(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2022-512941
(P2022-512941A)
(43)公表日　令和4年2月7日(2022.2.7)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*47/59 (2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/59		４Ｂ０６４
Ａ６１Ｋ	*31/7088(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7088	ＺＮＡ	４Ｂ０６５
Ａ６１Ｋ	*31/7105(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7105		４Ｃ０７６
Ａ６１Ｋ	*48/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	48/00		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｐ	*37/04 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/04		４Ｃ０８６

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全229頁）　最終頁に続く

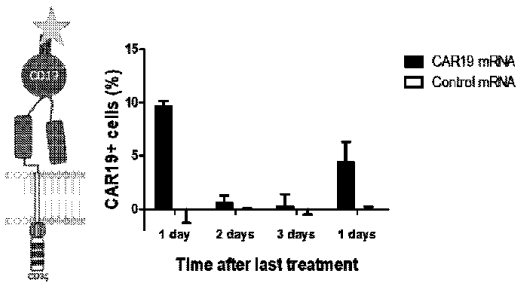
(21)出願番号　特願2021-524356(P2021-524356)
(86)(22)出願日　令和1年11月11日(2019.11.11)
(85)翻訳文提出日　令和3年7月1日(2021.7.1)
(86)国際出願番号　PCT/US2019/060807
(87)国際公開番号　WO2020/097614
(87)国際公開日　令和2年5月14日(2020.5.14)
(31)優先権主張番号　62/758,487
(32)優先日　平成30年11月9日(2018.11.9)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　503115205
ザ ボード オブ トラスティーズ オブ ザ レランド スタンフォード ジュニア ユニバーシティー
アメリカ合衆国 ９４３０５－２０３８ カリフォルニア州 スタンフォード メイン クワッド ビルディング １７０ サード フロア ピー．オー．ボックス ２０３８６ オフィス オブ ザ ジェネラル カウンセル
(74)代理人　110001173
特許業務法人川口國際特許事務所
(72)発明者　レビー，ロナルド
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９４３０６、パロ・アルト、エル・カミノ・
最終頁に続く

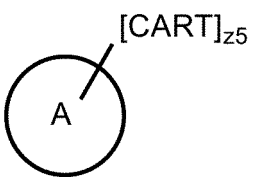
(54)【発明の名称】　核酸送達のためのハイブリッド犠牲細胞透過性複合体

(57)【要約】
本明細書では、とりわけ、インビボでの細胞への核酸の送達のための複合体、組成物、および方法が提供される。複合体、組成物、および方法は、インビトロおよびインビボの両方での標的細胞、組織、および器官への、オリゴヌクレオチドおよびポリアニオンカーゴの複合体形成、保護、送達、および放出を促進し得る。

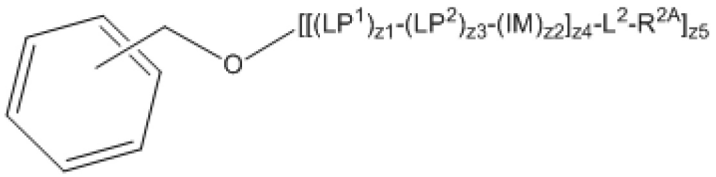
FIG. 29



【特許請求の範囲】
【請求項１】
カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合した核酸を含む細胞透過性複合体であって、前記カチオン性両親媒性ポリマーが、ｐＨ感受性犠牲ドメインおよび親油性ポリマードメインを含み、
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
$R^{1A}-[L^{1}-[(LP^{1})_{z1}-(LP^{2})_{z3}-(IM)_{z2}]_{z4}-L^{2}-R^{2A}]_{z5}$
式中、
R^{1A}が、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
R^{2A}が、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
L^{1}およびL^{2}が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
LP^{1}およびLP^{2}が、独立して、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、前記ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、
ｚ２が、２～１００の整数である、細胞透過性複合体。
【請求項２】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化１】

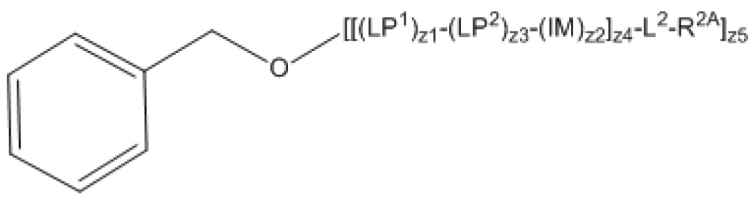


式中、
環Ａが、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
ＣＡＲＴが、式：－Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＬＰ２）ｚ３－（ＩＭ）ｚ２］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａを有し、
式中、
Ｒ２Ａが、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
Ｌ１およびＬ２が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ１およびＬＰ２が、独立して、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、前記ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、
ｚ２が、２～１００の整数である、請求項１に記載の細胞透過性複合体。
【請求項３】
環Ａが、置換または非置換アリールである、請求項２に記載の細胞透過性複合体。
【請求項４】
環Ａが、置換または非置換フェニルである、請求項２に記載の細胞透過性複合体。
【請求項５】
環Ａが、置換または非置換アリールである、請求項２に記載の細胞透過性複合体。
【請求項６】
環Ａが、置換または非置換フェニルまたはナフタレニルである、請求項２に記載の細胞透過性複合体。
【請求項７】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、請求項１または２に記載の細胞透過性複合体。
【化２】

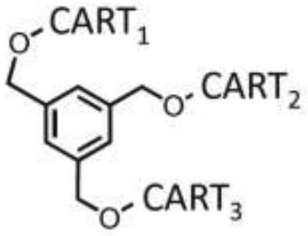


【請求項８】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、請求項１または２に記載の細胞

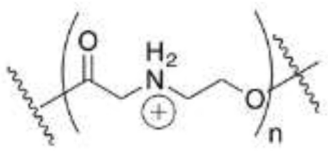
透過性複合体。
【化３】



【請求項９】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化４】



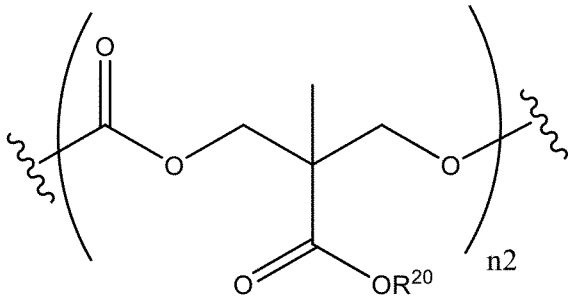
式中、ＣＡＲＴ１、ＣＡＲＴ２、およびＣＡＲＴ３が、独立して、請求項２に定義されるようなＣＡＲＴである、請求項１または２に記載の細胞透過性複合体。
【請求項１０】
ｚ５が、１～３までの整数である、請求項１または２に記載の細胞透過性複合体。
【請求項１１】
ｚ５が、１または３である、請求項１または２に記載の細胞透過性複合体。
【請求項１２】
ｚ５が、１である、請求項１または２に記載の細胞透過性複合体。
【請求項１３】
ｚ５が、３である、請求項１または２に記載の細胞透過性複合体。
【請求項１４】
Ｒ２Ａが、水素である、請求項１または２に記載の細胞透過性複合体。
【請求項１５】
Ｌ２が、結合である、請求項１または２に記載の細胞透過性複合体。
【請求項１６】
前記ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、
【化５】



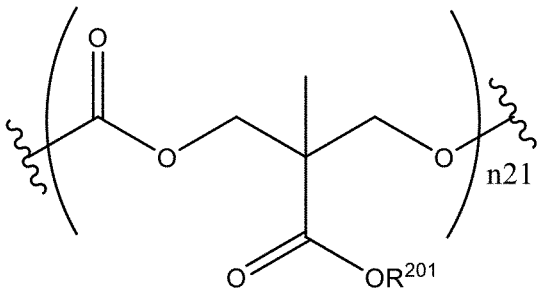
（ＩＶ）

式中、ｎが、２以上の整数である、請求項１に記載の細胞透過性複合体。
【請求項１７】
ｎが、２～５０の範囲内の整数である、請求項１６に記載の細胞透過性複合体。
【請求項１８】
ｎが、７である、請求項１６に記載の細胞透過性複合体。
【請求項１９】
前記親油性ポリマードメインが、以下の式を有し、

【化６】

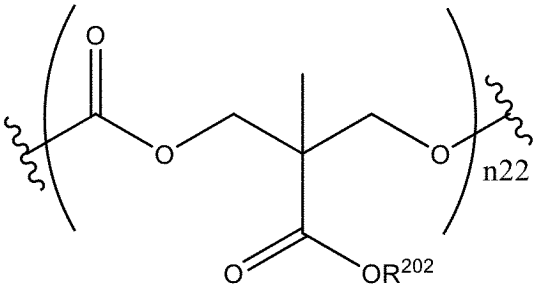


式中、
ｎ２が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、請求項１または２に記載の細胞透過性複合体。
【請求項２０】
ＬＰ１が、以下の式を有し、
【化７】

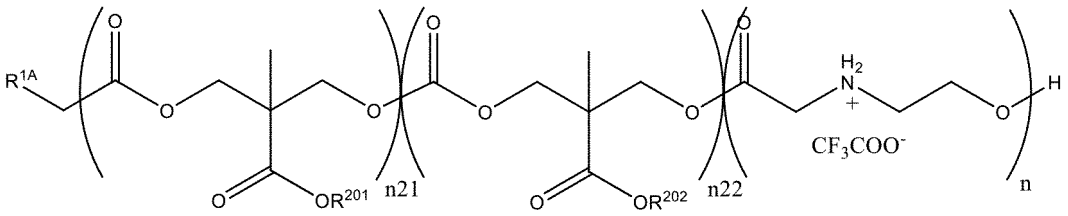


式中、
ｎ２１が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０１が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、請求項１に記載の細胞透過性複合体。
【請求項２１】
ｎ２１が、５であり、Ｒ２０１が、非置換Ｃ１８アルケニルである、請求項２０に記載の細胞透過性複合体。
【請求項２２】
前記非置換Ｃ１８アルケニルが、オレイルである、請求項２１に記載の細胞透過性複合体。
【請求項２３】
ＬＰ２が、以下の式を有し、

【化８】



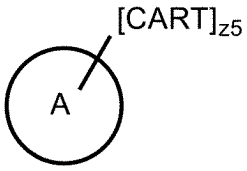
式中、
ｎ２２が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０２が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、請求項１に記載の細胞透過性複合体。
【請求項２４】
ｎ２２が、５であり、Ｒ２０２が、非置換Ｃ９アルケニルである、請求項２３に記載の細胞透過性複合体。
【請求項２５】
前記非置換Ｃ９アルケニルが、ノネニルである、請求項２４に記載の細胞透過性複合体。
【請求項２６】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化９】



式中、ｎ２１が、５であり、Ｒ２０１が、オレイルであり、ｎ２２が、５であり、Ｒ２０２が、ノネニルであり、ｎが、７である、請求項１に記載の細胞透過性複合体。
【請求項２７】
前記核酸が、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、ショートヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）、ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）、トランス活性化ＲＮＡ（ｔｒａｃｒＲＮＡ）、プラスミドＤＮＡ（ｐＤＮＡ）、ミニサークルＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ（ｇＮＤＡ）である、請求項１に記載の細胞透過性複合体。
【請求項２８】
前記核酸が、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする配列を含む、請求項１に記載の細胞透過性複合体。
【請求項２９】
請求項１に記載の複数の細胞透過性複合体を含む、ナノ粒子組成物。
【請求項３０】
請求項１に記載の複合体および薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物。
【請求項３１】
核酸を細胞にトランスフェクトする方法であって、細胞を請求項１に記載の複合体と接触させることを含む、方法。

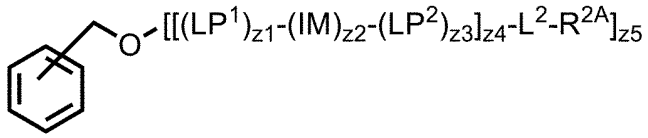
【請求項３２】
前記カチオン性両親媒性ポリマーを前記細胞内で分解させ、それによって分解産物を形成させることをさらに含む、請求項３１に記載の方法。
【請求項３３】
前記分解産物が、置換または非置換ジケトピペラジンである、請求項３２に記載の方法。
【請求項３４】
前記核酸が、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）をコードするＣＡＲを含む、請求項３１に記載の方法。
【請求項３５】
前記ｍＲＮＡを前記細胞内で発現させることをさらに含む、請求項３４に記載の方法。
【請求項３６】
前記細胞が、真核細胞である、請求項３５に記載の方法。
【請求項３７】
前記細胞が、哺乳動物細胞またはヒト細胞である、請求項３５に記載の方法。
【請求項３８】
前記細胞が、生物の一部を形成する、請求項３５に記載の方法。
【請求項３９】
前記生物が、ヒトである、請求項３８に記載の方法。
【請求項４０】
前記細胞が、リンパ系細胞または骨髄系細胞である、請求項３５の請求項に記載の方法。
【請求項４１】
前記細胞が、Ｔ細胞である、請求項３５の請求項に記載の方法。
【請求項４２】
前記細胞が、骨髄系細胞である、請求項３５の請求項に記載の方法。
【請求項４３】
免疫応答の誘導を必要とする対象においてそれを誘導する方法であって、有効量の請求項１に記載の複合体を前記対象に投与することを含む、方法。
【請求項４４】
前記免疫応答が、抗癌免疫応答である、請求項４３に記載の方法。
【請求項４５】
癌の治療を必要とする対象においてそれを治療する方法であって、有効量の請求項１に記載の複合体を前記対象に投与することを含む、方法。
【請求項４６】
前記投与が、静脈内注射または皮下注射を含む、請求項４３に記載の方法。
【請求項４７】
キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする核酸を細胞にトランスフェクトする方法であって、前記方法が、細胞をカチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合した核酸を含む細胞透過性複合体と接触させることを含み、前記カチオン性両親媒性ポリマーが、ｐＨ感受性犠牲ドメインおよび親油性ポリマードメインを含み、前記核酸が、キメラ抗原受容体をコードする配列を含む、方法。
【請求項４８】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
$R^{1A}-[L^{1}-[(LP^{1})_{z1}-(IM)_{z2}-(LP^{2})_{z3}]_{z4}-L^{2}-R^{2A}]_{z5}$
式中、
R^{1A}が、水素、ハロゲン、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、$-CN$、$-OH$、$-NH_2$、$-COOH$、$-CONH_2$、$-NO_2$、$-SH$、$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、$-NHC(O)NHNH_2$、$-NHC(O)NH_2$、$-NHSO_2H$、$-NHC(O)H$、$-NHC($

Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
Ｒ２Ａが、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
Ｌ１およびＬ２が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ１およびＬＰ２が、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、ＬＰ１またはＬＰ２のうちの少なくとも１つが、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、前記ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、
ｚ２が、２～１００の整数である、請求項４７に記載の方法。
【請求項４９】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化１０】

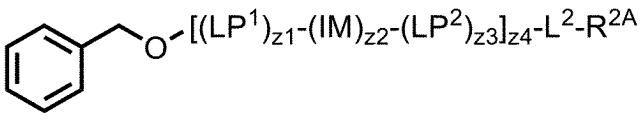


式中、
環Ａが、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
ＣＡＲＴが、式：－Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＩＭ）ｚ２－（ＬＰ２）ｚ３］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａを有し、
式中、
Ｒ２Ａが、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣ

ＨＣｌ$_2$、－ＯＣＨＢｒ$_2$、－ＯＣＨＩ$_2$、－ＯＣＨＦ$_2$、－ＯＣＨ$_2$Ｃｌ、－ＯＣＨ$_2$Ｂｒ、－ＯＣＨ$_2$Ｉ、－ＯＣＨ$_2$Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
Ｌ^{1}およびＬ^{2}が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ^{1}およびＬＰ^{2}が、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、ＬＰ^{1}またはＬＰ^{2}のうちの少なくとも１つが、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、前記ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、
ｚ２が、２～１００の整数である、請求項４７に記載の方法。
【請求項５０】
環Ａが、置換または非置換アリールである、請求項４９に記載の方法。
【請求項５１】
環Ａが、置換または非置換フェニルである、請求項４９に記載の方法。
【請求項５２】
環Ａが、置換または非置換アリールである、請求項４９に記載の方法。
【請求項５３】
環Ａが、置換または非置換フェニルまたはナフタレニルである、請求項４９に記載の方法。
【請求項５４】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、請求項４８に記載の方法。
【化１１】

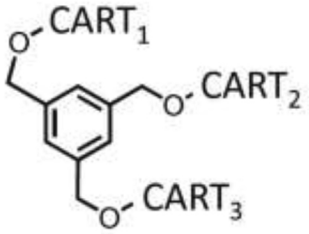


【請求項５５】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、請求項４８に記載の方法。
【化１２】



【請求項５６】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、

【化１３】



式中、ＣＡＲＴ１、ＣＡＲＴ２、およびＣＡＲＴ３が、独立して、請求項４に定義されるようなＣＡＲＴである、請求項４８に記載の方法。

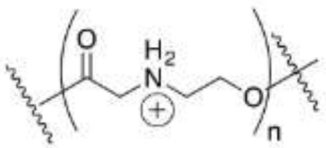
【請求項５７】

Ｌ１が、－ＣＨ２－Ｏ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンである、請求項４８に記載の方法。

【請求項５８】

前記ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、

【化１４】



（ＩＶ）

式中、ｎが、２以上の整数である、請求項４７のいずれかに記載の方法。

【請求項５９】

前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、

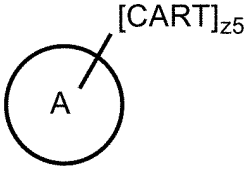
Ｒ１Ａ－［Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＬＰ２）ｚ３－（ＩＭ）ｚ２］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａ］ｚ５

式中、

Ｒ１Ａが、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、

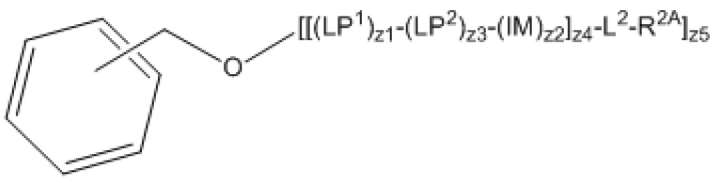
Ｒ２Ａが、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換

ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
L^1およびL^2が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
LP^1およびLP^2が、独立して、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、前記ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、
ｚ２が、２～１００の整数である、請求項４７に記載の方法。
【請求項６０】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化１５】

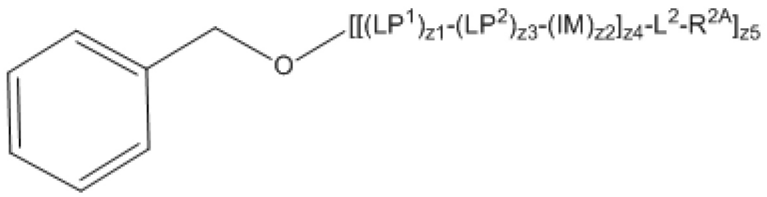


式中、
環Ａが、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
ＣＡＲＴが、式：－L^1－［（LP^1）$_{z1}$－（LP^2）$_{z3}$－（ＩＭ）$_{z2}$］$_{z4}$－L^2－R^{2A}を有し、
式中、
R^{2A}が、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ$_3$、－ＣＢｒ$_3$、－ＣＦ$_3$、－ＣＩ$_3$、ＣＨＣｌ$_2$、－ＣＨＢｒ$_2$、－ＣＨＦ$_2$、－ＣＨＩ$_2$、－ＣＨ$_2$Ｃｌ、－ＣＨ$_2$Ｂｒ、－ＣＨ$_2$Ｆ、－ＣＨ$_2$Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ$_2$、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ$_2$、－ＮＯ$_2$、－ＳＨ、－ＳＯ$_3$Ｈ、－ＳＯ$_4$Ｈ、－ＳＯ$_2$ＮＨ$_2$、－ＮＨＮＨ$_2$、－ＯＮＨ$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ$_2$、－ＮＨＳＯ$_2$Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ$_3$、－ＯＣＦ$_3$、－ＯＣＢｒ$_3$、－ＯＣＩ$_3$、－ＯＣＨＣｌ$_2$、－ＯＣＨＢｒ$_2$、－ＯＣＨＩ$_2$、－ＯＣＨＦ$_2$、－ＯＣＨ$_2$Ｃｌ、－ＯＣＨ$_2$Ｂｒ、－ＯＣＨ$_2$Ｉ、－ＯＣＨ$_2$Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
L^1およびL^2が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
LP^1およびLP^2が、独立して、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、前記ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、

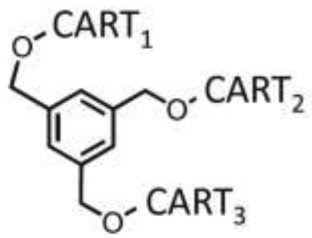
ｚ２が、２～１００の整数である、請求項４７に記載の方法。
【請求項６１】
環Ａが、置換または非置換アリールである、請求項６０に記載の方法。
【請求項６２】
環Ａが、置換または非置換フェニルである、請求項６０に記載の方法。
【請求項６３】
環Ａが、置換または非置換アリールである、請求項６０に記載の方法。
【請求項６４】
環Ａが、置換または非置換フェニルまたはナフタレニルである、請求項６０に記載の方法。
【請求項６５】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、請求項５９に記載の方法。
【化１６】



【請求項６６】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、請求項５９に記載の方法。
【化１７】

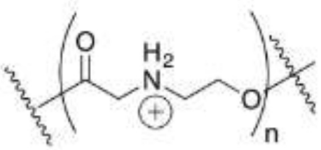


【請求項６７】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化１８】



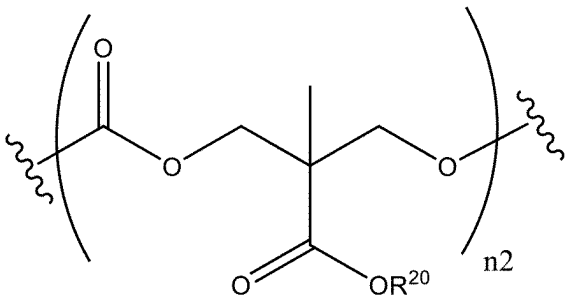
式中、ＣＡＲＴ１、ＣＡＲＴ２、およびＣＡＲＴ３が、独立して、請求項４に定義されるようなＣＡＲＴである、請求項５９に記載の方法。
【請求項６８】
ｚ５が、１～３までの整数である、請求項５９に記載の方法。
【請求項６９】
ｚ５が、１または３である、請求項５９に記載の方法。
【請求項７０】
ｚ５が、１である、請求項５９に記載の方法。
【請求項７１】
ｚ５が、３である、請求項５９に記載の方法。

【請求項７２】
ＲＡが、水素である、請求項５９に記載の方法。
【請求項７３】
Ｌ２が、結合である、請求項５９に記載の方法。
【請求項７４】
前記ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、
【化１９】

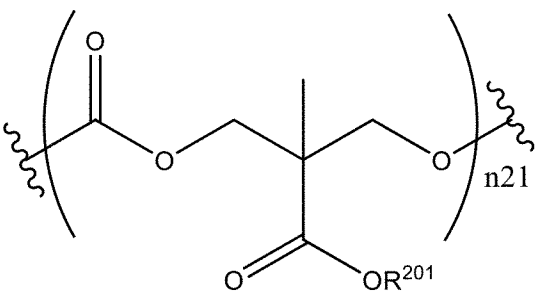


（ＩＶ）

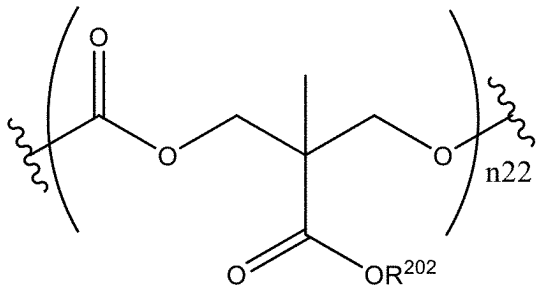
式中、ｎが、２以上の整数である、請求項５９に記載の方法。
【請求項７５】
ｎが、２～５０の範囲内の整数である、請求項７４に記載の方法。
【請求項７６】
ｎが、７である、請求項７４に記載の方法。
【請求項７７】
前記親油性ポリマードメインが、以下の式を有し、
【化２０】



式中、
ｎ２が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、請求項５９に記載の方法。
【請求項７８】
ＬＰ１が、以下の式を有し、
【化２１】



式中、
ｎ２１が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０１が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、請求項５９に記載の方法。
【請求項７９】
ｎ２１が、５であり、Ｒ２０１が、非置換Ｃ１８アルケニルである、請求項７８に記載の方法。
【請求項８０】
ＬＰ２が、以下の式を有し、
【化２２】



式中、
ｎ２２が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０２が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、請求項５９に記載の方法。
【請求項８１】
ｎ２２が、５であり、Ｒ２０２が、非置換Ｃ９アルケニルである、請求項８０に記載の方法。
【請求項８２】
前記細胞が、真核細胞である、請求項４７に記載の方法。
【請求項８３】
前記細胞が、哺乳動物細胞またはヒト細胞である、請求項４７に記載の方法。
【請求項８４】
前記細胞が、生物の一部を形成する、請求項４７に記載の方法。
【請求項８５】
前記生物が、ヒトである、請求項４７に記載の方法。
【請求項８６】
前記細胞が、リンパ系細胞または骨髄系細胞である、請求項４７に記載の方法。
【請求項８７】
前記細胞が、Ｔ細胞である、請求項４７に記載の方法。
【請求項８８】
前記細胞が、骨髄系細胞である、請求項４７に記載の方法。
【請求項８９】
以下式のカチオン性両親媒性ポリマーであって、
Ｒ１Ａ－［Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＬＰ２）ｚ３－（ＩＭ）ｚ２］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａ］ｚ５
式中、
Ｒ１Ａが、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２

、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、

Ｒ２Ａが、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、

Ｌ１およびＬ２が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、

ＬＰ１およびＬＰ２が、独立して、親油性ポリマードメインであり、

ＩＭが、前記ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、

ｚ５が、１～１０の整数であり、

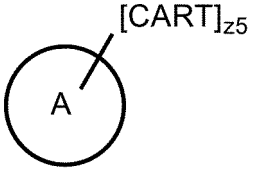
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、

ｚ２が、２～１００の整数である、カチオン性両親媒性ポリマー。

【請求項９０】

前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、

【化２３】



式中、

環Ａが、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、

ＣＡＲＴが、式：－Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＬＰ２）ｚ３－（ＩＭ）ｚ２］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａを有し、

式中、

Ｒ２Ａが、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ

、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
Ｌ１およびＬ２が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ１およびＬＰ２が、独立して、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、前記ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、
ｚ２が、２～１００の整数である、請求項８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。

【請求項９１】
環Ａが、置換または非置換アリールである、請求項９０に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。

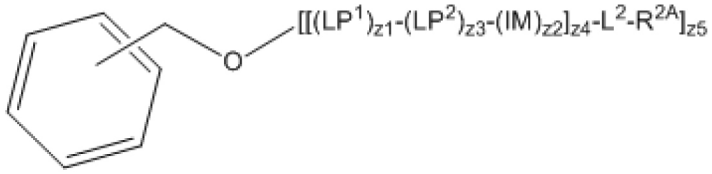
【請求項９２】
環Ａが、置換または非置換フェニルである、請求項９０に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。

【請求項９３】
環Ａが、置換または非置換アリールである、請求項９０に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。

【請求項９４】
環Ａが、置換または非置換フェニルまたはナフタレニルである、請求項９０に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。

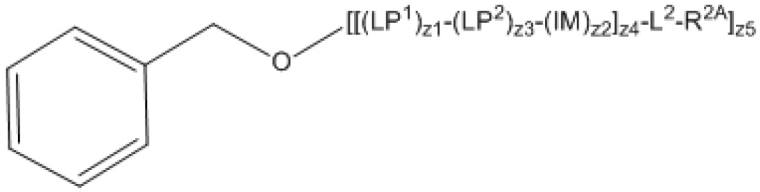
【請求項９５】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、請求項８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。

【化２４】

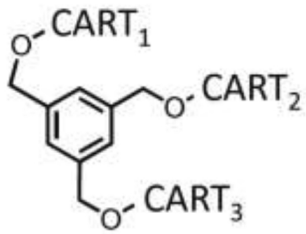


【請求項９６】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、請求項８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。

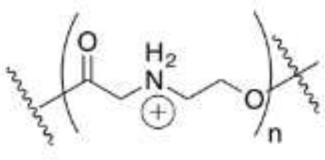
【化２５】



【請求項９７】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化２６】



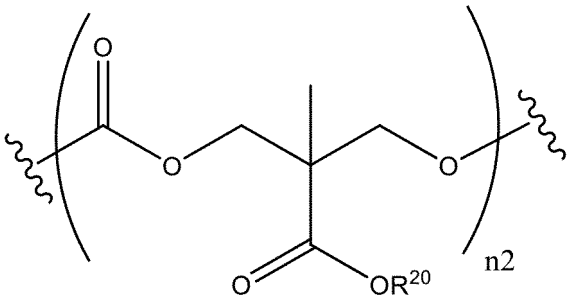
式中、ＣＡＲＴ１、ＣＡＲＴ２、およびＣＡＲＴ３が、独立して、請求項４に定義されるようなＣＡＲＴである、請求項８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項９８】
ｚ５が、１～３までの整数である、請求項８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項９９】
ｚ５が、１または３である、請求項８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１００】
ｚ５が、１である、請求項８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１０１】
ｚ５が、３である、請求項８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１０２】
Ｒ２Ａが、水素である、請求項８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１０３】
Ｌ２が、結合である、請求項８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１０４】
前記ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、
【化２７】



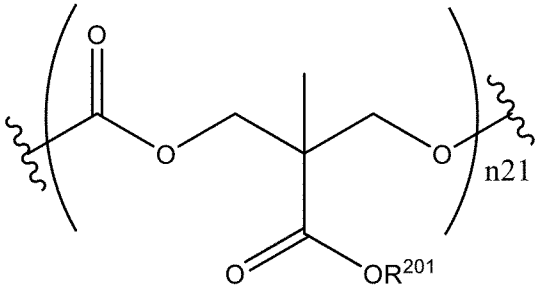
（ＩＶ）

式中、ｎが、２以上の整数である、請求項８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１０５】
ｎが、２～５０の範囲内の整数である、請求項１０４に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１０６】
ｎが、７である、請求項１０５に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１０７】
前記親油性ポリマードメインが、以下の式を有し、

【化２８】

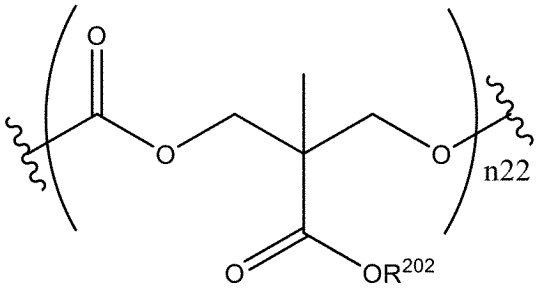


式中、
ｎ２が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、請求項８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１０８】
ＬＰ１が、以下の式を有し、
【化２９】

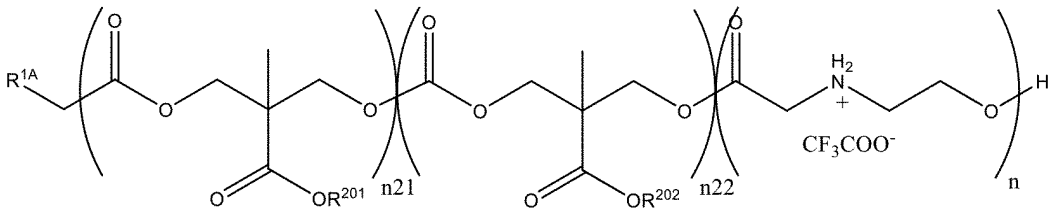


式中、
ｎ２１が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０１が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、請求項８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１０９】
ｎ２１が、５であり、Ｒ２０１が、非置換Ｃ１８アルケニルである、請求項１０８に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１１０】
前記非置換Ｃ１８アルケニルが、オレイルである、請求項１０９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１１１】
ＬＰ２が、以下の式を有し、

【化３０】



式中、
ｎ２２が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０２が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、請求項８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１１２】
ｎ２２が、５であり、Ｒ２０２が、非置換Ｃ９アルケニルである、請求項１１１に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１１３】
前記非置換Ｃ９アルケニルが、ノネニルである、請求項１１２に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１１４】
前記カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化３１】



式中、ｎ２１が、５であり、Ｒ２０１が、オレイルであり、ｎ２２が、５であり、Ｒ２０２が、ノネニルであり、ｎが、７である、請求項８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【請求項１１５】
受容体タンパク質をコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする方法であって、前記方法が、化合物に結合した受容体タンパク質をコードする核酸を含む細胞透過性複合体を対象に投与することを含み、前記化合物が、前記細胞への送達時に分解し、それによって受容体タンパク質をコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする、方法。
【請求項１１６】
前記細胞受容体が、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）である、請求項１１５に記載の方法。
【請求項１１７】
前記細胞受容体が、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）である、請求項１１５に記載の方法。
【請求項１１８】
Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）をコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする方法であって、前記方法が、化合物に結合したＴＣＲをコードする核酸を含む細胞透過性複合体を対象に投与することを含み、前記化合物が、前記細胞への送達時に分解し、それによってＴＣＲをコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする、方法。

【請求項１１９】
キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする方法であって、前記方法が、化合物に結合したＣＡＲをコードする核酸を含む細胞透過性複合体を対象に投与することを含み、前記化合物が、前記細胞への送達時に分解し、それによってＣＡＲをコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする、方法。
【請求項１２０】
前記化合物が、カチオン性両親媒性ポリマー化合物である、請求項１１５、１１８、または１１９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２１】
前記化合物が、請求項８９に記載の化合物である、請求項１１５、１１８、または１１９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２２】
前記核酸が、ｍＲＮＡである、請求項１１５　１１８または１１９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２３】
前記核酸が、ＤＮＡである、請求項１１５　１１８または１１９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２４】
前記ＣＡＲが、抗ＣＤ１９　ＣＡＲである、請求項１１９に記載の方法。
【請求項１２５】
前記核酸が、エフェクター増強タンパク質をさらにコードする、請求項１１５、１１８、または１１９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２６】
前記核酸が、複数の核酸である、請求項１１５、１１８、または１１９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２７】
前記細胞が、骨髄系細胞またはリンパ系細胞である、請求項１１５、１１８、または１１９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２８】
前記細胞が、Ｔ細胞、Ｂ細胞、またはナチュラルキラー細胞である、請求項１１５、１１８、または１１９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２９】
前記細胞が、マクロファージ、好酸球、または好中球である、請求項１１５、１１８、または１１９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３０】
前記投与が、静脈内、皮下、または腫瘍内である、請求項１１５、１１８、または１１９のいずれか一項に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【背景技術】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０１８年１１月９日に出願された米国仮特許出願第６２／７５８，４８７号の利益を主張し、参照によりその全体がすべての目的のために本明細書に組み込まれる。
【０００２】
連邦政府の助成による研究開発において行われた発明に対する権利に関する陳述
本発明は、政府の支援を受けて、米国エネルギー省によって付与された契約番号ＤＥ－ＳＣ０００５４３０、米国国立科学財団によって付与された契約番号１３０６７３０、ならびに国立衛生研究所によって付与された契約番号ＣＡ０３１８４１およびＣＡ０３１８４５の下で実施したものである。政府は、本発明における一定の権利を有する。
【０００３】

ＡＳＣＩＩテキストファイルとして提出される配列表、表、またはコンピュータプログラムリスト付録の参照
ファイル０４１２４３－５３３００１ＷＯ＿ＳＥＱＵＥＮＣＥ＿ＬＩＳＴＩＮＧ＿ＳＴ２５．ＴＸＴ（２０１９年１１月１１日作成、６，９９２バイト、機械フォーマットＩＢＭ－ＰＣ、ＭＳ Ｗｉｎｄｏｗｓオペレーティングシステム）に記載の配列表が、参照により本明細書に組み込まれる。

【０００４】

広範な臨床用途、診断用途および／または研究用途で必要とされるのに応じて、細胞膜とその他の生物的バリアを越えて、治療剤、診断プローブおよび／または研究ツールを送達することを可能にしたり、またはこれを促進したりする新たな材料と方策に対するニーズが存在する。そのようなカーゴ、例えば核酸の送達には、感染症に対するワクチン接種策、癌免疫療法、タンパク質療法および遺伝子編集との関連で、かなりの臨床上の可能性がある。本明細書で提供されるのは、これら問題および当該技術分野における他の問題に対する解決策である。

【発明の概要】

【０００５】

第１の態様では、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合した核酸を含む細胞透過性複合体であって、ｐＨ感受性犠牲ドメインを含むカチオン性両親媒性ポリマーが提供される。

【０００６】

別の態様では、本明細書に開示されるような複数の細胞透過性複合体を含むナノ粒子組成物が提供される。

【０００７】

別の態様では、以下の式のカチオン性両親媒性ポリマーであって、
Ｈ－Ｌ^{1}－［（ＬＰ^{1}）$_{z1}$－（ＩＭ）$_{z2}$－（ＬＰ^{2}）$_{z3}$］$_{z4}$－Ｌ^{2}－Ｈ（Ｉ）、
式中、Ｌ^{1}およびＬ^{2}が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、ＬＰ^{1}およびＬＰ^{2}が、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、ＬＰ^{1}またはＬＰ^{2}のうちの少なくとも１つが、親油性ポリマードメインであり、ＩＭが、ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、ｚ２が、２～１００の整数である、カチオン性両親媒性ポリマーが提供される。実施形態では、Ｌ^{1}は、置換または非置換アルキレンである。実施形態では、Ｌ^{1}は、ペプチド（例えば、アミノ酸配列）である。

【０００８】

別の態様では、以下の式のカチオン性両親媒性ポリマーであって、
Ｈ－Ｌ^{1}－［（ＬＰ^{1}）$_{z1}$－（ＬＰ^{3}）$_{z1a}$－（ＩＭ）$_{z2}$－（ＬＰ^{2}）$_{z3}$－（ＬＰ^{4}）$_{z3b}$］$_{z4}$－Ｌ^{2}－Ｈ（Ｉ）、式中、Ｌ^{1}およびＬ^{2}が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、ＬＰ^{1}、ＬＰ^{2}、ＬＰ^{3}、およびＬＰ^{4}が、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、ＬＰ^{1}、ＬＰ^{2}、ＬＰ^{3}、およびＬＰ^{4}のうちの少なくとも１つが、親油性ポリマードメインであり、ＩＭが、ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、ｚ１、ｚ１ａ、ｚ３、およびｚ３ｂが、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１、ｚ１ａ、ｚ３、およびｚ３ａのうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり

、ｚ２が、２～１００の整数である、カチオン性両親媒性ポリマーが提供される。実施形態では、Ｌ１は、置換または非置換アルキレンである。実施形態では、Ｌ１は、ペプチド（例えば、アミノ酸配列）である。

【０００９】

別の態様では、核酸を細胞にトランスフェクトする方法であって、細胞を本明細書に開示されるような複合体と接触させることを含む方法が提供される。

【００１０】

別の態様では、以下の式のカチオン性両親媒性ポリマーであって、Ｒ１Ａ－［Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＩＭ）ｚ２－（ＬＰ２）ｚ３］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａ］ｚ５、式中、Ｒ１Ａが、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、Ｒ２Ａが、独立して、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、Ｌ１およびＬ２が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、ＬＰ１およびＬＰ２が、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、ＬＰ１またはＬＰ２のうちの少なくとも１つが、親油性ポリマードメインであり、ＩＭが、独立して、ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、ｚ５が、１～１０の整数であり、ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、ｚ２が、独立して、２～１００の整数である、カチオン性両親媒性ポリマーが提供される。実施形態では、Ｒ１Ａは、水素である。Ｒ１Ａが水素の場合、ｚ５は、１である。

【００１１】

別の態様では、免疫応答の誘導を必要とする対象においてそれを誘導する方法であって、有効量の本明細書に開示される細胞透過性複合体を投与することを含む方法が提供される。

【図面の簡単な説明】

【００１２】

【図１】ＣＡＲＴ系を安定的にトランスフェクトした後の細胞の平均輝度（ｐ／ｓ／ｃｍ

２／ｓｒ）を示すデータを示している。
【図２】ＣＡＲＴと、ＣＡＲＴとアジュバントとを組み合わせたものの抗腫瘍免疫原性を示すデータを示している。
【図３Ａ】予防ワクチン接種策の有効性を示すデータを示している。図３Ａ：腫瘍サイズのグラフ、図３Ｂ：生存率のグラフ、図３Ｃ：ＴＳＡ発現Ａ２０リンパ腫で再チャレンジしたマウスの腫瘍サイズのグラフ（注：重複線は別々に示されており、黒色線の値はすべてゼロである）。
【図３Ｂ】予防ワクチン接種策の有効性を示すデータを示している。図３Ａ：腫瘍サイズのグラフ、図３Ｂ：生存率のグラフ、図３Ｃ：ＴＳＡ発現Ａ２０リンパ腫で再チャレンジしたマウスの腫瘍サイズのグラフ（注：重複線は別々に示されており、黒色線の値はすべてゼロである）。
【図３Ｃ】予防ワクチン接種策の有効性を示すデータを示している。図３Ａ：腫瘍サイズのグラフ、図３Ｂ：生存率のグラフ、図３Ｃ：ＴＳＡ発現Ａ２０リンパ腫で再チャレンジしたマウスの腫瘍サイズのグラフ（注：重複線は別々に示されており、黒色線の値はすべてゼロである）。
【図４Ａ】予め確立された腫瘍サイズおよび生存率データを示している（初回ワクチン接種７日目、追加免疫１０日目および１３日目）。図４Ａ：腫瘍サイズデータ。図４Ｂ：生存曲線データ。
【図４Ｂ】予め確立された腫瘍サイズおよび生存率データを示している（初回ワクチン接種７日目、追加免疫１０日目および１３日目）。図４Ａ：腫瘍サイズデータ。図４Ｂ：生存曲線データ。
【図５Ａ】ＣＡＲＴと、免疫刺激タンパク質をコードするｍＲＮＡとを用いたｉｎ　ｓｉｔｕワクチン接種を示すデータを示している。
【図５Ｂ】ＣＡＲＴと、免疫刺激タンパク質をコードするｍＲＮＡとを用いたｉｎ　ｓｉｔｕワクチン接種を示すデータを示している。
【図６】ｍＲＮＡ送達のための電荷変動性放出性トランスポーター（ＣＡＲＴ）を示す図を示している。
【図７Ａ】ｍＲＮＡの送達のために合成されたオリゴ（カーボネート－ｂ－α－アミノエステル）ＣＡＲＴを示している。図７Ａ）アミド形成のためのタンデム５員、次に６員遷移状態を介したオリゴ（α－アミノエステル）の転位機序。図７Ｂ）環状カーボネートおよびエステルモノマーのＯＲＯＰを介した、ｍＲＮＡ送達のためのオリゴ（カーボネート－ｂ－α－アミノエステル）ＣＡＲＴの合成。図７Ｃ）以前に報告されたＯＲＯＰ手法によって合成された両親媒性オリゴ（カーボネート）。
【図７Ｂ】ｍＲＮＡの送達のために合成されたオリゴ（カーボネート－ｂ－α－アミノエステル）ＣＡＲＴを示している。図７Ａ）アミド形成のためのタンデム５員、次に６員遷移状態を介したオリゴ（α－アミノエステル）の転位機序。図７Ｂ）環状カーボネートおよびエステルモノマーのＯＲＯＰを介した、ｍＲＮＡ送達のためのオリゴ（カーボネート－ｂ－α－アミノエステル）ＣＡＲＴの合成。図７Ｃ）以前に報告されたＯＲＯＰ手法によって合成された両親媒性オリゴ（カーボネート）。
【図７Ｃ】ｍＲＮＡの送達のために合成されたオリゴ（カーボネート－ｂ－α－アミノエステル）ＣＡＲＴを示している。図７Ａ）アミド形成のためのタンデム５員、次に６員遷移状態を介したオリゴ（α－アミノエステル）の転位機序。図７Ｂ）環状カーボネートおよびエステルモノマーのＯＲＯＰを介した、ｍＲＮＡ送達のためのオリゴ（カーボネート－ｂ－α－アミノエステル）ＣＡＲＴの合成。図７Ｃ）以前に報告されたＯＲＯＰ手法によって合成された両親媒性オリゴ（カーボネート）。
【図８Ａ】オリゴ（α－アミノエステル）ＣＡＲＴの転位機序の探索を示している。図８Ａ）ブロックコオリゴマーのα－アミノエステル部位の自己犠牲転位によって、結合した開始剤および小分子ＨＥＧＤ２とともに、無傷の親油性オリゴカーボネートブロックが得られる。図８Ｂ）独立して合成されたＤ１５ホモオリゴマー１１と比較した、保護ブロックコオリゴマーＰｙｒ－Ｄ１５：Ａ１２　１０と、脱保護および塩基触媒転位後のＧＰＣ

