.21	G.23	G.24	G.32
pWISE121	56	0,002 %	0,092 %	0,047 %	0,081 %	0,074 %
pWISE9123	456	0,094 %	0,107 %	0,176 %	0,179 %	0,061 %
pWISE10643	624	0,112 %	0,115 %	0,212 %	0,209 %	0,031 %
pWISE10644	625	0,023 %	0,102 %	0,577 %	0,626 %	0,002 %
pWISE10645	626	0,056 %	0,167 %	0,108 %	0,255 %	0,150 %
pWISE10646	627	0,346 %	0,001 %	0,853 %	1,067 %	0,063 %
pWISE10647	628	0,111 %	0,239 %	0,075 %	0,090 %	0,034 %

Tabla 51.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.2	C.6	C.7	C.8
pWISE121	56	0,008 %	0,040 %	0,048 %	0,079 %	0,063 %
pWISE9123	456	0,043 %	2,125 %	16,387 %	17,060 %	18,221 %
pWISE10643	624	0,013 %	2,497 %	20,555 %	21,406 %	22,889 %
pWISE10644	625	0,021 %	3,107 %	23,432 %	24,235 %	25,764 %
pWISE10645	626	0,039 %	4,129 %	24,324 %	26,202 %	28,604 %
pWISE10646	627	0,019 %	3,839 %	23,946 %	26,784 %	29,869 %
pWISE10647	628	0,038 %	3,506 %	22,643 %	26,039 %	29,620 %

Tabla 51. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.9	C.11	C.12	C.14	C.15
pWISE121	56	0,079 %	0,103 %	0,143 %	0,254 %	0,531 %
pWISE9123	456	18,939 %	19,166 %	19,204 %	9,327 %	11,582 %
pWISE10643	624	23,621 %	23,776 %	23,698 %	14,265 %	16,642 %
pWISE10644	625	26,395 %	26,496 %	26,499 %	18,960 %	21,075 %
pWISE10645	626	29,522 %	29,674 %	29,709 %	23,030 %	25,752 %
pWISE10646	627	30,631 %	30,793 %	30,841 %	25,672 %	27,864 %
pWISE10647	628	30,324 %	30,456 %	30,474 %	25,511 %	27,839 %

Tabla 51. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.16	C.17	C.19	C.27	C.28	C.30
pWISE121	56	1,428 %	3,824 %	1,475 %	0,159 %	0,151 %	0,008 %
pWISE9123	456	12,384 %	12,723 %	7,551 %	0,019 %	0,040 %	0,011 %
pWISE10643	624	17,310 %	17,746 %	9,845 %	0,019 %	0,030 %	0,029 %
pWISE10644	625	21,633 %	21,838 %	11,311 %	0,034 %	0,031 %	0,028 %
pWISE10645	626	26,111 %	26,337 %	13,150 %	0,059 %	0,078 %	0,020 %
pWISE10646	627	28,139 %	28,158 %	13,430 %	0,072 %	0,119 %	0,042 %
pWISE10647	628	28,147 %	28,259 %	12,442 %	0,130 %	0,161 %	0,091 %

Tabla 52.

Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana

pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.2	C.6	C.7	C.8
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9123	456	0,002 %	1,173 %	9,154 %	9,487 %	10,206 %
pWISE10643	624	0,007 %	1,127 %	9,924 %	10,450 %	11,200 %
pWISE10644	625	0,022 %	0,090 %	0,551 %	0,566 %	1,128 %
pWISE10645	626	0,056 %	0,439 %	1,920 %	2,056 %	2,079 %
pWISE10646	627	0,006 %	0,224 %	0,594 %	0,857 %	0,630 %
pWISE10647	628	0,025 %	0,760 %	1,077 %	1,039 %	1,047 %

Tabla 52. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.9	C.11	C.12	C.14	C.15
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9123	456	10,685 %	10,749 %	10,873 %	5,486 %	6,549 %
pWISE10643	624	11,618 %	11,767 %	11,682 %	6,806 %	7,940 %
pWISE10644	625	1,410 %	1,369 %	1,232 %	0,291 %	0,591 %
pWISE10645	626	1,898 %	1,950 %	1,867 %	1,962 %	2,056 %
pWISE10646	627	0,633 %	0,727 %	0,703 %	0,875 %	0,885 %
pWISE10647	628	1,123 %	1,035 %	1,069 %	1,508 %	1,402 %

Tabla 52. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.16	C.17	C.19	C.27	C.28	C.30
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9123	456	6,855 %	7,160 %	4,258 %	0,015 %	0,014 %	0,016 %
pWISE10643	624	8,276 %	8,408 %	4,985 %	0,019 %	0,016 %	0,040 %
pWISE10644	625	0,473 %	0,641 %	0,345 %	0,033 %	0,028 %	0,032 %
pWISE10645	626	1,928 %	1,809 %	1,322 %	0,006 %	0,034 %	0,028 %
pWISE10646	627	0,819 %	0,836 %	0,337 %	0,060 %	0,007 %	0,038 %
pWISE10647	628	1,423 %	1,512 %	0,617 %	0,025 %	0,029 %	0,059 %

Tabla 53.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.4	G.21	G.23
pWISE121	56	0,008 %	0,000 %	0,008 %	0,635 %	1,015 %

pWISE9123	456	0,008 %	0,000 %	0,027 %	0,056 %	0,238 %
pWISE10643	624	0,003 %	0,006 %	0,014 %	0,073 %	0,349 %
pWISE10644	625	0,037 %	0,000 %	0,019 %	0,064 %	0,438 %
pWISE10645	626	0,015 %	0,000 %	0,055 %	0,031 %	0,897 %
pWISE10646	627	0,011 %	0,000 %	0,004 %	0,198 %	1,031 %
pWISE10647	628	0,011 %	0,000 %	0,028 %	0,168 %	1,369 %

Tabla 53. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico diana opuesta			
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.24	G.25	G.26	G.33
pWISE121	56	0,206 %	0,294 %	0,087 %	0,103 %
pWISE9123	456	0,277 %	0,177 %	0,071 %	0,411 %
pWISE10643	624	0,376 %	0,271 %	0,153 %	0,510 %
pWISE10644	625	0,474 %	0,305 %	0,244 %	0,502 %
pWISE10645	626	0,853 %	0,583 %	0,439 %	0,692 %
pWISE10646	627	1,093 %	0,747 %	0,540 %	0,937 %
pWISE10647	628	1,625 %	1,176 %	0,829 %	1,299 %

Tabla 54.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.4	G.21	G.23
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9123	456	0,001 %	0,000 %	0,003 %	0,067 %	0,185 %
pWISE10643	624	0,004 %	0,009 %	0,003 %	0,024 %	0,186 %
pWISE10644	625	0,002 %	0,000 %	0,004 %	0,012 %	0,182 %
pWISE10645	626	0,022 %	0,000 %	0,032 %	0,033 %	0,140 %
pWISE10646	627	0,006 %	0,000 %	0,005 %	0,001 %	0,237 %
pWISE10647	628	0,005 %	0,000 %	0,030 %	0,040 %	0,158 %

Tabla 54. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico diana opuesta			
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.24	G.25	G.26	G.33
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos

pWISE9123	456	0,182 %	0,052 %	0,066 %	0,359 %
pWISE10643	624	0,171 %	0,066 %	0,084 %	0,236 %
pWISE10644	625	0,100 %	0,105 %	0,002 %	0,033 %
pWISE10645	626	0,078 %	0,003 %	0,084 %	0,107 %
pWISE10646	627	0,304 %	0,257 %	0,115 %	0,008 %
pWISE10647	628	0,184 %	0,093 %	0,161 %	0,039 %

Ejemplo 11:

Los permutantes circulares de una LbCas12a enzimáticamente inactiva (dLbCas12a (SEQ ID NO: 59)) o Cas12a que comprende una mutación R1138A (nCas12a), que es una mutación de nickasa catalítica de hebra no diana, se fusionaron a una citosina desaminasa en el extremo N-terminal del permutante circular utilizando un enlazador, y un UGI se fusionó al extremo C-terminal del permutante circular para proporcionar una proteína de fusión. Estas proteínas de fusión se probaron tanto para la edición de bases C a T en la hebra diana como para la edición de G a A en la hebra no diana. Los enlazadores probados entre la citosina desaminasa y el permutante circular incluyeron un enlazador GS–XTEN–GS (SEQ ID NO: 30); un enlazador XTEN (SEQ ID NO: 29); un enlazador de glicina–serina de cuatro aminoácidos (4XGS) de SGGS (SEQ ID NO: 26); un enlazador de glicina–serina de seis aminoácidos (6XGS) de (SGS)_n donde n es 2 (SEQ ID NO: 869); un enlazador de glicina–serina de ocho aminoácidos (8XGS) de (SGGS)_n donde n es 2 (SEQ ID NO: 870); y un enlazador de glicina–serina de doce aminoácidos (12XGS) de (SGGS)_n donde n es 3. Las proteínas de fusión se enumeran en la **Tabla 55**, y las dianas se enumeran en la **Tabla 56**.

Tabla 55. Construcciones evaluadas.

pWISE	Vector SEQ ID NO:	ADN SEQ ID NO:	Proteína SEQ ID NO:
pWISE9120	477	465	453
pWISE10648	691	660	629
pWISE10649	692	661	630
pWISE10650	693	662	631
pWISE10651	694	663	632
pWISE10652	695	664	633
pWISE10658	701	670	639
pWISE10653	696	665	634
pWISE10654	697	666	635
pWISE10655	698	667	636
pWISE10656	699	668	637
pWISE10657	700	669	638

Tabla 56. Dianas.

Ácido nucleico diana	Diana SEQ ID NO:	Espaciador	Espaciador SEQ ID NO:	pWISE	Vector SEQ ID NO:
FANCF humano	273	PWsp132	799	pWISE878	809
FANCF humano	273	PWsp449	276	pWISE878	279
AAVS1 humano	863	PWsp389	801	pWISE5986	811
AAVS1 humano	863	PWsp390	802	pWISE5986	812
RUNX1 humano	864	PWsp135	800	pWISE5989	810
RUNX1 humano	864	PWsp133	873	pWISE254	878
TRAC humano	871	PWsp3627	874	pWISE10674	879
TRAC humano	871	PWsp3628	875	pWISE10675	880
AAVS1 humano	273	PWsp3629	876	pWISE10676	881
HEK2 humano	872	PWsp3630	877	pWISE10677	882

Las proteínas de fusión se probaron para determinar su capacidad de realizar la edición de bases tanto en las hebras diana como en las no diana en diez sitios diferentes en cinco ácidos nucleicos diana (**SEQ ID NOs: 273, 863, 864, 871 y 872**) en células HEK293T utilizando diez espaciadores (**SEQ ID NOs: 276, 799–802 y 873–877**). Se probaron una única réplica biológica y dos réplicas técnicas, o tres réplicas biológicas y dos réplicas técnicas. Las células HEK293T se sembraron en placas recubiertas con colágeno de 48 pocillos (Corning) en ausencia de antibiótico utilizando medio DMEM. Con una confluencia del 70–80 %, las células se transfectaron con 1,5 µL de LTX (ThermoFisher Scientific) utilizando 500 ng del plásmido de proteína de fusión y 500 ng de plásmido de ARN guía de acuerdo con el protocolo del fabricante. Después de 3 días, las células se lisaron con un método de extracción de bruto utilizando tampón TritonX. Cada proteína de fusión se puntuó en función de la edición precisa de pares de bases en los genes FANCF, RUNX1, AAVS1, TRAC y HEK2 utilizando los ARN guía (**SEQ ID NOs: 276, 799–802 y 873–877**). Se observaron niveles bajos de fondo de formación de INDEL, lo que era esperado. Los porcentajes de INDEL para las proteínas de fusión que incluyen un permutante circular que comprende una mutación inactivante (**SEQ ID NOs: 453 y 629–633**) o una mutación de nickasa catalítica (**SEQ ID NOs: 634–639**) se muestran en la **FIG. 23**. Para las construcciones probadas, se observó un aumento en el porcentaje de INDEL para las proteínas de fusión que incluían un permutante circular que tenía una mutación de nickasa catalítica (**SEQ ID NOs: 634–639**) en comparación con las proteínas de fusión que incluían un permutante circular que tenía una mutación inactivadora (**SEQ ID NOs: 629–633**). Los resultados para las proteínas de fusión probadas se proporcionan en las **Tablas 57–96**. Los valores en las **Tablas 57–96** que están por debajo del 0,1 % se consideran

como ruido del instrumento (por debajo del límite de detección) y no son indicativos de edición. Los valores que están entre el 0,1 % y el 0,5 % indican que la edición está presente en el experimento en la ubicación especificada, pero el ensayo no es lo suficientemente sensible para cuantificar con precisión la cantidad de edición de bases. Como se ve en las **Tablas 57–96**, las proteínas de fusión mostraron una edición de bases tanto de hebra diana como no diana eficiente. De manera específica, las proteínas de fusión que incluyen un permutante circular de dLbCas12a tuvieron una eficacia de hasta alrededor de 10 %, y las proteínas de fusión que incluyen un permutante circular de nCas12a tuvieron una eficiencia de hasta alrededor del 25 %. La ventana de edición parece ser particularmente beneficiosa entre aproximadamente las posiciones 9–23 de la secuencia espaciadora diana. De forma similar a lo que se mostró en el Ejemplo 10, se descubrió que los enlazadores más cortos habían mejorado la edición hacia el extremo 3' del espaciador tanto para la edición de la hebra diana como para la de la hebra no diana.

Tabla 57.

pWISE	Proteína SEQ ID NO:	Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico no diana						
		C.–7	C.–6	C.–4	C.–1	C.2	C.3	C.11
pWISE121	56	0,039 %	0,052 %	0,028 %	0,043 %	0,097 %	0,093 %	0,277 %
pWISE9120	453	0,131 %	0,074 %	0,006 %	0,308 %	0,006 %	0,051 %	1,108 %
pWISE10648	629	0,172 %	0,159 %	0,030 %	0,275 %	0,035 %	0,045 %	0,611 %
pWISE10649	630	0,179 %	0,118 %	0,000 %	0,269 %	0,022 %	0,030 %	0,451 %
pWISE10650	631	0,280 %	0,225 %	0,061 %	0,409 %	0,010 %	0,052 %	0,648 %
pWISE10651	632	0,302 %	0,203 %	0,044 %	0,541 %	0,049 %	0,091 %	0,591 %
pWISE10652	633	0,073 %	0,058 %	0,011 %	0,186 %	0,010 %	0,026 %	0,494 %
pWISE10658	639	0,213 %	0,179 %	0,044 %	0,362 %	0,071 %	0,114 %	1,434 %
pWISE10653	634	0,140 %	0,122 %	0,043 %	0,341 %	0,064 %	0,068 %	0,720 %
pWISE10654	635	0,185 %	0,138 %	0,057 %	0,425 %	0,054 %	0,132 %	0,944 %
pWISE10655	636	0,135 %	0,076 %	0,038 %	0,306 %	0,018 %	0,053 %	0,712 %
pWISE10656	637	0,208 %	0,132 %	0,036 %	0,331 %	0,069 %	0,079 %	0,660 %
pWISE10657	638	0,124 %	0,084 %	0,006 %	0,238 %	0,006 %	0,016 %	0,556 %

Tabla 57. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.14	C.17	C.19	C.21	C.24	C.28
pWISE121	56	1,076 %	0,870 %	0,687 %	0,477 %	0,153 %	0,176 %
pWISE9120	453	0,720 %	0,251 %	2,011 %	2,102 %	0,794 %	0,326 %
pWISE10648	629	0,373 %	0,091 %	1,242 %	1,252 %	0,550 %	0,020 %
pWISE10649	630	0,495 %	0,209 %	3,356 %	3,622 %	1,946 %	0,289 %
pWISE10650	631	0,657 %	0,189 %	4,384 %	4,777 %	2,522 %	0,380 %
pWISE10651	632	0,651 %	0,199 %	4,697 %	4,967 %	2,608 %	0,356 %
pWISE10652	633	0,459 %	0,073 %	3,167 %	3,481 %	2,003 %	0,280 %
pWISE10658	639	0,722 %	0,281 %	3,091 %	3,705 %	0,998 %	0,069 %
pWISE10653	634	0,429 %	0,159 %	1,826 %	1,882 %	0,703 %	0,068 %
pWISE10654	635	0,639 %	0,464 %	4,466 %	5,076 %	2,270 %	0,301 %
pWISE10655	636	0,575 %	0,186 %	4,885 %	5,470 %	2,219 %	0,267 %
pWISE10656	637	0,706 %	0,208 %	4,496 %	5,168 %	2,199 %	0,299 %
pWISE10657	638	0,513 %	0,051 %	4,023 %	4,924 %	1,510 %	0,182 %

Tabla 58.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico no diana						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-7	C.-6	C.-4	C.-1	C.2	C.3	C.11
pWISE121	56	0,050 %	0,025 %	0,009 %	0,006 %	0,082 %	0,003 %	0,090 %
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10648	629	0,012 %	0,016 %	0,000 %	0,007 %	0,007 %	0,001 %	0,070 %
pWISE10649	630	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10650	631	0,012 %	0,013 %	0,041 %	0,035 %	0,001 %	0,028 %	0,089 %
pWISE10651	632	0,036 %	0,092 %	0,049 %	0,116 %	0,055 %	0,087 %	0,001 %
pWISE10652	633	0,050 %	0,020 %	0,007 %	0,111 %	0,015 %	0,037 %	0,064 %
pWISE10658	639	0,057 %	0,029 %	0,035 %	0,031 %	0,019 %	0,033 %	0,206 %
pWISE10653	634	0,027 %	0,002 %	0,027 %	0,040 %	0,018 %	0,017 %	0,089 %
pWISE10654	635	0,060 %	0,063 %	0,074 %	0,050 %	0,027 %	0,089 %	0,218 %
pWISE10655	636	0,011 %	0,015 %	0,038 %	0,072 %	0,009 %	0,026 %	0,111 %
pWISE10656	637	0,034 %	0,008 %	0,002 %	0,014 %	0,090 %	0,090 %	0,182 %
pWISE10657	638	0,067 %	0,032 %	0,008 %	0,034 %	0,008 %	0,006 %	0,037 %

Tabla 58. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.14	C.17	C.19	C.21	C.24	C.28

pWISE121	56	0,130 %	0,481 %	0,258 %	0,094 %	0,003 %	0,121 %
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10648	629	0,073 %	0,034 %	0,097 %	0,061 %	0,042 %	0,000 %
pWISE10649	630	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10650	631	0,101 %	0,017 %	0,306 %	0,240 %	0,469 %	0,073 %
pWISE10651	632	0,020 %	0,046 %	0,029 %	0,091 %	0,110 %	0,034 %
pWISE10652	633	0,121 %	0,103 %	0,321 %	0,309 %	0,069 %	0,007 %
pWISE10658	639	0,053 %	0,134 %	0,162 %	0,367 %	0,052 %	0,044 %
pWISE10653	634	0,091 %	0,065 %	0,274 %	0,200 %	0,050 %	0,005 %
pWISE10654	635	0,051 %	0,005 %	0,163 %	0,081 %	0,203 %	0,028 %
pWISE10655	636	0,074 %	0,062 %	0,318 %	0,373 %	0,030 %	0,085 %
pWISE10656	637	0,180 %	0,167 %	1,135 %	1,379 %	0,714 %	0,184 %
pWISE10657	638	0,016 %	0,014 %	0,014 %	0,143 %	0,328 %	0,034 %

Tabla 59.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-5	G.6	G.7	G.9	G.12
pWISE121	56	0,053 %	0,094 %	0,091 %	0,210 %	0,189 %
pWISE9120	453	0,023 %	0,080 %	0,131 %	2,016 %	5,724 %
pWISE10648	629	0,013 %	0,078 %	0,124 %	1,258 %	5,045 %
pWISE10649	630	0,000 %	0,047 %	0,118 %	1,006 %	6,560 %
pWISE10650	631	0,008 %	0,074 %	0,165 %	1,198 %	6,271 %
pWISE10651	632	0,017 %	0,103 %	0,205 %	1,063 %	4,607 %
pWISE10652	633	0,000 %	0,095 %	0,163 %	0,363 %	1,474 %
pWISE10658	639	0,006 %	0,100 %	0,239 %	3,398 %	11,948 %
pWISE10653	634	0,018 %	0,061 %	0,103 %	1,484 %	8,508 %
pWISE10654	635	0,034 %	0,061 %	0,147 %	1,771 %	8,709 %
pWISE10655	636	0,020 %	0,102 %	0,216 %	2,025 %	8,551 %
pWISE10656	637	0,033 %	0,117 %	0,222 %	1,748 %	5,471 %
pWISE10657	638	0,000 %	0,056 %	0,282 %	1,063 %	2,384 %

Tabla 59. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.13	G.15	G.23	G.25	G.30
pWISE121	56	0,282 %	0,462 %	0,899 %	0,299 %	0,113 %
pWISE9120	453	5,547 %	7,409 %	2,285 %	0,765 %	2,016 %
pWISE10648	629	4,807 %	6,238 %	2,183 %	0,770 %	1,476 %
pWISE10649	630	6,379 %	9,240 %	4,353 %	1,643 %	3,276 %
pWISE10650	631	6,577 %	9,906 %	5,875 %	2,173 %	3,961 %
pWISE10651	632	5,432 %	10,521 %	5,881 %	2,171 %	4,274 %

pWISE10652	633	2,019 %	7,001 %	5,017 %	2,129 %	3,116 %
pWISE10658	639	11,329 %	15,258 %	3,875 %	1,277 %	3,300 %
pWISE10653	634	8,251 %	10,985 %	2,802 %	0,922 %	2,407 %
pWISE10654	635	8,183 %	12,532 %	5,417 %	1,888 %	4,190 %
pWISE10655	636	8,506 %	14,415 %	6,372 %	2,480 %	5,135 %
pWISE10656	637	5,970 %	12,706 %	6,151 %	2,501 %	4,557 %
pWISE10657	638	3,250 %	13,476 %	6,261 %	2,242 %	5,242 %

Tabla 60.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-5	G.6	G.7	G.9	G.12
pWISE121	56	0,075 %	0,078 %	0,074 %	0,102 %	0,026 %
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10648	629	0,018 %	0,019 %	0,009 %	0,075 %	0,281 %
pWISE10649	630	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10650	631	0,002 %	0,028 %	0,027 %	0,087 %	0,414 %
pWISE10651	632	0,003 %	0,083 %	0,011 %	0,136 %	0,007 %
pWISE10652	633	0,000 %	0,009 %	0,047 %	0,058 %	0,019 %
pWISE10658	639	0,002 %	0,022 %	0,053 %	0,020 %	0,035 %
pWISE10653	634	0,003 %	0,001 %	0,021 %	0,161 %	0,102 %
pWISE10654	635	0,008 %	0,040 %	0,070 %	0,324 %	0,265 %
pWISE10655	636	0,004 %	0,006 %	0,005 %	0,220 %	0,712 %
pWISE10656	637	0,002 %	0,016 %	0,021 %	0,047 %	0,364 %
pWISE10657	638	0,000 %	0,007 %	0,075 %	0,024 %	0,211 %

Tabla 60. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp132 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.13	G.15	G.23	G.25	G.30
pWISE121	56	0,052 %	0,055 %	0,291 %	0,014 %	0,077 %
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10648	629	0,250 %	0,477 %	0,231 %	0,078 %	0,176 %
pWISE10649	630	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10650	631	0,346 %	0,467 %	0,239 %	0,027 %	0,030 %
pWISE10651	632	0,103 %	0,090 %	0,183 %	0,043 %	0,164 %
pWISE10652	633	0,083 %	0,056 %	0,613 %	0,454 %	0,312 %
pWISE10658	639	0,016 %	0,065 %	0,144 %	0,005 %	0,234 %
pWISE10653	634	0,210 %	0,069 %	0,041 %	0,163 %	0,037 %
pWISE10654	635	0,064 %	0,244 %	0,253 %	0,002 %	0,274 %

pWISE10655	636	0,558 %	0,755 %	0,567 %	0,106 %	0,249 %
pWISE10656	637	0,251 %	1,415 %	1,042 %	0,621 %	0,909 %
pWISE10657	638	0,034 %	0,695 %	0,226 %	0,095 %	0,327 %

