

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第3部門第2区分
 【発行日】令和7年4月22日(2025.4.22)

【国際公開番号】WO2022/221696
 【公表番号】特表2024-516376(P2024-516376A)
 【公表日】令和6年4月15日(2024.4.15)
 【年通号数】公開公報(特許)2024-069
 【出願番号】特願2023-563189(P2023-563189)
 【国際特許分類】

10

- C 0 7 D 5 1 9 / 0 0 (2 0 0 6 . 0 1)
- C 1 2 N 1 5 / 1 1 3 (2 0 1 0 . 0 1)
- C 1 2 N 9 / 2 2 (2 0 0 6 . 0 1)
- C 1 2 N 5 / 0 7 8 3 (2 0 1 0 . 0 1)
- C 1 2 N 5 / 1 0 (2 0 0 6 . 0 1)
- C 1 2 N 5 / 0 7 3 (2 0 1 0 . 0 1)
- C 1 2 N 5 / 0 7 1 (2 0 1 0 . 0 1)
- C 1 2 N 5 / 0 7 8 1 (2 0 1 0 . 0 1)
- C 1 2 N 1 5 / 8 8 (2 0 0 6 . 0 1)
- C 1 2 N 1 5 / 8 6 (2 0 0 6 . 0 1)
- C 1 2 N 1 5 / 8 6 4 (2 0 0 6 . 0 1)
- C 1 2 N 1 5 / 8 6 7 (2 0 0 6 . 0 1)
- C 1 2 N 1 5 / 0 9 (2 0 0 6 . 0 1)
- A 6 1 P 4 3 / 0 0 (2 0 0 6 . 0 1)
- A 6 1 K 3 1 / 5 2 2 (2 0 0 6 . 0 1)
- A 6 1 P 3 7 / 0 4 (2 0 0 6 . 0 1)
- A 6 1 K 3 5 / 2 8 (2 0 1 5 . 0 1)
- A 6 1 K 3 5 / 5 4 5 (2 0 1 5 . 0 1)
- A 6 1 K 3 5 / 1 7 (2 0 2 5 . 0 1)
- A 6 1 K 3 8 / 4 6 (2 0 0 6 . 0 1)
- A 6 1 K 3 1 / 7 1 0 5 (2 0 0 6 . 0 1)
- A 6 1 K 9 / 1 2 7 (2 0 2 5 . 0 1)
- A 6 1 K 3 1 / 7 1 1 (2 0 0 6 . 0 1)
- A 6 1 K 3 5 / 7 6 (2 0 1 5 . 0 1)
- A 6 1 K 4 7 / 1 8 (2 0 1 7 . 0 1)
- C 1 2 N 1 5 / 1 2 (2 0 0 6 . 0 1)
- C 1 2 N 1 5 / 1 3 (2 0 0 6 . 0 1)
- C 1 2 N 1 5 / 6 2 (2 0 0 6 . 0 1)

20

30

【 F I 】

- C 0 7 D 5 1 9 / 0 0 3 1 1
- C 0 7 D 5 1 9 / 0 0 C S P
- C 1 2 N 1 5 / 1 1 3 Z Z N A
- C 1 2 N 9 / 2 2
- C 1 2 N 5 / 0 7 8 3
- C 1 2 N 5 / 1 0
- C 1 2 N 5 / 0 7 3
- C 1 2 N 5 / 0 7 1
- C 1 2 N 5 / 0 7 8 1
- C 1 2 N 1 5 / 8 8 Z
- C 1 2 N 1 5 / 8 6 Z

40

50

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z
 C 1 2 N 15/867 Z
 C 1 2 N 15/09 1 1 0
 C 1 2 N 15/09 1 0 0
 A 6 1 P 43/00 1 1 1
 A 6 1 K 31/522
 A 6 1 P 37/04
 A 6 1 K 35/28
 A 6 1 K 35/545
 A 6 1 K 35/17
 A 6 1 K 38/46
 A 6 1 K 31/7105
 A 6 1 K 9/127
 A 6 1 K 31/711
 A 6 1 K 35/76
 A 6 1 K 47/18
 C 1 2 N 15/12
 C 1 2 N 15/13
 C 1 2 N 15/62 Z

10

20

【手続補正書】

【提出日】令和7年4月11日(2025.4.11)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

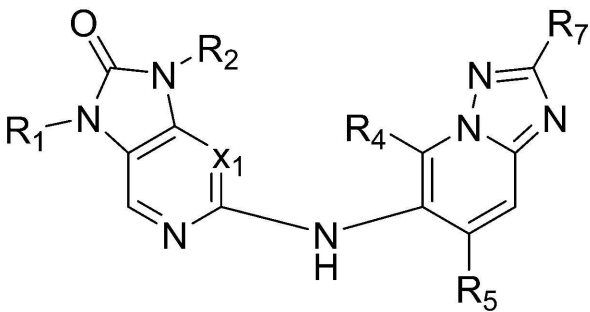
【特許請求の範囲】

【請求項1】

式I:

30

【化1】



(式I)

40

の構造を有する化合物またはその塩であって、
 式中、

X_1 は、C-R₃またはNであり、

R₁ は、C₁-C₃アルキルであり、

R₂ は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルであり、シクロアルキル及びヘテロシクリルが1つ以上のR₆で任意に置換されており、

R₃ は、HまたはC₁-C₃アルキルであり、

50

R₄ は、H または C₁-C₃ アルキルであり、

R₅ は、C₁-C₃ アルキルであり、

各 R₆ は、独立して、ヒドロキシ、ハロ、アルキル、アルコキシ、シクロアルキル、アミノ、及びシアノから選択されるか、または 2 つの R₆ が、それらが結合している原子（複数可）と一緒にあって、スピロ環もしくは縮合環を形成し、かつ

R₇ は、H または C₁-C₃ アルキルであるが、

但し、

(a) x₁ が C-R₃ である、

(b) R₁ が C₂-C₃ アルキルである、

(c) R₄ が C₁-C₃ アルキルである、

(d) R₂ が 1 つの R₆ で置換されており、R₆ がハロである、

(e) R₂ が 2 つの R₆ で置換されており、その 2 つの R₆ は、それらが結合している原子（複数可）と一緒にあってスピロ環または縮合環を形成している、及び

(f) R₂ が、1 つ以上の R₆ で任意に置換されている C₃-C₅ シクロアルキルである

、
のうちの少なくとも 1 つが当てはまることを条件とする、前記化合物またはその塩。

【請求項 2】

x₁ が C-R₃ である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

R₃ が、H またはメチルである、請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

x₁ が N である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5】

R₁ が C₂-C₃ アルキルである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 6】

R₁ が、メチル及びエチルから選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 7】

R₄ が C₁-C₃ アルキルである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 8】

R₄ が、H またはメチルである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 9】

R₂ がシクロアルキルである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 10】

R₂ がヘテロシクリルである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 11】

R₂ が、独立してヒドロキシ、ハロ、メトキシ、メチル、及びシクロアルキルから選択される、1 つ以上の R₆ で任意に置換されているか、または 2 つの R₆ は、それらが結合している原子（複数可）と一緒にあってスピロ環もしくは縮合環を形成している、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 12】

R₂ が 2 つの R₆ で置換されており、その 2 つの R₆ は、それらが結合している原子（複数可）と一緒にあってスピロ環または縮合環を形成している、請求項 11 に記載の化合物

【請求項 13】

R₅ がメチルである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 14】

R₇ が、H またはメチルである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 15】

10

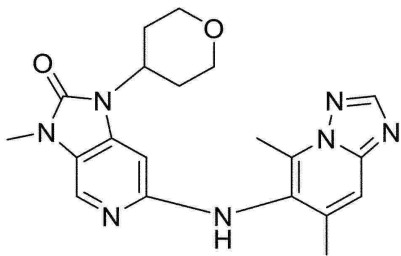
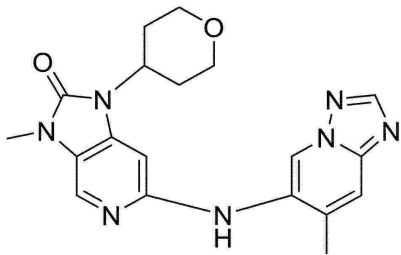
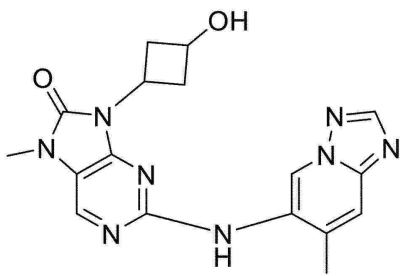
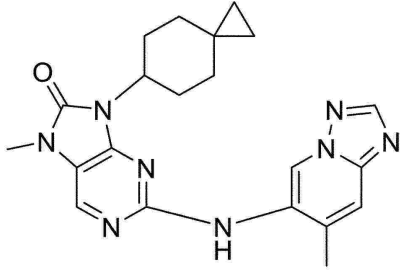
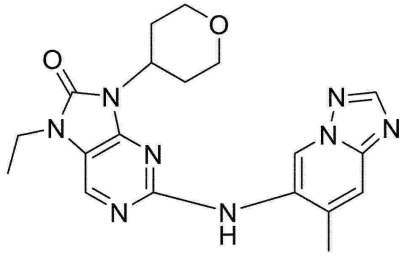
20

30

40

50

【化 2 - 1】



10

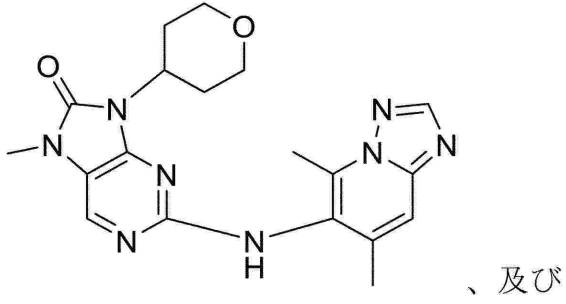
20

30

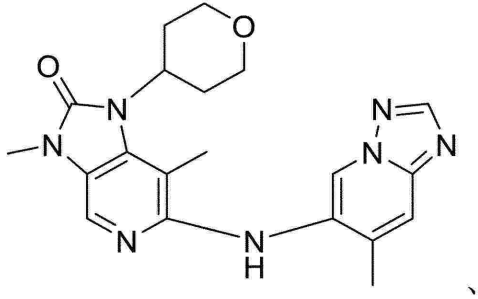
40

50

【化 2 - 2】



10

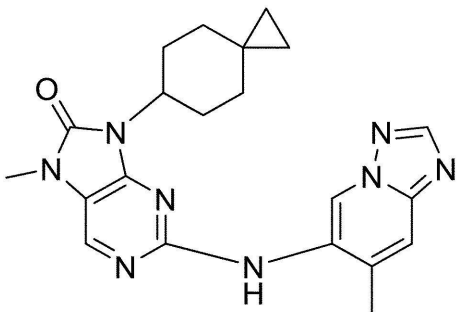


20

またはそれらの塩から選択される請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 1 6】

【化 3】



30

、
またはその塩である、請求項 1 5 に記載の化合物。

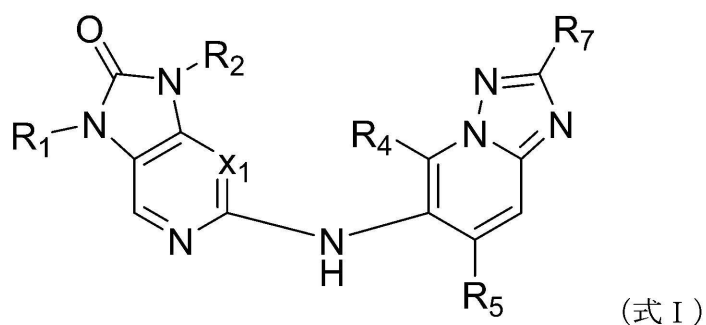
【請求項 1 7】

- a) DNA プロテインキナーゼ阻害剤 (DNA - PKI)、
 - b) DNA 切断物質、
 - c) 任意に、細胞、及び
 - d) 任意に、ドナー DNA、
- を含む組成物であって、前記 DNA - PKI が、式 I

40

50

【化 4】



10

の化合物またはその塩であり、
式中、

X_1 は、C - R_3 または N であり、

R_1 は、 $C_1 - C_3$ アルキルであり、

R_2 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルであり、シクロアルキル及びヘテロシクリルが 1 つ以上の R_6 で任意に置換されており、

R_3 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルであり、

20

R_4 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルであり、

R_5 は、 $C_1 - C_3$ アルキルであり、

各 R_6 は、独立して、ヒドロキシ、ハロ、アルキル、アルコキシ、シクロアルキル、アミノ、及びシアノから選択されるか、または 2 つの R_6 が、それらが結合している原子（複数可）と一緒に、スピロ環もしくは縮合環を形成し、かつ

