

【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 3 年 11 月 11 日 (2021.11.11)

【公表番号】特表 2020-536125 (P2020-536125A)

【公表日】令和 2 年 12 月 10 日 (2020.12.10)

【年通号数】公開・登録公報 2020-050

【出願番号】特願 2020-540244 (P2020-540244)

【国際特許分類】

A 6 1 K 9/52 (2006.01)

A 6 1 K 47/34 (2017.01)

A 6 1 K 47/26 (2006.01)

A 6 1 K 47/28 (2006.01)

A 6 1 K 47/14 (2006.01)

A 6 1 K 47/24 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/88 (2006.01)

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

C 1 2 N 15/55 (2006.01)

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K 9/52

A 6 1 K 47/34 Z N A

A 6 1 K 47/26

A 6 1 K 47/28

A 6 1 K 47/14

A 6 1 K 47/24

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 15/88 Z

C 1 2 N 15/113 Z

C 1 2 N 15/55

C 1 2 N 15/12

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 9 月 28 日 (2021.9.28)

【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】

脂質ナノ粒子（「LNP」）組成物であって、  
RNA 成分と、

脂質成分と  
を含み、  
ここで、

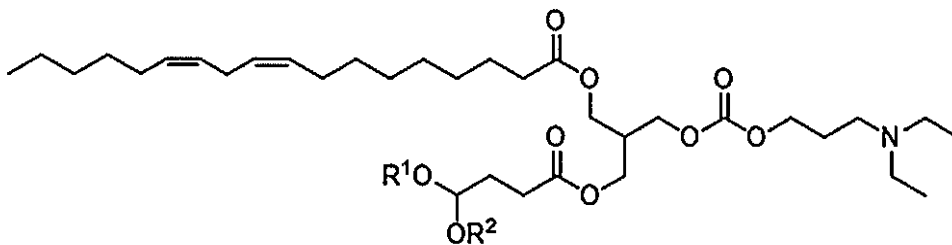
- a) 前記脂質成分は、  
約 40 ～ 60 モル % のイオン化され得るアミン脂質と、  
約 5 ～ 15 モル % の中性脂質と、  
約 2 ～ 4 モル % の PEG 脂質と

を含み、  
ここで、前記脂質成分の残部はヘルパー脂質であり、  
前記 LNP 組成物の N / P 比は約 5 ～ 7 である、または

- b) 前記脂質成分は、  
約 40 ～ 60 モル % のイオン化され得るアミン脂質と、  
約 5 ～ 15 モル % の中性脂質と、  
約 2 . 5 ～ 4 モル % の PEG 脂質と

を含み、  
ここで、前記脂質成分の残部はヘルパー脂質であり、  
前記 LNP 組成物の N / P 比は約 3 ～ 10 であり、  
前記イオン化され得るアミン脂質は、以下の構造式：

【化 1】



(式中、 $R^1$  と  $R^2$  はそれぞれ独立して C4 - C12 アルキルである)  
で表される、

前記 LNP 組成物。

【請求項 2】

前記脂質成分は、約 50 ～ 60 モル % のイオン化され得るアミン脂質を含む、請求項 1 に記載の LNP 組成物。

【請求項 3】

前記脂質成分は、約 50 ～ 60 モル % のイオン化され得るアミン脂質と、約 2 . 5 ～ 4 モル % の PEG 脂質とを含む、請求項 1 または 2 に記載の LNP 組成物。

【請求項 4】

前記脂質成分は、約 50 ～ 60 モル % のイオン化され得るアミン脂質と、約 8 ～ 10 モル % の中性脂質と、約 2 . 5 ～ 4 モル % の PEG 脂質とを含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の LNP 組成物。

【請求項 5】

LNP 組成物であって、  
RNA 成分と、  
脂質成分と

を含み、ここで、

- a) 前記脂質成分は、  
約 40 ～ 60 モル % のイオン化され得るアミン脂質と、  
約 0 ～ 10 モル % の中性脂質と、  
約 1 . 5 ～ 10 モル % の PEG 脂質と