Tabla 61.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.-1	C.2	C.10	C.11	C.15
pWISE121	56	0,095 %	0,158 %	0,123 %	0,401 %	0,431 %	2,083 %
pWISE9120	453	0,333 %	0,491 %	0,138 %	4,611 %	4,642 %	3,777 %
pWISE10648	629	0,204 %	0,214 %	0,074 %	1,536 %	1,513 %	1,659 %
pWISE10649	630	0,234 %	0,235 %	0,097 %	1,368 %	1,244 %	1,649 %
pWISE10650	631	0,316 %	0,420 %	0,111 %	2,774 %	2,600 %	3,411 %
pWISE10651	632	0,308 %	0,327 %	0,080 %	2,629 %	2,437 %	3,317 %
pWISE10652	633	0,245 %	0,337 %	0,076 %	2,137 %	1,855 %	2,639 %
pWISE10658	639	0,578 %	0,833 %	0,287 %	7,718 %	7,601 %	4,955 %
pWISE10653	634	0,348 %	0,345 %	0,138 %	3,499 %	3,361 %	2,385 %
pWISE10654	635	0,417 %	0,628 %	0,253 %	4,403 %	3,868 %	3,202 %
pWISE10655	636	0,463 %	0,646 %	0,254 %	4,931 %	4,539 %	4,151 %
pWISE10656	637	0,394 %	0,563 %	0,148 %	4,459 %	4,095 %	4,047 %
pWISE10657	638	0,316 %	0,526 %	0,155 %	4,514 %	3,949 %	4,070 %

Tabla 61. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.20	C.22	C.30	C.32	C.33
pWISE121	56	0,505 %	1,066 %	1,515 %	1,047 %	1,095 %
pWISE9120	453	0,890 %	1,111 %	0,128 %	0,015 %	0,026 %
pWISE10648	629	0,522 %	0,628 %	0,148 %	0,059 %	0,064 %
pWISE10649	630	0,779 %	0,840 %	0,101 %	0,030 %	0,028 %
pWISE10650	631	1,906 %	2,081 %	0,212 %	0,055 %	0,066 %
pWISE10651	632	1,726 %	1,713 %	0,225 %	0,012 %	0,019 %
pWISE10652	633	1,735 %	1,671 %	0,167 %	0,008 %	0,020 %
pWISE10658	639	1,169 %	1,357 %	0,142 %	0,015 %	0,004 %
pWISE10653	634	0,722 %	0,830 %	0,113 %	0,002 %	0,007 %
pWISE10654	635	1,552 %	1,744 %	0,192 %	0,028 %	0,023 %
pWISE10655	636	1,630 %	1,907 %	0,157 %	0,014 %	0,036 %
pWISE10656	637	2,020 %	2,107 %	0,214 %	0,006 %	0,027 %
pWISE10657	638	1,879 %	2,018 %	0,171 %	0,031 %	0,027 %

Tabla 62.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.-1	C.2	C.10	C.11	C.15

pWISE121	56	0,067 %	0,050 %	0,037 %	0,011 %	0,017 %	0,001 %
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10648	629	0,086 %	0,114 %	0,062 %	0,358 %	0,369 %	0,288 %
pWISE10649	630	0,057 %	0,091 %	0,024 %	0,033 %	0,083 %	0,100 %
pWISE10650	631	0,037 %	0,011 %	0,083 %	0,109 %	0,215 %	0,378 %
pWISE10651	632	0,040 %	0,052 %	0,011 %	0,864 %	0,724 %	0,877 %
pWISE10652	633	0,019 %	0,019 %	0,040 %	0,082 %	0,010 %	0,126 %
pWISE10658	639	0,024 %	0,100 %	0,054 %	0,877 %	0,857 %	0,413 %
pWISE10653	634	0,156 %	0,098 %	0,052 %	0,657 %	0,605 %	0,443 %
pWISE10654	635	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10655	636	0,151 %	0,192 %	0,098 %	0,353 %	0,241 %	0,441 %
pWISE10656	637	0,057 %	0,003 %	0,013 %	0,165 %	0,075 %	0,022 %
pWISE10657	638	0,140 %	0,122 %	0,036 %	0,675 %	0,444 %	0,492 %

Tabla 62. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.20	C.22	C.30	C.32	C.33
pWISE121	56	0,035 %	0,223 %	0,938 %	0,690 %	0,714 %
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10648	629	0,193 %	0,223 %	0,153 %	0,062 %	0,035 %
pWISE10649	630	0,010 %	0,117 %	0,030 %	0,018 %	0,008 %
pWISE10650	631	0,194 %	0,219 %	0,005 %	0,045 %	0,021 %
pWISE10651	632	0,501 %	0,344 %	0,048 %	0,002 %	0,012 %
pWISE10652	633	0,069 %	0,052 %	0,048 %	0,005 %	0,004 %
pWISE10658	639	0,115 %	0,139 %	0,006 %	0,006 %	0,005 %
pWISE10653	634	0,033 %	0,098 %	0,011 %	0,003 %	0,003 %
pWISE10654	635	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10655	636	0,075 %	0,255 %	0,012 %	0,011 %	0,051 %
pWISE10656	637	0,013 %	0,152 %	0,046 %	0,009 %	0,014 %
pWISE10657	638	0,134 %	0,003 %	0,091 %	0,004 %	0,008 %

Tabla 63.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.1	G.3	G.4	G.7	G.17
pWISE121	56	0,048 %	0,105 %	0,144 %	0,133 %	0,178 %	0,670 %
pWISE9120	453	0,005 %	0,061 %	0,056 %	0,123 %	0,015 %	5,788 %
pWISE10648	629	0,002 %	0,037 %	0,094 %	0,094 %	0,022 %	3,324 %
pWISE10649	630	0,008 %	0,029 %	0,032 %	0,057 %	0,013 %	4,321 %
pWISE10650	631	0,016 %	0,010 %	0,033 %	0,097 %	0,028 %	7,663 %
pWISE10651	632	0,014 %	0,005 %	0,037 %	0,084 %	0,009 %	7,590 %
pWISE10652	633	0,012 %	0,057 %	0,094 %	0,107 %	0,036 %	6,836 %
pWISE10658	639	0,021 %	0,043 %	0,039 %	0,051 %	0,014 %	10,694 %
pWISE10653	634	0,035 %	0,041 %	0,056 %	0,058 %	0,027 %	7,636 %

pWISE10654	635	0,019 %	0,000 %	0,070 %	0,103 %	0,005 %	10,854 %
pWISE10655	636	0,022 %	0,039 %	0,050 %	0,064 %	0,014 %	12,072 %
pWISE10656	637	0,021 %	0,022 %	0,042 %	0,058 %	0,016 %	11,537 %
pWISE10657	638	0,016 %	0,037 %	0,072 %	0,089 %	0,016 %	11,411 %

Tabla 63. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.21	G.24	G.26	G.28	G.31
pWISE121	56	0,425 %	0,732 %	0,656 %	0,146 %	0,194 %
pWISE9120	453	4,637 %	5,737 %	4,330 %	0,517 %	0,512 %
pWISE10648	629	2,675 %	3,271 %	2,485 %	0,392 %	0,395 %
pWISE10649	630	3,838 %	4,557 %	3,560 %	0,613 %	0,542 %
pWISE10650	631	7,215 %	8,293 %	6,719 %	1,160 %	0,975 %
pWISE10651	632	7,273 %	8,207 %	6,554 %	1,527 %	1,221 %
pWISE10652	633	6,741 %	7,520 %	6,055 %	1,546 %	1,293 %
pWISE10658	639	7,782 %	9,590 %	7,451 %	0,889 %	0,838 %
pWISE10653	634	5,570 %	6,517 %	4,768 %	0,623 %	0,491 %
pWISE10654	635	9,209 %	10,512 %	7,994 %	1,238 %	0,952 %
pWISE10655	636	10,655 %	11,870 %	9,214 %	1,592 %	1,320 %
pWISE10656	637	10,228 %	11,666 %	9,072 %	1,626 %	1,455 %
pWISE10657	638	10,249 %	11,805 %	9,203 %	1,686 %	1,228 %

Tabla 64.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.1	G.3	G.4	G.7	G.17
pWISE121	56	0,024 %	0,042 %	0,018 %	0,021 %	0,018 %	0,152 %
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10648	629	0,004 %	0,003 %	0,035 %	0,042 %	0,010 %	0,234 %
pWISE10649	630	0,005 %	0,001 %	0,003 %	0,015 %	0,018 %	0,931 %
pWISE10650	631	0,002 %	0,006 %	0,006 %	0,018 %	0,007 %	1,232 %
pWISE10651	632	0,006 %	0,000 %	0,038 %	0,009 %	0,006 %	1,423 %
pWISE10652	633	0,008 %	0,007 %	0,059 %	0,028 %	0,042 %	0,854 %
pWISE10658	639	0,009 %	0,008 %	0,009 %	0,018 %	0,019 %	2,101 %
pWISE10653	634	0,006 %	0,017 %	0,032 %	0,035 %	0,024 %	1,647 %
pWISE10654	635	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10655	636	0,013 %	0,011 %	0,044 %	0,030 %	0,011 %	1,303 %
pWISE10656	637	0,007 %	0,013 %	0,029 %	0,016 %	0,001 %	1,100 %
pWISE10657	638	0,010 %	0,013 %	0,023 %	0,040 %	0,010 %	1,823 %

Tabla 64. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp449 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.21	G.24	G.26	G.28	G.31
pWISE121	56	0,144 %	0,201 %	0,297 %	0,083 %	0,045 %
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10648	629	0,220 %	0,454 %	0,454 %	0,015 %	0,100 %
pWISE10649	630	0,844 %	1,031 %	0,814 %	0,182 %	0,074 %
pWISE10650	631	1,016 %	1,311 %	0,767 %	0,099 %	0,097 %
pWISE10651	632	1,209 %	1,490 %	1,466 %	0,132 %	0,139 %
pWISE10652	633	0,548 %	0,748 %	0,397 %	0,067 %	0,173 %
pWISE10658	639	1,395 %	1,580 %	1,440 %	0,133 %	0,183 %
pWISE10653	634	1,457 %	1,543 %	1,096 %	0,230 %	0,010 %
pWISE10654	635	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10655	636	1,497 %	1,660 %	1,492 %	0,279 %	0,033 %
pWISE10656	637	1,011 %	1,437 %	1,161 %	0,227 %	0,037 %
pWISE10657	638	1,854 %	1,870 %	1,597 %	0,396 %	0,272 %

Tabla 65.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-8	C.-6	C.-1	C.3	C.4	C.6	C.8
pWISE121	56	0,012 %	0,011 %	0,054 %	0,017 %	0,030 %	0,342 %	0,327 %
pWISE9120	453	0,073 %	0,003 %	0,441 %	0,009 %	0,007 %	2,246 %	0,283 %
pWISE10648	629	0,104 %	0,005 %	0,441 %	0,021 %	0,006 %	1,364 %	0,058 %
pWISE10649	630	0,180 %	0,004 %	0,629 %	0,019 %	0,006 %	1,385 %	0,045 %
pWISE10650	631	0,213 %	0,013 %	0,706 %	0,008 %	0,026 %	1,618 %	0,072 %
pWISE10651	632	0,214 %	0,001 %	0,694 %	0,014 %	0,015 %	1,580 %	0,068 %
pWISE10652	633	0,180 %	0,016 %	0,633 %	0,029 %	0,002 %	1,190 %	0,102 %
pWISE10658	639	0,215 %	0,015 %	0,912 %	0,006 %	0,011 %	3,424 %	0,166 %
pWISE10653	634	0,214 %	0,013 %	0,673 %	0,010 %	0,034 %	2,026 %	0,076 %
pWISE10654	635	0,116 %	0,006 %	0,619 %	0,006 %	0,012 %	1,734 %	0,083 %
pWISE10655	636	0,134 %	0,007 %	0,633 %	0,007 %	0,010 %	1,883 %	0,067 %
pWISE10656	637	0,192 %	0,000 %	0,644 %	0,023 %	0,026 %	2,051 %	0,096 %

pWISE10657	638	0,160 %	0,016 %	0,639 %	0,018 %	0,012 %	1,781 %	0,037 %
------------	------------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------

Tabla 65. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.9	C.10	C.11	C.13	C.17	C.18
pWISE121	56	0,368 %	0,359 %	0,352 %	0,382 %	0,512 %	0,540 %
pWISE9120	453	0,540 %	1,085 %	1,322 %	3,764 %	0,217 %	0,374 %
pWISE10648	629	0,227 %	0,465 %	0,687 %	2,623 %	0,061 %	0,302 %
pWISE10649	630	0,221 %	0,453 %	0,633 %	3,790 %	0,337 %	1,053 %
pWISE10650	631	0,288 %	0,529 %	0,714 %	3,783 %	0,382 %	1,100 %
pWISE10651	632	0,224 %	0,394 %	0,607 %	4,165 %	0,375 %	1,402 %
pWISE10652	633	0,208 %	0,433 %	0,659 %	2,821 %	0,275 %	0,925 %
pWISE10658	639	0,860 %	1,776 %	2,233 %	6,015 %	0,146 %	0,386 %
pWISE10653	634	0,414 %	0,751 %	1,028 %	4,129 %	0,169 %	0,760 %
pWISE10654	635	0,271 %	0,558 %	0,713 %	3,967 %	0,438 %	1,411 %
pWISE10655	636	0,214 %	0,506 %	0,684 %	5,548 %	0,754 %	2,321 %
pWISE10656	637	0,254 %	0,551 %	0,807 %	5,158 %	0,485 %	1,716 %
pWISE10657	638	0,242 %	0,446 %	0,664 %	5,200 %	0,269 %	1,160 %

Tabla 65. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.19	C.22	C.25	C.27	C.29	C.33
pWISE121	56	0,501 %	0,378 %	0,115 %	0,085 %	0,123 %	0,057 %
pWISE9120	453	0,909 %	0,172 %	0,273 %	0,260 %	0,248 %	0,246 %
pWISE10648	629	0,625 %	0,222 %	0,282 %	0,261 %	0,277 %	0,235 %
pWISE10649	630	1,766 %	1,032 %	0,795 %	0,964 %	1,013 %	0,978 %
pWISE10650	631	1,725 %	1,211 %	1,049 %	1,275 %	1,301 %	1,220 %
pWISE10651	632	2,292 %	1,701 %	1,484 %	1,628 %	1,595 %	1,569 %
pWISE10652	633	1,513 %	1,196 %	0,887 %	1,194 %	1,195 %	1,201 %
pWISE10658	639	1,025 %	0,404 %	0,451 %	0,402 %	0,492 %	0,417 %
pWISE10653	634	1,484 %	0,538 %	0,494 %	0,593 %	0,597 %	0,540 %
pWISE10654	635	2,207 %	1,243 %	1,078 %	1,198 %	1,252 %	1,150 %
pWISE10655	636	3,457 %	2,444 %	1,948 %	2,362 %	2,346 %	1,977 %
pWISE10656	637	2,681 %	1,942 %	1,522 %	1,835 %	1,833 %	1,617 %
pWISE10657	638	2,127 %	1,728 %	1,424 %	1,633 %	1,598 %	1,289 %

Tabla 66.

Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana

pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-8	C.-6	C.-1	C.3	C.4	C.6	C.8
pWISE121	56	0,002 %	0,015 %	0,064 %	0,011 %	0,014 %	0,411 %	0,437 %
pWISE9120	453	0,092 %	0,004 %	0,238 %	0,007 %	0,002 %	0,988 %	0,400 %
pWISE10648	629	0,001 %	0,003 %	0,131 %	0,002 %	0,004 %	0,188 %	0,046 %
pWISE10649	630	0,017 %	0,001 %	0,109 %	0,022 %	0,002 %	0,226 %	0,008 %
pWISE10650	631	0,112 %	0,009 %	0,054 %	0,007 %	0,024 %	0,209 %	0,046 %
pWISE10651	632	0,046 %	0,002 %	0,133 %	0,014 %	0,000 %	0,023 %	0,009 %
pWISE10652	633	0,085 %	0,008 %	0,003 %	0,041 %	0,002 %	0,009 %	0,058 %
pWISE10658	639	0,084 %	0,014 %	0,379 %	0,002 %	0,003 %	0,283 %	0,034 %
pWISE10653	634	0,025 %	0,019 %	0,036 %	0,014 %	0,010 %	0,049 %	0,017 %
pWISE10654	635	0,039 %	0,008 %	0,205 %	0,004 %	0,013 %	0,819 %	0,056 %
pWISE10655	636	0,053 %	0,009 %	0,003 %	0,009 %	0,009 %	0,024 %	0,015 %
pWISE10656	637	0,008 %	0,000 %	0,023 %	0,012 %	0,012 %	0,363 %	0,033 %
pWISE10657	638	0,091 %	0,006 %	0,329 %	0,004 %	0,017 %	0,316 %	0,013 %

Tabla 66. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.9	C.10	C.11	C.13	C.17	C.18
pWISE121	56	0,454 %	0,441 %	0,409 %	0,435 %	0,456 %	0,378 %
pWISE9120	453	0,763 %	0,710 %	0,909 %	1,971 %	0,295 %	0,333 %
pWISE10648	629	0,030 %	0,128 %	0,114 %	0,112 %	0,031 %	0,030 %
pWISE10649	630	0,062 %	0,180 %	0,184 %	0,595 %	0,131 %	0,283 %
pWISE10650	631	0,018 %	0,021 %	0,075 %	0,562 %	0,071 %	0,321 %
pWISE10651	632	0,006 %	0,071 %	0,086 %	0,609 %	0,103 %	0,437 %
pWISE10652	633	0,000 %	0,039 %	0,002 %	0,007 %	0,024 %	0,102 %
pWISE10658	639	0,074 %	0,073 %	0,181 %	0,175 %	0,038 %	0,087 %
pWISE10653	634	0,068 %	0,034 %	0,050 %	0,062 %	0,039 %	0,018 %
pWISE10654	635	0,097 %	0,232 %	0,288 %	2,243 %	0,085 %	0,524 %
pWISE10655	636	0,072 %	0,006 %	0,008 %	0,308 %	0,036 %	0,071 %
pWISE10656	637	0,023 %	0,120 %	0,224 %	0,670 %	0,026 %	0,020 %
pWISE10657	638	0,007 %	0,104 %	0,246 %	0,940 %	0,023 %	0,287 %

Tabla 66. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.19	C.22	C.25	C.27	C.29	C.33
pWISE121	56	0,467 %	0,079 %	0,073 %	0,021 %	0,076 %	0,056 %
pWISE9120	453	0,349 %	0,065 %	0,024 %	0,178 %	0,173 %	0,211 %
pWISE10648	629	0,045 %	0,018 %	0,074 %	0,041 %	0,018 %	0,059 %
pWISE10649	630	0,344 %	0,334 %	0,217 %	0,193 %	0,257 %	0,243 %
pWISE10650	631	0,336 %	0,243 %	0,254 %	0,277 %	0,291 %	0,303 %
pWISE10651	632	0,560 %	0,407 %	0,348 %	0,342 %	0,393 %	0,402 %
pWISE10652	633	0,017 %	0,124 %	0,095 %	0,117 %	0,095 %	0,052 %
pWISE10658	639	0,148 %	0,015 %	0,044 %	0,043 %	0,074 %	0,052 %
pWISE10653	634	0,039 %	0,011 %	0,025 %	0,009 %	0,025 %	0,051 %
pWISE10654	635	0,972 %	0,499 %	0,472 %	0,555 %	0,601 %	0,480 %
pWISE10655	636	0,153 %	0,009 %	0,067 %	0,031 %	0,058 %	0,045 %
pWISE10656	637	0,238 %	0,345 %	0,258 %	0,335 %	0,259 %	0,324 %
pWISE10657	638	0,296 %	0,214 %	0,250 %	0,224 %	0,297 %	0,264 %

Tabla 67.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico diana opuesta		
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-4	G.2	G.16
pWISE121	56	0,003 %	0,028 %	0,546 %
pWISE9120	453	0,005 %	0,006 %	5,479 %
pWISE10648	629	0,016 %	0,008 %	5,415 %
pWISE10649	630	0,007 %	0,014 %	8,924 %
pWISE10650	631	0,010 %	0,020 %	10,706 %
pWISE10651	632	0,011 %	0,012 %	10,714 %
pWISE10652	633	0,018 %	0,014 %	7,916 %
pWISE10658	639	0,021 %	0,005 %	8,970 %
pWISE10653	634	0,003 %	0,005 %	9,975 %
pWISE10654	635	0,016 %	0,015 %	10,168 %
pWISE10655	636	0,007 %	0,009 %	14,117 %
pWISE10656	637	0,030 %	0,015 %	13,045 %
pWISE10657	638	0,005 %	0,018 %	10,448 %

Tabla 68.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp135 en la hebra de ADN genómico diana opuesta		
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-4	G.2	G.16

pWISE121	56	0,005 %	0,002 %	0,290 %
pWISE9120	453	0,001 %	0,004 %	1,864 %
pWISE10648	629	0,013 %	0,007 %	1,070 %
pWISE10649	630	0,010 %	0,015 %	1,642 %
pWISE10650	631	0,005 %	0,014 %	0,576 %
pWISE10651	632	0,012 %	0,005 %	2,047 %
pWISE10652	633	0,020 %	0,015 %	0,034 %
pWISE10658	639	0,026 %	0,000 %	0,597 %
pWISE10653	634	0,004 %	0,007 %	0,725 %
pWISE10654	635	0,011 %	0,017 %	5,446 %
pWISE10655	636	0,004 %	0,009 %	1,165 %
pWISE10656	637	0,007 %	0,013 %	1,794 %
pWISE10657	638	0,003 %	0,004 %	1,601 %

Tabla 69.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.-1	C.4	C.6	C.7
pWISE121	56	0,000 %	0,070 %	0,068 %	0,094 %	0,270 %
pWISE9120	453	0,014 %	0,191 %	0,231 %	0,036 %	0,390 %
pWISE10648	629	0,005 %	0,063 %	0,072 %	0,000 %	0,120 %
pWISE10649	630	0,004 %	0,052 %	0,025 %	0,022 %	0,098 %
pWISE10650	631	0,023 %	0,160 %	0,165 %	0,059 %	0,260 %
pWISE10651	632	0,010 %	0,109 %	0,145 %	0,042 %	0,203 %
pWISE10652	633	0,023 %	0,103 %	0,092 %	0,031 %	0,086 %
pWISE10658	639	0,003 %	0,324 %	0,259 %	0,128 %	0,397 %
pWISE10653	634	0,010 %	0,148 %	0,172 %	0,072 %	0,154 %
pWISE10654	635	0,013 %	0,213 %	0,151 %	0,057 %	0,180 %
pWISE10655	636	0,008 %	0,174 %	0,178 %	0,073 %	0,179 %
pWISE10656	637	0,017 %	0,146 %	0,191 %	0,038 %	0,216 %
pWISE10657	638	0,026 %	0,201 %	0,207 %	0,044 %	0,165 %

Tabla 69. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.11	C.12	C.16	C.17	C.18
pWISE121	56	0,168 %	0,254 %	0,726 %	0,805 %	0,793 %
pWISE9120	453	1,885 %	1,898 %	0,572 %	0,359 %	0,357 %
pWISE10648	629	0,525 %	0,487 %	0,212 %	0,125 %	0,111 %
pWISE10649	630	0,546 %	0,504 %	0,154 %	0,117 %	0,127 %
pWISE10650	631	1,226 %	1,139 %	0,525 %	0,377 %	0,380 %
pWISE10651	632	1,372 %	1,256 %	0,538 %	0,422 %	0,436 %
pWISE10652	633	0,594 %	0,592 %	0,344 %	0,251 %	0,257 %
pWISE10658	639	2,299 %	2,086 %	0,433 %	0,187 %	0,217 %

pWISE10653	634	1,022 %	0,953 %	0,257 %	0,137 %	0,106 %
pWISE10654	635	1,214 %	1,107 %	0,260 %	0,170 %	0,198 %
pWISE10655	636	1,333 %	1,139 %	0,265 %	0,149 %	0,198 %
pWISE10656	637	1,187 %	0,964 %	0,261 %	0,139 %	0,108 %
pWISE10657	638	1,170 %	1,025 %	0,270 %	0,128 %	0,112 %

Tabla 69. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.25	C.26	C.27	C.28	C.30
pWISE121	56	0,052 %	0,120 %	0,087 %	0,175 %	0,082 %
pWISE9120	453	0,040 %	0,031 %	0,051 %	0,074 %	0,058 %
pWISE10648	629	0,053 %	0,087 %	0,125 %	0,183 %	0,246 %
pWISE10649	630	0,019 %	0,021 %	0,022 %	0,032 %	0,017 %
pWISE10650	631	0,055 %	0,066 %	0,056 %	0,077 %	0,030 %
pWISE10651	632	0,049 %	0,037 %	0,043 %	0,037 %	0,039 %
pWISE10652	633	0,045 %	0,040 %	0,040 %	0,047 %	0,004 %
pWISE10658	639	0,005 %	0,008 %	0,022 %	0,017 %	0,005 %
pWISE10653	634	0,003 %	0,003 %	0,003 %	0,010 %	0,003 %
pWISE10654	635	0,031 %	0,021 %	0,021 %	0,040 %	0,017 %
pWISE10655	636	0,017 %	0,033 %	0,047 %	0,029 %	0,016 %
pWISE10656	637	0,024 %	0,017 %	0,028 %	0,024 %	0,014 %
pWISE10657	638	0,031 %	0,034 %	0,032 %	0,032 %	0,003 %