R_7 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルである、前記組成物。

【請求項 18】

X_1 が N である、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 19】

R_1 がメチルである、請求項 17 または 18 に記載の組成物。

30

【請求項 20】

R_4 が H である、請求項 17 または 18 に記載の組成物。

【請求項 21】

R_2 がシクロヘキシルである、請求項 17 または 18 に記載の組成物。

【請求項 22】

R_2 がテトラヒドロピラニルまたはテトラヒドロフラニルである、請求項 17 または 18 に記載の組成物。

【請求項 23】

R_2 が、独立してヒドロキシ、メトキシ、及びメチルから選択される、1 つ以上の R_6 で任意に置換されている、請求項 17 または 18 に記載の組成物。

40

【請求項 24】

R_5 がメチルである、請求項 17 または 18 に記載の組成物。

【請求項 25】

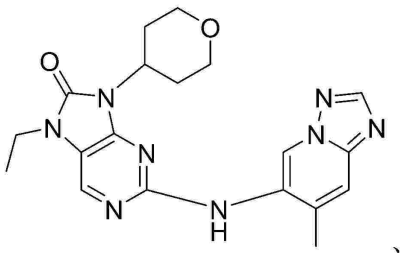
R_7 が、H またはメチルである、請求項 17 または 18 に記載の組成物。

【請求項 26】

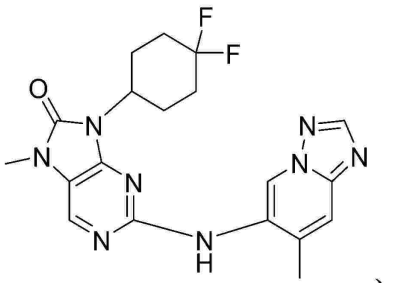
前記 DNA - PKI が、

50

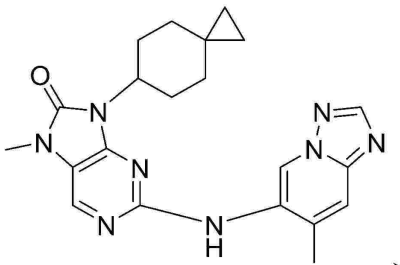
【化 5 - 1】



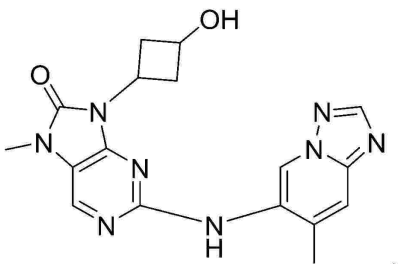
10



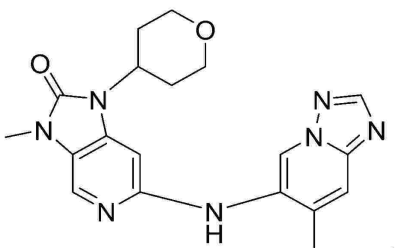
20



30

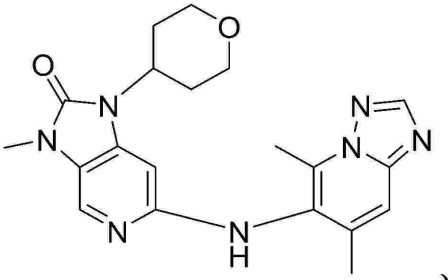


40

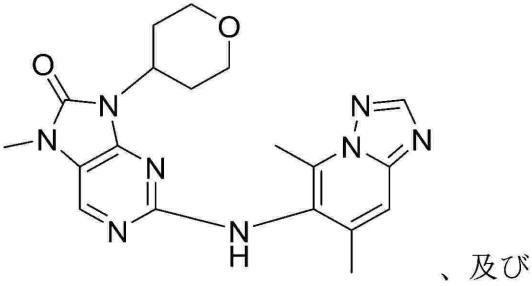


50

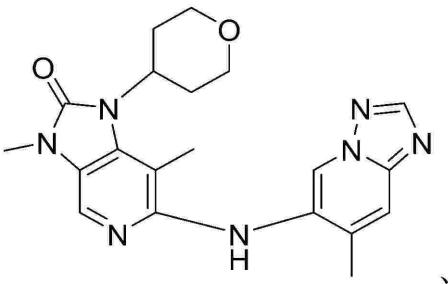
【化 5 - 2】



10



20



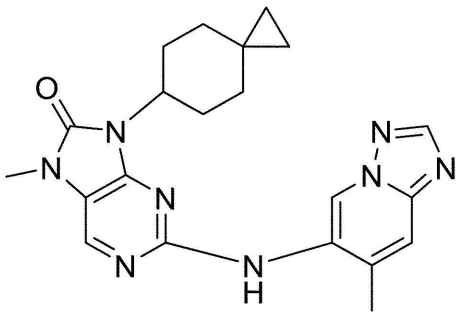
またはそれらの塩から選択される、前記組成物。

【請求項 27】

30

前記 DNA - PK I が、

【化 6】



40

またはその塩である、請求項 26 に記載の組成物。

【請求項 28】

細胞を含む、請求項 17 または 18 に記載の組成物。

【請求項 29】

前記細胞が真核細胞である、請求項 28 に記載の組成物。

【請求項 30】

前記細胞が養子細胞療法 (ACT) において有用である、請求項 28 に記載の組成物。

50

【請求項 3 1】

前記細胞が幹細胞または免疫細胞である、請求項 3 0 に記載の組成物。

【請求項 3 2】

前記細胞が免疫細胞であり、前記免疫細胞がリンパ球であり、前記リンパ球が、T 細胞、B 細胞、または NK 細胞である、請求項 3 1 に記載の組成物。

【請求項 3 3】

前記 DNA 切断物質が、CRISPR / Cas ヌクレアーゼ成分及び任意にガイド RNA 成分を含む、請求項 1 7 または 1 8 に記載の組成物。

【請求項 3 4】

前記 CRISPR / Cas ヌクレアーゼ成分が、Cas ヌクレアーゼまたは Cas ヌクレアーゼをコードする mRNA を含む、請求項 3 3 に記載の組成物。 10

【請求項 3 5】

前記 Cas ヌクレアーゼがクラス 2 Cas ヌクレアーゼである、請求項 3 4 に記載の組成物。

【請求項 3 6】

前記 Cas ヌクレアーゼが Cas 9 ヌクレアーゼである、請求項 3 5 に記載の組成物。

【請求項 3 7】

前記 Cas ヌクレアーゼが、S . pyogenes Cas 9 ヌクレアーゼまたは N . meningitidis Cas 9 ヌクレアーゼである、請求項 3 6 に記載の組成物。 20

【請求項 3 8】

修飾 RNA を含む、請求項 1 7 または 1 8 に記載の組成物。

【請求項 3 9】

前記 DNA 切断物質がガイド RNA 成分を含み、前記ガイド RNA 成分が、ガイド RNA 等のガイド RNA 核酸である、請求項 3 3 に記載の組成物。

【請求項 4 0】

前記ガイド RNA 核酸が、二重ガイド RNA (dg RNA) であるかもしくはそれをコードするか、または単一ガイド (sg RNA) であるかもしくはそれをコードする、請求項 3 9 に記載の組成物。

【請求項 4 1】

前記ガイド RNA 核酸が g RNA であり、前記 g RNA が修飾されており、前記修飾 g RNA が、5 ' 末端または 3 ' 末端の最初の 5 ヌクレオチドのうちの一つ以上において修飾を含む、請求項 4 0 に記載の組成物。 30

【請求項 4 2】

ドナー DNA を含む、請求項 1 7 または 1 8 に記載の組成物。

【請求項 4 3】

前記ドナー DNA が、タンパク質をコードする配列、制御配列、または構造 RNA をコードする配列、を含む鋳型を含む、請求項 4 2 に記載の組成物。

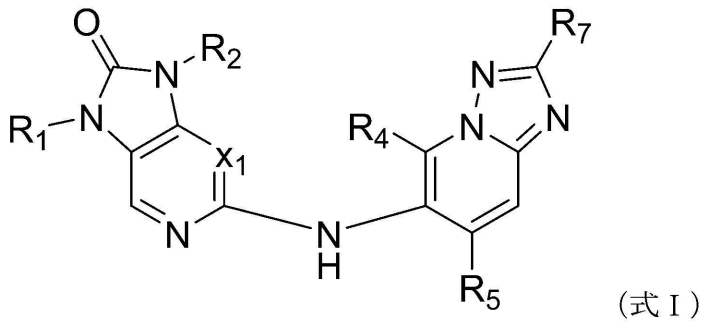
【請求項 4 4】

前記 DNA 切断物質が、脂質ナノ粒子 (LNP) 組成物中に存在する、請求項 1 7 または 1 8 に記載の組成物。 40

【請求項 4 5】

細胞において標的ゲノム編集を行うための、細胞における二本鎖 DNA 切断を修復するための、非相同末端結合 (NHEJ) 経路を介した細胞の DNA 切断の修復を阻害または抑制するための、または標的を定めた、細胞のゲノムへのドナー DNA の挿入のためのエクスピボ方法であって、前記細胞を、DNA 切断物質及び DNA - PKI と接触させることを含み、前記 DNA - PKI が、式 I

【化7】



10

の化合物またはその塩であり、
式中、

X_1 は、C - R_3 または N であり、

R_1 は、 $C_1 - C_3$ アルキルであり、

R_2 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルであり、シクロアルキル及びヘテロシクリルが1つ以上の R_6 で任意に置換されており、

R_3 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルであり、

20

R_4 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルであり、

R_5 は、 $C_1 - C_3$ アルキルであり、

各 R_6 は、独立して、ヒドロキシ、ハロ、アルキル、アルコキシ、シクロアルキル、アミノ、及びシアノから選択されるか、または2つの R_6 が、それらが結合している原子（複数可）と一緒に、スピロ環もしくは縮合環を形成し、かつ

R_7 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルである、前記方法。

【請求項46】

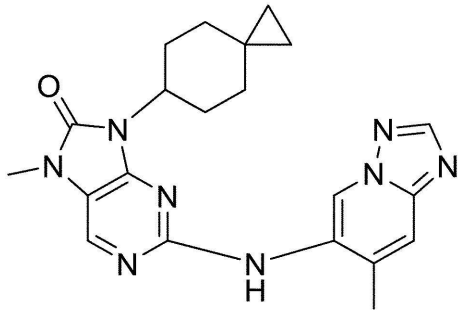
前記 DNA - PKI が、請求項 1 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の化合物である、請求項 45 に記載の方法。

【請求項47】

30

前記 DNA - PKI が、

【化8】



40

またはその塩である、請求項 45 に記載の方法。

【請求項48】

前記細胞が養子細胞療法 (ACT) において有用である、請求項 45 に記載の方法。

【請求項49】

前記細胞が幹細胞または免疫細胞である、請求項 45 に記載の方法。

【請求項50】

前記免疫細胞が白血球またはリンパ球である、請求項 49 に記載の方法。

50

【請求項 5 1】

前記 DNA 切断物質が、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、T A L E エフェクタードメインヌクレアーゼ (T A L E N)、C R I S P R / C a s ヌクレアーゼ成分、及びそれらの組み合わせから選択される、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記 C R I S P R / C a s ヌクレアーゼ成分が、C a s ヌクレアーゼまたは C a s ヌクレアーゼをコードする mRNA を含む、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記 C a s ヌクレアーゼがクラス 2 C a s ヌクレアーゼである、請求項 5 2 に記載の方法。

10

【請求項 5 4】

前記 C a s ヌクレアーゼが C a s 9 ヌクレアーゼである、請求項 5 3 に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記 C a s ヌクレアーゼが、S . p y o g e n e s C a s 9 ヌクレアーゼまたは N . m e n i n g i t i d i s C a s 9 ヌクレアーゼである、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記 C a s ヌクレアーゼが C a s 1 2 a ヌクレアーゼである、請求項 5 3 に記載の方法。

【請求項 5 7】

前記細胞を修飾 RNA と接触させることをさらに含む、請求項 4 5 に記載の方法。

20

【請求項 5 8】

前記細胞をガイド RNA 核酸と接触させることをさらに含む、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記ガイド RNA 核酸が修飾 g RNA であり、前記修飾 g RNA が、5' 末端または 3' 末端の最初の 5 ヌクレオチドのうちの一つ以上において修飾を含む、請求項 5 8 に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記細胞をドナー DNA と接触させることをさらに含む、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 6 1】

前記ドナー DNA が、タンパク質をコードする配列、制御配列、または構造 RNA をコードする配列、を含む鑄型を含む、請求項 6 0 に記載の方法。

30

【請求項 6 2】

前記細胞をベクターと接触させることをさらに含む、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 6 3】

