

【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 1 部門第 1 区分

【発行日】令和 2 年 7 月 2 日 (2020.7.2)

【公表番号】特表 2019-521659 (P2019-521659A)

【公表日】令和 1 年 8 月 8 日 (2019.8.8)

【年通号数】公開・登録公報 2019-032

【出願番号】特願 2018-561967 (P2018-561967)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/11 (2006.01)

C 0 7 K 7/08 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

C 1 2 N 9/10 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 3/10 (2006.01)

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 P 27/02 (2006.01)

A 6 1 P 1/16 (2006.01)

A 6 1 P 11/00 (2006.01)

A 6 1 P 13/12 (2006.01)

A 6 1 P 3/06 (2006.01)

A 6 1 K 9/51 (2006.01)

A 6 1 K 9/16 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/03 (2006.01)

B 8 2 Y 5/00 (2011.01)

B 8 2 Y 40/00 (2011.01)

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 5/0787 (2010.01)

C 1 2 N 5/0786 (2010.01)

C 1 2 N 5/0784 (2010.01)

C 1 2 N 5/0781 (2010.01)

C 1 2 N 5/0783 (2010.01)

C 1 2 N 5/0793 (2010.01)

C 1 2 N 5/074 (2010.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/11 Z

C 0 7 K 7/08 Z N A

C 1 2 N 9/16 Z

C 1 2 N 9/10

C 1 2 N 15/09 1 1 0

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 3/10

A 6 1 P 29/00

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 P	27/02
A 6 1 P	1/16
A 6 1 P	11/00
A 6 1 P	13/12
A 6 1 P	3/06
A 6 1 K	9/51
A 6 1 K	9/16
A 6 1 K	48/00
A 6 1 K	38/03
B 8 2 Y	5/00
B 8 2 Y	40/00
C 1 2 N	15/13
C 1 2 N	5/0787
C 1 2 N	5/0786
C 1 2 N	5/0784
C 1 2 N	5/0781
C 1 2 N	5/0783
C 1 2 N	5/0793
C 1 2 N	5/074

【手続補正書】**【提出日】** 令和2年5月25日 (2020.5.25)**【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】**

標的ポリヌクレオチドを修飾するためのゲノム編集複合体であって、細胞膜透過ペプチドと、ゲノム編集システムの1つまたは複数の分子とを含み、前記細胞膜透過ペプチドが、VEPEP-3ペプチド、VEPEP-6ペプチド、VEPEP-9ペプチドおよびADGN-100ペプチドからなる群から選択され、前記1つまたは複数のゲノム編集システム分子が、

a) RNA誘導型エンドヌクレアーゼ(RGEN)、および前記標的ポリヌクレオチド内の標的配列に相補的なガイド配列を含むガイドRNA(gRNA)の一方または両方；

b) DNA誘導型エンドヌクレアーゼ(DGEN)、および前記標的ポリヌクレオチド内の標的配列に相補的なガイド配列を含むガイドDNA(gDNA)の一方または両方；

c) 前記標的ポリヌクレオチド内の標的配列を認識するジンクフィンガータンパク質(ZFP)；

d) 前記標的ポリヌクレオチド内の標的配列を認識する転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ(TALEN)；

e) 前記標的ポリヌクレオチド内の標的配列を認識するホーミングエンドヌクレアーゼ；および

f) 前記標的ポリヌクレオチド内の組換え部位を認識するインテグラーゼ

からなる群から選択される、ゲノム編集複合体。

【請求項 2】

前記細胞膜透過ペプチドが、VEPEP-3ペプチドである、請求項1に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 3】

前記細胞膜透過ペプチドが、V E P E P - 6 ペプチドである、請求項 1 に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 4】

前記細胞膜透過ペプチドが、V E P E P - 9 ペプチドである、請求項 1 に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 5】

前記細胞膜透過ペプチドが、A D G N - 1 0 0 ペプチドである、請求項 1 に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 6】

前記細胞膜透過ペプチドが、その N 末端に共有結合によって連結しているアセチル基を含む、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 7】

前記細胞膜透過ペプチドが、その C 末端に共有結合によって連結しているシステアミド基を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 8】

前記ゲノム編集複合体中の前記細胞膜透過ペプチドの少なくとも一部が、連結によりターゲティング部分に連結している、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 9】