Tabla 70.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.-1	C.4	C.6	C.7
pWISE121	56	0,000 %	0,077 %	0,005 %	0,012 %	0,004 %
pWISE9120	453	0,019 %	0,090 %	0,057 %	0,026 %	0,056 %
pWISE10648	629	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10649	630	0,006 %	0,003 %	0,012 %	0,007 %	0,015 %
pWISE10650	631	0,013 %	0,037 %	0,063 %	0,008 %	0,009 %
pWISE10651	632	0,003 %	0,053 %	0,002 %	0,015 %	0,063 %
pWISE10652	633	0,009 %	0,041 %	0,057 %	0,003 %	0,008 %
pWISE10658	639	0,004 %	0,004 %	0,058 %	0,027 %	0,004 %
pWISE10653	634	0,005 %	0,035 %	0,001 %	0,062 %	0,081 %
pWISE10654	635	0,009 %	0,051 %	0,080 %	0,036 %	0,049 %
pWISE10655	636	0,011 %	0,105 %	0,111 %	0,046 %	0,119 %
pWISE10656	637	0,025 %	0,010 %	0,015 %	0,025 %	0,020 %
pWISE10657	638	0,009 %	0,011 %	0,020 %	0,006 %	0,070 %

Tabla 70. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana				
--	--	---	--	--	--	--

pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.11	C.12	C.16	C.17	C.18
pWISE121	56	0,040 %	0,101 %	0,050 %	0,043 %	0,083 %
pWISE9120	453	0,470 %	0,501 %	0,028 %	0,098 %	0,010 %
pWISE10648	629	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10649	630	0,053 %	0,054 %	0,088 %	0,082 %	0,080 %
pWISE10650	631	0,012 %	0,078 %	0,090 %	0,003 %	0,012 %
pWISE10651	632	0,175 %	0,169 %	0,189 %	0,116 %	0,153 %
pWISE10652	633	0,330 %	0,320 %	0,227 %	0,160 %	0,186 %
pWISE10658	639	0,316 %	0,283 %	0,003 %	0,033 %	0,042 %
pWISE10653	634	0,040 %	0,099 %	0,042 %	0,067 %	0,043 %
pWISE10654	635	0,063 %	0,019 %	0,082 %	0,034 %	0,083 %
pWISE10655	636	0,033 %	0,073 %	0,055 %	0,019 %	0,034 %
pWISE10656	637	0,152 %	0,064 %	0,025 %	0,049 %	0,015 %
pWISE10657	638	0,198 %	0,061 %	0,068 %	0,024 %	0,008 %

Tabla 70. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.25	C.26	C.27	C.28	C.30
pWISE121	56	0,028 %	0,012 %	0,029 %	0,078 %	0,028 %
pWISE9120	453	0,043 %	0,031 %	0,002 %	0,007 %	0,008 %
pWISE10648	629	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10649	630	0,020 %	0,029 %	0,016 %	0,037 %	0,024 %
pWISE10650	631	0,002 %	0,009 %	0,013 %	0,005 %	0,014 %
pWISE10651	632	0,011 %	0,006 %	0,005 %	0,006 %	0,013 %
pWISE10652	633	0,031 %	0,025 %	0,025 %	0,027 %	0,006 %
pWISE10658	639	0,007 %	0,003 %	0,006 %	0,010 %	0,007 %
pWISE10653	634	0,005 %	0,005 %	0,005 %	0,014 %	0,005 %
pWISE10654	635	0,044 %	0,029 %	0,029 %	0,021 %	0,015 %
pWISE10655	636	0,002 %	0,028 %	0,008 %	0,002 %	0,010 %
pWISE10656	637	0,015 %	0,025 %	0,039 %	0,034 %	0,020 %
pWISE10657	638	0,003 %	0,020 %	0,019 %	0,019 %	0,005 %

Tabla 71.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.-7	G.-6	G.2
pWISE121	56	0,008 %	0,033 %	0,022 %	0,023 %	0,094 %
pWISE9120	453	0,029 %	0,031 %	0,000 %	0,000 %	0,007 %
pWISE10648	629	0,014 %	0,000 %	0,010 %	0,000 %	0,010 %
pWISE10649	630	0,014 %	0,016 %	0,008 %	0,004 %	0,000 %
pWISE10650	631	0,040 %	0,017 %	0,017 %	0,020 %	0,008 %
pWISE10651	632	0,033 %	0,009 %	0,023 %	0,000 %	0,016 %
pWISE10652	633	0,035 %	0,004 %	0,004 %	0,000 %	0,008 %

pWISE10658	639	0,091 %	0,023 %	0,033 %	0,011 %	0,009 %
pWISE10653	634	0,086 %	0,044 %	0,031 %	0,007 %	0,021 %
pWISE10654	635	0,093 %	0,026 %	0,013 %	0,013 %	0,007 %
pWISE10655	636	0,046 %	0,029 %	0,015 %	0,005 %	0,011 %
pWISE10656	637	0,035 %	0,010 %	0,010 %	0,010 %	0,007 %
pWISE10657	638	0,040 %	0,023 %	0,008 %	0,010 %	0,032 %

Tabla 71. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.14	G.21	G.23	G.24	G.32
pWISE121	56	0,491 %	0,310 %	0,243 %	0,248 %	0,358 %
pWISE9120	453	0,690 %	0,193 %	0,117 %	0,077 %	0,136 %
pWISE10648	629	0,352 %	0,077 %	0,135 %	0,092 %	0,222 %
pWISE10649	630	0,301 %	0,139 %	0,106 %	0,101 %	0,055 %
pWISE10650	631	0,567 %	0,296 %	0,303 %	0,211 %	0,116 %
pWISE10651	632	1,042 %	0,527 %	0,518 %	0,437 %	0,128 %
pWISE10652	633	0,603 %	0,427 %	0,415 %	0,331 %	0,116 %
pWISE10658	639	1,085 %	0,480 %	0,232 %	0,139 %	0,087 %
pWISE10653	634	0,885 %	0,391 %	0,144 %	0,075 %	0,051 %
pWISE10654	635	0,833 %	0,524 %	0,281 %	0,235 %	0,146 %
pWISE10655	636	0,989 %	0,718 %	0,446 %	0,313 %	0,112 %
pWISE10656	637	0,756 %	0,540 %	0,366 %	0,244 %	0,108 %
pWISE10657	638	0,904 %	0,745 %	0,680 %	0,477 %	0,163 %

Tabla 72.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.-7	G.-6	G.2
pWISE121	56	0,011 %	0,015 %	0,001 %	0,013 %	0,019 %
pWISE9120	453	0,017 %	0,031 %	0,000 %	0,000 %	0,010 %
pWISE10648	629	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10649	630	0,019 %	0,000 %	0,011 %	0,006 %	0,000 %
pWISE10650	631	0,057 %	0,024 %	0,024 %	0,028 %	0,011 %
pWISE10651	632	0,012 %	0,012 %	0,009 %	0,000 %	0,023 %
pWISE10652	633	0,033 %	0,006 %	0,006 %	0,000 %	0,012 %
pWISE10658	639	0,027 %	0,018 %	0,013 %	0,001 %	0,013 %
pWISE10653	634	0,043 %	0,043 %	0,005 %	0,010 %	0,010 %
pWISE10654	635	0,092 %	0,017 %	0,018 %	0,009 %	0,010 %
pWISE10655	636	0,020 %	0,002 %	0,021 %	0,006 %	0,016 %

pWISE10656	637	0,010 %	0,005 %	0,005 %	0,005 %	0,010 %
pWISE10657	638	0,016 %	0,023 %	0,002 %	0,014 %	0,036 %

Tabla 72. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp389 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.14	G.21	G.23	G.24	G.32
pWISE121	56	0,002 %	0,092 %	0,047 %	0,081 %	0,074 %
pWISE9120	453	0,190 %	0,124 %	0,082 %	0,064 %	0,117 %
pWISE10648	629	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10649	630	0,119 %	0,079 %	0,080 %	0,025 %	0,040 %
pWISE10650	631	0,054 %	0,060 %	0,107 %	0,100 %	0,041 %
pWISE10651	632	0,098 %	0,009 %	0,003 %	0,038 %	0,023 %
pWISE10652	633	0,457 %	0,402 %	0,384 %	0,315 %	0,116 %
pWISE10658	639	0,115 %	0,092 %	0,083 %	0,026 %	0,005 %
pWISE10653	634	0,090 %	0,052 %	0,001 %	0,001 %	0,004 %
pWISE10654	635	0,101 %	0,037 %	0,013 %	0,010 %	0,019 %
pWISE10655	636	0,252 %	0,125 %	0,201 %	0,154 %	0,012 %
pWISE10656	637	0,202 %	0,281 %	0,231 %	0,098 %	0,054 %
pWISE10657	638	0,352 %	0,182 %	0,117 %	0,090 %	0,027 %

Tabla 73.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.2	C.6	C.7	C.8	C.9
pWISE121	56	0,008 %	0,040 %	0,048 %	0,079 %	0,063 %	0,079 %
pWISE9120	453	0,026 %	0,677 %	0,722 %	0,774 %	1,116 %	1,690 %
pWISE10648	629	0,000 %	0,348 %	0,306 %	0,278 %	0,550 %	0,752 %
pWISE10649	630	0,022 %	0,274 %	0,193 %	0,162 %	0,282 %	0,453 %
pWISE10650	631	0,018 %	0,358 %	0,398 %	0,391 %	0,552 %	0,843 %
pWISE10651	632	0,032 %	0,421 %	0,423 %	0,334 %	0,583 %	0,888 %
pWISE10652	633	0,018 %	0,437 %	0,357 %	0,266 %	0,377 %	0,673 %
pWISE10658	639	0,052 %	0,650 %	0,482 %	0,402 %	0,774 %	1,384 %
pWISE10653	634	0,040 %	0,358 %	0,213 %	0,181 %	0,326 %	0,640 %
pWISE10654	635	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10655	636	0,029 %	0,722 %	0,483 %	0,294 %	0,473 %	0,904 %
pWISE10656	637	0,027 %	0,647 %	0,335 %	0,204 %	0,308 %	0,782 %
pWISE10657	638	0,007 %	0,581 %	0,323 %	0,176 %	0,288 %	0,685 %

Tabla 73. (cont.)

Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana

pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.11	C.12	C.14	C.15	C.16
pWISE121	56	0,103 %	0,143 %	0,254 %	0,531 %	1,428 %
pWISE9120	453	3,444 %	3,405 %	0,413 %	0,658 %	0,838 %
pWISE10648	629	1,692 %	1,622 %	0,237 %	0,313 %	0,341 %
pWISE10649	630	1,488 %	1,413 %	0,097 %	0,200 %	0,303 %
pWISE10650	631	2,411 %	2,336 %	0,269 %	0,516 %	0,646 %
pWISE10651	632	2,591 %	2,490 %	0,265 %	0,449 %	0,642 %
pWISE10652	633	1,927 %	1,718 %	0,236 %	0,410 %	0,580 %
pWISE10658	639	3,816 %	3,626 %	0,055 %	0,095 %	0,171 %
pWISE10653	634	2,042 %	1,859 %	0,058 %	0,080 %	0,130 %
pWISE10654	635	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10655	636	3,942 %	3,676 %	0,070 %	0,088 %	0,196 %
pWISE10656	637	3,596 %	3,163 %	0,061 %	0,124 %	0,192 %
pWISE10657	638	3,217 %	2,969 %	0,042 %	0,098 %	0,163 %

Tabla 73. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.17	C.19	C.27	C.28	C.30
pWISE121	56	3,824 %	1,475 %	0,159 %	0,151 %	0,008 %
pWISE9120	453	0,942 %	1,142 %	0,052 %	0,052 %	0,039 %
pWISE10648	629	0,411 %	0,801 %	0,021 %	0,007 %	0,000 %
pWISE10649	630	0,343 %	0,769 %	0,026 %	0,030 %	0,018 %
pWISE10650	631	0,700 %	1,537 %	0,022 %	0,051 %	0,015 %
pWISE10651	632	0,736 %	1,643 %	0,019 %	0,016 %	0,009 %
pWISE10652	633	0,671 %	1,339 %	0,043 %	0,039 %	0,004 %
pWISE10658	639	0,250 %	0,630 %	0,000 %	0,028 %	0,012 %
pWISE10653	634	0,149 %	0,465 %	0,015 %	0,008 %	0,004 %
pWISE10654	635	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10655	636	0,289 %	1,306 %	0,018 %	0,042 %	0,000 %
pWISE10656	637	0,274 %	1,254 %	0,014 %	0,013 %	0,010 %
pWISE10657	638	0,248 %	1,040 %	0,008 %	0,015 %	0,000 %

Tabla 74.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.2	C.6	C.7	C.8	C.9
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10648	629	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10649	630	0,031 %	0,103 %	0,050 %	0,046 %	0,028 %	0,031 %
pWISE10650	631	0,026 %	0,121 %	0,148 %	0,137 %	0,128 %	0,135 %
pWISE10651	632	0,037 %	0,096 %	0,194 %	0,127 %	0,254 %	0,270 %
pWISE10652	633	0,026 %	0,251 %	0,160 %	0,135 %	0,208 %	0,313 %

pWISE10658	639	0,035 %	0,014 %	0,194 %	0,189 %	0,107 %	0,126 %
pWISE10653	634	0,018 %	0,010 %	0,011 %	0,017 %	0,007 %	0,039 %
pWISE10654	635	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10655	636	0,008 %	0,218 %	0,110 %	0,041 %	0,134 %	0,098 %
pWISE10656	637	0,011 %	0,141 %	0,017 %	0,021 %	0,029 %	0,114 %
pWISE10657	638	0,001 %	0,062 %	0,132 %	0,020 %	0,017 %	0,036 %

Tabla 74. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.11	C.12	C.14	C.15	C.16
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10648	629	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10649	630	0,170 %	0,145 %	0,066 %	0,089 %	0,062 %
pWISE10650	631	0,196 %	0,198 %	0,143 %	0,096 %	0,132 %
pWISE10651	632	0,443 %	0,467 %	0,030 %	0,065 %	0,171 %
pWISE10652	633	0,570 %	0,483 %	0,114 %	0,161 %	0,202 %
pWISE10658	639	0,145 %	0,029 %	0,019 %	0,007 %	0,004 %
pWISE10653	634	0,052 %	0,068 %	0,044 %	0,025 %	0,018 %
pWISE10654	635	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10655	636	0,521 %	0,431 %	0,000 %	0,004 %	0,090 %
pWISE10656	637	0,321 %	0,324 %	0,023 %	0,003 %	0,007 %
pWISE10657	638	0,165 %	0,151 %	0,027 %	0,052 %	0,090 %

Tabla 74. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.17	C.19	C.27	C.28	C.30
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10648	629	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10649	630	0,078 %	0,110 %	0,025 %	0,019 %	0,025 %
pWISE10650	631	0,139 %	0,136 %	0,021 %	0,012 %	0,021 %
pWISE10651	632	0,233 %	0,409 %	0,015 %	0,011 %	0,013 %
pWISE10652	633	0,290 %	0,355 %	0,023 %	0,029 %	0,005 %
pWISE10658	639	0,048 %	0,074 %	0,000 %	0,029 %	0,016 %
pWISE10653	634	0,054 %	0,035 %	0,008 %	0,001 %	0,006 %
pWISE10654	635	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10655	636	0,166 %	0,096 %	0,025 %	0,059 %	0,000 %
pWISE10656	637	0,040 %	0,062 %	0,010 %	0,001 %	0,004 %
pWISE10657	638	0,047 %	0,015 %	0,011 %	0,012 %	0,000 %

Tabla 75.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.4	G.21	G.23
pWISE121	56	0,008 %	0,000 %	0,008 %	0,635 %	1,015 %
pWISE9120	453	0,045 %	0,039 %	0,232 %	1,019 %	0,806 %
pWISE10648	629	0,014 %	0,014 %	0,160 %	0,717 %	0,654 %
pWISE10649	630	0,035 %	0,018 %	0,070 %	0,707 %	0,667 %
pWISE10650	631	0,004 %	0,007 %	0,118 %	1,208 %	1,080 %
pWISE10651	632	0,027 %	0,003 %	0,088 %	1,378 %	1,425 %
pWISE10652	633	0,009 %	0,014 %	0,054 %	1,281 %	1,151 %
pWISE10658	639	0,070 %	0,061 %	0,030 %	0,576 %	0,891 %
pWISE10653	634	0,112 %	0,087 %	0,069 %	0,639 %	0,554 %
pWISE10654	635	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10655	636	0,033 %	0,047 %	0,124 %	1,279 %	1,343 %
pWISE10656	637	0,013 %	0,007 %	0,124 %	1,081 %	1,160 %
pWISE10657	638	0,021 %	0,013 %	0,093 %	0,932 %	1,152 %

Tabla 75. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico diana opuesta			
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.24	G.25	G.26	G.33
pWISE121	56	0,206 %	0,294 %	0,087 %	0,103 %
pWISE9120	453	0,535 %	0,316 %	0,206 %	0,064 %
pWISE10648	629	0,480 %	0,320 %	0,244 %	0,104 %
pWISE10649	630	0,431 %	0,256 %	0,167 %	0,227 %
pWISE10650	631	0,790 %	0,447 %	0,195 %	0,232 %
pWISE10651	632	0,901 %	0,623 %	0,453 %	0,268 %
pWISE10652	633	0,723 %	0,450 %	0,346 %	0,313 %
pWISE10658	639	0,615 %	0,271 %	0,165 %	0,168 %
pWISE10653	634	0,333 %	0,218 %	0,112 %	0,093 %
pWISE10654	635	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10655	636	0,901 %	0,348 %	0,213 %	0,212 %
pWISE10656	637	0,773 %	0,360 %	0,237 %	0,260 %
pWISE10657	638	0,751 %	0,354 %	0,221 %	0,152 %

Tabla 76.

Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico diana opuesta
--

pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.4	G.21	G.23
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10648	629	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10649	630	0,002 %	0,025 %	0,003 %	0,079 %	0,045 %
pWISE10650	631	0,005 %	0,010 %	0,031 %	0,215 %	0,113 %
pWISE10651	632	0,021 %	0,004 %	0,006 %	0,118 %	0,042 %
pWISE10652	633	0,013 %	0,019 %	0,013 %	0,054 %	0,289 %
pWISE10658	639	0,020 %	0,066 %	0,012 %	0,076 %	0,020 %
pWISE10653	634	0,007 %	0,016 %	0,029 %	0,028 %	0,161 %
pWISE10654	635	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10655	636	0,013 %	0,023 %	0,056 %	0,312 %	0,093 %
pWISE10656	637	0,009 %	0,010 %	0,103 %	0,328 %	0,261 %
pWISE10657	638	0,013 %	0,008 %	0,010 %	0,059 %	0,164 %

Tabla 76. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp390 en la hebra de ADN genómico diana opuesta			
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.24	G.25	G.26	G.33
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9120	453	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10648	629	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10649	630	0,022 %	0,015 %	0,080 %	0,046 %
pWISE10650	631	0,138 %	0,058 %	0,048 %	0,087 %
pWISE10651	632	0,193 %	0,132 %	0,093 %	0,093 %
pWISE10652	633	0,038 %	0,040 %	0,008 %	0,056 %
pWISE10658	639	0,042 %	0,029 %	0,027 %	0,001 %
pWISE10653	634	0,121 %	0,007 %	0,007 %	0,044 %
pWISE10654	635	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10655	636	0,173 %	0,063 %	0,036 %	0,057 %
pWISE10656	637	0,071 %	0,027 %	0,028 %	0,040 %
pWISE10657	638	0,117 %	0,045 %	0,008 %	0,024 %

Tabla 77.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp133 en la hebra de ADN genómico no diana						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.1	C.11	C.17	C.20	C.24	C.27
pWISE121	56	0,019 %	0,124 %	0,171 %	0,797 %	0,316 %	0,268 %	0,051 %

pWISE9120	453	0,030 %	0,166 %	0,814 %	0,125 %	2,567 %	0,070 %	0,015 %
pWISE10648	629	0,009 %	0,133 %	0,148 %	0,079 %	1,611 %	0,068 %	0,015 %
pWISE10649	630	0,021 %	0,174 %	0,113 %	0,066 %	2,203 %	0,196 %	0,030 %
pWISE10650	631	0,021 %	0,224 %	0,190 %	0,130 %	4,514 %	0,618 %	0,060 %
pWISE10651	632	0,024 %	0,243 %	0,168 %	0,109 %	4,555 %	0,734 %	0,088 %
pWISE10652	633	0,034 %	0,177 %	0,167 %	0,087 %	3,410 %	0,687 %	0,065 %
pWISE10658	639	0,018 %	0,236 %	0,276 %	0,062 %	4,315 %	0,102 %	0,030 %
pWISE10653	634	0,008 %	0,125 %	0,125 %	0,047 %	2,812 %	0,132 %	0,008 %
pWISE10654	635	0,017 %	0,253 %	0,128 %	0,065 %	5,429 %	0,450 %	0,067 %
pWISE10655	636	0,017 %	0,245 %	0,149 %	0,077 %	6,715 %	0,691 %	0,102 %
pWISE10656	637	0,007 %	0,222 %	0,129 %	0,037 %	6,144 %	0,752 %	0,088 %
pWISE10657	638	0,009 %	0,156 %	0,117 %	0,030 %	4,792 %	0,764 %	0,077 %

Tabla 78.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp133 en la hebra de ADN genómico no diana						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-5	C.1	C.11	C.17	C.20	C.24	C.27
pWISE121	56	0,022 %	0,043 %	0,049 %	0,184 %	0,080 %	0,076 %	0,028 %
pWISE9120	453	0,020 %	0,063 %	0,220 %	0,025 %	0,379 %	0,029 %	0,008 %
pWISE10648	629	0,010 %	0,049 %	0,029 %	0,038 %	0,168 %	0,032 %	0,020 %
pWISE10649	630	0,017 %	0,056 %	0,029 %	0,010 %	0,306 %	0,087 %	0,019 %
pWISE10650	631	0,019 %	0,078 %	0,077 %	0,031 %	0,565 %	0,135 %	0,025 %
pWISE10651	632	0,030 %	0,063 %	0,034 %	0,011 %	0,740 %	0,152 %	0,056 %
pWISE10652	633	0,023 %	0,037 %	0,051 %	0,050 %	0,541 %	0,200 %	0,030 %
pWISE10658	639	0,011 %	0,064 %	0,025 %	0,020 %	0,496 %	0,023 %	0,019 %
pWISE10653	634	0,010 %	0,035 %	0,046 %	0,026 %	0,533 %	0,038 %	0,013 %
pWISE10654	635	0,012 %	0,050 %	0,056 %	0,025 %	0,567 %	0,055 %	0,025 %
pWISE10655	636	0,013 %	0,073 %	0,035 %	0,055 %	1,195 %	0,137 %	0,036 %
pWISE10656	637	0,007 %	0,025 %	0,035 %	0,018 %	0,818 %	0,209 %	0,025 %

pWISE10657	638	0,008 %	0,055 %	0,045 %	0,020 %	0,939 %	0,249 %	0,044 %
------------	------------	------------	------------	---------	------------	------------	------------	------------

Tabla 79.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp133 en la hebra de ADN genómico diana opuesta						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.-6	G.3	G.4	G.6	G.7
pWISE121	56	0,006 %	0,020 %	0,022 %	0,128 %	0,127 %	0,173 %	0,131 %
pWISE9120	453	0,004 %	0,004 %	0,007 %	0,033 %	0,044 %	0,013 %	0,045 %
pWISE10648	629	0,003 %	0,005 %	0,002 %	0,030 %	0,044 %	0,013 %	0,044 %
pWISE10649	630	0,003 %	0,005 %	0,004 %	0,034 %	0,057 %	0,019 %	0,065 %
pWISE10650	631	0,001 %	0,004 %	0,015 %	0,016 %	0,064 %	0,005 %	0,055 %
pWISE10651	632	0,004 %	0,006 %	0,018 %	0,037 %	0,064 %	0,016 %	0,068 %
pWISE10652	633	0,002 %	0,005 %	0,003 %	0,013 %	0,026 %	0,013 %	0,049 %
pWISE10658	639	0,008 %	0,001 %	0,008 %	0,013 %	0,033 %	0,011 %	0,040 %
pWISE10653	634	0,002 %	0,004 %	0,014 %	0,011 %	0,042 %	0,009 %	0,061 %
pWISE10654	635	0,006 %	0,010 %	0,009 %	0,036 %	0,068 %	0,005 %	0,039 %
pWISE10655	636	0,004 %	0,002 %	0,007 %	0,016 %	0,031 %	0,009 %	0,043 %
pWISE10656	637	0,003 %	0,006 %	0,010 %	0,018 %	0,032 %	0,004 %	0,034 %
pWISE10657	638	0,007 %	0,004 %	0,007 %	0,015 %	0,020 %	0,005 %	0,031 %