細胞において標的ゲノム編集を行うための、細胞における二本鎖 DNA 切断を修復するための、非相同末端結合 (N H E J) 経路を介した細胞の DNA 切断の修復を阻害または抑制するための、または標的を定めた、細胞のゲノムへのドナー DNA の挿入のための医薬の製造における DNA - P K I の使用であって、

前記 DNA - P K I が請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の化合物であり、

40

前記細胞において標的ゲノム編集を行うこと、前記細胞における二本鎖 DNA 切断を修復すること、前記非相同末端結合 (N H E J) 経路を介した細胞の DNA 切断の修復を阻害または抑制すること、または前記標的を定めた、細胞のゲノムへのドナー DNA の挿入が、前記細胞を、DNA 切断物質及び DNA - P K I と接触させることを含む、前記使用

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 2 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

50

【 0 4 2 6 】

実施例 19 . 3 . フローサイトメトリー

LNP 処理後 7 日目に、50 μ L の細胞を、U 底 96 ウェルプレートに移し、5 分間 500 g にて遠心沈殿にかけた。上清を廃棄し、細胞を、Viakrome 808 (Beckman C.、カタログ番号 C36628) (1:100)、PC5.5 抗 CD3 (Biolegend、カタログ番号 317336) (1:200)、BV421 抗 CD4 (Biolegend、カタログ番号 317434) (1:100)、BV785 抗 CD8 (Biolegend、カタログ番号 301046) (1:100)、及び抗 V γ 7.2 (Beckman C.、IM3604) (1:50) を含有する 100 μ L の FACS 緩衝液に再懸濁させ、暗所で 4 日にて 30 分間染色した。細胞を 200 μ L の FACS 緩衝液で 1 回洗浄し、100 μ L の FACS 緩衝液に再懸濁させ、Cytotflex LX フローサイトメーターで処理した。HD3 TCR 挿入パーセントの結果を表 22 及び図 10B に示す。

10

【表 22】

表 21. 化合物 4 の存在の有無によるインデルパーセント。

sgRNA (μ g/mL)	Spy Cas9+化合物 4		Spy Cas9-化合物 4	
	平均TRAC 編集%	標準偏差TRAC 編集%	平均TRAC 編集%	標準偏差TRAC 編集%
1.67	96.10	0.85	94.30	0.14
0.835	96.15	0.49	88.70	1.70
0.418	94.45	0.92	79.05	3.04
0.209	89.00	0.42	66.20	3.39
0.104	79.25	0.64	46.00	2.12
0.052	63.45	0.07	29.80	0.71
0.026	48.55	0.49	19.35	3.61
0	0.20	0.00	0.10	0.00

20

30

40

50

【表 2 3】

表 2 2. 化合物 4 の存在の有無による HD 3 TCR 挿入パーセント。

s g RNA (μ g/mL)	S p y C a s 9 + 化合物 4		S p y C a s 9 - 化合物 4	
	平均 CD 3 ⁺ V β 7. 2 ⁺ T 細胞%	標準偏差 CD 3 ⁺ V β 7. 2 ⁺ T 細胞%	平均 CD 3 ⁺ V β 7. 2 ⁺ T 細胞%	標準偏差 CD 3 ⁺ V β 7. 2 ⁺ T 細胞%
1. 6 7	4 9. 6 5	2. 4 7	3 4. 1 0	0. 8 5
0. 8 3 5	5 3. 3 0	2. 2 6	3 1. 9 5	1. 2 0
0. 4 1 8	5 3. 8 0	3. 9 6	2 4. 8 5	0. 3 5
0. 2 0 9	5 6. 1 0	2. 6 9	1 6. 3 0	0. 2 8
0. 1 0 4	5 2. 6 0	4. 9 5	1 0. 2 0	0. 0 0
0. 0 5 2	4 4. 5 0	4. 9 5	5. 5 4	0. 4 3
0. 0 2 6	3 5. 2 0	5. 3 7	3. 6 7	0. 5 0
0	0. 7 9	0. 0 8	0. 6 5	0. 1 4

10

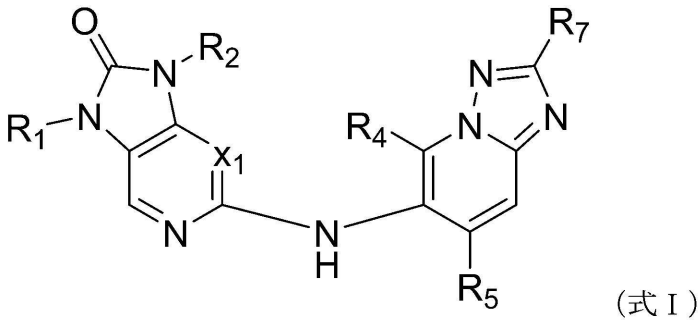
20

本発明は例えば以下の実施形態を含む。

[項 1]

式 I :

【化 1 0 2】



30

の構造を有する化合物またはその塩であって、
式中、

x_1 は、C-R₃ または N であり、

R₁ は、C₁-C₃ アルキルであり、

40

R₂ は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルであり、シクロアルキル及びヘテロシクリルが 1 つ以上の R₆ で任意に置換されており、

R₃ は、H または C₁-C₃ アルキルであり、

R₄ は、H または C₁-C₃ アルキルであり、

R₅ は、C₁-C₃ アルキルであり、

各 R₆ は、独立して、ヒドロキシ、ハロ、アルキル、アルコキシ、シクロアルキル、アミノ、及びシアノから選択されるか、または 2 つの R₆ が、それらが結合している原子 (複数可) と一緒になって、スピロ環もしくは縮合環を形成し、かつ

R₇ は、H または C₁-C₃ アルキルであるが、

但し、

50

- (a) x_1 が C - R₃ である、
 (b) R₁ が C₂ - C₃ アルキルである、
 (c) R₄ が C₁ - C₃ アルキルである、
 (d) R₂ が 1 つの R₆ で置換されており、R₆ がハロである、
 (e) R₂ が 2 つの R₆ で置換されており、その 2 つの R₆ が、それらが結合している
 原子 (複数可) と一緒になって スピロ環または縮合環を形成している、及び
 (f) R₂ が、1 つ以上の R₆ で任意に置換されている C₃ - C₅ シクロアルキルである

、
 のうちの少なくとも 1 つが当てはまることを条件とする、前記化合物またはその塩。

[項 2]

x_1 が C - R₃ である、項 1 に記載の化合物。

10

[項 3]

R₃ が、H またはメチルである、項 2 に記載の化合物。

[項 4]

x_1 が N である、項 1 に記載の化合物。

[項 5]

R₁ が C₂ - C₃ アルキルである、先行項のいずれか 1 項に記載の化合物。

[項 6]

R₁ が、メチル及びエチルから選択される、項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の化合物。

[項 7]

R₁ がメチルである、項 6 に記載の化合物。

20

[項 8]

R₄ が C₁ - C₃ アルキルである、先行項のいずれか 1 項に記載の化合物。

[項 9]

R₄ が、H またはメチルである、項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の化合物。

[項 10]

R₄ が H である、項 9 に記載の化合物。

[項 11]

R₂ がシクロアルキルである、先行項のいずれか 1 項に記載の化合物。

[項 12]

R₂ が C₃ - C₇ シクロアルキルである、項 11 に記載の化合物。

30

[項 13]

R₂ がシクロヘキシルである、項 12 に記載の化合物。

[項 14]

R₂ が C₃ - C₅ シクロアルキルである、項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の化合物。

[項 15]

R₂ がヘテロシクリルである、項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の化合物。

[項 16]

R₂ が 5 ~ 7 員のヘテロシクリルである、項 15 に記載の化合物。

[項 17]

R₂ がテトラヒドロピラニルである、項 16 に記載の化合物。

40

[項 18]

R₂ がテトラヒドロフラニルである、項 16 に記載の化合物。

[項 19]

R₂ が、独立してヒドロキシ、ハロ、及びシクロアルキルから選択される、1 つ以上の R₆ で任意に置換されているか、または 2 つの R₆ が、それらが結合している原子 (複数可) と一緒になってスピロ環もしくは縮合環を形成している、先行項のいずれか 1 項に記載の化合物。

[項 20]

R₂ が 1 つ以上の R₆ で置換されており、各 R₆ が、ハロまたはヒドロキシルである、

50

項 19 に記載の化合物。

[項 2 1]

R₂ が 1 つの R₆ で置換されており、前記 R₆ がハロゲンである、項 20 に記載の化合物。

[項 2 2]

各 R₆ がフルオロである、項 20 または 21 に記載の化合物。

[項 2 3]

R₂ が 2 つの R₆ で置換されており、その 2 つの R₆ が、それらが結合している原子（複数可）と一緒になってスピロ環または縮合環を形成している、項 19 に記載の化合物。

[項 2 4]

R₂ が、独立してヒドロキシ、メトキシ、及びメチルから選択される 1 つ以上の R₆ で任意に置換されている、項 1 ~ 18 のいずれか 1 項に記載の化合物。 10

[項 2 5]

R₅ がメチルである、先行項のいずれか 1 項に記載の化合物。

[項 2 6]

R₇ が、H またはメチルである、先行項のいずれか 1 項に記載の化合物。

[項 2 7]

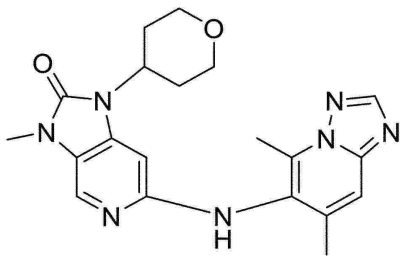
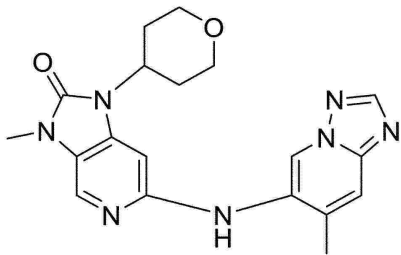
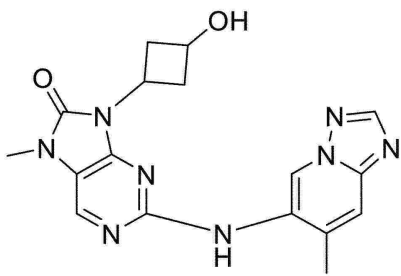
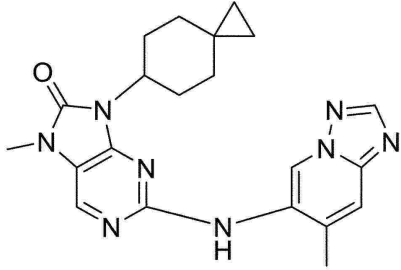
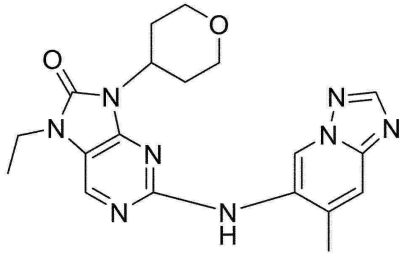
20

30

40

50

【化 1 0 3 - 1】



10

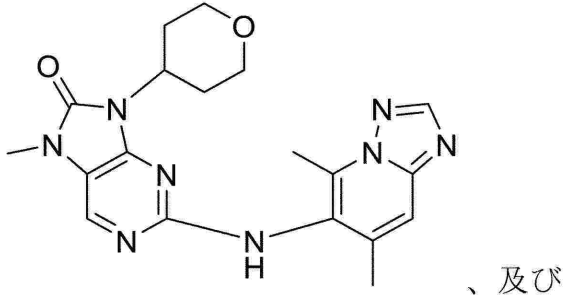
20

30

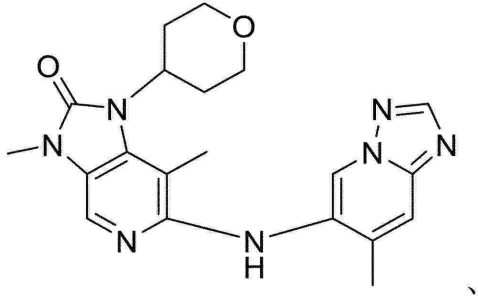
40

50

【化 1 0 3 - 2】



10

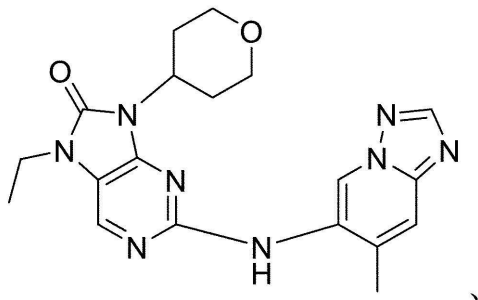


20

またはそれらの塩から選択される化合物。

[項 2 8]

