

REIVINDICACIONES

1. Una célula vegetal genéticamente diseñada caracterizada porque comprende un sistema de edición de bases que comprende:

- (a) una proteína efectora asociada a CRISPR; y
- (b) un ácido nucleico guía (ARNg) que tiene una secuencia espaciadora con complementariedad a un gen SEEDSTICK (STK) endógeno,

donde el gen STK endógeno codifica un polipéptido que tiene un 95% o más de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 97** o el gen STK endógeno comprende una secuencia de nucleótidos que tiene un 95% o más de identidad de secuencia con la secuencia de nucleótidos de **SEQ ID NO: 203**,

donde el sistema de edición de bases deleciona uno o más residuo(s) de aminoácidos del polipéptido, y

donde la célula vegetal genéticamente diseñada es una célula vegetal de frambuesa negra editada genéticamente.

2. La célula vegetal genéticamente diseñada de la reivindicación 1, caracterizada porque el ARNg comprende una secuencia espaciadora que tiene 80% o más de identidad de secuencia con cualquiera de **SEQ ID NOS: 175, 176, 184, 185, o 186**.

3. La célula vegetal genéticamente diseñada de la reivindicación 1 o 2, caracterizada porque el sistema de edición de bases deleciona uno o más residuo(s) de aminoácidos ubicados en una o más de las posiciones 191–194 con referencia a la numeración de posiciones de aminoácidos de **SEQ ID NO: 97**.

4. La célula vegetal genéticamente diseñada de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, caracterizada porque la célula vegetal genéticamente diseñada comprende un gen STK mutado que codifica un polipéptido que tiene un

95% o más de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 206**.

5. Un método para editar un sitio específico en el genoma de una célula vegetal, caracterizado porque el método comprende: escindir, de una manera específica de sitio, un sitio objetivo dentro de un gen SEEDSTICK (STK) endógeno (a) que comprende 95% o más de identidad de secuencia con la secuencia de nucleótidos de **SEQ ID NO: 203**; o (b) que codifica un polipéptido que tiene un 95% o más de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 97**, de modo de generar una mutación no natural en el gen STK endógeno para proporcionar un gen STK no natural en el genoma de la célula vegetal,

donde la célula vegetal es una célula vegetal de frambuesa negra, y

donde la mutación no natural es una delección de uno o más residuo(s) de aminoácidos del polipéptido.

6. El método de la reivindicación 5, caracterizado porque además comprende regenerar una planta a partir de la célula vegetal que comprende el gen STK no natural a fin de producir una planta que comprende el gen STK no natural.

7. El método de cualquiera de las reivindicaciones 5-6, caracterizado porque el gen STK no natural codifica un alelo dominante–negativo, un alelo semidominante, un alelo de pérdida de función débil o una mutación hipomórfica.

8. El método de cualquiera de las reivindicaciones 5-7, caracterizado porque la delección es una delección en marco.

9. El método de cualquiera de las reivindicaciones 5-7, caracterizado porque la delección es una delección fuera del marco.

10. El método de cualquiera de las reivindicaciones 5-9, caracterizado porque la mutación no natural es una delección de 4 pares de bases consecutivos a 150 pares de bases consecutivos, desde el extremo 3' del gen STK endógeno.
11. El método de cualquiera de las reivindicaciones 5-10, caracterizado porque el gen STK no natural codifica un polipéptido no natural y la delección produce un truncamiento C-terminal del polipéptido no natural que comprende un truncamiento de 1 residuo de aminoácido a 50 residuos de aminoácidos consecutivos.
12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 5-11, caracterizado porque la mutación no natural es una delección de uno o más residuo(s) de aminoácidos ubicados en una o más de las posiciones 191–194 con referencia a la numeración de posición de aminoácido de **SEQ ID NO: 97**.
13. El método de cualquiera de las reivindicaciones 5-12, caracterizado porque el gen STK no natural codifica un polipéptido que tiene 95% o más de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 206**.
14. El método de cualquiera de las reivindicaciones 5-13, caracterizado porque además comprende una nucleasa, donde la nucleasa escinde el gen STK endógeno e introduce la mutación no natural en el gen STK endógeno.
15. El método de cualquiera de las reivindicaciones 13–14, caracterizado porque la nucleasa es una proteína efectora CRISPR–Cas.
16. El método de la reivindicación 15, caracterizado porque la proteína efectora CRISPR-Cas se une a una región del gen STK.
17. Un ácido nucleico guía que se une a un sitio objetivo en un gen SEEDSTICK (STK) que comprende un 95% o más identidad de secuencia con la secuencia de nucleótidos de **SEQ ID NO: 203** o que codifica un polipéptido que tiene un 95% o

más de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 97**.

