

を含む、エンジニアリングされたC R I S P R - C a s 9系であって、前記キメラR N Aおよび前記C a s 9タンパク質は、真核細胞においてC R I S P R複合体を形成することができ、前記ガイド配列は、真核細胞の目的のゲノム遺伝子座におけるP A Mに隣接する標的配列へのC R I S P R複合体の配列特異的結合を指向することができる、エンジニア

2つ以上のNLSが独立して、PKKKRKV、KRPAATKKAGQAKKKK、
PAAKRVKLD、RQRRNELKRSP、NQSSNFGPMKGGNFGGRS
SGPYGGGGQYFAKPRNQGGY、RMRIZFKNKGKDTAELRRR
RVEVSVELRKAKKDEQILKRRNV、VSRKRPRP、PPKKARE
D、PQPKKKPL、SALIKKKKKMAP、DRLRR、PKQKKRK、RK
LKKKIKKL、REKKKFLKRR、KRKGDEV DGVDEVAKKKSKK

50

および R K C L Q A G M N L E A R K T K K からなる群から選択される、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 9】

N L S の少なくとも 1 つが P K K K R K V を含む、請求項 8 に記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 10】

C a s 9 タンパク質が、D 1 0 A、H 8 4 0 A、N 8 5 4 A、または N 8 6 3 A の変異を含む、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 11】

C a s 9 タンパク質が少なくとも 1 つの異種タンパク質ドメインと融合している、請求項 10 に記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 12】

異種タンパク質ドメインが、エピトープタグ、レポーター配列、および以下の活性：メチラーゼ活性、デメチラーゼ活性、転写活性化活性、転写抑制活性、転写放出因子活性、ヒストン修飾活性、R N A 切断活性、または核酸結合活性のうちの 1 つ以上を有するタンパク質ドメインからなる群から選択される、請求項 11 に記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 13】

C a s 9 タンパク質をコードするポリヌクレオチドが、真核細胞での発現のためにコドン最適化されている、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 14】

C a s 9 タンパク質をコードするポリヌクレオチドが、ポリアデニル化シグナルを含む、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 15】

C R I S P R - C a s 9 系が、送達のためにリボソーム中に含まれる、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 16】

C R I S P R 複合体によって導入された D N A 切断への標的化組み込みのための外因性ポリヌクレオチドをさらに含む、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 17】

遺伝性疾患または障害の処置における使用のための、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系を含む医薬組成物、ただし、前記使用は、ヒトの生殖細胞系列の遺伝的同一性を改変するための工程を含まない。

10

20

30

40

50