【化 1 0 4】

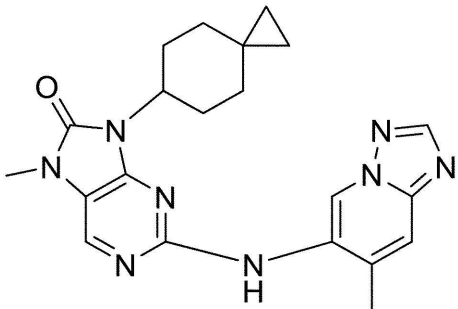


30

またはその塩である、項 2 7 に記載の化合物。

[項 2 9]

【化 1 0 5】



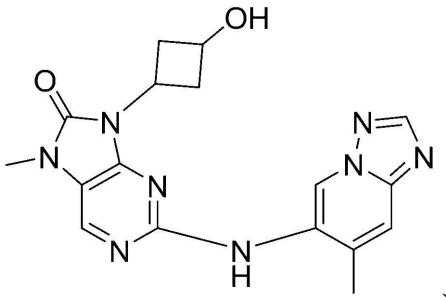
40

またはその塩である、項 2 7 に記載の化合物。

50

[項 3 0]

【 化 1 0 6 】

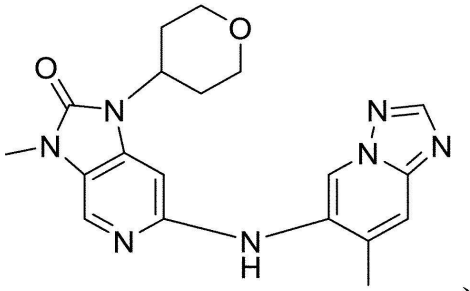


10

またはその塩である、項 2 7 に記載の化合物。

[項 3 1]

【 化 1 0 7 】

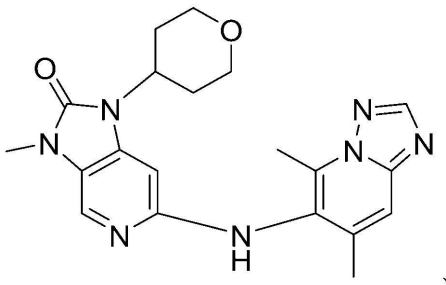


20

またはその塩である、項 2 7 に記載の化合物。

[項 3 2]

【 化 1 0 8 】



30

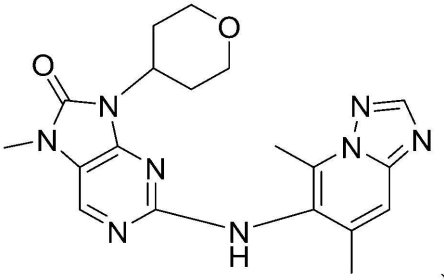
40

またはその塩である、項 2 7 に記載の化合物。

[項 3 3]

50

【化 1 0 9】

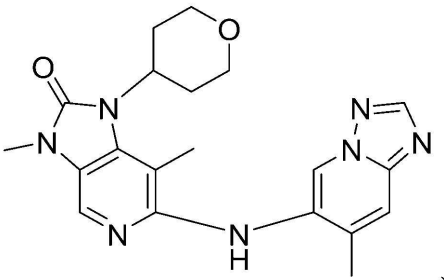


10

またはその塩である、項 2 7 に記載の化合物。

[項 3 4]

【化 1 1 0】



20

またはその塩である、項 2 7 に記載の化合物。

[項 3 5]

遊離塩基である、項 1 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載の化合物。

[項 3 6]

塩である、項 1 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載の化合物。

30

[項 3 7]

前記塩がトリフラートアニオンを含む、項 3 6 に記載の化合物。

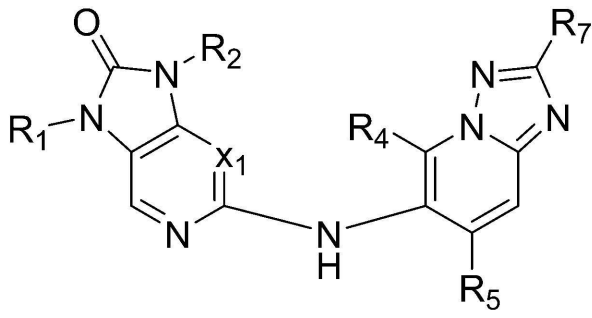
[項 3 8]

- a) DNA プロテインキナーゼ阻害剤 (DNA - PK I)、
 - b) DNA 切断物質、
 - c) 任意に、細胞、及び
 - d) 任意に、ドナー DNA、
- を含む組成物であって、前記 DNA - PK I が、式 I

40

50

【化 1 1 1】



10

の化合物またはその塩であり、
式中、

x_1 は、C - R₃ または N であり、

R₁ は、C₁ - C₃ アルキルであり、

R₂ は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルであり、シクロアルキル及びヘテロシクリルが 1 つ以上の R₆ で任意に置換されており、

R₃ は、H または C₁ - C₃ アルキルであり、

20

R₄ は、H または C₁ - C₃ アルキルであり、

R₅ は、C₁ - C₃ アルキルであり、

各 R₆ は、独立して、ヒドロキシ、ハロ、アルキル、アルコキシ、シクロアルキル、アミノ、及びシアノから選択されるか、または 2 つの R₆ が、それらが結合している原子（複数可）と一緒に、スピロ環もしくは縮合環を形成し、かつ

R₇ は、H または C₁ - C₃ アルキルである、前記組成物。

[項 3 9]

x_1 が N である、項 3 8 に記載の組成物。

[項 4 0]

R₁ がメチルである、項 3 8 または 3 9 に記載の組成物。

30

[項 4 1]

R₄ が H である、項 3 8 ~ 4 0 のいずれか 1 項に記載の組成物。

[項 4 2]

R₂ がシクロヘキシルである、項 3 8 ~ 4 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

[項 4 3]

R₂ がテトラヒドロピラニルである、項 3 8 ~ 4 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

[項 4 4]

R₂ がテトラヒドロフラニルである、項 3 8 ~ 4 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

[項 4 5]

R₂ が、独立してヒドロキシ、メトキシ、及びメチルから選択される、1 つ以上の R₆ で任意に置換されている、項 3 8 ~ 4 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

40

[項 4 6]

R₅ がメチルである、項 3 8 ~ 4 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

[項 4 7]

R₇ が、H またはメチルである、項 3 8 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

[項 4 8]

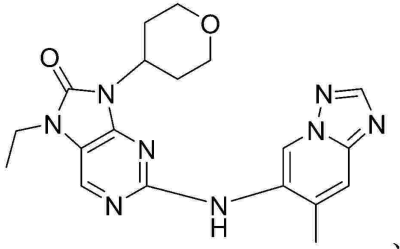
前記 DNA - PK I が、項 1 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の化合物である、項 3 8 に記載の組成物。

[項 4 9]

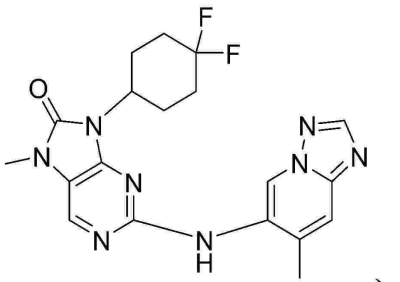
a) DNA プロテインキナーゼ阻害剤 (DNA - PK I)、

50

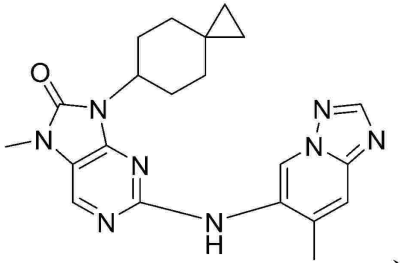
- b) DNA切断物質、
c) 任意に、細胞、及び
d) 任意に、ドナーDNA、
を含む組成物であって、前記DNA-PKIが、
【化112-1】



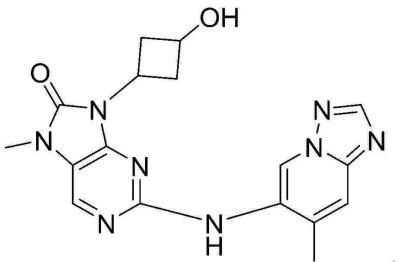
10



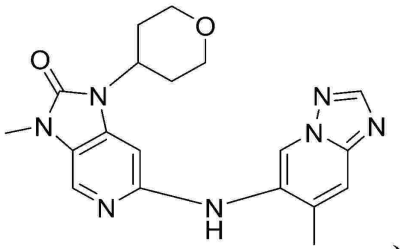
20



30

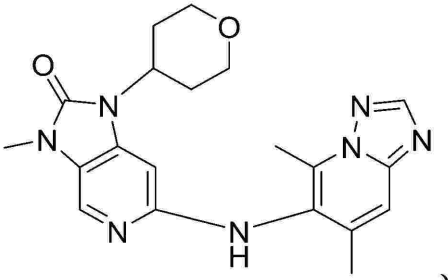


40

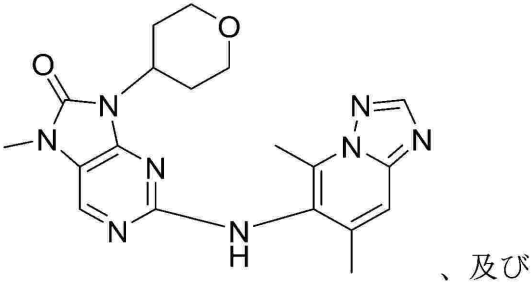


50

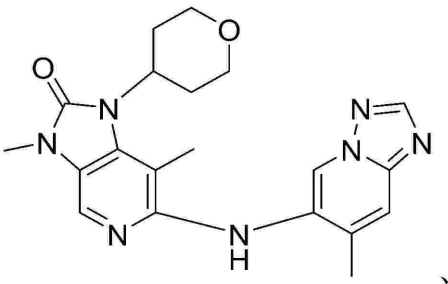
【化 1 1 2 - 2】



10



20



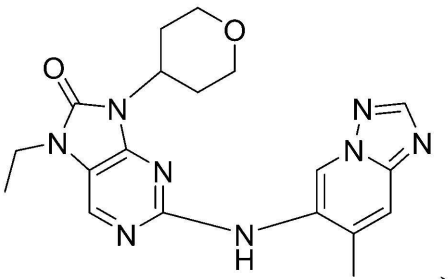
またはそれらの塩から選択される、前記組成物。

[項 5 0]

30

前記 DNA - PK I が、

【化 1 1 3】



40

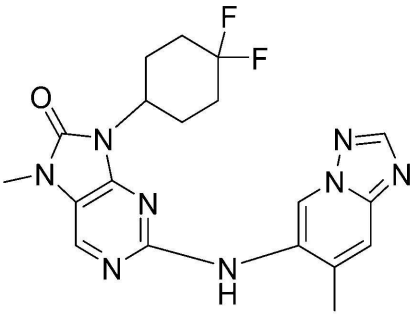
またはその塩である、項 4 9 に記載の組成物。

[項 5 1]

前記 DNA - PK I が、

50

【化 1 1 4】



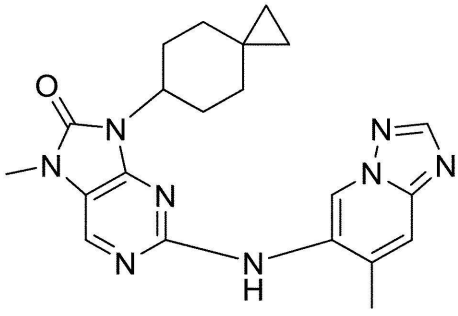
10

またはその塩である、項 4 9 に記載の組成物。

[項 5 2]

前記 DNA - PK I が、

【化 1 1 5】



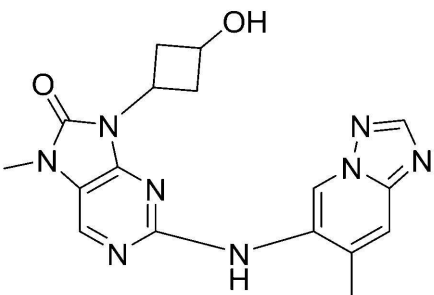
20

またはその塩である、項 4 9 に記載の組成物。

[項 5 3]

前記 DNA - PK I が、

【化 1 1 6】



40

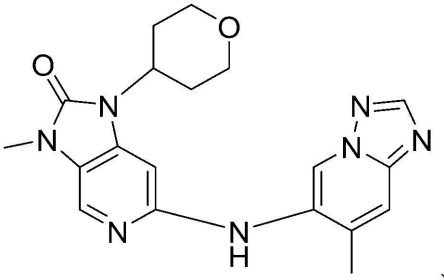
またはその塩である、項 4 9 に記載の組成物。

[項 5 4]