トレース。
【図８Ｂ】オリゴ（α－アミノエステル）ＣＡＲＴの転位機序の探索を示している。図８Ａ）ブロックコオリゴマーのα－アミノエステル部位の自己犠牲転位によって、結合した開始剤および小分子ＨＥＧＤ２とともに、無傷の親油性オリゴカーボネートブロックが得られる。図８Ｂ）独立して合成されたＤ１５ホモオリゴマー１１と比較した、保護ブロックコオリゴマーＰｙｒ－Ｄ１５：Ａ１２　１０と、脱保護および塩基触媒転位後のＧＰＣトレース。
【図９Ａ】ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡ送達のためのＣＡＲＴの評価に関連するデータを示す。図９Ａ）様々なトランスポーターで処理したＨｅＬａ細胞からのフローサイトメトリー決定された平均ｅＧＦＰ蛍光値。図９Ｂ）ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡトランスポーターで処理したＨｅＬａ細胞におけるトランスフェクション％を示すｅＧＦＰ蛍光値の代表的なフローサイトメトリーヒストグラム。図９Ｃ）Ｄ１３：Ａ１１　７によるｍＲＮＡ送達に起因するｅＧＦＰ発現の電荷比の効果。図９Ｄ）ネイキッドｍＲＮＡ、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅと複合体を形成させたｍＲＮＡ、またはＤ１３：Ａ１１　７と複合体を形成させたｍＲＮＡで処理したＨｅＬａ細胞の落射蛍光顕微鏡画像。示されているすべてのデータは、２４ウェルプレートにおいて８時間、０．１２５μｇ／ウェルのｍＲＮＡ濃度で処理したＨｅＬａ細胞におけるものである。
【図９Ｂ】ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡ送達のためのＣＡＲＴの評価に関連するデータを示す。図９Ａ）様々なトランスポーターで処理したＨｅＬａ細胞からのフローサイトメトリー決定された平均ｅＧＦＰ蛍光値。図９Ｂ）ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡトランスポーターで処理したＨｅＬａ細胞におけるトランスフェクション％を示すｅＧＦＰ蛍光値の代表的なフローサイトメトリーヒストグラム。図９Ｃ）Ｄ１３：Ａ１１　７によるｍＲＮＡ送達に起因するｅＧＦＰ発現の電荷比の効果。図９Ｄ）ネイキッドｍＲＮＡ、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅと複合体を形成させたｍＲＮＡ、またはＤ１３：Ａ１１　７と複合体を形成させたｍＲＮＡで処理したＨｅＬａ細胞の落射蛍光顕微鏡画像。示されているすべてのデータは、２４ウェルプレートにおいて８時間、０．１２５μｇ／ウェルのｍＲＮＡ濃度で処理したＨｅＬａ細胞におけるものである。
【図９Ｃ】ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡ送達のためのＣＡＲＴの評価に関連するデータを示す。図９Ａ）様々なトランスポーターで処理したＨｅＬａ細胞からのフローサイトメトリー決定された平均ｅＧＦＰ蛍光値。図９Ｂ）ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡトランスポーターで処理したＨｅＬａ細胞におけるトランスフェクション％を示すｅＧＦＰ蛍光値の代表的なフローサイトメトリーヒストグラム。図９Ｃ）Ｄ１３：Ａ１１　７によるｍＲＮＡ送達に起因するｅＧＦＰ発現の電荷比の効果。図９Ｄ）ネイキッドｍＲＮＡ、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅと複合体を形成させたｍＲＮＡ、またはＤ１３：Ａ１１　７と複合体を形成させたｍＲＮＡで処理したＨｅＬａ細胞の落射蛍光顕微鏡画像。示されているすべてのデータは、２４ウェルプレートにおいて８時間、０．１２５μｇ／ウェルのｍＲＮＡ濃度で処理したＨｅＬａ細胞におけるものである。
【図９Ｄ】ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡ送達のためのＣＡＲＴの評価に関連するデータを示す。図９Ａ）様々なトランスポーターで処理したＨｅＬａ細胞からのフローサイトメトリー決定された平均ｅＧＦＰ蛍光値。図９Ｂ）ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡトランスポーターで処理したＨｅＬａ細胞におけるトランスフェクション％を示すｅＧＦＰ蛍光値の代表的なフローサイトメトリーヒストグラム。図９Ｃ）Ｄ１３：Ａ１１　７によるｍＲＮＡ送達に起因するｅＧＦＰ発現の電荷比の効果。図９Ｄ）ネイキッドｍＲＮＡ、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅと複合体を形成させたｍＲＮＡ、またはＤ１３：Ａ１１　７と複合体を形成させたｍＲＮＡで処理したＨｅＬａ細胞の落射蛍光顕微鏡画像。示されているすべてのデータは、２４ウェルプレートにおいて８時間、０．１２５μｇ／ウェルのｍＲＮＡ濃度で処理したＨｅＬａ細胞におけるものである。
【図１０Ａ】ｍＲＮＡの発現が、ＣＡＲＴオリゴマーによる、ｍＲＮＡの放出およびエンドソームの脱出を駆動する電荷変動性自己犠牲機序によるものであることを示している。図１０Ａ）エンドサイトーシスを阻害する条件である４℃でのＣｙ５－ｍＲＮＡ／Ｄ１３

：Ａ１１７の複合体の取り込み。図１０Ｂ）分解性および非分解性トランスポーター系で形成された複合体での処理後のｅＧＦＰ　ｍＲＮＡの相対的な取り込み量と発現量。塗りつぶしたバーは、ＧＦＰ発現を表し、白抜きのバーは、Ｃｙ５－ｍＲＮＡの蛍光を表している。図１０Ｃ）エンドソームの酸性化を阻害することが知られている化合物（コンカナマイシンＡ、ＣｏｎＡ）とエンドソーム破裂剤（クロロキン、Ｃｈｌ）で、ｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１　７の複合体を同時処理したときのｅＧＦＰ発現。図１０Ｄ）ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１　７または非放出性オリゴマー７での処理後の細胞の、４時間処理後の共焦点顕微鏡画像。細胞は、トランスポーター／Ｃｙ５－ｍＲＮＡ複合体およびＴＲＩＴＣ－デキストラン４４００で同時処理された。

【図１０Ｂ】ｍＲＮＡの発現が、ＣＡＲＴオリゴマーによる、ｍＲＮＡの放出およびエンドソームの脱出を駆動する電荷変動性自己犠牲機序によるものであることを示している。図１０Ａ）エンドサイトーシスを阻害する条件である４℃でのＣｙ５－ｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１７の複合体の取り込み。図１０Ｂ）分解性および非分解性トランスポーター系で形成された複合体での処理後のｅＧＦＰ　ｍＲＮＡの相対的な取り込み量と発現量。塗りつぶしたバーは、ＧＦＰ発現を表し、白抜きのバーは、Ｃｙ５－ｍＲＮＡの蛍光を表している。図１０Ｃ）エンドソームの酸性化を阻害することが知られている化合物（コンカナマイシンＡ、ＣｏｎＡ）とエンドソーム破裂剤（クロロキン、Ｃｈｌ）で、ｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１　７の複合体を同時処理したときのｅＧＦＰ発現。図１０Ｄ）ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１　７または非放出性オリゴマー７での処理後の細胞の、４時間処理後の共焦点顕微鏡画像。細胞は、トランスポーター／Ｃｙ５－ｍＲＮＡ複合体およびＴＲＩＴＣ－デキストラン４４００で同時処理された。

【図１０Ｃ】ｍＲＮＡの発現が、ＣＡＲＴオリゴマーによる、ｍＲＮＡの放出およびエンドソームの脱出を駆動する電荷変動性自己犠牲機序によるものであることを示している。図１０Ａ）エンドサイトーシスを阻害する条件である４℃でのＣｙ５－ｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１７の複合体の取り込み。図１０Ｂ）分解性および非分解性トランスポーター系で形成された複合体での処理後のｅＧＦＰ　ｍＲＮＡの相対的な取り込み量と発現量。塗りつぶしたバーは、ＧＦＰ発現を表し、白抜きのバーは、Ｃｙ５－ｍＲＮＡの蛍光を表している。図１０Ｃ）エンドソームの酸性化を阻害することが知られている化合物（コンカナマイシンＡ、ＣｏｎＡ）とエンドソーム破裂剤（クロロキン、Ｃｈｌ）で、ｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１　７の複合体を同時処理したときのｅＧＦＰ発現。図１０Ｄ）ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１　７または非放出性オリゴマー７での処理後の細胞の、４時間処理後の共焦点顕微鏡画像。細胞は、トランスポーター／Ｃｙ５－ｍＲＮＡ複合体およびＴＲＩＴＣ－デキストラン４４００で同時処理された。

【図１０Ｄ】ｍＲＮＡの発現が、ＣＡＲＴオリゴマーによる、ｍＲＮＡの放出およびエンドソームの脱出を駆動する電荷変動性自己犠牲機序によるものであることを示している。図１０Ａ）エンドサイトーシスを阻害する条件である４℃でのＣｙ５－ｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１７の複合体の取り込み。図１０Ｂ）分解性および非分解性トランスポーター系で形成された複合体での処理後のｅＧＦＰ　ｍＲＮＡの相対的な取り込み量と発現量。塗りつぶしたバーは、ＧＦＰ発現を表し、白抜きのバーは、Ｃｙ５－ｍＲＮＡの蛍光を表している。図１０Ｃ）エンドソームの酸性化を阻害することが知られている化合物（コンカナマイシンＡ、ＣｏｎＡ）とエンドソーム破裂剤（クロロキン、Ｃｈｌ）で、ｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１　７の複合体を同時処理したときのｅＧＦＰ発現。図１０Ｄ）ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１　７または非放出性オリゴマー７での処理後の細胞の、４時間処理後の共焦点顕微鏡画像。細胞は、トランスポーター／Ｃｙ５－ｍＲＮＡ複合体およびＴＲＩＴＣ－デキストラン４４００で同時処理された。

【図１１Ａ】複数の細胞株およびマウスにおいてＣＡＲＴを用いたｍＲＮＡ送達の応用を示している。図１１Ａ）ＨｅＬａ（Ａ）、Ｊ７７４（Ｂ）、ＨＥＫ２９３（Ｃ）、ＣＨＯ（Ｄ）およびＨｅｐＧ２（Ｅ）細胞株における、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅと比較したＤ１３：Ａ１１＃＃による、ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡ送達のトランスフェクション効率。図１１Ｂ）ＣＡＲＴ７による、Ｆｌｕｃ　ｍＲＮＡの送達は、電荷比において、ｅＧＦＰと同

じ傾向に従う。電荷は、理論的（＋／－）比として報告されている。図１１Ｃ）ネイキッドＦｌｕｃ　ｍＲＮＡ（白抜きの円）およびｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１＃＃複合体（塗りつぶした円）の筋肉内注射後のインビボＢＬＩ。バーは、すべての動物（１時間、４時間および７時間のｎ＝３、２４時間および４８時間のｎ＝５）の平均を表している。図１１Ｄ）ネイキッドｍＲＮＡ（左側腹部）またはｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体（右側腹部）の筋肉内注射後の代表的な生物発光画像。図１１Ｅ）ネイキッドｍＲＮＡ（白抜きの円）およびｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体（塗りつぶした円）の尾静脈内注射後のインビボＢＬＩ。バーは、すべての動物（１時間および７時間のｎ＝２、４時間、２４時間および４８時間のｎ＝４）の平均を表している。点線は、Ｄ－ルシフェリンを注射されていない動物からのバックグラウンドの生物発光シグナルである。図１１Ｆ）尾静脈内注射を介して、ｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１複合体で処理したマウスの代表的な生物発光画像。

【図１１Ｂ】複数の細胞株およびマウスにおいてＣＡＲＴを用いたｍＲＮＡ送達の応用を示している。図１１Ａ）ＨｅＬａ（Ａ）、Ｊ７７４（Ｂ）、ＨＥＫ２９３（Ｃ）、ＣＨＯ（Ｄ）およびＨｅｐＧ２（Ｅ）細胞株における、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅと比較したＤ１３：Ａ１１＃＃による、ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡ送達のトランスフェクション効率。図１１Ｂ）ＣＡＲＴ７による、Ｆｌｕｃ　ｍＲＮＡの送達は、電荷比において、ｅＧＦＰと同じ傾向に従う。電荷は、理論的（＋／－）比として報告されている。図１１Ｃ）ネイキッドＦｌｕｃ　ｍＲＮＡ（白抜きの円）およびｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１＃＃複合体（塗りつぶした円）の筋肉内注射後のインビボＢＬＩ。バーは、すべての動物（１時間、４時間および７時間のｎ＝３、２４時間および４８時間のｎ＝５）の平均を表している。図１１Ｄ）ネイキッドｍＲＮＡ（左側腹部）またはｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体（右側腹部）の筋肉内注射後の代表的な生物発光画像。図１１Ｅ）ネイキッドｍＲＮＡ（白抜きの円）およびｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体（塗りつぶした円）の尾静脈内注射後のインビボＢＬＩ。バーは、すべての動物（１時間および７時間のｎ＝２、４時間、２４時間および４８時間のｎ＝４）の平均を表している。点線は、Ｄ－ルシフェリンを注射されていない動物からのバックグラウンドの生物発光シグナルである。図１１Ｆ）尾静脈内注射を介して、ｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１複合体で処理したマウスの代表的な生物発光画像。

【図１１Ｃ】複数の細胞株およびマウスにおいてＣＡＲＴを用いたｍＲＮＡ送達の応用を示している。図１１Ａ）ＨｅＬａ（Ａ）、Ｊ７７４（Ｂ）、ＨＥＫ２９３（Ｃ）、ＣＨＯ（Ｄ）およびＨｅｐＧ２（Ｅ）細胞株における、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅと比較したＤ１３：Ａ１１＃＃による、ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡ送達のトランスフェクション効率。図１１Ｂ）ＣＡＲＴ７による、Ｆｌｕｃ　ｍＲＮＡの送達は、電荷比において、ｅＧＦＰと同じ傾向に従う。電荷は、理論的（＋／－）比として報告されている。図１１Ｃ）ネイキッドＦｌｕｃ　ｍＲＮＡ（白抜きの円）およびｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１＃＃複合体（塗りつぶした円）の筋肉内注射後のインビボＢＬＩ。バーは、すべての動物（１時間、４時間および７時間のｎ＝３、２４時間および４８時間のｎ＝５）の平均を表している。図１１Ｄ）ネイキッドｍＲＮＡ（左側腹部）またはｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体（右側腹部）の筋肉内注射後の代表的な生物発光画像。図１１Ｅ）ネイキッドｍＲＮＡ（白抜きの円）およびｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体（塗りつぶした円）の尾静脈内注射後のインビボＢＬＩ。バーは、すべての動物（１時間および７時間のｎ＝２、４時間、２４時間および４８時間のｎ＝４）の平均を表している。点線は、Ｄ－ルシフェリンを注射されていない動物からのバックグラウンドの生物発光シグナルである。図１１Ｆ）尾静脈内注射を介して、ｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１複合体で処理したマウスの代表的な生物発光画像。

【図１１Ｄ】複数の細胞株およびマウスにおいてＣＡＲＴを用いたｍＲＮＡ送達の応用を示している。図１１Ａ）ＨｅＬａ（Ａ）、Ｊ７７４（Ｂ）、ＨＥＫ２９３（Ｃ）、ＣＨＯ（Ｄ）およびＨｅｐＧ２（Ｅ）細胞株における、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅと比較したＤ１３：Ａ１１＃＃による、ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡ送達のトランスフェクション効率。図１１Ｂ）ＣＡＲＴ７による、Ｆｌｕｃ　ｍＲＮＡの送達は、電荷比において、ｅＧＦＰと同じ傾向に従う。電荷は、理論的（＋／－）比として報告されている。図１１Ｃ）ネイキッドＦｌｕｃ　ｍＲＮＡ（白抜きの円）およびｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１＃＃複合体（塗り

つぶした円）の筋肉内注射後のインビボＢＬＩ。バーは、すべての動物（１時間、４時間および７時間のｎ＝３、２４時間および４８時間のｎ＝５）の平均を表している。図１１Ｄ）ネイキッドｍＲＮＡ（左側腹部）またはｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体（右側腹部）の筋肉内注射後の代表的な生物発光画像。図１１Ｅ）ネイキッドｍＲＮＡ（白抜きの円）およびｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体（塗りつぶした円）の尾静脈内注射後のインビボＢＬＩ。バーは、すべての動物（１時間および７時間のｎ＝２、４時間、２４時間および４８時間のｎ＝４）の平均を表している。点線は、Ｄ－ルシフェリンを注射されていない動物からのバックグラウンドの生物発光シグナルである。図１１Ｆ）尾静脈内注射を介して、ｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１複合体で処理したマウスの代表的な生物発光画像。

【図１１Ｅ】複数の細胞株およびマウスにおいてＣＡＲＴを用いたｍＲＮＡ送達の応用を示している。図１１Ａ）ＨｅＬａ（Ａ）、Ｊ７７４（Ｂ）、ＨＥＫ２９３（Ｃ）、ＣＨＯ（Ｄ）およびＨｅｐＧ２（Ｅ）細胞株における、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅと比較したＤ１３：Ａ１１＃＃による、ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡ送達のトランスフェクション効率。図１１Ｂ）ＣＡＲＴ７による、Ｆｌｕｃ　ｍＲＮＡの送達は、電荷比において、ｅＧＦＰと同じ傾向に従う。電荷は、理論的（＋／－）比として報告されている。図１１Ｃ）ネイキッドＦｌｕｃ　ｍＲＮＡ（白抜きの円）およびｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１＃＃複合体（塗りつぶした円）の筋肉内注射後のインビボＢＬＩ。バーは、すべての動物（１時間、４時間および７時間のｎ＝３、２４時間および４８時間のｎ＝５）の平均を表している。図１１Ｄ）ネイキッドｍＲＮＡ（左側腹部）またはｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体（右側腹部）の筋肉内注射後の代表的な生物発光画像。図１１Ｅ）ネイキッドｍＲＮＡ（白抜きの円）およびｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体（塗りつぶした円）の尾静脈内注射後のインビボＢＬＩ。バーは、すべての動物（１時間および７時間のｎ＝２、４時間、２４時間および４８時間のｎ＝４）の平均を表している。点線は、Ｄ－ルシフェリンを注射されていない動物からのバックグラウンドの生物発光シグナルである。図１１Ｆ）尾静脈内注射を介して、ｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１複合体で処理したマウスの代表的な生物発光画像。

【図１１Ｆ】複数の細胞株およびマウスにおいてＣＡＲＴを用いたｍＲＮＡ送達の応用を示している。図１１Ａ）ＨｅＬａ（Ａ）、Ｊ７７４（Ｂ）、ＨＥＫ２９３（Ｃ）、ＣＨＯ（Ｄ）およびＨｅｐＧ２（Ｅ）細胞株における、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅと比較したＤ１３：Ａ１１＃＃による、ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡ送達のトランスフェクション効率。図１１Ｂ）ＣＡＲＴ７による、Ｆｌｕｃ　ｍＲＮＡの送達は、電荷比において、ｅＧＦＰと同じ傾向に従う。電荷は、理論的（＋／－）比として報告されている。図１１Ｃ）ネイキッドＦｌｕｃ　ｍＲＮＡ（白抜きの円）およびｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１＃＃複合体（塗りつぶした円）の筋肉内注射後のインビボＢＬＩ。バーは、すべての動物（１時間、４時間および７時間のｎ＝３、２４時間および４８時間のｎ＝５）の平均を表している。図１１Ｄ）ネイキッドｍＲＮＡ（左側腹部）またはｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体（右側腹部）の筋肉内注射後の代表的な生物発光画像。図１１Ｅ）ネイキッドｍＲＮＡ（白抜きの円）およびｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体（塗りつぶした円）の尾静脈内注射後のインビボＢＬＩ。バーは、すべての動物（１時間および７時間のｎ＝２、４時間、２４時間および４８時間のｎ＝４）の平均を表している。点線は、Ｄ－ルシフェリンを注射されていない動物からのバックグラウンドの生物発光シグナルである。図１１Ｆ）尾静脈内注射を介して、ｍＲＮＡ／Ｄ１３：Ａ１１複合体で処理したマウスの代表的な生物発光画像。

【図１２】ＢＤＫ－ＣＡＲＴ－Ｆｌｕｃ　ｍＲＮＡでトランスフェクトしたマウスのインビボ生物発光画像。マウスに、ＢＤＫ（蛍光）ＣＡＲＴでパッケージされた５ｕｇのＦｌｕｃ　ｍＲＮＡを含む１５０ｕＬのＰＢＳを尾静脈から注射した。１．生物発光分布のためにマウスを画像化した。２．マウスを犠牲にし、肝臓の脾臓および肺を採取した。これらの器官からのＢＬＩの定量化により、脾臓と（肝臓＋肺）の相対比が、９９：１（９９％）であることが明らかになった。３．これらのマウスからの脾臓を採取し、均質化した。ＢＤＫフルオロフォアのフローサイトメトリーゲーティングを使用して、脾臓からの細胞集団を表現型決定した。

【図１３】抗ＣＤ－１９発現Ｔ細胞（ＣＡＲ－Ｔ細胞）は、ＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ－ＣＡ

ＲＴ送達によりインビボで産生される。細胞表面にＣＡＲ－１９コンストラクトを発現する各細胞系統の集団の割合（上段）５ｕｇのＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴで処理したマウス（下段）５ｕｇの無関係な（ＳＥＡＰ）ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴで処理したマウス。細胞は、処理の３６時間後にアッセイされた。ＣＡＲ１９コンストラクトを取得した場合、Ｔ細胞以外の細胞株も治療効果に寄与する可能性があることを提唱する。　ＣＡＲ－１９コンストラクトは、複数のリンパ球系統に送達され、発現される。１．）マウスに５ｕｇのＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴまたは無関係なｍＲＮＡ－ＣＡＲＴ（１０：１＋／－比）を静脈内注射し、２．）注射の２４時間後、脾臓を単離して均質化し、３．）細胞サブセットおよび細胞表面に提示されたＣＡＲ１９コンストラクト（抗ＣＡＲ－１９抗体）を同定するフルオロフォアで、単細胞懸濁液を染色し、４．）フローサイトメトリーを使用して、細胞集団およびＣＡＲ１９タンパク質を発現した同定された集団内の細胞の画分を同定した（ボックスに示されているＣＡＲ１９コンストラクトを発現する集団のパーセント）。重要なことに、ＣＡＲ－１９Ｂ細胞およびＣＡＲ－１９ＮＫ細胞も産生される。ＣＤ－１９発現Ｔ細胞（ＣＡＲ－Ｔ細胞）は、ＣＤ－１９　ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴ送達によりインビボで産生される。

【図１４】ＣＡＲ１９ＣＡＲを発現する細胞は、ＣＤ１９発現細胞を特異的に死滅させる。５μｇのＣＡＲＴ－ＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡで２日連続処置したマウスを犠牲にし、脾臓を採取した。Ｔ細胞は脾臓から分離され、これらのＴ細胞は、ＣＤ１９発現Ａ２０腫瘍細胞と共培養された。エフェクター：標的の比　５：１、１０：１、２０：１。標的細胞の特異的死滅は、４８時間後に評価された。　処置したマウスから単離されたＣＡＲ細胞は、エクスビボでＣＤ１９発現細胞を死滅させる。ＣＤ１９ＣＡＲを発現する細胞は、ＣＤ１９発現細胞を特異的に死滅させる。０日目：５ｕｇのＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴを注射されたマウス。１日目：マウスに５ｕｇのＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴを２回注射した。３日目：Ｔ細胞を脾臓から単離し、腫瘍ＣＤ１９発現腫瘍細胞と５：１、１０：１、および２０：１のエフェクター：標的比で共培養した。５日目：腫瘍特異的死滅が定量化された。

【図１５】ＣＡＲＴ－ＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡで処置したマウスは、腫瘍の劇的な退縮を示している。ルシフェラーゼ発現Ａ２０腫瘍を有するマウスを、１１日間にわたって生物発光（すなわち腫瘍サイズ）について画像化した。左のパネル：無関係なｍＲＮＡ（ＳＥＡＰ）で処置したマウス。右のパネル。ＣＡＲＴ－ＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡで処置したマウス。　インビボでのＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡ送達は、腫瘍を縮小させる。静脈内注射を介してルシフェラーゼ発現Ａ２０リンパ腫細胞を接種したマウス。腫瘍は３日間確立させた。腫瘍のサイズ／進行は、ルシフェラーゼシグナルの強度と直接相関する。マウスに５ｕｇのＣＡＲＴ－ＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡで静脈内処置した。マウスを経時的にモニターし、ルシフェラーゼシグナルの変化について解析した。ＣＡＲＴ－ＣＡＲ１９－ｍＲＮＡで処置したマウスは、腫瘍退縮を示している。日数は、処置開始後の日数として表される。腫瘍接種の３日後に、処置を行った。

【図１６】ＣＡＲＴ－ＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡで処置したマウスは、腫瘍の劇的な退縮を示している。ルシフェラーゼ発現Ａ２０腫瘍を有するマウスを、１４日間にわたって生物発光（すなわち腫瘍サイズ）について画像化した。全身の生物発光は、１４日間にわたって定量化された。ＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴで処置したマウスは、シグナル量の劇的な減少を示しているが、ｃｔｒで処置したマウスは増加した。全身の生物発光は、腫瘍負荷の半定量的測定である。

【図１７】５ｕｇのＣＡＲＴ－ＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡで処置したマウス。５ｕｇの無関係なＳＥＡＰ）、またはＣＡＲＴ－ＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡで処置したマウス。マウスを経時的に腫瘍量についてモニターし、対麻痺、続発性皮下腫瘍、著しく拡大した腹膜および苦痛の外部徴候の発症時に犠牲にした。インビボでのＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡ送達は、生存を大幅に延長する。マウス（前の図から）を経時的に腫瘍量についてモニターし、対麻痺、続発性皮下腫瘍、著しく拡大した腹膜および苦痛の外部徴候の発症時に犠牲にした。示されているデータ：生理食塩水、ＣＡＲＴ－無関係なｍＲＮＡ（ＳＥＡＰ）、または

ＣＡＲＴ－ＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡで処置したマウス。
【図１８】ＣＡＲ１９コンストラクトの静脈内送達により、免疫系はＣＤ１９分子を発現する腫瘍細胞を選択的に死滅させることができる。確立された皮下ＣＤ１９発現またはＣＤ１９陰性腫瘍を有するマウスに、１回のＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴで処置し、７日間にわたって腫瘍の成長／退縮をモニターした。
【図１９】ＣＡＲ１９コンストラクトの腫瘍内送達により、腫瘍浸潤細胞はＣＤ１９発現腫瘍細胞を死滅させることができる。確立された皮下ＣＤ１９発現またはＣＤ１９陰性腫瘍を有するマウスを、腫瘍に１回のＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴで直接処置し、７日間にわたって腫瘍の成長／退縮をモニターした。
【図２０】エクスビボでのＣＡＲ－Ｔ細胞生成の模式図。
【図２１】ｉｎ　ｓｉｔｕ遺伝子操作の模式図。概念：インビボで細胞内に遺伝子（ｍＲＮＡ）を発現させる。この遺伝子はＣＡＲタンパク質をコードする。体内で独自のＣＡＲ－Ｔ細胞を産生する。体外で何もする必要はない。患者から細胞を採取する必要はない。患者の細胞の輸送に費用はかからない。
【図２２】ＣＡＲＴを用いたｍＲＮＡ送達の模式図。必要条件：治療応答が起こすために、Ｔ細胞（またはその他）をトランスフェクトする必要があり、機能性タンパク質を発現させる必要があり、十分な集団がＣＡＲを発現させる必要がある。
【図２３】インビボＣＡＲ－Ｔ細胞プログラミングのためのｍＲＮＡ産生Ｔ細胞および機能的なＣＡＲタンパク質を発現するｍＲＮＡをトランスフェクトするための送達ビヒクルを有する。
【図２４】標準的なＣＡＲ－Ｔ細胞療法（上のパネル）およびインビボのＣＡＲ－Ｔ細胞プログラミング（下のパネル）の概略図。Ｓｔ
【図２５】ＣＡＲコンストラクトのＴ細胞への組み込みおよび細胞内でのＣＡＲをコードする遺伝子のインビボでの発現の模式図。
【図２６】本明細書（その実施形態を含む）で提供されるＣＡＲＴ化合物によって送達されるキメラ抗原受容体分子（例えば、抗マウスＣＤ１９および抗ヒトＣＤ１９ＣＡＲ）の概略図。
【図２７】ＣＡＲＴ－ＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡで処置したマウスは、腫瘍の退縮を示している。マウスに１ｘ１０^{6}個のＬｕｃ発現Ａ２０細胞を静脈内接種した。ルシフェラーゼ発現ＣＤ１９＋Ａ２０腫瘍モデルを有するマウスを、生物発光（すなわち腫瘍サイズ）について画像化した。マウスに、腫瘍チャレンジ後の４および７日目に、ＣＡＲＴ－ＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ、または対照ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで２回静脈内によって処置した。発光画像は、示された時点で撮影された。ＣＡＲ１９ｍ　ＲＮＡ－ＣＡＲＴで処置したマウスは、シグナル量の劇的な減少を示しているが、ＣＲＴで処置したマウスは増加した。全身の生物発光は、腫瘍負荷の半定量的測定である。
【図２８Ａ】Ｃ３８１３（図２８Ａ）およびＡ２０（図２８Ｂ）腫瘍モデルの両方におけるＣＤ１９＋およびＣＤ１９ノックアウトのインビボＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ療法を比較するグラフは、治療応答の特異性を示す。ホタルルシフェラーゼ発現腫瘍細胞からの生物発光を、腫瘍負荷のマーカーとして使用した。ＣＤ１９発現腫瘍のみが、インビボでのＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡ送達の影響を受ける。マウスに、ホタルルシフェラーゼを発現するＷＴ　ＣＤ１９発現３８Ｃ１３またはＡ２０、ＣＤ１９ＫＯ　３８Ｃ１３またはＡ２０　Ｂリンパ腫細胞（マウスあたり１×１０^{6}個）を注射した。図２８Ａ：ＣＡＲＴ－ＣＡＲ１９　ｍＲＮＡまたは対照ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処置された、確立された全身性ＷＴ　ＣＤ１９発現またはＣＤ１９ＫＯ　３８Ｃ１３　Ｂリンパ腫細胞を有するマウスにおける腫瘍負荷／生物発光。ＷＴ　ＣＤ１９＋（黒色の円）、ＣＤ１９ＫＯ（黒色のひし形）、および無関係なｍＲＮＡを有するＣＤ１９＋細胞（白抜きの円）および無関係なｍＲＮＡで処理されたＣＤ１９ＫＯ細胞（白抜きのひし形）。データは、治療開始時に測定された強度に対する生物発光強度の相対的な増加として表される。図２８Ｂ：ＣＡＲＴ－ＣＡＲ１９ｍＲＮＡまたは対照ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処置された、確立された全身性ＷＴ　ＣＤ１９発現またはＣＤ１９ＫＯ　Ａ２０　Ｂリンパ腫細胞を有するマウスにおける長期生存率。

ＷＴ　ＣＤ１９＋（黒色の円）、ＣＤ１９ＫＯ（黒色のひし形）、および無関係なｍＲＮＡを有するＣＤ１９＋細胞（白抜きの円）および無関係なｍＲＮＡで処理されたＣＤ１９ＫＯ細胞（白抜きのひし形）。

【図２８Ｂ】Ｃ３８１３（図２８Ａ）およびＡ２０（図２８Ｂ）腫瘍モデルの両方におけるＣＤ１９＋およびＣＤ１９ノックアウトのインビボＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ療法を比較するグラフは、治療応答の特異性を示す。ホタルルシフェラーゼ発現腫瘍細胞からの生物発光を、腫瘍負荷のマーカーとして使用した。ＣＤ１９発現腫瘍のみが、インビボでのＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡ送達の影響を受ける。マウスに、ホタルルシフェラーゼを発現するＷＴ　ＣＤ１９発現３８Ｃ１３またはＡ２０、ＣＤ１９ＫＯ　３８Ｃ１３またはＡ２０　Ｂリンパ腫細胞（マウスあたり１×１０６個）を注射した。図２８Ａ：ＣＡＲＴ－ＣＡＲ１９　ｍＲＮＡまたは対照ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処置された、確立された全身性ＷＴ　ＣＤ１９発現またはＣＤ１９ＫＯ　３８Ｃ１３　Ｂリンパ腫細胞を有するマウスにおける腫瘍負荷／生物発光。ＷＴ　ＣＤ１９＋（黒色の円）、ＣＤ１９ＫＯ（黒色のひし形）、および無関係なｍＲＮＡを有するＣＤ１９＋細胞（白抜きの円）および無関係なｍＲＮＡで処理されたＣＤ１９ＫＯ細胞（白抜きのひし形）。データは、治療開始時に測定された強度に対する生物発光強度の相対的な増加として表される。図２８Ｂ：ＣＡＲＴ－ＣＡＲ１９　ｍＲＮＡまたは対照ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処置された、確立された全身性ＷＴ　ＣＤ１９発現またはＣＤ１９ＫＯ　Ａ２０　Ｂリンパ腫細胞を有するマウスにおける長期生存率。ＷＴ　ＣＤ１９＋（黒色の円）、ＣＤ１９ＫＯ（黒色のひし形）、および無関係なｍＲＮＡを有するＣＤ１９＋細胞（白抜きの円）および無関係なｍＲＮＡで処理されたＣＤ１９ＫＯ細胞（白抜きのひし形）。

【図２９】ＣＡＲＴ－ＣＡＲ　ｍＲＮＡは、ＣＡＲ１９の一過性発現を誘導し、複数回の療法を可能にする。採血し、ＣＡＲ１９＋細胞は、フローサイトメトリーによって定量化された。概略図は、ＣＡＲ１９＋細胞を標的とするＣＡＲＴを示している（左パネル）。測定は、ＣＡＲＴ無関係なｍＲＮＡまたはＣＡＲＴ－ＣＡＲ１９　ｍＲＮＡのいずれかの投与の１、２、および３日後、ならびに１０ｕｇのＣＡＲＴ－ＣＡＲ１９　ｍＲＮＡの２回目の投与後（右パネル）に行われた。最終測定では、ＣＡＲ－１９＋細胞の再出現が示されている。

【図３０Ａ】ＣＡＲ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡ療法は、腫瘍細胞死滅においてＴ細胞以上に関与する。ＣＡＲ１９　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処理したマクロファージ（図３０Ａ）およびＢ細胞（図３０Ｂ）は、エフェクター対標的細胞比依存的にＣＤ１９発現腫瘍細胞を死滅させることができる。ＣＡＲ１９　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡでの処置時のＣＤ１９発現ＷＴ　Ａ２０担癌マウスにおける長期生存率は、Ｔ細胞の存在に依存しない（図３０Ｃ）。治療開始前にマウスのＴ細胞を枯渇させ、実験を通してａＣＤ４およびａＣＤ８モノクローナル抗体を用いて枯渇を維持した。

【図３０Ｂ】ＣＡＲ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡ療法は、腫瘍細胞死滅においてＴ細胞以上に関与する。ＣＡＲ１９　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処理したマクロファージ（図３０Ａ）およびＢ細胞（図３０Ｂ）は、エフェクター対標的細胞比依存的にＣＤ１９発現腫瘍細胞を死滅させることができる。ＣＡＲ１９　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡでの処置時のＣＤ１９発現ＷＴ　Ａ２０担癌マウスにおける長期生存率は、Ｔ細胞の存在に依存しない（図３０Ｃ）。治療開始前にマウスのＴ細胞を枯渇させ、実験を通してａＣＤ４およびａＣＤ８モノクローナル抗体を用いて枯渇を維持した。

【図３０Ｃ】ＣＡＲ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡ療法は、腫瘍細胞死滅においてＴ細胞以上に関与する。ＣＡＲ１９　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処理したマクロファージ（図３０Ａ）およびＢ細胞（図３０Ｂ）は、エフェクター対標的細胞比依存的にＣＤ１９発現腫瘍細胞を死滅させることができる。ＣＡＲ１９　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡでの処置時のＣＤ１９発現ＷＴ　Ａ２０担癌マウスにおける長期生存率は、Ｔ細胞の存在に依存しない（図３０Ｃ）。治療開始前にマウスのＴ細胞を枯渇させ、実験を通してａＣＤ４およびａＣＤ８モノクローナル抗体を用いて枯渇を維持した。

【図３１Ａ】ヒトＰＢＭＣにおけるＣＡＲＴ－ｍＲＮＡヒト化ＣＡＲ－１９療法は、ヒト

の臨床試験で観察されたネイティブＢ細胞の予想される死滅を示している。バルクのヒトの健康なドナーＰＢＭＣを、エクスビボでヒトＣＡＲ１９　ＣＡＲＴｍＲＮＡで処理した。処理の１２時間後、正常なＣＤ１９発現Ｂ細胞の死滅をフローサイトメトリーで評価した。図３１Ａ：Ｃｔｒ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処理されたＰＢＭＣの代表的なドットプロット。図３１Ｂ：ヒトＣＡＲ１９　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処理されたＰＢＭＣの代表的なドットプロット。図３１Ｃ：Ｃｔｒ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処理されたＰＢＭＣおよびヒトＣＡＲ１９　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処理されたＰＢＭＣに残された生存ＣＤ１９発現Ｂ細胞の総数。ｎ＝５の個別の複製。

【図３１Ｂ】ヒトＰＢＭＣにおけるＣＡＲＴ－ｍＲＮＡヒト化ＣＡＲ－１９療法は、ヒトの臨床試験で観察されたネイティブＢ細胞の予想される死滅を示している。バルクのヒトの健康なドナーＰＢＭＣを、エクスビボでヒトＣＡＲ１９　ＣＡＲＴｍＲＮＡで処理した。処理の１２時間後、正常なＣＤ１９発現Ｂ細胞の死滅をフローサイトメトリーで評価した。図３１Ａ：Ｃｔｒ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処理されたＰＢＭＣの代表的なドットプロット。図３１Ｂ：ヒトＣＡＲ１９　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処理されたＰＢＭＣの代表的なドットプロット。図３１Ｃ：Ｃｔｒ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処理されたＰＢＭＣおよびヒトＣＡＲ１９　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処理されたＰＢＭＣに残された生存ＣＤ１９発現Ｂ細胞の総数。ｎ＝５の個別の複製。

【図３１Ｃ】ヒトＰＢＭＣにおけるＣＡＲＴ－ｍＲＮＡヒト化ＣＡＲ－１９療法は、ヒトの臨床試験で観察されたネイティブＢ細胞の予想される死滅を示している。バルクのヒトの健康なドナーＰＢＭＣを、エクスビボでヒトＣＡＲ１９　ＣＡＲＴｍＲＮＡで処理した。処理の１２時間後、正常なＣＤ１９発現Ｂ細胞の死滅をフローサイトメトリーで評価した。図３１Ａ：Ｃｔｒ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処理されたＰＢＭＣの代表的なドットプロット。図３１Ｂ：ヒトＣＡＲ１９　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処理されたＰＢＭＣの代表的なドットプロット。図３１Ｃ：Ｃｔｒ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処理されたＰＢＭＣおよびヒトＣＡＲ１９　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡで処理されたＰＢＭＣに残された生存ＣＤ１９発現Ｂ細胞の総数。ｎ＝５の個別の複製。

【図３２】本明細書（その実施形態を含む）で提供される細胞透過性複合体に含まれる例示的なキメラ抗原受容体の概略図。

【図３３】本明細書（その実施形態を含む）で提供される細胞透過性複合体に含まれる例示的な受容体分子の概略図。

【図３４Ａ】Ｂ細胞枯渇アッセイ腫瘍が確立されてから４日後、ＣＡＲ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡの初回投与が行われた。示された時点で、ＣＡＲ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡを静脈内投与した。循環ＣＤ１９発現Ｂ細胞を示された日に定量化した。ＣＡＲ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡ処理は、循環ＣＤ１９発現Ｂ細胞の減少をもたらしたが、対照ｍＲＮＡ（ＳＥＡＰ）の投与によりベースラインに留まった（図３４Ａ）。Ｔ細胞数は、影響を受けなかった（図３４Ｂ）。

【図３４Ｂ】Ｂ細胞枯渇アッセイ腫瘍が確立されてから４日後、ＣＡＲ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡの初回投与が行われた。示された時点で、ＣＡＲ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡを静脈内投与した。循環ＣＤ１９発現Ｂ細胞を示された日に定量化した。ＣＡＲ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡ処理は、循環ＣＤ１９発現Ｂ細胞の減少をもたらしたが、対照ｍＲＮＡ（ＳＥＡＰ）の投与によりベースラインに留まった（図３４Ａ）。Ｔ細胞数は、影響を受けなかった（図３４Ｂ）。

【図３５Ａ】ＣＡＲ１９＋細胞の割合は、Ｂ細胞枯渇と相関している。ＣＡＲＴ－ＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡで処理した後の内因性ＣＤ１９発現Ｂ細胞定量化。図３５Ａ：増加したＣＡＲ－１９＋細胞は、全身性Ｂ細胞の減少と相関している。図３５Ｂ：枯渇していないＢ細胞は、低いＣＤ１９発現を示し、より高いＣＤ１９発現細胞の選択的枯渇を示している。

【図３５Ｂ】ＣＡＲ１９＋細胞の割合は、Ｂ細胞枯渇と相関している。ＣＡＲＴ－ＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡで処理した後の内因性ＣＤ１９発現Ｂ細胞定量化。図３５Ａ：増加したＣＡＲ－１９＋細胞は、全身性Ｂ細胞の減少と相関している。図３５Ｂ：枯渇していない

Ｂ細胞は、低いＣＤ１９発現を示し、より高いＣＤ１９発現細胞の選択的枯渇を示している。
【図３６Ａ】標的抗原ＣＤ１９は、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ９技術を用いて、Ａ２０（図３６Ａ）および３８Ｃ１３（図３６Ｂ）から除去された。グラフは、ＣＤ－１９発現細胞（上の曲線）、アイソタイプ対照（中央の曲線）、ＣＤ－１９ノックアウト（下の曲線）を示している。ＷＴ　Ａ２０および３８Ｃ１３は、表面に中レベルから高レベルのＣＤ１９を発現する（上の曲線）。
【図３６Ｂ】標的抗原ＣＤ１９は、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ９技術を用いて、Ａ２０（図３６Ａ）および３８Ｃ１３（図３６Ｂ）から除去された。グラフは、ＣＤ－１９発現細胞（上の曲線）、アイソタイプ対照（中央の曲線）、ＣＤ－１９ノックアウト（下の曲線）を示している。ＷＴ　Ａ２０および３８Ｃ１３は、表面に中レベルから高レベルのＣＤ１９を発現する（上の曲線）。
【図３７】ＤＮＡおよびｍＲＮＡは効果的な治療処理ビヒクル－ｐＤＮＡ（Ｂ）ビヒクル－ｍＲＮＡ（Ａ）ＣＡＲ１９－ＲＮＡ（Ｃ）およびＣＡＲ１９－ＤＮＡ（Ｄ）を提供する。確立したＣＤ１９発現Ａ２０リンパ腫を有するマウスに、ＣＡＲ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡ（Ｃ）、ＣＡＲ　ＣＡＲＴ－プラスミドＤＮＡ（Ｄ）、ＣＴＲ　ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡ（Ａ）、またはＣＴＲ　ＣＡＲＴ－プラスミドＤＮＡ（Ｂ）のいずれかで３回処置した。腫瘍注射後３５日にわたって生存率を測定した。対麻痺の発症として定義される病気による死亡。
【発明を実施するための形態】
【００１３】
本開示の様々な実施形態および態様が本明細書に示され説明されているが、そのような実施形態および態様が例としてのみ提供されていることは当業者には明らかであろう。当業者は、本開示から逸脱することなく、多くの変形、変更、および置換を思いつくであろう。本開示の実施に際して、本明細書に記載されている本開示の実施形態の様々な代替物が使用され得ることが理解されるべきである。
【００１４】
文脈上、別段に解される場合を除き、本明細書に記載されている本開示の様々な特徴は、いずれかに組み合わせて用いることができるように明確に意図されている。さらに、いくつかの実施形態では、本明細書に記載のいずれかの特徴または特徴を組み合わせたものを除外または省略できることも本開示は想定している。例示するために、複合体が、成分ＡとＢとＣを有することが本明細書に示されている場合、Ａ、ＢもしくはＣ、またはこれらを組み合わせたもののいずれかを個々に、またはいずれかに組み合わせた状態で省略および排除できるように明確に意図されている。
【００１５】
本明細書および添付の請求項で使用する場合、文脈上、明らかに別段に解される場合を除き、「ａ」、「ａｎ」および「ｔｈｅ」という単数形には、複数の言及物が含まれることに留意されたい。したがって、例えば、「癌細胞」に言及している場合には、複数の癌細胞が含まれる。他の例では、「核酸（ａ　ｎｕｃｌｅｉｃ　ａｃｉｄ）」または「核酸（ｎｕｃｌｅｉｃ　ａｃｉｄ）」には、複数の核酸分子、すなわち、複数の核酸が含まれる。
【００１６】
「約」という用語は、特定の値を含む値の範囲を意味し、当業者であれば、特定の値に合理的に類似しているとみなすであろう。実施形態では、約は、当該技術分野における一般的に許容される測定値を使用する標準偏差内を意味する。実施形態では、約は、特定の値の＋／－１０％に及ぶ範囲を意味する。実施形態では、約は、その指定の値を意味する。
【００１７】
また、本明細書で使用される場合、「および／または」は、関連する列挙事項のうちの１つ以上を考え得る形で組み合わせたもののすべてと、代替（「または」）で解釈される場合には、組み合わせたものが含まれないことを指し、かつこれらを包含する。
【００１８】