R G E N および g R N A の一方または両方を含む、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 10】

R G E N および g R N A を含む、請求項 9 に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 11】

前記 g R N A が、単一ガイド R N A (s g R N A) である、請求項 9 または 10 に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 12】

前記 R G E N が、C a s 9 である、請求項 9 から 11 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 13】

R G E N と g R N A のモル比が、約 1 : 10 ~ 約 10 : 1 の間である、請求項 9 から 12 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 14】

前記細胞膜透過ペプチドと前記 R G E N のモル比が、約 1 : 1 ~ 約 80 : 1 の間である、請求項 9 から 13 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 15】

異なるガイド配列を含む 1 つまたは複数の追加の g R N A をさらに含む、請求項 9 から 14 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 16】

D G E N および g D N A の一方または両方を含む、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 17】

D G E N および g D N A を含む、請求項 16 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 18】

Z F P を含む、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 19】

T A L E N を含む、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 20】

前記標的ポリヌクレオチドに修飾を導入するためのドナー核酸であって、前記標的ポリ

ヌクレオチドの前記修飾を含むように修飾される部分に対応する配列を含むドナー核酸をさらに含む、請求項 9 から 19 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 21】

インテグラーゼを含む、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 22】

前記ゲノム編集複合体の平均直径が、約 10 nm ~ 約 300 nm の間である、請求項 1 から 21 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

【請求項 23】

請求項 1 から 22 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体を含むコアを含むナノ粒子。

【請求項 24】

請求項 1 から 22 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体または請求項 23 に記載のナノ粒子と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物。

【請求項 25】

請求項 1 から 22 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体を調製する方法であって、前記細胞膜透過ペプチドを前記 1 つまたは複数のゲノム編集システム分子と組み合わせるステップを含み、それによって前記ゲノム編集複合体を形成する方法。

【請求項 26】

ゲノム編集システムの 1 つまたは複数の分子を細胞に送達するための、請求項 1 から 22 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体または請求項 23 に記載のナノ粒子であって、前記ゲノム編集複合体または前記ナノ粒子が、前記細胞と接触されることを特徴とし、前記ゲノム編集複合体または前記ナノ粒子が、前記 1 つまたは複数のゲノム編集システム分子を含む、ゲノム編集複合体またはナノ粒子。

【請求項 27】

前記細胞と前記ゲノム編集複合体またはナノ粒子との接触が、*in vivo*で行われる、請求項 26 に記載のゲノム編集複合体またはナノ粒子。

【請求項 28】

前記細胞と前記ゲノム編集複合体またはナノ粒子との接触が、*ex vivo*で行われる、請求項 26 に記載のゲノム編集複合体またはナノ粒子。

【請求項 29】

前記細胞と前記ゲノム編集複合体またはナノ粒子との接触が、*in vitro*で行われる、請求項 26 に記載のゲノム編集複合体またはナノ粒子。

【請求項 30】

前記細胞が、顆粒球、マスト細胞、単球、樹状細胞、B 細胞、T 細胞、ナチュラルキラー細胞、線維芽細胞、肝細胞、肺前駆細胞、または神経細胞である、請求項 26 から 29 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体またはナノ粒子。

【請求項 31】

前記ゲノム編集システムが、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM-3、BTLA、VISTA、LAG-3、CTLA-4、TIGIT、4-1BB、OX40、CD27、TIM-1、CD28、HVEM、GITR および ICOS からなる群から選択される遺伝子内の配列を標的とする、請求項 30 に記載のゲノム編集複合体またはナノ粒子。

【請求項 32】

前記ゲノム編集複合体または前記ナノ粒子が第 4 の細胞膜透過ペプチドと外来性タンパク質をコードする核酸分子とを含む発現複合体と共に前記細胞に接触されることを特徴とする、請求項 1 から 23 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体またはナノ粒子。

【請求項 33】

前記外来性タンパク質が、細胞の表面で発現され得る組換え受容体である、請求項 32 に記載のゲノム編集複合体またはナノ粒子。

【請求項 34】

前記組換え受容体が、キメラ抗原受容体（CAR）である、請求項33に記載のゲノム編集複合体またはナノ粒子。

【請求項35】

前記第4の細胞膜透過ペプチドが、VEPEP-3ペプチド、VEPEP-6ペプチド、VEPEP-9ペプチドおよびADGN-100ペプチドからなる群から選択される、請求項32から34のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体またはナノ粒子。