前記 DNA - PK I が、

50

【化 1 1 7】



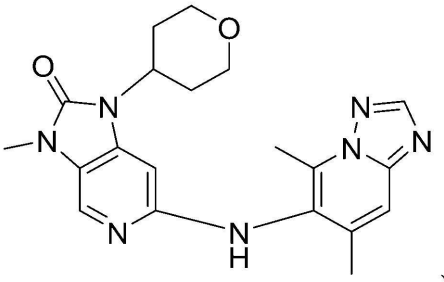
10

またはその塩である、項 4 9 に記載の組成物。

[項 5 5]

前記 DNA - PK I が、

【化 1 1 8】



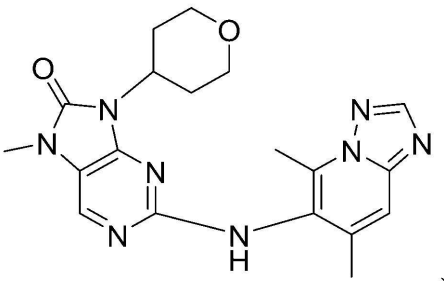
20

またはその塩である、項 4 9 に記載の組成物。

[項 5 6]

前記 DNA - PK I が、

【化 1 1 9】



40

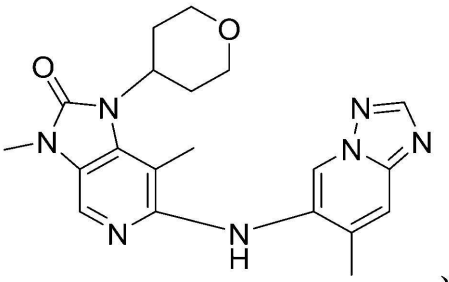
またはその塩である、項 4 9 に記載の組成物。

[項 5 7]

前記 DNA - PK I が、

50

【化 1 2 0】



10

またはその塩である、項 4 9 に記載の組成物。

[項 5 8]

前記組成物中の前記 DNA - PK I の濃度が約 1 μ M 以下である、項 3 8 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

[項 5 9]

前記組成物中の前記 DNA - PK I の濃度が約 0 . 2 5 μ M 以下である、項 5 8 に記載の組成物。

[項 6 0]

前記組成物中の前記 DNA - PK I の濃度が約 0 . 1 ~ 1 μ M である、項 3 8 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

20

[項 6 1]

前記組成物中の前記 DNA - PK I の濃度が約 0 . 1 ~ 0 . 5 μ M である、項 6 0 に記載の組成物。

[項 6 2]

細胞を含む、項 3 8 ~ 6 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

[項 6 3]

前記細胞が真核細胞である、項 6 2 に記載の組成物。

[項 6 4]

前記細胞が肝細胞である、項 6 2 に記載の組成物。

30

[項 6 5]

前記細胞が養子細胞療法 (A C T) において有用である、項 6 2 に記載の組成物。

[項 6 6]

前記細胞が養子細胞療法において有用である、項 6 5 に記載の組成物。

[項 6 7]

前記細胞が幹細胞である、項 6 5 または 6 6 に記載の組成物。

[項 6 8]

前記幹細胞が、造血幹細胞 (H S C) または人工多能性幹細胞 (i P S C) である、項 6 7 に記載の組成物。

40

[項 6 9]

前記細胞が免疫細胞である、項 6 5 ~ 6 8 のいずれか 1 項に記載の組成物。

[項 7 0]

前記免疫細胞が、白血球またはリンパ球である、項 6 9 に記載の組成物。

[項 7 1]

前記免疫細胞がリンパ球である、項 7 0 に記載の組成物。

[項 7 2]

前記リンパ球が、T 細胞、B 細胞、または NK 細胞である、項 7 1 に記載の組成物。

[項 7 3]

前記リンパ球が T 細胞である、項 7 1 に記載の組成物。

50

[項 7 4]

T細胞が初代T細胞である、項73に記載の組成物。

[項 7 5]

T細胞が制御性T細胞である、項73に記載の組成物。

[項 7 6]

前記リンパ球が活性化T細胞である、項73～75のいずれか1項に記載の組成物。

[項 7 7]

前記リンパ球が非活性化T細胞である、項73～75のいずれか1項に記載の組成物。

[項 7 8]

前記細胞がヒト細胞である、項62～77のいずれか1項に記載の組成物。

10

[項 7 9]

前記DNA切断物質が、CRISPR/Casヌクレアーゼ成分及び任意にガイドRNA成分を含む、項38～78のいずれか1項に記載の組成物。

[項 8 0]

前記DNA切断物質が、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、TALEエフェクタードメインヌクレアーゼ(TALEN)、CRISPR/Casヌクレアーゼ成分、及びそれらの組み合わせから選択される、項79に記載の組成物。

[項 8 1]

前記DNA切断物質が、CRISPR/Casヌクレアーゼ成分及びガイドRNA成分である、項79に記載の組成物。

20

[項 8 2]

前記CRISPR/Casヌクレアーゼ成分が、Casヌクレアーゼまたは前記CasヌクレアーゼをコードするmRNAを含む、項81に記載の組成物。

[項 8 3]

前記CRISPR/Casヌクレアーゼ成分が、前記CasヌクレアーゼをコードするmRNAを含む、項82に記載の組成物。

[項 8 4]

前記Casヌクレアーゼがクラス2Casヌクレアーゼである、項82または83に記載の組成物。

[項 8 5]

前記CasヌクレアーゼがCas9ヌクレアーゼである、項84に記載の組成物。

30

[項 8 6]

前記Casヌクレアーゼが、S.pyogenes Cas9ヌクレアーゼである、項85に記載の組成物。

[項 8 7]

前記Casヌクレアーゼが、N.meningitidis Cas9ヌクレアーゼである、項85に記載の組成物。

[項 8 8]

前記CasヌクレアーゼがNmec2Cas9である、項85に記載の組成物。

[項 8 9]

前記CasヌクレアーゼがCas12aヌクレアーゼである、項81または82に記載の組成物。

40

[項 9 0]

修飾RNAを含む、項38～89のいずれか1項に記載の組成物。

[項 9 1]

前記ガイドRNA成分が、ガイドRNA等のガイドRNA核酸である、項79～90のいずれか1項に記載の組成物。

[項 9 2]

前記ガイドRNA核酸がgRNAである、項91に記載の組成物。

[項 9 3]

50

前記ガイドRNA核酸が、二重ガイドRNA (dgRNA) であるかまたはそれをコードする、項91または92に記載の組成物。

[項94]

前記ガイドRNA核酸が、単一ガイド (sgRNA) であるかまたはそれをコードする、項91または92に記載の組成物。

[項95]

前記gRNAが修飾gRNAである、項92~94のいずれか1項に記載の組成物。

[項96]

前記修飾gRNAが、5'末端の最初の5ヌクレオチドのうちの一つ以上において修飾を含む、項95に記載の組成物。

[項97]

前記修飾gRNAが、3'末端の最後の5ヌクレオチドのうちの一つ以上において修飾を含む、項95または96に記載の組成物。

[項98]

前記組成物が、ガイドRNA核酸及びクラス2CasヌクレアーゼmRNAを含み、前記mRNAと前記ガイドRNA核酸との重量比が約2:1~1:4である、項38~97のいずれか1項に記載の組成物。

[項99]

ドナーDNAを含む、項38~98のいずれか1項に記載の組成物。

[項100]

前記ドナーDNAが、タンパク質をコードする配列、制御配列、または構造RNAをコードする配列、を含む鑄型を含む、項99に記載の組成物。

[項101]

前記DNA切断物質が、脂質核酸集合体組成物中に存在する、項38~100のいずれか1項に記載の組成物。

[項102]

前記脂質核酸集合体組成物が、脂質ナノ粒子 (LNP) 組成物である、項101に記載の組成物。

[項103]

前記LNPが、直径が約10~200nm、約20~150nm、約50~150nm、約50~100nm、約50~120nm、約60~100nm、約75~150nm、約75~120nm、または約75~100nmである、項102に記載の組成物。

[項104]

前記組成物が、平均直径が約10~200nm、約20~150nm、約50~150nm、約50~100nm、約50~120nm、約60~100nm、約75~150nm、約75~120nm、または約75~100nmである前記LNPの集団を含む、項102または103に記載の組成物。

[項105]

前記平均直径がZ平均直径である、項104に記載の組成物。

[項106]

前記脂質核酸集合体組成物がリポプレックスである、項101に記載の組成物。

[項107]

前記脂質核酸集合体組成物がイオン化可能脂質を含む、項101~106のいずれか1項に記載の組成物。

[項108]

前記イオン化可能脂質が、pKaが約5.1~7.4、例えば、約5.5~6.6、約5.6~6.4、約5.8~6.2、または約5.8~6.5である、項107に記載の組成物。

[項109]

前記脂質核酸集合体組成物がヘルパー脂質を含む、項101~108のいずれか1項に

10

20

30

40

50

記載の組成物。

[項 1 1 0]

前記脂質核酸集合体組成物が中性脂質を含む、項 1 0 1 ~ 1 0 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

[項 1 1 1]

前記脂質核酸集合体組成物が P E G 脂質を含む、項 1 0 1 ~ 1 1 0 のいずれか 1 項に記載の組成物。

[項 1 1 2]

前記脂質核酸集合体組成物の N / P 比が約 3 ~ 1 0 である、項 1 0 1 ~ 1 1 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

[項 1 1 3]

前記脂質核酸集合体組成物の N / P 比が約 5 ~ 7 である、項 1 1 2 に記載の組成物。

[項 1 1 4]

前記脂質核酸集合体組成物の N / P 比が約 6 である、項 1 1 3 に記載の組成物。

[項 1 1 5]

ベクターをさらに含む、項 3 8 ~ 1 1 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

[項 1 1 6]

前記ベクターが前記 D N A 切断物質をコードする、項 1 1 5 に記載の組成物。

[項 1 1 7]

前記ベクターが前記ドナー D N A をコードする、項 1 1 5 または 1 1 6 に記載の組成物

。

[項 1 1 8]

前記ベクターがウイルスベクターである、項 1 1 5 ~ 1 1 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

[項 1 1 9]

前記ベクターが非ウイルスベクターである、項 1 1 5 ~ 1 1 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

[項 1 2 0]

前記ベクターがレンチウイルスベクターである、項 1 1 8 に記載の組成物。

[項 1 2 1]

前記ベクターがレトロウイルスベクターである、項 1 1 8 に記載の組成物。

[項 1 2 2]

前記ベクターが A A V である、項 1 1 8 に記載の組成物。

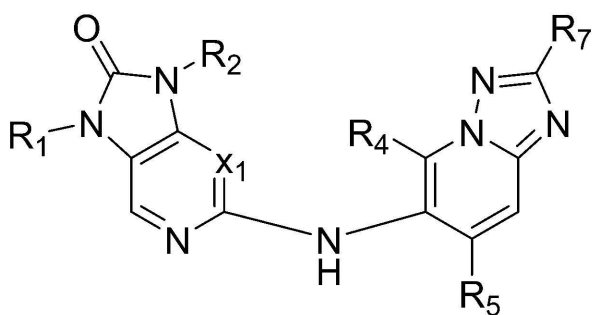
[項 1 2 3]

前記細胞が、がん細胞ではない、項 6 2 に記載の組成物。

[項 1 2 4]

細胞において標的ゲノム編集を行うための方法であって、前記細胞を、D N A 切断物質及び D N A - P K I と接触させることを含み、前記 D N A - P K I が、式 I

【化 1 2 1】



(式 I)

10

20

30

40

50

の化合物またはその塩であり、
式中、

X_1 は、C - R_3 または N であり、

R_1 は、 $C_1 - C_3$ アルキルであり、

R_2 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルであり、シクロアルキル及びヘテロシクリルが 1 つ以上の R_6 で任意に置換されており、

R_3 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルであり、

R_4 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルであり、

R_5 は、 $C_1 - C_3$ アルキルであり、

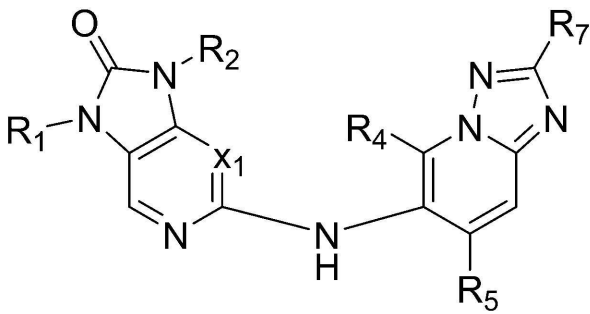
各 R_6 は、独立して、ヒドロキシ、ハロ、アルキル、アルコキシ、シクロアルキル、アミノ、及びシアノから選択されるか、または 2 つの R_6 が、それらが結合している原子（複数可）と一緒にあって、スピロ環もしくは縮合環を形成し、かつ

R_7 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルである、前記方法。

[項 1 2 5]