を含み、

ここで、前記脂質成分の残部はヘルパー脂質であり、  
前記 L N P 組成物の N / P 比は約 5 ~ 7 である、または

b) 前記脂質成分は、

約 50 ~ 60 モル % のイオン化され得るアミン脂質と、

約 0 ~ 10 モル % の中性脂質と、

約 1.5 ~ 10 モル % の PEG 脂質と

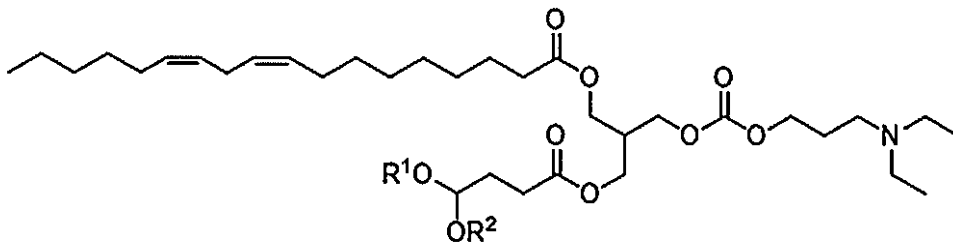
を含み、

ここで、前記脂質成分の残部はヘルパー脂質であり、

前記 L N P 組成物の N / P 比は約 3 ~ 10 であり、

前記イオン化され得るアミン脂質は、以下の構造式：

【化 2】



(式中、 $R^1$  と  $R^2$  はそれぞれ独立して C4 - C12 アルキルである)

で表される、

前記 L N P 組成物。

【請求項 6】

前記脂質成分は、約 1 モル % 未満の中性脂質を含む、請求項 5 に記載の L N P 組成物。

【請求項 7】

前記中性リン脂質を本質的に含まないかまたは含まない、請求項 5 または 6 に記載の L N P 組成物。

【請求項 8】

前記 L N P 組成物の N / P 比は約 6 である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の L N P 組成物。

【請求項 9】

前記 R N A 成分は m R N A を含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の L N P 組成物。

【請求項 10】

前記 R N A 成分は、R N A 誘導型 D N A 結合因子をコードする、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の L N P 組成物。

【請求項 11】

前記 R N A 成分はクラス 2 C a s ヌクレアーゼ m R N A を含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の L N P 組成物。

【請求項 12】

前記 R N A 成分は C a s 9 ヌクレアーゼ m R N A を含む、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の L N P 組成物。

【請求項 13】

前記 m R N A は修飾 m R N A である、請求項 9 ~ 12 のいずれか一項に記載の L N P 組成物。

【請求項 14】

前記 R N A 成分は、R N A 誘導型 D N A 結合因子をコードするオープンリーディングフレームを含む R N A を含み、

ここで、

前記オープンリーディングフレームはウリジン含量が、その最小ウリジン含量から、前

記最小ウリジン含量の150%までの範囲である、または

前記オープンリーディングフレームはウリジンジヌクレオチド含量が、その最小ウリジンジヌクレオチド含量から、前記最小ウリジンジヌクレオチド含量の150%までの範囲である、

請求項1～13のいずれか一項に記載のLNP組成物。

【請求項15】

前記RNA成分は、配列番号1、4、7、9、10、11、12、14、15、17、18、20、21、23、24、26、27、29、30、50、52、54、65、または66のいずれか1つに対する同一性が少なくとも90%である配列を含むmRNAを含み、ここで、前記mRNAは、RNA誘導型DNA結合因子をコードするオープンリーディングフレームを含む、請求項1～14のいずれか一項に記載のLNP組成物。

【請求項16】

前記RNA成分はgRNAを含む、請求項1～15のいずれか一項に記載のLNP組成物。

【請求項17】

前記gRNAは、2'-O-メチル(2'-O-Me)修飾ヌクレオチド、ヌクレオチド間のホスホロチオアート(PS)結合、及び2'-フルオロ(2'-F)修飾ヌクレオチドから選択される修飾を含む、請求項16に記載のLNP組成物。