【請求項36】

細胞内の標的ポリヌクレオチドを修飾するための請求項1から22のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体または請求項23に記載のナノ粒子であって、前記ゲノム編集複合体または前記ナノ粒子が、前記細胞と接触されることを特徴とし、前記ゲノム編集複合体または前記ナノ粒子が、前記標的ポリヌクレオチド内の配列を標的とするゲノム編集システムの1つまたは複数の分子を含む、ゲノム編集複合体またはナノ粒子。

【請求項37】

個体の疾患を処置するための、請求項24に記載の医薬組成物。

【請求項38】

請求項1から22のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体および/または請求項23に記載のナノ粒子を含む組成物を含むキット。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0036

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0036】

一部の実施形態では、上記の実施形態のいずれかによるゲノム編集複合体および/または上記の実施形態のいずれかによるナノ粒子を含む組成物を含むキットが提供される。

特定の実施形態では、例えば以下の項目が提供される。

（項目1）

標的ポリヌクレオチドを修飾するためのゲノム編集複合体であって、細胞膜透過ペプチドと、ゲノム編集システムの1つまたは複数の分子とを含み、前記細胞膜透過ペプチドが、VEPEP-3ペプチド、VEPEP-6ペプチド、VEPEP-9ペプチドおよびADGN-100ペプチドからなる群から選択され、前記1つまたは複数のゲノム編集システム分子が、

a) RNA誘導型エンドヌクレアーゼ（RGEN）、および前記標的ポリヌクレオチド内の標的配列に相補的なガイド配列を含むガイドRNA（gRNA）の一方または両方；

b) DNA誘導型エンドヌクレアーゼ（DGEN）、および前記標的ポリヌクレオチド内の標的配列に相補的なガイド配列を含むガイドDNA（gDNA）の一方または両方；

c) 前記標的ポリヌクレオチド内の標的配列を認識するジンクフィンガータンパク質（ZFP）；

d) 前記標的ポリヌクレオチド内の標的配列を認識する転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（TALEN）；

e) 前記標的ポリヌクレオチド内の標的配列を認識するホーミングエンドヌクレアーゼ；および

f) 前記標的ポリヌクレオチド内の組換え部位を認識するインテグララーゼからなる群から選択される、ゲノム編集複合体。

（項目2）

前記細胞膜透過ペプチドが、VEPEP-3ペプチドである、項目1に記載のゲノム編集複合体。

（項目3）

前記細胞膜透過ペプチドが、配列番号1～14からなる群から選択されるアミノ酸配列

を含む、項目 2 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 4)

前記細胞膜透過ペプチドが、配列番号 75 または 76 のアミノ酸配列を含む、項目 2 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 5)

前記細胞膜透過ペプチドが、VEPEP-6 ペプチドである、項目 1 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 6)

前記細胞膜透過ペプチドが、配列番号 15 ~ 40 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目 5 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 7)

前記細胞膜透過ペプチドが、配列番号 77 のアミノ酸配列を含む、項目 5 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 8)

前記細胞膜透過ペプチドが、VEPEP-9 ペプチドである、項目 1 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 9)

前記細胞膜透過ペプチドが、配列番号 41 ~ 52 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目 8 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 10)

前記細胞膜透過ペプチドが、配列番号 78 のアミノ酸配列を含む、項目 8 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 11)

前記細胞膜透過ペプチドが、ADGN-100 ペプチドである、項目 1 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 12)

前記細胞膜透過ペプチドが、配列番号 53 ~ 70 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目 11 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 13)

前記細胞膜透過ペプチドが、配列番号 79 または 80 のアミノ酸配列を含む、項目 11 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 14)

前記細胞膜透過ペプチドが、前記細胞膜透過ペプチドの N 末端に共有結合によって連結している 1 つまたは複数の部分をさらに含み、前記 1 つまたは複数の部分が、アセチル、脂肪酸、コレステロール、ポリエチレングリコール、核内移行シグナル、核外移行シグナル、抗体、多糖類およびターゲティング分子からなる群から選択される、項目 1 から 13 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目 15)