細胞のゲノムにおける二本鎖 DNA 切断を修復する方法であって、前記細胞を、DNA 切断物質及び DNA - PK I と接触させることを含み、前記 DNA - PK I が、式 I

【化 1 2 2】



の化合物またはその塩であり、
式中、

X_1 は、C - R_3 または N であり、

R_1 は、 $C_1 - C_3$ アルキルであり、

R_2 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルであり、シクロアルキル及びヘテロシクリルが 1 つ以上の R_6 で任意に置換されており、

R_3 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルであり、

R_4 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルであり、

R_5 は、 $C_1 - C_3$ アルキルであり、

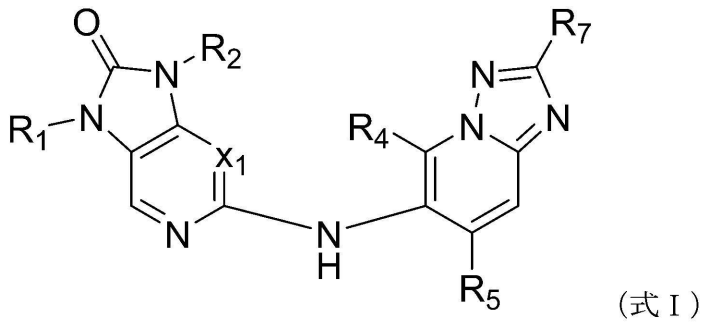
各 R_6 は、独立して、ヒドロキシ、ハロ、アルキル、アルコキシ、シクロアルキル、アミノ、及びシアノから選択されるか、または 2 つの R_6 が、それらが結合している原子（複数可）と一緒にあって、スピロ環もしくは縮合環を形成し、かつ

R_7 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルである、前記方法。

[項 1 2 6]

非相同末端結合 (NHEJ) 経路を介した細胞の DNA 切断の修復を阻害または抑制する方法であって、前記細胞を、DNA 切断物質及び DNA - PK I と接触させることを含み、前記 DNA - PK I が、式 I

【化 1 2 3】



10

の化合物またはその塩であり、
式中、

x_1 は、C - R_3 または N であり、

R_1 は、 $C_1 - C_3$ アルキルであり、

R_2 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルであり、シクロアルキル及びヘテロシクリルが 1 つ以上の R_6 で任意に置換されており、

R_3 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルであり、

20

R_4 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルであり、

R_5 は、 $C_1 - C_3$ アルキルであり、

各 R_6 は、独立して、ヒドロキシ、ハロ、アルキル、アルコキシ、シクロアルキル、アミノ、及びシアノから選択されるか、または 2 つの R_6 が、それらが結合している原子（複数可）と一緒に、スピロ環もしくは縮合環を形成し、かつ

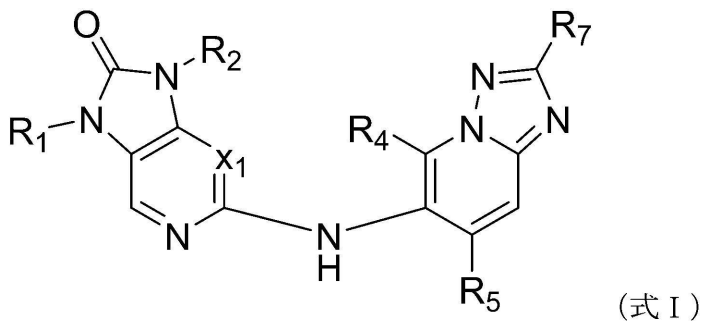
R_7 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルである、前記方法。

[項 1 2 7]

標的を定めた、細胞のゲノムへのドナー DNA の挿入方法であって、前記細胞を、DNA 切断物質、前記ドナー DNA、及び DNA - PK I と接触させることを含み、前記 DNA - PK I が、式 I

30

【化 1 2 4】



40

の化合物またはその塩であり、
式中、

x_1 は、C - R_3 または N であり、

R_1 は、 $C_1 - C_3$ アルキルであり、

R_2 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルであり、シクロアルキル及びヘテロシクリルが 1 つ以上の R_6 で任意に置換されており、

R_3 は、H または $C_1 - C_3$ アルキルであり、

50

R₄ は、H または C₁ - C₃ アルキルであり、

R₅ は、C₁ - C₃ アルキルであり、

各 R₆ は、独立して、ヒドロキシ、ハロ、アルキル、アルコキシ、シクロアルキル、アミノ、及びシアノから選択されるか、または 2 つの R₆ が、それらが結合している原子（複数可）と一緒にあって、スピロ環もしくは縮合環を形成し、かつ

R₇ は、H または C₁ - C₃ アルキルである、前記方法。

[項 1 2 8]

前記細胞を、前記 DNA - PKI を含まない細胞培地中で増殖させること、及び前記細胞培地に前記 DNA - PKI を加えることを含む、項 1 2 4 ~ 1 2 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

[項 1 2 9]

前記細胞を前記 DNA 切断物質と接触させてから、前記細胞を前記 DNA - PKI と接触させることを含む、項 1 2 4 ~ 1 2 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 3 0]

前記細胞を前記 DNA 切断物質と接触させてから約 6 時間以内に、前記細胞を前記 DNA - PKI と接触させることを含む、項 1 2 9 に記載の方法。

[項 1 3 1]

前記細胞を前記 DNA 切断物質と接触させてから約 3 時間以内に、前記細胞を前記 DNA - PKI と接触させることを含む、項 1 3 0 に記載の方法。

[項 1 3 2]

前記細胞を、前記 DNA - PKI と同時に前記 DNA 切断物質と接触させることを含む、項 1 2 4 ~ 1 2 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

[項 1 3 3]

前記細胞を前記 DNA - PKI と接触させた後に、前記細胞を前記 DNA 切断物質と接触させることを含む、項 1 2 4 ~ 1 2 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 3 4]

前記細胞を前記 DNA - PKI と接触させてから約 3 時間以内に、前記細胞を前記 DNA 切断物質と接触させることを含む、項 1 3 3 に記載の方法。

[項 1 3 5]

前記細胞を、前記 DNA - PKI を含む細胞培地中で増殖させることを含む、項 1 3 3 または 1 3 4 に記載の方法。

30

[項 1 3 6]

前記細胞を、前記 DNA 切断物質及び前記 DNA - PKI と少なくとも約 1 日接触させる、項 1 2 4 ~ 1 3 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 3 7]

前記細胞を、前記 DNA 切断物質及び前記 DNA - PKI と約 1 日 ~ 1 週間接触させる、項 1 3 6 に記載の方法。

[項 1 3 8]

前記細胞を、前記 DNA 切断物質及び前記 DNA - PKI と約 5 日間接触させる、項 1 3 7 に記載の方法。

40

[項 1 3 9]

x₁ が N である、項 1 2 4 ~ 1 3 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 0]

R₁ がメチルである、項 1 2 4 ~ 1 3 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 1]

R₄ が H である、項 1 2 4 ~ 1 4 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 2]

R₂ がシクロヘキシルである、項 1 2 4 ~ 1 4 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 3]

R₂ がテトラヒドロピラニルである、項 1 2 4 ~ 1 4 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

50

[項 1 4 4]

R₂ がテトラヒドロフラニルである、項 1 2 4 ~ 1 4 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 5]

R₂ が、独立してヒドロキシ、メトキシ、及びメチルから選択される、1 つ以上の R₆ で任意に置換されている、項 1 2 4 ~ 1 4 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 6]

R₅ がメチルである、項 1 2 4 ~ 1 4 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 7]

R₇ が、H またはメチルである、項 1 2 4 ~ 1 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 8]

前記 DNA - PK I が、項 1 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の化合物である、項 1 2 4 ~ 1 4 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

[項 1 4 9]

細胞において標的ゲノム編集を行うための方法であって、前記細胞を、DNA 切断物質及び DNA - PK I と接触させることを含み、前記 DNA - PK I が、

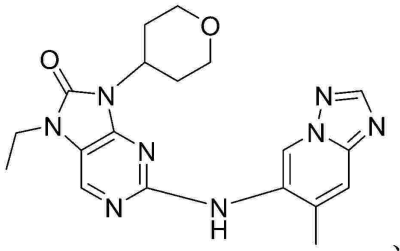
20

30

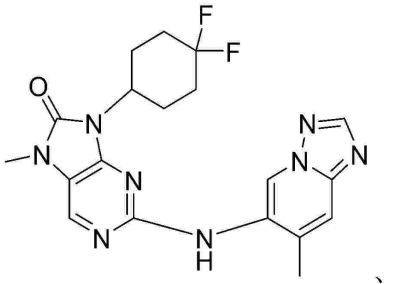
40

50

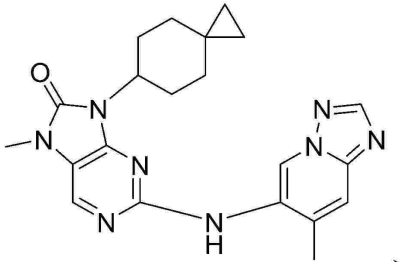
【化 1 2 5 - 1】



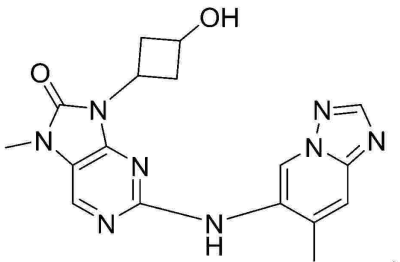
10



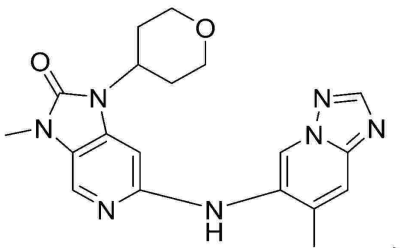
20



30

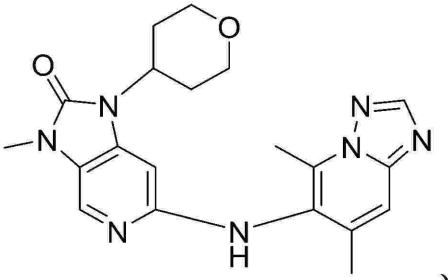


40

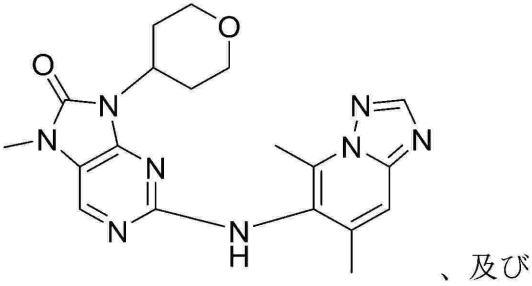


50

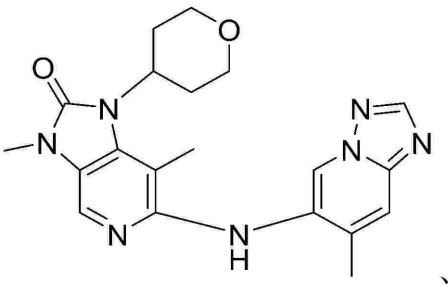
【化 1 2 5 - 2】



10



20



またはそれらの塩から選択される、前記方法。

30

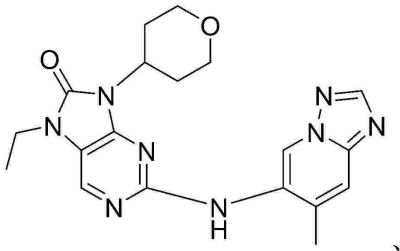
[項 1 5 0]