18. El ácido nucleico guía de la reivindicación 17, caracterizado porque el ácido nucleico guía comprende un espaciador que tiene la secuencia de nucleótidos de cualquiera de **SEQ ID NOs: 175, 176, 184, 184, o 186**.

19. El ácido nucleico guía de la reivindicación 17 o 18, caracterizado porque además comprende un ácido nucleico tracr que se asocia con una proteína efectora CRISPR–Cas.

20. Una composición caracterizada porque comprende el ácido nucleico guía de la reivindicación 18 o la reivindicación 19 y una proteína efectora CRISPR–Cas que se asocia con el ácido nucleico guía.

21. La composición de la reivindicación 20, caracterizada porque además comprende un ácido nucleico tracr que se asocia con el ácido nucleico guía y una proteína efectora CRISPR–Cas.

22. Un complejo caracterizado porque comprende un ácido nucleico guía y una proteína efectora CRISPR–Cas que comprende un dominio de escisión, donde el ácido nucleico guía se une a un sitio objetivo en un gen SEEDSTICK (STK), el gen STK:

(a) comprende una región que tiene un 95% o más de identidad de secuencia con la secuencia de nucleótidos de **SEQ ID NO: 203**, y/o

(b) codifica una secuencia de aminoácidos que tiene un 95% o más de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 97**, donde el dominio de escisión escinde una hebra objetivo en el gen STK.

23. Un casete de expresión caracterizado porque comprende (a) un polinucleótido que codifica una proteína efectora CRISPR–Cas que comprende un

dominio de escisión y (b) un ácido nucleico guía que se une a un gen SEEDSTICK (STK), donde el ácido nucleico guía comprende una secuencia espaciadora que es complementaria y se une a una porción de una secuencia que comprende una región que tiene un 95% o más de identidad de secuencia con la secuencia de nucleótidos de **SEQ ID NO: 203** o se une a una secuencia que codifica un polipéptido que tiene un 95% o más de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 97**.

24. El casete de expresión de la reivindicación 23, caracterizado porque la porción tiene de 2 a 22 nucleótidos consecutivos de longitud.

25. Un ácido nucleico que codifica un gen SEEDSTICK (STK) mutado caracterizado porque comprende la secuencia de nucleótidos de cualquiera de las **SEQ ID Nos: 219, 221, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249 o 251**, y/o que codifica la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las **SEQ ID NOs: 206, 220, 222, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250 o 252**.

26. Un método para producir una planta o parte de la misma caracterizado porque comprende al menos una célula en la que un SEEDSTICK (STK) endógeno está mutado, el método comprende:

poner en contacto un sitio objetivo en el gen STK en la planta o parte de la misma con una nucleasa que comprende un dominio de unión de ácido nucleico que se une a un sitio objetivo, donde el gen STK (a) comprende una secuencia que tiene un 95% o más de identidad de secuencia con la secuencia de nucleótidos de **SEQ ID NO: 203**, o (b) que codifica un factor de transcripción STK que tiene un 95% o más de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 97**, de modo de generar una planta o una parte de la misma que comprende al menos una célula que tiene una mutación en el gen STK endógeno, donde la planta o parte de la misma es una planta de frambuesa negra o una parte de planta de

frambuesa negra, donde la nucleasa escinde el gen STK endógeno y la mutación se introduce en el gen STK endógeno para proporcionar un gen STK mutado, y donde la mutación es una delección de uno o más residuo(s) de aminoácidos del factor de transcripción STK.

27. El método de la reivindicación 26, caracterizado porque la delección es uno o más residuo(s) de aminoácidos ubicados en una o más de las posiciones 191–194 con referencia a la numeración de posición de aminoácido de **SEQ ID NO: 97**.

28. El método de cualquiera de las reivindicaciones 26-27, caracterizado porque el gen STK mutado codifica un polipéptido que tiene un 95% o más de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 206**.