本明細書で使用される場合、「含む」という用語は、組成物および方法に、列挙された要素が含まれるが、他の要素が除外されないことを意味することが意図されている。本明細書で使用される場合、「本質的にからなる」という移行句（および文法的変形）は、列挙された材料またはステップ、および引用された実施形態の「基本的および新規の特性（複数可）に実質的に影響を及ぼさないもの」を包含すると解釈されるべきである。したがって、本明細書で使用される「本質的にからなる」という用語は、「含む」と同等であると解釈されるべきではない。「からなる」とは、微量元素を超える他の成分、および本明細書に開示される組成物を投与するための実質的な方法ステップを除外することを意味するものとする。これらの移行用語の各々によって定義される態様は、本開示の範囲内である。

【００１９】

定義

本明細書で使用される略語は、化学的および生物学的分野内のそれらの従来の意味を有する。本明細書に記載の化学構造および化学式は、化学で既知の化学原子価の標準規則に従って構築される。

【００２０】

本明細書で使用する場合、「オリゴマー」および「ポリマー」という用語は、複数の繰り返しサブユニットを有する化合物（例えば、重合モノマー）を指す。「コオリゴマー」または「コポリマー」という用語は、２つ以上の異なる残基（本明細書で交換可能に使用されるモノマー単位またはモノマー）を含むオリゴマーまたはポリマーを指す。オリゴマーのモノマーの数は、一般に、ポリマーのモノマーの数よりも少ない。したがって、実施形態では、オリゴマーは、１～約１０個のモノマー、１～約２０個のモノマー、１～約３０個のモノマー、１～約４０個のモノマー、１～約５０個のモノマー、１～約１００個のモノマー、１～約１５０個のモノマー、１～約２００個のモノマー、１～約２５０個のモノマー、１～約３００個のモノマー、１～約３５０個のモノマー、１～約４００個のモノマー、１～約４５０個のモノマー、または１～約５００個のモノマーの長さであることができる。実施形態では、オリゴマーは、約５００個未満のモノマー、約４５０個未満のモノマー、約４００個未満のモノマー、約３５０個未満のモノマー、約３００個未満のモノマー、約２５０個未満のモノマー、約２００個未満のモノマー、約１５０個未満のモノマー、約１００個未満のモノマー、約５０個未満のモノマー、約４０個未満のモノマー、約３０個未満のモノマー、約２０個未満のモノマー、または約１０個未満のモノマーの長さを有することができる。ポリマーの文脈において、ポリマーのモノマーの数は、一般に、オリゴマーのモノマーの数よりも多い。したがって、実施形態では、ポリマーは、約５００～約１０００個のモノマー、約５００～約２０００個のモノマー、約５００～約３０００個のモノマー、約５００～約４０００個のモノマー、約５００～約５０００個のモノマー、約５００～約６０００個のモノマー、約５００～約７０００個のモノマー、約５００～約８０００個のモノマー、約５００～約９０００個のモノマー、約５００～約１００００個のモノマーまたは１００００超個のモノマーの長さを有することができる。

【００２１】

「重合性モノマー」という用語は、ポリマー化学分野におけるその意味に従って使用され、他のモノマー分子（同じであるかまたは異なる他の重合性モノマーなど）に化学的に共有結合して、ポリマーを形成し得る化合物を指す。

【００２２】

「ブロックコポリマー」という用語は、その通常の意味に従って使用され、共有結合によって連結された重合モノマーの２つ以上の部分（例えば、ブロック）を指す。実施形態では、ブロックコポリマーは、ポリマーの繰り返しパターンである。実施形態では、ブロックコポリマーは、周期的（例えば、繰り返しパターン）配列で２つ以上のモノマーを含む。例えば、ジブロックコポリマーは、－Ｂ－Ｂ－Ｂ－Ｂ－Ｂ－Ｂ－Ａ－Ａ－Ａ－Ａ－Ａ－という式を有し、この「Ｂ」は、第１のサブユニットであり、「Ａ」は、第２のサブユニットであり、共に共有結合している。したがって、トリブロックコポリマーは、３つの異

なるブロック有するコポリマーであり、そのうちの２つは同じであってもよく（例えば、－Ａ－Ａ－Ａ－Ａ－Ａ－Ｂ－Ｂ－Ｂ－Ｂ－Ｂ－Ｂ－Ａ－Ａ－Ａ－Ａ－Ａ－）、または３つすべてが異なっており（例えば、－Ａ－Ａ－Ａ－Ａ－Ａ－Ｂ－Ｂ－Ｂ－Ｂ－Ｂ－Ｂ－Ｃ－Ｃ－Ｃ－Ｃ－Ｃ－）、「Ａ」は、第１のサブユニットであり、「Ｂ」は、第２のサブユニットであり、「Ｃ」は、第３のサブユニットであり、共に共有結合している。

【００２３】

「アルキル」という用語は、単独で、または別の置換基の一部として、別途明記されない限り、直鎖（すなわち、非分岐鎖）もしくは分枝鎖、またはそれらの組み合わせを意味し、これは、完全飽和、一価不飽和、または多価不飽和であってもよく、二価および多価ラジカルを含んでもよい。アルキルは、指定された炭素原子数を有してよい（すなわち、Ｃ１－Ｃ１０は、１～１０個の炭素を意味する）。アルキルは、非環化鎖である。飽和炭化水素ラジカルの例としては、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、ｔ－ブチル、イソブチル、ｓｅｃ－ブチルなどの基、例えば、ｎ－ペンチル、ｎ－ヘキシル、ｎ－ヘプチル、ｎ－オクチルなどの相同体および異性体が挙げられるが、これらに限定されない。不飽和アルキル基は、１つ以上の二重結合または三重結合を有するものである。不飽和アルキル基の例としては、ビニル、２－プロペニル、クロチル、２－イソペンテニル、２－（ブタジエニル）、２，４－ペンタジエニル、３－（１，４－ペンタジエニル）、エチニル、１－および３－プロピニル、３－ブチニル、ならびに高級相同体および異性体が挙げられるが、これらに限定されない。アルコキシは、酸素リンカー（－Ｏ－）を介して分子の残りの部分に結合しているアルキルである。

【００２４】

「アルキレン」という用語は、単独で、または別の置換基の一部として、別途明記されない限り、アルキルに由来する二価のラジカルを意味し、限定はされないが、－ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ２ＣＨ２－によって例示される。典型的には、アルキル（またはアルキレン）基は、１～２４個の炭素原子を有し、１０個以下の炭素原子を有する基が好ましい。「低級アルキル」または「低級アルキレン」は、Ｃ１－Ｃ８アルキルまたはアルキレン基である。

【００２５】

「ヘテロアルキル」という用語は、単独で、または別の用語と組み合わせて、別途明記されない限り、少なくとも１つの炭素原子ならびにＯ、Ｎ、Ｐ、Ｓｉ、およびＳからなる群から選択される少なくとも１つのヘテロ原子を含む安定した直鎖もしくは分岐鎖、またはそれらの組み合わせを意味し、窒素原子および硫黄原子は、任意に酸化されていてもよく、窒素ヘテロ原子は、任意に四級化されていてもよい。ヘテロ原子（複数可）Ｏ、Ｎ、Ｐ、Ｓ、およびＳｉは、ヘテロアルキル基の任意の内部位置に、またはアルキル基が分子の残部に結合している位置に配置され得る。ヘテロアルキルは、非環化鎖である。例としては、これらに限定されないが、－ＣＨ２－ＣＨ２－Ｏ－ＣＨ３、－ＣＨ２－ＣＨ２－ＮＨ－ＣＨ３、－ＣＨ２－ＣＨ２－Ｎ（ＣＨ３）－ＣＨ３、－ＣＨ２－Ｓ－ＣＨ２－ＣＨ３、－ＣＨ２－ＣＨ２、－Ｓ（Ｏ）－ＣＨ３、－ＣＨ２－ＣＨ２－Ｓ（Ｏ）２－ＣＨ３、－ＣＨ＝ＣＨ－Ｏ－ＣＨ３、－Ｓｉ（ＣＨ３）３、－ＣＨ２－ＣＨ＝Ｎ－ＯＣＨ３、－ＣＨ＝ＣＨ－Ｎ（ＣＨ３）－ＣＨ３、－Ｏ－ＣＨ３、－Ｏ－ＣＨ２－ＣＨ３、および－ＣＮが挙げられる。例えば、－ＣＨ２－ＮＨ－ＯＣＨ３などの最大２個のヘテロ原子が連続していてもよい。

【００２６】

同様に、「ヘテロアルキレン」という用語は、単独で、または別の置換基の一部として、別途明記されない限り、ヘテロアルキルに由来する二価のラジカルを意味し、限定はされないが、－ＣＨ２－ＣＨ２－Ｓ－ＣＨ２－ＣＨ２－および－ＣＨ２－Ｓ－ＣＨ２－ＣＨ２－ＮＨ－ＣＨ２－によって例示される。ヘテロアルキレン基の場合、ヘテロ原子はまた、鎖の末端のいずれかまたは両方（例えば、上記に記載されるアルキレンオキシ、アルキレンジオキシ、アルキレンアミノ、アルキレンジアミノなど）を占有し、本明細書で使用する場合、ヘテロアルキル基は、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）ＮＲ’、－ＮＲ’Ｒ”、－ＯＲ’、－ＳＲ’、および／または－ＳＯ２Ｒ’などの、ヘテロ原子を介して分子の残り部分に結

合している基を含む。「ヘテロアルキル」が列挙された後に特定のヘテロアルキル基、例えば、－ＮＲ’Ｒ”などが列挙される場合、ヘテロアルキルおよび－ＮＲ’Ｒ”という用語が冗長でも相互排他的でもないことが理解されよう。むしろ、特定のヘテロアルキル基が明確化のために列挙される。したがって、「ヘテロアルキル」という用語は、本明細書において、特定のヘテロアルキル基、例えば、－ＮＲ’Ｒ”などを除外するものと解釈されるべきではない。

【００２７】

「シクロアルキル」および「ヘテロシクロアルキル」という用語は、単独で、または他の用語と組み合わせて、別途明記されない限り、それぞれ「アルキル」および「ヘテロアルキル」の環式バージョンを意味する。シクロアルキルおよびヘテロアルキルは、芳香族ではない。さらに、ヘテロシクロアルキルの場合、ヘテロ原子は、ヘテロ環が分子の残り部分に結合している位置を占有し得る。シクロアルキルの例としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、１－シクロヘキセニル、３－シクロヘキセニル、シクロヘプチルなどが挙げられるが、これらに限定されない。ヘテロシクロアルキルの例としては、１－（１，２，５，６－テトラヒドロピリジル）、１－ピペリジニル、２－ピペリジニル、３－ピペリジニル、４－モルホリニル、３－モルホリニル、テトラヒドロフラン－２－イル、テトラヒドロフラン－３－イル、テトラヒドロチエン－２－イル、テトラヒドロチエン－３－イル、１－ピペラジニル、２－ピペラジニルなどが挙げられるが、これらに限定されない。「シクロアルキレン」および「ヘテロシクロアルキレン」とは、単独で、または別の置換基の一部として、それぞれ、シクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルに由来する二価のラジカルを意味する。

【００２８】

「ハロ」または「ハロゲン」という用語は、単独で、または別の置換基の一部として、別途明記されない限り、フッ素、塩素、臭素、またはヨウ素原子を意味する。さらに、「ハロアルキル」などの用語は、モノハロアルキルおよびポリハロアルキルを含むことを意味する。例えば、「ハロ（Ｃ１－Ｃ４）アルキル」という用語としては、フルオロメチル、ジフルオロメチル、トリフルオロメチル、２，２，２－トリフルオロエチル、４－クロロブチル、３－ブロモプロピルが挙げられるが、これらに限定されない。

【００２９】

「アシル」という用語は、別途明記されない限り、－Ｃ（Ｏ）Ｒを意味し、Ｒは、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

【００３０】

「アリール」という用語は、別途明記されない限り、多価不飽和、芳香族、炭化水素置換基を意味し、これらは、単一の環、または一緒に縮合している（すなわち縮合環アリール）もしくは共有結合している多環（好ましくは１～３環）であり得る。縮合環アリールは、縮合環の少なくとも１つがアリール環である、一緒に縮合した複数の環を指す。「ヘテロアリール」という用語は、Ｎ、Ｏ、またはＳから選択される１から４のヘテロ原子を含むアリール基（または環）を指し、窒素原子および硫黄原子は任意に酸化され、窒素原子（複数可）は任意に四級化される。したがって、「ヘテロアリール」という用語は、縮合環ヘテロアリール基（すなわち、縮合環のうちの少なくとも１つが芳香族複素環である、一緒に縮合している複数の環）を含む。５，６－縮合環ヘテロアリーレンとは、一方の環が５員を有し、他方の環が６員を有し、少なくとも一方の環がヘテロアリール環である、一緒に縮合している２つの環を指す。同様に、６，６－縮合環ヘテロアリーレンとは、一方の環が６員を有し、他方の環が６員を有し、少なくとも一方の環がヘテロアリール環である、一緒に縮合している２つの環を指す。６，５－縮合環ヘテロアリーレンとは、一方の環が６員を有し、他方の環が５員を有し、少なくとも一方の環がヘテロアリール環である、一緒に縮合している２つの環を指す。ヘテロアリール基は、炭素原子またはヘテロ原子を介して分子の残り部分に結合することができる。アリール基およびヘテロアリール基

の非限定的な例としては、フェニル、１－ナフチル、２－ナフチル、４－ビフェニル、１－ピロリル、２－ピロリル、３－ピロリル、３－ピラゾリル、２－イミダゾリル、４－イミダゾリル、ピラジニル、２－オキサゾリル、４－オキサゾリル、２－フェニル－４－オキサゾリル、５－オキサゾリル、３－イソオキサゾリル、４－イソオキサゾリル、５－イソオキサゾリル、２－チアゾリル、４－チアゾリル、５－チアゾリル、２－フリル、３－フリル、２－チエニル、３－チエニル、２－ピリジル、３－ピリジル、４－ピリジル、２－ピリミジル、４－ピリミジル、５－ベンゾチアゾリル、プリニル、２－ベンズイミダゾリル、５－インドリル、１－イソキノリル、５－イソキノリル、２－キノキサリニル、５－キノキサリニル、３－キノリル、および６－キノリルが挙げられる。上記のアリール環系およびヘテロアリール環系の各々に対する置換基は、以下に記載の許容される置換基の群から選択される。「アリーレン」および「ヘテロアリーレン」とは、単独で、または別の置換基の一部として、それぞれ、アリールおよびヘテロアリールに由来する二価のラジカルを意味する。

【００３１】

簡潔にするために、「アリール」という用語は、他の用語（例えば、アリールオキシ、アリールチオキシ、アリールアルキル）と組み合わせて使用される場合、上記で定義されたアリール環およびヘテロアリール環の両方を含む。したがって、「アリールアルキル」という用語は、アリール基がアルキル基（例えば、ベンジル、フェネチル、ピリジルメチルなど）に結合しているラジカルを含み、炭素原子（例えば、メチレン基）は、例えば、酸素原子（例えば、フェノキシメチル、２－ピリジルオキシメチル、３－（１－ナフチルオキシ）プロピルなど）によって置き換えられている。

【００３２】

本明細書で使用される「オキソ」という用語は、炭素原子に二重結合している酸素を意味する。

【００３３】

本明細書で使用される「アルキルスルホニル」という用語は、式－Ｓ（Ｏ$_2$）－Ｒ’を有する部分を意味し、Ｒ’は、上記で定義されたアルキル基である。Ｒ’は、指定された数の炭素原子を有し得る（例えば、「Ｃ$_1$－Ｃ$_4$アルキルスルホニル」）。

【００３４】

上記の用語（例えば、「アルキル」、「ヘテロアルキル」、「アリール」、および「ヘテロアリール」）のそれぞれには、示されたラジカルの置換および非置換形態の両方が含まれる。

【００３５】

アルキルおよびヘテロアルキルラジカル（多くの場合、アルキレン、アルケニル、ヘテロアルキレン、ヘテロアルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、シクロアルケニル、およびヘテロシクロアルケニルと称される基を含む）の置換基は、ゼロから（２ｍ’＋１）（式中、ｍ’は、かかるラジカルにおける炭素原子の総数である）までの範囲の数で、－ＯＲ’、＝Ｏ、＝ＮＲ’、＝Ｎ－ＯＲ’、－ＮＲ’Ｒ”、－ＳＲ’、－ハロゲン、－ＳｉＲ’Ｒ”Ｒ’’’、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－ＣＯ$_2$Ｒ’、－ＣＯＮＲ’Ｒ”、－ＯＣ（Ｏ）ＮＲ’Ｒ”、－ＮＲ”Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－ＮＲ”’－Ｃ（Ｏ）ＮＲ”Ｒ’’’、－ＮＲ”Ｃ(Ｏ)$_2$Ｒ’、－ＮＲ－Ｃ（ＮＲ’Ｒ”Ｒ’’’）＝ＮＲ””、－ＮＲ－Ｃ（ＮＲ’Ｒ”）＝ＮＲ’’’、－Ｓ（Ｏ）’、－Ｓ（Ｏ)$_2$Ｒ’、－Ｓ（Ｏ)$_2$ＮＲ’Ｒ”、－ＮＲＳＯ$_2$Ｒ’、－ＣＮ、および－ＮＯ$_2$から選択されるが、これらに限定されない、１つ以上の様々な基であり得る。Ｒ’、Ｒ”、Ｒ’’’、およびＲ””’は各々、好ましくは、独立して、水素、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール（例えば、１～３つのハロゲンで置換されたアリール）、置換もしくは非置換アルキル、アルコキシ、またはチオアルコキシ基、またはアリールアルキル基を指す。本明細書に開示される化合物が２つ以上のＲ基を含む場合、例えば、Ｒ’、Ｒ”、Ｒ’’’、およびＲ””基のうちの２つ以上が存在する場合、Ｒ基の各々は、独立して

、各Ｒ’、Ｒ”、Ｒ’’’、およびＲ”’基として選択される。Ｒ’およびＲ”が同じ窒素原子に結合している場合、それらは、窒素原子と組み合わせられて、４、５、６、または７員環を形成してもよい。例えば、－ＮＲ’Ｒ”には、１－ピロリジニルおよび４－モルホリニルが含まれるが、これらに限定されない。置換基についての上記の議論から、当業者であれば、「アルキル」という用語が、ハロアルキル（例えば、－ＣＦ$_3$および－ＣＨ$_2$ＣＦ$_3$）およびアシル（例えば、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_3$、－Ｃ（Ｏ）ＣＦ$_3$、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_2$ＯＣＨ$_3$など）などの水素基以外の基に結合している炭素原子を含む基を含むよう意図されていることを理解するであろう。

【００３６】

アルキルラジカルについて記載される置換基と同様に、アリールおよびヘテロアリール基の置換基は、様々であり、ゼロから芳香族環系上の開いた原子価の総数までの範囲の数で、例えば、－ＯＲ’、－ＮＲ’Ｒ”、－ＳＲ’、ハロゲン、－ＳｉＲ’Ｒ”Ｒ’’’、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’$_2$Ｒ－Ｃ、Ｏ－ＣＯＮＲ’Ｒ”、－ＯＣ（Ｏ）ＮＲ’Ｒ”、－ＮＲ”Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－ＮＲ’－Ｃ（Ｏ）ＮＲ”Ｒ’’’、－ＮＲ”Ｃ（Ｏ）$_2$Ｒ’、－ＮＲ－Ｃ（ＮＲ’Ｒ”Ｒ’’’）＝ＮＲ”’、－ＮＲ－Ｃ（ＮＲ’Ｒ”）＝ＮＲ’、－Ｓ（Ｏ）Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）$_2$ＮＲ’Ｒ”、－ＮＲＳＯ$_2$Ｒ’、－ＣＮ、－ＮＯ$_2$、－Ｒ’、－Ｎ$_3$、－ＣＨ（Ｐｈ）$_2$、フルオロ（Ｃ$_1$－Ｃ$_4$）アルコキシ、およびフルオロ（Ｃ$_1$－Ｃ$_4$）アルキルから選択され、式中、Ｒ’、Ｒ”、Ｒ’’’、およびＲ”’は、好ましくは、独立して、水素、置換または非置換アルキル、置換または非置換ヘテロアルキル、置換または非置換シクロアルキル、置換または非置換ヘテロシクロアルキル、置換または非置換アリール、および置換または非置換ヘテロアリールから選択される。本明細書に開示される化合物が２つ以上のＲ基を含む場合、例えば、Ｒ’、Ｒ”、Ｒ’’’、およびＲ”’基のうちの２つ以上が存在する場合、Ｒ基の各々は、独立して、各Ｒ’、Ｒ”、Ｒ’’’、およびＲ”’基として選択される。

【００３７】

２つ以上の置換基が、任意に結合して、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、またはヘテロシクロアルキル基を形成し得る。かかるいわゆる環形成置換基は、典型的には、必ずしもそうとは限らないが、環状基礎構造に結合していることが見出される。実施形態では、環形成置換基は、その基礎構造の隣接する員に結合している。例えば、環状基礎構造の隣接する員に結合している２つの環形成置換基は、縮合環構造を形成する。別の実施形態では、環形成置換基は、その基礎構造の単一の員に結合している。例えば、環状基礎構造の単一の員に結合している２つの環形成置換基は、スピロ環式構造を形成する。さらに別の実施形態では、環形成置換基は、その基礎構造の隣接していない員に結合している。

【００３８】

アリール環またはヘテロアリール環の隣接する原子上の置換基のうちの２つは、式－Ｔ－Ｃ（Ｏ）－（ＣＲＲ’）$_q$－Ｕ－の環を任意に形成し得、式中、ＴおよびＵは、独立して、－ＮＲ－、－Ｏ－、－ＣＲＲ’－、または単結合であり、ｑは、０～３の整数である。あるいは、アリール環またはヘテロアリール環の隣接する原子上の置換基のうちの２つは、式－Ａ－（ＣＨ$_2$）$_r$－Ｂ－の置換基で任意に置き換えられ得、式中、ＡおよびＢは、独立して、－ＣＲＲ’－、－Ｏ－、－ＮＲ－、－Ｓ－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）$_2$ＮＲ’－、または単結合であり、ｒは、１～４の整数である。そのように形成された新たな環の単結合のうちの１つは、二重結合で任意に置き換えられ得る。あるいは、アリール環またはヘテロアリール環の隣接する原子上の置換基のうちの２つは、式－（ＣＲＲ’）$_s$－Ｘ’－（Ｃ”Ｒ’’）$_d$－の置換基で任意に置き換えられ得、式中、ｓおよびｄが独立して、０～３の整数であり、Ｘ’が、－Ｏ－、－ＮＲ’－、－Ｓ－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、または－Ｓ（Ｏ）$_2$ＮＲ’－である。置換基Ｒ、Ｒ’、Ｒ”、およびＲ’’’は、好ましくは、独立して、水素、置換または非置換アルキル、置換または非置換シクロアルキル、置換または非置換ヘテロシクロアルキル、置換または非置換アリール、

および置換または非置換ヘテロアリールから選択される。
【００３９】
本明細書で使用される場合、「ヘテロ原子」または「環ヘテロ原子」という用語は、酸素（Ｏ）、窒素（Ｎ）、硫黄（Ｓ）、リン（Ｐ）、およびケイ素（Ｓｉ）を含むことを意味する。
【００４０】
本明細書で使用される場合、「置換基」は、以下の部分から選択される基を意味する。
（Ａ）オキソ、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８アルキル、Ｃ１－Ｃ６アルキル、またはＣ１－Ｃ４アルキル）、非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員ヘテロアルキル、２～６員ヘテロアルキル、または２～４員ヘテロアルキル）、非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８シクロアルキル、Ｃ３－Ｃ６シクロアルキル、またはＣ５－Ｃ６シクロアルキル）、非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員ヘテロシクロアルキル、３～６員ヘテロシクロアルキル、または５～６員ヘテロシクロアルキル）、非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０アリール、Ｃ１０アリール、またはフェニル）、または非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員ヘテロアリール、５～９員ヘテロアリール、または５～６員ヘテロアリール）、ならびに
（Ｂ）以下から選択される少なくとも１つの置換基で置換されている、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、およびヘテロアリール：
（ｉ）オキソ、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８アルキル、Ｃ１－Ｃ６アルキル、またはＣ１－Ｃ４アルキル）、非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員ヘテロアルキル、２～６員ヘテロアルキル、または２～４員ヘテロアルキル）、非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８シクロアルキル、Ｃ３－Ｃ６シクロアルキル、またはＣ５－Ｃ６シクロアルキル）、非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員ヘテロシクロアルキル、３～６員ヘテロシクロアルキル、または５～６員ヘテロシクロアルキル）、非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０アリール、Ｃ１０アリール、またはフェニル）、または非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員ヘテロアリール、５～９員ヘテロアリール、または５～６員ヘテロアリール）、ならびに
（ｉｉ）以下から選択される少なくとも１つの置換基で置換されている、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、およびヘテロアリール：
（ａ）オキソ、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８アルキル、Ｃ１－Ｃ６アルキル、またはＣ１－Ｃ４アルキル）、非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員ヘテロアルキル、２～６員ヘテロアルキル、または

２～４員ヘテロアルキル）、非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８シクロアルキル、Ｃ３－Ｃ６シクロアルキル、またはＣ５－Ｃ６シクロアルキル）、非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員ヘテロシクロアルキル、３～６員ヘテロシクロアルキル、または５～６員ヘテロシクロアルキル）、非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０アリール、Ｃ１０アリール、またはフェニル）、または非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員ヘテロアリール、５～９員ヘテロアリール、または５～６員ヘテロアリール）、ならびに

（ｂ）以下から選択される少なくとも１つの置換基で置換されている、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、およびヘテロアリール：オキソ、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８アルキル、Ｃ１－Ｃ６アルキル、またはＣ１－Ｃ４アルキル）、非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員ヘテロアルキル、２～６員ヘテロアルキル、または２～４員ヘテロアルキル）、非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８シクロアルキル、Ｃ３－Ｃ６シクロアルキル、またはＣ５－Ｃ６シクロアルキル）、非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員ヘテロシクロアルキル、３～６員ヘテロシクロアルキル、または５～６員ヘテロシクロアルキル）、非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０アリール、Ｃ１０アリール、またはフェニル）、または非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員ヘテロアリール、５～９員ヘテロアリール、または５～６員ヘテロアリール）。

【００４１】

本明細書で使用される「サイズ制限置換基（ｓｉｚｅ－ｌｉｍｉｔｅｄ　ｓｕｂｓｔｉｔｕｅｎｔ）」または「サイズ制限置換基（ｓｉｚｅ－ｌｉｍｉｔｅｄ　ｓｕｂｓｔｉｔｕｅｎｔ　ｇｒｏｕｐ）」は、「置換基」について上述されるすべての置換基から選択される基を意味し、各置換または非置換アルキルは、置換または非置換Ｃ１－Ｃ２０アルキルであり、各置換または非置換ヘテロアルキルは、置換または非置換２～２０員ヘテロアルキルであり、各置換または非置換シクロアルキルは、置換または非置換Ｃ４－Ｃ８シクロアルキルであり、各置換または非置換ヘテロシクロアルキルは、置換または非置換４～８員ヘテロシクロアルキルである。

【００４２】

本明細書で使用される「低級置換基（ｌｏｗｅｒ　ｓｕｂｓｔｉｔｕｅｎｔ）」または「低級置換基（ｌｏｗｅｒ　ｓｕｂｓｔｉｔｕｅｎｔ　ｇｒｏｕｐ）」は、「置換基」について上述されるすべての置換基から選択される基を意味し、各置換または非置換アルキルは、置換または非置換Ｃ１－Ｃ８アルキルであり、各置換または非置換ヘテロアルキルは、置換または非置換２～８員ヘテロアルキルであり、各置換または非置換シクロアルキルは、置換または非置換Ｃ５－Ｃ７シクロアルキルであり、各置換または非置換ヘテロシクロアルキルは、置換または非置換５～７員ヘテロシクロアルキルである。

【００４３】

実施形態では、本明細書の化合物において記載される各置換基は、少なくとも１つの置換基で置換される。より具体的には、実施形態では、本明細書の化合物において記載される各置換アルキル、置換ヘテロアルキル、置換シクロアルキル、置換ヘテロシクロアルキル、置換アリール、置換ヘテロアリール、置換アルキレン、置換ヘテロアルキレン、置換シクロアルキレン、置換ヘテロシクロアルキレン、置換アリーレン、および／または置換ヘテロアリーレンは、少なくとも１つの置換基で置換されている。実施形態では、これらの基のうちの少なくとも１つまたはすべてが、少なくとも１つのサイズ制限置換基で置換されている。実施形態では、これらの基のうちの少なくとも１つまたはすべてが、少なくとも１つの低級置換基で置換されている。

【００４４】
本明細書における化合物の実施形態では、各置換もしくは非置換アルキルは、置換もしくは非置換Ｃ１－Ｃ２０アルキルであり得、各置換もしくは非置換ヘテロアルキルは、置換もしくは非置換２～２０員ヘテロアルキルであり、各置換もしくは非置換シクロアルキルは、置換もしくは非置換Ｃ３－Ｃ８シクロアルキルであり、各置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキルは、置換もしくは非置換３～８員ヘテロシクロアルキルであり、各置換もしくは非置換アリールは、置換もしくは非置換Ｃ６－Ｃ１０アリールであり、および／または各置換もしくは非置換ヘテロアリールは、置換もしくは非置換５～１０員ヘテロアリールである。本明細書の化合物の実施形態では、各置換もしくは非置換アルキレンは、置換もしくは非置換Ｃ１－Ｃ２０アルキレンであり、各置換もしくは非置換ヘテロアルキレンは、置換もしくは非置換２～２０員ヘテロアルキレンであり、各置換もしくは非置換シクロアルキレンは、置換もしくは非置換Ｃ３－Ｃ８シクロアルキレンであり、各置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレンは、置換もしくは非置換３～８員ヘテロシクロアルキレンであり、各置換もしくは非置換アリーレンは、置換もしくは非置換Ｃ６－Ｃ１０アリーレンであり、かつ／または各置換もしくは非置換ヘテロアリーレンは、置換もしくは非置換５～１０員ヘテロアリーレンである。

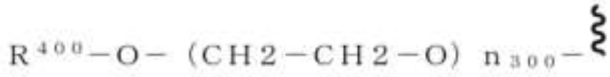
【００４５】
実施形態では、各置換もしくは非置換アルキルは、置換もしくは非置換Ｃ１－Ｃ８アルキルであり、各置換もしくは非置換ヘテロアルキルは、置換もしくは非置換２～８員ヘテロアルキルであり、各置換もしくは非置換シクロアルキルは、置換もしくは非置換Ｃ３－Ｃ７シクロアルキルであり、各置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキルは、置換もしくは非置換３～７員ヘテロシクロアルキルであり、各置換もしくは非置換アリールは、置換もしくは非置換Ｃ６－Ｃ１０アリールであり、および／または各置換もしくは非置換ヘテロアリールは、置換もしくは非置換５～９員ヘテロアリールである。実施形態では、各置換もしくは非置換アルキレンは、置換もしくは非置換Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、各置換もしくは非置換ヘテロアルキレンは、置換もしくは非置換２～８員ヘテロアルキレンであり、各置換もしくは非置換シクロアルキレンは、置換もしくは非置換Ｃ３－Ｃ７シクロアルキレンであり、各置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレンは、置換もしくは非置換３～７員ヘテロシクロアルキレンであり、各置換もしくは非置換アリーレンは、置換もしくは非置換Ｃ６－Ｃ１０アリーレンであり、かつ／または各置換もしくは非置換ヘテロアリーレンは、置換もしくは非置換５～９員ヘテロアリーレンである。実施形態では、化合物は、本明細書に記載の化学種である。

【００４６】
本明細書で使用される「ａ」または「ａｎ」という用語は、１つ以上を意味する。さらに、本明細書で使用される「ａ［ｎ］で置換される」という語句は、特定の基が、指定された置換基のいずれかまたはすべてのうちの１つ以上で置換され得ることを意味する。例えば、アルキル基またはヘテロアリール基等の基が、「非置換Ｃ１－Ｃ２０アルキルまたは非置換２～２０員ヘテロアルキルで置換されている」場合、その基は、１つ以上の非置換Ｃ１－Ｃ２０アルキルおよび／または１つ以上の非置換２～２０員ヘテロアルキルを含み得る。さらに、ある部分がＲ置換基で置換される場合、その基は、「Ｒ置換」と称され得る。ある部分がＲ置換されている場合、その部分は、少なくとも１つのＲ置換基で置換され、各Ｒ置換基は、任意に異なる。

【００４７】
「求核性部分」という用語は、１つ以上の電子（例えば、２）を求電子試薬に供与することができる化学種または官能基を指す。実施形態では、求核性部分は、化学反応において電子を求電子試薬に供与して結合を形成することができる化学種または官能基を指す。

【００４８】
「求電子性部分」という用語は、１つ以上の電子（例えば、２）を受け取ることができる化学種または官能基を指す。実施形態では、求電子性部分は、空軌道を有し、したがって、化学反応において結合を形成するために電子を受け入れることができる化学種または官

能基を指す。
【００４９】
「オリゴグリコール部分」という用語は、
【化１】



という一般式の化学成分であって、式中、Ｒ４００が、Ｈ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、ｎ３００が、１以上の整数である化学成分を指す。実施形態では、Ｒ４００は、Ｈまたはアルキルである。
【００５０】
本開示の化合物の記載は、当業者に既知である化学結合の原理によって制限される。したがって、基がいくつかの置換基のうちの１つ以上で置換され得る場合、そのような置換は、化学結合の原理に従うように、および本質的に不安定ではない、ならびに／または水性、中性、およびいくつかの既知の生理学的条件などの周囲条件下では不安定である可能性が高いと当業者に知られている化合物をもたらすように、選択される。例えば、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリールは、当業者に公知の化学結合の原理に従って、環ヘテロ原子を介して分子の残りの部分に結合し、それによって本質的に不安定な化合物が回避される。
【００５１】
別段定義されない限り、本明細書で使用されるすべての技術用語および科学用語は、当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。例えば、Ｓｉｎｇｌｅｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，ＤＩＣＴＩＯＮＡＲＹ ＯＦ ＭＩＣＲＯＢＩＯＬＯＧＹ ＡＮＤ ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ ＢＩＯＬＯＧＹ，２ｎｄ ｅｄ．，Ｊ．Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ（Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ １９９４）、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ ＣＬＯＮＩＮＧ，Ａ ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＹ ＭＡＮＵＡＬ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇｓ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇｓ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ １９８９）を参照されたい。本開示の実施において、本明細書に記載されるものと類似または同等の任意の方法、装置および材料を使用することができる。以下の定義は、本明細書で頻繁に使用される特定の用語の理解を容易にするために提供されており、本開示の範囲を限定するものではない。
【００５２】
「核酸」とは、一本鎖、二本鎖、もしくは多本鎖のいずれかの形態のデオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチドおよびそれらのポリマー、あるいはそれらの相補体を指す。「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、「オリゴ」などの用語は、通常および慣習的な意味で、ヌクレオチドの線状配列を指す。「ヌクレオチド」という用語は、通常のおよび慣習的な意味で、単一のポリヌクレオチド単位、すなわちモノマーを指す。ヌクレオチドは、リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、またはそれらの修飾型であり得る。本明細書で企図されるポリヌクレオチドの例には、一本鎖および二本鎖ＤＮＡ、一本鎖および二本鎖ＲＮＡ、ならびに一本鎖および二本鎖ＤＮＡとＲＮＡの混合物を有するハイブリッド分子が含まれる。本明細書で企図される核酸、例えばポリヌクレオチドの例としては、任意のタイプのＲＮＡ、例えば、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、ショートヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）、ＣＲＩＳＰＲ ＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）、トランス活性化ＲＮＡ（ｔｒａｃｒＲＮＡ）、プラスミドＤＮＡ（ｐＤＮＡ）、ミニサークルＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ（ｇＮＤＡ）、およびそれらの任意の断片が挙げられる。ポリヌクレオチドの文脈における「二本鎖」という用語は、通常のおよび慣習的な意味で、二本鎖性を指す。核酸は、直鎖または分岐鎖であり得る。例えば、核酸は、ヌクレオチドの

直鎖であり得るか、または核酸は、例えば、核酸がヌクレオチドの１つ以上のアームまたは分岐を有するように分岐し得る。任意に、分岐核酸は、繰り返し分岐して、デンドリマーなどの高次構造を形成する。

【００５３】

例えばホスホチオエート骨格を有する核酸を含む核酸は、１つ以上の反応性部分を含み得る。本明細書で使用される場合、反応性部分という用語は、共有結合、非共有結合、または他の相互作用を介して別の分子、例えば、核酸またはポリペプチドと反応することができる任意の基を含む。例として、核酸は、共有結合、非共有結合、または他の相互作用を介してタンパク質またはポリペプチド上のアミノ酸と反応するアミノ酸反応性部分を含み得る。

【００５４】

この用語はまた、既知のヌクレオチド類似体または修飾された骨格残基もしくは結合を含む核酸も包含し、合成、天然に存在する、および天然に存在せず、参照核酸と同様の結合特性を有し、参照ヌクレオチドと類似の方法で代謝される。そのような類似体の例としては、例えば、ホスホルアミデート、ホスホロジアミデート、ホスホロチオエート（リン酸中の酸素を二重結合硫黄で置換するホスホチオエートとしても知られる）、ホスホロジアミデート、ホスホカルボン酸、ホスホノカルボキシレート、ホスホノ酢酸、ホスホノギ酸、メチルホスホネート、ボロンホスホネート、またはＯ－メチルホスホロアミダイト結合を含むホスホジエステル誘導体（Ｅｃｋｓｔｅｉｎ，Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ ａｎｄ Ａｎａｌｏｇｕｅｓ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ，Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓを参照のこと）、ならびに５－メチルシチジンまたはプソイドウリジンなどの場合にはヌクレオチド塩基に対する修飾、ならびにペプチド核酸骨格および結合が挙げられるが、これらに限定されない。他の類似体核酸としては、米国特許第５，２３５，０３３号および同第５，０３４，５０６号、ならびに第６章および第７章、ＡＳＣシンポジウムシリーズ５８０、Ｃａｒｂｏｈｙｄｒａｔｅ Ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎｓ ｉｎ Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，Ｓａｎｇｈｕｉ ＆ Ｃｏｏｋ，ｅｄｓ．に記載されているものを含む、陽性骨格、非イオン性骨格、修飾糖、および非リボース骨格（例えば、当該技術分野において公知のホスホロジアミデートモルホリノオリゴまたはロックド核酸（ＬＮＡ））を有するものが挙げられる。１つ以上の炭素環式糖を含有する核酸もまた、核酸の１つの定義内に含まれる。リボース－ホスフェート骨格の修飾は、例えば、生理学的環境におけるそのような分子の安定性および半減期を増加させるために、またはバイオチップ上のプローブとして、様々な理由で行うことができる。天然に存在する核酸と類似体の混合物が作製され得るか、あるいは、異なる核酸類似体の混合物、および天然に存在する核酸と類似体の混合物が作製され得る。実施形態では、ＤＮＡ中のヌクレオチド間結合は、ホスホジエステル、ホスホジエステル誘導体、または両方の組み合わせである。

【００５５】

核酸は、非特異的配列を含み得る。本明細書で使用される場合、「非特異的配列」という用語は、任意の他の核酸配列に相補的であるか、または部分的にのみ相補的であるように設計されていない一連の残基を含む核酸配列を指す。例として、非特異的核酸配列は、細胞または生物と接触した場合に阻害性核酸として機能しない核酸残基の配列である。「阻害性核酸」とは、標的核酸（例えばタンパク質に翻訳可能なｍＲＮＡ）に結合して、その標的核酸の転写（例えばＤＮＡからｍＲＮＡへ）を低下させたり、標的核酸（例えばｍＲＮＡ）の翻訳を低下させたり、または転写産物のスプライシングを変化させたり（例えば一本鎖モルホリノオリゴ）できる核酸（例えばＤＮＡ、ＲＮＡ、ヌクレオチド類似体のポリマー）である。実施形態では、核酸は、ＲＮＡ（例えばｍＲＮＡ）である。実施形態では、核酸は、１０～１００，０００塩基の長さである。実施形態では、核酸は、５０～１０，０００塩基の長さである。実施形態では、核酸は、５０～５，０００塩基の長さである。実施形態では、核酸は、５０～１，０００塩基の長さである。

【００５６】

「ポリペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すために本明細書で交換可能に使用され、ポリマーは、アミノ酸から構成されない部分に結合され得る。この用語は、１つ以上のアミノ酸残基が対応する天然に存在するアミノ酸の人工化学模倣物であるアミノ酸ポリマー、ならびに天然に存在するアミノ酸ポリマーおよび天然に存在しないアミノ酸ポリマーに対して適用される。これらの用語は、大環状ペプチド、ペプチド以外の官能基で修飾したペプチド、ペプチド模倣体、ポリアミド、およびマクロラクタムにも適用される。「融合タンパク質」は、単一の部分として組換えにより発現される２つ以上の別々のタンパク質配列をコードするキメラタンパク質を指す。

【００５７】

「ペプチジル」および「ペプチジル部分」という用語は、一価のペプチドを意味する。

【００５８】

「アミノ酸」という用語は、天然に存在するアミノ酸および合成アミノ酸、ならびに天然に存在するアミノ酸と同様に機能するアミノ酸類似体およびアミノ酸模倣体を指す。天然に存在するアミノ酸は、遺伝コードによってコード化されたもの、ならびに例えばヒドロキシプロリン、γ－カルボキシグルタメート、およびＯ－ホスホセリンなど、後で修飾されるアミノ酸である。アミノ酸類似体とは、天然に存在するアミノ酸と同じ基本化学構造、つまり、水素、カルボキシル基、アミノ基、およびＲ基に結合しているα炭素を有する化合物を指し、例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウムである。そのような類似体は、修飾されたＲ基（例えば、ノルロイシン）または修飾されたペプチド骨格を有するが、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的な化学構造を保持している。アミノ酸模倣物とは、アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同様に機能する化合物を指す。「天然に存在しないアミノ酸」および「非天然アミノ酸」という用語は、天然には見られないアミノ酸類似体、合成アミノ酸、およびアミノ酸模倣物を指す。

【００５９】

アミノ酸は、本明細書では、それらの一般的に既知である３文字記号またはＩＵＰＡＣ－ＩＵＢ生化学命名委員会によって推奨される１文字記号のいずれかによって参照され得る。同様に、ヌクレオチドは、それらの一般的に認められている一文字コードによって参照され得る。

【００６０】

本明細書で提供される「ＩＬ－１２タンパク質」または「ＩＬ－１２」という用語は、（例えば、ＩＬ－１２と比較して、少なくとも５０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の活性の範囲内の）ＩＬ－１２活性を維持する、インターロイキン１２サブユニットベータとしても知られているインターロイキン１２の任意の組換え体または天然に存在する形態、またはそれらのバリアントもしくは相同体を含む。いくつかの態様では、バリアントまたは相同体は、天然に存在するＩＬ－１２タンパク質と比較して、配列全体または配列の一部（例えば、５０、１００、１５０、または２００個の連続したアミノ酸部分）にわたって、少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性を有する。実施形態では、ＩＬ－１２タンパク質は、ＵｎｉＰｒｏｔ参照番号Ｐ２９４６０によって特定されるタンパク質、またはそれに対して実質的な同一性を有するバリアントもしくは相同体と実質的に同一である。

【００６１】

本明細書で提供される「ＩＬ－１５タンパク質」または「ＩＬ－１５」という用語は、（例えば、ＩＬ－１５と比較して、少なくとも５０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の活性の範囲内の）ＩＬ－１５活性を維持する、インターロイキン１５の任意の組換え体または天然に存在する形態、またはそれらのバリアントもしくは相同体を含む。いくつかの態様では、バリアントまたは相同体は、天然に存在するＩＬ－１５タンパク質と比較して、配列全体または配列の一部（例えば、５０