細胞のゲノムにおける二本鎖DNA切断を修復する方法であって、前記細胞を、DNA切断物質及びDNA-PKIと接触させることを含み、前記DNA-PKIが、

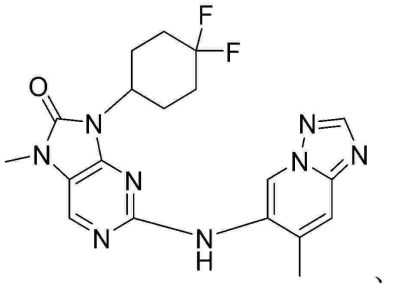
40

50

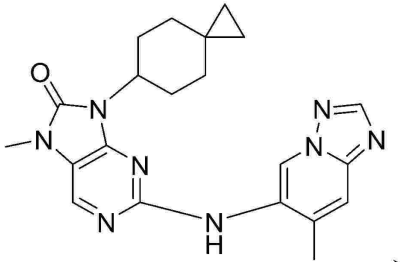
【化 1 2 6 - 1】



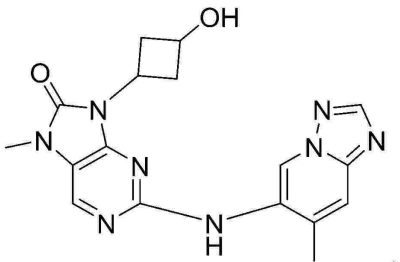
10



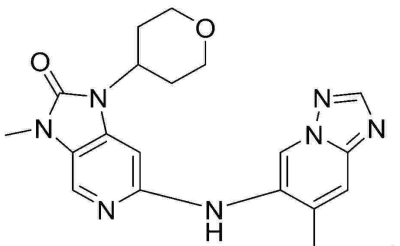
20



30

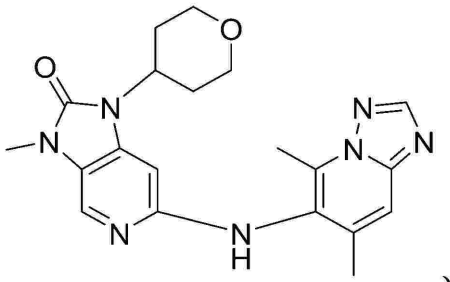


40

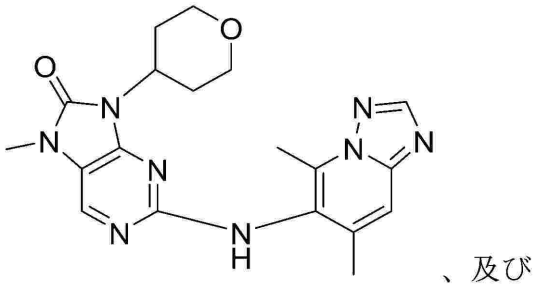


50

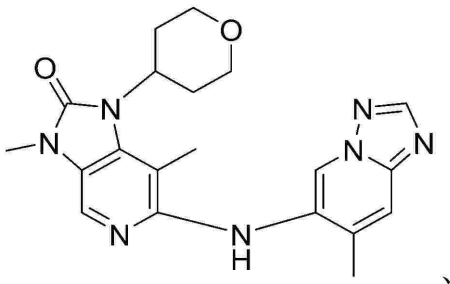
【化 1 2 6 - 2】



10



20



またはそれらの塩から選択される、前記方法。

30

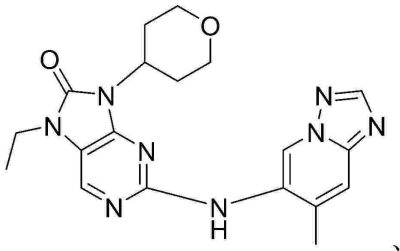
[項 1 5 1]

非相同末端結合 (N H E J) 経路を介した細胞の D N A 切断の修復を阻害または抑制する方法であって、前記細胞を、 D N A 切断物質及び D N A - P K I と接触させることを含み、前記 D N A - P K I が、

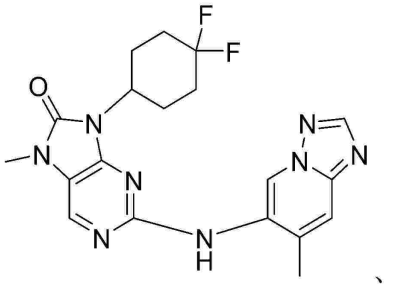
40

50

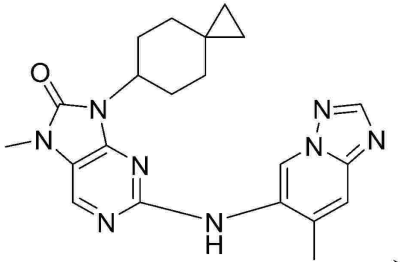
【化 1 2 7 - 1】



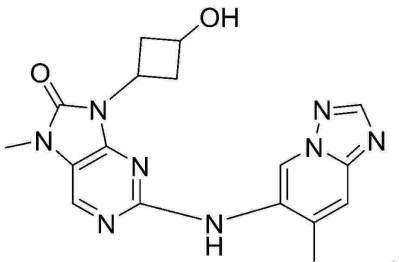
10



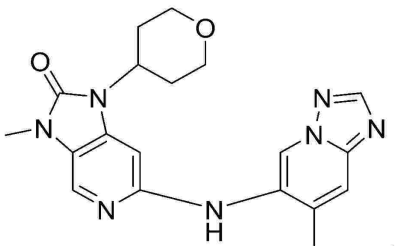
20



30

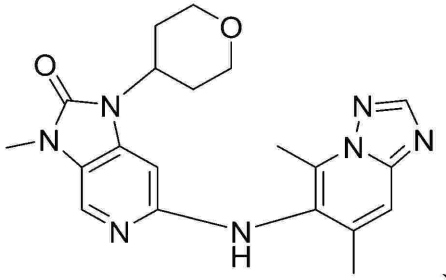


40

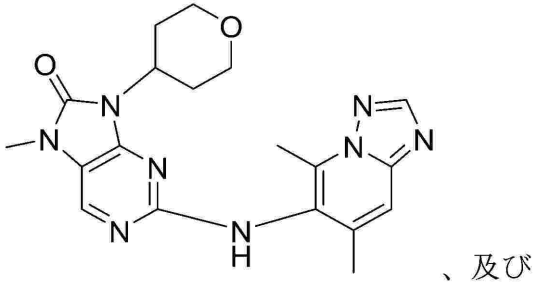


50

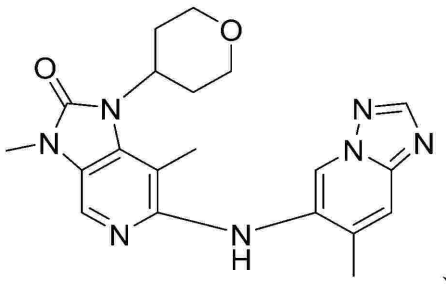
【化 1 2 7 - 2】



10



20



またはその塩から選択される、前記方法。

30

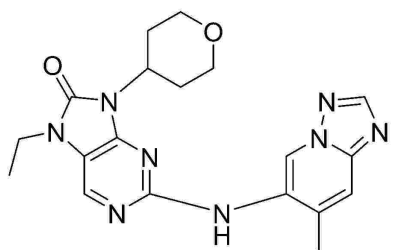
[項 1 5 2]

標的を定めた、細胞のゲノムへのドナーDNAの挿入方法であって、前記細胞を、DNA切断物質、前記ドナーDNA、及びDNA-PKIと接触させることを含み、前記DNA-PKIが、

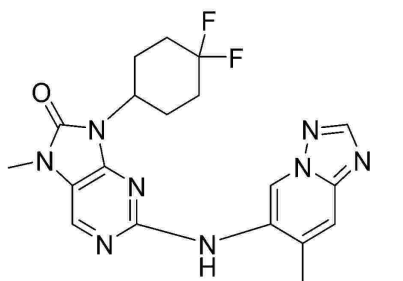
40

50

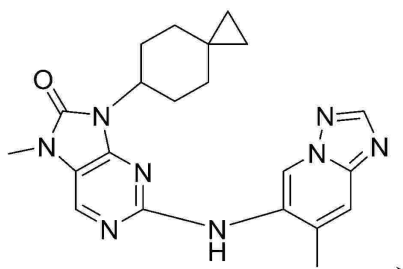
【化 1 2 8 - 1】



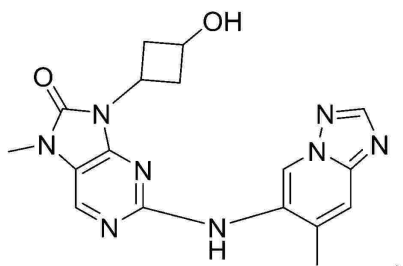
10



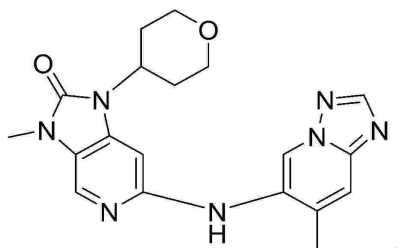
20



30

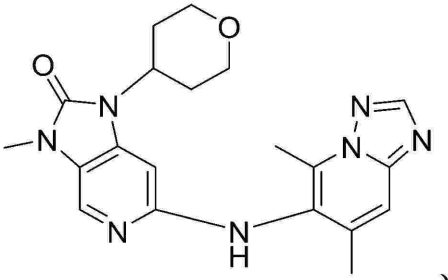


40

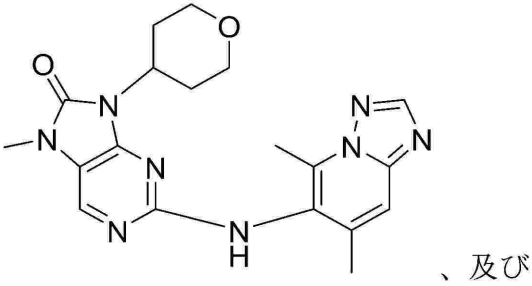


50

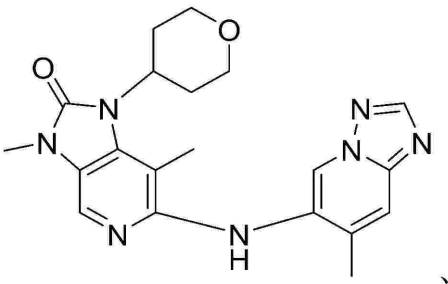
【化 1 2 8 - 2】



10



20



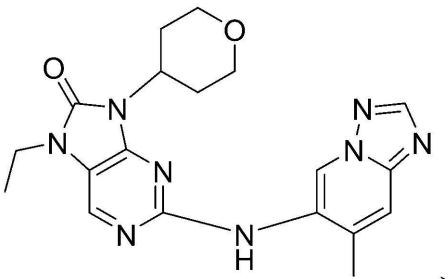
またはそれらの塩から選択される、前記方法。

30

[項 1 5 3]

前記 DNA - PK I が、

【化 1 2 9】



40

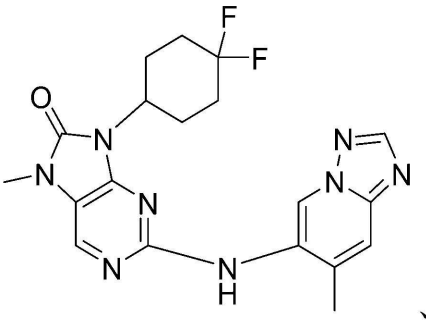
またはその塩である、項 1 4 9 ~ 1 5 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 5 4]

前記 DNA - PK I が、

50

【化 1 3 0】



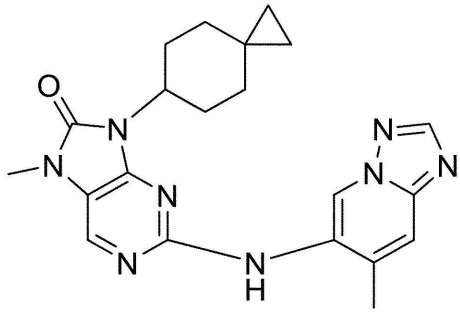
10

またはその塩である、項 1 4 9 ~ 1 5 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 5 5]

前記 DNA - PK I が、

【化 1 3 1】



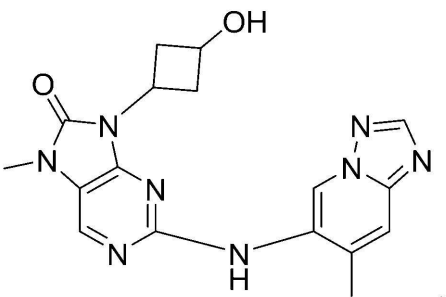
20

またはその塩である、項 1 4 9 ~ 1 5 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 5 6]

前記 DNA - PK I が、

【化 1 3 2】



40

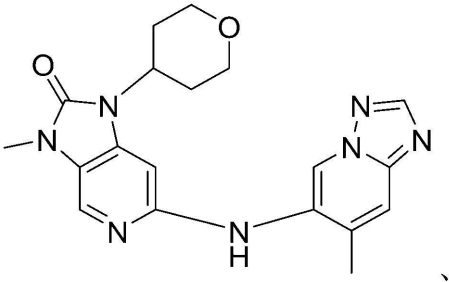
またはその塩である、項 1 4 9 ~ 1 5 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 5 7]

前記 DNA - PK I が、

50

【化 1 3 3】



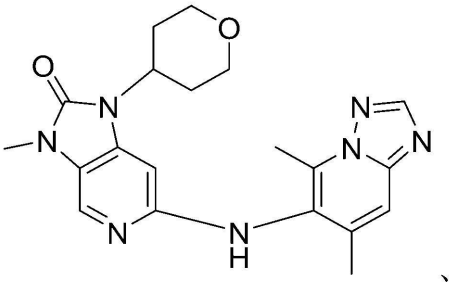
10

またはその塩である、項 1 4 9 ~ 1 5 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 5 8]