前記細胞膜透過ペプチドが、その N 末端に共有結合によって連結しているアセチル基を含む、項目 14 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 16)

前記細胞膜透過ペプチドが、前記細胞膜透過ペプチドの C 末端に共有結合によって連結している 1 つまたは複数の部分をさらに含み、前記 1 つまたは複数の部分が、システアミド、システイン、チオール、アミド、任意選択で置換されているニトリロ三酢酸、カルボキシル、任意選択で置換されている直鎖状または分枝状 $C_1 \sim C_6$ アルキル、一級または二級アミン、オシド誘導体、脂質、リン脂質、脂肪酸、コレステロール、ポリエチレングリコール、核内移行シグナル、核外移行シグナル、抗体、多糖類およびターゲティング分子からなる群から選択される、項目 1 から 15 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目 17)

前記細胞膜透過ペプチドが、そのC末端に共有結合によって連結しているシステアミド基を含む、項目16に記載のゲノム編集複合体。

(項目18)

前記ゲノム編集複合体中の前記細胞膜透過ペプチドの少なくとも一部が、連結によりターゲティング部分に連結している、項目1から17のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目19)

前記連結が、共有結合である、項目18に記載のゲノム編集複合体。

(項目20)

RGENおよびgRNAの一方または両方を含む、項目1から19のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目21)

RGENおよびgRNAを含む、項目20に記載のゲノム編集複合体。

(項目22)

前記gRNAが、単一ガイドRNA(sgRNA)である、項目20または21に記載のゲノム編集複合体。

(項目23)

前記RGENが、Cas9である、項目20から22のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目24)

RGENとgRNAのモル比が、約1:10~約10:1の間である、項目20から23のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目25)

前記細胞膜透過ペプチドと前記RGENのモル比が、約1:1~約80:1の間である、項目20から24のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目26)

前記細胞膜透過ペプチドと前記RGENのモル比が、約5:1~約20:1の間である、項目25に記載のゲノム編集複合体。

(項目27)

異なるガイド配列を含む1つまたは複数の追加のgRNAをさらに含む、項目20から26のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目28)

前記標的配列が、標的遺伝子内に存在し、前記1つまたは複数の追加のgRNAが、前記標的遺伝子内の配列に相補的なガイド配列を個々に含む、項目27に記載のゲノム編集複合体。

(項目29)

前記標的配列が、第1の標的遺伝子内に存在し、前記1つまたは複数の追加のgRNAが、1つまたは複数の追加の標的遺伝子内に存在する配列に相補的なガイド配列を個々に含む、項目27に記載のゲノム編集複合体。

(項目30)

DGENおよびgDNAの一方または両方を含む、項目1から19のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目31)

DGENおよびgDNAを含む、項目20のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目32)

ZFPを含む、項目1から19のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目33)

TALENを含む、項目1から19のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目34)

ホーミングヌクレアーゼを含む、項目1から19のいずれか一項に記載のゲノム編集複

合体。

(項目 3 5)

前記標的ポリヌクレオチドに修飾を導入するためのドナー核酸であって、前記標的ポリヌクレオチドの前記修飾を含むように修飾される部分に対応する配列を含むドナー核酸をさらに含む、項目 2 0 から 3 4 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目 3 6)

前記修飾が、前記標的ポリヌクレオチドにおける 1 つまたは複数のヌクレオチドの付加、欠失または置換である、項目 3 5 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 3 7)

前記ドナー核酸が、一本鎖 DNA オリゴヌクレオチドである、項目 3 5 または 3 6 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 3 8)

前記修飾が、前記標的ポリヌクレオチド内への異種核酸の挿入である、項目 3 5 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 3 9)

前記ドナー核酸が、5' ホモロジーアームおよび 3' ホモロジーアームに隣接した異種核酸を含む二本鎖 DNA であり、前記 5' ホモロジーアームおよび前記 3' ホモロジーアームが、修飾される前記標的ポリヌクレオチドの領域に隣接する配列と相同である、項目 3 5 または 3 8 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 4 0)

1 つまたは複数の追加の標的ポリヌクレオチドに修飾を導入するための 1 つまたは複数の追加のドナー核酸をさらに含む、項目 3 5 から 3 9 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目 4 1)

インテグラーゼを含む、項目 1 から 1 9 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目 4 2)