、１００、１５０、または２００個の連続したアミノ酸部分）にわたって、少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性を有する。実施形態では、ＩＬ－１５タンパク質は、ＵｎｉＰｒｏｔ参照番号Ｐ４０９３３によって特定されるタンパク質、またはそれに対して実質的な同一性を有するバリアントもしくは相同体と実質的に同一である。

【００６２】

本明細書で提供される「ＩＬ－１８タンパク質」または「ＩＬ－１８」という用語は、（例えば、ＩＬ－１８と比較して、少なくとも５０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の活性の範囲内の）ＩＬ－１８活性を維持する、因子を誘導するインターフェロンガンマとしても知られているインターロイキン１８の任意の組換え体または天然に存在する形態、またはそれらのバリアントもしくは相同体を含む。いくつかの態様では、バリアントまたは相同体は、天然に存在するＩＬ－１８タンパク質と比較して、配列全体または配列の一部（例えば、５０、１００、１５０、または２００個の連続したアミノ酸部分）にわたって、少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性を有する。実施形態では、ＩＬ－１８タンパク質は、ＵｎｉＰｒｏｔ参照番号Ｑ１４１１６によって特定されるタンパク質、またはそれに対して実質的な同一性を有するバリアントもしくは相同体と実質的に同一である。

【００６３】

本明細書で提供される「ＩＬ－３タンパク質」または「ＩＬ－３」という用語は、（例えば、ＩＬ－３と比較して、少なくとも５０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の活性の範囲内の）ＩＬ－３活性を維持する、造血成長因子、肥満細胞成長因子、Ｐ細胞刺激因子としても知られているインターロイキン３の任意の組換え体または天然に存在する形態、またはそれらのバリアントもしくは相同体を含む。いくつかの態様では、バリアントまたは相同体は、天然に存在するＩＬ－３タンパク質と比較して、配列全体または配列の一部（例えば、５０、１００、１５０、または２００個の連続したアミノ酸部分）にわたって、少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性を有する。実施形態では、ＩＬ－３タンパク質は、ＵｎｉＰｒｏｔ参照番号Ｐ０８７００によって特定されるタンパク質、またはそれに対して実質的な同一性を有するバリアントもしくは相同体と実質的に同一である。

【００６４】

本明細書で提供される「ＩＬ－２１タンパク質」または「ＩＬ－２１」という用語は、（例えば、ＩＬ－２１と比較して、少なくとも５０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の活性の範囲内の）ＩＬ－２１活性を維持する、Ｚａ１１としても知られているインターロイキン２１の任意の組換え体または天然に存在する形態、またはそれらのバリアントもしくは相同体を含む。いくつかの態様では、バリアントまたは相同体は、天然に存在するＩＬ－２１タンパク質と比較して、配列全体または配列の一部（例えば、５０、１００、１５０、または２００個の連続したアミノ酸部分）にわたって、少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性を有する。実施形態では、ＩＬ－２１タンパク質は、ＵｎｉＰｒｏｔ参照番号Ｑ９ＨＢＥ４によって特定されるタンパク質、またはそれに対して実質的な同一性を有するバリアントもしくは相同体と実質的に同一である。

【００６５】

本明細書で提供される「ＩＬ－７タンパク質」または「ＩＬ－７」という用語は、（例えば、ＩＬ－７と比較して、少なくとも５０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の活性の範囲内の）ＩＬ－７活性を維持する、インターロイキン７の任意の組換え体または天然に存在する形態、またはそれらのバリアントもしくは相同体を含む。いくつかの態様では、バリアントまたは相同体は、天然に存在するＩＬ－７タンパク質と比較して、配列全体または配列の一部（例えば、５０、１００、１

５０、または２００個の連続したアミノ酸部分）にわたって、少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性を有する。実施形態では、ＩＬ－７タンパク質は、ＵｎｉＰｒｏｔ参照番号Ｐ１３２３２によって特定されるタンパク質、またはそれに対して実質的な同一性を有するバリアントもしくは相同体と実質的に同一である。

【００６６】

本明細書で提供される「ＩＬ－９タンパク質」または「ＩＬ－９」という用語は、（例えば、ＩＬ－９と比較して、少なくとも５０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の活性の範囲内の）ＩＬ－９活性を維持する、サイトカインＰ４０、Ｔ細胞成長因子Ｐ４０としても知られているインターロイキン９の任意の組換え体または天然に存在する形態、またはそれらのバリアントもしくは相同体を含む。いくつかの態様では、バリアントまたは相同体は、天然に存在するＩＬ－９タンパク質と比較して、配列全体または配列の一部（例えば、５０、１００、１５０、または２００個の連続したアミノ酸部分）にわたって、少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性を有する。実施形態では、ＩＬ－９タンパク質は、ＵｎｉＰｒｏｔ参照番号Ｐ１５２４８によって特定されるタンパク質、またはそれに対して実質的な同一性を有するバリアントもしくは相同体と実質的に同一である。

【００６７】

本明細書で提供される「ＩＦＮｇタンパク質」または「ＩＦＮｇ」という用語は、（例えば、ＩＦＮｇと比較して、少なくとも５０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の活性の範囲内の）ＩＦＮｇ活性を維持する、ＩＦＮγ、ＩＩ型インターフェロンとしても知られているインターフェロンガンマの任意の組換え体または天然に存在する形態、またはそれらのバリアントもしくは相同体を含む。いくつかの態様では、バリアントまたは相同体は、天然に存在するＩＦＮｇタンパク質と比較して、配列全体または配列の一部（例えば、５０、１００、１５０、または２００個の連続したアミノ酸部分）にわたって、少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性を有する。実施形態では、ＩＦＮｇタンパク質は、ＵｎｉＰｒｏｔ参照番号Ｐ０１５７９によって特定されるタンパク質、またはそれに対して実質的な同一性を有するバリアントもしくは相同体と実質的に同一である。

【００６８】

「接触させる」とは、その平易な通常の意味に従って使用され、少なくとも２つの異なる種（例えば、生体分子または細胞を含む化学化合物）が反応、相互作用、または物理的に接触するのに十分に近位になることを可能にするプロセスを指す。しかしながら、結果として生じた反応産物は、添加された試薬間の反応から直接生成され得るか、または反応混合物中に生成され得る添加された試薬のうちの１つ以上由来の中間体から生成され得ることを理解されたい。実施形態では、接触は、例えば、核酸がエンドヌクレアーゼと相互作用することを可能にすることを含む。

【００６９】

「対照」試料または値は、試験試料との比較のための参照となる、通常は既知の参照となる試料を指す。例えば、試験試料は、例えば、試験化合物の存在下での試験条件から採取され得、例えば、試験化合物の非存在下（陰性対照）、または既知の化合物の存在下（陽性対照）での既知の条件からの試料と比較され得る。対照は、いくつかの試験または結果から収集された平均値を表すこともできる。当業者は、対照を任意の数のパラメータの評価のために設計し得ることを認識するであろう。例えば、薬理学的データ（例えば、半減期）または治療手段（例えば、副作用の比較）に基づいて治療効果を比較するための対照を考案することができる。当業者は、どの標準対照が所与の状況においてもっとも適切であるかを理解し、標準対照値との比較に基づいてデータを解析することができるであろう。標準対照はまた、データの有意性（例えば、統計的な優位性）を決定するためにも有用である。例えば、所与のパラメータの値が標準対照において大きく変動する場合、試験試

料の変動は有意であるとみなされない。
【００７０】
「標識」または「検出可能部分」とは、分光学的、光化学的、生化学的、免疫化学的、化学的または他の物理的手段によって検出可能な組成物である。例えば、有用な標識としては、３２Ｐ、蛍光色素、高電子密度試薬、酵素（例えば、ＥＬＩＳＡで広く用いられているようなもの）、ビオチン、ジゴキシゲニンまたはハプテンと、例えば、標的ペプチドとの特異的反応性を持つペプチドまたは抗体に放射性標識を導入することで検出可能にできるタンパク質またはその他の物質が挙げられる。抗体を標識に結合させる方法のうち、当該技術分野において知られているいずれかの適切な方法を用いてよい（例えば、Ｈｅｒｍａｎｓｏｎ，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ １９９６，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏに記載されている方法を用いる）。
【００７１】
「生体試料」または「試料」とは、対象もしくは患者から得たか、またはそれらに由来する材料を指す。生体試料には、生検試料および解剖試料のような組織切片と、組織学上の目的で採取した凍結切片が含まれる。そのような試料としては、血液、血液画分、血液産物（例えば、血清、血漿、血小板、赤血球細胞など）、痰、組織、培養細胞（例えば、初代培養液、外植片およびトランスフォーメーション細胞）便、尿、滑液、関節組織、滑膜組織、滑膜細胞、線維芽細胞様滑膜細胞、マクロファージ様滑膜細胞、免疫細胞、造血細胞、線維芽細胞、マクロファージ、Ｔ細胞などが挙げられる。生体試料は典型的には、哺乳動物（霊長類動物、例えば、チンパンジーもしくはヒト、ウシ、イヌ、ネコ、げっ歯類（例えば、モルモット、ラット、マウスなど）、ウサギ、またはトリなど）、爬虫類、あるいは魚類などの真核生物から得る。
【００７２】
本明細書で使用される場合、「細胞」は、そのゲノムＤＮＡを保存または複製するのに十分な代謝または他の機能を実行する細胞を指す。細胞は、例えば、無傷の膜の存在、特定の染料による染色、子孫を産生する能力、または配偶子の場合、第２の配偶子と組み合わせて、生存能力のある子孫を生み出す能力を含む、当該技術分野において周知の方法によって同定することができる。細胞には、原核細胞および真核細胞が含まれ得る。原核細胞には、細菌が含まれるが、これに限定されない。真核細胞には、酵母細胞ならびに植物および動物に由来する細胞、例えば、哺乳動物細胞、昆虫細胞（例えば、Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ）、およびヒト細胞が含まれるが、これらに限定されない。
【００７３】
「幹細胞（ｓｔｅｍ ｃｅｌｌ）」または「幹細胞（ｓｔｅｍ ｃｅｌｌｓ）」という用語は、多能性であることにより、いくつかの分化した細胞型を生成できるクローン性自己再生性細胞集団を指す。
【００７４】
「遺伝子」という用語は、タンパク質の産生に関与するＤＮＡのセグメントを意味し、これには、コード領域の前後の領域（リーダーとトレーラー）、および個々のコードセグメント（エクソン）間の介在配列（イントロン）が含まれる。リーダー、トレーラー、およびイントロンには、遺伝子の転写および翻訳中に必要な調節エレメントが含まれている。さらに、「タンパク質遺伝子産物」は、特定の遺伝子から発現されるタンパク質である。
【００７５】
遺伝子への言及において本明細書で使用される場合、「発現」または「発現された」という用語は、その遺伝子の転写および／または翻訳産物を意味する。細胞におけるＤＮＡ分子の発現レベルは、細胞に存在する対応のｍＲＮＡの量、またはその細胞によって産生されたＤＮＡによってコードされたタンパク質の量のいずれかに基づき決定され得る（Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，１８．１－１８．８８）。
【００７６】
トランスフェクトされた遺伝子の発現は、細胞において一過性または安定的に発生する可

能性がある。「一過性発現」の間、トランスフェクトされた遺伝子は、細胞分裂中に娘細胞には伝わらない。その遺伝子の発現は、トランスフェクトされた細胞に限定されるため、遺伝子の発現は、時間とともに失われる。対照的に、トランスフェクトされた細胞に、選択時の利便性を付与する別の遺伝子と、トランスフェクトされた遺伝子を同時トランスフェクトすると、トランスフェクション遺伝子の安定発現を行うことができる。そのような選択の利点は、細胞に提示される特定の毒素に対する耐性である可能性がある。

【００７７】

「プラスミド」という用語は、遺伝子および／または遺伝子の発現に必要な調節エレメントをコードする核酸分子を指す。プラスミドからの遺伝子の発現は、シスまたはトランスで起こり得る。遺伝子がシスで発現される場合、遺伝子および調節エレメントは、同じプラスミドによってコードされる。トランスでの発現とは、遺伝子と調節エレメントが別々のプラスミドによってコードされている場合を指す。

【００７８】

「外因性」という用語は、所与の細胞または生物の外部に由来する分子または物質（例えば、核酸またはタンパク質）を指す。逆に、「内因性」という用語は、所与の細胞もしくは生物に天然に備わっているか、または細胞もしくは生物の中に由来する分子もしくは物質を指す。

【００７９】

「ベクター」は、別の核酸を細胞内に輸送することができる核酸である。ベクターは、適切な環境に存在する場合、ベクターによって運ばれる１つ以上の遺伝子によってコードされる１つまたは複数のタンパク質の発現を誘導できる。

【００８０】

「コドン最適化」という用語は、様々な宿主へのトランスフォーメーション用の核酸分子の遺伝子またはコード領域に関する場合、ＤＮＡによってコードされるポリペプチドを改変せずに、宿主生物の典型的なコドン使用頻度を反映するように、その核酸分子の遺伝子またはコード領域におけるコドンを改変することを指す。そのような最適化としては、少なくとも１つ、２つ以上または有意な数のコドンを、宿主生物の遺伝子での使用頻度がより高い１つ以上のコドンに置き換えることが挙げられる。広範な動物、植物および微生物種に利用可能な多数の遺伝子配列を考えると、相対的なコドン使用頻度を算出可能である。コドン使用頻度表は、例えば、ｗｗｗ．ｋａｚｕｓａ．ｏｒ．ｊｐ／ｃｏｄｏｎ／で入手可能な「Ｃｏｄｏｎ　Ｕｓａｇｅ　Ｄａｔａｂａｓｅ」で容易に入手可能である。当業者は、各生物におけるコドン使用頻度またはコドン優先度に関する知見を用いることによって、いずれかの所定のポリペプチド配列にその頻度を適用して、そのポリペプチドをコードするが、所定の種に最適なコドンを使用するコドン最適化コード領域の核酸断片を作製できる。コドン最適化コード領域は、当業者に知られている様々な方法によって設計することができる。

【００８１】

「細胞培養液」は、生体外に存在する細胞のインビトロ集団である。細胞培養液は、細胞バンクもしくは動物から単離した初代細胞、またはその細胞源の１つに由来するとともに、長期インビトロ培養用に不死化されている二代細胞から確立できる。

【００８２】

「トランスフェクション」、「形質導入」、「トランスフェクトする」または「形質導入する」という用語は、交換可能に使用することができ、核酸分子および／またはタンパク質を細胞に導入するプロセスとして定義される。非ウイルスのまたはウイルスベースの方法を使用して、核酸を細胞に導入することができる。核酸分子は、完全なタンパク質またはその機能的部分をコードする配列であってよい。典型的には、タンパク質発現に必要なエレメント（例えば、プロモーター、転写開始部位など）を有する核酸ベクターである。トランスフェクションの非ウイルス方法には、核酸分子を細胞に導入するための送達システムとしてウイルスＤＮＡまたはウイルス粒子を使用しない任意の適切な方法が含まれる。例示的な非ウイルストランスフェクション方法としては、カルシウムホスフェートトラ

ンスフェクション、リポソームトランスフェクション、ヌクレオフェクション、ソノポレーション、ヒートショックを通じたトランスフェクション、マグネトフェクションおよびエレクトロポレーションが挙げられる。ウイルスベースの方法の場合、任意の有用なウイルスベクターを本明細書に記載の方法で使用することができる。ウイルスベクターの例には、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、レンチウイルスベクター、およびアデノ随伴ウイルスベクターが含まれるが、これらに限定されない。いくつかの態様では、核酸分子は、当技術分野で周知の標準的な手順に従って、レトロウイルスベクターを用いて細胞に導入される。「トランスフェクション」または「形質導入」という用語はまた、外部環境から細胞にタンパク質を導入することを指す。通常、タンパク質の形質導入またはトランスフェクションは、細胞膜を横断できるペプチドまたはタンパク質の、目的のタンパク質への付着に依存する。例えば、Ｆｏｒｄ　ｅｔ　ａｌ．（２００１）Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒａｐｙ　８：１－４およびＰｒｏｃｈｉａｎｔｚ（２００７）Ｎａｔ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　４：１１９－２０を参照されたい。

【００８３】

本明細書で使用される場合、「特異的結合」または「特異的に結合する」という用語は、生理学的条件下で比較的安定である複合体（例えば、リボ核タンパク質およびトランスフェクションペプチド）を形成する２つの分子を指す。

【００８４】

リガンドが別の種（例えば、タンパク質もしくは核酸）と結合するかを決定したり、および／またはそのようなリガンドと種との相互作用の親和性を決定したりする方法は、当該技術分野において知られている。例えば、タンパク質へのリガンドの結合は、様々な技法（下記に限らないが、ウエスタンブロット、ドットブロット、表面プラズモン共鳴法（例えば、ＢＩＡｃｏｒｅシステム、Ｐｈａｒｍａｃｉａ　Ｂｉｏｓｅｎｓｏｒ　ＡＢ，Ｕｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ　ａｎｄ　Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，Ｎ．Ｊ．）、等温滴定熱測定（ＩＴＣ）または酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）など）を用いて検出および／または定量できる。

【００８５】

リガンドの免疫特異的結合と交差反応性を解析するのに用いることのできるイムノアッセイとしては、ウエスタンブロット、ＲＩＡ、ＥＬＩＳＡ（酵素結合免疫吸着アッセイ）、「サンドイッチ」イムノアッセイ、免疫沈降アッセイ、免疫拡散アッセイ、凝集アッセイ、補体固定アッセイ、免疫放射定量アッセイおよび蛍光イムノアッセイなどの技法を用いる競合アッセイ系および非競合アッセイ系が挙げられるが、これらに限らない。そのようなアッセイは常法であり、当技術分野でよく知られている。

【００８６】

「抗体」という用語は、抗原に特異的に結合し、認識する、免疫グロブリン遺伝子またはその機能的断片によってコードされるポリペプチドを指す。認識される免疫グロブリン遺伝子には、カッパ、ラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、イプシロン、およびミュー定常領域遺伝子、ならびに無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子が含まれる。軽鎖は、カッパまたはラムダとして分類される。重鎖は、ガンマ、ミュー、アルファ、デルタ、またはイプシロンとして分類され、これらは、同様に、免疫グロブリンクラス、ＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、およびＩｇＥをそれぞれ定義する。

【００８７】

「抗原」および「エピトープ」という用語は、分子（例えばポリペプチド）の部分のうち、免疫系の成分、例えば、抗体、Ｔ細胞受容体またはナチュラルキラー（ＮＫ）細胞上の受容体のような他の免疫受容体によって特異的に認識される部分を同義的に指す。本明細書で使用される場合、「抗原」という用語は、抗原性エピトープおよびその抗原性断片を包含する。

【００８８】

例示的な免疫グロブリン（抗体）構造単位は、テトラマーを有することができる。各テトラマーは、２つの同一の対のポリペプチド鎖からなり、各対は、１本の「軽」鎖（約２５

ｋＤａ）および１本の「重」鎖（約５０～７０ｋＤａ）を有する。各鎖のＮ末端は、主として、抗原認識を担う約１００～１１０以上のアミノ酸の可変領域を規定している。「可変重鎖」、「V_H」、または「ＶＨ」という用語は、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、ｄｓＦｖ、またはＦａｂを含む免疫グロブリン重鎖の可変領域を指し、一方、「可変軽鎖」、「V_L」、または「ＶＬ」という用語は、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、ｄｓＦｖ、またはＦａｂを含む免疫グロブリン軽鎖の可変領域を指す。

【００８９】

抗体機能性断片の例としては、完全抗体分子、Ｆｖなどの抗体断片、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、相補性決定領域（ＣＤＲ）、ＶＬ（軽鎖可変領域）、ＶＨ（重鎖可変領域）、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ）２’、および標的抗原に結合することができる免疫グロブリンペプチドのそれらのまたは任意の他の機能的部分の任意の組み合わせ（例えば、Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（Ｐａｕｌ ｅｄ．，４ｔｈ ｅｄ．２００１を参照のこと）が挙げられるが、これらに限定されない。当業者には理解されるように、様々な抗体断片は、様々な方法、例えば、ペプシンなどの酵素による無傷抗体の消化、またはデノボ合成によって得ることができる。抗体断片は、しばしば、化学的にまたは組換えＤＮＡ方法論を使用することによってデノボ合成される。したがって、本明細書で使用される抗体という用語は、全抗体の修飾によって産生される抗体断片、または組換えＤＮＡ方法論を用いてデノボ合成されたもの（例えば一本鎖Ｆｖ）またはファージディスプレイライブラリを用いて同定されたものを含む（例えば、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ ｅｔ ａｌ．，（１９９０）Ｎａｔｕｒｅ ３４８：５５２を参照のこと）。「抗体」という用語には、二価または二重特異性分子、ダイアボディ、トリアボディ、およびテトラボディも含まれる。二価および二重特異性分子は、例えば、Ｋｏｓｔｅｌｎｙ ｅｔ ａｌ．（１９９２）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４８：１５４７、Ｐａｃｋ ａｎｄ Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ（１９９２）Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ３１：１５７９、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．（１９９３），ＰＮＡＳ．ＵＳＡ ９０：６４４４、Ｇｒｕｂｅｒ ｅｔ ａｌ．（１９９４）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５２：５３６８、Ｚｈｕ ｅｔ ａｌ．（１９９７）Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉ．６：７８１、Ｈｕ ｅｔ ａｌ．（１９９６）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５６：３０５５、Ａｄａｍｓ ｅｔ ａｌ．（１９９３）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５３：４０２６、およびＭｃＣａｒｔｎｅｙ，ｅｔ ａｌ．（１９９５）Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．８：３０１において記載されている。

【００９０】

本明細書で使用する場合、「犠牲」、「自己犠牲」、「自己犠牲機序」、「犠牲部分」、「犠牲ドメイン」などの用語は、本明細書では、化学基が分子内反応を経ることによって、その化学基が化学転位を起こし、その転位した化学基が、結合していた化合物の残りの部分から放出されるようにできることを指す。「ｐＨ感受性」犠牲ドメインとは、低めのｐＨ範囲では犠牲反応を起こし、その低めのｐＨ範囲（例えば、ｐＨ約１～５、ｐＨ約５～７またはｐＨ約７～１０）の外では、犠牲反応を実質的に起こさない化学基を指す。実施形態では、低めのｐＨ範囲は、ｐＨ１～３、ｐＨ２～４、ｐＨ３～５、ｐＨ４～６、ｐＨ５～７、ｐＨ６～８、ｐＨ７～９またはｐＨ８～１０である。実施形態では、ｐＨ感受性犠牲領域は、カチオン性アルファアミノエステル（オリゴ（α－アミノエステル））を含む。実施形態では、カチオン性アルファアミノエステルのカチオン性成分は、正に帯電した窒素原子（例えば、カチオン性アミン）である。実施形態では、カチオン性アルファアミノエステルのカチオン性成分は、グアニジニウム基ではない。実施形態では、カチオン性アルファアミノエステルのカチオン性成分は、ピペリジニウム基ではない。

【００９１】

「細胞透過性複合体」などの用語は、通常かつ慣習的な意味で、細胞（真核細胞または原核細胞などの生体細胞）を透過できる化学複合体（例えば、本明細書に開示されている複合体または組成物と、その実施形態）を指す。実施形態では、細胞透過性複合体は、カチオン性両親媒性ポリマーにイオン結合した核酸を含む。実施形態では、核酸は、カチオン性両親媒性ポリマーの非存在下で細胞に実質的に浸透することができない。したがって、

実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、細胞内への核酸の輸送を促進する。本明細書で使用される場合、「カチオン性電荷変動性放出性トランスポーター」、「ＣＡＲＴ」などの用語は、本明細書に開示される細胞透過性複合体を指す。ＣＡＲＴ化合物は、カチオン性両親媒性ポリマー成分内のｐＨ感受性犠牲ドメインの作用（細胞内ｐＨに応答して反応することによって、核酸を細胞内で放出する作用）を通じて、細胞内で核酸成分を放出できる。実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、細胞内で速やかに分解する（例えば、ｐＨ７．４で６時間未満のＴ１／２）。少なくともいくつかの実施形態では、ポリプレックス、複合体、静電的複合体、ＣＡＲＴ／ｍＲＮＡ複合体、ＣＡＲＴ／オリゴヌクレオチド複合体、およびナノ粒子を交換可能に使用して、細胞透過性複合体を指すことができる。

【００９２】

本明細書で使用される「両親媒性ポリマー」という用語は、親水性部分と疎水性部分の両方を含むポリマーを指す。実施形態では、親水性部分対疎水性部分は、１対１の質量比で存在する。実施形態では、親水性部分対疎水性部分は、１対２の質量比で存在する。実施形態では、親水性部分対疎水性部分は、１対５の質量比で存在する。実施形態では、親水性部分対疎水性部分は、２対１の質量比で存在する。実施形態では、親水性部分対疎水性部分は、５対１の質量比で存在する。両親媒性ポリマーは、ジブロックまたはトリブロックコポリマーであり得る。実施形態では、両親媒性ポリマーは、２つの親水性部分（例えば、ブロック）および１つの疎水性部分（例えば、ブロック）を含み得る。

【００９３】

しばしば「脂質ブロック」と呼ばれる「親油性ポリマードメイン」などの用語は、親水性ではない（例えば、水のみに不溶性である）カチオン性両親媒性ポリマーの領域を指す。実施形態では、親油性ポリマードメインは、水への溶解度が低い。例えば、水への低い溶解度は、水に溶解する約０．０００５ｍｇ／ｍＬ～約１０ｍｇ／ｍＬである親油性ポリマードメインの溶解度を指す。

【００９４】

「開始剤」という用語は、重合反応を開始することを目的とするカチオン性両親媒性ポリマーを合成する反応に関与する化合物を指す。したがって、開始剤は、通常、合成されたポリマーの末端に組み込まれる。例えば、カチオン性両親媒性ポリマーを提供するために、１つの種類（式）のモノマーまたは２種以上のモノマー（例えば異なる２種類のモノマー）の複数の分子が、開始剤と反応できる。開始剤は、得られるポリマーの少なくとも一端に存在することができ、ポリマー中に存在する繰り返し（または重合）単位（複数可）を構成することはできない。

【００９５】

「疾患」または「状態」という用語は、本明細書で提供される化合物、薬学的組成物、または方法で治療することができる対象の存在状態または健康状態を指す。疾患は、自己免疫疾患、炎症性疾患、癌疾患、感染症、代謝性疾患、発達性疾患、心血管疾患、肝疾患、腸疾患、内分泌疾患、神経疾患またはその他の疾患であることができる。実施形態では、疾患は、癌（例えば、乳癌、卵巣癌、肉腫、骨肉腫、肺癌、膀胱癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、皮膚癌（例えばメルケル細胞癌）、精巣癌、白血病、リンパ腫、頭頸部癌、大腸癌、前立腺癌、膵癌、メラノーマ、神経芽腫）である。

【００９６】

「感染」または「感染症」という用語は、細菌、ウイルス、真菌または他の病原性微生物剤などの生物によって引き起こされる可能性のある疾患または状態を指す。

【００９７】

本明細書で使用される場合、「癌」という用語は、白血病、リンパ腫、黒色腫、神経内分泌腫瘍、癌腫、および肉腫を含む、哺乳動物（例えば、ヒト）に見出されるすべての種類の癌、新生物、または悪性腫瘍を指す。本明細書で提供される化合物、薬学的組成物、または方法で治療され得る例示的な癌としては、リンパ腫、肉腫、膀胱癌、骨癌、脳腫瘍、子宮頸癌、結腸癌、食道癌、胃癌、頭頸部癌、腎臓癌、骨髄腫、甲状腺癌、白血病、前立

腺癌、乳癌（例えば、トリプルネガティブ、ＥＲ陽性、ＥＲ陰性、化学療法抵抗性、ハーセプチン抵抗性、ＨＥＲ２陽性、ドキソルビシン抵抗性、タモキシフェン抵抗性、乳管癌、小葉癌、原発性、転移性）、卵巣癌、膵臓癌、肝臓癌（例えば、肝細胞癌）、肺癌（例えば、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞肺癌、腺癌、大細胞肺癌、小細胞肺癌、カルチノイド、肉腫）、多形性膠芽腫、神経膠腫、黒色腫、前立腺癌、去勢抵抗性前立腺癌、乳癌、トリプルネガティブ乳癌、膠芽腫、卵巣癌、肺癌、扁平上皮細胞癌（例えば、頭部、頸部、または食道）、結腸直腸癌、白血病、急性骨髄性白血病、リンパ腫、Ｂ細胞リンパ腫、または多発性骨髄腫が挙げられる。追加の例としては、甲状腺癌、内分泌系癌、脳癌、乳癌、頸部癌、結腸癌、頭頸部癌、食道癌、肝臓癌、腎臓癌、肺癌、非小細胞肺癌、黒色腫、中皮腫、卵巣癌、肉腫、胃癌、子宮癌、または髄芽腫、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、多発性骨髄腫、神経芽細胞腫、神経膠腫、多形性膠芽細胞腫、卵巣癌、横紋筋肉腫、原発性血小板血症、原発性マクログロブリン血症、原発性脳腫瘍、癌、悪性膵インスリノーマ、悪性カルチノイド、膀胱癌、前悪性皮膚病変、精巣癌、リンパ腫、甲状腺癌、神経芽細胞腫、食道癌、尿生殖器癌、悪性高カルシウム血症、子宮内膜癌、副腎皮質癌、内分泌もしくは外分泌膵臓新生物、甲状腺髄様癌、甲状腺髄様癌腫、黒色腫、結腸直腸癌、乳頭様甲状腺癌、肝細胞癌、乳頭のパジェット病、葉状腫瘍、小葉癌、乳管癌、膵星細胞癌、肝星細胞癌、または前立腺癌が挙げられる。

【００９８】

本明細書で定義されているように、「阻害」、「阻害する」、「阻害すること」などの用語は、分子（例えば、ポリヌクレオチドまたはタンパク質）の活性および／または機能性に関しては、その阻害の非存在下におけるタンパク質の活性または機能と比べて、分子の活性または機能にマイナスの影響を及ぼす（例えば、分子の活性または機能を低下または低減する）ことを意味する。したがって、阻害は、少なくとも部分的に、刺激を部分的にまたは完全に遮断すること、シグナル伝達または酵素活性またはタンパク質もしくはポリヌクレオチドの量を、減少させること、阻止すること、または活性化を遅延させること、または不活性化すること、脱感作させること、または下方調節することを含む。同様に、「阻害剤」とは、例えば、標的生体分子に結合したり、標的生体分子の活性を部分的または全体的にブロック、低下、阻止、遅延、不活化、脱感作または下方調節したりすることによって、標的生体分子（すなわち、核酸、ペプチド、炭水化物、脂質または天然で見ることができるいずれかの他の分子）を阻害する化合物である。疾患の予防的処置の文脈において、阻害は、疾患または疾患の症状の軽減を指す。

【００９９】

「治療」、「治療すること」および「治療する」とは、薬剤によって疾患、障害または状態に作用し、その疾患、障害もしくは状態および／またはその症状の有害なもしくはいずれかの他の望ましくない作用を低減または改善することとして定義する。治療が必要な状態もしくは対象「を治療すること」、または「治療」とは、（１）症状の低減のような臨床結果を含む有益もしくは所望な結果を得るために手段を講じること、（２）疾患を阻害すること、例えば、疾患もしくはその臨床症状の発現を抑止もしくは低減すること、（３）疾患を軽減すること、例えば、疾患もしくはその臨床症状を退縮させること、または（４）疾患を遅延させることを指す。例えば、有益または所望な臨床結果としては、癌細胞の低減および／または排除と、癌細胞の転移の予防および／または低減が挙げられるが、これらに限らない。

【０１００】

疾患の文脈における「予防する」、「予防すること」または「予防」という用語は、疾患の症状をまだ経験したり、または示したりしていない対象において、疾患の臨床症状を発現させないことを指す。実施形態では、そのような予防は、疾患の素因があるとみなすことができる対象に適用することができるが、他のいくつかの例では、対象は必ずしも疾患の素因があるとみなされない場合がある。

【０１０１】

本明細書で使用される場合、「投与すること」は、当業者に知られている様々な方法およ

び送達システムのいずれかを用いて、対象に組成物を物理的に導入することを指す。本明細書に記載の組成物の好ましい投与経路としては、例えば注射または注入による、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、脊髄または他の非経口投与経路が挙げられる。本明細書で使用される「非経口投与」という語句は、経腸投与と局所投与以外の、通常は注射による投与方法を意味し、静脈内、腹腔内、筋肉内、動脈内、髄腔内、リンパ内、病巣内、嚢内、眼窩内、心腔内、皮内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、髄腔内、硬膜外、胸骨内注射および注入、ならびにインビボ電気穿孔が挙げられるが、これらに限らない。あるいは、本明細書に記載の組成物は、局所、表皮または粘膜の投与経路、例えば、鼻腔内、経口、膣、直腸、舌下または局所などの非経口経路を介して投与することができる。投与はまた、例えば、１回、複数回、および／または１つ以上の長期間にわたって実施することができる。

【０１０２】

本明細書で使用される場合、「転移」、「転移性」、および「転移性癌」という用語は、交換可能に使用することができ、１つの臓器もしくは別の隣接しない器官または身体の一部からの、増殖性疾患または障害、例えば、癌の広がりを指す。癌は、原発性腫瘍、例えば、原発性乳癌と称される発生源部位、例えば乳房で発生する。原発性腫瘍または発生部位における一部の癌細胞は、局所領域での周囲の正常組織に浸透および浸潤する能力、ならびに／またはリンパ系もしくは血管系の壁に浸透し、系を介して身体の他の部位および組織へと循環する能力を獲得する。原発性腫瘍の癌細胞から形成された臨床的に検出可能な二次的な腫瘍は、転移性または二次性腫瘍と呼ばれる。癌細胞が転移した場合、転移性腫瘍およびその細胞は元の腫瘍のものと同様であると推定される。したがって、肺癌が乳房に転移する場合、乳房の部位の二次性腫瘍は、異常な肺細胞からなり、異常な乳房細胞からなるのではない。乳房の二次性腫瘍は、転移性肺癌と称される。したがって、転移性癌という語句は、対象が、原発性腫瘍を有するかまたは有していた、１つ以上の二次性腫瘍を有する疾患を指す。非転移性癌または転移性ではない癌を有する対象という語句は、対象が原発性腫瘍を有するが１つ以上の二次性腫瘍を有しない疾患を指す。例えば、転移性肺癌は、原発性肺腫瘍の病歴を有するかまたは病歴を有し、例えば乳房の第２の場所または複数の場所に１つ以上の二次性腫瘍を有する対象における疾患を指す。

【０１０３】

「抗癌剤」は、癌の治療または予防に使用できる抗癌活性を有する治療薬である。抗癌剤は、大分子でも小分子でもよい。抗癌剤の例としては、抗体、小分子、および大分子またはそれらの組み合わせが挙げられる。「抗癌活性」の例としては、癌細胞数の低減、癌の大きさの縮小、癌細胞の死滅、転移の低減および／または阻害、ならびに癌細胞の成長および／または増殖の低減が挙げられるが、これらに限らない。

【０１０４】

疾患に関連する物質または物質の活性または機能の文脈において、「関連する」または「に関連する」という用語は、その疾患が（全体的にまたは部分的に）引き起こされるか、または疾患の症状が（全体的にまたは部分的に）物質または物質の活性または機能によって引き起こされることを意味する。この用語が、症状、例えば、疾患または状態と関連する症状の文脈で用いられているときには、症状が、その症状を示す対象に存在する疾患または状態を示し得ることを意味する。

【０１０５】

「対象」、「個体」、「宿主」または「それを必要とする対象」という用語は、疾患もしくは状態に罹患している、または将来疾患もしくは状態を有する可能性がある生物を指す。「患者」という用語は、すでに疾患または状態を有する生物、例えば、疾患もしくは状態と診断された、または疾患もしくは状態に関連する１つ以上の症状を有する患者を指す。非限定的な例には、ヒト、他の哺乳動物、ウシ、ラット、マウス、イヌ、サル、ヤギ、ヒツジ、ウシ、シカ、および他の非哺乳動物が含まれる。いくつかの実施形態では、患者は、ヒトである。

【０１０６】

「ワクチン」という用語は、特定の疾患または病原体に対する能動的獲得免疫および／または治療効果（例えば治療）をもたらすことができる組成物を指す。ワクチンは典型的には、対象において、病原体または疾患、すなわち、標的病原体または標的疾患に対する免疫応答を誘導できる薬剤を１つ以上含む。免疫原性剤は、体の免疫系を刺激して、標的病原体または標的疾患の存在の脅威または指標としてその薬剤を認識させることによって、その免疫系が、それ以降にその病原体に曝露されたときに、その病原体をいずれも、さらに容易に認識および破壊できるように、免疫記憶を誘導する。ワクチンは、予防的（例えば、自然もしくは病原体のいずれかによる将来の感染の影響、または素因を有する対象における、予想される癌の発症を予防または改善する）、または治療的（例えば、癌と診断された対象の癌を治療する）であることもできる。ワクチンの投与は、予防接種と呼ばれる。実施形態では、ワクチン組成物は、核酸、例えば、抗原性分子（例えばペプチド）をコードするｍＲＮＡを対象に提供することができる。対象において、ワクチン組成物を介して送達する核酸は、抗原分子に発現して、その対象に、その抗原分子に対する免疫を獲得させることができる。感染症に対するワクチン接種の文脈において、ワクチン組成物は、特定の病原体と関連する抗原分子、例えば、病原体（例えば、病原性細菌または病原性ウイルス）で発現することが知られている１つ以上のペプチドをコードするｍＲＮＡを提供することができる。癌ワクチンの文脈において、ワクチン組成物は、癌と関連する特定のペプチド、例えば、実質的に癌細胞においてのみ発現するか、または正常細胞よりも、癌細胞で高度に発現するペプチドをコードするｍＲＮＡを提供することができる。対象は、癌ワクチン組成物によるワクチン接種後、癌と関連するペプチドに対する免疫を有するとともに、癌細胞を特異的に死滅させることができる。

【０１０７】

本明細書で使用される「免疫応答」という用語には、「適応免疫応答」（「獲得免疫応答」としても知られている）が含まれ（ただし、これに限らない）、この適応免疫は、その免疫応答が標的とする特異的病原体または特異的種類の細胞に対する初期応答後に免疫記憶を惹起し、それ以降、標的に遭遇すると、増強された応答が、その標的に対して起こる。免疫記憶の誘導によって、ワクチン接種の土台を提供することができる。

【０１０８】

「免疫原性」または「抗原性」という用語は、免疫応答性のある対象に投与すると、免疫応答、例えば、細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）応答、Ｂ細胞応答（例えば、エピトープと特異的に結合する抗体の産生）、ＮＫ細胞応答またはそれらの任意の組み合わせを誘導する化合物または組成物を指す。したがって、免疫原性組成物または抗原組成物は、免疫応答性のある対象において、免疫応答を惹起できる組成物である。例えば、免疫原性組成物または抗原組成物は、免疫応答の標的となる病原体または特異的種類の細胞と関連する１つ以上の免疫原性エピトープを含むことができる。加えて、免疫原性組成物は、抗原ポリペプチドの免疫原性エピトープを１つ以上コードする単離核酸コンストラクト（ＤＮＡまたはＲＮＡ）であって、そのエピトープ（複数可）を発現させるのに用いることのできる（したがって、このポリペプチドまたは標的の病原体または細胞種と関連する関連ポリペプチドに対する免疫応答を惹起するのに用いることのできる）単離核酸コンストラクトを含むことができる。

【０１０９】

本発明で提供される方法に従って、対象に、本明細書で交換可能に使用される１つ以上の薬剤、組成物または複合体（例えば、細胞透過性複合体またはワクチン組成物）の有効量を投与できる。「有効量」と「有効用量」という用語は、交換可能に使用される。「有効量」という用語は、所望の効果（例えば、細胞への核酸のトランスフェクションおよびトランスフェクトされた核酸の意図された結果を示す）を生み出すために必要な任意の量として定義される。薬剤を投与するための有効な量およびスケジュールは、当業者によって実験的に決定することができる。投与の投与量範囲は、例えば、核酸のトランスフェクション、遺伝子発現の調節、遺伝子編集、幹細胞の誘導、免疫応答の誘導など、所望の効果を生み出すのに十分な大きさの範囲である。投与量は、望ましくない交差反応、アナフィ

ラキシー反応などの実質的な有害な副作用を引き起こすほど多くてはならない。一般に、投与量は、年齢、状態、性別、疾患の種類、疾患もしくは障害の程度、投与経路、または他の薬物がレジメンに含まれるかどうかによって変化する可能性があり、当業者によって決定することができる。いずれかの禁忌が発生した場合は、個々の医師が投与量を調整できる。投与量は変動する可能性があり、１日または数日間、毎日１回以上の投与で投与することができる。指針は、所定のクラスの医薬品の適切な投与量に関する文献で見ることができる。例えば、所与のパラメータについて、治療有効量は、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、４０％、５０％、６０％、７５％、８０％、９０％、または少なくとも１００％の増加または減少を示し得る。有効性は、「倍」の増加または減少としても表され得る。例えば、治療有効量は、対照よりも少なくとも１．２倍、１．５倍、２倍、５倍、またはそれ以上効果的であり得る。正確な用量と配合は、治療目的に左右されることがあり、当業者は、既知の技法を用いて、正確な用量と配合を確認できる（例えば、Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ（ｖｏｌｓ．１－３，１９９２）、Ｌｌｏｙｄ，Ｔｈｅ Ａｒｔ，Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｃｏｍｐｏｕｎｄｉｎｇ（１９９９）、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ，２０ｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｇｅｎｎａｒｏ，Ｅｄｉｔｏｒ（２００３）およびＰｉｃｋａｒ，Ｄｏｓａｇｅ Ｃａｌｃｕｌａｔｉｏｎｓ（１９９９））を参照されたい）。

【０１１０】

癌治療に関する「死滅させる」という用語は、癌細胞または癌細胞集団の少なくとも一部を死に至らしめることになるいずれかのタイプの操作を含むように意図されている。

【０１１１】

細胞透過性複合体

第１の態様では、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合した核酸を含む細胞透過性複合体であって、ｐＨ感受性犠牲ドメインを含むカチオン性両親媒性ポリマーが提供される。実施形態では、１つ以上の対イオン（例えば、アニオン）もまた、カチオン性両親媒性ポリマーの正電荷に対する対電荷として存在し得る。実施形態では、核酸は、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合している。実施形態では、核酸は、カチオン性両親媒性ポリマーにイオン結合している。実施形態では、細胞透過性複合体は、複数の任意選択で異なる核酸（例えば、１～１０個の追加の核酸、１～５個の追加の核酸、１～５個の追加の核酸、２個の追加の核酸または１個の追加の核酸）を含む。実施形態では、核酸は、ＲＮＡである。実施形態では、核酸は、ｍＲＮＡである。

【０１１２】

実施形態では、細胞透過性複合体に存在する、カチオン性両親媒性ポリマー分子のカチオンの数と、核酸分子のアニオンの数の比率は、約１：１、約５：１、約１０：１、約２０：１、約３０：１、約４０：１、約５０：１、約６０：１、約７０：１、約８０：１、約９０：１、約10^2：１、約10^3：１、約10^4：１、約10^5：１、約10^6：１、約10^7：１、約10^8：１、約10^9：１、約10^{10}：１もしくはこれよりも大きい比率、または上記の値の間のいずれかの範囲であることができる。他の実施形態では、細胞透過性複合体に存在する、核酸分子のアニオンの数と、カチオン性両親媒性ポリマー分子のカチオンの数の比率は、約１：１、約５：１、約１０：１、約２０：１、約３０：１、約４０：１、約５０：１、約６０：１、約７０：１、約８０：１、約９０：１、約10^2：１、約10^3：１、約10^4：１、約10^5：１、約10^6：１、約10^7：１、約10^8：１、約10^9：１、約10^{10}：１、もしくはこれよりも大きい比率、または上記の値の間のいずれかの範囲であることができる。いくつかの好ましい実施形態では、この比率は、両親媒性ポリマー分子上の約１０個のカチオン電荷対、核酸上の１個の負電荷である。他の実施形態は、両親媒性ポリマー分子の５個のカチオン電荷から核酸の１個の負電荷、または両親媒性ポリマー分子の２０個のカチオン電荷から核酸の１個の負電荷を有することができる。