【請求項18】

前記gRNAは、5'末端の最初の5ヌクレオチドの1つ以上における修飾を含み、及び/または

前記gRNAは、3'末端の最後の5ヌクレオチドの1つ以上における修飾を含む、請求項16又は17に記載のLNP組成物。

【請求項19】

前記RNA成分はクラス2CasヌクレアーゼmRNAを含み、前記gRNA及び前記クラス2CasヌクレアーゼmRNAは、重量基準で約2:1～約1:1の比で存在する、請求項16～18のいずれか一項に記載のLNP組成物。

【請求項20】

少なくとも1つの鋳型核酸をさらに含む、請求項1～19のいずれか一項に記載のLNP組成物。

【請求項21】

前記脂質成分は、約3のモル%のPEG脂質を含む、請求項1～20のいずれか一項に記載のLNP組成物。

【請求項22】

前記脂質成分は、47～53モル%の前記イオン化され得るアミン脂質を含む、請求項1～21のいずれか一項に記載のLNP組成物。

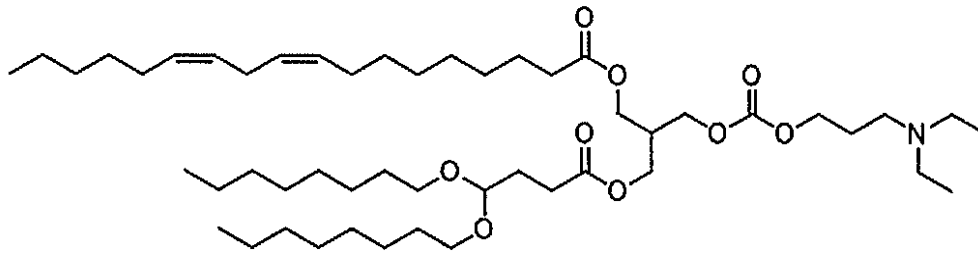
【請求項23】

前記脂質成分は、53～57モル%の前記イオン化され得るアミン脂質を含む、請求項1～22のいずれか一項に記載のLNP組成物。

【請求項24】

前記イオン化され得るアミン脂質はリピドAであり、  
ここで、リピドAは、以下の構造式：

## 【化 3】



で表される、

請求項 1 ～ 2 3 のいずれか一項に記載の L N P 組成物。

## 【請求項 2 5】

前記  $R^1$  と  $R^2$  はそれぞれ独立して、C 4 アルキル、C 5 アルキル、C 6 アルキル、C 7 アルキル、C 9 アルキル、C 10 アルキル、C 11 アルキル、及び C 12 アルキルから選択される、請求項 1 ～ 2 3 のいずれか一項に記載の L N P 組成物。

## 【請求項 2 6】

前記ヘルパー脂質はステロイド、ステロールまたはアルキルレソルシノールである、請求項 1 ～ 2 5 のいずれか一項に記載の L N P 組成物。

## 【請求項 2 7】

前記ヘルパー脂質はコレステロールである、請求項 1 ～ 2 6 のいずれか一項に記載の L N P 組成物。

## 【請求項 2 8】

前記中性脂質は中性リン脂質である、請求項 1 ～ 2 7 のいずれか一項に記載の L N P 組成物。

## 【請求項 2 9】

前記中性脂質は D S P C または D P P C である、請求項 1 ～ 2 8 のいずれか一項に記載の L N P 組成物。

## 【請求項 3 0】

前記 P E G 脂質はジミリスティルグリセロール ( D M G ) を含む、請求項 1 ～ 2 9 のいずれか一項に記載の L N P 組成物。

## 【請求項 3 1】

前記 P E G 脂質は P E G - 2 k を含む、請求項 1 ～ 3 0 のいずれか一項に記載の L N P 組成物。

## 【請求項 3 2】

前記 P E G - D M G は P E G 2 k - D M G である、請求項 3 0 に記載の L N P 組成物。

## 【請求項 3 3】

細胞を、請求項 1 ～ 3 2 のいずれか一項に記載の L N P 組成物と接触させることを含む、遺伝子編集方法。

## 【請求項 3 4】

少なくとも 1 つの鋳型核酸を前記細胞に導入することをさらに含む、請求項 3 3 に記載の方法。

## 【請求項 3 5】

前記 R N A 成分は m R N A 及び g R N A を含み、  
ここで、前記 L N P 組成物は第 1 の L N P 及び第 2 の L N P を含み、  
前記 m R N A を前記第 1 の L N P に封入し、  
前記 g R N A を前記第 2 の L N P に封入する、  
請求項 3 3 または 3 4 に記載の方法。