前記標的ポリヌクレオチドへの挿入のためのドナー核酸をさらに含み、前記インテグラーゼが、前記ドナー核酸内の組換え部位を認識し、前記ドナー核酸を前記標的ポリヌクレオチドに挿入するための前記標的ポリヌクレオチド内の組換え部位と前記ドナー核酸内の組換え部位との組換えを媒介することができる、項目 4 1 に記載のゲノム編集複合体。

(項目 4 3)

前記ゲノム編集複合体の平均直径が、約 1 0 n m ~ 約 3 0 0 n m の間である、項目 1 から 4 2 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体。

(項目 4 4)

項目 1 から 4 3 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体を含むコアを含むナノ粒子。

(項目 4 5)

前記コアが、1 つまたは複数の追加の、項目 1 から 4 3 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体をさらに含む、項目 4 4 に記載のナノ粒子。

(項目 4 6)

前記コアが、前記標的ポリヌクレオチドに修飾を導入するためのドナー核酸であって、前記標的ポリヌクレオチドの前記修飾を含むように修飾される部分に対応する配列を含むドナー核酸をさらに含み、前記ドナー核酸が、第 2 の細胞膜透過ペプチドと複合体を形成している、項目 4 4 または 4 5 に記載のナノ粒子。

(項目 4 7)

前記第 2 の細胞膜透過ペプチドが、V E P E P - 3 ペプチド、V E P E P - 6 ペプチド、V E P E P - 9 ペプチドおよび A D G N - 1 0 0 ペプチドからなる群から選択される、項目 4 6 に記載のナノ粒子。

(項目 4 8)

前記第 2 の細胞膜透過ペプチドが、配列番号 1 ~ 7 0 および 7 5 ~ 8 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目 4 7 に記載のナノ粒子。

(項目 4 9)

前記修飾が、前記標的ポリヌクレオチドにおける1つまたは複数のヌクレオチドの付加、欠失または置換である、項目46から48のいずれか一項に記載のナノ粒子。

(項目 5 0)

前記ドナー核酸が、一本鎖DNAオリゴヌクレオチドである、項目49に記載のナノ粒子。

(項目 5 1)

前記修飾が、前記標的ポリヌクレオチド内への異種核酸の挿入である、項目46から48のいずれか一項に記載のナノ粒子。

(項目 5 2)

前記ドナー核酸が、5'ホモロジーアームおよび3'ホモロジーアームに隣接した異種核酸を含む二本鎖DNAであり、前記5'ホモロジーアームおよび前記3'ホモロジーアームが、修飾される前記標的ポリヌクレオチドの領域に隣接する配列と相同である、項目51に記載のナノ粒子。

(項目 5 3)

前記コアが、1つまたは複数の追加の標的ポリヌクレオチドに修飾を導入するための1つまたは複数の追加のドナー核酸をさらに含む、項目46から52のいずれか一項に記載のナノ粒子。

(項目 5 4)

前記ナノ粒子中の前記細胞膜透過ペプチドの少なくとも一部が、連結によりターゲティング部分に連結している、項目44から53のいずれか一項に記載のナノ粒子。

(項目 5 5)

前記コアが、末梢細胞膜透過ペプチドを含むシェルにより被覆されている、項目44から53のいずれか一項に記載のナノ粒子。

(項目 5 6)

前記末梢細胞膜透過ペプチドが、VEPEP-3ペプチド、VEPEP-6ペプチド、VEPEP-9ペプチドおよびADGN-100ペプチドからなる群から選択される、項目55に記載のナノ粒子。

(項目 5 7)

前記末梢細胞膜透過ペプチドが、配列番号1～70および75～80からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目56に記載のナノ粒子。

(項目 5 8)

前記シェル内の前記末梢細胞膜透過ペプチドの少なくとも一部が、連結によりターゲティング部分に連結している、項目55から57のいずれか一項に記載のナノ粒子。

(項目 5 9)

前記連結が、共有結合である、項目54または58に記載のナノ粒子。

(項目 6 0)

前記ナノ粒子の平均直径が、約10nm～約400nmの間である、項目44から59のいずれか一項に記載のナノ粒子。

(項目 6 1)

項目1から43のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体または項目44から60のいずれか一項に記載のナノ粒子と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物。

(項目 6 2)