【０１１３】
実施形態では、細胞透過性複合体に存在する、核酸分子の数と、カチオン性両親媒性ポリマー分子の数の比率は、約１：１、約１０：１、約１０２：１、約１０３：１、約１０４：１、約１０５：１、約１０６：１、約１０７：１、約１０８：１、約１０９：１、約１０１０：１もしくはこれよりも大きい比率、または上記の値の間のいずれかの範囲であることができる。他の実施形態では、細胞透過性複合体に存在する、カチオン性両親媒性ポリマー分子の数と、核酸分子の数の比率は、約１：１、約１０：１、約１０２：１、約１０３：１、約１０４：１、約１０５：１、約１０６：１、約１０７：１、約１０８：１、約１０９：１、約１０１０：１もしくはこれよりも大きい比率、または上記の値の間のいずれかの範囲であることができる。

【０１１４】
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、カチオン性電荷変動性放出性トランスポーター（ＣＡＲＴ）であり得る。実施形態では、ＣＡＲＴは、カチオン性から中性へ、またはカチオン性からアニオン性への電荷のｐＨ感受性変化を受ける一連のカチオン性配列を含むオリゴマー鎖を含み得る。

【０１１５】
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、ｐＨ感受性犠牲ドメインおよび親油性ポリマードメインを有する。実施形態では、親油性ポリマードメインは、細胞透過、細胞送達、および／または細胞膜を通過する輸送を促進し得る。実施形態では、親油性ポリマードメインは、水に実質的に不溶性であり得る（例えば、約０．０００５ｍｇ／ｍＬ未満～約１０ｍｇ／ｍＬの水に溶解する）。実施形態では、親油性ポリマードメインは、カチオン性両親媒性ポリマーのナノ粒子への凝集を促進し得る。実施形態では、そのようなナノ粒子は、約５０ｎｍ～約５００ｎｍの平均最長寸法を有し得る。実施形態では、親油性ポリマードメインは、エンドソーム内への侵入および犠牲化に続く、カチオン性両親媒性ポリマーの残骸のエンドソーム融合を促進し得る。実施形態では、本開示の細胞透過性複合体は、核酸カーゴを分解から保護する。「核酸カーゴ」などの用語は、通常の慣習的な意味で、本明細書に開示される細胞透過性複合体と、その実施形態による細胞への輸送が望まれる種を指す。

【０１１６】
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式（Ｉ）を有し、
Ｈ－Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＩＭ）ｚ２－（ＬＰ２）ｚ３］ｚ４－Ｌ２－Ｈ（Ｉ）、
式中、Ｌ１およびＬ２が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、ＬＰ１およびＬＰ２が、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、ＬＰ１またはＬＰ２のうちの少なくとも１つが、親油性ポリマードメインであり、ＩＭが、ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、ｚ２が、２～１００の整数である。

【０１１７】
実施形態では、Ｌ１は、置換または非置換Ｃ１－Ｃ３アルキレンである。実施形態では、Ｌ１は、置換または非置換メチレンである。実施形態では、Ｌ１は、置換もしくは非置換Ｃ１－Ｃ６アルキレン、または置換もしくは非置換２～６員ヘテロアルキレンである。実施形態では、Ｌ１は、置換もしくは非置換Ｃ１－Ｃ３アルキレン、または置換もしくは非置換２～３員ヘテロアルキレンである。

【０１１８】
実施形態では、Ｌ１は、置換もしくは非置換アルキレン（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン（例えば、

２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキレン（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリーレン（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニレン）、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレン（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｌ１は、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリーレン、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリーレンである。実施形態では、Ｌ１は、非置換アルキレン、非置換ヘテロアルキレン、非置換シクロアルキレン、非置換ヘテロシクロアルキレン、非置換アリーレン、または非置換ヘテロアリーレンである。実施形態では、Ｌ１は、非置換アルキレン（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキレン）である。実施形態では、Ｌ１は、結合である。

【０１１９】

実施形態では、Ｌ２は、置換または非置換Ｃ１－Ｃ３アルキレンである。実施形態では、Ｌ２は、置換または非置換メチレンである。実施形態では、Ｌ２は、置換もしくは非置換Ｃ１－Ｃ６アルキレン、または置換もしくは非置換２～６員ヘテロアルキレンである。実施形態では、Ｌ２は、置換もしくは非置換Ｃ１－Ｃ３アルキレン、または置換もしくは非置換２～３員ヘテロアルキレンである。

【０１２０】

実施形態では、Ｌ２は、置換もしくは非置換アルキレン（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキレン（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリーレン（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニレン）、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレン（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｌ２は、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリーレン、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリーレンである。実施形態では、Ｌ２は、非置換アルキレン、非置換ヘテロアルキレン、非置換シクロアルキレン、非置換ヘテロシクロアルキレン、非置換アリーレン、または非置換ヘテロアリーレンである。実施形態では、Ｌ２は、非置換アルキレン（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキレン）である。実施形態では、Ｌ２は、結合である。

【０１２１】

実施形態では、ｚ２は、２～９０（例えば５～９０、１０～９０または２０～９０）、２～８０（例えば５～８０、１０～８０または２０～８０）、２～７０（例えば５～７０、１０～７０または２０～７０）、２～５０（例えば５～５０、１０～５０または２０～５０）または２～２５の整数である。実施形態では、ｚ１およびｚ３は、独立して、０～９０（例えば５～９０、１０～９０または２０～９０）、０～８０（例えば５～８０、１０～８０または２０～８０）、０～７０（例えば５～７０、１０～７０または２０～７０）

、０～５０（例えば５～５０、１０～５０または２０～５０）または２～２５の整数である。実施形態では、ｚ１およびｚ３は、独立して、２～９０（例えば５～９０、１０～９０または２０～９０）、２～８０（例えば５～８０、１０～８０または２０～８０）、２～７０（例えば５～７０、１０～７０または２０～７０）、２～５０（例えば５～５０、１０～５０または２０～５０）または２～２５の整数である。実施形態では、ｚ４は、１～９０（例えば５～９０、１０～９０または２０～９０）、１～８０（例えば５～８０、１０～８０または２０～８０）、１～７０（例えば５～７０、１０～７０または２０～７０）、１～５０（例えば５～５０、１０～５０または２０～５０）または２～２５の整数である。実施形態では、ｚ４は、２～９０（例えば５～９０、１０～９０または２０～９０）、２～８０（例えば５～８０、１０～８０または２０～８０）、２～７０（例えば５～７０、１０～７０または２０～７０）、２～５０（例えば５～５０、１０～５０または２０～５０）または２～２５の整数である。

【０１２２】

細胞透過性複合体の実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、第１の求核性部分および第１の求電子性部分を含み、第１の求核性部分は、ｐＨ範囲内で第１の求電子性部分と反応し、そのｐＨ範囲外の部分（例えば、ｐＨ約１～５、ｐＨ約５～７またはｐＨ約７～１０）では求電子性と実質的に反応しない。実施形態では、第１の求核性部分と第１の求電子性部分との反応性が最大であるｐＨ範囲は、ｐＨ１～３、ｐＨ２～４、ｐＨ３～５、ｐＨ４～６、ｐＨ５～７、ｐＨ６～８、ｐＨ７～９、またはｐＨ８～１０である。求核性部分は、化学におけるその明白な通常の意味に従って使用され、電子を与えることができる部分（例えば、官能基）を指す。

【０１２３】

実施形態では、第１の求核性部分と第１の求電子性部分との反応性が最大であるｐＨ範囲は、ｐＨ１～３である。実施形態では、第１の求核性部分と第１の求電子性部分との反応性が最大であるｐＨ範囲は、ｐＨ２～４である。実施形態では、第１の求核性部分と第１の求電子性部分との反応性が最大であるｐＨ範囲は、ｐＨ３～５である。実施形態では、第１の求核性部分と第１の求電子性部分との反応性が最大であるｐＨ範囲は、ｐＨ４～６である。実施形態では、第１の求核性部分と第１の求電子性部分との反応性が最大であるｐＨ範囲は、ｐＨ５～７である。実施形態では、第１の求核性部分と第１の求電子性部分との反応性が最大であるｐＨ範囲は、ｐＨ６～８である。実施形態では、第１の求核性部分と第１の求電子性部分との反応性が最大であるｐＨ範囲は、ｐＨ７～９である。実施形態では、第１の求核性部分と第１の求電子性部分との反応性が最大であるｐＨ範囲は、ｐＨ８～１０である。実施形態では、ｐＨは、１である。実施形態では、ｐＨは、２である。実施形態では、ｐＨは、３である。実施形態では、ｐＨは、４である。実施形態では、ｐＨは、５である。実施形態では、ｐＨは、６である。実施形態では、ｐＨは、７である。実施形態では、ｐＨは、８である。実施形態では、ｐＨは、９である。実施形態では、ｐＨは、１０である。実施形態では、ｐＨは、約１である。実施形態では、ｐＨは、約２である。実施形態では、ｐＨは、約３である。実施形態では、ｐＨは、約４である。実施形態では、ｐＨは、約５である。実施形態では、ｐＨは、約６である。実施形態では、ｐＨは、約７である。実施形態では、ｐＨは、約８である。実施形態では、ｐＨは、約９である。実施形態では、ｐＨは、約１０である。

【０１２４】

実施形態では、第１の求核性部分は、低ｐＨ（例えば、ｐＨ約１～約５）で実質的にプロトン化される。実施形態では、第１の求核性部分は、ｐＨ５～７の範囲で実質的にプロトン化される。実施形態では、第１の求核性部分は、カチオン性である。実施形態では、第１の求核性部分は、カチオン性窒素（例えば、カチオン性アミン）を含む。

【０１２５】

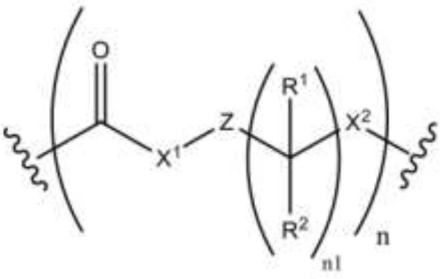
実施形態では、第１の求核性部分は、ｐＨ不安定性の保護基に結合することができる。「ｐＨ不安定性の保護基」などの用語は、通常かつ慣習的な意味においては、その基に結合している別の官能基を保護できる化学部分を指し、その保護基は、特定のｐＨ条件（例え

ば、ｐＨを低下させる条件）で、切断したりまたは保護基として別段の形で不活化したりできる。一実施形態では、ｐＨ不安定性の保護基は、－ＣＯ２－ｔ－Ｂｕであり、酸性条件（例えばｐＨ７未満）で除去される基である。追加の求核試薬保護基としては、光、熱、求核試薬、および塩基によって切断される保護基も挙げることができる。

【０１２６】

上に開示されている細胞透過性複合体の実施形態と、その実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、下記の式（ＩＩ）の構造を有し、

【化２】



（ＩＩ）、

式中、ｎは、２以上の整数であり、ｎ１は、０～５０の整数であり、Ｚは、求核性部分であり、Ｘ１は、結合、－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－、－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－Ｃ（Ｒ７）（Ｒ８）－、－Ｏ－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－または－Ｏ－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－Ｃ（Ｒ７）（Ｒ８）－であり、Ｘ２は、－Ｏ－または－Ｓ－であり、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７およびＲ８は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、ｎは、２～１００、２～９０、２～８０、２～７０、２～６０、２～５０、２～４０、２～３０、２～２、または２～１０の範囲内の整数である。実施形態では、ｎ１は、０～２５、０～１０、０～５の範囲内の整数である。実施形態では、ｎ１は、０、１、２、３、４、または５である。実施形態では、ｎ１は、１または２である。

【０１２７】

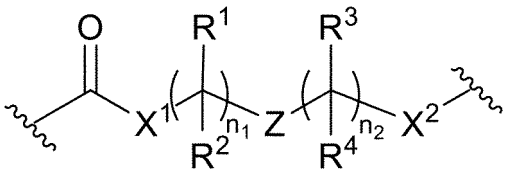
実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、およびＲ８は、独立して、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、およびＲ８は、独立して、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、およびＲ８は、独立して、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、およびＲ８は、独立して、水素または非置換アルキル（例

えば、Ｃ１－Ｃ６アルキル）である。実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、およびＲ８は、水素である。

【０１２８】

上に開示されている細胞透過性複合体の実施形態と、その実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、以下の構造を有し、

【化３】



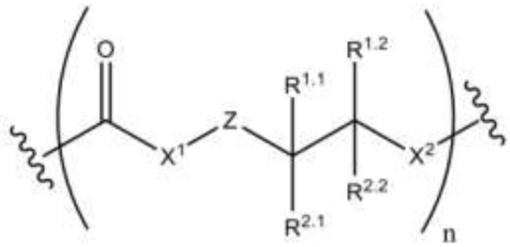
、

式中、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、Ｒ４、Ｘ１、ＺおよびＸ２は、本明細書で定義されているとおりであり、ｎ１とｎ２は、２以上の整数である。

【０１２９】

本明細書に開示されている細胞透過性複合体の実施形態と、その実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、下記の式（ＩＩＩ）の構造を有し、

【化４】



（ＩＩＩ）、

式中、ｎは、２以上の整数であり、Ｚは、求核性部分であり、Ｘ１は、結合、－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－、－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－Ｃ（Ｒ７）（Ｒ８）－、－Ｏ－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－または

－Ｏ－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－Ｃ（Ｒ７）（Ｒ８）－であり、Ｘ２は、－Ｏ－または－Ｓ－であり、Ｒ１．１、Ｒ１．２、Ｒ２．１、Ｒ２．２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７およびＲ８は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、ｎは、２～１００、２～９０、２～８０、２～７０、２～６０、２～５０、２～４０、２～３０、２～２、または２～１０の範囲内の整数である。実施形態では、ｎは、２～１００または２～５０の範囲内の整数である。

【０１３０】

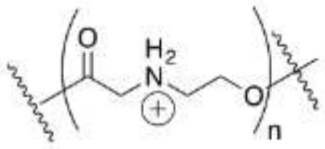
実施形態では、Ｒ１．１、Ｒ１．２、Ｒ２．１、Ｒ２．２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７およびＲ８は、独立して、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ１．１、Ｒ１．２、Ｒ２．１、Ｒ２．２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、およびＲ８は、独立して、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、

または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ１・１、Ｒ１・２、Ｒ２・１、Ｒ２・２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、およびＲ８は、独立して、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ１・１、Ｒ１・２、Ｒ２・１、Ｒ２・２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、およびＲ８は、独立して、水素または非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキル）である。実施形態では、Ｒ１・１、Ｒ１・２、Ｒ２・１、Ｒ２・２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、およびＲ８は、独立して、水素である。

【０１３１】

本明細書に開示されている細胞透過性複合体の実施形態と、その実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、下記の式（ＩＶ）の構造を有し、

【化５】



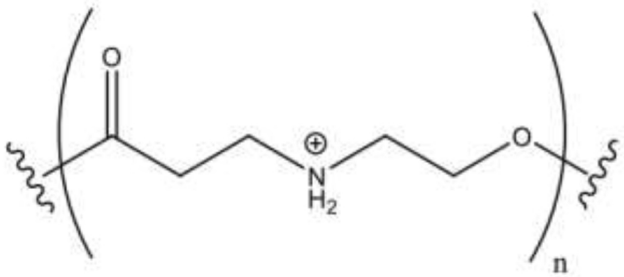
（ＩＶ）、

式中、ｎは、２以上の整数である。実施形態では、ｎは、２～１００、２～９０、２～８０、２～７０、２～６０、２～５０、２～４０、２～３０、２～２０、または２～１０の範囲内の整数である。実施形態では、ｎは、２～１００または２～５０の範囲内の整数である。いくつかの実施形態では、ｎは、２～５０の整数である。実施形態では、ｎは、２～１５の整数である。

【０１３２】

本明細書に開示されている細胞透過性複合体の実施形態と、その実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、下記の式（ＩＶａ）の構造を有し、

【化６】



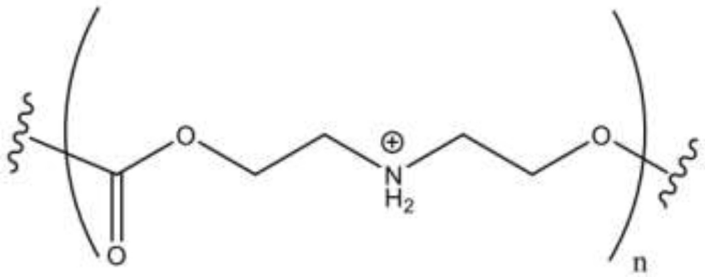
（ＩＶａ）、

式中、ｎは、２以上の整数である。実施形態では、ｎは、２～１００、２～９０、２～８０、２～７０、２～６０、２～５０、２～４０、２～３０、２～２０、または２～１０の範囲内の整数である。実施形態では、ｎは、２～１００または２～５０の範囲内の整数である。

【０１３３】

本明細書に開示されている細胞透過性複合体の実施形態と、その実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、下記の式（Ｖ）の構造を有し、

【化７】



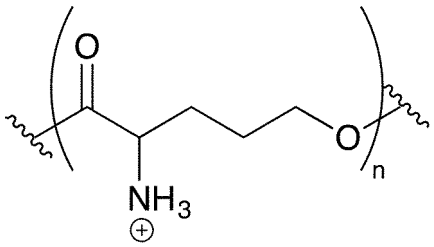
（Ｖ）、

式中、ｎは、２以上の整数である。実施形態では、ｎは、２～１００、２～９０、２～８０、２～７０、２～６０、２～５０、２～４０、２～３０、２～２０、または２～１０の範囲内の整数である。実施形態では、ｎは、２～１００または２～５０の範囲内の整数である。

【０１３４】

本明細書に開示されている細胞透過性複合体の実施形態と、その実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、下記の式（Ｖａ）の構造を有し、

【化８】

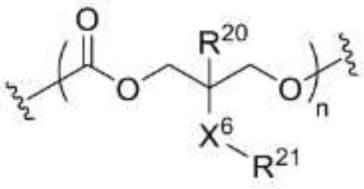


式中、ｎは、２以上の整数である。実施形態では、ｎは、２～１００、２～９０、２～８０、２～７０、２～６０、２～５０、２～４０、２～３０、２～２、または２～１０の範囲内の整数である。実施形態では、ｎは、２～１００または２～５０の範囲内の整数である。

【０１３５】

実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、以下の構造を有し、

【化９】



（Ｉａ）、

式中、Ｘ６は、－Ｏ－、－ＮＨ－、－ＣＯＮＨ－、－ＣＯＯ－、－ＯＣＯ－、または－ＮＨＣＯ－であり、Ｒ２０は、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、Ｒ２１は、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２１は、オリゴグリコール部分である。実施形態では、Ｒ２０は、オリゴグリコール部分である。

【０１３６】

実施形態では、Ｒ２０は、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ２０は、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２０は、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２０は、水素または非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキル）である。実施形態では、Ｒ２０は、水素である。

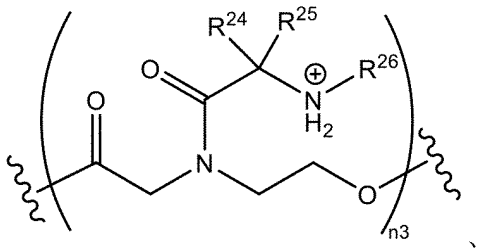
【０１３７】

実施形態では、Ｒ２１は、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ２１は、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２１は、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２１は、水素または非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキル）である。実施形態では、Ｒ２１は、水素である。

【０１３８】

本明細書に開示されている細胞透過性複合体の実施形態と、その実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、以下の構造を有し、

【化１０】



式中、Ｒ２４、Ｒ２５、およびＲ２６は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、ｎ３は、０～５０の整数である。

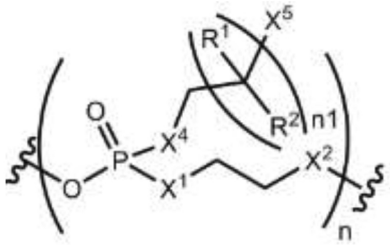
【０１３９】

実施形態では、Ｒ２４、Ｒ２５、およびＲ２６は、独立して、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ２４、Ｒ２５、およびＲ２６は、独立して、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２４、Ｒ２５、およびＲ２６は、独立して、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２４、Ｒ２５、およびＲ２６は、独立して、水素または非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキル）である。実施形態では、Ｒ２４、Ｒ２５、およびＲ２６は、独立して、水素である。

【０１４０】

本明細書に開示されている細胞透過性複合体の実施形態と、その実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、下記の式（ＶＩ）の構造を有し、

【化１１】



（ＶＩ）

式中、ｎは、２以上の整数であり、ｎ１は、０～５０の整数であり、Ｘ１は、結合、－Ｏ－、－ＮＲ５－、－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－または－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－Ｃ（Ｒ７）（Ｒ８）－であり、Ｘ２は結合、－Ｏ－、

－Ｃ（Ｒ９）（Ｒ１０）－または－Ｃ（Ｒ９）（Ｒ１０）－Ｃ（Ｒ１１）（Ｒ１２）－であり、Ｘ４は、結合、－ＮＲ１６－、－Ｏ－、－Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－または－Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－Ｃ（Ｒ１８）（Ｒ１９）－であり、Ｘ５は、求核性部分であり、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、Ｒ８、Ｒ９、Ｒ１０、Ｒ１１、Ｒ１２、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８およびＲ１９は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

【０１４１】

実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、Ｒ８、Ｒ９、Ｒ１０、Ｒ１１、Ｒ１２、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８およびＲ１９は、独立して、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、Ｒ８、Ｒ９、Ｒ１０、Ｒ１１、Ｒ１２、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８、およびＲ１９は、独立して、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、Ｒ８、Ｒ９、Ｒ１０、Ｒ１１、Ｒ１２、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８、およびＲ１９は、独立して、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、Ｒ８、Ｒ９、Ｒ１０、Ｒ１１、Ｒ１２、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８、およびＲ１９は、独立して、水素または非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキル）である。実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、Ｒ８、Ｒ９、Ｒ１０、Ｒ１１、Ｒ１２、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８、およびＲ１９は、水素である。

【０１４２】

実施形態では、Ｚは、求核性部分である。実施形態では、Ｚは、－Ｓ－、－Ｏ＋Ｒ１３－、－Ｓ＋Ｒ１３－、－ＮＲ１３－、または－Ｎ＋（Ｒ１３）（Ｈ）－であり、Ｒ１３は、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｚは、－Ｓ－である。実施形態では、Ｚは、－Ｓ＋Ｒ１３－である。実施形態では、Ｚは、－ＮＲ１３－である。実施形態では、Ｚは、－Ｎ＋（Ｒ１３）（Ｈ）－である。実施形態では、Ｚは、－Ｓ＋Ｈ－である。実施形態では、Ｚは、－ＮＨ－である。実施形態では、Ｚは、－Ｎ＋Ｈ２－である。実施形態では、Ｚは、－Ｏ＋Ｈ－である。

【０１４３】

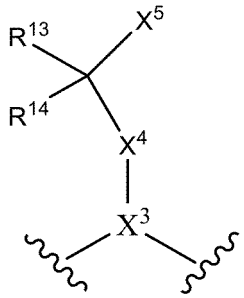
実施形態では、Ｒ１３は、独立して、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６

）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ１３は、独立して、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ１３は、独立して、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ１３は、独立して、水素または非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキル）である。実施形態では、Ｒ１３は、水素である。

【０１４４】

実施形態では、Ｚは、

【化１２】



であり、式中、Ｘ３はＣ（Ｒ１５）－または－Ｎ－であり、Ｘ４は、結合、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ１６）２－、－Ｓ（Ｏ）（ＯＲ１７）２－、－Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－または－Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－Ｃ（Ｒ１８）（Ｒ１９）－であり、Ｘ５は、求核性部分であり、Ｒ１３、Ｒ１４、Ｒ１５、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８およびＲ１９は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｘ３は、－ＣＨである。

【０１４５】

実施形態では、Ｒ１３、Ｒ１４、Ｒ１５、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８およびＲ１９は、独立して、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ１３、Ｒ１４、Ｒ１５、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８、およびＲ１９は、独立して、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置

換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ１３、Ｒ１４、Ｒ１５、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８、およびＲ１９は、独立して、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ１３、Ｒ１４、Ｒ１５、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８、およびＲ１９は、独立して、水素または非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキル）である。

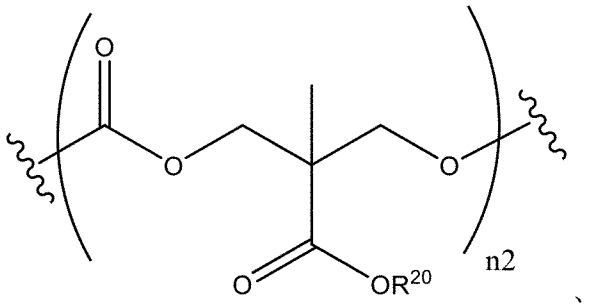
【０１４６】

実施形態では、Ｘ５は、－Ｎ（Ｒ１３）（Ｈ）であり、Ｒ１３は、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

【０１４７】

本明細書に開示されている細胞透過性複合体およびその実施形態に加えて、実施形態では、親油性ポリマードメインは、以下の式を有し、

【化１３】



、

式中、ｎ２は、１～１００の整数であり、Ｒ２０は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

【０１４８】

実施形態では、Ｒ２０は、独立して、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換ア

リール、または非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、水素または非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキル）である。

【０１４９】

実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１－Ｃ３０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１－Ｃ２０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ８－Ｃ３０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ８－Ｃ２０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ９－Ｃ２０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ９－Ｃ１８アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１８アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１７アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１６アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１５アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１４アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１３アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１２アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１１アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ９アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ８アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ７アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ６アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ５アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ４アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ３アルキルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ２アルキルである。

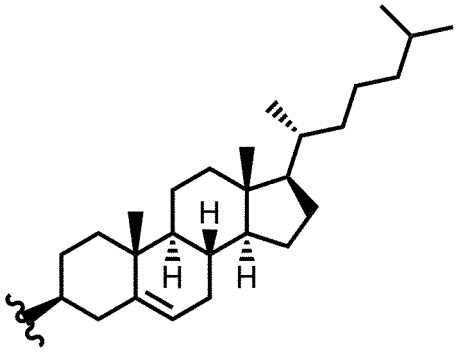
【０１５０】

実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１－Ｃ３０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１－Ｃ２０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ８－Ｃ３０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ８－Ｃ２０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ９－Ｃ２０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ９－Ｃ１８アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１８アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１７アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１６アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１５アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１４アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１３アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１２アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１１アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ１０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ９アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ８アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ７アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ６アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ５アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ４アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ３アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、非置換Ｃ２アルケニルである。

【０１５１】

実施形態では、Ｒ２０は、独立して、ステアリル部分（例えば、非置換Ｃ１８アルキル）である。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、オレイル部分（例えば、非置換Ｃ１８アルケニル）である。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、リノレイル部分（例えば、非置換Ｃ１８アルケニル）である。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、ドデシル部分（例えば、非置換Ｃ１２アルキル）である。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、ノネニル部分（例えば、非置換Ｃ９アルケニル）である。実施形態では、Ｒ２０は、独立して、

【化１４】

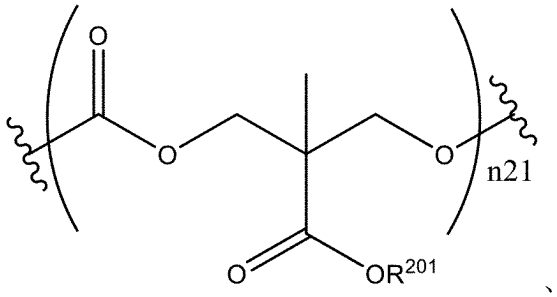


である。

【０１５２】

本明細書に開示されている細胞透過性複合体およびその実施形態に加えて、実施形態では、ＬＰ１は、以下の式を有し、

【化１５】



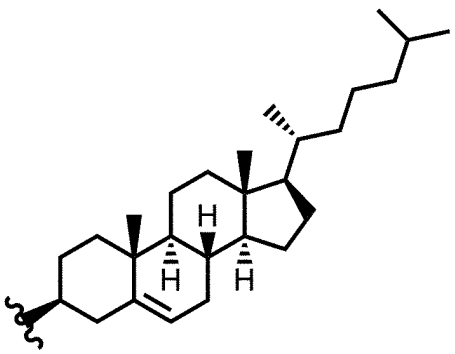
式中、ｎ２１は、０～１００の整数であり、Ｒ２０１は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

【０１５３】

実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ２０１は、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、

水素または非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキル）である。
【０１５４】
実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１－Ｃ３０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１－Ｃ２０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ８－Ｃ３０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ８－Ｃ２０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ９－Ｃ２０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ９－Ｃ１８アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１８アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１７アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１６アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１５アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１４アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、非置換Ｃ１３アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１２アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１１アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ９アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ８アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ７アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ６アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ５アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ４アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ３アルキルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ２アルキルである。
【０１５５】
実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１－Ｃ３０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１－Ｃ２０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ８－Ｃ３０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ８－Ｃ２０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ９－Ｃ２０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ９－Ｃ１８アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１８アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１７アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１６アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１５アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１４アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１３アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１２アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１１アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ１０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ９アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ８アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ７アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ６アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ５アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ４アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ３アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、非置換Ｃ２アルケニルである。
【０１５６】
実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、ステアリル部分（例えば、非置換Ｃ１８アルキル）である。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、オレイル部分（例えば、非置換Ｃ１８アルケニル）である。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、リノレイル部分（例えば、非置換Ｃ１８アルケニル）である。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、ドデシル部分（例えば、非置換Ｃ１２アルキル）である。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、ノネニル部分（例えば、非置換Ｃ９アルケニル）である。実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、

【化１６】

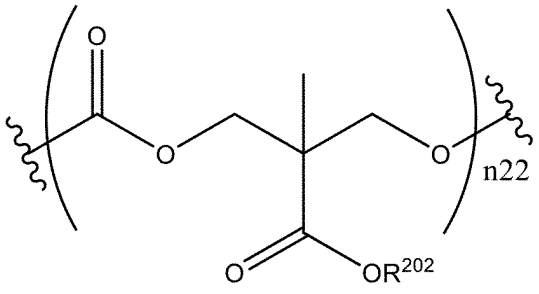


である。

【０１５７】

本明細書に開示されている細胞透過性複合体およびその実施形態に加えて、実施形態では、ＬＰ２は、以下の式を有し、

【化１７】



式中、ｎ２２は、０～１００の整数であり、Ｒ２０２は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

【０１５８】

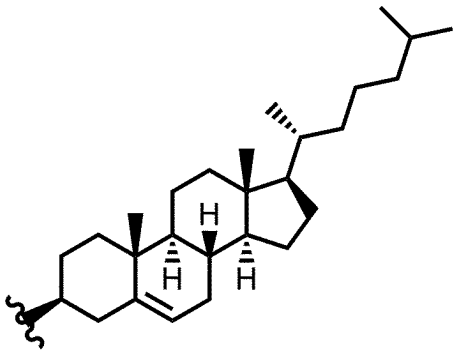
実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、水素または非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキル）である。

【０１５９】
実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１－Ｃ３０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１－Ｃ２０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ８－Ｃ３０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ８－Ｃ２０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ９－Ｃ２０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ９－Ｃ１８アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１８アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１７アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１６アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１５アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１４アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１３アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１２アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１１アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１０アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ９アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ８アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ７アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ６アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ５アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ４アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ３アルキルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ２アルキルである。

【０１６０】
実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１－Ｃ３０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１－Ｃ２０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ８－Ｃ３０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ８－Ｃ２０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ９－Ｃ２０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ９－Ｃ１８アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１８アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１７アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１６アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１５アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１４アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１３アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１２アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１１アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ１０アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ９アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ８アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ７アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ６アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ５アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ４アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ３アルケニルである。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、非置換Ｃ２アルケニルである。

【０１６１】
実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、ステアリル部分（例えば、非置換Ｃ１８アルキル）である。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、オレイル部分（例えば、非置換Ｃ１８アルケニル）である。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、リノレイル部分（例えば、非置換Ｃ１８アルケニル）である。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、ドデシル部分（例えば、非置換Ｃ１２アルキル）である。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、ノネニル部分（例えば、非置換Ｃ９アルケニル）である。実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、

【化１８】

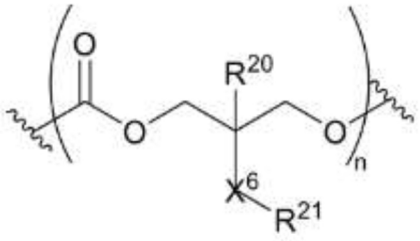


である。

【０１６２】

実施形態では、親油性ポリマードメインは、以下の式（Ｉａ）の化合物であり、

【化１９】



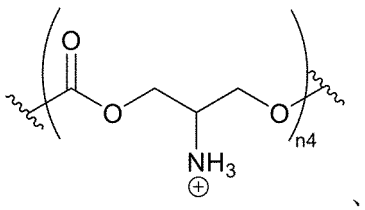
（Ｉａ）、

式中、Ｘ６は、独立して、－Ｏ－、－ＮＨ－、－ＣＯ２－、－ＣＯＮＨ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－ＮＨＣＯ－であり、Ｒ２０は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、Ｒ２１は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキルであり、ｎは、本明細書で定義されているとおりである。実施形態では、Ｒ２０は、オリゴグリコール部分である。

【０１６３】

本明細書に開示されている細胞透過性複合体の実施形態と、その実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、構造を有し、

【化２０】



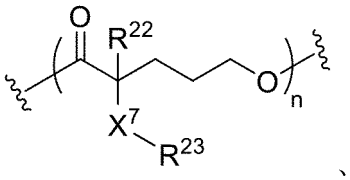
、

式中、ｎ４は、０～５０の整数である。実施形態では、ｎ４は、０～１０である。実施形態では、ｎ４は、１～１５の整数である。

【０１６４】

本明細書に開示されている細胞透過性複合体の実施形態と、その実施形態では、親油性ポリマーは、構造を有し、

【化２１】



、

式中、Ｘ７は、独立して、－Ｏ－、－ＮＨ－、－ＣＯ２－、－ＣＯＮＨ－、－ＯＣ（Ｏ）－、または－ＮＨＣＯであり、Ｒ２２は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、Ｒ２３は、独立して、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２２は、オリゴグリコール部分である。実施形態では、Ｒ２３は、オリゴグリコール部分である。

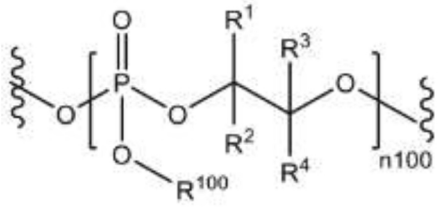
【０１６５】

実施形態では、Ｒ２２は、独立して、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ２２は、独立して、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２２は、独立して、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２２は、独立して、水素または非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキル）である。

【０１６６】

実施形態では、親油性ポリマードメインは、以下の式（Ｉｂ）の化合物であり得、

【化２２】



（Ｉｂ）、

式中、Ｒ１００は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、およびＲ４は、独立して、水素、置換もしくは非置換ヘテロアル

キル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、ｎ１００は、２以上の整数である。

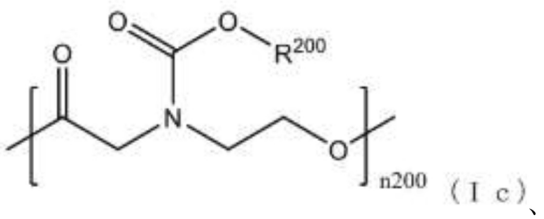
【０１６７】

実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、およびＲ４は、独立して、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、およびＲ４は、独立して、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、およびＲ４は、独立して、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、およびＲ４は、独立して、水素または非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキル）である。実施形態では、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、およびＲ４は、独立して、水素である。

【０１６８】

実施形態では、親油性ポリマードメインは、以下の式（Ｉｃ）の化合物であり得、

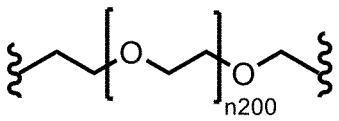
【化２３】



（Ｉｃ）、

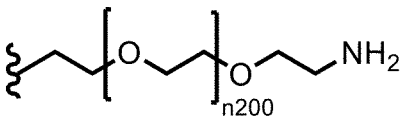
式中、Ｒ２００は、独立して、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、ｎ２００は、２以上の整数である。実施形態では、Ｒ２００は、独立して、オリゴグリコール部分である。実施形態では、Ｒ２００は、独立して、アミン末端オリゴグリコール部分である。「オリゴグリコール部分」という用語は、

【化２４】



を指し、「アミン末端オリゴグリコール部分」は、

【化２５】



を指し、ｎ２００は、２以上の整数である。

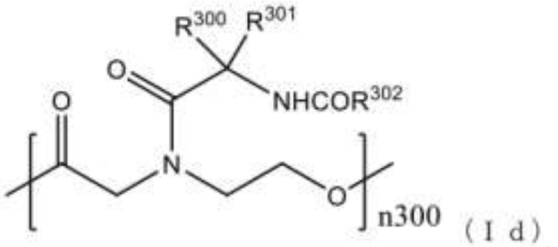
【０１６９】

実施形態では、Ｒ２００は、独立して、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ２００は、独立して、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２００は、独立して、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２００は、独立して、水素または非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキル）である。実施形態では、Ｒ２００は、独立して、水素である。

【０１７０】

実施形態では、親油性ポリマードメインは、以下の式（Ｉｄ）の化合物であり得、

【化２６】



（Ｉｄ）、

式中、Ｒ３００、Ｒ３０１、およびＲ３０２は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、ｎ３００は、本明細書で定義されているとおりである。実施形態では、Ｒ３００およびＲ３０１は、独立して、水素または置換もしくは非置換アルキルである。実施形態では、Ｒ３０２は、独立して、オリゴグリコール部分である。実施形態では、Ｒ３０２は、独立して、アミン末端オリゴグリコール部分である。実施形態では、Ｒ３００、Ｒ３０１、およびＲ３０２は、独立して、水素である。

【０１７１】

実施形態では、Ｒ３００、Ｒ３０１、およびＲ３０２は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、

置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ３００、Ｒ３０１、およびＲ３０２は、独立して、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ３００、Ｒ３０１、およびＲ３０２は、独立して、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ３００、Ｒ３０１、およびＲ３０２は、独立して、水素または非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ６アルキル）である。

【０１７２】

一態様では、本発明による本開示は、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合している核酸を有する細胞透過性複合体を提供する。カチオン性両親媒性ポリマーは、ｐＨ感受性犠牲ドメインを有することができる。いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、ｐＨ感受性犠牲ドメインおよび親油性ポリマードメインを有する。いくつかの実施形態では、細胞透過性複合体は、以下の式（ＶＩＩ）のカチオン性両親媒性ポリマーを有し、

$R^{1A}-[L^{1}-[(LP^{1})_{z1}-(IM)_{z2}-(LP^{2})_{z3}]_{z4}-L^{2}-R^{2A}]_{z5}$

式中、

R^{1A}は、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、

R^{2A}は、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換

アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
L^1およびL^2は、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
LP^1およびLP^2は、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、LP^1またはLP^2のうちの少なくとも１つは、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭは、ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５は、１～１０の整数であり、
ｚ１およびｚ３は、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つは、０ではなく、ｚ４は、１～１００の整数であり、ｚ２は、２～１００の整数である。

【０１７３】

実施形態では、R^{1A}は、独立して、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

【０１７４】

実施形態では、R^{1A}は、独立して、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$、Ｃ$_1$－Ｃ$_6$、Ｃ$_1$－Ｃ$_4$、またはＣ$_1$－Ｃ$_2$）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ$_3$－Ｃ$_8$、Ｃ$_3$－Ｃ$_6$、Ｃ$_4$－Ｃ$_6$、またはＣ$_5$－Ｃ$_6$）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ$_6$－Ｃ$_{10}$またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、R^{1A}は、独立して、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、R^{1A}は、独立して、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。

【０１７５】

実施形態では、R^{1A}は、独立して、水素、置換もしくは非置換Ｃ$_1$－Ｃ$_6$アルキル、置換もしくは非置換２～６員ヘテロアルキル、置換もしくは非置換Ｃ$_3$－Ｃ$_6$シクロアルキル、置換もしくは非置換３～６員ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換フェニル、または置換もしくは非置換５～６員ヘテロアリールである。

【０１７６】

実施形態では、R^{1A}は、独立して、置換または非置換アルキル（例えば、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_1$－Ｃ$_6$アルキル、またはＣ$_1$－Ｃ$_4$アルキル）である。実施形態では、R^{1A}は、独立して、置換アルキル（例えば、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_1$－Ｃ$_6$アルキル、またはＣ$_1$－Ｃ$_4$アルキル）である。実施形態では、R^{1A}は、独立して、非置換アルキル

（例えば、Ｃ１－Ｃ８アルキル、Ｃ１－Ｃ６アルキル、またはＣ１－Ｃ４アルキル）である。実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、置換または非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員ヘテロアルキル、２～６員ヘテロアルキル、または２～４員ヘテロアルキル）である。実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員ヘテロアルキル、２～６員ヘテロアルキル、または２～４員ヘテロアルキル）である。実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員ヘテロアルキル、２～６員ヘテロアルキル、または２～４員ヘテロアルキル）である。実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、置換または非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８シクロアルキル、Ｃ３－Ｃ６シクロアルキル、またはＣ５－Ｃ６シクロアルキル）である。実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８シクロアルキル、Ｃ３－Ｃ６シクロアルキル、またはＣ５－Ｃ６シクロアルキル）である。実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８シクロアルキル、Ｃ３－Ｃ６シクロアルキル、またはＣ５－Ｃ６シクロアルキル）である。実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、置換または非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員ヘテロシクロアルキル、３～６員ヘテロシクロアルキル、または５～６員ヘテロシクロアルキル）である。実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員ヘテロシクロアルキル、３～６員ヘテロシクロアルキル、または５～６員ヘテロシクロアルキル）である。実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員ヘテロシクロアルキル、３～６員ヘテロシクロアルキル、または５～６員ヘテロシクロアルキル）である。実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、置換または非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０アリール、Ｃ１０アリール、またはフェニル）である。実施形態では、Ｒ１Ａは、置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０アリール、Ｃ１０アリール、またはフェニル）である。実施形態では、Ｒ１Ａは、置換または非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０アリール、Ｃ１０アリール、またはフェニル）である。実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、置換または非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員ヘテロアリール、５～９員ヘテロアリール、または５～６員ヘテロアリール）である。実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員ヘテロアリール、５～９員ヘテロアリール、または５～６員ヘテロアリール）である。実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員ヘテロアリール、５～９員ヘテロアリール、または５～６員ヘテロアリール）である。

【０１７７】

実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、置換または非置換アリールである。いくつかの他の実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、置換または非置換フェニルである。さらにいくつかの他の実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、置換もしくは非置換アリールである。さらにいくつかの他の実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、置換または非置換フェニルまたはナフタレニルである。

【０１７８】

実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、置換もしくは非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８、Ｃ１－Ｃ６、Ｃ１－Ｃ４、またはＣ１－Ｃ２）、置換もしくは非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員、２～６員、４～６員、２～３員、または４～５員）、置換もしくは非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８、Ｃ３－Ｃ６、Ｃ４－Ｃ６、またはＣ５－Ｃ６）、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員、３～６員、４～６員、４～５員、または５～６員）、置換もしくは非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０またはフェニル）、または置換もしくは非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員、５～９員、または５～６員）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換シクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置

換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換アリール、または置換（例えば、置換基、サイズ制限置換基、または低級置換基で置換された）もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、または非置換ヘテロアリールである。

【０１７９】

実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、水素、置換もしくは非置換Ｃ１－Ｃ６アルキル、置換もしくは非置換２～６員ヘテロアルキル、置換もしくは非置換Ｃ３－Ｃ６シクロアルキル、置換もしくは非置換３～６員ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換フェニル、または置換もしくは非置換５～６員ヘテロアリールである。