## 【請求項 3 6】

前記 R N A 成分は m R N A 及び g R N A を含み、前記 m R N A 及び前記 g R N A を前記

L N P 組成物に共に封入する、請求項 3 3 または 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 7】

細胞を前記 L N P 組成物と接触させることを含む遺伝子編集方法のための医薬の製造のための、請求項 1 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の L N P 組成物の使用。

【請求項 3 8】

細胞を前記 L N P 組成物と接触させることを含む遺伝子編集方法において使用するのための、請求項 1 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の L N P 組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 7 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 7 3】

上記明細書で特に断りがない限り、明細書中、さまざまな成分を「含む (comprising)」という記述がある実施形態は、記述の成分「からなる (consisting of)」かまたはそれ「から本質的になる (consisting essentially of)」ことも意図され、明細書中、さまざまな成分「からなる (consisting of)」という記述がある実施形態は、記述の成分を「含む (consisting)」かまたはそれ「から本質的になる (consisting essentially of)」ことも意図され、明細書中、さまざまな成分「について (about)」という記述がある実施形態は、記述の成分「にて (at)」であることも意図され、また、明細書中、さまざまな成分「から本質的になる (consisting essentially of)」という記述がある実施形態は、記述の成分「からなる (consisting of)」かまたはそれを「含む (comprising)」ことも意図される (このような互換性は請求項内でこれらの用語を使用する際には適用されない)。