前記 DNA - PK I が、

【化 1 3 4】



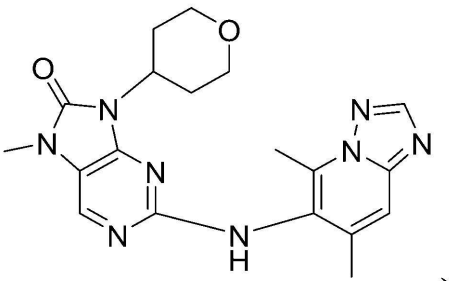
20

またはその塩である、項 1 4 9 ~ 1 5 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 5 9]

前記 DNA - PK I が、

【化 1 3 5】



40

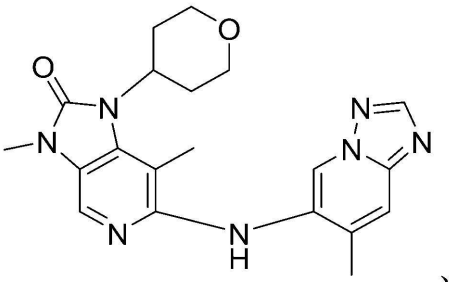
またはその塩である、項 1 4 9 ~ 1 5 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 6 0]

前記 DNA - PK I が、

50

【化 1 3 6】



10

またはその塩である、項 1 4 9 ~ 1 5 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 6 1]

前記細胞を細胞培地中で前記 DNA-P K I と接触させ、前記細胞培地中の前記 DNA-P K I の濃度が約 1 μ M 以下である、項 1 2 4 ~ 1 6 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 6 2]

前記細胞培地中の前記 DNA-P K I の濃度が約 0 . 2 5 μ M 以下である、項 1 6 1 に記載の方法。

[項 1 6 3]

前記細胞を細胞培地中で前記 DNA-P K I と接触させ、前記細胞培地中の前記 DNA-P K I の濃度が約 0 . 1 ~ 1 μ M である、項 1 2 4 ~ 1 6 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

[項 1 6 4]

前記細胞培地中の前記 DNA-P K I の濃度が約 0 . 1 ~ 0 . 5 μ M である、項 1 6 3 に記載の方法。

[項 1 6 5]

前記細胞が真核細胞である、項 1 2 4 ~ 1 6 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 6 6]

前記細胞が肝細胞である、項 1 6 5 に記載の方法。

30

[項 1 6 7]

前記細胞が養子細胞療法 (A C T) において有用である、項 1 2 4 ~ 1 6 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 6 8]

前記細胞が自家細胞療法において有用である、項 1 6 7 に記載の方法。

[項 1 6 9]

前記細胞が幹細胞である、項 1 2 4 ~ 1 6 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 7 0]

前記幹細胞が造血幹細胞 (H S C) である、項 1 6 9 に記載の方法。

[項 1 7 1]

前記細胞が人工多能性幹細胞 (i P S C) である、項 1 6 9 に記載の方法。

40

[項 1 7 2]

前記細胞が免疫細胞である、項 1 6 8 に記載の方法。

[項 1 7 3]

前記免疫細胞が白血球またはリンパ球である、項 1 7 2 に記載の方法。

[項 1 7 4]

前記免疫細胞がリンパ球である、項 1 7 3 に記載の方法。

[項 1 7 5]

前記リンパ球が、T 細胞、B 細胞、または NK 細胞である、項 1 7 4 に記載の方法。

[項 1 7 6]

50

- 前記リンパ球がT細胞である、項175に記載の方法。
- [項 1 7 7]
T細胞が初代T細胞である、項176に記載の方法。
- [項 1 7 8]
T細胞が制御性T細胞である、項176に記載の方法。
- [項 1 7 9]
前記リンパ球が活性化T細胞である、項174～178のいずれか1項に記載の方法。
- [項 1 8 0]
前記リンパ球が非活性化T細胞である、項174～178のいずれか1項に記載の方法。
- [項 1 8 1]
前記細胞がヒト細胞である、項124～180のいずれか1項に記載の方法。
- [項 1 8 2]
前記DNA切断物質が、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、TALEエフェクタードメインヌクレアーゼ(TALEN)、CRISPR/Casヌクレアーゼ成分、及びそれらの組み合わせから選択される、項124～181のいずれか1項に記載の方法。
- [項 1 8 3]
前記DNA切断物質がCRISPR/Casヌクレアーゼ成分である、項182に記載の方法。
- [項 1 8 4]
前記CRISPR/Casヌクレアーゼ成分が、Casヌクレアーゼまたは前記CasヌクレアーゼをコードするmRNAを含む、項183に記載の方法。
- [項 1 8 5]
前記CRISPR/Casヌクレアーゼ成分が、前記CasヌクレアーゼをコードするmRNAを含む、項184に記載の方法。
- [項 1 8 6]
前記Casヌクレアーゼがクラス2Casヌクレアーゼである、項184または185に記載の方法。
- [項 1 8 7]
前記CasヌクレアーゼがCas9ヌクレアーゼである、項186に記載の方法。
- [項 1 8 8]
前記Casヌクレアーゼが、S. pyogenes Cas9ヌクレアーゼである、項187に記載の方法。
- [項 1 8 9]
前記Casヌクレアーゼが、N. meningitidis Cas9ヌクレアーゼである、項187に記載の方法。
- [項 1 9 0]
前記CasヌクレアーゼがNm2Cas9である、項187に記載の方法。
- [項 1 9 1]
前記CasヌクレアーゼがCas12aヌクレアーゼである、項186に記載の方法。
- [項 1 9 2]
前記細胞を修飾RNAと接触させることをさらに含む、項124～191のいずれか1項に記載の方法。
- [項 1 9 3]
前記細胞をガイドRNA核酸と接触させることをさらに含む、項124～192のいずれか1項に記載の方法。
- [項 1 9 4]
前記ガイドRNA核酸がgRNAである、項193に記載の方法。
- [項 1 9 5]
前記ガイドRNA核酸が、二重ガイドRNA(dgRNA)であるかまたはそれをコー

10

20

30

40

50

ドする、項 193 または 194 に記載の方法。

[項 196]

前記ガイド RNA 核酸が、単一ガイド (sgRNA) であるかまたはそれをコードする、項 193 または 194 に記載の方法。

[項 197]

前記 gRNA が修飾 gRNA である、項 194 ~ 196 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 198]

前記修飾 gRNA が、5' 末端の最初の 5 ヌクレオチドのうちの 1 つ以上において修飾を含む、項 197 に記載の方法。

[項 199]

前記修飾 gRNA が、3' 末端の最後の 5 ヌクレオチドのうちの 1 つ以上において修飾を含む、項 197 または 198 に記載の方法。

[項 200]

前記 DNA 切断物質がクラス 2 Cas ヌクレアーゼ mRNA であり、前記 mRNA と前記ガイド RNA 核酸との重量比が約 2 : 1 ~ 1 : 4 である、項 193 ~ 199 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 201]

前記細胞をドナー DNA と接触させることをさらに含む、項 124 ~ 200 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 202]

前記細胞を、前記ドナー DNA を含むベクターと接触させることを含む、項 201 に記載の方法。

[項 203]

前記ドナー DNA が、タンパク質をコードする配列、制御配列、構造 RNA をコードする配列、を含む鋳型を含む、項 201 または 202 に記載の方法。

[項 204]

前記鋳型配列が、相同組換え修復 (HDR) を介して前記細胞の前記ゲノムに組み込まれる、項 203 に記載の方法。

[項 205]

前記細胞を、前記 DNA 切断物質を含む脂質核酸集合体組成物と接触させることを含む、項 124 ~ 205 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 206]

前記脂質核酸集合体組成物が、脂質ナノ粒子 (LNP) 組成物である、項 205 に記載の方法。

[項 207]

前記 LNP が、直径が約 10 ~ 200 nm、約 20 ~ 150 nm、約 50 ~ 150 nm、約 50 ~ 100 nm、約 50 ~ 120 nm、約 60 ~ 100 nm、約 75 ~ 150 nm、約 75 ~ 120 nm、または約 75 ~ 100 nm である、項 206 に記載の方法。

[項 208]

前記細胞を、平均直径が約 10 ~ 200 nm、約 20 ~ 150 nm、約 50 ~ 150 nm、約 50 ~ 100 nm、約 50 ~ 120 nm、約 60 ~ 100 nm、約 75 ~ 150 nm、約 75 ~ 120 nm、または約 75 ~ 100 nm である前記 LNP の集団と接触させることを含む、項 206 または 207 に記載の方法。

[項 209]

前記平均直径が Z 平均直径である、項 207 または 208 に記載の方法。

[項 210]

前記脂質核酸集合体組成物がイオン化可能脂質を含む、項 205 ~ 209 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 211]

前記イオン化可能脂質が、pKa が約 5.1 ~ 7.4、例えば、約 5.5 ~ 6.6、約

10

20

30

40

50

5.6 ~ 6.4、約5.8 ~ 6.2、または約5.8 ~ 6.5である、項210に記載の方法。

[項212]

前記脂質核酸集合体組成物がヘルパー脂質を含む、項205 ~ 211のいずれか1項に記載の方法。

[項213]

前記脂質核酸集合体組成物が中性脂質を含む、項205 ~ 212のいずれか1項に記載の方法。

[項214]

前記脂質核酸集合体組成物がPEG脂質を含む、項205 ~ 213のいずれか1項に記載の方法。 10

[項215]

前記脂質核酸集合体組成物のN/P比が約3 ~ 10である、項205 ~ 214のいずれか1項に記載の方法。

[項216]

前記脂質核酸集合体組成物のN/P比が約5 ~ 7である、項215に記載の方法。

[項217]

前記脂質核酸集合体組成物のN/P比が約6である、項216に記載の方法。

[項218]

前記細胞をベクターと接触させることをさらに含む、項124 ~ 217のいずれか1項に記載の方法。 20

[項219]

前記ベクターが前記DNA切断物質をコードする、項218に記載の方法。

[項220]

前記ベクターがドナーDNAをコードする、項218または219に記載の方法。

[項221]

前記ベクターがウイルスベクターである、項218 ~ 220のいずれか1項に記載の方法。

[項222]

前記ベクターが非ウイルスベクターである、項218 ~ 220のいずれか1項に記載の方法。 30

[項223]

前記ベクターがレンチウイルスベクターである、項221に記載の方法。

[項224]

前記ベクターがレトロウイルスベクターである、項221に記載の方法。

[項225]

前記ベクターがAAVである、項221に記載の方法。

[項226]

前記DNA切断物質が、前記細胞の前記ゲノム内の標的配列と相互作用して二本鎖DNA切断(DSB)を生じさせる、項124 ~ 225のいずれか1項に記載の方法。 40

[項227]

遺伝子ノックアウトをもたらす、項124 ~ 226のいずれか1項に記載の方法。

[項228]

遺伝子修正をもたらす、項124 ~ 227のいずれか1項に記載の方法。

[項229]

遺伝子挿入をもたらす、項124 ~ 227のいずれか1項に記載の方法。

[項230]

前記ドナーDNAが、タンパク質をコードする外因性核酸を含む鋳型を含む、項203 ~ 229のいずれか1項に記載の方法。

[項231]

前記タンパク質が、サイトカイン、免疫抑制物質、抗体、受容体、及び酵素から選択される、項 2 3 0 に記載の方法。

[項 2 3 2]

前記タンパク質が受容体である、項 2 3 1 に記載の方法。

[項 2 3 3]

前記受容体が、免疫受容体、T細胞受容体(TCR)、及びキメラ抗原受容体から選択される、項 2 3 1 または 2 3 2 に記載の方法。

[項 2 3 4]

前記受容体が免疫受容体である、項 2 3 3 に記載の方法。 2 3 5。

前記受容体が TCR である、項 2 3 3 に記載の方法。

[項 2 3 5]

前記外因性核酸が、TCRのTCR鎖及び/またはTCR鎖をコードする、項 2 3 0 に記載の方法。

[項 2 3 6]

前記受容体がキメラ抗原受容体である、項 2 3 3 に記載の方法。

[項 2 3 7]

前記DNA切断物質が、前記細胞の前記ゲノム内の標的配列と相互作用して二本鎖DNA切断(DSB)を生じさせる、項 2 3 0 ~ 2 3 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 2 3 8]

前記DNA切断物質が、前記T細胞の前記TRAC遺伝子内の標的配列と相互作用する、項 2 3 0 ~ 2 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 2 3 9]

前記鑄型が、前記T細胞の前記TRAC遺伝子に組み込まれる、項 2 3 0 ~ 2 3 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 2 4 0]

前記鑄型が、切断部位の上流及び下流に位置する配列にそれぞれ相補的な第1のホモロジーム及び第2のホモロジームを含む、項 2 3 0 ~ 2 3 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

20

30

40

50