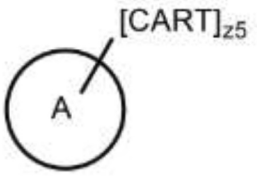
【０１８０】

実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、置換または非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８アルキル、Ｃ１－Ｃ６アルキル、またはＣ１－Ｃ４アルキル）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８アルキル、Ｃ１－Ｃ６アルキル、またはＣ１－Ｃ４アルキル）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、非置換アルキル（例えば、Ｃ１－Ｃ８アルキル、Ｃ１－Ｃ６アルキル、またはＣ１－Ｃ４アルキル）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、置換または非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員ヘテロアルキル、２～６員ヘテロアルキル、または２～４員ヘテロアルキル）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員ヘテロアルキル、２～６員ヘテロアルキル、または２～４員ヘテロアルキル）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、非置換ヘテロアルキル（例えば、２～８員ヘテロアルキル、２～６員ヘテロアルキル、または２～４員ヘテロアルキル）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、置換または非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８シクロアルキル、Ｃ３－Ｃ６シクロアルキル、またはＣ５－Ｃ６シクロアルキル）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８シクロアルキル、Ｃ３－Ｃ６シクロアルキル、またはＣ５－Ｃ６シクロアルキル）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、非置換シクロアルキル（例えば、Ｃ３－Ｃ８シクロアルキル、Ｃ３－Ｃ６シクロアルキル、またはＣ５－Ｃ６シクロアルキル）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、置換または非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員ヘテロシクロアルキル、３～６員ヘテロシクロアルキル、または５～６員ヘテロシクロアルキル）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員ヘテロシクロアルキル、３～６員ヘテロシクロアルキル、または５～６員ヘテロシクロアルキル）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、３～８員ヘテロシクロアルキル、３～６員ヘテロシクロアルキル、または５～６員ヘテロシクロアルキル）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、置換または非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０アリール、Ｃ１０アリール、またはフェニル）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０アリール、Ｃ１０アリール、またはフェニル）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、置換または非置換アリール（例えば、Ｃ６－Ｃ１０アリール、Ｃ１０アリール、またはフェニル）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、置換または非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員ヘテロアリール、５～９員ヘテロアリール、または５～６員ヘテロアリール）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員ヘテロアリール、５～９員ヘテロアリール、または５～６員ヘテロアリール）である。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、非置換ヘテロアリール（例えば、５～１０員ヘテロアリール、５～９員ヘテロアリール、または５～６員ヘテロアリール）である。

【０１８１】

いくつかの実施形態では、細胞透過性複合体は、以下の式（ＶＩＩＩ）を有するカチオン性両親媒性ポリマーを有することができ、

【化２７】



（ＶＩＩＩ）、

式中、
環Ａは、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
ＣＡＲＴは、式：－Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＩＭ）ｚ２－（ＬＰ２）ｚ３］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａを有し、
式中、
Ｒ２Ａは、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、Ｌ１およびＬ２は、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、ＬＰ１およびＬＰ２は、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、ＬＰ１またはＬＰ２のうちの少なくとも１つは、親油性ポリマードメインであり、ＩＭは、ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、ｚ５は、１～１０の整数であり、ｚ１およびｚ３は、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つは、０ではなく、ｚ４は、１～１００の整数であり、ｚ２は、２～１００の整数である。

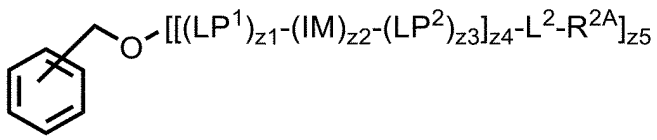
【０１８２】

いくつかの実施形態では、上記の式（ＶＩＩＩ）において、環Ａは、置換または非置換アリールである。いくつかの他の実施形態では、環Ａは、置換または非置換フェニルである。さらにいくつかの他の実施形態では、環Ａは、置換または非置換アリールである。さらにいくつかの他の実施形態では、環Ａは、置換または非置換フェニルまたはナフタレニルである。

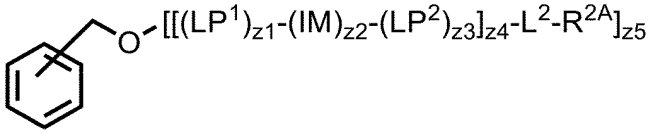
【０１８３】

実施形態では、環Ａは、非置換アリール（すなわち、ＣＡＲＴ部分以外は非置換である）である。実施形態では、環Ａは、非置換フェニル（すなわち、ＣＡＲＴ部分以外は非置換である）である。実施形態では、環Ａは、非置換フェニルまたはナフタレニル（すなわち、ＣＡＲＴ部分以外は非置換である）である。実施形態では、環Ａは、置換アリール（すなわち、ＣＡＲＴ部分に加えて、置換されている）である。実施形態では、環Ａは、置換フェニル（すなわち、ＣＡＲＴ部分に加えて、置換されている）である。実施形態では、環Ａは、置換フェニルまたはナフタレニル（すなわち、ＣＡＲＴ部分に加えて、置換され

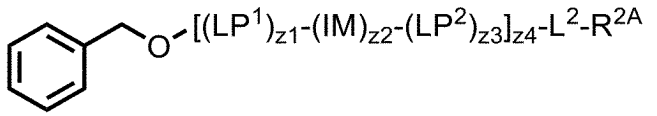
ている）である。
【０１８４】
実施形態では、細胞透過性複合体は、検出可能な薬剤（例えば、フルオロフォア）を有する。
【０１８５】
実施形態では、Ｒ１Ａは、メトキシリンカーで置換されたアリールである。実施形態では、Ｒ１Ａは、リンカー（例えば、－ＣＨ２－Ｏ－）で置換されたアリールである。Ｒ１Ａが、メトキシリンカーで置換されたアリールである非限定的な例は、式を有する。
【化２８】



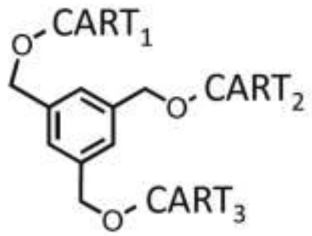
【０１８６】
いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、式（ＩＸ）を有する。
【化２９】



【０１８７】
いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、式（Ｘ）を有する。
【化３０】

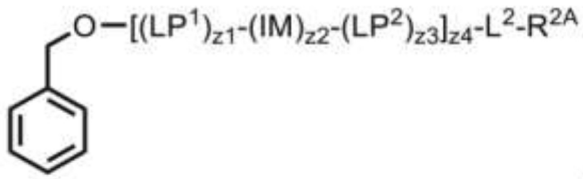


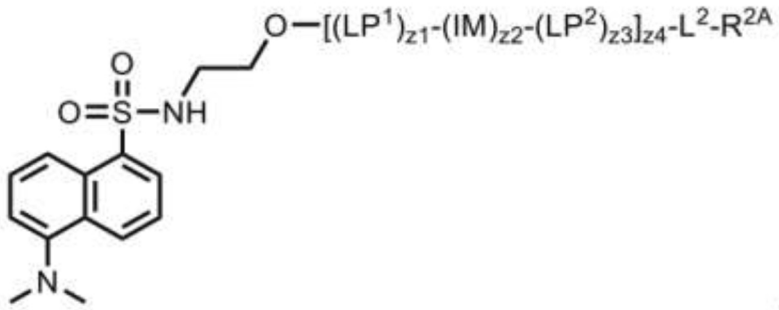
【０１８８】
いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、式（ＸＩ）を有することができ、
【化３１】

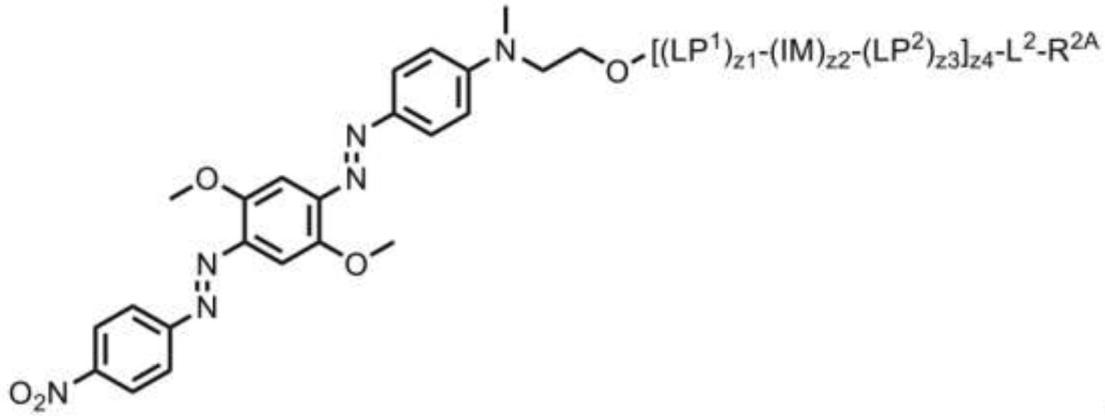


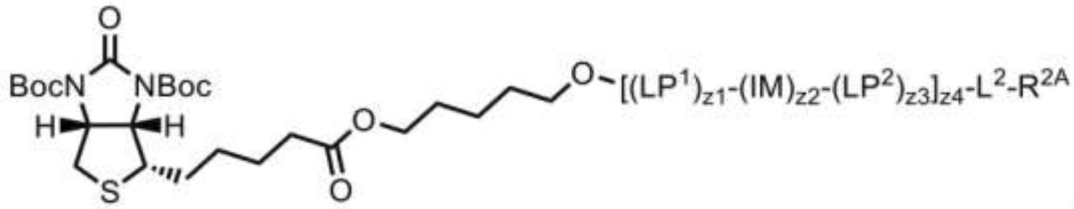
式中、ＣＡＲＴ１、ＣＡＲＴ２およびＣＡＲＴ３は、独立して、式（ＶＩＩＩ）で定義されるようなＣＡＲＴ部分（例えば－Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＩＭ）ｚ２－（ＬＰ２）ｚ３］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａ）である。実施形態では、各ＣＡＲＴ部分は、任意に異なる。
【０１８９】
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有する。

【化３２】

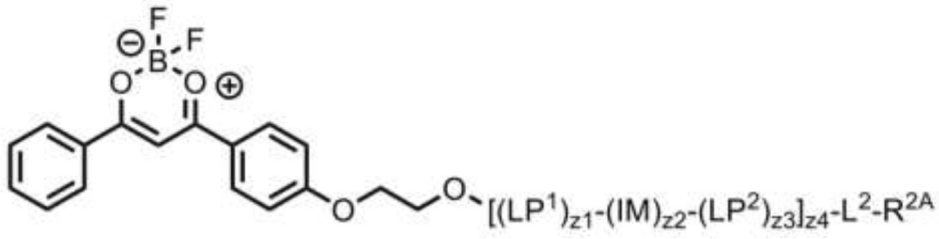








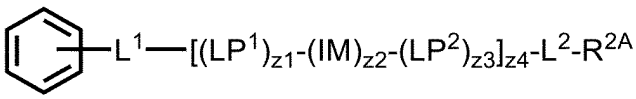
、または



【０１９０】

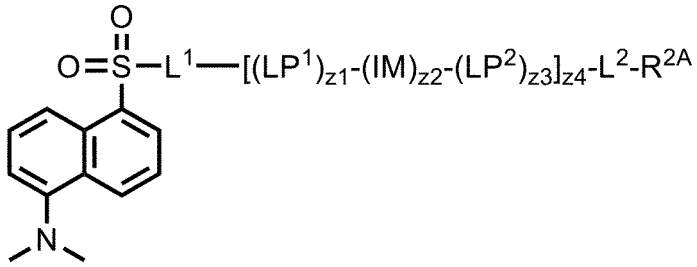
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有する。

【化３３】



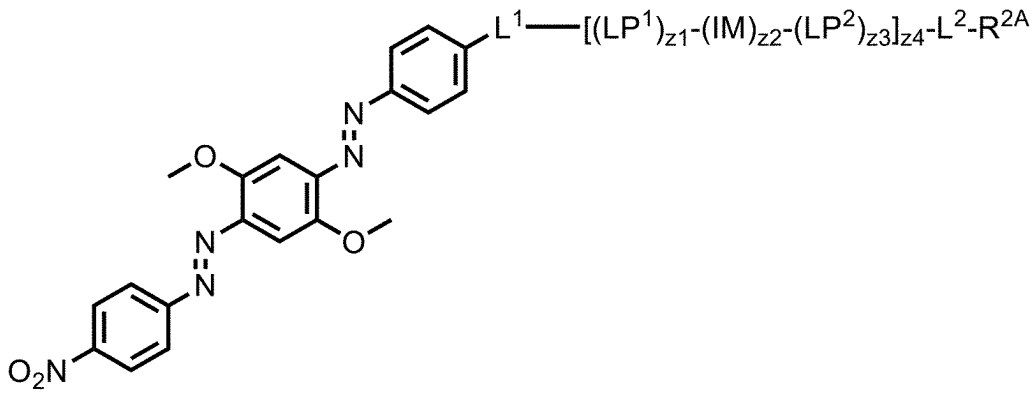
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有する。

【化３４】



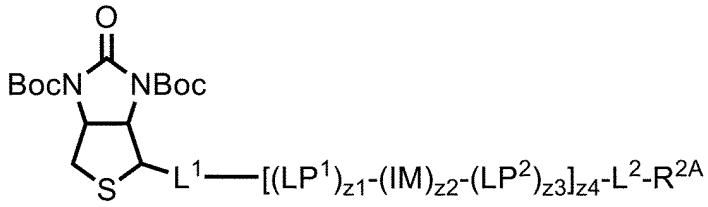
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有する。

【化３５】



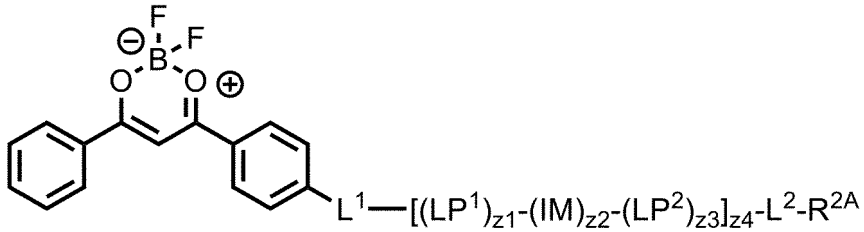
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有する。

【化３６】



実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有する。

【化３７】



【０１９１】

実施形態では、環Ａは、リンカー（例えば、結合、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレン）を介して、検出可能な薬剤で置換されている。

【０１９２】

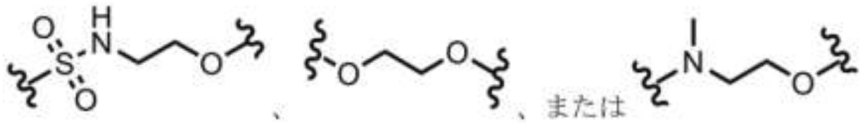
いくつかの実施形態では、細胞透過性複合体は、上記の式のいずれかであって、Ｌ^{1}が、－ＣＨ$_{2}$－Ｏ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、

置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンである式を有するカチオン性両親媒性ポリマーを有する。実施形態では、Ｌ１は、－ＣＨ２－Ｏ－である。

【０１９３】

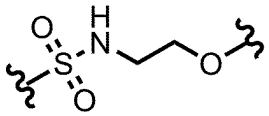
いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、Ｌ１が－ＣＨ２－Ｏ－、

【化３８】



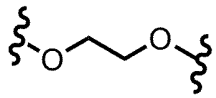
である前述の式のいずれかを有することができる。実施形態では、Ｌ１は、－ＣＨ２－Ｏ－である。実施形態では、Ｌ１は、

【化３９】



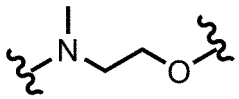
である。実施形態では、Ｌ１は、

【化４０】



である。実施形態では、Ｌ１は、

【化４１】



である。

【０１９４】

いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３の少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数である前述の式のいずれかを有することができる。いくつかの実施形態では、ｚ１、ｚ３およびｚ４は、独立して、２～１００、２～９０、２～８０、２～７０、２～６０、２～５０、２～４０、２～３０、２～２、または２～１０の範囲の整数であり、ｚ１またはｚ３の少なくとも１つは、０でないことがあり得る。いくつかの実施形態では、ｚ１、ｚ３およびｚ４は、独立して、２～１００または２～５０の範囲の整数であり、ｚ１またはｚ３の少なくとも１つは、０でないことがあり得る。

【０１９５】

実施形態では、ｚ１は、０～１００の整数である。実施形態では、ｚ１は、０～９０の整数である。実施形態では、ｚ１は、０～８０の整数である。実施形態では、ｚ１は、０～７０の整数である。実施形態では、ｚ１は、０～６０の整数である。実施形態では、ｚ１は、０～５０の整数である。実施形態では、ｚ１は、０～４０の整数である。実施形態では、ｚ１は、０～３０の整数である。実施形態では、ｚ１は、０～２０の整数である。実施形態では、ｚ１は、または０～１０の整数である。実施形態では、ｚ１は、５～１００の整数である。実施形態では、ｚ１は、１５～１００の整数である。実施形態では、ｚ１は、２５～１００の整数である。実施形態では、ｚ１は、３５～１００の整数である。実

施形態では、ｚ１は、４５～１００の整数である。実施形態では、ｚ１は、５５～１００の整数である。実施形態では、ｚ１は、６５～１００の整数である。実施形態では、ｚ１は、７５～１００の整数である。実施形態では、ｚ１は、８５～１００の整数である。実施形態では、ｚ１は、９５～１００の整数である。実施形態では、ｚ１は、０である。実施形態では、ｚ１は、１である。実施形態では、ｚ１は、２である。実施形態では、ｚ１は、３である。実施形態では、ｚ１は、４である。実施形態では、ｚ１は、５である。実施形態では、ｚ１は、６である。実施形態では、ｚ１は、７である。実施形態では、ｚ１は、８である。実施形態では、ｚ１は、９である。実施形態では、ｚ１は、１０である。実施形態では、ｚ１は、１１である。実施形態では、ｚ１は、１２である。実施形態では、ｚ１は、１３である。実施形態では、ｚ１は、１４である。実施形態では、ｚ１は、１５である。実施形態では、ｚ１は、１６である。実施形態では、ｚ１は、１７である。実施形態では、ｚ１は、１８である。実施形態では、ｚ１は、１９である。実施形態では、ｚ１は、２０である。実施形態では、ｚ１は、２１である。実施形態では、ｚ１は、２２である。実施形態では、ｚ１は、２３である。実施形態では、ｚ１は、２４である。実施形態では、ｚ１は、２５である。実施形態では、ｚ１は、２６である。実施形態では、ｚ１は、２７である。実施形態では、ｚ１は、２８である。実施形態では、ｚ１は、２９である。実施形態では、ｚ１は、３０である。実施形態では、ｚ１は、３１である。実施形態では、ｚ１は、３２である。実施形態では、ｚ１は、３３である。実施形態では、ｚ１は、３４である。実施形態では、ｚ１は、３５である。実施形態では、ｚ１は、３６である。実施形態では、ｚ１は、３７である。実施形態では、ｚ１は、３８である。実施形態では、ｚ１は、３９である。実施形態では、ｚ１は、４０である。実施形態では、ｚ１は、４１である。実施形態では、ｚ１は、４２である。実施形態では、ｚ１は、４３である。実施形態では、ｚ１は、４４である。実施形態では、ｚ１は、４５である。実施形態では、ｚ１は、４６である。実施形態では、ｚ１は、４７である。実施形態では、ｚ１は、４８である。実施形態では、ｚ１は、４９である。実施形態では、ｚ１は、５０である。実施形態では、ｚ１は、５１である。実施形態では、ｚ１は、５２である。実施形態では、ｚ１は、５３である。実施形態では、ｚ１は、５４である。実施形態では、ｚ１は、５５である。実施形態では、ｚ１は、５６である。実施形態では、ｚ１は、５７である。実施形態では、ｚ１は、５８である。実施形態では、ｚ１は、５９である。実施形態では、ｚ１は、６０である。実施形態では、ｚ１は、６１である。実施形態では、ｚ１は、６２である。実施形態では、ｚ１は、６３である。実施形態では、ｚ１は、６４である。実施形態では、ｚ１は、６５である。実施形態では、ｚ１は、６６である。実施形態では、ｚ１は、６７である。実施形態では、ｚ１は、６８である。実施形態では、ｚ１は、６９である。実施形態では、ｚ１は、７０である。実施形態では、ｚ１は、７１である。実施形態では、ｚ１は、７２である。実施形態では、ｚ１は、７３である。実施形態では、ｚ１は、７４である。実施形態では、ｚ１は、７５である。実施形態では、ｚ１は、７６である。実施形態では、ｚ１は、７７である。実施形態では、ｚ１は、７８である。実施形態では、ｚ１は、７９である。実施形態では、ｚ１は、８０である。実施形態では、ｚ１は、８１である。実施形態では、ｚ１は、８２である。実施形態では、ｚ１は、８３である。実施形態では、ｚ１は、８４である。実施形態では、ｚ１は、８５である。実施形態では、ｚ１は、８６である。実施形態では、ｚ１は、８７である。実施形態では、ｚ１は、８８である。実施形態では、ｚ１は、８９である。実施形態では、ｚ１は、９０である。実施形態では、ｚ１は、９１である。実施形態では、ｚ１は、９２である。実施形態では、ｚ１は、９３である。実施形態では、ｚ１は、９４である。実施形態では、ｚ１は、９５である。実施形態では、ｚ１は、９６である。実施形態では、ｚ１は、９７である。実施形態では、ｚ１は、９８である。実施形態では、ｚ１は、９９である。実施形態では、ｚ１は、１００である。

【０１９６】

実施形態では、ｚ３は、０～１００の整数である。実施形態では、ｚ３は、０～９０の整数である。実施形態では、ｚ３は、０～８０の整数である。実施形態では、ｚ３は、０～

７０の整数である。実施形態では、ｚ３は、０～６０の整数である。実施形態では、ｚ３は、０～５０の整数である。実施形態では、ｚ３は、０～４０の整数である。実施形態では、ｚ３は、０～３０の整数である。実施形態では、ｚ３は、０～２０の整数である。実施形態では、ｚ３は、または０～１０の整数である。実施形態では、ｚ３は、５～１００の整数である。実施形態では、ｚ３は、１５～１００の整数である。実施形態では、ｚ３は、２５～１００の整数である。実施形態では、ｚ３は、３５～１００の整数である。実施形態では、ｚ３は、４５～１００の整数である。実施形態では、ｚ３は、５５～１００の整数である。実施形態では、ｚ３は、６５～１００の整数である。実施形態では、ｚ３は、７５～１００の整数である。実施形態では、ｚ３は、８５～１００の整数である。実施形態では、ｚ３は、９５～１００の整数である。実施形態では、ｚ３は、０である。実施形態では、ｚ３は、１である。実施形態では、ｚ３は、２である。実施形態では、ｚ３は、３である。実施形態では、ｚ３は、４である。実施形態では、ｚ３は、５である。実施形態では、ｚ３は、６である。実施形態では、ｚ３は、７である。実施形態では、ｚ３は、８である。実施形態では、ｚ３は、９である。実施形態では、ｚ３は、１０である。実施形態では、ｚ３は、１１である。実施形態では、ｚ３は、１２である。実施形態では、ｚ３は、１３である。実施形態では、ｚ３は、１４である。実施形態では、ｚ３は、１５である。実施形態では、ｚ３は、１６である。実施形態では、ｚ３は、１７である。実施形態では、ｚ３は、１８である。実施形態では、ｚ３は、１９である。実施形態では、ｚ３は、２０である。実施形態では、ｚ３は、２１である。実施形態では、ｚ３は、２２である。実施形態では、ｚ３は、２３である。実施形態では、ｚ３は、２４である。実施形態では、ｚ３は、２５である。実施形態では、ｚ３は、２６である。実施形態では、ｚ３は、２７である。実施形態では、ｚ３は、２８である。実施形態では、ｚ３は、２９である。実施形態では、ｚ３は、３０である。実施形態では、ｚ３は、３１である。実施形態では、ｚ３は、３２である。実施形態では、ｚ３は、３３である。実施形態では、ｚ３は、３４である。実施形態では、ｚ３は、３５である。実施形態では、ｚ３は、３６である。実施形態では、ｚ３は、３７である。実施形態では、ｚ３は、３８である。実施形態では、ｚ３は、３９である。実施形態では、ｚ３は、４０である。実施形態では、ｚ３は、４１である。実施形態では、ｚ３は、４２である。実施形態では、ｚ３は、４３である。実施形態では、ｚ３は、４４である。実施形態では、ｚ３は、４５である。実施形態では、ｚ３は、４６である。実施形態では、ｚ３は、４７である。実施形態では、ｚ３は、４８である。実施形態では、ｚ３は、４９である。実施形態では、ｚ３は、５０である。実施形態では、ｚ３は、５１である。実施形態では、ｚ３は、５２である。実施形態では、ｚ３は、５３である。実施形態では、ｚ３は、５４である。実施形態では、ｚ３は、５５である。実施形態では、ｚ３は、５６である。実施形態では、ｚ３は、５７である。実施形態では、ｚ３は、５８である。実施形態では、ｚ３は、５９である。実施形態では、ｚ３は、６０である。実施形態では、ｚ３は、６１である。実施形態では、ｚ３は、６２である。実施形態では、ｚ３は、６３である。実施形態では、ｚ３は、６４である。実施形態では、ｚ３は、６５である。実施形態では、ｚ３は、６６である。実施形態では、ｚ３は、６７である。実施形態では、ｚ３は、６８である。実施形態では、ｚ３は、６９である。実施形態では、ｚ３は、７０である。実施形態では、ｚ３は、７１である。実施形態では、ｚ３は、７２である。実施形態では、ｚ３は、７３である。実施形態では、ｚ３は、７４である。実施形態では、ｚ３は、７５である。実施形態では、ｚ３は、７６である。実施形態では、ｚ３は、７７である。実施形態では、ｚ３は、７８である。実施形態では、ｚ３は、７９である。実施形態では、ｚ３は、８０である。実施形態では、ｚ３は、８１である。実施形態では、ｚ３は、８２である。実施形態では、ｚ３は、８３である。実施形態では、ｚ３は、８４である。実施形態では、ｚ３は、８５である。実施形態では、ｚ３は、８６である。実施形態では、ｚ３は、８７である。実施形態では、ｚ３は、８８である。実施形態では、ｚ３は、８９である。実施形態では、ｚ３は、９０である。実施形態では、ｚ３は、９１である。実施形態では、ｚ３は、９２である。実施形態では、ｚ３は、９３である。実施形態では、ｚ３は、９４である。実施形態では、ｚ３は、９

５である。実施形態では、ｚ３は、９６である。実施形態では、ｚ３は、９７である。実施形態では、ｚ３は、９８である。実施形態では、ｚ３は、９９である。実施形態では、ｚ３は、１００である。

【０１９７】

実施形態では、ｚ４は、１～１００の整数である。実施形態では、ｚ４は、１～９０の整数である。実施形態では、ｚ４は、１～８０の整数である。実施形態では、ｚ４は、１～７０の整数である。実施形態では、ｚ４は、１～６０の整数である。実施形態では、ｚ４は、１～５０の整数である。実施形態では、ｚ４は、１～４０の整数である。実施形態では、ｚ４は、１～３０の整数である。実施形態では、ｚ４は、１～２０の整数である。実施形態では、ｚ４は、または１～１０の整数である。実施形態では、ｚ４は、５～１００の整数である。実施形態では、ｚ４は、１５～１００の整数である。実施形態では、ｚ４は、２５～１００の整数である。実施形態では、ｚ４は、３５～１００の整数である。実施形態では、ｚ４は、４５～１００の整数である。実施形態では、ｚ４は、５５～１００の整数である。実施形態では、ｚ４は、６５～１００の整数である。実施形態では、ｚ４は、７５～１００の整数である。実施形態では、ｚ４は、８５～１００の整数である。実施形態では、ｚ４は、９５～１００の整数である。実施形態では、ｚ４は、１である。実施形態では、ｚ４は、２である。実施形態では、ｚ４は、３である。実施形態では、ｚ４は、４である。実施形態では、ｚ４は、５である。実施形態では、ｚ４は、６である。実施形態では、ｚ４は、７である。実施形態では、ｚ４は、８である。実施形態では、ｚ４は、９である。実施形態では、ｚ４は、１０である。実施形態では、ｚ４は、１１である。実施形態では、ｚ４は、１２である。実施形態では、ｚ４は、１３である。実施形態では、ｚ４は、１４である。実施形態では、ｚ４は、１５である。実施形態では、ｚ４は、１６である。実施形態では、ｚ４は、１７である。実施形態では、ｚ４は、１８である。実施形態では、ｚ４は、１９である。実施形態では、ｚ４は、２０である。実施形態では、ｚ４は、２１である。実施形態では、ｚ４は、２２である。実施形態では、ｚ４は、２３である。実施形態では、ｚ４は、２４である。実施形態では、ｚ４は、２５である。実施形態では、ｚ４は、２６である。実施形態では、ｚ４は、２７である。実施形態では、ｚ４は、２８である。実施形態では、ｚ４は、２９である。実施形態では、ｚ４は、３０である。実施形態では、ｚ４は、３１である。実施形態では、ｚ４は、３２である。実施形態では、ｚ４は、３３である。実施形態では、ｚ４は、３４である。実施形態では、ｚ４は、３５である。実施形態では、ｚ４は、３６である。実施形態では、ｚ４は、３７である。実施形態では、ｚ４は、３８である。実施形態では、ｚ４は、３９である。実施形態では、ｚ４は、４０である。実施形態では、ｚ４は、４１である。実施形態では、ｚ４は、４２である。実施形態では、ｚ４は、４３である。実施形態では、ｚ４は、４４である。実施形態では、ｚ４は、４５である。実施形態では、ｚ４は、４６である。実施形態では、ｚ４は、４７である。実施形態では、ｚ４は、４８である。実施形態では、ｚ４は、４９である。実施形態では、ｚ４は、５０である。実施形態では、ｚ４は、５１である。実施形態では、ｚ４は、５２である。実施形態では、ｚ４は、５３である。実施形態では、ｚ４は、５４である。実施形態では、ｚ４は、５５である。実施形態では、ｚ４は、５６である。実施形態では、ｚ４は、５７である。実施形態では、ｚ４は、５８である。実施形態では、ｚ４は、５９である。実施形態では、ｚ４は、６０である。実施形態では、ｚ４は、６１である。実施形態では、ｚ４は、６２である。実施形態では、ｚ４は、６３である。実施形態では、ｚ４は、６４である。実施形態では、ｚ４は、６５である。実施形態では、ｚ４は、６６である。実施形態では、ｚ４は、６７である。実施形態では、ｚ４は、６８である。実施形態では、ｚ４は、６９である。実施形態では、ｚ４は、７０である。実施形態では、ｚ４は、７１である。実施形態では、ｚ４は、７２である。実施形態では、ｚ４は、７３である。実施形態では、ｚ４は、７４である。実施形態では、ｚ４は、７５である。実施形態では、ｚ４は、７６である。実施形態では、ｚ４は、７７である。実施形態では、ｚ４は、７８である。実施形態では、ｚ４は、７９である。実施形態では、ｚ４は、８０である。実施形態では、ｚ４は、８１である。実施形態では、ｚ４

は、８２である。実施形態では、ｚ４は、８３である。実施形態では、ｚ４は、８４である。実施形態では、ｚ４は、８５である。実施形態では、ｚ４は、８６である。実施形態では、ｚ４は、８７である。実施形態では、ｚ４は、８８である。実施形態では、ｚ４は、８９である。実施形態では、ｚ４は、９０である。実施形態では、ｚ４は、９１である。実施形態では、ｚ４は、９２である。実施形態では、ｚ４は、９３である。実施形態では、ｚ４は、９４である。実施形態では、ｚ４は、９５である。実施形態では、ｚ４は、９６である。実施形態では、ｚ４は、９７である。実施形態では、ｚ４は、９８である。実施形態では、ｚ４は、９９である。実施形態では、ｚ４は、１００である。

【０１９８】

実施形態では、ｎは、２～１００の整数である。実施形態では、ｎは、２～９０の整数である。実施形態では、ｎは、２～８０の整数である。実施形態では、ｎは、２～７０の整数である。実施形態では、ｎは、２～６０の整数である。実施形態では、ｎは、２～５０の整数である。実施形態では、ｎは、２～４０の整数である。実施形態では、ｎは、２～３０の整数である。実施形態では、ｎは、２～２０の整数である。実施形態では、ｎは、または２～１０の整数である。実施形態では、ｎは、５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、１５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、２５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、３５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、４５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、５５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、６５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、７５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、８５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、９５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、２である。実施形態では、ｎは、３である。実施形態では、ｎは、４である。実施形態では、ｎは、５である。実施形態では、ｎは、６である。実施形態では、ｎは、７である。実施形態では、ｎは、８である。実施形態では、ｎは、９である。実施形態では、ｎは、１０である。実施形態では、ｎは、１１である。実施形態では、ｎは、１２である。実施形態では、ｎは、１３である。実施形態では、ｎは、１４である。実施形態では、ｎは、１５である。実施形態では、ｎは、１６である。実施形態では、ｎは、１７である。実施形態では、ｎは、１８である。実施形態では、ｎは、１９である。実施形態では、ｎは、２０である。実施形態では、ｎは、２１である。実施形態では、ｎは、２２である。実施形態では、ｎは、２３である。実施形態では、ｎは、２４である。実施形態では、ｎは、２５である。実施形態では、ｎは、２６である。実施形態では、ｎは、２７である。実施形態では、ｎは、２８である。実施形態では、ｎは、２９である。実施形態では、ｎは、３０である。実施形態では、ｎは、３１である。実施形態では、ｎは、３２である。実施形態では、ｎは、３３である。実施形態では、ｎは、３４である。実施形態では、ｎは、３５である。実施形態では、ｎは、３６である。実施形態では、ｎは、３７である。実施形態では、ｎは、３８である。実施形態では、ｎは、３９である。実施形態では、ｎは、４０である。実施形態では、ｎは、４１である。実施形態では、ｎは、４２である。実施形態では、ｎは、４３である。実施形態では、ｎは、４４である。実施形態では、ｎは、４５である。実施形態では、ｎは、４６である。実施形態では、ｎは、４７である。実施形態では、ｎは、４８である。実施形態では、ｎは、４９である。実施形態では、ｎは、５０である。実施形態では、ｎは、５１である。実施形態では、ｎは、５２である。実施形態では、ｎは、５３である。実施形態では、ｎは、５４である。実施形態では、ｎは、５５である。実施形態では、ｎは、５６である。実施形態では、ｎは、５７である。実施形態では、ｎは、５８である。実施形態では、ｎは、５９である。実施形態では、ｎは、６０である。実施形態では、ｎは、６１である。実施形態では、ｎは、６２である。実施形態では、ｎは、６３である。実施形態では、ｎは、６４である。実施形態では、ｎは、６５である。実施形態では、ｎは、６６である。実施形態では、ｎは、６７である。実施形態では、ｎは、６８である。実施形態では、ｎは、６９である。実施形態では、ｎは、７０である。実施形態では、ｎは、７１である。実施形態では、ｎは、７２である。実施形態では、ｎは、７３である。実施形態では、ｎは、７４である。実施形態では、ｎは、７５である。実施形態では、ｎは、７６である。実施形態で

は、ｎは、７７である。実施形態では、ｎは、７８である。実施形態では、ｎは、７９である。実施形態では、ｎは、８０である。実施形態では、ｎは、８１である。実施形態では、ｎは、８２である。実施形態では、ｎは、８３である。実施形態では、ｎは、８４である。実施形態では、ｎは、８５である。実施形態では、ｎは、８６である。実施形態では、ｎは、８７である。実施形態では、ｎは、８８である。実施形態では、ｎは、８９である。実施形態では、ｎは、９０である。実施形態では、ｎは、９１である。実施形態では、ｎは、９２である。実施形態では、ｎは、９３である。実施形態では、ｎは、９４である。実施形態では、ｎは、９５である。実施形態では、ｎは、９６である。実施形態では、ｎは、９７である。実施形態では、ｎは、９８である。実施形態では、ｎは、９９である。実施形態では、ｎは、１００である。

【０１９９】

実施形態では、ｎ１は、０～５０の整数である。実施形態では、ｎ１は、２～４５の整数である。実施形態では、ｎ１は、０～４０の整数である。実施形態では、ｎ１は、０～３０の整数である。実施形態では、ｎ１は、０～２０の整数である。実施形態では、ｎ１は、または０～１０の整数である。実施形態では、ｎ１は、５～５０の整数である。実施形態では、ｎ１は、１５～５０の整数である。実施形態では、ｎ１は、２５～５０の整数である。実施形態では、ｎ１は、３５～５０の整数である。実施形態では、ｎ１は、４５～５０の整数である。実施形態では、ｎ１は、０である。実施形態では、ｎ１は、１である。実施形態では、ｎ１は、２である。実施形態では、ｎ１は、３である。実施形態では、ｎ１は、４である。実施形態では、ｎ１は、５である。実施形態では、ｎ１は、６である。実施形態では、ｎ１は、７である。実施形態では、ｎ１は、８である。実施形態では、ｎ１は、９である。実施形態では、ｎ１は、１０である。実施形態では、ｎ１は、１１である。実施形態では、ｎ１は、１２である。実施形態では、ｎ１は、１３である。実施形態では、ｎ１は、１４である。実施形態では、ｎ１は、１５である。実施形態では、ｎ１は、１６である。実施形態では、ｎ１は、１７である。実施形態では、ｎ１は、１８である。実施形態では、ｎ１は、１９である。実施形態では、ｎ１は、２０である。実施形態では、ｎ１は、２１である。実施形態では、ｎ１は、２２である。実施形態では、ｎ１は、２３である。実施形態では、ｎ１は、２４である。実施形態では、ｎ１は、２５である。実施形態では、ｎ１は、２６である。実施形態では、ｎ１は、２７である。実施形態では、ｎ１は、２８である。実施形態では、ｎ１は、２９である。実施形態では、ｎ１は、３０である。実施形態では、ｎ１は、３１である。実施形態では、ｎ１は、３２である。実施形態では、ｎ１は、３３である。実施形態では、ｎ１は、３４である。実施形態では、ｎ１は、３５である。実施形態では、ｎ１は、３６である。実施形態では、ｎ１は、３７である。実施形態では、ｎ１は、３８である。実施形態では、ｎ１は、３９である。実施形態では、ｎ１は、４０である。実施形態では、ｎ１は、４１である。実施形態では、ｎ１は、４２である。実施形態では、ｎ１は、４３である。実施形態では、ｎ１は、４４である。実施形態では、ｎ１は、４５である。実施形態では、ｎ１は、４６である。実施形態では、ｎ１は、４７である。実施形態では、ｎ１は、４８である。実施形態では、ｎ１は、４９である。実施形態では、ｎ１は、５０である。

【０２００】

実施形態では、ｎは、１～１００の整数である。実施形態では、ｎは、１～９０の整数である。実施形態では、ｎは、１～８０の整数である。実施形態では、ｎは、１～７０の整数である。実施形態では、ｎは、１～６０の整数である。実施形態では、ｎは、１～５０の整数である。実施形態では、ｎは、１～４０の整数である。実施形態では、ｎは、１～３０の整数である。実施形態では、ｎは、１～２０の整数である。実施形態では、ｎは、または１～１０の整数である。実施形態では、ｎは、５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、１５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、２５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、３５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、４５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、５５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、６５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、７５～１００の整数である。実施形

態では、ｎは、８５～１００の整数である。実施形態では、ｎは、９５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２は、１である。実施形態では、ｎ２は、２である。実施形態では、ｎ２は、３である。実施形態では、ｎ２は、４である。実施形態では、ｎ２は、５である。実施形態では、ｎ２は、６である。実施形態では、ｎ２は、７である。実施形態では、ｎ２は、８である。実施形態では、ｎ２は、９である。実施形態では、ｎ２は、１０である。実施形態では、ｎ２は、１１である。実施形態では、ｎ２は、１２である。実施形態では、ｎ２は、１３である。実施形態では、ｎ２は、１４である。実施形態では、ｎ２は、１５である。実施形態では、ｎ２は、１６である。実施形態では、ｎ２は、１７である。実施形態では、ｎ２は、１８である。実施形態では、ｎ２は、１９である。実施形態では、ｎ２は、２０である。実施形態では、ｎ２は、２１である。実施形態では、ｎ２は、２２である。実施形態では、ｎ２は、２３である。実施形態では、ｎ２は、２４である。実施形態では、ｎ２は、２５である。実施形態では、ｎ２は、２６である。実施形態では、ｎ２は、２７である。実施形態では、ｎ２は、２８である。実施形態では、ｎ２は、２９である。実施形態では、ｎ２は、３０である。実施形態では、ｎ２は、３１である。実施形態では、ｎ２は、３２である。実施形態では、ｎ２は、３３である。実施形態では、ｎ２は、３４である。実施形態では、ｎ２は、３５である。実施形態では、ｎ２は、３６である。実施形態では、ｎ２は、３７である。実施形態では、ｎ２は、３８である。実施形態では、ｎ２は、３９である。実施形態では、ｎ２は、４０である。実施形態では、ｎ２は、４１である。実施形態では、ｎ２は、４２である。実施形態では、ｎ２は、４３である。実施形態では、ｎ２は、４４である。実施形態では、ｎ２は、４５である。実施形態では、ｎ２は、４６である。実施形態では、ｎ２は、４７である。実施形態では、ｎ２は、４８である。実施形態では、ｎ２は、４９である。実施形態では、ｎ２は、５０である。実施形態では、ｎ２は、５１である。実施形態では、ｎ２は、５２である。実施形態では、ｎ２は、５３である。実施形態では、ｎ２は、５４である。実施形態では、ｎ２は、５５である。実施形態では、ｎ２は、５６である。実施形態では、ｎ２は、５７である。実施形態では、ｎ２は、５８である。実施形態では、ｎ２は、５９である。実施形態では、ｎ２は、６０である。実施形態では、ｎ２は、６１である。実施形態では、ｎ２は、６２である。実施形態では、ｎ２は、６３である。実施形態では、ｎ２は、６４である。実施形態では、ｎ２は、６５である。実施形態では、ｎ２は、６６である。実施形態では、ｎ２は、６７である。実施形態では、ｎ２は、６８である。実施形態では、ｎ２は、６９である。実施形態では、ｎ２は、７０である。実施形態では、ｎ２は、７１である。実施形態では、ｎ２は、７２である。実施形態では、ｎ２は、７３である。実施形態では、ｎ２は、７４である。実施形態では、ｎ２は、７５である。実施形態では、ｎ２は、７６である。実施形態では、ｎ２は、７７である。実施形態では、ｎ２は、７８である。実施形態では、ｎ２は、７９である。実施形態では、ｎ２は、８０である。実施形態では、ｎ２は、８１である。実施形態では、ｎ２は、８２である。実施形態では、ｎ２は、８３である。実施形態では、ｎ２は、８４である。実施形態では、ｎ２は、８５である。実施形態では、ｎ２は、８６である。実施形態では、ｎ２は、８７である。実施形態では、ｎ２は、８８である。実施形態では、ｎ２は、８９である。実施形態では、ｎ２は、９０である。実施形態では、ｎ２は、９１である。実施形態では、ｎ２は、９２である。実施形態では、ｎ２は、９３である。実施形態では、ｎ２は、９４である。実施形態では、ｎ２は、９５である。実施形態では、ｎ２は、９６である。実施形態では、ｎ２は、９７である。実施形態では、ｎ２は、９８である。実施形態では、ｎ２は、９９である。実施形態では、ｎ２は、１００である。

【０２０１】

実施形態では、ｚ２は、２～１００の整数である。実施形態では、ｚ２は、２～９０の整数である。実施形態では、ｚ２は、２～８０の整数である。実施形態では、ｚ２は、２～７０の整数である。実施形態では、ｚ２は、２～６０の整数である。実施形態では、ｚ２は、２～５０の整数である。実施形態では、ｚ２は、２～４０の整数である。実施形態では、ｚ２は、２～３０の整数である。実施形態では、ｚ２は、２～２０の整数である。実