本発明は、例えば以下の実施形態を包含する：

[実施形態 1] RNA 成分と、

脂質成分とを含み、ここで、前記脂質成分は、

約 5 0 ~ 6 0 モル % のアミン脂質と、

約 8 ~ 1 0 モル % の中性脂質と、

約 2 . 5 ~ 4 モル % の P E G 脂質と

を含み、ここで、前記脂質成分の残部はヘルパー脂質であり、

L N P 組成物の N / P 比は約 6 である、前記脂質ナノ粒子 (「L N P」) 組成物。

[実施形態 2] RNA 成分と、

約 5 0 ~ 6 0 モル % のアミン脂質と、

約 2 7 ~ 3 9 . 5 モル % のヘルパー脂質と、

約 8 ~ 1 0 モル % の中性脂質と、

約 2 . 5 ~ 4 モル % の P E G 脂質と

を含み、ここで、L N P 組成物の N / P 比は約 5 ~ 7 である、前記 L N P 組成物。

[実施形態 3] 前記 N / P 比は約 6 である、実施形態 2 に記載の L N P 組成物。

[実施形態 4] RNA 成分と、

脂質成分とを含み、ここで、前記脂質成分は、

約 5 0 ~ 6 0 モル % のアミン脂質と、

約 5 ~ 1 5 モル % の中性脂質と、

約 2 . 5 ~ 4 モル % の P E G 脂質と

を含み、ここで、前記脂質成分の残部はヘルパー脂質であり、

L N P 組成物の N / P 比は約 3 ~ 1 0 である、前記 L N P 組成物。

[実施形態 5] RNA 成分と、

脂質成分とを含み、ここで、前記脂質成分は、

約 4 0 ~ 6 0 モル % のアミン脂質と、

約 5 ~ 15 モル % の中性脂質と、  
約 2.5 ~ 4 モル % の PEG 脂質と  
を含み、ここで、前記脂質成分の残部はヘルパー脂質であり、  
LNP 組成物の N / P 比は約 6 である、前記 LNP 組成物。  
[ 実施形態 6 ] RNA 成分と、  
脂質成分とを含み、ここで、前記脂質成分は、  
約 50 ~ 60 モル % のアミン脂質と、  
約 5 ~ 15 モル % の中性脂質と、  
約 1.5 ~ 10 モル % の PEG 脂質と  
を含み、ここで、前記脂質成分の残部はヘルパー脂質であり、  
LNP 組成物の N / P 比は約 6 である、前記 LNP 組成物。  
[ 実施形態 7 ] RNA 成分と、  
脂質成分とを含み、ここで、前記脂質成分は、  
約 40 ~ 60 モル % のアミン脂質と、  
約 0 ~ 10 モル % の中性脂質と、  
約 1.5 ~ 10 モル % の PEG 脂質と  
を含み、ここで、前記脂質成分の残部はヘルパー脂質であり、  
LNP 組成物の N / P 比は約 3 ~ 10 である、前記 LNP 組成物。  
[ 実施形態 8 ] RNA 成分と、  
脂質成分とを含み、ここで、前記脂質成分は、  
約 40 ~ 60 モル % のアミン脂質と、  
約 1 モル % 未満の中性脂質と、  
約 1.5 ~ 10 モル % の PEG 脂質と  
を含み、ここで、前記脂質成分の残部はヘルパー脂質であり、  
LNP 組成物の N / P 比は約 3 ~ 10 である、前記 LNP 組成物。  
[ 実施形態 9 ] RNA 成分と、  
脂質成分とを含み、ここで、前記脂質成分は、  
約 40 ~ 60 モル % のアミン脂質と、  
約 1.5 ~ 10 モル % の PEG 脂質と  
を含み、ここで、前記脂質成分の残部はヘルパー脂質であり、  
LNP 組成物の N / P 比は約 3 ~ 10 であり、かつ  
前記 LNP 組成物は中性リン脂質を本質的に含まないかまたは含まない、前記 LNP 組成物。  
[ 実施形態 10 ] RNA 成分と、  
脂質成分とを含み、ここで、前記脂質成分は、  
約 50 ~ 60 モル % のアミン脂質と、  
約 8 ~ 10 モル % の中性脂質と、  
約 2.5 ~ 4 モル % の PEG 脂質と  
を含み、ここで、前記脂質成分の残部はヘルパー脂質であり、  
LNP 組成物の N / P 比は約 3 ~ 7 である、前記 LNP 組成物。  
[ 実施形態 11 ] 前記 RNA 成分は mRNA を含む、先行実施形態いずれかに記載の組成物。  
[ 実施形態 12 ] 前記 RNA 成分は、RNA 誘導型 DNA 結合因子、例えば、Cas9ヌクレアーゼ mRNA などを含む、先行実施形態いずれかに記載の組成物。  
[ 実施形態 13 ] 前記 RNA 成分はクラス 2 Cas9ヌクレアーゼ mRNA を含む、先行実施形態いずれかに記載の組成物。  
[ 実施形態 14 ] 前記 RNA 成分は Cas9ヌクレアーゼ mRNA を含む、先行実施形態いずれかに記載の組成物。  
[ 実施形態 15 ] 前記 mRNA は修飾 mRNA である、実施形態 11 ~ 14 のいずれかに記載の組成物。

〔実施形態１６〕前記RNA成分は、RNA誘導型DNA結合因子をコードするオープンリーディングフレームを含むRNAを含み、ここで、前記オープンリーディングフレームはウリジン含量が、その最小ウリジン含量から、前記最小ウリジン含量の１５０％までの範囲である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

〔実施形態１７〕前記RNA成分は、RNA誘導型DNA結合因子をコードするオープンリーディングフレームを含むmRNAを含み、ここで、前記オープンリーディングフレームはウリジンジヌクレオチド含量が、その最小ウリジンジヌクレオチド含量から、前記最小ウリジンジヌクレオチド含量の１５０％までの範囲である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