Tabla 79. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp133 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.10	G.12	G.15	G.16	G.22	G.26
pWISE121	56	0,171 %	0,263 %	0,737 %	1,561 %	0,321 %	0,065 %
pWISE9120	453	3,694 %	4,314 %	2,470 %	2,091 %	2,252 %	0,280 %
pWISE10648	629	1,359 %	2,899 %	2,006 %	1,700 %	1,659 %	0,246 %
pWISE10649	630	1,344 %	3,271 %	2,224 %	1,861 %	2,403 %	0,298 %
pWISE10650	631	1,453 %	3,751 %	2,751 %	2,324 %	3,657 %	0,492 %
pWISE10651	632	1,089 %	2,386 %	1,794 %	1,512 %	3,057 %	0,473 %
pWISE10652	633	0,626 %	1,462 %	1,169 %	0,980 %	2,523 %	0,486 %
pWISE10658	639	6,851 %	7,752 %	5,354 %	4,701 %	4,565 %	0,483 %
pWISE10653	634	3,298 %	6,114 %	4,332 %	3,691 %	3,513 %	0,252 %

pWISE10654	635	4,019 %	8,284 %	5,971 %	5,023 %	5,746 %	0,644 %
pWISE10655	636	3,151 %	6,759 %	4,916 %	4,235 %	5,713 %	0,610 %
pWISE10656	637	2,221 %	4,167 %	3,230 %	2,818 %	4,490 %	0,448 %
pWISE10657	638	1,446 %	2,598 %	2,309 %	2,002 %	3,808 %	0,437 %

Tabla 80.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp133 en la hebra de ADN genómico diana opuesta						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.-6	G.3	G.4	G.6	G.7
pWISE121	56	0,004 %	0,016 %	0,011 %	0,023 %	0,041 %	0,044 %	0,044 %
pWISE9120	453	0,005 %	0,003 %	0,006 %	0,023 %	0,035 %	0,009 %	0,022 %
pWISE10648	629	0,005 %	0,005 %	0,001 %	0,025 %	0,025 %	0,013 %	0,032 %
pWISE10649	630	0,003 %	0,005 %	0,003 %	0,048 %	0,040 %	0,016 %	0,030 %
pWISE10650	631	0,002 %	0,002 %	0,011 %	0,009 %	0,039 %	0,005 %	0,026 %
pWISE10651	632	0,004 %	0,004 %	0,016 %	0,025 %	0,027 %	0,022 %	0,028 %
pWISE10652	633	0,002 %	0,006 %	0,005 %	0,015 %	0,014 %	0,015 %	0,027 %
pWISE10658	639	0,007 %	0,002 %	0,004 %	0,014 %	0,017 %	0,009 %	0,030 %
pWISE10653	634	0,003 %	0,002 %	0,016 %	0,009 %	0,030 %	0,005 %	0,014 %
pWISE10654	635	0,014 %	0,013 %	0,009 %	0,032 %	0,054 %	0,007 %	0,035 %
pWISE10655	636	0,002 %	0,004 %	0,007 %	0,013 %	0,027 %	0,007 %	0,026 %
pWISE10656	637	0,002 %	0,005 %	0,008 %	0,017 %	0,011 %	0,004 %	0,031 %
pWISE10657	638	0,008 %	0,004 %	0,006 %	0,014 %	0,022 %	0,003 %	0,021 %

Tabla 80. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp133 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.10	G.12	G.15	G.16	G.22	G.26
pWISE121	56	0,043 %	0,062 %	0,111 %	0,146 %	0,068 %	0,028 %
pWISE9120	453	0,396 %	0,421 %	0,142 %	0,103 %	0,360 %	0,074 %
pWISE10648	629	0,202 %	0,235 %	0,141 %	0,136 %	0,178 %	0,119 %
pWISE10649	630	0,204 %	0,327 %	0,315 %	0,393 %	0,386 %	0,085 %
pWISE10650	631	0,317 %	0,582 %	0,423 %	0,350 %	0,561 %	0,071 %
pWISE10651	632	0,144 %	0,261 %	0,249 %	0,250 %	0,394 %	0,100 %
pWISE10652	633	0,096 %	0,149 %	0,162 %	0,124 %	0,394 %	0,204 %

pWISE10658	639	1,011 %	1,134 %	0,645 %	0,606 %	0,543 %	0,120 %
pWISE10653	634	0,342 %	0,648 %	0,341 %	0,375 %	0,507 %	0,080 %
pWISE10654	635	0,468 %	1,037 %	0,684 %	0,570 %	0,753 %	0,192 %
pWISE10655	636	0,426 %	0,900 %	0,696 %	0,657 %	1,047 %	0,148 %
pWISE10656	637	0,253 %	0,662 %	0,464 %	0,381 %	0,534 %	0,098 %
pWISE10657	638	0,118 %	0,344 %	0,416 %	0,346 %	0,705 %	0,134 %

Tabla 81.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3627 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-7	C.-6	C.-4	C.-1	C.13	C.18
pWISE121	56	0,026 %	0,032 %	0,013 %	0,037 %	0,392 %	2,274 %
pWISE9120	453	0,007 %	0,002 %	0,000 %	0,290 %	3,725 %	1,194 %
pWISE10648	629	0,003 %	0,007 %	0,004 %	0,124 %	0,888 %	0,312 %
pWISE10649	630	0,003 %	0,003 %	0,002 %	0,095 %	0,592 %	0,450 %
pWISE10650	631	0,006 %	0,004 %	0,005 %	0,163 %	0,828 %	0,639 %
pWISE10651	632	0,003 %	0,007 %	0,010 %	0,152 %	1,096 %	0,939 %
pWISE10652	633	0,001 %	0,003 %	0,003 %	0,281 %	0,966 %	0,540 %
pWISE10658	639	0,003 %	0,006 %	0,003 %	0,258 %	1,580 %	0,542 %
pWISE10653	634	0,003 %	0,012 %	0,003 %	0,190 %	1,137 %	0,712 %
pWISE10654	635	0,004 %	0,005 %	0,005 %	0,181 %	0,927 %	1,052 %
pWISE10655	636	0,002 %	0,007 %	0,004 %	0,286 %	1,137 %	1,809 %
pWISE10656	637	0,007 %	0,008 %	0,001 %	0,250 %	1,092 %	1,698 %
pWISE10657	638	0,002 %	0,004 %	0,000 %	0,244 %	1,298 %	1,160 %

Tabla 81. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3627 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.19	C.20	C.24	C.26	C.30
pWISE121	56	1,031 %	0,457 %	0,374 %	0,460 %	0,156 %
pWISE9120	453	1,581 %	2,294 %	0,840 %	0,103 %	0,024 %
pWISE10648	629	0,607 %	0,858 %	0,583 %	0,080 %	0,009 %
pWISE10649	630	0,915 %	1,540 %	1,144 %	0,350 %	0,153 %
pWISE10650	631	1,349 %	2,144 %	1,592 %	0,392 %	0,072 %
pWISE10651	632	1,895 %	3,064 %	2,514 %	0,699 %	0,107 %
pWISE10652	633	1,234 %	2,433 %	1,942 %	0,608 %	0,073 %
pWISE10658	639	1,201 %	1,704 %	0,904 %	0,094 %	0,038 %
pWISE10653	634	1,280 %	1,727 %	0,856 %	0,167 %	0,038 %
pWISE10654	635	1,819 %	2,501 %	1,521 %	0,354 %	0,076 %
pWISE10655	636	2,850 %	3,592 %	2,392 %	0,616 %	0,122 %
pWISE10656	637	2,612 %	3,246 %	2,164 %	0,680 %	0,152 %
pWISE10657	638	1,827 %	3,074 %	1,804 %	0,503 %	0,119 %

Tabla 82.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3627 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-7	C.-6	C.-4	C.-1	C.13	C.18
pWISE121	56	0,029 %	0,031 %	0,016 %	0,029 %	0,120 %	0,782 %
pWISE9120	453	0,005 %	0,002 %	0,001 %	0,158 %	1,204 %	0,422 %
pWISE10648	629	0,002 %	0,007 %	0,007 %	0,055 %	0,446 %	0,194 %
pWISE10649	630	0,002 %	0,003 %	0,004 %	0,065 %	0,254 %	0,276 %
pWISE10650	631	0,005 %	0,005 %	0,004 %	0,077 %	0,335 %	0,355 %
pWISE10651	632	0,003 %	0,007 %	0,013 %	0,106 %	0,301 %	0,430 %
pWISE10652	633	0,002 %	0,002 %	0,002 %	0,099 %	0,584 %	0,295 %
pWISE10658	639	0,004 %	0,003 %	0,005 %	0,132 %	0,513 %	0,241 %
pWISE10653	634	0,004 %	0,014 %	0,004 %	0,110 %	0,362 %	0,293 %
pWISE10654	635	0,004 %	0,003 %	0,006 %	0,086 %	0,414 %	0,666 %
pWISE10655	636	0,002 %	0,005 %	0,008 %	0,175 %	0,393 %	0,721 %
pWISE10656	637	0,010 %	0,012 %	0,003 %	0,106 %	0,365 %	0,987 %
pWISE10657	638	0,002 %	0,006 %	0,001 %	0,125 %	0,510 %	0,674 %

Tabla 82. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3627 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.19	C.20	C.24	C.26	C.30
pWISE121	56	0,374 %	0,189 %	0,139 %	0,170 %	0,097 %
pWISE9120	453	0,562 %	0,874 %	0,407 %	0,063 %	0,021 %
pWISE10648	629	0,356 %	0,485 %	0,362 %	0,056 %	0,009 %
pWISE10649	630	0,591 %	0,777 %	0,513 %	0,178 %	0,219 %
pWISE10650	631	0,778 %	1,206 %	0,880 %	0,223 %	0,045 %
pWISE10651	632	0,842 %	1,280 %	1,181 %	0,371 %	0,083 %
pWISE10652	633	0,798 %	1,418 %	1,200 %	0,470 %	0,050 %
pWISE10658	639	0,540 %	0,827 %	0,456 %	0,062 %	0,018 %
pWISE10653	634	0,440 %	0,623 %	0,305 %	0,069 %	0,030 %
pWISE10654	635	1,082 %	1,501 %	0,910 %	0,214 %	0,084 %
pWISE10655	636	1,232 %	1,597 %	1,170 %	0,275 %	0,060 %
pWISE10656	637	1,415 %	1,700 %	1,149 %	0,378 %	0,094 %
pWISE10657	638	1,065 %	1,823 %	1,029 %	0,295 %	0,083 %

Tabla 83.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3627 en la hebra de ADN genómico diana opuesta						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.2	G.3	G.5	G.6	G.8
pWISE121	56	0,018 %	0,036 %	0,043 %	0,070 %	0,062 %	0,078 %	0,183 %

pWISE9120	453	0,030 %	0,020 %	0,016 %	0,020 %	0,021 %	0,043 %	0,325 %
pWISE10648	629	0,035 %	0,023 %	0,023 %	0,075 %	0,032 %	0,081 %	0,302 %
pWISE10649	630	0,026 %	0,010 %	0,020 %	0,029 %	0,017 %	0,028 %	0,414 %
pWISE10650	631	0,033 %	0,008 %	0,043 %	0,070 %	0,049 %	0,078 %	0,888 %
pWISE10651	632	0,023 %	0,009 %	0,045 %	0,055 %	0,040 %	0,129 %	0,846 %
pWISE10652	633	0,022 %	0,005 %	0,059 %	0,063 %	0,068 %	0,102 %	0,527 %
pWISE10658	639	0,059 %	0,025 %	0,044 %	0,036 %	0,018 %	0,083 %	0,591 %
pWISE10653	634	0,029 %	0,025 %	0,017 %	0,032 %	0,021 %	0,069 %	0,620 %
pWISE10654	635	0,038 %	0,003 %	0,057 %	0,078 %	0,047 %	0,072 %	1,219 %
pWISE10655	636	0,045 %	0,009 %	0,030 %	0,049 %	0,038 %	0,099 %	1,977 %
pWISE10656	637	0,021 %	0,006 %	0,042 %	0,050 %	0,034 %	0,079 %	1,496 %
pWISE10657	638	0,034 %	0,025 %	0,023 %	0,026 %	0,031 %	0,064 %	1,147 %

Tabla 83. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3627 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.9	G.14	G.15	G.28	G.32	G.33
pWISE121	56	0,112 %	0,431 %	1,056 %	0,287 %	0,193 %	0,061 %
pWISE9120	453	2,809 %	9,481 %	9,716 %	5,186 %	0,450 %	0,275 %
pWISE10648	629	1,317 %	6,833 %	6,872 %	3,786 %	0,368 %	0,211 %
pWISE10649	630	1,126 %	8,696 %	8,858 %	5,633 %	0,574 %	0,343 %
pWISE10650	631	1,590 %	11,884 %	12,370 %	8,012 %	0,864 %	0,477 %
pWISE10651	632	1,768 %	14,517 %	15,365 %	10,011 %	1,160 %	0,816 %
pWISE10652	633	1,114 %	9,031 %	9,961 %	7,787 %	0,791 %	0,399 %
pWISE10658	639	1,944 %	15,885 %	16,085 %	7,953 %	0,892 %	0,538 %
pWISE10653	634	1,495 %	14,954 %	15,111 %	7,053 %	0,522 %	0,301 %
pWISE10654	635	2,040 %	16,807 %	17,108 %	9,331 %	1,005 %	0,527 %
pWISE10655	636	2,917 %	23,470 %	24,197 %	13,347 %	1,191 %	0,744 %
pWISE10656	637	2,195 %	18,804 %	19,936 %	10,528 %	0,990 %	0,554 %
pWISE10657	638	1,850 %	15,529 %	17,076 %	10,371 %	0,970 %	0,513 %

Tabla 84.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3627 en la hebra de ADN genómico diana opuesta						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-9	G.-8	G.2	G.3	G.5	G.6	G.8
pWISE121	56	0,021 %	0,030 %	0,027 %	0,048 %	0,041 %	0,038 %	0,101 %
pWISE9120	453	0,018 %	0,010 %	0,017 %	0,019 %	0,009 %	0,035 %	0,121 %

pWISE10648	629	0,015 %	0,015 %	0,023 %	0,038 %	0,024 %	0,050 %	0,157 %
pWISE10649	630	0,019 %	0,006 %	0,022 %	0,023 %	0,013 %	0,024 %	0,324 %
pWISE10650	631	0,022 %	0,003 %	0,046 %	0,070 %	0,041 %	0,051 %	0,596 %
pWISE10651	632	0,013 %	0,010 %	0,048 %	0,045 %	0,052 %	0,122 %	0,289 %
pWISE10652	633	0,011 %	0,004 %	0,071 %	0,072 %	0,073 %	0,068 %	0,317 %
pWISE10658	639	0,067 %	0,022 %	0,062 %	0,021 %	0,017 %	0,037 %	0,227 %
pWISE10653	634	0,020 %	0,017 %	0,007 %	0,021 %	0,021 %	0,033 %	0,221 %
pWISE10654	635	0,033 %	0,003 %	0,041 %	0,057 %	0,048 %	0,042 %	0,608 %
pWISE10655	636	0,026 %	0,010 %	0,022 %	0,029 %	0,026 %	0,038 %	0,924 %
pWISE10656	637	0,024 %	0,005 %	0,030 %	0,030 %	0,028 %	0,036 %	0,674 %
pWISE10657	638	0,028 %	0,040 %	0,016 %	0,019 %	0,027 %	0,030 %	0,659 %

Tabla 84. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3627 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.9	G.14	G.15	G.28	G.32	G.33
pWISE121	56	0,028 %	0,162 %	0,390 %	0,159 %	0,051 %	0,047 %
pWISE9120	453	1,161 %	4,267 %	4,398 %	2,476 %	0,248 %	0,180 %
pWISE10648	629	0,765 %	3,843 %	3,847 %	2,320 %	0,338 %	0,180 %
pWISE10649	630	0,802 %	4,336 %	4,682 %	2,972 %	0,470 %	0,280 %
pWISE10650	631	0,930 %	6,925 %	7,214 %	4,923 %	0,670 %	0,386 %
pWISE10651	632	0,693 %	6,888 %	7,233 %	4,865 %	0,834 %	0,902 %
pWISE10652	633	0,625 %	5,069 %	5,715 %	4,656 %	0,587 %	0,331 %
pWISE10658	639	0,836 %	8,405 %	8,517 %	4,361 %	0,665 %	0,418 %
pWISE10653	634	0,580 %	6,482 %	6,546 %	3,282 %	0,309 %	0,214 %
pWISE10654	635	1,047 %	10,674 %	10,877 %	6,122 %	0,845 %	0,459 %
pWISE10655	636	1,199 %	10,541 %	10,733 %	6,567 %	0,820 %	0,483 %
pWISE10656	637	0,968 %	9,861 %	10,487 %	6,010 %	0,703 %	0,396 %
pWISE10657	638	1,035 %	8,674 %	9,631 %	6,156 %	0,724 %	0,386 %

Tabla 85.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3628 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-9	C.-7	C.-1	C.1	C.2	C.3
pWISE121	56	0,016 %	0,024 %	0,025 %	0,014 %	0,023 %	0,105 %
pWISE9120	453	0,014 %	0,027 %	0,031 %	0,015 %	0,016 %	0,038 %
pWISE10648	629	0,004 %	0,008 %	0,006 %	0,003 %	0,007 %	0,064 %
pWISE10649	630	0,008 %	0,028 %	0,012 %	0,011 %	0,010 %	0,096 %
pWISE10650	631	0,007 %	0,050 %	0,009 %	0,006 %	0,005 %	0,053 %
pWISE10651	632	0,007 %	0,033 %	0,050 %	0,029 %	0,019 %	0,076 %
pWISE10652	633	0,006 %	0,026 %	0,039 %	0,004 %	0,006 %	0,060 %
pWISE10658	639	0,012 %	0,018 %	0,008 %	0,004 %	0,001 %	0,093 %
pWISE10653	634	0,003 %	0,013 %	0,014 %	0,012 %	0,009 %	0,060 %
pWISE10654	635	0,002 %	0,017 %	0,022 %	0,004 %	0,005 %	0,015 %

pWISE10655	636	0,012 %	0,033 %	0,025 %	0,008 %	0,005 %	0,060 %
pWISE10656	637	0,002 %	0,025 %	0,021 %	0,007 %	0,004 %	0,062 %
pWISE10657	638	0,006 %	0,020 %	0,010 %	0,007 %	0,002 %	0,060 %

Tabla 85. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3628 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.8	C.13	C.17	C.31	C.32
pWISE121	56	0,068 %	0,146 %	1,093 %	0,147 %	0,104 %
pWISE9120	453	1,396 %	1,449 %	0,407 %	0,004 %	0,023 %
pWISE10648	629	0,039 %	0,081 %	0,038 %	0,001 %	0,023 %
pWISE10649	630	0,020 %	0,058 %	0,019 %	0,013 %	0,032 %
pWISE10650	631	0,027 %	0,057 %	0,015 %	0,006 %	0,010 %
pWISE10651	632	0,042 %	0,089 %	0,048 %	0,006 %	0,021 %
pWISE10652	633	0,018 %	0,031 %	0,008 %	0,003 %	0,033 %
pWISE10658	639	0,069 %	0,138 %	0,051 %	0,005 %	0,036 %
pWISE10653	634	0,068 %	0,089 %	0,087 %	0,003 %	0,023 %
pWISE10654	635	0,056 %	0,066 %	0,090 %	0,005 %	0,034 %
pWISE10655	636	0,018 %	0,070 %	0,030 %	0,003 %	0,054 %
pWISE10656	637	0,045 %	0,053 %	0,021 %	0,004 %	0,030 %
pWISE10657	638	0,017 %	0,060 %	0,005 %	0,002 %	0,065 %

Tabla 86.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3628 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-9	C.-7	C.-1	C.1	C.2	C.3
pWISE121	56	0,016 %	0,021 %	0,030 %	0,013 %	0,018 %	0,072 %
pWISE9120	453	0,020 %	0,020 %	0,018 %	0,016 %	0,018 %	0,031 %
pWISE10648	629	0,004 %	0,007 %	0,006 %	0,003 %	0,005 %	0,113 %
pWISE10649	630	0,014 %	0,021 %	0,013 %	0,016 %	0,016 %	0,128 %
pWISE10650	631	0,007 %	0,056 %	0,009 %	0,005 %	0,004 %	0,090 %
pWISE10651	632	0,008 %	0,036 %	0,044 %	0,025 %	0,016 %	0,093 %
pWISE10652	633	0,005 %	0,030 %	0,049 %	0,004 %	0,004 %	0,077 %
pWISE10658	639	0,012 %	0,009 %	0,008 %	0,003 %	0,001 %	0,107 %
pWISE10653	634	0,003 %	0,011 %	0,018 %	0,008 %	0,009 %	0,097 %
pWISE10654	635	0,002 %	0,018 %	0,024 %	0,004 %	0,004 %	0,014 %
pWISE10655	636	0,017 %	0,032 %	0,026 %	0,008 %	0,004 %	0,072 %
pWISE10656	637	0,002 %	0,037 %	0,013 %	0,005 %	0,003 %	0,063 %
pWISE10657	638	0,006 %	0,018 %	0,014 %	0,011 %	0,002 %	0,078 %

Tabla 86. (cont.)

Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la
--

		secuencia espaciadora PWsp3628 en la hebra de ADN genómico no diana				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.8	C.13	C.17	C.31	C.32
pWISE121	56	0,076 %	0,131 %	0,740 %	0,112 %	0,090 %
pWISE9120	453	0,423 %	0,458 %	0,139 %	0,004 %	0,020 %
pWISE10648	629	0,027 %	0,042 %	0,028 %	0,001 %	0,025 %
pWISE10649	630	0,010 %	0,055 %	0,020 %	0,027 %	0,024 %
pWISE10650	631	0,025 %	0,029 %	0,008 %	0,006 %	0,012 %
pWISE10651	632	0,033 %	0,053 %	0,036 %	0,008 %	0,017 %
pWISE10652	633	0,020 %	0,030 %	0,006 %	0,004 %	0,053 %
pWISE10658	639	0,033 %	0,118 %	0,029 %	0,005 %	0,028 %
pWISE10653	634	0,036 %	0,062 %	0,035 %	0,003 %	0,018 %
pWISE10654	635	0,036 %	0,047 %	0,064 %	0,005 %	0,033 %
pWISE10655	636	0,009 %	0,035 %	0,038 %	0,003 %	0,043 %
pWISE10656	637	0,021 %	0,025 %	0,024 %	0,005 %	0,033 %
pWISE10657	638	0,015 %	0,044 %	0,005 %	0,003 %	0,085 %

Tabla 87.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3628 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-6	G.-5	G.6	G.7	G.10	G.12
pWISE121	56	0,008 %	0,011 %	0,083 %	0,042 %	0,118 %	0,082 %
pWISE9120	453	0,010 %	0,003 %	0,003 %	0,002 %	2,155 %	1,054 %
pWISE10648	629	0,012 %	0,003 %	0,006 %	0,006 %	0,819 %	0,545 %
pWISE10649	630	0,004 %	0,002 %	0,002 %	0,002 %	1,133 %	0,747 %
pWISE10650	631	0,006 %	0,002 %	0,003 %	0,012 %	1,107 %	0,699 %
pWISE10651	632	0,004 %	0,003 %	0,006 %	0,003 %	1,400 %	0,686 %
pWISE10652	633	0,012 %	0,003 %	0,003 %	0,005 %	0,908 %	0,405 %
pWISE10658	639	0,010 %	0,006 %	0,006 %	0,007 %	3,508 %	1,566 %
pWISE10653	634	0,006 %	0,002 %	0,002 %	0,003 %	1,609 %	0,921 %
pWISE10654	635	0,005 %	0,006 %	0,004 %	0,007 %	2,585 %	1,535 %
pWISE10655	636	0,019 %	0,004 %	0,006 %	0,003 %	2,102 %	1,079 %
pWISE10656	637	0,009 %	0,004 %	0,003 %	0,013 %	1,866 %	0,763 %
pWISE10657	638	0,013 %	0,002 %	0,004 %	0,006 %	1,295 %	0,385 %

Tabla 87. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3628 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.15	G.16	G.19	G.20	G.21	G.23
pWISE121	56	0,250 %	0,227 %	0,211 %	0,333 %	0,416 %	0,334 %
pWISE9120	453	0,289 %	0,251 %	0,369 %	0,263 %	0,283 %	0,274 %
pWISE10648	629	0,255 %	0,239 %	0,300 %	0,228 %	0,286 %	0,233 %
pWISE10649	630	0,201 %	0,169 %	0,237 %	0,154 %	0,193 %	0,155 %
pWISE10650	631	0,153 %	0,132 %	0,169 %	0,117 %	0,191 %	0,130 %

pWISE10651	632	0,149 %	0,129 %	0,195 %	0,116 %	0,172 %	0,177 %
pWISE10652	633	0,060 %	0,042 %	0,082 %	0,057 %	0,139 %	0,082 %
pWISE10658	639	0,665 %	0,606 %	0,595 %	0,418 %	0,396 %	0,470 %
pWISE10653	634	0,407 %	0,378 %	0,423 %	0,315 %	0,347 %	0,298 %
pWISE10654	635	0,585 %	0,528 %	0,618 %	0,442 %	0,441 %	0,410 %
pWISE10655	636	0,498 %	0,428 %	0,453 %	0,339 %	0,330 %	0,325 %
pWISE10656	637	0,312 %	0,302 %	0,411 %	0,253 %	0,207 %	0,291 %
pWISE10657	638	0,304 %	0,308 %	0,316 %	0,243 %	0,265 %	0,233 %

Tabla 87. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3628 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.24	G.25	G.26	G.27	G.29	G.30
pWISE121	56	0,272 %	0,214 %	0,177 %	0,206 %	0,336 %	0,129 %
pWISE9120	453	0,260 %	0,266 %	0,283 %	0,366 %	0,081 %	0,055 %
pWISE10648	629	0,234 %	0,234 %	0,251 %	0,337 %	0,122 %	0,091 %
pWISE10649	630	0,144 %	0,145 %	0,152 %	0,206 %	0,061 %	0,042 %
pWISE10650	631	0,129 %	0,135 %	0,163 %	0,202 %	0,074 %	0,054 %
pWISE10651	632	0,161 %	0,167 %	0,192 %	0,266 %	0,077 %	0,071 %
pWISE10652	633	0,078 %	0,082 %	0,088 %	0,102 %	0,057 %	0,054 %
pWISE10658	639	0,403 %	0,394 %	0,413 %	0,504 %	0,148 %	0,131 %
pWISE10653	634	0,279 %	0,282 %	0,298 %	0,331 %	0,100 %	0,048 %
pWISE10654	635	0,392 %	0,387 %	0,399 %	0,507 %	0,147 %	0,097 %
pWISE10655	636	0,288 %	0,289 %	0,311 %	0,387 %	0,097 %	0,062 %
pWISE10656	637	0,243 %	0,222 %	0,268 %	0,340 %	0,100 %	0,068 %
pWISE10657	638	0,209 %	0,204 %	0,246 %	0,289 %	0,124 %	0,109 %

Tabla 88.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3628 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-6	G.-5	G.6	G.7	G.10	G.12
pWISE121	56	0,012 %	0,023 %	0,077 %	0,058 %	0,087 %	0,082 %
pWISE9120	453	0,010 %	0,005 %	0,002 %	0,003 %	1,025 %	0,513 %
pWISE10648	629	0,016 %	0,003 %	0,010 %	0,003 %	0,334 %	0,228 %
pWISE10649	630	0,005 %	0,003 %	0,001 %	0,002 %	0,579 %	0,388 %
pWISE10650	631	0,004 %	0,002 %	0,003 %	0,019 %	0,960 %	0,621 %
pWISE10651	632	0,005 %	0,005 %	0,005 %	0,003 %	0,621 %	0,352 %
pWISE10652	633	0,022 %	0,002 %	0,002 %	0,006 %	0,457 %	0,239 %
pWISE10658	639	0,012 %	0,006 %	0,004 %	0,003 %	1,589 %	0,627 %
pWISE10653	634	0,006 %	0,003 %	0,004 %	0,004 %	0,904 %	0,464 %
pWISE10654	635	0,004 %	0,006 %	0,004 %	0,009 %	1,276 %	0,649 %
pWISE10655	636	0,030 %	0,003 %	0,005 %	0,004 %	1,112 %	0,581 %
pWISE10656	637	0,004 %	0,004 %	0,003 %	0,015 %	0,933 %	0,418 %
pWISE10657	638	0,016 %	0,002 %	0,004 %	0,006 %	0,792 %	0,259 %

Tabla 88. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3628 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.15	G.16	G.19	G.20	G.21	G.23
pWISE121	56	0,167 %	0,161 %	0,161 %	0,232 %	0,242 %	0,219 %
pWISE9120	453	0,128 %	0,094 %	0,131 %	0,075 %	0,077 %	0,066 %
pWISE10648	629	0,081 %	0,087 %	0,131 %	0,094 %	0,168 %	0,100 %
pWISE10649	630	0,055 %	0,041 %	0,060 %	0,031 %	0,120 %	0,023 %
pWISE10650	631	0,132 %	0,116 %	0,148 %	0,109 %	0,151 %	0,127 %
pWISE10651	632	0,098 %	0,081 %	0,123 %	0,059 %	0,133 %	0,133 %
pWISE10652	633	0,043 %	0,050 %	0,058 %	0,041 %	0,108 %	0,063 %
pWISE10658	639	0,327 %	0,323 %	0,214 %	0,203 %	0,184 %	0,214 %
pWISE10653	634	0,190 %	0,181 %	0,187 %	0,127 %	0,077 %	0,119 %
pWISE10654	635	0,230 %	0,185 %	0,236 %	0,141 %	0,132 %	0,121 %
pWISE10655	636	0,261 %	0,226 %	0,244 %	0,153 %	0,068 %	0,158 %
pWISE10656	637	0,216 %	0,206 %	0,300 %	0,160 %	0,132 %	0,185 %
pWISE10657	638	0,218 %	0,232 %	0,223 %	0,185 %	0,166 %	0,183 %

Tabla 88. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3628 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.24	G.25	G.26	G.27	G.29	G.30
pWISE121	56	0,196 %	0,155 %	0,155 %	0,129 %	0,243 %	0,127 %
pWISE9120	453	0,064 %	0,062 %	0,078 %	0,113 %	0,025 %	0,032 %
pWISE10648	629	0,103 %	0,106 %	0,103 %	0,173 %	0,059 %	0,062 %
pWISE10649	630	0,019 %	0,023 %	0,028 %	0,057 %	0,018 %	0,012 %
pWISE10650	631	0,122 %	0,120 %	0,186 %	0,183 %	0,040 %	0,027 %
pWISE10651	632	0,105 %	0,100 %	0,152 %	0,180 %	0,032 %	0,041 %
pWISE10652	633	0,063 %	0,063 %	0,061 %	0,079 %	0,052 %	0,053 %
pWISE10658	639	0,135 %	0,137 %	0,153 %	0,167 %	0,051 %	0,114 %
pWISE10653	634	0,103 %	0,103 %	0,098 %	0,101 %	0,058 %	0,051 %
pWISE10654	635	0,100 %	0,097 %	0,105 %	0,160 %	0,064 %	0,036 %
pWISE10655	636	0,138 %	0,143 %	0,162 %	0,202 %	0,049 %	0,035 %
pWISE10656	637	0,178 %	0,164 %	0,214 %	0,261 %	0,087 %	0,061 %
pWISE10657	638	0,151 %	0,151 %	0,215 %	0,209 %	0,111 %	0,091 %

Tabla 89.

Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3629 en la hebra de ADN genómico no diana
--

pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-7	C.1	C.4	C.5	C.7	C.8	C.15
pWISE121	56	0,035 %	0,048 %	0,287 %	0,061 %	0,095 %	0,184 %	1,003 %
pWISE9120	453	0,006 %	0,005 %	0,006 %	0,005 %	2,400 %	2,466 %	0,840 %
pWISE10648	629	0,004 %	0,004 %	0,003 %	0,008 %	1,142 %	1,219 %	0,329 %
pWISE10649	630	0,007 %	0,002 %	0,002 %	0,006 %	0,681 %	0,683 %	0,201 %
pWISE10650	631	0,004 %	0,018 %	0,015 %	0,015 %	1,678 %	1,742 %	0,634 %
pWISE10651	632	0,005 %	0,014 %	0,004 %	0,005 %	1,589 %	1,704 %	0,689 %
pWISE10652	633	0,006 %	0,006 %	0,010 %	0,008 %	1,163 %	1,258 %	0,438 %
pWISE10658	639	0,004 %	0,005 %	0,010 %	0,004 %	4,049 %	4,367 %	0,754 %
pWISE10653	634	0,004 %	0,007 %	0,020 %	0,012 %	2,062 %	2,117 %	0,382 %
pWISE10654	635	0,007 %	0,009 %	0,008 %	0,014 %	1,999 %	2,085 %	0,406 %
pWISE10655	636	0,013 %	0,011 %	0,014 %	0,018 %	2,000 %	1,869 %	0,530 %
pWISE10656	637	0,003 %	0,002 %	0,009 %	0,016 %	1,865 %	1,862 %	0,545 %
pWISE10657	638	0,006 %	0,004 %	0,008 %	0,005 %	1,897 %	1,949 %	0,485 %

Tabla 89. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3629 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.16	C.22	C.23	C.24	C.25	C.29
pWISE121	56	0,590 %	0,658 %	0,550 %	0,418 %	0,207 %	0,132 %
pWISE9120	453	0,666 %	0,201 %	0,179 %	0,165 %	0,184 %	0,018 %
pWISE10648	629	0,149 %	0,121 %	0,098 %	0,090 %	0,118 %	0,026 %
pWISE10649	630	0,094 %	0,265 %	0,203 %	0,186 %	0,181 %	0,035 %
pWISE10650	631	0,334 %	0,751 %	0,685 %	0,678 %	0,662 %	0,084 %
pWISE10651	632	0,407 %	0,991 %	0,907 %	0,881 %	0,922 %	0,128 %
pWISE10652	633	0,243 %	0,820 %	0,643 %	0,632 %	0,628 %	0,096 %
pWISE10658	639	0,385 %	0,311 %	0,204 %	0,202 %	0,220 %	0,036 %
pWISE10653	634	0,154 %	0,200 %	0,132 %	0,125 %	0,141 %	0,023 %
pWISE10654	635	0,185 %	0,575 %	0,433 %	0,402 %	0,398 %	0,060 %
pWISE10655	636	0,237 %	0,876 %	0,750 %	0,695 %	0,709 %	0,088 %
pWISE10656	637	0,252 %	0,688 %	0,610 %	0,580 %	0,607 %	0,073 %
pWISE10657	638	0,192 %	0,790 %	0,648 %	0,652 %	0,676 %	0,090 %

Tabla 90.

Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la

		secuencia espaciadora PWsp3629 en la hebra de ADN genómico no diana						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-7	C.1	C.4	C.5	C.7	C.8	C.15
pWISE121	56	0,027 %	0,059 %	0,190 %	0,046 %	0,106 %	0,134 %	0,563 %
pWISE9120	453	0,004 %	0,001 %	0,006 %	0,004 %	1,047 %	1,007 %	0,367 %
pWISE10648	629	0,005 %	0,004 %	0,002 %	0,005 %	0,436 %	0,427 %	0,109 %
pWISE10649	630	0,004 %	0,001 %	0,002 %	0,010 %	0,276 %	0,252 %	0,080 %
pWISE10650	631	0,004 %	0,024 %	0,023 %	0,030 %	0,628 %	0,575 %	0,266 %
pWISE10651	632	0,005 %	0,014 %	0,005 %	0,009 %	0,293 %	0,316 %	0,167 %
pWISE10652	633	0,003 %	0,005 %	0,008 %	0,011 %	0,477 %	0,447 %	0,305 %
pWISE10658	639	0,003 %	0,002 %	0,009 %	0,005 %	1,381 %	1,313 %	0,245 %
pWISE10653	634	0,007 %	0,008 %	0,014 %	0,014 %	0,894 %	0,909 %	0,182 %
pWISE10654	635	0,005 %	0,006 %	0,007 %	0,011 %	0,638 %	0,638 %	0,218 %
pWISE10655	636	0,020 %	0,017 %	0,019 %	0,017 %	0,768 %	0,508 %	0,232 %
pWISE10656	637	0,004 %	0,003 %	0,010 %	0,010 %	0,864 %	0,715 %	0,248 %
pWISE10657	638	0,005 %	0,007 %	0,012 %	0,004 %	0,610 %	0,603 %	0,241 %

Tabla 90. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3629 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.16	C.22	C.23	C.24	C.25	C.29
pWISE121	56	0,388 %	0,382 %	0,285 %	0,262 %	0,150 %	0,142 %
pWISE9120	453	0,252 %	0,103 %	0,105 %	0,104 %	0,108 %	0,023 %
pWISE10648	629	0,071 %	0,067 %	0,067 %	0,070 %	0,093 %	0,026 %
pWISE10649	630	0,025 %	0,167 %	0,118 %	0,113 %	0,102 %	0,030 %
pWISE10650	631	0,116 %	0,456 %	0,413 %	0,413 %	0,402 %	0,056 %
pWISE10651	632	0,074 %	0,600 %	0,554 %	0,539 %	0,513 %	0,068 %
pWISE10652	633	0,162 %	0,573 %	0,618 %	0,592 %	0,573 %	0,055 %
pWISE10658	639	0,184 %	0,179 %	0,133 %	0,131 %	0,126 %	0,027 %
pWISE10653	634	0,043 %	0,125 %	0,107 %	0,103 %	0,116 %	0,024 %
pWISE10654	635	0,086 %	0,350 %	0,267 %	0,264 %	0,224 %	0,070 %
pWISE10655	636	0,109 %	0,576 %	0,516 %	0,464 %	0,447 %	0,074 %
pWISE10656	637	0,096 %	0,553 %	0,526 %	0,496 %	0,496 %	0,063 %
pWISE10657	638	0,046 %	0,499 %	0,420 %	0,411 %	0,429 %	0,066 %

Tabla 91.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3629 en la hebra de ADN genómico diana opuesta						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-8	G.-4	G.-1	G.3	G.10	G.11	G.12
pWISE121	56	0,007 %	0,027 %	0,025 %	0,032 %	0,099 %	0,082 %	0,135 %
pWISE9120	453	0,008 %	0,005 %	0,004 %	0,014 %	3,714 %	3,744 %	3,934 %
pWISE10648	629	0,005 %	0,013 %	0,007 %	0,010 %	2,207 %	2,220 %	2,310 %
pWISE10649	630	0,002 %	0,013 %	0,002 %	0,006 %	1,599 %	1,620 %	1,645 %
pWISE10650	631	0,010 %	0,002 %	0,009 %	0,011 %	3,606 %	3,766 %	3,918 %
pWISE10651	632	0,005 %	0,025 %	0,023 %	0,033 %	3,767 %	3,939 %	4,154 %
pWISE10652	633	0,006 %	0,005 %	0,003 %	0,011 %	2,778 %	2,908 %	3,103 %
pWISE10658	639	0,009 %	0,003 %	0,004 %	0,010 %	6,408 %	6,407 %	6,532 %
pWISE10653	634	0,005 %	0,004 %	0,004 %	0,014 %	3,136 %	3,182 %	3,288 %
pWISE10654	635	0,004 %	0,001 %	0,002 %	0,009 %	4,984 %	5,029 %	5,090 %
pWISE10655	636	0,003 %	0,009 %	0,002 %	0,014 %	4,913 %	5,047 %	5,176 %
pWISE10656	637	0,002 %	0,005 %	0,008 %	0,012 %	4,152 %	4,333 %	4,435 %
pWISE10657	638	0,007 %	0,005 %	0,003 %	0,007 %	3,300 %	3,415 %	3,529 %

Tabla 91. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3629 en la hebra de ADN genómico diana opuesta						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.18	G.20	G.26	G.28	G.31	G.32	G.33
pWISE121	56	0,315 %	0,260 %	0,108 %	0,081 %	0,083 %	0,109 %	0,102 %
pWISE9120	453	1,002 %	0,758 %	1,077 %	0,308 %	0,160 %	0,129 %	0,148 %
pWISE10648	629	0,630 %	0,545 %	0,812 %	0,244 %	0,151 %	0,133 %	0,150 %
pWISE10649	630	0,746 %	0,821 %	1,278 %	0,334 %	0,249 %	0,193 %	0,195 %
pWISE10650	631	2,774 %	2,729 %	3,918 %	1,299 %	0,774 %	0,638 %	0,680 %
pWISE10651	632	2,961 %	2,980 %	4,709 %	1,595 %	0,955 %	0,717 %	0,752 %
pWISE10652	633	2,698 %	2,628 %	4,418 %	1,626 %	0,945 %	0,726 %	0,737 %

pWISE10658	639	1,737 %	1,383 %	1,677 %	0,312 %	0,200 %	0,133 %	0,179 %
pWISE10653	634	0,746 %	0,583 %	0,849 %	0,170 %	0,153 %	0,139 %	0,134 %
pWISE10654	635	2,501 %	2,471 %	3,210 %	0,986 %	0,579 %	0,424 %	0,513 %
pWISE10655	636	2,995 %	3,089 %	4,137 %	1,262 %	0,734 %	0,595 %	0,635 %
pWISE10656	637	2,526 %	2,418 %	3,720 %	1,085 %	0,770 %	0,561 %	0,590 %
pWISE10657	638	2,638 %	2,441 %	4,667 %	1,312 %	0,855 %	0,647 %	0,681 %

Tabla 92.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3629 en la hebra de ADN genómico diana opuesta						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-8	G.-4	G.-1	G.3	G.10	G.11	G.12
pWISE121	56	0,011 %	0,032 %	0,025 %	0,018 %	0,055 %	0,045 %	0,126 %
pWISE9120	453	0,006 %	0,005 %	0,006 %	0,011 %	1,750 %	1,758 %	1,783 %
pWISE10648	629	0,005 %	0,018 %	0,006 %	0,012 %	1,001 %	1,004 %	1,075 %
pWISE10649	630	0,002 %	0,016 %	0,002 %	0,004 %	0,628 %	0,624 %	0,636 %
pWISE10650	631	0,012 %	0,002 %	0,012 %	0,010 %	1,573 %	1,725 %	1,837 %
pWISE10651	632	0,005 %	0,032 %	0,027 %	0,016 %	1,099 %	1,193 %	1,263 %
pWISE10652	633	0,007 %	0,005 %	0,003 %	0,006 %	0,801 %	0,818 %	0,852 %
pWISE10658	639	0,016 %	0,001 %	0,006 %	0,004 %	2,460 %	2,474 %	2,515 %
pWISE10653	634	0,009 %	0,003 %	0,002 %	0,010 %	1,150 %	1,207 %	1,260 %
pWISE10654	635	0,002 %	0,002 %	0,003 %	0,007 %	2,056 %	2,092 %	2,113 %
pWISE10655	636	0,004 %	0,004 %	0,003 %	0,018 %	2,008 %	2,086 %	2,133 %
pWISE10656	637	0,003 %	0,005 %	0,006 %	0,011 %	1,833 %	1,983 %	2,034 %
pWISE10657	638	0,011 %	0,006 %	0,002 %	0,006 %	0,999 %	1,051 %	1,101 %

Tabla 92. (cont.)

Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3629 en la hebra de ADN genómico diana opuesta
--

pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.18	G.20	G.26	G.28	G.31	G.32	G.33
pWISE121	56	0,214 %	0,175 %	0,097 %	0,086 %	0,050 %	0,080 %	0,078 %
pWISE9120	453	0,540 %	0,494 %	0,606 %	0,215 %	0,077 %	0,062 %	0,066 %
pWISE10648	629	0,345 %	0,336 %	0,521 %	0,206 %	0,111 %	0,099 %	0,114 %
pWISE10649	630	0,284 %	0,334 %	0,563 %	0,155 %	0,139 %	0,102 %	0,107 %
pWISE10650	631	1,528 %	1,590 %	2,484 %	0,895 %	0,506 %	0,420 %	0,449 %
pWISE10651	632	1,156 %	1,424 %	2,613 %	1,049 %	0,561 %	0,464 %	0,466 %
pWISE10652	633	1,120 %	1,185 %	2,406 %	1,064 %	0,596 %	0,460 %	0,457 %
pWISE10658	639	0,861 %	0,757 %	0,912 %	0,195 %	0,114 %	0,083 %	0,094 %
pWISE10653	634	0,459 %	0,317 %	0,469 %	0,158 %	0,124 %	0,122 %	0,106 %
pWISE10654	635	1,245 %	1,374 %	1,960 %	0,725 %	0,382 %	0,281 %	0,370 %
pWISE10655	636	1,580 %	1,718 %	2,443 %	0,834 %	0,447 %	0,366 %	0,406 %
pWISE10656	637	1,412 %	1,550 %	2,849 %	0,976 %	0,644 %	0,451 %	0,477 %
pWISE10657	638	1,176 %	1,167 %	2,630 %	0,832 %	0,516 %	0,381 %	0,397 %

Tabla 93.

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3630 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-7	C.-6	C.-1	C.1	C.6	C.11
pWISE121	56	0,016 %	0,018 %	0,018 %	0,023 %	0,051 %	0,145 %
pWISE9120	453	0,059 %	0,044 %	0,114 %	0,056 %	1,177 %	1,749 %
pWISE10648	629	0,069 %	0,046 %	0,101 %	0,052 %	0,476 %	1,144 %
pWISE10649	630	0,055 %	0,024 %	0,057 %	0,029 %	0,166 %	0,390 %
pWISE10650	631	0,097 %	0,063 %	0,130 %	0,087 %	0,386 %	1,020 %
pWISE10651	632	0,071 %	0,057 %	0,093 %	0,062 %	0,292 %	0,837 %
pWISE10652	633	0,074 %	0,052 %	0,093 %	0,045 %	0,298 %	0,855 %
pWISE10658	639	0,046 %	0,033 %	0,111 %	0,051 %	0,489 %	0,940 %
pWISE10653	634	0,052 %	0,041 %	0,095 %	0,048 %	0,489 %	0,973 %
pWISE10654	635	0,080 %	0,065 %	0,127 %	0,068 %	0,295 %	0,705 %
pWISE10655	636	0,056 %	0,027 %	0,070 %	0,035 %	0,278 %	0,599 %
pWISE10656	637	0,032 %	0,022 %	0,055 %	0,024 %	0,201 %	0,557 %
pWISE10657	638	0,043 %	0,039 %	0,076 %	0,060 %	0,227 %	0,590 %

Tabla 93. (cont.)

		Porcentaje de edición C a T promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3630 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.12	C.15	C.19	C.30	C.31	C.33
pWISE121	56	0,145 %	0,992 %	0,336 %	0,394 %	0,201 %	0,166 %
pWISE9120	453	2,255 %	2,946 %	0,558 %	0,002 %	0,007 %	0,003 %
pWISE10648	629	1,591 %	2,669 %	0,909 %	0,005 %	0,011 %	0,023 %
pWISE10649	630	0,700 %	1,893 %	0,821 %	0,010 %	0,025 %	0,011 %
pWISE10650	631	1,545 %	4,167 %	2,020 %	0,016 %	0,025 %	0,007 %
pWISE10651	632	1,359 %	3,838 %	2,030 %	0,010 %	0,017 %	0,010 %
pWISE10652	633	1,352 %	4,082 %	2,138 %	0,011 %	0,034 %	0,006 %
pWISE10658	639	1,525 %	1,985 %	0,411 %	0,003 %	0,008 %	0,003 %
pWISE10653	634	1,411 %	2,498 %	0,804 %	0,005 %	0,031 %	0,015 %
pWISE10654	635	1,277 %	3,042 %	1,376 %	0,013 %	0,018 %	0,002 %
pWISE10655	636	1,021 %	2,645 %	1,272 %	0,009 %	0,024 %	0,007 %
pWISE10656	637	0,904 %	2,375 %	1,088 %	0,002 %	0,015 %	0,012 %
pWISE10657	638	0,961 %	2,547 %	0,818 %	0,010 %	0,012 %	0,005 %

Tabla 94.