施形態では、ｚ２は、または２～１０の整数である。実施形態では、ｚ２は、５～１００の整数である。実施形態では、ｚ２は、１５～１００の整数である。実施形態では、ｚ２は、２５～１００の整数である。実施形態では、ｚ２は、３５～１００の整数である。実施形態では、ｚ２は、４５～１００の整数である。実施形態では、ｚ２は、５５～１００の整数である。実施形態では、ｚ２は、６５～１００の整数である。実施形態では、ｚ２は、７５～１００の整数である。実施形態では、ｚ２は、８５～１００の整数である。実施形態では、ｚ２は、９５～１００の整数である。実施形態では、ｚ２は、２である。実施形態では、ｚ２は、３である。実施形態では、ｚ２は、４である。実施形態では、ｚ２は、５である。実施形態では、ｚ２は、６である。実施形態では、ｚ２は、７である。実施形態では、ｚ２は、８である。実施形態では、ｚ２は、９である。実施形態では、ｚ２は、１０である。実施形態では、ｚ２は、１１である。実施形態では、ｚ２は、１２である。実施形態では、ｚ２は、１３である。実施形態では、ｚ２は、１４である。実施形態では、ｚ２は、１５である。実施形態では、ｚ２は、１６である。実施形態では、ｚ２は、１７である。実施形態では、ｚ２は、１８である。実施形態では、ｚ２は、１９である。実施形態では、ｚ２は、２０である。実施形態では、ｚ２は、２１である。実施形態では、ｚ２は、２２である。実施形態では、ｚ２は、２３である。実施形態では、ｚ２は、２４である。実施形態では、ｚ２は、２５である。実施形態では、ｚ２は、２６である。実施形態では、ｚ２は、２７である。実施形態では、ｚ２は、２８である。実施形態では、ｚ２は、２９である。実施形態では、ｚ２は、３０である。実施形態では、ｚ２は、３１である。実施形態では、ｚ２は、３２である。実施形態では、ｚ２は、３３である。実施形態では、ｚ２は、３４である。実施形態では、ｚ２は、３５である。実施形態では、ｚ２は、３６である。実施形態では、ｚ２は、３７である。実施形態では、ｚ２は、３８である。実施形態では、ｚ２は、３９である。実施形態では、ｚ２は、４０である。実施形態では、ｚ２は、４１である。実施形態では、ｚ２は、４２である。実施形態では、ｚ２は、４３である。実施形態では、ｚ２は、４４である。実施形態では、ｚ２は、４５である。実施形態では、ｚ２は、４６である。実施形態では、ｚ２は、４７である。実施形態では、ｚ２は、４８である。実施形態では、ｚ２は、４９である。実施形態では、ｚ２は、５０である。実施形態では、ｚ２は、５１である。実施形態では、ｚ２は、５２である。実施形態では、ｚ２は、５３である。実施形態では、ｚ２は、５４である。実施形態では、ｚ２は、５５である。実施形態では、ｚ２は、５６である。実施形態では、ｚ２は、５７である。実施形態では、ｚ２は、５８である。実施形態では、ｚ２は、５９である。実施形態では、ｚ２は、６０である。実施形態では、ｚ２は、６１である。実施形態では、ｚ２は、６２である。実施形態では、ｚ２は、６３である。実施形態では、ｚ２は、６４である。実施形態では、ｚ２は、６５である。実施形態では、ｚ２は、６６である。実施形態では、ｚ２は、６７である。実施形態では、ｚ２は、６８である。実施形態では、ｚ２は、６９である。実施形態では、ｚ２は、７０である。実施形態では、ｚ２は、７１である。実施形態では、ｚ２は、７２である。実施形態では、ｚ２は、７３である。実施形態では、ｚ２は、７４である。実施形態では、ｚ２は、７５である。実施形態では、ｚ２は、７６である。実施形態では、ｚ２は、７７である。実施形態では、ｚ２は、７８である。実施形態では、ｚ２は、７９である。実施形態では、ｚ２は、８０である。実施形態では、ｚ２は、８１である。実施形態では、ｚ２は、８２である。実施形態では、ｚ２は、８３である。実施形態では、ｚ２は、８４である。実施形態では、ｚ２は、８５である。実施形態では、ｚ２は、８６である。実施形態では、ｚ２は、８７である。実施形態では、ｚ２は、８８である。実施形態では、ｚ２は、８９である。実施形態では、ｚ２は、９０である。実施形態では、ｚ２は、９１である。実施形態では、ｚ２は、９２である。実施形態では、ｚ２は、９３である。実施形態では、ｚ２は、９４である。実施形態では、ｚ２は、９５である。実施形態では、ｚ２は、９６である。実施形態では、ｚ２は、９７である。実施形態では、ｚ２は、９８である。実施形態では、ｚ２は、９９である。実施形態では、ｚ２は、１００である。

【０２０２】

実施形態では、ｚ５は、１である。実施形態では、ｚ５は、２である。実施形態では、ｚ５は、３である。実施形態では、ｚ５は、４である。実施形態では、ｚ５は、５である。実施形態では、ｚ５は、６である。実施形態では、ｚ５は、７である。実施形態では、ｚ５は、８である。実施形態では、ｚ５は、９である。実施形態では、ｚ５は、１０である。

【０２０３】

いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、ｚ２が２～１００の整数である前述の式のいずれかを有することができる。いくつかの実施形態では、ｚ２は、２～１００、２～９０、２～８０、２～７０、２～６０、２～５０、２～４０、２～３０、２～２０、または２～１０の範囲の整数であり得る。実施形態では、ｚ２は、２～１００または２～５０の範囲の整数であり得る。

【０２０４】

いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、ｚ５が１～３の整数である前述の式のいずれかを有することができる。いくつかの他の実施形態では、ｚ５は、１または３である。さらにいくつかの他の実施形態では、ｚ５は、１である。いくつかのさらに他の実施形態では、ｚ５は、３である。

【０２０５】

いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、R^2が水素である前述の式のいずれかを有することができる。

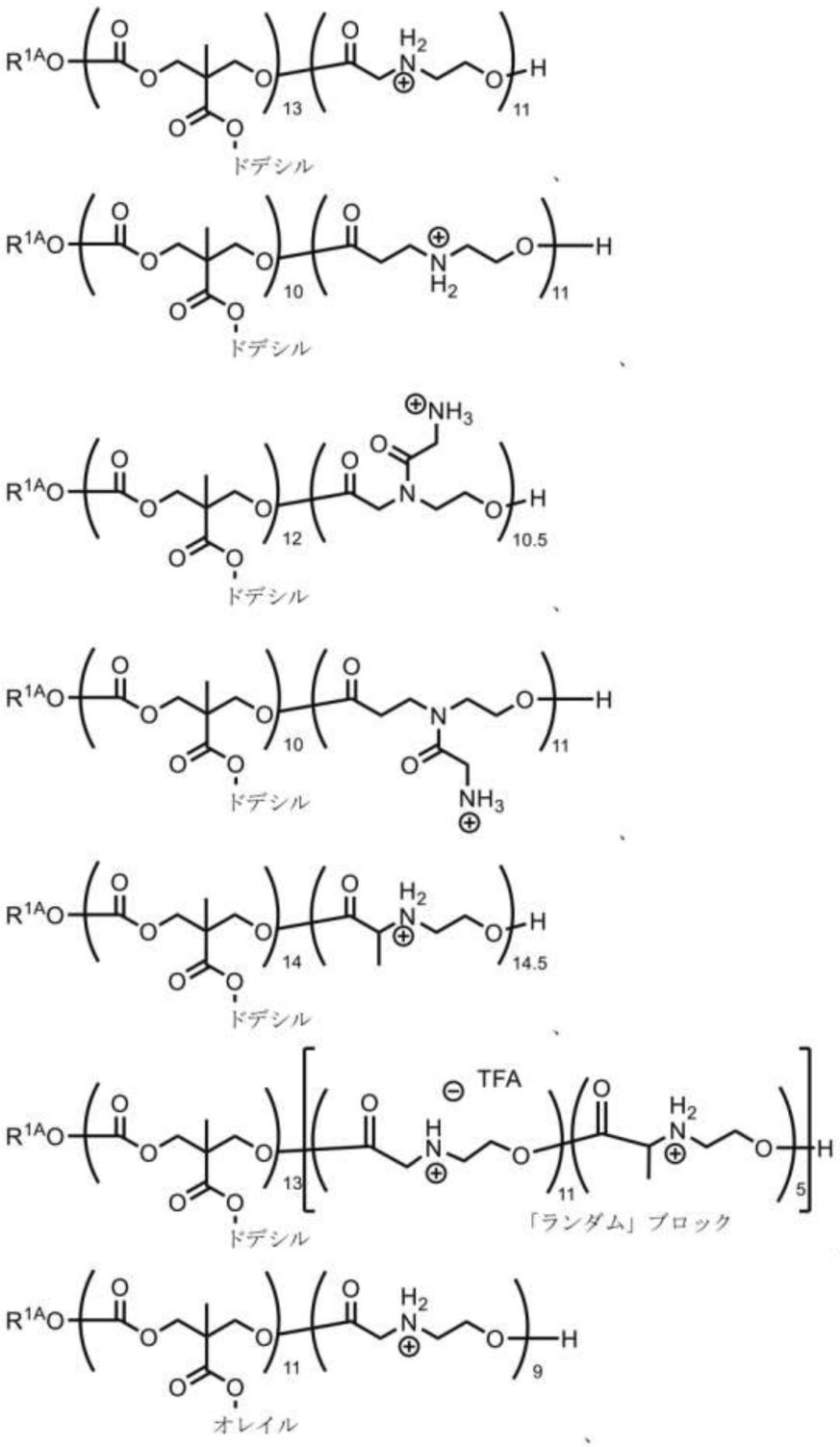
【０２０６】

いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、L^2が結合である前述の式のいずれかを有することができる。

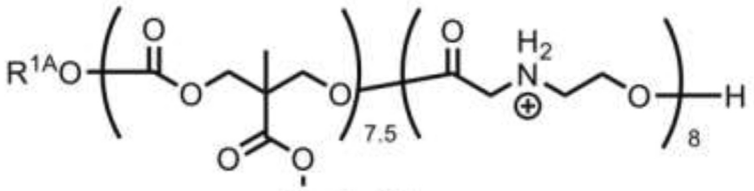
【０２０７】

実施形態では、ＣＡＲＴは、以下の式を有する。

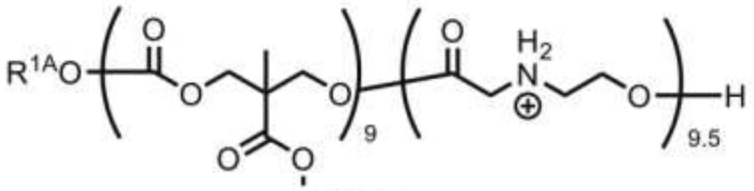
【化４２－１】



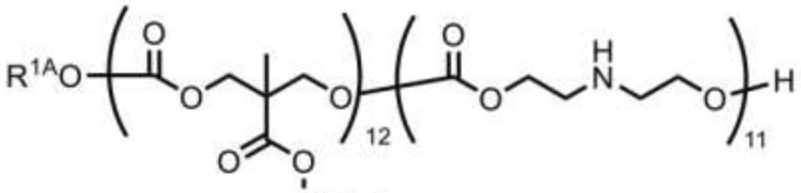
【化４２－２】



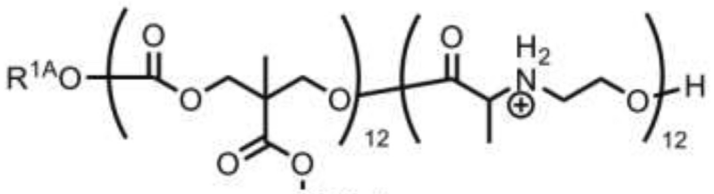
リノレイル、



ステアリル、



ドデシル、または

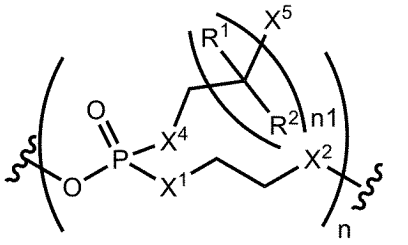


ドデシル

【０２０８】

いくつかの実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、以下の式を有することができ、

【化４３】



、

式中、ｎは、２以上の整数であり、ｎ１は、０～５０の整数であり、Ｘ１は、結合、－Ｏ－、－ＮＲ５－、－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－または－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－Ｃ（Ｒ７）（Ｒ８）－であり、Ｘ２は、結合、－Ｏ－、－Ｃ（Ｒ９）（Ｒ１０）－、または－Ｃ（Ｒ９）（Ｒ１０）－Ｃ（Ｒ１１）（Ｒ１２）－であり、Ｘ４は、結合、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ１６）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）（ＯＲ１７）$_2$－、－Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－、または－Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－Ｃ（Ｒ１８）（Ｒ１９）であり、Ｘ５は、求核性部分であり、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、Ｒ８、Ｒ９、Ｒ１０、Ｒ１１、Ｒ１２、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８、およびＲ１９は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

【０２０９】

いくつかの実施形態では、指定された前述の式のいずれかを有するｐＨ感受性犠牲ドメインにおいて、Ｚは、－Ｓ－、－Ｓ＋Ｒ１３－、－ＮＲ１３－、または－Ｎ＋（Ｒ１３）（Ｈ）－であり、Ｒ１３は、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

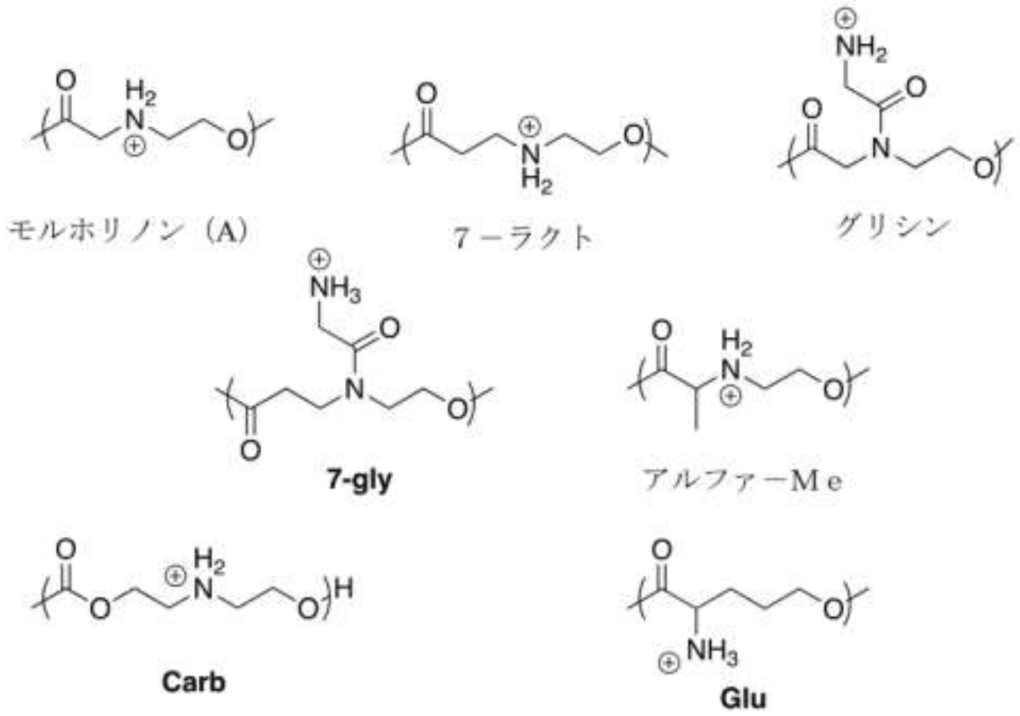
【０２１０】

いくつかの実施形態では、指定された前述の式のいずれかを有するｐＨ感受性犠牲ドメインにおいて、Ｚは、－Ｓ－、－Ｓ＋Ｒ１３－、－ＮＲ１３－、または－Ｎ＋（Ｒ１３）（Ｈ）－であり、Ｒ１３は、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

【０２１１】

いくつかの実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、以下の式のうちの１つを有し得る。本明細書に開示されている細胞透過性複合体の実施形態と、その実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、下記の式（ＩＶ）の構造を有する。

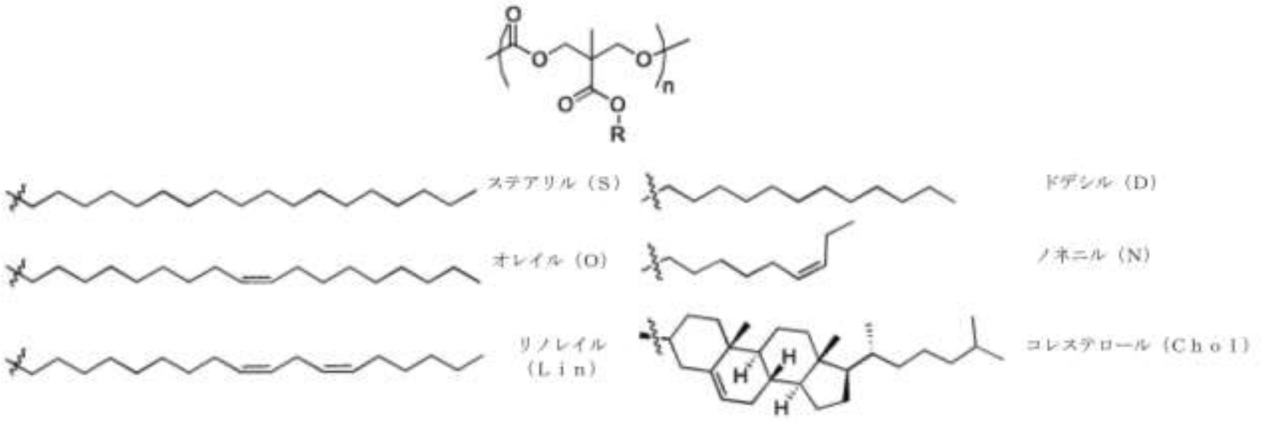
【化４４】



【０２１２】

いくつかの実施形態では、親油性ポリマードメイン、または交換可能に親油性ポリマードメインと呼ばれるものは、Ｒ基の以下の変種のうちの１つを有することができる。

【化４５】



【０２１３】
本明細書に開示される細胞透過性複合体およびその実施形態に加えて、実施形態では、核酸は、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、ショートヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）、ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）、トランス活性化ＲＮＡ（ｔｒａｃｒＲＮＡ）、プラスミドＤＮＡ（ｐＤＮＡ）、ミニサークルＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ（ｇＮＤＡ）などのＤＮＡまたはＲＮＡであり得る。細胞透過複合体は、タンパク質またはペプチドをさらに含み得る。

【０２１４】
本明細書に開示されている細胞透過性複合体およびその実施形態に加えて、実施形態では、細胞透過性複合体は、複数の親油性部分をさらに含む。

【０２１５】
本明細書に開示されている細胞透過性複合体およびその実施形態に加えて、実施形態では、細胞透過性複合体は、複数の犠牲ドメインをさらに含む。

【０２１６】
本明細書に開示されている細胞透過性複合体およびその実施形態に加えて、実施形態では、上記のカチオン性配列に対する対アニオンとしては、例えば、アセテート、トリフルオロアセテート、トリフレート、クロライド、ブロミド、サルフェート、ホスフェート、スクシネート、またはシトレートなどの当技術分野で知られている一般的な対イオンが挙げられる。実施形態では、対アニオンは、アセテート、トリフルオロアセテート、トリフレート、クロライド、ブロミド、サルフェート、ホスフェート、スクシネート、またはシトレートである。

【０２１７】
トランスフェクション
別の態様では、核酸を細胞にトランスフェクトする方法であって、細胞を本明細書に開示されるような細胞透過性複合体と接触させることを含む方法、またはその実施形態が提供される。

【０２１８】
実施形態では、この方法は、カチオン性両親媒性ポリマーを細胞内で分解させ、それによって分解産物を形成させることをさらに含む。実施形態では、分解産物は、置換または非置換ジケトピペラジンである。

【０２１９】
核酸を細胞にトランスフェクトする方法の任意の実施形態に加えて、実施形態では、核酸は、ｍＲＮＡである。実施形態では、この方法は、ｍＲＮＡが細胞内で発現されることを可能にすることをさらに含む。実施形態では、細胞は、生物の一部を形成する。実施形態では、生物は、ヒトである。

【０２２０】

本明細書で提供されるのは、とりわけ、オリゴヌクレオチドおよびポリアニオンカーゴ、例えば、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）の、インビトロおよびインビボの両方での標的細胞、組織、および器官への複合体形成、保護、送達および放出を可能または増強する新規の材料および方策である。

【０２２１】

例えば、本明細書に開示されているｍＲＮＡ送達策の１つは、ｍＲＮＡなどのポリアニオンと静電的に複合体を形成することが分かった生分解性ポリ（カーボネート－ｃｏ－アミノエステル）オリゴマーとその変種を用いて達成され、ｍＲＮＡカーゴを保護するとともに、細胞に容易に進入して、オリゴヌクレオチドカーゴを独自に放出する非共有結合巨大分子粒子を作製する。次に、細胞内で放出されたｍＲＮＡは、細胞プロセスによって、ペプチドおよびタンパク質（その配列と、その結果、活性は、ｍＲＮＡの配列によって定められる）に変換される。

【０２２２】

したがって、例えば、核酸そのものと、既知の遺伝子送達ベクターを使う場合と比べて、細胞へのトランスフェクション効率を大幅に向上させることをもたらす。ｍＲＮＡの送達で用いるこの材料および方策を用いて、ｓｉＲＮＡ、ｐＤＮＡ、ｓｈＲＮＡ、およびｇＤＮＡなどの他のオリゴヌクレオチドも送達できる。さらに、この材料と方策を用いて、ヘパリン、無機ポリホスフェートおよびイノシトールポリホスフェート（例えば、ＩＰ３、ＩＰ７、ＩＰ８）などの他のアニオン性生体分子を送達することもできる。この送達は、様々なヒト細胞株および非ヒト細胞株によって、筋肉内、静脈内、腹腔内、眼内、鼻腔内、皮下、口腔内、および局所投与が挙げられるが、これらに限らない複数の投与方法を通じて、インビボで行うことができる。本明細書に開示されているポリ（カーボネート－ｃｏ－アミノエステル）は、例えば、生物医学的な療法、画像化およびデバイスの用途において、カスタマイズ可能な生分解性生体適合性材料として利用することができる。バレロラクトン、カプロラクトン、ラクチド、および環状カーボネートのような無毒の生分解性化合物材との共重合化によって、カーゴ放出速度、疎水性、標的化リガンドの導入、体内分布、および毒性を含む物理的特性および生物学的特性を調整できる。

【０２２３】

したがって、いくつかの実施形態では、本発明で提供される薬剤としては、環状アミノエステルモノマーおよび環状メチルトリメチレンカーボネート（ＭＴＣ）モノマーに由来してよいオリゴマー、ポリマー、コオリゴマーおよびコポリマーが挙げられる。環状アミノエステルは、モルホリン－２－オンおよびその相同体の基本構造を有するとともに、以下のものを含め複数の置換パターンは可能である。

（１）様々な疎水性基（例えば、Ｒ＝アルキル、アルケニル、アリール、ステロイドを含む多環、ヘテロ環）、カチオン性基（例えば、アンモニウム、ホスホニウム、スルホニウム、グアニジニウム、（グリシン、リシン、オルニチン、アルギニンのようなアミノ酸によるアシル化を含む））、アニオン性基（例えば、カルボキシレート、サルフェート、ホスフェート）、または親水性（例えばＰＥＧ）カルバメートによるＮ－アシル化。Ｎ－ＢｏｃまたはＮ－Ｃｂｚ基でモルホリン窒素を保護してから、有機分子触媒的開環オリゴマー化または重合を行うと、脱保護後、カチオン性ポリマー、またはオリゴマー主鎖を得ることができる。

（２）上述の可能な官能基を選択して、カーゴ複合体の形成と、その後の生分解によるカーゴ放出を可能にした、エステルカルボニルの隣におけるアルファ－アルキル化または官能化。

（３）上述の官能基による、モルホリン窒素の近位におけるアルキル化。

（４）上述の修飾を組み合わせたもの。

【０２２４】

さらに、コポリマーまたはコオリゴマー（ブロックまたは統計的）は、２つ以上のモルホリン－２－オンモノマーを混合することによって、または１つもしくは複数のモルホリン－２－オンモノマーを、本明細書に記載されている１つもしくは複数の環状カーボネート

モノマーと共重合（もしくはコオリゴマー化）することによって作製できる。これらのカーボネートモノマーには、同様の多様性の側鎖官能基、高親油性基またはカチオン性基を組み込んで、オリゴヌクレオチドの安定性、送達および放出の特性を調節できる。さらに、様々なその他の市販の環状エステルモノマー（ラクチド、グリコリド、バレロラクトンおよび／またはカプロラクトンが挙げられるが、これらに限らない）を用いて、親油性官能基を組み込むことができる。　ポリアミノエステルとポリ（カーボネート－ｃｏ－アミノエステル）の合成は、モルホリン－２－オンモノマーと環状カーボネートモノマーの開環重合および／または共重合を通じて行う。Ｎ－Ｂｏｃ保護モルホリノン（ＭＢｏｃ）は、有機分子触媒系を用いて、高変換率（８５％超）、調整可能なＭｎ（１ｋＤａ～２０ｋＤＡ）および低分子量分布（Ｍｗ／Ｍｎ：１．１～１．３）に重合する。重合後のＢｏｃ基の脱保護によって、カチオン性（ジプロトン性、第二級アミン）水溶性ポリマーが得られる（Ｄ２０に－－０．５Ｍ、３日超安定）。さらに、ＭＢｏｃをＭＴＣ－ドデシルカーボネートモノマーと共重合してから脱保護すると、適度に帯電したカチオン性物質が高収率（６０％超）、狭い多分散性度（１．４ＰＤＩ未満）、調整可能なブロック長で得られる。ブロック長は、開始剤とモノマーとの比率によって制御する。

【０２２５】

ポリアミノエステルおよびポリ（カーボネート－ｃｏ－アミノエステル）は、生体適合性かつ生分解性である。そのカチオン性ポリアミノエステルは、新規なｐＨ依存性および緩衝液依存性の犠牲機序を通じて速やかに分解して、一実施形態では、ビス－Ｎ－ヒドロキシエチル－２，５－ピペリジンジオンビス－ヒドロキシエチルグリシンを生成する。この予想外の分解により、処置濃度において無毒である産物が得られ、そのモノマー形態（さらなる加水分解の予想産物）は、メイラード反応におけるリン脂質修飾に対する天然のバイオマーカーである。このアミノエステル／カーボネートコポリマーのカーボネートセグメントは、加水分解と脱炭酸を通じて分解し、その副産物は、無毒であることが以前示されている。その新規なポリおよびオリゴ（カーボネート－ｃｏ－アミノエステル）には、その独自の分解機序により、遺伝子送達剤としての予想外の性能が見られる。これらの新規物質は、適度な理論的電荷比（例えば、約１０：１）でｍＲＮＡと非共有結合で複合体を形成し、ｍＲＮＡを保護、送達および放出し、その結果、優れたトランスフェクション効率（いくかのケースでは９９％超）をもたらし、インビトロおよびインビボで遺伝子発現を強固に誘導する。この方策は、様々な長さ（１０００および２０００ヌクレオチドの試験転写産物）のｍＲＮＡ分子の送達に有効である。一実施形態では、遺伝子送達は、カチオン性ポリ（カーボネート－ｃｏ－アミノエステル）とアニオン性カーゴを配合して、２００～４００ｎｍのサイズの自己組織化粒子を形成することを通じて達成される。これらの粒子は、細胞内遺伝子送達に必要なタイムスケールにおいて安定しており、その後、細胞に進入すると、オリゴヌクレオチドカーゴを放出する。いずれかの特定の理論に束縛されるものではないが、これらの物質は、ビス－Ｎ－ヒドロキシエチル－２，５－ピペリジンジオン産物のビス－ヒドロキシエチルグリシンに分解する。このｍＲＮＡ／両親媒性物質複合体で、様々なヒト細胞株とヒト以外の細胞株（例えば、ＨｅＬａ、ＨａＣａＴ、Ｊ７７４、ＨＥＫ２９３）を処理すると、インビトロにおいて、および複数の投与方法（試験した筋肉内投与および静脈内投与）を通じてインビボにおいて、タンパク質の発現（例えば、ＧＦＰ、ルシフェラーゼ）が誘導される。

【０２２６】

タンパク質の発現は、蛍光レポーター遺伝子をコードするｍＲＮＡを用いて、フローサイトメトリーおよび蛍光顕微鏡（ＧＦＰ）、ならびに生物発光（ホタルルシフェラーゼ）によって測定されている。このポリ（カーボネート－ｃｏ－アミノエステル）は、市販の標準的なＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ２０００と、ｓｉＲＮＡの送達に関して過去に説明された他の多くの鉛化合物よりも効率的なトランスフェクション剤であることが示されている。

【０２２７】

実施形態では、遺伝子送達は、得られる複合体の安定性とサイズを調整し、細胞取り込み

量を増加させ、その複合体からのｍＲＮＡの放出速度を調整し、カーゴｍＲＮＡの発現を増加させるように選択した第３の成分の存在下で、混合両親媒性オリゴマーとｍＲＮＡカーゴとを配合することによって達成される。第３の成分としては、配位性金属（Ｚｎ＋２、Ｍｇ＋２、Ｃａ＋２など）、動的非共有結合性架橋剤（炭水化物など）、対イオン（Ｃｌ－、ＡｃＯ－、サクシネートおよびシトレートなど）、ならびに溶解性調節剤（脂質およびＰＥＧなど）が挙げられるが、これらに限らない。

【０２２８】

この技術の用途としては、以下のものを挙げてよい。臨床用途：（１ａ）核酸トランスフェクションベクター：ＤＮＡとＲＮＡの使用は長年、遺伝病を治療するものとして提案されてきているが、遺伝子療法の臨床での使用への最大の障壁は依然として、オリゴヌクレオチドカーゴの有効な送達である。（１ｂ）感染症を予防するためのＲＮＡワクチンの接種：ｍＲＮＡベースのワクチンには、安全面で、ＤＮＡワクチンを上回る大きなメリットがあるが、現時点では、臨床においては、細胞へのｍＲＮＡの送達によって制限されている。本出願は現在、臨床試験が行われているが、最新技術では、エレクトロポレーションによるインビトロトランスフェクション用に、初代細胞を患者から取り出してから、その後、トランスフォーメーション細胞を患者に再導入することが必要である。この方法は、インビボでｍＲＮＡの発現を直接誘導するための本発明の送達技術を用いて、大きく改善できる。（１ｃ）幹細胞誘導：４つの既知の転写因子の発現を誘導するために、本発明の技術を用いることによって、未分化幹細胞において多能性を誘導できる。ポリ（カーボネート－ｃｏ－アミノエステル）送達ビヒクルのモジュール型の性質により、同時に、４つのすべての必要なｍＲＮＡ転写産物を容易に送達可能になる。（１）基礎研究用途（培養細胞のインビトロトランスフェクション、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ９を用いる遺伝子編集、組み合わせ遺伝子発現（ｍＲＮＡ翻訳）と遺伝子ノックダウン（ＲＮＡｉ）を用いる経路検証。癌免疫療法、アレルギー耐性、タンパク質補充療法、遺伝子編集、診断法が挙げられるが、これらに限らない。

【０２２９】

本発明で開示する複合体、組成物および方法の利点としては、例えば、下記の点を挙げてよい。

（１）トランスフェクションが難しい細胞株（Ｊ７７４マクロファージなど）でも、市販のトランスフェクション剤（Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ２０００など）よりも、インビトロでのｍＲＮＡトランスフェクション効率が高く、それにより、有効性が向上すると同時に、忍容性が高くなる。

（２）インビボ（ＢＡＬＢ／ｃマウス）での強固な遺伝子発現により、この技術の臨床への適用性が示されており、この技術により、カチオン性担体（リポフェクタミン（ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ）など）の毒性が回避され、臨床において、遺伝子の送達と発現のエキソビボ法に対する代替策を提供する。

（３）異なる投与経路によって異なるインビボ遺伝子発現を実現でき、静脈内注射を行うと、肝臓と脾臓での発現が優勢となり、（例えば）筋肉内送達では、投与部位で局所発現が維持される。経鼻送達は、粘膜および／または肺への取り込み経路をもたらす。

（４）既知の代謝物（ビス－ヒドロキシエチルグリシン）に速やかに分解され、これにより、効率的な遺伝子発現が可能になる。

（５）例えば、オリゴヌクレオチド担持粒子により、低ｐＨ環境（皮膚または腸管など）では安定性を示し、高ｐＨ環境では分解するなど、ｐＨ依存的な形でｍＲＮＡを放出する。

（６）分子量が目標値であり、分散性に対する制御が高度なオリゴマー、ポリマーまたはブロック／統計コポリマーもしくはコオリゴマーを作製するために、無金属合成を通じて、材料が容易に手に入る。

（７）形成される粒子の表面に標的化リガンド（フォレートまたはビオチンなど）を付加するか、またはモノクローナル抗体に結合することによって、材料を標的化しやすい。

（８）カチオン性ポリアミノエステルドメインが単離可能な中性小分子に特有の犠牲機序

により、生体適合性／生分解性産物のビス－Ｎ－ヒドロキシエチル－２，５－ピペリジンジオン（ヒドロキシエチルグリシンの環状ダイマー）が形成される。

【０２３０】

複合体、組成物および方法の特徴としては、下記のものが挙げられる。実施形態では、ポリ（カーボネート－ｃｏ－アミノエステル）ポリ（アミノエステル）と、それに由来するカチオン性材料は、下記の特性と機能のうちの少なくとも１つを示すことができる。

（１）生体適合性／生分解性ヒドロキシエチルグリシンダイマーをもたらす、カチオン性ポリアミノエステルの特有のｐＨ応答性犠牲機序。オリゴヌクレオチドカーゴの放出を導く、これらの材料のドメインは、カチオン性アンモニウムを不可逆的に中和させて、アニオン性カーゴの放出を速やかに誘発する予想外の分子内結合形成イベントを介して生じるという点で、その他の応答性生体材料の中でも独特である。

（２）分子内分解の単離可能産物（ヒドロキシエチルグリシンにさらに分解するビス－Ｎ－ヒドロキシエチル－２，５－ピペリクラ－７－イネディオンなど）。

（３）送達用にアニオン性カーゴを粒子に静電的にパッケージングしてから、細胞インターナリゼーション後に、速やかに放出するように、活性の時間的ウインドウを提供する。

（４）巨大分子構造に対する制御を行いながら、複数のラクトンモノマーの共重合を可能にする。官能化モノマーをブロックまたは統計構造で重合でき、さらに、これにより、環状カーボネートまたはホスフェートのように、複数のモノマー種の組み合わせが可能になる。

（５）これらの物質のインビボ使用は、局所投与または全身投与したときでも、急性毒性なしに行うことができ、治療的応答に必要な濃度での高い忍容性が示されている。

（６）遺伝子送達ビヒクルとして、ポリ（カーボネート－ｃｏ－アミノエステル）を使用することにより、メッセンジャーＲＮＡを含むオリゴヌクレオチドの効率的な送達と放出が可能になる。ＭＴＣ－ドデシルカーボネートモノマーとＮ－Ｂｏｃモルホリン－２－オンモノマーの両親媒性ブロックコオリゴマーを巨大なアニオン性カーゴ（ｍＲＮＡなど）と配合して、安定な４００ｎｍ未満の粒子を形成できる。得られるこれらの粒子は、細胞に有効に取り込まれて、そのｍＲＮＡカーゴを放出して、強固な遺伝子発現をもたらすことができる。この概念は、複数の細胞株においてインビトロで、また、マウス研究においてインビボで実証されている。これらの物質の有効性は、中性小分子のビス－Ｎ－ヒドロキシエチル－２，５－ピペリジンジオン　ビス－ヒドロキシエチルグリシンを形成する、カチオン性アミノエステルブロックのｐＨ応答性転位によるものであることが示されている。過去に、他のカチオン性遺伝子送達ビヒクルが報告されているが、上記のオリゴ（カーボネート－ｃｏ－アミノエステル）は、細胞取り込みに適するタイムスケールでｍＲＮＡ（またはその他のオリゴヌクレオチド）カーゴを放出する特有の能力と、その忍容性により、独特のものであり、最高レベルの性能を持つものである。

（７）ＭＴＣ－ドデシルカーボネートドメインとＮ－Ｂｏｃモルホリン－２－オンドメインの両方における平均ＤＰ１２のジブロックが最適に機能する点で、実験によって定められた、ｍＲＮＡの送達に最適な長さは、本発明者の従来技術からかけ離れた教示である。この長さは、市販のカチオン性ポリアミンベクター（ＰＥＩなど）よりもかなり短く、本発明者が以前発見したｓｉＲＮＡ送達ベクターよりも長い（参照：ＷＯ２０１３／０３６５３２Ａ１およびＰＮＡＳ２０１２，１０９（３３），１３１７１－１３１７６）。

【０２３１】

一態様では、本発明で提供するのは、細胞への核酸のトランスフェクション方法である。この方法は、細胞と、本願の他の箇所に説明されている細胞透過性複合体とを接触させることを有することができる。いくつかの実施形態では、この方法は、細胞で遺伝子編集を行うことができる。実施形態では、遺伝子編集には、単離または操作ヌクレアーゼ系を用いて、生物のゲノムにおいて、ＤＮＡを挿入、欠失または置換するタイプの遺伝子操作であるゲノム編集（ｇｅｎｏｍｅ－ｅｄｉｔｉｏｎ）またはゲノム編集（ｇｅｎｏｍｅ　ｅｄｉｔｉｎｇ）を包含することができる。特定の実施形態では、本明細書に開示されている方法を用いて、トランスフェクトされた細胞において遺伝子編集を行うことのできる遺

伝学的ツールまたは系を送達できる。遺伝子編集のための遺伝学的ツールまたは系のいくつかの非限定的な例としては、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系およびトランスポゾン系が挙げられる。

【０２３２】

一態様では、いくつかの実施形態によるトランスフェクション方法によってトランスフェクトする核酸（すなわちカーゴ核酸）は、細胞のゲノムにおける標的配列とハイブリダイズするＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系ガイドＲＮＡをコードする第１のヌクレオチド配列と、Ｃａｓ９タンパク質をコードする第２のヌクレオチド配列とを有するベクターを１つ以上有することができる。特定の実施形態では、第１のヌクレオチド配列と第２のヌクレオチド配列は、同じまたは異なるベクターに配置することもできる。

【０２３３】

一般に、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ９を採用した系は、遺伝子編集のための高度な忠実度と比較的単純な構造を提供する。系は、その特異性に関しては、標的配列とプロトスペーサー隣接モチーフ（ＰＡＭ）という２つの因子に依存することができる。標的配列は、例えば、ｃｒＲＮＡアレイにおける各ＣＲＩＳＰＲ座位の一部として、２０塩基長であることができる。ｃｒＲＮＡアレイは、特有の標的配列を複数有することができる。Ｃａｓ９タンパク質は、宿主ＤＮＡの塩基対と結合する配列を用いることによって、宿主のゲノム上の正確な位置を選択できる。宿主ゲノムのＰＡＭ配列は、Ｃａｓ９によって認識できる。エレメントをアセンブルして、例えば１つ以上のプラスミドにして、細胞にトランスフェクトしたら、Ｃａｓ９タンパク質が、ｃｒＲＮＡの助けを借りて、宿主細胞のＤＮＡにおける正確な配列を見つけ、Ｃａｓ９バリアントに依存して、そのＤＮＡに一本鎖切断または二本鎖切断を作る。宿主ＤＮＡにおける適切な間隔の切断によって、相同配向型修復を誘発できる。ＤＮＡ修復用鋳型を提供することで、ゲノム内の意図する位置に、特定のＤＮＡ配列を挿入することができる。新たな配列は、導入されると、細胞の遺伝物質の一部となり、その娘細胞に受け継ぐことができる。当該技術分野においては、有効なｓｇＲＮＡ配列の設計を補助するために、多くのオンラインツールが入手可能である。いくつかの実施形態によれば、本発明による特定の実施形態による方法と組成物は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系ガイドＲＮＡをコードするヌクレオチド配列と、Ｃａｓ９タンパク質をコードするヌクレオチド配列を送達またはトランスフェクトして、トランスフェクトされた細胞において遺伝子編集を誘導できる。

【０２３４】

いくつかの実施形態では、特定の実施形態によるトランスフェクション方法によってトランスフェクトするカーゴ核酸は、ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）を有することができる。いくつかの実施形態では、このｃｒＲＮＡは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系ガイドＲＮＡをコードする第１のヌクレオチド配列の同じベクター内にあり得る。

【０２３５】

いくつかの実施形態では、特定の実施形態によるトランスフェクション方法によってトランスフェクトするカーゴ核酸は、トランス活性化ＲＮＡ（ｔｒａｃｒＲＮＡ）を有することができる。いくつかの実施形態では、このｔｒａｃｒＲＮＡは、Ｃａｓ９タンパク質をコードする第２のヌクレオチド配列の同じベクター内にあり得る。

【０２３６】

いくつかの実施形態では、いくつかの実施形態によるトランスフェクション方法で利用されるＣａｓ９タンパク質は、トランスフェクトされた細胞での発現に合わせてコドン最適化され得る。

【０２３７】

別の態様では、いくつかの実施形態によるトランスフェクション方法によってトランスフェクトする核酸（すなわちカーゴ核酸）は、トランスポザーゼをコードする第１のヌクレオチド配列と、トランスポザーゼ認識部位に隣接する目的遺伝子の核酸配列を有する第２のヌクレオチド配列とを有する１つ以上のベクターを有することができる。いくつかの実施形態では、第１のヌクレオチド配列と第２のヌクレオチド配列は、同じまたは異なるベ

クターに配置することもできる。
【０２３８】
転移因子（またはトランスポゾン）は、一般に、ゲノム内のその位置を変えることのできるＤＮＡ配列を指し、変異を起こしたりまたは逆転したりするとともに、細胞の遺伝的組成とゲノムサイズを変更したりすることがある。トランスポザーゼは、一般に、トランスポゾンに結合して、例えばカットアンドペーストの機序または複製型転移の機序によって、ゲノムの別の部分へのトランスポゾンの移動を触媒できる酵素を指す。細胞において、トランスポザーゼと、トランスポザーゼ認識部位に隣接する目的遺伝子を導入することによって、目的遺伝子の細胞ゲノムへの挿入を誘導できる。いくつかの実施形態によれば、本発明による特定の実施形態による方法および組成物は、トランスポザーゼをコードする核酸と目的遺伝子を送達またはトランスフェクトして、トランスフェクトされた細胞において遺伝子編集を誘導できる。
【０２３９】
いくつかの実施形態では、いくつかの実施形態によるトランスフェクション方法で用いるトランスポザーゼは、ゲノム配列を認識して、切除することができる。いくつかの他の実施形態では、そのトランスフェクション方法を介してトランスフェクトする目的遺伝子の核酸配列は、トランスフェクトされた細胞のゲノムに組み込むことができる。
【０２４０】
いくつかの実施形態では、いくつかの実施形態によるトランスフェクション方法を介して行う遺伝子編集では、ＤＮＡの欠失、遺伝子の破壊、ＤＮＡの挿入、ＤＮＡの逆位、点変異、ＤＮＡの置換、ノックインおよびノックダウンのうちの１つ以上を行うことができる。
【０２４１】
免疫応答の誘導方法
別の態様では、本明細書で提供されるのは、対象において免疫応答の誘導方法である。いくつかの実施形態では、この方法は、細胞透過性複合体を用いて、疾患または状態を治療および／または予防できる。この方法は、一般に、本明細書に記載されている細胞透過性複合体または細胞透過性複合体を有する薬学的組成物を治療上有効な量、単独で（例えば単独療法で）、あるいは１つ以上の追加の成分、例えば薬学的に許容される賦形剤および／または追加の治療剤と組み合わせて（例えば併用療法で）、その投与が必要な対象に投与することを伴う。
【０２４２】
いくつかの実施形態では、細胞透過性複合体または細胞透過性複合体を有する薬学的組成物は、その細胞透過性複合体またはその薬学的組成物を投与された対象において、免疫応答を誘導できるワクチンとして用いることができる。
【０２４３】
いくつかの実施形態では、ワクチンは、対象において疾患または状態の発症を予防するかまたはその発症の可能性を低減できるように、予防活性を有することができる。実施形態では、ワクチンが予防目的で使用される場合、対象は、疾患または状態が見られない動物、例えば、疾患もしくは状態と診断されなかったか、または疾患もしくは状態と関連する顕著な症状が見られないヒトであることができる。いくつかの他の実施形態では、ワクチンには、疾患または状態の治療に使用できるような治療効果がある。治療用ワクチンのいくつかの例としては、すでに癌に罹患している患者に投与できる癌ワクチンを挙げることができるが、これらに限らない。この癌ワクチンは、１つ以上の抗癌活性、例えば、癌細胞数の低減、癌の大きさの縮小、癌細胞の死滅、転移の低減および／または阻害、ならびに癌細胞の成長および／または増殖の低減を示すことができる。いくつかの他の実施形態では、癌ワクチンは、特に、癌の素因があるとみなされているが、その時点では癌ではない対象に、予防目的で用いることもできる。特定の癌の素因がある対象に予防ワクチンを投与して、その対象において、その癌を予防したり、またはその癌の発症の可能性を低減したりできる。