第3の細胞膜透過ペプチドと、外来性タンパク質をコードする核酸分子とを含む発現複合体をさらに含む、項目61に記載の医薬組成物。

(項目 6 3)

前記外来性タンパク質が、細胞の表面で発現され得る組換え受容体である、項目62に記載の医薬組成物。

(項目 6 4)

前記組換え受容体が、キメラ抗原受容体(CAR)である、項目63に記載の医薬組成

物。

(項目 6 5)

前記第 3 の細胞膜透過ペプチドが、V E P E P - 3 ペプチド、V E P E P - 6 ペプチド、V E P E P - 9 ペプチドおよび A D G N - 1 0 0 ペプチドからなる群から選択される、項目 6 2 から 6 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

(項目 6 6)

前記第 3 の細胞膜透過ペプチドが、配列番号 1 ~ 7 0 および 7 5 ~ 8 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目 6 5 に記載の医薬組成物。

(項目 6 7)

項目 1 から 1 9 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体を調製する方法であって、前記細胞膜透過ペプチドを前記 1 つまたは複数のゲノム編集システム分子と組み合わせるステップを含み、それによって前記ゲノム編集複合体を形成する方法。

(項目 6 8)

前記 1 つまたは複数のゲノム編集システム分子が、R G E N および g R N A を含み、前記細胞膜透過ペプチドと前記 R G E N が、それぞれ約 1 : 1 ~ 約 8 0 : 1 の比で組み合わせられ、前記 R G E N と前記 g R N A が、それぞれ約 1 0 : 1 ~ 約 1 : 1 0 の比で組み合わせられる、項目 6 7 に記載の方法。

(項目 6 9)

前記細胞膜透過ペプチドと前記 R G E N が、それぞれ約 5 : 1 ~ 約 2 0 : 1 の比で組み合わせられる、項目 6 8 に記載の方法。

(項目 7 0)

前記 R G E N と前記 g R N A が、約 1 : 1 の比で組み合わせられる、項目 6 8 または 6 9 に記載の方法。

(項目 7 1)

ゲノム編集システムの 1 つまたは複数の分子を細胞に送達する方法であって、前記細胞を項目 1 から 4 3 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体または項目 4 4 から 6 0 のいずれか一項に記載のナノ粒子と接触させるステップを含み、前記ゲノム編集複合体または前記ナノ粒子が、前記 1 つまたは複数のゲノム編集システム分子を含む、方法。

(項目 7 2)

前記細胞を前記ゲノム編集複合体またはナノ粒子と接触させる前記ステップが、i n v i v o で行われる、項目 7 1 に記載の方法。

(項目 7 3)

前記細胞を前記ゲノム編集複合体またはナノ粒子と接触させる前記ステップが、e x v i v o で行われる、項目 7 1 に記載の方法。

(項目 7 4)

前記細胞を前記ゲノム編集複合体またはナノ粒子と接触させる前記ステップが、i n v i t r o で行われる、項目 7 1 に記載の方法。

(項目 7 5)

前記細胞が、顆粒球、マスト細胞、単球、樹状細胞、B 細胞、T 細胞、ナチュラルキラー細胞、線維芽細胞、肝細胞、肺前駆細胞、または神経細胞である、項目 7 1 から 7 4 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7 6)

前記細胞が T 細胞である、項目 7 5 に記載の方法。

(項目 7 7)

前記ゲノム編集システムが、P D - 1、P D - L 1、P D - L 2、T I M - 3、B T L A、V I S T A、L A G - 3、C T L A - 4、T I G I T、4 - 1 B B、O X 4 0、C D 2 7、T I M - 1、C D 2 8、H V E M、G I T R および I C O S からなる群から選択される遺伝子内の配列を標的とする、項目 7 5 または 7 6 に記載の方法。

(項目 7 8)

前記細胞を、第 4 の細胞膜透過ペプチドと外来性タンパク質をコードする核酸分子とを

含む発現複合体と接触させるステップをさらに含む、項目 7 1 から 7 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7 9)

前記外来性タンパク質が、細胞の表面で発現され得る組換え受容体である、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 0)

前記組換え受容体が、キメラ抗原受容体 (CAR) である、項目 7 9 に記載の方法。

(項目 8 1)