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3630 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.-7	C.-6	C.-1	C.1	C.6	C.11
pWISE121	56	0,018 %	0,018 %	0,023 %	0,029 %	0,037 %	0,061 %
pWISE9120	453	0,010 %	0,015 %	0,044 %	0,012 %	0,613 %	0,889 %
pWISE10648	629	0,025 %	0,022 %	0,031 %	0,013 %	0,224 %	0,556 %
pWISE10649	630	0,026 %	0,014 %	0,015 %	0,016 %	0,108 %	0,162 %
pWISE10650	631	0,049 %	0,017 %	0,048 %	0,029 %	0,125 %	0,396 %
pWISE10651	632	0,022 %	0,013 %	0,021 %	0,019 %	0,073 %	0,313 %
pWISE10652	633	0,038 %	0,027 %	0,044 %	0,022 %	0,129 %	0,303 %
pWISE10658	639	0,055 %	0,033 %	0,113 %	0,055 %	0,449 %	0,858 %
pWISE10653	634	0,024 %	0,010 %	0,044 %	0,024 %	0,349 %	0,573 %
pWISE10654	635	0,061 %	0,057 %	0,084 %	0,058 %	0,204 %	0,493 %
pWISE10655	636	0,048 %	0,028 %	0,056 %	0,025 %	0,222 %	0,486 %
pWISE10656	637	0,018 %	0,018 %	0,051 %	0,019 %	0,156 %	0,429 %
pWISE10657	638	0,036 %	0,038 %	0,065 %	0,055 %	0,175 %	0,463 %

Tabla 94. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3630 en la hebra de ADN genómico no diana					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	C.12	C.15	C.19	C.30	C.31	C.33
pWISE121	56	0,076 %	0,137 %	0,143 %	0,153 %	0,074 %	0,019 %
pWISE9120	453	1,170 %	1,475 %	0,231 %	0,004 %	0,006 %	0,003 %
pWISE10648	629	0,735 %	1,070 %	0,372 %	0,004 %	0,016 %	0,025 %
pWISE10649	630	0,345 %	0,892 %	0,379 %	0,009 %	0,013 %	0,006 %

pWISE10650	631	0,556 %	1,615 %	0,730 %	0,013 %	0,021 %	0,007 %
pWISE10651	632	0,477 %	1,388 %	0,711 %	0,010 %	0,010 %	0,010 %
pWISE10652	633	0,470 %	1,450 %	0,717 %	0,014 %	0,015 %	0,008 %
pWISE10658	639	1,417 %	1,837 %	0,390 %	0,002 %	0,009 %	0,003 %
pWISE10653	634	0,734 %	1,315 %	0,337 %	0,004 %	0,031 %	0,019 %
pWISE10654	635	0,902 %	1,978 %	0,902 %	0,014 %	0,027 %	0,002 %
pWISE10655	636	0,834 %	2,170 %	1,008 %	0,007 %	0,021 %	0,010 %
pWISE10656	637	0,717 %	1,896 %	0,860 %	0,002 %	0,011 %	0,008 %
pWISE10657	638	0,764 %	2,033 %	0,635 %	0,012 %	0,009 %	0,004 %

Tabla 95.

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3630 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-4	G.8	G.9	G.10	G.14
pWISE121	56	0,015 %	0,083 %	0,081 %	0,073 %	0,160 %
pWISE9120	453	0,002 %	0,185 %	0,528 %	0,772 %	0,945 %
pWISE10648	629	0,012 %	0,079 %	0,128 %	0,196 %	1,284 %
pWISE10649	630	0,004 %	0,060 %	0,084 %	0,147 %	0,942 %
pWISE10650	631	0,003 %	0,154 %	0,181 %	0,282 %	1,976 %
pWISE10651	632	0,002 %	0,166 %	0,200 %	0,257 %	1,813 %
pWISE10652	633	0,011 %	0,107 %	0,142 %	0,236 %	1,721 %
pWISE10658	639	0,004 %	0,242 %	0,750 %	1,400 %	1,650 %
pWISE10653	634	0,002 %	0,191 %	0,248 %	0,400 %	2,330 %
pWISE10654	635	0,006 %	0,167 %	0,282 %	0,516 %	2,486 %
pWISE10655	636	0,002 %	0,215 %	0,287 %	0,464 %	2,080 %
pWISE10656	637	0,003 %	0,126 %	0,201 %	0,391 %	1,718 %
pWISE10657	638	0,002 %	0,096 %	0,129 %	0,324 %	1,252 %

Tabla 95. (cont.)

		Porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3630 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.16	G.17	G.18	G.21	G.22
pWISE121	56	0,528 %	0,436 %	1,115 %	0,329 %	0,504 %
pWISE9120	453	0,604 %	0,420 %	0,378 %	0,388 %	0,400 %
pWISE10648	629	1,015 %	0,718 %	0,652 %	0,689 %	0,685 %
pWISE10649	630	0,881 %	0,718 %	0,677 %	0,689 %	0,708 %
pWISE10650	631	2,177 %	1,772 %	1,659 %	1,555 %	1,594 %
pWISE10651	632	2,184 %	1,835 %	1,727 %	1,668 %	1,688 %
pWISE10652	633	2,467 %	1,967 %	1,894 %	1,810 %	1,878 %
pWISE10658	639	1,618 %	1,071 %	0,874 %	0,724 %	0,727 %
pWISE10653	634	2,462 %	1,828 %	1,671 %	1,259 %	1,266 %
pWISE10654	635	2,789 %	2,265 %	2,148 %	1,966 %	2,040 %
pWISE10655	636	2,721 %	2,162 %	2,045 %	1,887 %	1,940 %
pWISE10656	637	2,459 %	1,969 %	1,854 %	1,738 %	1,867 %

pWISE10657	638	2,236 %	1,673 %	1,529 %	1,423 %	1,571 %
------------	------------	---------	---------	---------	---------	---------

Tabla 96.

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3630 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.-4	G.8	G.9	G.10	G.14
pWISE121	56	0,023 %	0,032 %	0,019 %	0,026 %	0,059 %
pWISE9120	453	0,002 %	0,156 %	0,322 %	0,411 %	0,503 %
pWISE10648	629	0,014 %	0,053 %	0,067 %	0,086 %	0,614 %
pWISE10649	630	0,001 %	0,030 %	0,022 %	0,054 %	0,381 %
pWISE10650	631	0,003 %	0,055 %	0,071 %	0,113 %	0,712 %
pWISE10651	632	0,002 %	0,078 %	0,088 %	0,121 %	0,747 %
pWISE10652	633	0,015 %	0,036 %	0,066 %	0,110 %	0,664 %
pWISE10658	639	0,003 %	0,239 %	0,705 %	1,301 %	1,542 %
pWISE10653	634	0,002 %	0,236 %	0,213 %	0,319 %	1,124 %
pWISE10654	635	0,012 %	0,104 %	0,169 %	0,318 %	1,583 %
pWISE10655	636	0,003 %	0,161 %	0,230 %	0,380 %	1,690 %
pWISE10656	637	0,002 %	0,109 %	0,164 %	0,320 %	1,422 %
pWISE10657	638	0,002 %	0,080 %	0,097 %	0,247 %	0,974 %

Tabla 96. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición G a A promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp3630 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	G.16	G.17	G.18	G.21	G.22
pWISE121	56	0,099 %	0,128 %	0,212 %	0,151 %	0,180 %
pWISE9120	453	0,318 %	0,213 %	0,188 %	0,186 %	0,192 %
pWISE10648	629	0,477 %	0,295 %	0,268 %	0,304 %	0,322 %
pWISE10649	630	0,371 %	0,297 %	0,263 %	0,270 %	0,265 %
pWISE10650	631	0,757 %	0,588 %	0,548 %	0,506 %	0,533 %
pWISE10651	632	0,891 %	0,750 %	0,699 %	0,588 %	0,589 %
pWISE10652	633	0,787 %	0,629 %	0,622 %	0,622 %	0,619 %
pWISE10658	639	1,486 %	0,987 %	0,806 %	0,663 %	0,672 %
pWISE10653	634	1,169 %	0,857 %	0,725 %	0,543 %	0,553 %
pWISE10654	635	1,726 %	1,359 %	1,301 %	1,286 %	1,303 %
pWISE10655	636	2,219 %	1,743 %	1,647 %	1,501 %	1,551 %
pWISE10656	637	2,024 %	1,616 %	1,530 %	1,413 %	1,538 %
pWISE10657	638	1,793 %	1,343 %	1,230 %	1,127 %	1,256 %

Ejemplo 12:

Se probaron permutantes circulares de una enzima LbCas12a enzimáticamente inactiva (dLbCas12a (**SEQ ID NO: 59**)) para la edición de bases de adenina fusionando una adenina desaminasa al extremo N- o C-terminal del permutante circular usando un enlazador para proporcionar una proteína de fusión. Los enlazadores probados incluyeron un enlazador GS–XTEN–GS (**SEQ ID NO: 30**); un enlazador XTEN (**SEQ ID NO: 29**); un enlazador de glicina–serina de cuatro aminoácidos (4XGS) de SGGS (**SEQ ID NO: 26**); un enlazador de glicina–serina de seis aminoácidos (6XGS) de (SGS)_n donde n es 2 (**SEQ ID NO: 869**); un enlazador de glicina–serina de ocho aminoácidos (8XGS) de (SGGS)_n donde n es 2 (**SEQ ID NO: 870**); y un enlazador de glicina–serina de doce aminoácidos (12XGS) de (SGGS)_n donde n es 3. Las proteínas de fusión y el control (**SEQ ID NO: 56**) se enumeran en la **Tabla 97**, y las dianas se encuentran en la **Tabla 98**.

Tabla 97. Construcciones evaluadas.

pWISE	Vector SEQ ID NO:	ADN SEQ ID NO:	Proteína SEQ ID NO:
pWISE121	259	246	56
pWISE9205	532	515	498
pWISE9193	520	503	486
pWISE10616	671	640	609
pWISE10617	672	641	610
pWISE10618	673	642	611
pWISE10619	674	643	612
pWISE10620	675	644	613
pWISE9199	526	509	492
pWISE10621	676	645	614
pWISE10622	677	646	615
pWISE10623	678	647	616
pWISE10624	679	648	617
pWISE10625	680	649	618
pWISE9201	528	511	494
pWISE10626	681	650	619
pWISE10627	682	651	620
pWISE10628	683	652	621
pWISE10629	684	653	622
pWISE10630	685	654	623

Tabla 98. Targets

Ácido nucleico diana	Diana SEQ ID NO:	Espaciador	Espaciador SEQ ID NO:	pWISE	Vector SEQ ID NO:
DNMT1 humano	272	PWsp143	275	pWISE264	278

RNF2 humano	274	PWsp453	277	pWISE882	280
RNF2 humano	274	PWsp454	865	pWISE883	867
RNF2 humano	274	PWsp455	866	pWISE884	868

Las proteínas de fusión y el control se probaron para determinar su capacidad de realizar la edición de bases en cuatro sitios diferentes en dos ácidos nucleicos diana (**SEQ ID NOs: 272 y 274**) en células HEK293T utilizando cuatro espaciadores (**SEQ ID NOs: 275, 277, 865 y 866**). Se probaron una única réplica biológica y dos réplicas técnicas. Las células HEK293T se sembraron en placas recubiertas con colágeno de 48 pocillos (Corning) en ausencia de antibiótico utilizando medio DMEM. Con una confluencia del 70–80 %, las células se transfectaron con 1,5 µL de LTX (ThermoFisher Scientific) utilizando 500 ng del plásmido de proteína de fusión o control y 500 ng de plásmido de ARN guía de acuerdo con el protocolo del fabricante. Después de 3 días, las células se lisaron con un método de extracción de bruto utilizando el tampón TritonX. Cada proteína de fusión o control se puntuó en función de la edición precisa de pares de bases en los genes DNMT1 y RNF2 utilizando los ARN guía (**SEQ ID NOs: 275, 277, 865 y 866**). Se observaron niveles bajos de fondo de formación de INDEL, lo que se esperaba al utilizar una LbCas12a muerta. Los resultados se proporcionan en las **Tablas 99–106**. Los valores en las **Tablas 99–106** que están por debajo del 0,1 % se consideran ruido del instrumento (por debajo del límite de detección) y no son indicativos de edición. Los valores que están entre el 0,1 % y el 0,5 % indican que hay edición presente en el experimento en la ubicación especificada, pero el ensayo no es lo suficientemente sensible como para cuantificar con precisión la cantidad de edición de bases. De manera similar a lo que se demostró en el Ejemplo 10 para la edición de bases de citosina, como se ve en las Tablas 99–106, las proteínas de fusión proporcionaron una edición eficiente de A a G en una amplia ventana de edición y el cambio de la longitud y/o el tipo del enlazador entre la adenina desaminasa y el permutante circular no modificó significativamente la ventana de edición ni la eficiencia en las posiciones que se demostró que estaban altamente editadas con el control. Además, se encontró que las proteínas de fusión que contenían enlazadores más cortos (por ejemplo, enlazador 6XGS) habían mejorado la edición de A a G hacia el extremo 3' del espaciador (por ejemplo, aproximadamente en los últimos 11–23 nucleótidos de la secuencia del espaciador).

Tabla 99.

Porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia
--

		espaciadora PWsp143 en la hebra de ADN genómico diana opuesta			
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.5	A.8	A.12	A.21
pWISE121	56	0,049 %	0,454 %	0,361 %	0,141 %
pWISE9205	498	0,017 %	10,881 %	6,116 %	0,021 %
pWISE9193	486	0,008 %	6,988 %	8,961 %	0,335 %
pWISE10616	609	0,012 %	5,531 %	7,466 %	0,292 %
pWISE10617	610	0,010 %	5,564 %	8,150 %	0,225 %
pWISE10618	611	0,016 %	9,120 %	10,199 %	0,470 %
pWISE10619	612	0,007 %	10,127 %	10,751 %	0,416 %
pWISE10620	613	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9199	492	0,012 %	11,264 %	7,690 %	0,096 %
pWISE10621	614	0,015 %	12,532 %	9,651 %	0,152 %
pWISE10622	615	0,024 %	12,238 %	10,625 %	0,204 %
pWISE10623	616	0,027 %	9,530 %	10,037 %	0,606 %
pWISE10624	617	0,018 %	6,966 %	9,839 %	0,667 %
pWISE10625	618	0,018 %	6,658 %	9,787 %	0,725 %
pWISE9201	494	0,005 %	9,097 %	8,061 %	0,131 %
pWISE10626	619	0,015 %	13,655 %	11,997 %	0,058 %
pWISE10627	620	0,015 %	10,271 %	9,656 %	0,045 %
pWISE10628	621	0,015 %	12,506 %	12,122 %	0,102 %
pWISE10629	622	0,014 %	11,561 %	11,607 %	0,056 %
pWISE10630	623	0,016 %	8,140 %	9,604 %	0,055 %

Tabla 100.

		Desviación típica del porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp143 en la hebra de ADN genómico diana opuesta			
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.5	A.8	A.12	A.21
pWISE121	56	0,019 %	0,539 %	0,180 %	0,098 %
pWISE9205	498	0,000 %	2,037 %	1,549 %	0,009 %
pWISE9193	486	0,000 %	1,580 %	2,439 %	0,170 %
pWISE10616	609	0,000 %	0,515 %	1,132 %	0,032 %
pWISE10617	610	0,004 %	2,072 %	2,689 %	0,051 %
pWISE10618	611	0,001 %	1,999 %	2,508 %	0,154 %
pWISE10619	612	0,005 %	1,253 %	1,351 %	0,235 %
pWISE10620	613	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9199	492	0,007 %	1,294 %	1,424 %	0,041 %
pWISE10621	614	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10622	615	0,047 %	0,070 %	0,428 %	0,077 %
pWISE10623	616	0,006 %	0,490 %	0,628 %	0,164 %
pWISE10624	617	0,006 %	0,258 %	0,734 %	0,124 %
pWISE10625	618	0,021 %	0,114 %	0,193 %	0,029 %

pWISE9201	494	0,001 %	0,459 %	0,216 %	0,004 %
pWISE10626	619	0,024 %	0,428 %	0,010 %	0,099 %
pWISE10627	620	0,017 %	0,026 %	0,048 %	0,008 %
pWISE10628	621	0,007 %	1,453 %	1,913 %	0,025 %
pWISE10629	622	0,004 %	0,131 %	0,187 %	0,034 %
pWISE10630	623	0,004 %	0,062 %	0,413 %	0,053 %

Tabla 101.

		Porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp453 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.2	A.5	A.9	A.11	A.12
pWISE121	56	0,138 %	0,035 %	1,161 %	0,878 %	0,777 %
pWISE9205	498	0,127 %	0,012 %	14,129 %	7,618 %	1,198 %
pWISE9193	486	0,012 %	0,018 %	11,629 %	8,829 %	3,176 %
pWISE10616	609	0,010 %	0,015 %	6,160 %	5,140 %	2,609 %
pWISE10617	610	0,012 %	0,021 %	12,117 %	10,179 %	4,984 %
pWISE10618	611	0,034 %	0,007 %	12,573 %	11,037 %	7,749 %
pWISE10619	612	0,018 %	0,019 %	14,205 %	12,317 %	9,538 %
pWISE10620	613	0,015 %	0,005 %	13,150 %	11,442 %	8,542 %
pWISE9199	492	0,022 %	0,009 %	19,128 %	13,423 %	6,854 %
pWISE10621	614	0,007 %	0,010 %	13,483 %	9,736 %	5,018 %
pWISE10622	615	0,054 %	0,005 %	15,184 %	12,268 %	7,328 %
pWISE10623	616	0,043 %	0,000 %	14,828 %	11,765 %	7,585 %
pWISE10624	617	0,023 %	0,000 %	13,658 %	10,912 %	7,263 %
pWISE10625	618	0,024 %	0,012 %	14,390 %	11,538 %	7,500 %
pWISE9201	494	0,014 %	0,014 %	12,161 %	8,762 %	3,396 %
pWISE10626	619	0,019 %	0,015 %	15,661 %	12,756 %	6,276 %
pWISE10627	620	0,018 %	0,024 %	10,200 %	9,008 %	4,639 %
pWISE10628	621	0,000 %	0,000 %	14,353 %	12,995 %	6,304 %
pWISE10629	622	0,044 %	0,015 %	16,251 %	14,846 %	7,550 %
pWISE10630	623	0,028 %	0,009 %	15,393 %	14,333 %	6,270 %

Tabla 101. (cont.)

		Porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp453 en la hebra de ADN genómico diana opuesta			
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.15	A.16	A.18	A.23
pWISE121	56	0,552 %	0,743 %	1,054 %	0,165 %
pWISE9205	498	0,106 %	0,249 %	1,538 %	0,017 %
pWISE9193	486	0,436 %	1,612 %	7,737 %	0,024 %

pWISE10616	609	0,471 %	1,094 %	4,119 %	0,010 %
pWISE10617	610	0,815 %	2,195 %	8,928 %	0,005 %
pWISE10618	611	1,779 %	4,469 %	10,096 %	0,112 %
pWISE10619	612	2,408 %	5,715 %	11,579 %	0,090 %
pWISE10620	613	2,315 %	5,327 %	10,147 %	0,094 %
pWISE9199	492	0,746 %	3,337 %	9,253 %	0,033 %
pWISE10621	614	0,445 %	2,418 %	6,582 %	0,041 %
pWISE10622	615	0,922 %	4,262 %	9,635 %	0,029 %
pWISE10623	616	1,863 %	6,573 %	12,093 %	0,091 %
pWISE10624	617	2,155 %	6,661 %	11,814 %	0,100 %
pWISE10625	618	2,420 %	7,991 %	13,011 %	0,105 %
pWISE9201	494	0,361 %	0,851 %	2,037 %	0,006 %
pWISE10626	619	0,378 %	1,315 %	3,752 %	0,010 %
pWISE10627	620	0,294 %	0,977 %	3,272 %	0,006 %
pWISE10628	621	0,745 %	1,508 %	4,553 %	0,000 %
pWISE10629	622	0,681 %	2,299 %	5,520 %	0,005 %
pWISE10630	623	0,817 %	2,121 %	5,463 %	0,019 %

Tabla 102.

		Desviación típica del porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp453 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.2	A.5	A.9	A.11	A.12
pWISE121	56	0,042 %	0,014 %	1,113 %	1,125 %	0,864 %
pWISE9205	498	0,152 %	0,006 %	5,123 %	3,289 %	1,052 %
pWISE9193	486	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10616	609	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10617	610	0,010 %	0,009 %	0,247 %	0,109 %	0,208 %
pWISE10618	611	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10619	612	0,011 %	0,015 %	0,325 %	0,280 %	0,196 %
pWISE10620	613	0,021 %	0,007 %	2,091 %	2,091 %	1,872 %
pWISE9199	492	0,025 %	0,002 %	0,832 %	0,263 %	0,241 %
pWISE10621	614	0,010 %	0,000 %	2,954 %	2,654 %	1,135 %
pWISE10622	615	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10623	616	0,010 %	0,000 %	0,400 %	0,848 %	0,242 %
pWISE10624	617	0,026 %	0,000 %	0,037 %	0,239 %	0,253 %
pWISE10625	618	0,013 %	0,003 %	0,836 %	0,760 %	0,983 %
pWISE9201	494	0,002 %	0,002 %	0,423 %	0,252 %	0,793 %
pWISE10626	619	0,018 %	0,015 %	0,492 %	0,168 %	0,206 %
pWISE10627	620	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10628	621	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10629	622	0,049 %	0,008 %	2,848 %	2,553 %	1,124 %
pWISE10630	623	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos

Tabla 102. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp453 en la hebra de ADN genómico diana opuesta			
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.15	A.16	A.18	A.23
pWISE121	56	0,312 %	0,453 %	0,869 %	0,036 %
pWISE9205	498	0,150 %	0,342 %	1,025 %	0,013 %
pWISE9193	486	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10616	609	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10617	610	0,030 %	0,048 %	0,053 %	0,007 %
pWISE10618	611	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10619	612	0,055 %	0,067 %	0,517 %	0,057 %
pWISE10620	613	0,526 %	0,971 %	2,537 %	0,059 %
pWISE9199	492	0,097 %	0,281 %	0,124 %	0,010 %
pWISE10621	614	0,135 %	0,515 %	1,823 %	0,023 %
pWISE10622	615	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos

pWISE10623	616	0,076 %	0,261 %	0,259 %	0,047 %
pWISE10624	617	0,014 %	0,079 %	0,177 %	0,007 %
pWISE10625	618	0,469 %	0,685 %	0,737 %	0,040 %
pWISE9201	494	0,236 %	0,161 %	0,716 %	0,009 %
pWISE10626	619	0,028 %	0,089 %	0,395 %	0,005 %
pWISE10627	620	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10628	621	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10629	622	0,261 %	0,362 %	1,299 %	0,007 %
pWISE10630	623	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos

Tabla 103.

		Porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp454 en la hebra de ADN genómico diana opuesta			
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.2	A.9	A.11	A.23
pWISE121	56	0,015 %	0,119 %	0,104 %	0,327 %
pWISE9205	498	0,002 %	12,330 %	13,245 %	0,013 %
pWISE9193	486	0,003 %	8,383 %	12,081 %	0,077 %
pWISE10616	609	0,003 %	5,482 %	7,900 %	0,025 %
pWISE10617	610	0,009 %	8,076 %	11,812 %	0,055 %
pWISE10618	611	0,001 %	10,544 %	12,643 %	0,136 %
pWISE10619	612	0,017 %	10,483 %	12,245 %	0,017 %
pWISE10620	613	0,000 %	10,423 %	11,549 %	0,037 %
pWISE9199	492	0,000 %	11,850 %	13,364 %	0,028 %
pWISE10621	614	0,000 %	9,153 %	10,414 %	0,013 %
pWISE10622	615	0,005 %	9,612 %	11,191 %	0,026 %
pWISE10623	616	0,004 %	7,718 %	10,349 %	0,019 %
pWISE10624	617	0,004 %	7,277 %	10,815 %	0,031 %
pWISE10625	618	0,000 %	7,675 %	12,356 %	0,028 %
pWISE9201	494	0,004 %	7,780 %	8,839 %	0,004 %
pWISE10626	619	0,000 %	3,932 %	3,932 %	0,000 %
pWISE10627	620	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10628	621	0,000 %	8,934 %	9,852 %	0,018 %
pWISE10629	622	0,000 %	10,551 %	11,525 %	0,005 %
pWISE10630	623	0,009 %	8,006 %	8,940 %	0,004 %

Tabla 104.

		Desviación típica del porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp454 en la hebra de ADN genómico diana opuesta			
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.2	A.9	A.11	A.23

pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9205	498	0,003 %	0,209 %	0,283 %	0,009 %
pWISE9193	486	0,005 %	0,529 %	0,512 %	0,071 %
pWISE10616	609	0,004 %	0,425 %	0,728 %	0,008 %
pWISE10617	610	0,006 %	1,459 %	1,746 %	0,020 %
pWISE10618	611	0,002 %	0,580 %	0,671 %	0,062 %
pWISE10619	612	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10620	613	0,000 %	0,897 %	0,685 %	0,011 %
pWISE9199	492	0,000 %	0,013 %	0,030 %	0,005 %
pWISE10621	614	0,000 %	1,657 %	1,924 %	0,006 %
pWISE10622	615	0,008 %	1,191 %	1,694 %	0,001 %
pWISE10623	616	0,006 %	1,038 %	1,414 %	0,016 %
pWISE10624	617	0,006 %	0,629 %	0,796 %	0,010 %
pWISE10625	618	0,000 %	0,135 %	0,211 %	0,019 %
pWISE9201	494	0,006 %	1,276 %	0,968 %	0,006 %
pWISE10626	619	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10627	620	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10628	621	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10629	622	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10630	623	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos

Tabla 105.

		Porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp455 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.2	A.3	A.8	A.9	A.10	A.11
pWISE121	56	0,166 %	0,275 %	0,544 %	1,043 %	0,179 %	0,326 %
pWISE9205	498	0,005 %	0,012 %	7,282 %	5,673 %	2,411 %	4,140 %
pWISE9193	486	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10616	609	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10617	610	0,017 %	0,025 %	7,855 %	5,408 %	4,640 %	10,816 %
pWISE10618	611	0,008 %	0,008 %	10,980 %	9,523 %	7,365 %	12,119 %
pWISE10619	612	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10620	613	0,011 %	0,057 %	15,583 %	12,660 %	10,711 %	15,713 %
pWISE9199	492	0,012 %	0,000 %	10,433 %	8,274 %	3,945 %	7,834 %
pWISE10621	614	0,003 %	0,000 %	9,054 %	7,638 %	3,775 %	7,118 %
pWISE10622	615	0,002 %	0,002 %	9,651 %	8,163 %	4,494 %	8,119 %
pWISE10623	616	0,000 %	0,014 %	5,673 %	4,674 %	2,372 %	5,963 %
pWISE10624	617	0,018 %	0,012 %	4,368 %	3,541 %	2,043 %	5,177 %

pWISE10625	618	0,016 %	0,005 %	3,903 %	3,005 %	1,708 %	4,842 %
pWISE9201	494	0,000 %	0,009 %	10,929 %	7,710 %	4,491 %	8,909 %
pWISE10626	619	0,015 %	0,000 %	12,765 %	10,769 %	7,658 %	11,621 %
pWISE10627	620	0,007 %	0,003 %	8,499 %	8,510 %	6,716 %	9,321 %
pWISE10628	621	0,005 %	0,010 %	9,154 %	10,779 %	8,955 %	11,099 %
pWISE10629	622	0,037 %	0,004 %	7,896 %	11,576 %	10,312 %	11,996 %
pWISE10630	623	0,008 %	0,012 %	3,815 %	9,166 %	8,909 %	9,687 %

Tabla 105. (cont.)

		Porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp455 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.15	A.16	A.17	A.19	A.21	A.22
pWISE121	56	0,941 %	0,614 %	0,442 %	0,557 %	0,102 %	0,416 %
pWISE9205	498	0,883 %	0,040 %	0,007 %	0,260 %	0,012 %	0,100 %
pWISE9193	486	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10616	609	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10617	610	2,885 %	0,084 %	0,084 %	0,768 %	0,337 %	0,059 %
pWISE10618	611	3,026 %	0,135 %	0,135 %	1,330 %	0,072 %	0,000 %
pWISE10619	612	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10620	613	4,424 %	0,206 %	0,248 %	2,383 %	0,065 %	0,070 %
pWISE9199	492	0,958 %	0,015 %	0,031 %	0,219 %	0,040 %	0,020 %
pWISE10621	614	1,091 %	0,013 %	0,045 %	0,218 %	0,011 %	0,012 %
pWISE10622	615	1,663 %	0,018 %	0,043 %	0,349 %	0,009 %	0,030 %
pWISE10623	616	2,550 %	0,023 %	0,030 %	0,525 %	0,033 %	0,033 %
pWISE10624	617	3,218 %	0,090 %	0,090 %	0,659 %	0,072 %	0,018 %
pWISE10625	618	3,382 %	0,107 %	0,083 %	0,561 %	0,053 %	0,039 %
pWISE9201	494	0,938 %	0,225 %	0,063 %	0,126 %	0,000 %	0,054 %
pWISE10626	619	1,097 %	0,056 %	0,072 %	0,222 %	0,053 %	0,054 %
pWISE10627	620	1,135 %	0,047 %	0,056 %	0,345 %	0,026 %	0,034 %
pWISE10628	621	1,640 %	0,075 %	0,069 %	0,552 %	0,026 %	0,068 %
pWISE10629	622	2,282 %	0,125 %	0,165 %	0,638 %	0,024 %	0,069 %
pWISE10630	623	2,195 %	0,119 %	0,104 %	0,573 %	0,023 %	0,036 %

Tabla 106.

		Desviación típica del porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp455 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.2	A.3	A.8	A.9	A.10	A.11
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9205	498	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9193	486	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10616	609	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10617	610	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos

pWISE10618	611	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10619	612	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10620	613	0,007 %	0,001 %	0,510 %	0,374 %	0,563 %	0,648 %
pWISE9199	492	0,006 %	0,000 %	0,185 %	0,115 %	0,495 %	0,260 %
pWISE10621	614	0,005 %	0,000 %	0,698 %	0,477 %	0,379 %	0,613 %
pWISE10622	615	0,003 %	0,003 %	0,708 %	0,663 %	0,703 %	1,611 %
pWISE10623	616	0,000 %	0,004 %	0,097 %	0,096 %	0,339 %	0,362 %
pWISE10624	617	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10625	618	0,001 %	0,007 %	0,002 %	0,037 %	0,048 %	0,079 %
pWISE9201	494	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10626	619	0,011 %	0,000 %	0,739 %	0,239 %	0,334 %	0,282 %
pWISE10627	620	0,001 %	0,005 %	0,332 %	0,222 %	0,114 %	0,209 %
pWISE10628	621	0,007 %	0,006 %	0,453 %	0,698 %	0,519 %	0,284 %
pWISE10629	622	0,007 %	0,006 %	0,089 %	0,483 %	0,440 %	0,148 %
pWISE10630	623	0,000 %	0,005 %	0,417 %	0,019 %	0,051 %	0,260 %

Tabla 106. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp455 en la hebra de ADN genómico diana opuesta					
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.15	A.16	A.17	A.19	A.21	A.22
pWISE121	56	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9205	498	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9193	486	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10616	609	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10617	610	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10618	611	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10619	612	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10620	613	0,074 %	0,107 %	0,052 %	0,182 %	0,001 %	0,027 %
pWISE9199	492	0,032 %	0,021 %	0,013 %	0,037 %	0,035 %	0,018 %
pWISE10621	614	0,078 %	0,018 %	0,016 %	0,068 %	0,004 %	0,007 %
pWISE10622	615	0,019 %	0,014 %	0,011 %	0,082 %	0,000 %	0,004 %
pWISE10623	616	0,095 %	0,020 %	0,018 %	0,030 %	0,022 %	0,038 %
pWISE10624	617	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE10625	618	0,004 %	0,020 %	0,032 %	0,108 %	0,011 %	0,009 %
pWISE9201	494	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos

pWISE10626	619	0,206 %	0,007 %	0,014 %	0,042 %	0,002 %	0,029 %
pWISE10627	620	0,093 %	0,009 %	0,013 %	0,063 %	0,002 %	0,037 %
pWISE10628	621	0,095 %	0,030 %	0,022 %	0,032 %	0,012 %	0,040 %
pWISE10629	622	0,085 %	0,024 %	0,080 %	0,016 %	0,034 %	0,008 %
pWISE10630	623	0,126 %	0,009 %	0,024 %	0,135 %	0,001 %	0,017 %

Ejemplo 13:

Se analizaron los permutantes circulares de una enzima LbCas12a enzimáticamente inactiva (dLbCas12a (**SEQ ID NO: 59**)) para determinar la edición de bases de adenina mediante la fusión de una adenina desaminasa o bien al extremo N-terminal o C-terminal del permutante circular utilizando un enlazador (por ejemplo, el enlazador GS–XTEN–GS (**SEQ ID NO: 30**)) para proporcionar una proteína de fusión. Las proteínas de fusión y el control (**SEQ ID NO: 56**) se enumeran en la **Tabla 107**, y las dianas se encuentran en la **Tabla 108**.

Tabla 107. Construcciones evaluadas.

pWISE	Vector SEQ ID NO:	ADN SEQ ID NO:	Proteína SEQ ID NO:
pWISE121	259	246	56
pWISE2918	534	517	498
pWISE4922	535	518	501
pWISE6854	536	519	502
pWISE9193	520	503	486
pWISE9194	521	504	487
pWISE9195	522	505	488
pWISE9196	523	506	489
pWISE9197	524	507	490
pWISE9198	525	508	491
pWISE9199	526	509	492
pWISE9200	527	510	493
pWISE9201	528	511	494
pWISE9202	529	512	495
pWISE9203	530	513	496
pWISE9204	531	514	497
pWISE9205	532	515	498
pWISE9206	533	516	499

Tabla 108. Dianas.

Ácido nucleico diana	Diana SEQ ID NO:	Espaciador	Espaciador SEQ ID NO:	pWISE	Vector SEQ ID NO:
DNMT1 humano	272	PWsp143	275	pWISE264	278
RNF2 humano	274	PWsp453	277	pWISE882	280

RNF2 humano	274	PWsp454	865	pWISE883	867
RNF2 humano	274	PWsp455	866	pWISE884	868

Las proteínas de fusión y los controles se probaron para determinar su capacidad de realizar la edición de bases en cuatro sitios diferentes en dos ácidos nucleicos objetivo (**SEQ ID NOs: 272 y 274**) en células HEK293T utilizando cuatro espaciadores (**SEQ ID NOs: 275, 277, 865 y 866**). Se probaron una única réplica biológica y dos réplicas técnicas. Las células HEK293T se sembraron en placas recubiertas con colágeno de 48 pocillos (Corning) en ausencia de antibiótico utilizando medio DMEM. Con una confluencia del 70–80 %, las células se transfectaron con 1,5 µL de LTX (ThermoFisher Scientific) utilizando 500 ng del plásmido de proteína de fusión o control y 500 ng de plásmido de ARN guía de acuerdo con el protocolo del fabricante. Después de 3 días, las células se lisaron con un método de extracción de bruto utilizando el tampón TritonX. Cada proteína de fusión o control se puntuó en función de la edición precisa de pares de bases en los genes DNMT1 y RNF2 utilizando los ARN guía (**SEQ ID NOs: 275, 277, 865 y 866**). Se observaron niveles bajos de fondo de formación de INDEL, lo que se esperaba al utilizar un LbCas12a muerta. Los resultados se proporcionan en las **Tablas 109–116**. Los valores en las **Tablas 109–116** que están por debajo del 0,1 % se consideran ruido del instrumento (por debajo del límite de detección) y no son indicativos de edición. Los valores que están entre el 0,1 % y el 0,5 % indican que hay edición presente en el experimento en la ubicación especificada, pero el ensayo no es lo suficientemente sensible como para cuantificar con precisión la cantidad de edición de bases. Como se ve en las Tablas 109–116, las proteínas de fusión proporcionaron una edición eficiente de A a G en una ventana amplia y específicamente tuvieron una edición mejorada en las posiciones aproximadamente entre 11 y 23 de la secuencia diana (por ejemplo, hacia el extremo 3' de la secuencia espaciadora, tal como aproximadamente en los nucleótidos 11–23).

Tabla 109.

		Porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp143 en la hebra de ADN genómico diana opuesta						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.-5	A.-4	A.5	A.8	A.12	A.21	A.29
pWISE121	56	0,040 %	0,027 %	0,074 %	0,041 %	0,125 %	0,178 %	0,068 %
pWISE2918	498	0,011 %	0,007 %	0,016 %	11,995 %	6,888 %	0,022 %	0,003 %
pWISE4922	501	0,007 %	0,008 %	0,012 %	9,682 %	5,775 %	0,015 %	0,005 %

pWISE6854	502	0,008 %	0,009 %	0,003 %	9,957 %	8,127 %	0,017 %	0,002 %
pWISE9193	486	0,011 %	0,005 %	0,006 %	7,469 %	9,656 %	0,428 %	0,006 %
pWISE9194	487	0,007 %	0,009 %	0,005 %	0,263 %	0,743 %	0,011 %	0,004 %
pWISE9195	488	0,009 %	0,009 %	0,005 %	6,490 %	4,719 %	0,116 %	0,003 %
pWISE9196	489	0,014 %	0,006 %	0,008 %	0,018 %	0,037 %	0,005 %	0,007 %
pWISE9197	490	0,009 %	0,004 %	0,002 %	0,200 %	0,253 %	0,024 %	0,003 %
pWISE9198	491	0,012 %	0,008 %	0,013 %	3,181 %	4,674 %	0,730 %	0,007 %
pWISE9199	492	0,010 %	0,007 %	0,007 %	12,833 %	9,471 %	0,154 %	0,005 %
pWISE9200	493	0,011 %	0,008 %	0,005 %	1,576 %	2,793 %	0,014 %	0,003 %
pWISE9201	494	0,012 %	0,006 %	0,014 %	15,834 %	12,845 %	0,041 %	0,004 %
pWISE9202	495	0,013 %	0,004 %	0,007 %	0,064 %	0,097 %	0,008 %	0,004 %
pWISE9203	496	0,011 %	0,010 %	0,010 %	0,188 %	0,149 %	0,024 %	0,004 %
pWISE9204	497	0,011 %	0,005 %	0,011 %	2,930 %	3,058 %	0,040 %	0,005 %
pWISE9205	498	0,016 %	0,009 %	0,009 %	10,916 %	6,529 %	0,031 %	0,001 %
pWISE9206	499	0,011 %	0,008 %	0,013 %	13,570 %	9,223 %	0,038 %	0,007 %

Tabla 110.

		Desviación típica del porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp143 en la hebra de ADN genómico diana opuesta						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.-5	A.-4	A.5	A.8	A.12	A.21	A.29
pWISE121	56	0,029 %	0,025 %	0,012 %	0,020 %	0,024 %	0,030 %	0,010 %
pWISE2918	498	0,001 %	0,001 %	0,012 %	1,008 %	0,942 %	0,001 %	0,003 %
pWISE4922	501	0,004 %	0,001 %	0,007 %	0,064 %	0,037 %	0,005 %	0,005 %
pWISE6854	502	0,001 %	0,005 %	0,003 %	0,131 %	0,071 %	0,001 %	0,000 %
pWISE9193	486	0,001 %	0,001 %	0,002 %	0,223 %	0,265 %	0,068 %	0,006 %
pWISE9194	487	0,002 %	0,006 %	0,001 %	0,021 %	0,033 %	0,003 %	0,003 %
pWISE9195	488	0,006 %	0,010 %	0,005 %	0,043 %	0,010 %	0,013 %	0,004 %
pWISE9196	489	0,004 %	0,001 %	0,000 %	0,005 %	0,025 %	0,000 %	0,005 %
pWISE9197	490	0,000 %	0,002 %	0,000 %	0,119 %	0,001 %	0,027 %	0,000 %
pWISE9198	491	0,004 %	0,001 %	0,005 %	0,119 %	0,061 %	0,004 %	0,004 %
pWISE9199	492	0,003 %	0,001 %	0,005 %	0,557 %	0,386 %	0,030 %	0,000 %
pWISE9200	493	0,005 %	0,002 %	0,001 %	0,041 %	0,310 %	0,005 %	0,003 %
pWISE9201	494	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9202	495	0,002 %	0,005 %	0,003 %	0,005 %	0,036 %	0,003 %	0,001 %
pWISE9203	496	0,009 %	0,007 %	0,004 %	0,032 %	0,047 %	0,021 %	0,000 %
pWISE9204	497	0,001 %	0,001 %	0,003 %	0,297 %	0,345 %	0,011 %	0,001 %
pWISE9205	498	0,002 %	0,002 %	0,008 %	0,480 %	0,399 %	0,006 %	0,001 %

pWISE9206	499	0,002 %	0,000 %	0,006 %	1,112 %	1,163 %	0,022 %	0,001 %
-----------	-----	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------

Tabla 111.

		Porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp453 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.-9	A.-5	A.-1	A.2	A.5
pWISE121	56	0,010 %	0,023 %	0,066 %	0,070 %	0,044 %
pWISE2918	498	0,013 %	0,010 %	0,062 %	0,069 %	0,008 %
pWISE4922	501	0,007 %	0,008 %	0,036 %	0,031 %	0,006 %
pWISE6854	502	0,012 %	0,005 %	0,018 %	0,013 %	0,012 %
pWISE9193	486	0,005 %	0,010 %	0,026 %	0,027 %	0,011 %
pWISE9194	487	0,009 %	0,008 %	0,005 %	0,008 %	0,009 %
pWISE9195	488	0,007 %	0,006 %	0,020 %	0,016 %	0,013 %
pWISE9196	489	0,006 %	0,011 %	0,007 %	0,002 %	0,010 %
pWISE9197	490	0,008 %	0,004 %	0,007 %	0,015 %	0,008 %
pWISE9198	491	0,008 %	0,008 %	0,014 %	0,013 %	0,005 %
pWISE9199	492	0,007 %	0,008 %	0,028 %	0,016 %	0,009 %
pWISE9200	493	0,012 %	0,008 %	0,011 %	0,005 %	0,011 %
pWISE9201	494	0,012 %	0,011 %	0,017 %	0,015 %	0,012 %
pWISE9202	495	0,009 %	0,009 %	0,008 %	0,003 %	0,012 %
pWISE9203	496	0,008 %	0,009 %	0,010 %	0,004 %	0,003 %
pWISE9204	497	0,007 %	0,009 %	0,011 %	0,006 %	0,009 %
pWISE9205	498	0,002 %	0,007 %	0,029 %	0,035 %	0,004 %
pWISE9206	499	0,011 %	0,011 %	0,033 %	0,018 %	0,006 %

Tabla 111. (cont.)

		Porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp453 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.9	A.11	A.12	A.15	A.16
pWISE121	56	0,167 %	0,202 %	0,133 %	0,288 %	0,468 %
pWISE2918	498	15,699 %	8,331 %	1,175 %	0,125 %	0,346 %
pWISE4922	501	8,769 %	4,554 %	0,679 %	0,056 %	0,233 %
pWISE6854	502	17,069 %	8,802 %	1,183 %	0,034 %	0,080 %
pWISE9193	486	9,895 %	6,919 %	2,544 %	0,383 %	1,229 %
pWISE9194	487	0,274 %	0,083 %	0,035 %	0,016 %	0,023 %
pWISE9195	488	4,762 %	1,886 %	0,494 %	0,045 %	0,191 %
pWISE9196	489	0,036 %	0,017 %	0,008 %	0,015 %	0,038 %
pWISE9197	490	0,115 %	0,035 %	0,020 %	0,023 %	0,020 %
pWISE9198	491	0,733 %	0,301 %	0,138 %	0,022 %	0,046 %
pWISE9199	492	13,056 %	9,143 %	4,276 %	0,517 %	2,073 %
pWISE9200	493	1,157 %	0,413 %	0,103 %	0,021 %	0,015 %
pWISE9201	494	16,951 %	12,556 %	5,241 %	0,311 %	0,957 %
pWISE9202	495	0,121 %	0,056 %	0,008 %	0,012 %	0,011 %
pWISE9203	496	0,087 %	0,043 %	0,015 %	0,018 %	0,025 %
pWISE9204	497	3,333 %	2,669 %	1,116 %	0,081 %	0,210 %

pWISE9205	498	12,136 %	6,316 %	0,861 %	0,101 %	0,298 %
pWISE9206	499	13,817 %	9,508 %	3,601 %	0,191 %	0,610 %

Tabla 111. (cont.)

		Porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp453 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.18	A.23	A.27	A.28	A.31
pWISE121	56	0,320 %	0,271 %	0,081 %	0,061 %	0,048 %
pWISE2918	498	1,967 %	0,009 %	0,009 %	0,005 %	0,006 %
pWISE4922	501	1,082 %	0,010 %	0,013 %	0,006 %	0,006 %
pWISE6854	502	0,334 %	0,007 %	0,011 %	0,008 %	0,004 %
pWISE9193	486	6,193 %	0,015 %	0,020 %	0,007 %	0,010 %
pWISE9194	487	0,021 %	0,010 %	0,009 %	0,009 %	0,007 %
pWISE9195	488	0,938 %	0,027 %	0,007 %	0,007 %	0,010 %
pWISE9196	489	0,011 %	0,008 %	0,011 %	0,006 %	0,010 %
pWISE9197	490	0,009 %	0,012 %	0,009 %	0,007 %	0,004 %
pWISE9198	491	0,200 %	0,014 %	0,013 %	0,006 %	0,006 %
pWISE9199	492	6,227 %	0,021 %	0,009 %	0,006 %	0,006 %
pWISE9200	493	0,043 %	0,008 %	0,010 %	0,003 %	0,005 %
pWISE9201	494	3,006 %	0,014 %	0,010 %	0,009 %	0,007 %
pWISE9202	495	0,012 %	0,013 %	0,011 %	0,006 %	0,004 %
pWISE9203	496	0,019 %	0,010 %	0,005 %	0,003 %	0,017 %
pWISE9204	497	0,832 %	0,009 %	0,013 %	0,005 %	0,008 %
pWISE9205	498	1,500 %	0,006 %	0,008 %	0,002 %	0,007 %
pWISE9206	499	2,100 %	0,007 %	0,009 %	0,002 %	0,003 %

Tabla 112.

		Desviación típica del porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp453 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.-9	A.-5	A.-1	A.2	A.5
pWISE121	56	0,010 %	0,003 %	0,016 %	0,016 %	0,011 %
pWISE2918	498	0,007 %	0,002 %	0,010 %	0,027 %	0,002 %
pWISE4922	501	0,002 %	0,005 %	0,018 %	0,009 %	0,001 %
pWISE6854	502	0,002 %	0,000 %	0,008 %	0,006 %	0,002 %
pWISE9193	486	0,000 %	0,004 %	0,024 %	0,014 %	0,005 %
pWISE9194	487	0,005 %	0,001 %	0,000 %	0,002 %	0,005 %
pWISE9195	488	0,004 %	0,008 %	0,005 %	0,023 %	0,012 %
pWISE9196	489	0,003 %	0,006 %	0,004 %	0,000 %	0,005 %
pWISE9197	490	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9198	491	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9199	492	0,001 %	0,003 %	0,003 %	0,006 %	0,008 %
pWISE9200	493	0,005 %	0,002 %	0,007 %	0,005 %	0,003 %
pWISE9201	494	0,001 %	0,002 %	0,011 %	0,007 %	0,003 %
pWISE9202	495	0,001 %	0,000 %	0,004 %	0,002 %	0,006 %

pWISE9203	496	0,003 %	0,005 %	0,005 %	0,004 %	0,004 %
pWISE9204	497	0,001 %	0,001 %	0,001 %	0,002 %	0,004 %
pWISE9205	498	0,003 %	0,003 %	0,009 %	0,017 %	0,006 %
pWISE9206	499	0,004 %	0,009 %	0,004 %	0,011 %	0,006 %

Tabla 112. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp453 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.9	A.11	A.12	A.15	A.16
pWISE121	56	0,016 %	0,024 %	0,028 %	0,004 %	0,052 %
pWISE2918	498	0,046 %	0,208 %	0,070 %	0,039 %	0,008 %
pWISE4922	501	0,321 %	0,246 %	0,065 %	0,018 %	0,075 %
pWISE6854	502	0,718 %	0,327 %	0,092 %	0,007 %	0,004 %
pWISE9193	486	0,147 %	0,005 %	0,197 %	0,104 %	0,127 %
pWISE9194	487	0,031 %	0,029 %	0,003 %	0,013 %	0,004 %
pWISE9195	488	0,364 %	0,015 %	0,014 %	0,001 %	0,019 %
pWISE9196	489	0,007 %	0,003 %	0,005 %	0,001 %	0,036 %
pWISE9197	490	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9198	491	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9199	492	0,053 %	0,152 %	0,130 %	0,030 %	0,216 %
pWISE9200	493	0,105 %	0,033 %	0,027 %	0,005 %	0,008 %
pWISE9201	494	0,917 %	0,569 %	0,626 %	0,013 %	0,050 %
pWISE9202	495	0,037 %	0,002 %	0,000 %	0,004 %	0,000 %
pWISE9203	496	0,000 %	0,001 %	0,013 %	0,009 %	0,001 %
pWISE9204	497	0,335 %	0,427 %	0,192 %	0,017 %	0,085 %
pWISE9205	498	0,213 %	0,104 %	0,309 %	0,031 %	0,044 %
pWISE9206	499	1,010 %	0,918 %	0,320 %	0,043 %	0,038 %

Tabla 112. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp453 en la hebra de ADN genómico diana opuesta				
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.18	A.23	A.27	A.28	A.31
pWISE121	56	0,098 %	0,047 %	0,013 %	0,001 %	0,008 %
pWISE2918	498	0,061 %	0,001 %	0,000 %	0,006 %	0,000 %
pWISE4922	501	0,094 %	0,006 %	0,003 %	0,001 %	0,001 %
pWISE6854	502	0,020 %	0,003 %	0,001 %	0,002 %	0,004 %
pWISE9193	486	0,011 %	0,003 %	0,001 %	0,003 %	0,002 %
pWISE9194	487	0,003 %	0,000 %	0,000 %	0,005 %	0,001 %
pWISE9195	488	0,022 %	0,002 %	0,010 %	0,002 %	0,003 %
pWISE9196	489	0,000 %	0,004 %	0,000 %	0,000 %	0,001 %
pWISE9197	490	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9198	491	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9199	492	0,018 %	0,007 %	0,003 %	0,002 %	0,004 %

pWISE9200	493	0,001 %	0,003 %	0,003 %	0,000 %	0,001 %
pWISE9201	494	0,358 %	0,008 %	0,004 %	0,002 %	0,001 %
pWISE9202	495	0,001 %	0,001 %	0,000 %	0,002 %	0,004 %
pWISE9203	496	0,000 %	0,003 %	0,002 %	0,004 %	0,011 %
pWISE9204	497	0,067 %	0,001 %	0,008 %	0,001 %	0,007 %
pWISE9205	498	0,043 %	0,001 %	0,003 %	0,003 %	0,002 %
pWISE9206	499	0,111 %	0,002 %	0,004 %	0,002 %	0,001 %

Tabla 113.

		Porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp454 en la hebra de ADN genómico diana opuesta							
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.-5	A.-1	A.2	A.9	A.11	A.23	A.27	A.32
pWISE121	56	0,014 %	0,025 %	0,042 %	0,102 %	0,063 %	0,188 %	0,161 %	0,060 %
pWISE2918	498	0,002 %	0,014 %	0,002 %	10,929 %	11,829 %	0,011 %	0,015 %	0,003 %
pWISE4922	501	0,004 %	0,004 %	0,002 %	7,989 %	8,529 %	0,005 %	0,005 %	0,004 %
pWISE6854	502	0,002 %	0,006 %	0,005 %	7,648 %	8,799 %	0,010 %	0,004 %	0,010 %
pWISE9193	486	0,007 %	0,003 %	0,002 %	7,465 %	10,715 %	0,023 %	0,003 %	0,011 %
pWISE9194	487	0,006 %	0,004 %	0,004 %	0,096 %	0,404 %	0,012 %	0,008 %	0,007 %
pWISE9195	488	0,003 %	0,003 %	0,009 %	5,314 %	7,055 %	0,024 %	0,005 %	0,005 %
pWISE9196	489	0,007 %	0,003 %	0,003 %	0,018 %	0,018 %	0,008 %	0,004 %	0,005 %
pWISE9197	490	0,006 %	0,001 %	0,005 %	0,093 %	0,388 %	0,012 %	0,005 %	0,005 %
pWISE9198	491	0,010 %	0,003 %	0,007 %	0,743 %	2,436 %	0,039 %	0,020 %	0,004 %
pWISE9199	492	0,004 %	0,000 %	0,007 %	7,638 %	8,686 %	0,010 %	0,002 %	0,007 %
pWISE9200	493	0,005 %	0,002 %	0,002 %	0,827 %	2,586 %	0,012 %	0,003 %	0,007 %
pWISE9201	494	0,005 %	0,002 %	0,005 %	9,689 %	10,575 %	0,022 %	0,002 %	0,005 %
pWISE9202	495	0,004 %	0,001 %	0,006 %	0,038 %	0,137 %	0,010 %	0,005 %	0,005 %
pWISE9203	496	0,009 %	0,004 %	0,000 %	0,054 %	0,091 %	0,006 %	0,003 %	0,005 %
pWISE9204	497	0,004 %	0,003 %	0,008 %	2,223 %	2,468 %	0,012 %	0,003 %	0,012 %
pWISE9205	498	0,000 %	0,003 %	0,001 %	8,947 %	9,565 %	0,012 %	0,005 %	0,003 %
pWISE9206	499	0,005 %	0,003 %	0,003 %	9,336 %	10,616 %	0,005 %	0,003 %	0,003 %

Tabla 114.

		Desviación típica del porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp454 en la hebra de ADN genómico diana opuesta							
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.-5	A.-1	A.2	A.9	A.11	A.23	A.27	A.32
pWISE121	56	0,002 %	0,009 %	0,015 %	0,005 %	0,016 %	0,013 %	0,001 %	0,003 %
pWISE2918	498	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE4922	501	0,001 %	0,003 %	0,003 %	0,309 %	0,327 %	0,008 %	0,001 %	0,000 %
pWISE6854	502	0,001 %	0,000 %	0,007 %	1,032 %	1,063 %	0,007 %	0,002 %	0,002 %
pWISE9193	486	0,001 %	0,002 %	0,004 %	0,781 %	0,522 %	0,000 %	0,002 %	0,007 %
pWISE9194	487	0,001 %	0,001 %	0,001 %	0,005 %	0,061 %	0,006 %	0,006 %	0,002 %
pWISE9195	488	0,005 %	0,005 %	0,011 %	0,207 %	0,137 %	0,019 %	0,000 %	0,000 %
pWISE9196	489	0,000 %	0,002 %	0,001 %	0,015 %	0,002 %	0,001 %	0,004 %	0,000 %
pWISE9197	490	0,004 %	0,001 %	0,001 %	0,001 %	0,029 %	0,003 %	0,002 %	0,003 %
pWISE9198	491	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9199	492	0,001 %	0,000 %	0,001 %	0,465 %	0,453 %	0,003 %	0,001 %	0,004 %
pWISE9200	493	0,003 %	0,001 %	0,003 %	0,062 %	0,045 %	0,006 %	0,002 %	0,001 %
pWISE9201	494	0,001 %	0,001 %	0,001 %	0,125 %	0,162 %	0,009 %	0,001 %	0,001 %
pWISE9202	495	0,000 %	0,002 %	0,001 %	0,010 %	0,031 %	0,001 %	0,000 %	0,001 %
pWISE9203	496	0,004 %	0,003 %	0,000 %	0,040 %	0,038 %	0,008 %	0,004 %	0,001 %
pWISE9204	497	0,004 %	0,004 %	0,007 %	0,072 %	0,174 %	0,001 %	0,005 %	0,012 %
pWISE9205	498	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9206	499	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos

Tabla 115.

		Porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp455 en la hebra de ADN genómico diana opuesta						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.-8	A.-6	A.-1	A.2	A.3	A.5	A.8
pWISE121	56	0,037 %	0,045 %	0,091 %	0,133 %	0,169 %	0,059 %	0,156 %
pWISE2918	498	0,007 %	0,006 %	0,002 %	0,009 %	0,016 %	0,064 %	9,360 %
pWISE4922	501	0,008 %	0,006 %	0,008 %	0,005 %	0,009 %	0,060 %	7,634 %
pWISE6854	502	0,005 %	0,006 %	0,006 %	0,007 %	0,010 %	0,010 %	3,180 %

pWISE9193	486	0,007 %	0,006 %	0,003 %	0,008 %	0,017 %	0,046 %	5,543 %
pWISE9194	487	0,004 %	0,012 %	0,010 %	0,009 %	0,009 %	0,010 %	0,023 %
pWISE9195	488	0,009 %	0,005 %	0,015 %	0,006 %	0,011 %	0,029 %	2,109 %
pWISE9196	489	0,004 %	0,006 %	0,004 %	0,007 %	0,008 %	0,013 %	0,024 %
pWISE9197	490	0,004 %	0,006 %	0,004 %	0,003 %	0,011 %	0,009 %	0,035 %
pWISE9198	491	0,007 %	0,002 %	0,005 %	0,011 %	0,007 %	0,008 %	1,761 %
pWISE9199	492	0,015 %	0,006 %	0,009 %	0,003 %	0,011 %	0,055 %	9,347 %
pWISE9200	493	0,007 %	0,013 %	0,008 %	0,009 %	0,010 %	0,012 %	0,126 %
pWISE9201	494	0,018 %	0,004 %	0,007 %	0,003 %	0,017 %	0,075 %	13,795 %
pWISE9202	495	0,010 %	0,004 %	0,006 %	0,008 %	0,010 %	0,005 %	0,139 %
pWISE9203	496	0,009 %	0,005 %	0,003 %	0,011 %	0,008 %	0,011 %	0,030 %
pWISE9204	497	0,012 %	0,008 %	0,006 %	0,009 %	0,006 %	0,019 %	1,933 %
pWISE9205	498	0,008 %	0,004 %	0,004 %	0,007 %	0,011 %	0,034 %	5,608 %
pWISE9206	499	0,016 %	0,005 %	0,015 %	0,019 %	0,011 %	0,118 %	10,168 %

Tabla 115. (cont.)

		Porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp455 en la hebra de ADN genómico diana opuesta						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.9	A.10	A.11	A.15	A.16	A.17	A.19
pWISE121	56	0,323 %	0,304 %	0,261 %	1,356 %	1,577 %	1,071 %	0,355 %
pWISE2918	498	6,675 %	2,657 %	4,690 %	1,004 %	0,024 %	0,025 %	0,182 %
pWISE4922	501	5,449 %	2,362 %	3,960 %	0,726 %	0,024 %	0,025 %	0,144 %
pWISE6854	502	2,123 %	0,749 %	1,482 %	0,339 %	0,026 %	0,018 %	0,076 %
pWISE9193	486	3,610 %	2,551 %	6,447 %	1,400 %	0,035 %	0,030 %	0,456 %
pWISE9194	487	0,020 %	0,014 %	0,033 %	0,013 %	0,017 %	0,012 %	0,009 %
pWISE9195	488	1,524 %	1,506 %	4,362 %	1,156 %	0,028 %	0,011 %	0,230 %
pWISE9196	489	0,022 %	0,013 %	0,032 %	0,014 %	0,012 %	0,016 %	0,016 %
pWISE9197	490	0,041 %	0,014 %	0,041 %	0,003 %	0,008 %	0,014 %	0,005 %
pWISE9198	491	1,202 %	1,744 %	5,841 %	0,386 %	0,028 %	0,034 %	0,228 %
pWISE9199	492	7,609 %	3,561 %	6,885 %	0,797 %	0,019 %	0,027 %	0,139 %

pWISE9200	493	0,085 %	0,052 %	0,158 %	0,041 %	0,008 %	0,005 %	0,012 %
pWISE9201	494	11,036 %	6,672 %	12,328 %	0,951 %	0,041 %	0,026 %	0,221 %
pWISE9202	495	0,075 %	0,046 %	0,319 %	0,029 %	0,028 %	0,025 %	0,038 %
pWISE9203	496	0,028 %	0,018 %	0,022 %	0,015 %	0,008 %	0,008 %	0,011 %
pWISE9204	497	1,699 %	1,520 %	2,776 %	0,404 %	0,040 %	0,026 %	0,178 %
pWISE9205	498	3,956 %	1,720 %	2,781 %	0,606 %	0,020 %	0,010 %	0,091 %
pWISE9206	499	7,342 %	3,719 %	7,520 %	0,550 %	0,024 %	0,037 %	0,181 %

Tabla 115. (cont.)

		Porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp455 en la hebra de ADN genómico diana opuesta						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.21	A.22	A.24	A.26	A.28	A.31	A.32
pWISE121	56	0,290 %	0,354 %	0,153 %	0,102 %	0,047 %	0,045 %	0,043 %
pWISE2918	498	0,017 %	0,064 %	0,046 %	0,005 %	0,005 %	0,005 %	0,007 %
pWISE4922	501	0,024 %	0,044 %	0,025 %	0,003 %	0,009 %	0,009 %	0,008 %
pWISE6854	502	0,020 %	0,028 %	0,005 %	0,006 %	0,010 %	0,007 %	0,012 %
pWISE9193	486	0,197 %	0,051 %	0,220 %	0,027 %	0,007 %	0,016 %	0,007 %
pWISE9194	487	0,006 %	0,012 %	0,009 %	0,011 %	0,010 %	0,005 %	0,005 %
pWISE9195	488	0,116 %	0,086 %	0,116 %	0,029 %	0,008 %	0,015 %	0,005 %
pWISE9196	489	0,011 %	0,018 %	0,027 %	0,009 %	0,008 %	0,007 %	0,004 %
pWISE9197	490	0,015 %	0,021 %	0,009 %	0,005 %	0,015 %	0,001 %	0,003 %
pWISE9198	491	0,222 %	0,117 %	0,341 %	0,093 %	0,013 %	0,007 %	0,002 %
pWISE9199	492	0,022 %	0,034 %	0,021 %	0,011 %	0,004 %	0,003 %	0,006 %
pWISE9200	493	0,010 %	0,006 %	0,004 %	0,007 %	0,010 %	0,008 %	0,009 %
pWISE9201	494	0,056 %	0,074 %	0,066 %	0,017 %	0,011 %	0,010 %	0,006 %
pWISE9202	495	0,029 %	0,021 %	0,030 %	0,014 %	0,013 %	0,008 %	0,005 %
pWISE9203	496	0,012 %	0,014 %	0,013 %	0,006 %	0,009 %	0,010 %	0,006 %
pWISE9204	497	0,021 %	0,017 %	0,045 %	0,022 %	0,005 %	0,010 %	0,005 %
pWISE9205	498	0,012 %	0,025 %	0,021 %	0,006 %	0,010 %	0,007 %	0,005 %
pWISE9206	499	0,030 %	0,050 %	0,032 %	0,015 %	0,004 %	0,006 %	0,003 %

Tabla 116.

		Desviación típica del porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp455 en la hebra de ADN genómico diana opuesta						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.-8	A.-6	A.-1	A.2	A.3	A.5	A.8
pWISE121	56	0,000 %	0,025 %	0,050 %	0,041 %	0,000 %	0,011 %	0,009 %
pWISE2918	498	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE4922	501	0,004 %	0,001 %	0,007 %	0,005 %	0,001 %	0,021 %	1,149 %
pWISE6854	502	0,001 %	0,005 %	0,000 %	0,008 %	0,001 %	0,006 %	0,301 %
pWISE9193	486	0,001 %	0,003 %	0,002 %	0,002 %	0,002 %	0,024 %	0,837 %
pWISE9194	487	0,002 %	0,002 %	0,002 %	0,004 %	0,002 %	0,009 %	0,006 %
pWISE9195	488	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9196	489	0,002 %	0,003 %	0,000 %	0,003 %	0,002 %	0,004 %	0,006 %
pWISE9197	490	0,005 %	0,003 %	0,005 %	0,004 %	0,006 %	0,013 %	0,028 %
pWISE9198	491	0,010 %	0,002 %	0,004 %	0,006 %	0,010 %	0,001 %	0,002 %
pWISE9199	492	0,007 %	0,002 %	0,009 %	0,000 %	0,005 %	0,001 %	0,222 %
pWISE9200	493	0,001 %	0,002 %	0,002 %	0,001 %	0,005 %	0,001 %	0,002 %
pWISE9201	494	0,002 %	0,003 %	0,003 %	0,002 %	0,006 %	0,026 %	0,261 %
pWISE9202	495	0,007 %	0,001 %	0,002 %	0,002 %	0,008 %	0,004 %	0,015 %
pWISE9203	496	0,003 %	0,003 %	0,001 %	0,004 %	0,002 %	0,009 %	0,004 %
pWISE9204	497	0,002 %	0,002 %	0,001 %	0,000 %	0,003 %	0,001 %	0,136 %
pWISE9205	498	0,003 %	0,001 %	0,001 %	0,003 %	0,001 %	0,003 %	0,431 %
pWISE9206	499	0,012 %	0,006 %	0,004 %	0,002 %	0,009 %	0,044 %	0,103 %

Tabla 116. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp455 en la hebra de ADN genómico diana opuesta						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.9	A.10	A.11	A.15	A.16	A.17	A.19
pWISE121	56	0,029 %	0,045 %	0,035 %	0,017 %	0,039 %	0,096 %	0,023 %
pWISE2918	498	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE4922	501	0,778 %	0,267 %	0,559 %	0,074 %	0,005 %	0,012 %	0,038 %
pWISE6854	502	0,163 %	0,059 %	0,284 %	0,064 %	0,004 %	0,007 %	0,002 %

pWISE9193	486	0,837 %	0,486 %	1,261 %	0,322 %	0,015 %	0,022 %	0,133 %
pWISE9194	487	0,007 %	0,007 %	0,012 %	0,001 %	0,003 %	0,004 %	0,004 %
pWISE9195	488	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9196	489	0,019 %	0,010 %	0,009 %	0,005 %	0,011 %	0,006 %	0,000 %
pWISE9197	490	0,019 %	0,012 %	0,026 %	0,004 %	0,012 %	0,012 %	0,006 %
pWISE9198	491	0,046 %	0,068 %	0,458 %	0,001 %	0,007 %	0,025 %	0,038 %
pWISE9199	492	0,056 %	0,150 %	0,063 %	0,030 %	0,001 %	0,002 %	0,019 %
pWISE9200	493	0,016 %	0,011 %	0,007 %	0,005 %	0,004 %	0,002 %	0,010 %
pWISE9201	494	0,169 %	0,228 %	0,261 %	0,055 %	0,006 %	0,019 %	0,026 %
pWISE9202	495	0,036 %	0,009 %	0,071 %	0,008 %	0,012 %	0,004 %	0,002 %
pWISE9203	496	0,002 %	0,010 %	0,001 %	0,004 %	0,002 %	0,001 %	0,009 %
pWISE9204	497	0,118 %	0,087 %	0,271 %	0,019 %	0,000 %	0,003 %	0,012 %
pWISE9205	498	0,062 %	0,078 %	0,065 %	0,004 %	0,010 %	0,006 %	0,069 %
pWISE9206	499	0,079 %	0,003 %	0,111 %	0,040 %	0,009 %	0,015 %	0,012 %

Tabla 116. (cont.)

		Desviación típica del porcentaje de edición A a G promedio en los nucleótidos numerados de acuerdo con la posición en la secuencia espaciadora PWsp455 en la hebra de ADN genómico diana opuesta						
pWISE	Proteína SEQ ID NO:	A.21	A.22	A.24	A.26	A.28	A.31	A.32
pWISE121	56	0,015 %	0,041 %	0,099 %	0,049 %	0,018 %	0,001 %	0,016 %
pWISE2918	498	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE4922	501	0,000 %	0,005 %	0,013 %	0,002 %	0,001 %	0,003 %	0,003 %
pWISE6854	502	0,005 %	0,012 %	0,006 %	0,000 %	0,001 %	0,003 %	0,011 %
pWISE9193	486	0,033 %	0,017 %	0,023 %	0,010 %	0,002 %	0,002 %	0,003 %
pWISE9194	487	0,004 %	0,000 %	0,004 %	0,008 %	0,004 %	0,002 %	0,000 %
pWISE9195	488	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
pWISE9196	489	0,002 %	0,004 %	0,010 %	0,002 %	0,002 %	0,001 %	0,003 %
pWISE9197	490	0,001 %	0,003 %	0,008 %	0,006 %	0,001 %	0,001 %	0,004 %
pWISE9198	491	0,083 %	0,018 %	0,020 %	0,068 %	0,002 %	0,001 %	0,002 %
pWISE9199	492	0,004 %	0,014 %	0,016 %	0,001 %	0,000 %	0,000 %	0,005 %
pWISE9200	493	0,008 %	0,002 %	0,001 %	0,001 %	0,008 %	0,004 %	0,001 %
pWISE9201	494	0,007 %	0,005 %	0,007 %	0,009 %	0,002 %	0,002 %	0,005 %
pWISE9202	495	0,011 %	0,009 %	0,014 %	0,017 %	0,000 %	0,000 %	0,002 %
pWISE9203	496	0,007 %	0,002 %	0,007 %	0,001 %	0,004 %	0,008 %	0,002 %
pWISE9204	497	0,001 %	0,004 %	0,003 %	0,007 %	0,002 %	0,010 %	0,000 %

pWISE9205	498	0,008 %	0,005 %	0,007 %	0,005 %	0,002 %	0,002 %	0,000 %
pWISE9206	499	0,017 %	0,039 %	0,003 %	0,004 %	0,005 %	0,000 %	0,004 %

Ejemplo 14:

Las variantes de sustitución de arginina de los permutantes circulares descritos en el Ejemplo 1 se probaron en células HEK293T para examinar su capacidad para dirigirse a diferentes secuencias del sitio PAM. Las mutaciones de arginina fueron análogas a las mutaciones G532R y K595R en LbCas12a. Los permutantes circulares y el control se enumeran en la **Tabla 117**. Las mutaciones de arginina están numeradas de acuerdo con la secuencia de proteína que aparece en la cuarta columna de la **Tabla 31**.

Tabla 117. Construcciones evaluadas.

pWISE	Vector SEQ ID NO:	ADN SEQ ID NO:	Descripción	Proteína SEQ ID NO:
pWISE121	259	246	WT-LbCas12a (control)	56
pWISE3559	713	709	G532R+K595R-LbCas12a	705
pWISE10850	710	706	G447R+K510R-CP02	702
pWISE10851	711	707	G619R+K682R-CP06	703
pWISE10852	712	708	G15R+K78R-CP08	704

Tabla 118. Dianas.

Ácido nucleico diana	Diana SEQ ID NO:	Espaciador	Espaciador SEQ ID NO:	pWISE	Vector SEQ ID NO:	Diana PAM
EMX1	887	PWsp837	889	pWISE2457	918	ACCG
EMX1	887	PWsp836	890	pWISE2458	919	ACCG
EMX1	887	PWsp815	891	pWISE2479	920	ACCG
EMX1	887	PWsp811	892	pWISE2483	921	CCCA
DNMT1	272	PWsp786	893	pWISE2508	922	CCCA
DNMT1	272	PWsp781	894	pWISE2513	923	CCCA
HEK2	872	PWsp985	895	pWISE2309	924	GCCC
FANCF	273	PWsp972	896	pWISE2322	925	GCCC
FANCF	273	PWsp946	897	pWISE2348	926	GCCC
RNF2	274	PWsp1292	898	pWISE3611	927	ACTA
HEK3	883	PWsp1295	899	pWISE3614	928	ACTA
FANCF	273	PWsp1317	900	pWISE3636	929	ACTA
HEK3	883	PWsp1298	901	pWISE3617	930	GTCG
FANCF	273	PWsp1326	902	pWISE3645	931	GTCG
FANCF	273	PWsp1341	903	pWISE3658	932	GTCG
DNMT1	272	PWsp2381	904	pWISE7545	933	CTTA
AAVS1	863	PWsp1940	905	pWISE5966	934	CTTA
AAVS1	863	PWsp1943	906	pWISE5969	935	CTTA
FANCF	273	PWsp869	907	pWISE2425	936	GCCG

EMX1	887	PWsp802	908	pWISE2492	937	GCCG
DNMT1	272	PWsp766	909	pWISE2529	938	GCCG
DNMT1	272	PWsp2463	910	pWISE7860	939	TTCA
FANCF	273	PWsp2464	911	pWISE7861	940	TTCA
HEK2	872	PWsp2465	912	pWISE7862	941	TTCA
AAVS1	863	PWsp2444	913	pWISE7841	942	CCCC
AAVS1	863	PWsp2445	914	pWISE7842	943	CCCC
DNMT1	272	PWsp2447	915	pWISE7844	944	CCCC
DNMT1	272	PWsp143	275	pWISE264	278	TTTG
DNMT1	272	PWsp137	916	pWISE2360	945	TTTC
DNMT1	272	PWsp139	917	pWISE258	946	TTTC

Los permutantes circulares y el control se probaron para determinar su capacidad de generar INDELES en los genes AAVS1, DNMT1, EMX1, FANCF, HEK2, HEK3 y RNF2 (**SEQ ID NOs: 272–274, 863, 872, 887 y 888**) en células HEK293T utilizando los espaciadores de acuerdo con **SEQ ID NOs: 275 y 889–917**. Se probaron tres réplicas biológicas y una réplica técnica. Las células HEK293T se sembraron en placas de 48 pocillos recubiertas con colágeno (Corning) en ausencia de antibiótico utilizando medio DMEM. Con una confluencia del 70–80 %, las células se transfectaron con 1,5 µL de LTX (ThermoFisher Scientific) utilizando 500 ng del plásmido de permutante circular o control y 500 ng del plásmido de ARN guía de acuerdo con el protocolo del fabricante. Después de 3 días, las células se lisaron con un método de extracción de bruto utilizando el tampón TritonX. Cada control o permutante circular se puntuó en función de la edición precisa de pares de bases y el porcentaje de colocación de indel en los genes AAVS1, DNMT1, EMX1, FANCF, HEK2, HEK3 y RNF2 utilizando los ARN guía. Los resultados se proporcionan en las **FIGS. 24 y 25** y demuestran que las dos mutaciones de arginina permitieron el reconocimiento de secuencias PAM no canónicas (p. ej., no TTTV) similares a la LbCas12a lineal que comprende las mutaciones de arginina (**SEQ ID NO: 705**).

Lo anterior es ilustrativo de la presente invención y no debe interpretarse como limitante de la misma. La invención se define mediante las siguientes reivindicaciones, con equivalentes de las reivindicaciones que se incluirán en las mismas.