〔実施形態１８〕前記RNA成分は、配列番号１、４、７、９、１０、１１、１２、１４、１５、１７、１８、２０、２１、２３、２４、２６、２７、２９、３０、５０、５２、５４、６５、または６６のいずれか１つに対する同一性が少なくとも９０％である配列を含むmRNAを含み、ここで、前記mRNAは、RNA誘導型DNA結合因子をコードするオープンリーディングフレームを含む、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

〔実施形態１９〕前記RNA成分はgRNA核酸を含む、先行実施形態のいずれかに記載の組成物。

〔実施形態２０〕前記gRNA核酸はgRNAである、実施形態１９に記載の組成物。

〔実施形態２１〕前記RNA成分はクラス２CasヌクレアーゼmRNA及びgRNAを含む、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

〔実施形態２２〕前記gRNA核酸は、二重ガイドRNA(dgRNA)であるかまたはそれをコードする、実施形態１９～２１のいずれかに記載の組成物。

〔実施形態２３〕前記gRNA核酸は、sgRNAであるかまたはそれをコードする、実施形態１９～２１のいずれかに記載の組成物。

〔実施形態２４〕前記gRNAは修飾されている、実施形態１９～２３のいずれかに記載の組成物。

〔実施形態２５〕前記gRNAは、２'-O-メチル(２'-O-Me)修飾ヌクレオチド、ヌクレオチド間のホスホロチオアート(PS)結合、及び２'-フルオロ(２'-F)修飾ヌクレオチドから選ばれる修飾を含む、実施形態２４に記載の組成物。

〔実施形態２６〕前記gRNAは、５'末端の最初の５ヌクレオチドの１つ以上における修飾を含む、実施形態２４～２５のいずれかに記載の組成物。

〔実施形態２７〕前記gRNAは、３'末端の最後の５ヌクレオチドの１つ以上における修飾を含む、実施形態２４～２６のいずれかに記載の組成物。

〔実施形態２８〕前記gRNAは、最初の４ヌクレオチド間にPS結合を含む、実施形態２４～２７のいずれかに記載の組成物。

〔実施形態２９〕前記gRNAは、最後の４ヌクレオチド間にPS結合を含む、実施形態２４～２８のいずれかに記載の組成物。

〔実施形態３０〕５'末端の最初の３ヌクレオチドに２'-O-Me修飾ヌクレオチドをさらに含む、実施形態２４～２９のいずれかに記載の組成物。

〔実施形態３１〕３'末端の最後の３ヌクレオチドに２'-O-Me修飾ヌクレオチドをさらに含む、実施形態２４～３０のいずれかに記載の組成物。

〔実施形態３２〕前記gRNA及びクラス２CasヌクレアーゼmRNAは、重量基準で約１０：１～約１：１０の範囲の比で存在する、実施形態１９～３１のいずれかに記載の組成物。

〔実施形態３３〕前記gRNA及びクラス２CasヌクレアーゼmRNAは、重量基準で約５：１～約１：５の範囲の比で存在する、実施形態１９～３１のいずれかに記載の組成物。

〔実施形態３４〕前記gRNA及びクラス２CasヌクレアーゼmRNAは、重量基準で約３：１～約１：１の範囲の比で存在する、実施形態１９～３３のいずれかに記載の組成物。