前記第 4 の細胞膜透過ペプチドが、VEPEP - 3 ペプチド、VEPEP - 6 ペプチド、VEPEP - 9 ペプチドおよび ADGN - 100 ペプチドからなる群から選択される、項目 7 8 から 8 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 2)

前記第 4 の細胞膜透過ペプチドが、配列番号 1 ~ 7 0 および 7 5 ~ 8 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項目 8 1 に記載の方法。

(項目 8 3)

細胞内の標的ポリヌクレオチドを修飾する方法であって、前記細胞を、項目 1 から 4 3 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体または項目 4 4 から 6 0 のいずれか一項に記載のナノ粒子と接触させるステップを含み、前記ゲノム編集複合体または前記ナノ粒子が、前記標的ポリヌクレオチド内の配列を標的とするゲノム編集システムの 1 つまたは複数の分子を含む、方法。

(項目 8 4)

個体の疾患を処置する方法であって、前記個体に項目 6 1 から 6 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物の有効量を投与するステップを含む方法。

(項目 8 5)

前記疾患が、がん、糖尿病、炎症性疾患、線維症、ウイルス感染性疾患、遺伝性疾患、眼疾患、肝臓疾患、肺疾患、腎臓疾患、加齢および変性疾患、ならびにコレステロールレベル異常を特徴とする疾患からなる群から選択される、項目 8 4 に記載の方法。

(項目 8 6)

前記疾患が、がんである、項目 8 5 に記載の方法。

(項目 8 7)

前記がんが、固形腫瘍であり、前記医薬組成物が、増殖因子およびサイトカイン、細胞表面受容体、シグナル伝達分子およびキナーゼ、転写因子および他の転写調節因子、タンパク質発現および修飾の制御因子、腫瘍抑制因子、ならびにアポトーシスおよび転移の制御因子からなる群から選択される 1 つまたは複数のタンパク質の発現を調節するゲノム編集システムの 1 つまたは複数の分子を含む、ゲノム編集複合体またはナノ粒子を含む、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 8 8)

前記がんが、肝臓、肺または腎臓のがんである、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 8 9)

前記がんが、血液悪性腫瘍であり、前記医薬組成物が、増殖因子およびサイトカイン、細胞表面受容体、シグナル伝達分子およびキナーゼ、転写因子および他の転写調節因子、タンパク質発現および修飾の制御因子、腫瘍抑制因子、ならびにアポトーシスおよび転移の制御因子からなる群から選択される 1 つまたは複数のタンパク質の発現を調節するゲノム編集システムの 1 つまたは複数の分子を含む、ゲノム編集複合体またはナノ粒子を含む、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 9 0)

前記疾患が、ウイルス感染疾患であり、前記医薬組成物が、ウイルス感染性疾患の発症および/または進行に関与する 1 つまたは複数のタンパク質の発現を調節するゲノム編集システムの 1 つまたは複数の分子を含む、ゲノム編集複合体またはナノ粒子を含む、項目 8 5 に記載の方法。

(項目 9 1)

前記疾患が、遺伝性疾患であり、前記医薬組成物が、前記遺伝性疾患の発症および／または進行に関与する１つまたは複数のタンパク質の発現を調節するゲノム編集システムの１つまたは複数の分子を含む、ゲノム編集複合体またはナノ粒子を含む、項目 8 5 に記載の方法。

(項目 9 2)

前記疾患が、加齢または変性疾患であり、前記医薬組成物が、前記加齢または変性疾患の発症および／または進行に関与する１つまたは複数のタンパク質の発現を調節するゲノム編集システムの１つまたは複数の分子を含む、ゲノム編集複合体またはナノ粒子を含む、項目 8 5 に記載の方法。

(項目 9 3)

前記疾患が、線維性または炎症性疾患であり、前記医薬組成物が、前記線維性または炎症性疾患の発症および／または進行に関与する２つまたはそれより多いタンパク質の発現を調節するゲノム編集システムの１つまたは複数の分子を含む、ゲノム編集複合体またはナノ粒子を含む、項目 8 5 に記載の方法。

(項目 9 4)

前記個体がヒトである、項目 8 4 から 9 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 9 5)

項目 1 から 4 3 のいずれか一項に記載のゲノム編集複合体および／または項目 4 4 から 6 0 のいずれか一項に記載のナノ粒子を含む組成物を含むキット。