〔実施形態３５〕前記gRNA及びクラス２CasヌクレアーゼmRNAは、重量基準で



約 2 : 1 ~ 約 1 : 1 の範囲の比で存在する、実施形態 19 ~ 34 のいずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 36 ] 前記 gRNA 及びクラス 2 Cas ヌクレアーゼ mRNA は、重量基準で約 2 : 1 の比で存在する、実施形態 19 ~ 35 のいずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 37 ] 前記 gRNA 及びクラス 2 Cas ヌクレアーゼ mRNA は、重量基準で約 1 : 1 の比で存在する、実施形態 19 ~ 35 のいずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 38 ] 少なくとも 1 つの鑄型をさらに含む、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 39 ] 前記 PEG 脂質のモル % は約 3 である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 40 ] 前記アミン脂質のモル % は約 50 である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 41 ] 前記アミン脂質のモル % は約 55 である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 42 ] 前記アミン脂質のモル % は  $\pm 3$  モル % である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 43 ] 前記アミン脂質のモル % は  $\pm 2$  モル % である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 44 ] 前記アミン脂質のモル % は 47 ~ 53 モル % である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 45 ] 前記アミン脂質のモル % は 48 ~ 53 モル % である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 46 ] 前記アミン脂質のモル % は 53 ~ 57 モル % である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 47 ] 前記 N / P 比は  $6 \pm 1$  である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 48 ] 前記 N / P 比は  $6 \pm 0.5$  である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 49 ] 前記アミン脂質はリピド A である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 50 ] 前記アミン脂質はリピド A の類似体である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 51 ] 前記類似体はアセタール類似体である、実施形態 50 に記載の組成物。

[ 実施形態 52 ] 前記アセタール類似体は C4 - C12 アセタール類似体である、実施形態 51 に記載の組成物。

[ 実施形態 53 ] 前記アセタール類似体は C5 - C12 アセタール類似体である、実施形態 50 に記載の組成物。

[ 実施形態 54 ] 前記アセタール類似体は C5 - C10 アセタール類似体である、実施形態 50 に記載の組成物。

[ 実施形態 55 ] 前記アセタール類似体は、C4 類似体、C5 類似体、C6 類似体、C7 類似体、C9 類似体、C10 類似体、C11 類似体、及び C12 類似体から選ばれる、実施形態 50 に記載の組成物。

[ 実施形態 56 ] 前記ヘルパー脂質はコレステロールである、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 57 ] 前記中性脂質は DSPC である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 58 ] 前記中性脂質は DPPC である、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 59 ] 前記 PEG 脂質はジミリストイルグリセロール (DMG) を含む、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[ 実施形態 60 ] 前記 PEG 脂質は PEG - 2k を含む、先行実施形態いずれかに記載の

組成物。

[実施形態61] 前記PEG脂質はPEG-DMGである、先行実施形態いずれかに記載の組成物。

[実施形態62] 前記PEG-DMGはPEG2k-DMGである、実施形態61に記載の組成物。

[実施形態63] 前記LNP組成物は中性脂質を本質的に含まない、実施形態9に記載の組成物。

[実施形態64] 前記中性脂質はリン脂質である、実施形態63に記載の組成物。

[実施形態65] 細胞を、実施形態12～64のいずれかに記載のLNP組成物と接触させることを含む、遺伝子編集方法。

[実施形態66] クラス2CasヌクレアーゼmRNA及びガイドRNA核酸を細胞に送達することを含む遺伝子編集方法であって、前記クラス2Cas mRNA及び前記ガイドRNA核酸は、実施形態13～64のいずれかに記載の少なくとも1つのLNP組成物として製剤化される、前記方法。

[実施形態67] 細胞を、実施形態12～64のいずれかに記載の少なくとも1つのLNP組成物と接触させることを含む、遺伝子操作された細胞を作製する方法。

[実施形態68] 前記LNP組成物を少なくとも2回投与する、実施形態65～67のいずれかに記載の方法。

[実施形態69] 前記LNP組成物を2～5回投与する、実施形態68に記載の方法。

[実施形態70] 再投与時に編集が改善する、実施形態68または69に記載の方法。

[実施形態71] 少なくとも1つの鋳型核酸を前記細胞に導入することをさらに含む、実施形態65～70のいずれかに記載の方法。

[実施形態72] 前記mRNAを第1のLNP組成物に製剤化し、前記ガイドRNA核酸を第2のLNP組成物に製剤化する、実施形態65～71のいずれかに記載の方法。

[実施形態73] 前記第1及び第2のLNP組成物を同時に投与する、実施形態72に記載の方法。

[実施形態74] 前記第1及び第2のLNP組成物を順次投与する、実施形態72に記載の方法。

[実施形態75] 前記mRNA及び前記ガイドRNA核酸を単一のLNP組成物に製剤化する、実施形態65～73のいずれかに記載の方法。