【０２４４】
一態様では、本発明による開示は、疾患に対する免疫応答を誘導する必要がある対象において、疾患に対する免疫応答を誘導する方法を提供する。この方法は、細胞透過性複合体を有効量、対象に投与することを含むことができる。
【０２４５】
いくつかの実施形態では、細胞透過性複合体は、その複合体を投与される対象において、免疫応答を誘導できるワクチンとして用いることができる。この複合体は、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合した核酸を含むことができ、そのカチオン性両親媒性ポリマーは、ｐＨ感受性犠牲ドメインを有することができる。
【０２４６】
いくつかの実施形態では、ワクチンまたはワクチン組成物の標的とする疾患または状態としては、自己免疫疾患、炎症性疾患、癌疾患、感染症、代謝性疾患、発達性疾患、心血管疾患、肝疾患、腸疾患、内分泌疾患、神経疾患またはその他の疾患を挙げることができるが、これらに限らない。
【０２４７】
いくつかの実施形態では、ワクチンまたはその組成物に含まれる核酸は、抗原または免疫原性エピトープをコードする核酸配列であることができる。例えば、感染症が懸念されるときには、ワクチンに含まれる核酸は、その感染症の病原体（例えば病原性細菌またはウイルス）で発現することが知られている１つ以上のペプチドをコードでき、対象に投与すると免疫応答を誘導できる。この疾患が特定のタイプの癌である別の例では、ワクチン組成物を用いて対象に投与する核酸は、その癌と関連する１つ以上のペプチド、例えば、実質的にそのタイプの癌のみで発現するペプチド、またはその発現レベルが、非癌細胞よりも、その癌細胞において顕著に高いペプチドをコードできる。抗原ペプチド（複数可）または免疫原性ペプチド（複数可）をコードする核酸を対象に投与して、対象の特定の細胞に送達（すなわちトランスフェクト）すると、トランスフェクトされた核酸は最終的には翻訳されて、抗原ペプチド（複数可）が発現できる。発現したペプチド（複数可）には、抗原性または免疫原性があるので、対象において、その発現ペプチドに対する免疫応答を誘導できる。誘導した免疫応答は、例えば、対象がすでに疾患を罹患している場合には、特異性を有する罹患細胞集団を低減して、治療効果を示すことによって、標的の疾患を治療するように機能できる。あるいは、対象は、適応免疫応答の標的となる免疫原性ペプチドに対する初期応答後、適応免疫が免疫記憶を惹起できるこのワクチン接種によって、獲得免疫応答を有することができ、その後、標的に遭遇すると、標的に対して、増強された応答が示され、予防効果が発揮される。
【０２４８】
いくつかの実施形態では、ワクチン接種では、２つの別々の種類（または配列）の核酸を１つのワクチン組成物で送達することによって、治療効果と予防効果の二重の活性をもたらすことができる。この２つの別々の核酸は、２つの異なる免疫原性ペプチドをコードできる。したがって、いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、（１）既存の疾患または状態に対して、より迅速な治療効果を誘導できる第１の免疫原性ペプチドをコードする第１の核酸と、（２）異なる疾患または状態の今後の発症に備えて、対象において、適応免疫を誘導することを目的とする異なる第２の免疫原性ペプチドをコードする第２の核酸とをトランスフェクトできる。いくつかの実施形態では、ワクチンは、２つ以上の異なる核酸を対象に送達でき、各核酸は独立して、それぞれ治療効果または予防効果を発揮する。
【０２４９】
実施形態では、ワクチン組成物は、２つ以上の異なる種類（または異なる式）のカチオン性両親媒性ポリマーを有することができる。あるいは、ワクチン組成物は、１つの種類（または１つの式）のみのカチオン性両親媒性ポリマーを有することができる。いくつかの実施形態では、１つの種類のカチオン性両親媒性ポリマーは、１つの種類（配列）の核酸に非共有結合できる。あるいは、１つの種類のカチオン性両親媒性ポリマーは、２つ以上

の種類（配列）の核酸に非共有結合できる。したがって、いくつかの例では、２つ以上の配列（または種類）の核酸を送達するために、それぞれ異なる配列の核酸に結合している異なる種類のカチオン性両親媒性ポリマーの混合物を対象に投与できる。あるいは、２つ以上の配列（または種類）の核酸を送達するために、複数の種類（または配列）の核酸に結合している１つの種類（または式）のカチオン性両親媒性ポリマーを対象に投与できる。あるいは、１つの配列（または種類）の核酸に結合している１種類（または式）のカチオン性両親媒性ポリマーを対象に投与することもできる。

【０２５０】

いくつかの実施形態では、ワクチンまたはその組成物に含まれる核酸は、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、ショートヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）、ＣＲＩＳＰＲＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）、トランス活性化ＲＮＡ（ｔｒａｃｒＲＮＡ）、プラスミドＤＮＡ（ｐＤＮＡ）、ミニサークルＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ（ｇＮＤＡ）であることができる。代替的な実施形態では、ワクチンまたはその組成物に含まれる核酸は、ｍＲＮＡであることができる。いくつかの実施形態では、対象において、ワクチン接種によって、核酸を１つ以上の細胞にトランスフェクトする。いくつかの実施形態では、ワクチン組成物によって、１つまたは２つ以上の核酸配列をトランスフェクトできる。したがって、いくつかの実施形態では、ワクチン組成物は、２つの異なる核酸を含み、その各核酸は、それぞれ異なる抗原ペプチドをコードする。したがって、ワクチン接種が必要な対象にワクチンを投与すると、対象において、２つ以上の種類の抗原エピトープを発現させて、免疫応答を誘導できる。代替的な実施形態では、対象において、１つの種類のエピトープを発現させて、免疫応答を誘導できるように、ワクチン接種によって、１つの種類の核酸をトランスフェクトできる。

【０２５１】

いくつかの実施形態では、免疫応答の誘導が必要な対象の免疫応答の誘導方法は、細胞透過性複合体を有効量、対象に投与することに加えて、追加の薬学的組成物を１つ以上、有効量で対象に投与することを有することができる。いくつかの実施形態では、この追加の薬学的組成物は、抗癌剤と、任意に、薬学的に許容される担体とを含むことができる。追加の抗癌剤は、例えば、抗体、小分子および大分子、またはこれらを組み合わせたものであることができる。抗癌活性の例としては、癌細胞数の低減、癌の大きさの縮小、癌細胞の死滅、転移の低減および／または阻害、ならびに癌細胞の成長および／または増殖の低減が挙げられるが、これらに限らない。実施形態では、細胞透過性複合体と追加の薬学的組成物の投与は、個別に投与した場合の効果を合わせたものを上回る相乗効果をもたらすことができる。

【０２５２】

組成物

一態様では、本発明による本開示は、本明細書に記載されているようなカチオン性両親媒性ポリマーを提供する。いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、核酸に非共有結合できる。いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、１つ以上の親油性ポリマードメインと、１つ以上のｐＨ感受性犠牲ドメインを有することができる。いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、１つ以上の任意の成分とともに、組成物に配合できる。カチオン性両親媒性ポリマーまたはその組成物は、１つ以上の核酸と非共有結合させることによって、細胞透過性複合体に配合できる。

【０２５３】

別の態様では、本発明による本開示は、核酸とカチオン性両親媒性ポリマーとを含む細胞透過性複合体を提供する。いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、核酸に非共有結合できる。いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、１つ以上の親油性ポリマードメインと、１つ以上のｐＨ感受性犠牲ドメインを有することができる。いくつかの実施形態では、細胞透過性複合体は、１つ以上の任意の成分とともに、組成物に配合できる。

【０２５４】
いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーまたは細胞透過性複合体は、核酸を細胞にトランスフェクトするのに用いることのできる組成物に配合できる。核酸を細胞にトランスフェクトできるこれらの組成物は、少なくともいくつかの実施形態では、トランスフェクション組成物と呼ばれる。いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーに結合して、細胞透過性複合体を形成できるカーゴ核酸は、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、ショートヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）、ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）、トランス活性化ＲＮＡ（ｔｒａｃｒＲＮＡ）、プラスミドＤＮＡ（ｐＤＮＡ）、ミニサークルＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ（ｇＮＤＡ）であることができる。カチオン性両親媒性ポリマーを有するが、カーゴ核酸を有さないトランスフェクション組成物は、例えば、トランスフェクションの前に、そのカチオン性両親媒性ポリマーと核酸を接触（または混合）させて、カーゴ核酸とともに配合できる。

【０２５５】
実施形態では、本明細書に開示されている組成物と方法を用いるトランスフェクションによって、１つ以上の細胞特性を変化させることができる。実施形態では、トランスフェクションによって、トランスフェクトされた細胞において、遺伝子発現プロファイルを変化させることができる（例えば、１つ以上の遺伝子産物（例えばＲＮＡまたはペプチド）の発現を増減させることができる）。いくつかの他の例では、トランスフェクションによって、ゲノム構造を変化させることができる（例えば、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ９系またはトランスポゾン系の成分をトランスフェクトすることによって、遺伝子編集を行うことができる）。いくつかの他の例では、トランスフェクションによって、細胞経路の活性を調節できる。したがって、そのような例のいくつかでは、トランスフェクションによって、幹細胞の誘導を行うことができる。いくつかの他の例では、この組成物は、治療効果のあるカーゴ核酸を送達（またはトランスフェクト）して、そのトランスフェクションによって、疾患または状態を治療および／または予防できるようにできる。いくつかの実施形態では、治療用カーゴ核酸を送達（またはトランスフェクト）する組成物は、その組成物を投与された対象において、免疫応答を誘導できる。上記から明らかなように、本開示による組成物（カチオン性両親媒性ポリマーまたは細胞透過性複合体を有する組成物を含む）は、カーゴ核酸とその機能に応じて、トランスフェクトされた細胞または投与された対象において、様々な成果をもたらすのに用いることができる。

【０２５６】
薬学的組成物
いくつかの実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーまたは細胞透過性複合体を有する組成物は、治療的目的で用いることができる。いくつかの実施形態では、治療的目的には、予防目的（疾患または状態の発症を防ぐ目的）と、治療目的（既存の疾患または状態を治療する目的）が含まれる。組成物が、カチオン性両親媒性ポリマーを有するが、カーゴ核酸を有さないときには、対象に投与する前に、治療効果を発揮できるカーゴ核酸をカチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合させることができる。

【０２５７】
いくつかの実施形態では、組成物は、ワクチンまたはその組成物、すなわち、ワクチンと、任意に、薬学的に許容される担体とを含む組成物であることができる。そのワクチンまたはワクチン組成物を用いて、疾患もしくは状態、または疾患もしくは状態と関連する病原体を予防および／または治療できる。いくつかの実施形態では、ワクチンまたはワクチン組成物は、カチオン性両親媒性ポリマーとカーゴ核酸とを有する細胞透過性複合体を含む。いくつかの実施形態では、細胞透過性複合体は、対象に投与すると、免疫応答、すなわち免疫原性を誘導できる。この免疫原性は、少なくとも部分的には、カーゴ核酸によってコードされる１つ以上の抗原ペプチドが、トランスフェクトされた細胞において発現すると、誘導できる。

【０２５８】

一態様では、本明細書に開示されているカチオン性両親媒性ポリマーまたは細胞透過性複合体は、薬学的組成物に配合できる。カチオン性両親媒性ポリマーは、ｐＨ感受性犠牲ドメインを有することができる。一実施形態では、薬学的組成物はさらに、薬学的に許容される賦形剤および／または薬学的に許容される担体を含むことができる。

【０２５９】

いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、活性成分として、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合している核酸を有する細胞透過性複合体を有するとともに、さらに、投与経路に応じて、薬学的に許容される賦形剤または添加剤を含むことができる。そのような賦形剤または添加剤の例としては、水、薬学的に許容される有機溶媒、コラーゲン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、ナトリウムアルギネート、水溶性デキストラン、カルボキシメチルデンプンナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、エチルセルロース、キサンタンガム、アラビアゴム、カゼイン、ゼラチン、寒天、ジグリセリン、グリセリン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ワセリン、パラフィン、ステアリルアルコール、ステアリン酸、ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、薬学的に許容される界面活性剤などが挙げられる。用いる添加剤は、適宜、本開示の剤形に応じて、上記の添加剤またはそれらを組み合わせたもの（ただし、これらに限らない）から選択できる。

【０２６０】

いくつかの実施形態では、薬学的に許容される担体は、免疫学的アジュバントである。実施形態では、免疫アジュバントとしては、トール様レセプター（ＴＬＲ）のアゴニスト、ＳＴＩＮＧ経路のアゴニスト、ＣＤ４０、ＯＸ４０、ＣＴＬＡ４、ＰＤ１またはＰＤ１－Ｌに対するアゴニスト抗体、フロイントアジュバント、ブリオスタチン、およびＣＤ４０、ＯＸ４０、ＣＤ１３７、ＰＤ１、ＣＴＬＡ４に対するリガンド、ならびにこれらをいずれかに組み合わせたものを挙げることができるが、これらに限らない。いくつかの実施形態では、アジュバントは、細胞透過性複合体とともに対象に併用投与すると、細胞透過性複合体によって誘導される免疫原性を向上させることができる。

【０２６１】

本開示の薬学的組成物の製剤は、選択した投与経路によって様々であることができる（例えば、液剤、乳剤）。投与経路は、例えば、筋肉内経路、皮下経路、静脈内経路、リンパ内経路、皮下経路、筋肉内経路、眼内経路、局所皮膚経路、局所結膜経路、経口経路、膀胱内（膀胱）経路、動脈内経路および膣内経路であることができる。

【０２６２】

いくつかの実施形態では、組成物は、凍結保護剤を含むことができる。凍結保護剤の非限定的な例としては、グリコール（例えば、エチレングリコール、プロピレングリコール、およびグリセロール）、ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）、ホルムアミド、スクロース、トレハロース、デキストロース、ならびにこれらをいずれかに組み合わせたものが挙げられる。

【０２６３】

いくつかの実施形態では、製剤は、徐放性製剤である。「徐放性製剤」という用語には、徐放性および持続放出性の製剤が含まれる。徐放性製剤は、当該技術分野において周知である。これらの製剤は、組成物の徐放、周期的放出、パルス放出または遅延放出を可能にする賦形剤を含む。徐放性製剤としては、組成物をマトリックスに埋め込んだ製剤、腸溶性コーティング、マイクロカプセル化、ゲルおよびヒドロゲル、インプラント、ならびに組成物の放出制御を可能にするいずれかの他の製剤が挙げられるが、これらに限らない。

【０２６４】

一態様では、細胞透過性複合体またはその組成物を有する部分のキットを提供する。別の態様では、核酸に結合していないカチオン性両親媒性ポリマーまたはその組成物を有する部分のキットを提供する。このキットはさらに、カチオン性両親媒性ポリマーとカーゴ核酸を用いて、細胞透過性複合体を作製するためのプロトコルを説明する文書または説明を

含むことができる。このキットの文書または説明では、その組成物の投与が必要な対象に組成物を投与するためのプロトコルも説明できる。

【０２６５】

本明細書に記載されている治療製剤は、純度が所望の程度である活性成分、すなわち、免疫原性物質（複数可）と、任意の生理学的に許容される担体、賦形剤または安定剤とを混合することによって、保存用に調製できる。許容される担体、賦形剤または安定剤は、用いる投与量と濃度において、被投与者に無毒であることができ、緩衝液（ホスフェート、シトレートおよびその他の有機酸など）、抗酸化剤（アスコルビン酸とメチオニンを含む）、保存剤（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド、ヘキサメトニウムクロライド、ベンズアルコニウムクロライド、ベンゼトニウムクロライド、フェノール、ブチルもしくはベンジルアルコール、アルキルパラベン（メチルパラベンもしくはプロピルパラベンなど）、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサノール、３－ペンタノールおよびｍ－クレゾールなど）、低分子量（約１０残基未満）のポリペプチド、タンパク質（血清アルブミン、ゼラチンもしくは免疫グロブリンなど）、親水性ポリマー（ポリビニルピロリドンなど）、アミノ酸（グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンもしくはリシンなど）、単糖、二糖およびその他の炭水化物（グルコース、マンノースもしくはデキストリンを含む）、キレート剤（ＥＤＴＡなど）、糖（スクロース、マンニトール、トレハロースもしくはソルビトールなど）、塩形成対イオン（ナトリウムなど）、金属複合体（例えばＺｎ－タンパク質複合体）、および／または非イオン性界面活性剤（ＴＷＥＥＮ（商標）、ＰＬＵＲＯＮＩＣＳ（商標）もしくはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）など）が挙げられる。

【０２６６】

本発明の製剤は、２つ以上の活性化合物（例えば、細胞透過性複合体を有する免疫原性物質（複数可）に加えて、第２の活性剤）も含んでよく、それらは、相互に悪影響を及ぼさない相補的活性を得られるように選択してよい。そのような分子は好適には、意図する目的に有効であり得る量で共存できる。

【０２６７】

投与

いくつかの態様では、提供するのは、所望の活性を細胞または対象にもたらすように、組成物を細胞または対象に送達する方法である。いくつかの実施形態では、組成物は、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合しているカーゴ核酸を有する細胞透過性複合体を含むことができる。カーゴ核酸は、細胞にトランスフェクトしたり、または対象に投与したりすると、その核酸配列の性質に応じて、様々な意図する作用をもたらすことができる。意図する作用のいくつかの非限定的な例としては、遺伝子発現の調節、細胞経路の調節、ゲノム編集および免疫応答の誘導が挙げられる。いくつかの実施形態では、組成物は、対象において、意図する作用の少なくとも一部をもたらすのに十分である有効量で、対象に投与できる。

【０２６８】

「投与」、「投与すること」などは、組成物との関連で用いるときには、直接的投与（細胞へのインビトロ投与、細胞へのインビボ投与、医療従事者もしくは対象による自己投与による対象への投与であってよい）、および／または間接的投与（本開示の組成物を処方する行為であってよい）の両方を指す。本明細書において、細胞に関して用いるときには、組成物を細胞に導入することを指す。典型的には、有効量を投与し、その量は、当業者が定めることができる。任意の投与方法を使用することができる。化合物（例えば薬物および抗体）は、例えば、化合物を細胞培養培地に加えるか、またはインビボ注射することによって、細胞に投与してよい。対象への投与は、例えば、血管内注射、直接的腫瘍内送達などによって行うことができる。

【０２６９】

投与は、対象への経口投与、座剤としての投与、局所接触、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、病巣内投与、髄腔内投与、鼻腔内投与、もしくは皮下投与、または徐放器具、

例えばミニ浸透圧ポンプの埋め込みを意味してよい。投与は非経口および経粘膜（例えば、口腔、舌下、口蓋、歯肉、経鼻、膣内、直腸内、または経皮）を含む、任意の経路による。非経口投与には、例えば、静脈内、筋肉内、細動脈内、皮内、皮下、腹腔内、脳室内、および頭蓋内投与が含まれる。他の送達様式としては、リポソーム製剤、静脈内注入、経皮パッチなどの使用が挙げられるが、これらに限定されない。「同時投与」とは、本明細書に記載の組成物が、１つ以上の追加の治療法、例えば、化学療法、ホルモン療法、放射線療法、または免疫療法などの癌療法の投与と同時に、直前に、または直後に投与されることを意味する。本開示の化合物は、患者に、単独で投与することも、同時投与することもできる。同時投与は、化合物（２つ以上の化合物）を個別にまたは組み合わせて同時投与または順次投与することを含むことを意味する。

【０２７０】

対象に行う投与の量と頻度（単回投与または複数投与）は、様々な要因、例えば、対象が別の疾患を罹患しているか、投与経路、被投与者の体格、年齢、性別、健康状態、体重、肥満度指数および食事、治療する疾患の症状の性質と程度、併用治療の種類、治療する疾患に起因する合併症、または健康に関連するその他の問題に応じて変動し得る。本明細書に記載されている方法と組成物（その実施形態を含む）と併せて、その他の治療レジメンまたは治療剤を用いることができる。確立された投与量（例えば、頻度および持続時間）の調整および操作は、十分に当業者の能力の範囲内である。

【０２７１】

本明細書で提供される教示を利用して、実質的な毒性を引き起こさず、さらに、特定の患者によって示される臨床症状を処置するのに有効である、有効な予防的または治療的処置レジメンを計画し得る。この計画には、化合物の効力、相対的バイオアベイラビリティ、患者の体重、有害な副作用の存在および重症度、好ましい投与方法、ならびに選択された薬剤の毒性プロファイルなどの要因を考慮することによる、活性化合物の慎重な選択が含まれるべきである。

【０２７２】

いくつかの実施形態では、対象は、哺乳動物、例えば、ヒト、ヒト以外の霊長類動物、マウス（すなわち、マウスおよびラット）、イヌ、ネコまたはウマである。一実施形態では、対象は、ヒトである。

【０２７３】

いくつかの実施形態では、組成物は、対象の体重１ｋｇあたり約１ｎｇ、対象の体重１ｋｇあたり約１０ｎｇ、対象の体重１ｋｇあたり約５０ｎｇ、対象の体重１ｋｇあたり約１００ｎｇ、対象の体重１ｋｇあたり約５００ｎｇ、対象の体重１ｋｇあたり約１ｕｇ、対象の体重１ｋｇあたり約１０μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約５０ｕｇ、対象の体重１ｋｇあたり約１００μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約１５０μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約２００μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約２５０μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約３００μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約３５０μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約３７５μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約４００μｇ、対象の体重１ｋｇあたり４５０μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約５００μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約５５０μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約６００μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約６５０μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約７００μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約７５０μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約８００μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約８５０μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約９００μｇ、対象の体重１ｋｇあたり約１ｍｇ、対象の体重１ｋｇあたり約１０ｍｇ、対象の体重１ｋｇあたり約５０ｍｇ、対象の体重１ｋｇあたり約１００ｍｇ、対象の体重１ｋｇあたり約５００ｍｇ、対象の体重１ｋｇあたり約１ｇ、もしくはこれを上回る値、または上記の値の間のいずれかの範囲の用量（または量）で投与できる。いくつかの実施形態では、組成物は、約０．５μｇ、約１．０μｇ、約１．５μｇ、約２．０μｇ、約２．５μｇ、約３．０μｇ、約３．５μｇ、約４．０μｇ、約４．５μｇ、約５．０μｇ、約５．５μｇ、約６．０μｇ、約６．５μｇ、約７．０μｇ、約７．５μｇ、約８．０μｇ、約８．５μｇ、約９．０μｇ、約９．５μｇ、約１．０ｍｇ、約１．５ｍｇ、約２．０ｍｇ、約２．５ｍｇ、

約３．０ｍｇ、約３．５ｍｇ、約４．０ｍｇ、約４．５ｍｇ、約５．０ｍｇ、約５．５ｍｇ、約６．０ｍｇ、約６．５ｍｇ、約７．０ｍｇ、約７．５ｍｇ、約８．０ｍｇ、約８．５ｍｇ、約９．０ｍｇ、約９．５ｍｇ、約１ｇ、もしくはこれを上回る値、または上記の値の間のいずれかの範囲の用量（または量）で投与できる。いくつかの実施形態では、組成物は、対象の体重１ｋｇあたり約７．５μｇまたは約０．３７５ｍｇの用量（または量）で投与できる。投与は、所望の期間にわたって繰り返すことができ、例えば、約１日～約５日の期間にわたって、または数日（例えば、約５日）に１回、約１カ月にわたって、約２カ月にわたってなどで繰り返すことができる。上記の重量は、細胞透過性複合体の重量、またはその組成物もしくは医薬製剤の重量であることができる。いくつかの実施形態では、

【０２７４】

一実施形態では、組成物は、６時間、１２時間、１日に１回、１日おき、または１週間もしくは１カ月ベースの間隔で全身投与または局所投与（例えば、腫瘍内注射、静脈内注射）して、所望の効果を誘発したり、または別段の形で、治療効果をもたらしたりできる。

【０２７５】

一実施形態では、組成物、特に癌ワクチンに対する奏効率をベースライン参照または対照参照（ｃｏｎｔｒｏｌ　ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ）よりも低減させることができる。「奏効率」という用語は、本明細書では、治療後に癌の退縮によって応答する患者の割合を示すように、その通例の意味で用いられている。奏効率には、例えば、部分退縮または完全退縮が含まれる。部分奏効としては、癌細胞の約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、約９７％、約９８％または約９９％の退縮が挙げられる。いくつかの実施形態では、対照参照は、健常な対象、癌の対象（例えば、治療を行う癌の対象、もしくは別の癌の対象）、またはこれらのいずれかの集団から得る。

【０２７６】

本明細書に記載の実施例および実施形態は例示目的のみのためであり、それを考慮した様々な修正または変更が当業者に示唆され、本出願および添付の特許請求の範囲の趣旨および範囲内に含まれるべきである。本明細書で引用されるすべての刊行物、特許、および特許出願は、すべての目的のために参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【０２７７】

組成物および方法

本明細書で提供される組成物および方法は、とりわけ、受容体タンパク質（例えば、キメラ抗原受容体、Ｔ細胞受容体）をコードする核酸をインビボで細胞に送達するために有用である。本明細書で提供される組成物は、驚くべきことに非免疫原性であり、インビボでそれを必要とする対象への骨髄細胞またはリンパ系細胞などの細胞への核酸の標的化送達のための優れた手段を提供する。本明細書で提供される方法および組成物を使用して、複数の遺伝子をコードする核酸を容易に配合し、インビボで送達することができる。組成物および方法は、インビボでの強力な発現を提供し、ＤＮＡまたはｍＲＮＡを送達することができる。実施形態では、表面または分離されたタンパク質をコードする核酸は、同時送達され得る（本明細書で提供される複合体の一部を形成する）。表面または分泌タンパク質は、エフェクター機能を増強し、有害作用を低減し、送達される受容体タンパク質（例えば、ＣＡＲ）の抑制を阻害し得る）。一態様では、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合した核酸を含む細胞透過性複合体が提供され、カチオン性両親媒性ポリマーは、ｐＨ感受性犠牲化ドメインおよび親油性ポリマードメインを含み、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有し、

$R^{1A}-[L^{1}-[(LP^{1})_{z1}-(LP^{2})_{z3}-(IM)_{z2}]_{z4}-L^{2}-R^{2A}]_{z5}$

式中、

R^{1A}は、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ$_3$、－ＣＢｒ$_3$、－ＣＦ$_3$、－ＣＩ$_3$、ＣＨＣｌ$_2$

、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、
－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）
ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－Ｏ
ＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２
、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換
アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置
換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もし
くは非置換ヘテロアリールであり、
Ｒ２Ａは、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２
、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、
－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）
ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－Ｏ
ＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２
、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換
アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置
換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もし
くは非置換ヘテロアリールであり、
Ｌ１およびＬ２は、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ
（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換も
しくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シ
クロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリ
ーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ１およびＬＰ２は、独立して、親油性ポリマードメインであり、ＩＭは、ｐＨ感受性
犠牲ドメインであり、ｚ５は、１～１０の整数であり、ｚ１およびｚ３は、独立して、０
～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３の少なくとも１つは、０でなく、ｚ４は、１～１
００の整数であり、ｚ２は、２～１００の整数である。

【０２７８】

上記の式の置換基は、出願全体を通して記載されているように定義されている。したがっ
て、本明細書の化合物の他の実施形態では、各置換もしくは非置換アルキルは、置換もし
くは非置換Ｃ１－Ｃ２０アルキルであり、各置換もしくは非置換ヘテロアルキルは、置換
もしくは非置換２～２０員ヘテロアルキルであり、各置換もしくは非置換シクロアルキル
は、置換もしくは非置換Ｃ３－Ｃ８シクロアルキルであり、各置換もしくは非置換ヘテロ
シクロアルキルは、置換もしくは非置換３～８員ヘテロシクロアルキルであり、各置換も
しくは非置換アリールは、置換もしくは非置換Ｃ６－Ｃ１０アリールであり、および／ま
たは各置換もしくは非置換ヘテロアリールは、置換もしくは非置換５～１０員ヘテロアリ
ールである。本明細書の化合物のいくつかの実施形態では、各置換もしくは非置換アルキ
レンは、置換もしくは非置換Ｃ１－Ｃ２０アルキレンであり、各置換もしくは非置換ヘテ
ロアルキレンは、置換もしくは非置換２～２０員ヘテロアルキレンであり、各置換もしく
は非置換シクロアルキレンは、置換もしくは非置換Ｃ３－Ｃ８シクロアルキレンであり、
各置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレンは、置換もしくは非置換３～８員ヘテロシ
クロアルキレンであり、各置換もしくは非置換アリーレンは、置換もしくは非置換Ｃ６－
Ｃ１０アリーレンであり、および／または各置換もしくは非置換ヘテロアリーレンは、置
換もしくは非置換５～１０員ヘテロアリーレンである。いくつかの実施形態では、化合物

は、以下の実施例の項、図、または表に記載の化学種である。

【０２７９】

いくつかの実施形態では、各置換もしくは非置換アルキルは、置換もしくは非置換Ｃ１－Ｃ８アルキルであり、各置換もしくは非置換ヘテロアルキルは、置換もしくは非置換２～８員ヘテロアルキルであり、各置換もしくは非置換シクロアルキルは、置換もしくは非置換Ｃ３－Ｃ７シクロアルキルであり、各置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキルは、置換もしくは非置換３～７員ヘテロシクロアルキルであり、各置換もしくは非置換アリールは、置換もしくは非置換Ｃ６－Ｃ１０アリールであり、および／または各置換もしくは非置換ヘテロアリールは、置換もしくは非置換５～９員ヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、各置換もしくは非置換アルキレンは、置換もしくは非置換Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、各置換もしくは非置換ヘテロアルキレンは、置換もしくは非置換２～８員ヘテロアルキレンであり、各置換もしくは非置換シクロアルキレンは、置換もしくは非置換Ｃ３－Ｃ７シクロアルキレンであり、各置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレンは、置換もしくは非置換３～７員ヘテロシクロアルキレンであり、各置換もしくは非置換アリーレンは、置換もしくは非置換Ｃ６－Ｃ１０アリーレンであり、および／または各置換もしくは非置換ヘテロアリーレンは、置換もしくは非置換５～９員ヘテロアリーレンである。いくつかの実施形態では、化合物は、以下の実施例の項、図、または表に記載の化学種である。

【０２８０】

Ｒ１Ａは、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

【０２８１】

Ｒ１Ａは、独立して、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、
－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、
－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、
－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、または－ＯＣＨ２Ｉ、または－ＯＣＨ２Ｆであり得る。実施形態では、Ｒ１Ａは、独立して、Ｒ１Ａ１置換もしくは非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ２０またはＣ１－Ｃ６）アルキル、Ｒ１Ａ１置換もしくは非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、Ｒ１Ａ１置換もしくは非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、Ｒ１Ａ１置換もしくは非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、Ｒ１Ａ１置換もしくは非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリール、またはＲ１Ａ１置換もしくは非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールである。

【０２８２】

Ｒ１Ａ１は、独立して、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３

、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、
－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、
－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、
－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、または－ＯＣＨ２Ｉ、または－ＯＣＨ２Ｆであり得る。実施形態では、Ｒ１Ａ１は、独立して、Ｒ１Ａ２置換もしくは非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ２０またはＣ１－Ｃ６）アルキル、Ｒ１Ａ２置換もしくは非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、Ｒ１Ａ２置換もしくは非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、Ｒ１Ａ２置換もしくは非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、Ｒ１Ａ２置換もしくは非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリール、またはＲ１Ａ２置換もしくは非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールである。

【０２８３】

Ｒ１Ａ２は、独立して、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、
－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、
－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、
－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、
－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、または－ＯＣＨ２Ｉ、または－ＯＣＨ２Ｆであり得る。実施形態では、Ｒ１Ａ２は、独立して、Ｒ１Ａ３置換もしくは非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ２０またはＣ１－Ｃ６）アルキル、Ｒ１Ａ３置換もしくは非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、Ｒ１Ａ３置換もしくは非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、Ｒ１Ａ３置換もしくは非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、Ｒ１Ａ３置換もしくは非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリール、またはＲ１Ａ３置換もしくは非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールである。

【０２８４】

Ｒ１Ａ３は、独立して、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、
－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、
－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、
－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、
－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、または－ＯＣＨ２Ｉ、または－ＯＣＨ２Ｆであり得る。実施形態では、Ｒ１Ａ３は、独立して、非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ２０またはＣ１－Ｃ６）アルキル、非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリール、または非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールである。

【０２８５】

Ｒ２Ａは、独立して、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、

ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、
－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、
－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、
－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、または－ＯＣＨ２Ｉ、または－ＯＣＨ２Ｆであり得る。実施形態では、Ｒ２Ａは、独立して、Ｒ２Ａ１置換もしくは非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ２０またはＣ１－Ｃ６）アルキル、Ｒ２Ａ１置換もしくは非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、Ｒ２Ａ１置換もしくは非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、Ｒ２Ａ１置換もしくは非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、Ｒ２Ａ１置換もしくは非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリール、またはＲ２Ａ１置換もしくは非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールである。

【０２８６】

Ｒ２Ａ１は、独立して、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、
－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、
－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、
－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、
－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、または－ＯＣＨ２Ｉ、または－ＯＣＨ２Ｆであり得る。実施形態では、Ｒ２Ａ１は、独立して、Ｒ２Ａ２置換もしくは非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ２０またはＣ１－Ｃ６）アルキル、Ｒ２Ａ２置換もしくは非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、Ｒ２Ａ２置換もしくは非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、Ｒ２Ａ２置換もしくは非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、Ｒ２Ａ２置換もしくは非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリール、またはＲ２Ａ２置換もしくは非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールである。

【０２８７】

Ｒ２Ａ２は、独立して、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、
－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、
－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、
－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、
－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、または－ＯＣＨ２Ｉ、または－ＯＣＨ２Ｆであり得る。実施形態では、Ｒ２Ａ２は、独立して、Ｒ２Ａ３置換もしくは非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ２０またはＣ１－Ｃ６）アルキル、Ｒ２Ａ３置換もしくは非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、Ｒ２Ａ３置換もしくは非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、Ｒ２Ａ３置換もしくは非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、Ｒ２Ａ３置換もしくは非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリール、またはＲ２Ａ３置換もしくは非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールである。

【０２８８】

Ｒ２Ａ３は、独立して、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、
－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、
－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、
－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、または－ＯＣＨ２Ｉ、または－ＯＣＨ２Ｆであり得る。実施形態では、Ｒ２Ａ３は、独立して、非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ２０またはＣ１－Ｃ６）アルキル、非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリール、または非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールである。

【０２８９】

Ｌ１は、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンである。実施形態では、Ｌ１は、非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ２０またはＣ１－Ｃ６）アルキレン、非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキルエン、非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキレン、非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキレン、非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリーレン、または非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリーレンである。実施形態では、Ｌ１は、ＲＬ１置換（例えば、Ｃ１－Ｃ２０またはＣ１－Ｃ６）アルキレン、ＲＬ１置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキルエン、ＲＬ１置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキレン、ＲＬ１置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキレン、ＲＬ１置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリーレン、またはＲＬ１置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリーレンである。ＲＬ１は、独立して、水素、ハロゲン、＝Ｏ、＝Ｓ、－ＣＦ３、－ＣＮ、－ＣＣｌ３、－ＣＯＯＨ、－
－ＣＨ２ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＯＨ、－ＳＨ、－ＳＯ２Ｃｌ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＯ２、－ＮＨ２、－
－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ＝（Ｏ）ＮＨＮＨ２、非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ２０またはＣ１－Ｃ６）アルキル、非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリール、または非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールであり得る。

【０２９０】

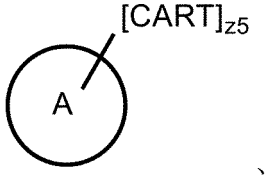
Ｌ２は、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンである。実施形態では、Ｌ２は、非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ２０またはＣ１－Ｃ６）アルキレン、非置換（例えば、２～２０

員または２～６員）ヘテロアルキルエン、非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキレン、非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキレン、非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリーレン、または非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリーレンである。実施形態では、Ｌ２は、ＲＬ２置換（例えば、Ｃ１－Ｃ２０またはＣ１－Ｃ６）アルキレン、ＲＬ２置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキルエン、ＲＬ２置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキレン、ＲＬ２置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキレン、ＲＬ２置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリーレン、またはＲＬ２置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリーレンである。ＲＬ２は、独立して、水素、ハロゲン、＝Ｏ、＝Ｓ、－ＣＦ３、－ＣＮ、－ＣＣｌ３、－ＣＯＯＨ、－
－ＣＨ２ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＯＨ、－ＳＨ、－ＳＯ２Ｃｌ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＯ２、－ＮＨ２、－
－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ＝（Ｏ）ＮＨＮＨ２、非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ２０またはＣ１－Ｃ６）アルキル、非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリール、または非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールであり得る。

【０２９１】

実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有し、

【化４６】



、

式中、環Ａは、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、ＣＡＲＴは、式：－Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＬＰ２）ｚ３－（ＩＭ）ｚ２］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａを有し、Ｒ２Ａは、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、Ｌ１およびＬ２は、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、ＬＰ１およびＬＰ２は、独立して、親油性ポリマードメインであり、ＩＭは、ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、ｚ５は、１～１０の整数であり、ｚ１およびｚ３は、独立して、０～１００の整数であり、ｚ

１またはｚ３のうちの少なくとも１つは、０ではなく、ｚ４は、１～１００の整数であり、ｚ２は、２～１００の整数である。

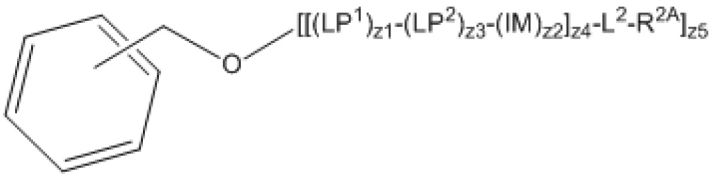
【０２９２】

実施形態では、環Ａは、置換または非置換アリールである。実施形態では、環Ａは、置換または非置換フェニルである。実施形態では、環Ａは、置換または非置換アリールである。実施形態では、環Ａは、置換または非置換フェニルまたはナフタレニルである。

【０２９３】

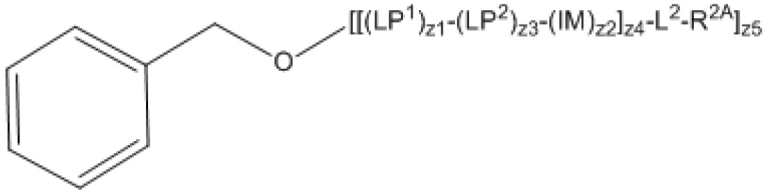
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有する。

【化４７】



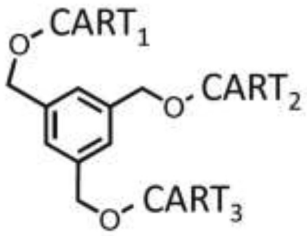
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有する。

【化４８】



実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有し

【化４９】



、

ＣＡＲＴ１、ＣＡＲＴ２、およびＣＡＲＴ３は、独立して、本明細書で定義されるようなＣＡＲＴである。

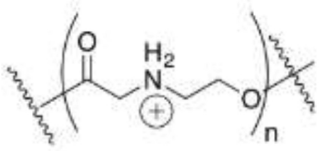
【０２９４】

実施形態では、ｚ５は、１～３の整数である。実施形態では、ｚ５は、１または３である。実施形態では、ｚ５は、１である。実施形態では、ｚ５は、３である。実施形態では、Ｒ２Ａは、水素である。実施形態では、Ｌ２は、結合である。

【０２９５】

実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、以下の式を有し、

【化５０】



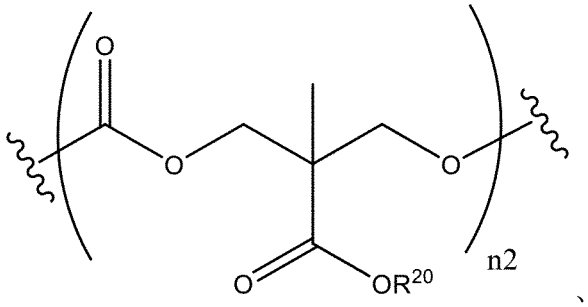
（ＩＶ）

式中、ｎは、２以上の整数である。実施形態では、ｎは、２～５０の範囲の整数である。実施形態では、ｎは、７である。

【０２９６】

実施形態では、親油性ポリマードメインは、以下の式を有し、

【化５１】



、

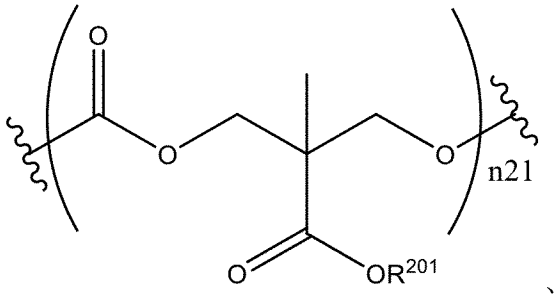
式中、ｎ２は、１～１００の整数であり、

Ｒ２０は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

【０２９７】

実施形態では、ＬＰ１は、以下の式を有し、

【化５２】



、

式中、ｎ２１は、１～１００の整数であり、

Ｒ２０１は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

【０２９８】

実施形態では、Ｒ２０１は、独立して、Ｒ２０１Ａ置換もしくは非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ３０またはＣ１－Ｃ６）アルキル、Ｒ２０１Ａ置換もしくは非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、Ｒ２０１Ａ置換もしくは非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、Ｒ２０１Ａ置換もしくは非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、Ｒ２０１Ａ置換もしくは非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリール、またはＲ２０１Ａ置換もしくは非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールである。

【０２９９】

実施形態では、Ｒ２０１Ａは、Ｒ２０１Ｂ置換もしくは非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ３０もしくはＣ１－Ｃ６）アルキル、Ｒ２０１Ｂ置換もしくは非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、Ｒ２０１Ｂ置換もしくは非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８もしくはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、Ｒ２０１Ｂ置換もしくは非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、Ｒ２０１Ｂ置換もしくは非置換（例えば、Ｃ５－

Ｃ１０もしくはＣ５－Ｃ６）アリール、またはＲ２０１Ｂ置換もしくは非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールである。

【０３００】

実施形態では、Ｒ２０１Ｂは、独立して、非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ３０またはＣ１－Ｃ６）アルキル、非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリール、または非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールである。

【０３０１】

実施形態では、ｎ２１は、５であり、Ｒ２０１は、非置換Ｃ１８アルケニルである。実施形態では、非置換Ｃ１８アルケニルは、オレイルである。

【０３０２】

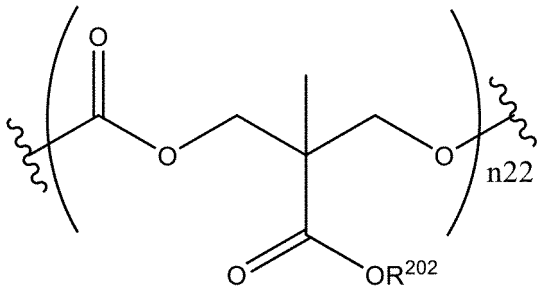
実施形態では、ｎ２１は、０～１００の整数である。実施形態では、ｎ２１は、０～９０の整数である。実施形態では、ｎ２１は、０～８０の整数である。実施形態では、ｎ２１は、０～７０の整数である。実施形態では、ｎ２１は、０～６０の整数である。実施形態では、ｎ２１は、０～５０の整数である。実施形態では、ｎ２１は、０～４０の整数である。実施形態では、ｎ２１は、０～３０の整数である。実施形態では、ｎ２１は、０～２０の整数である。実施形態では、ｎ２１は、または０～１０の整数である。実施形態では、ｎ２１は、５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２１は、１５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２１は、２５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２１は、３５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２１は、４５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２１は、５５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２１は、６５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２１は、７５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２１は、８５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２１は、９５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２１は、０である。実施形態では、ｎ２１は、１である。実施形態では、ｎ２１は、２である。実施形態では、ｎ２１は、３である。実施形態では、ｎ２１は、４である。実施形態では、ｎ２１は、５である。実施形態では、ｎ２１は、６である。実施形態では、ｎ２１は、７である。実施形態では、ｎ２１は、８である。実施形態では、ｎ２１は、９である。実施形態では、ｎ２１は、１０である。実施形態では、ｎ２１は、１１である。実施形態では、ｎ２１は、１２である。実施形態では、ｎ２１は、１３である。実施形態では、ｎ２１は、１４である。実施形態では、ｎ２１は、１５である。実施形態では、ｎ２１は、１６である。実施形態では、ｎ２１は、１７である。実施形態では、ｎ２１は、１８である。実施形態では、ｎ２１は、１９である。実施形態では、ｎ２１は、２０である。実施形態では、ｎ２１は、２１である。実施形態では、ｎ２１は、２２である。実施形態では、ｎ２１は、２３である。実施形態では、ｎ２１は、２４である。実施形態では、ｎ２１は、２５である。実施形態では、ｎ２１は、２６である。実施形態では、ｎ２１は、２７である。実施形態では、ｎ２１は、２８である。実施形態では、ｎ２１は、２９である。実施形態では、ｎ２１は、３０である。実施形態では、ｎ２１は、３１である。実施形態では、ｎ２１は、３２である。実施形態では、ｎ２１は、３３である。実施形態では、ｎ２１は、３４である。実施形態では、ｎ２１は、３５である。実施形態では、ｎ２１は、３６である。実施形態では、ｎ２１は、３７である。実施形態では、ｎ２１は、３８である。実施形態では、ｎ２１は、３９である。実施形態では、ｎ２１は、４０である。実施形態では、ｎ２１は、４１である。実施形態では、ｎ２１は、４２である。実施形態では、ｎ２１は、４３である。実施形態では、ｎ２１は、４４である。実施形態では、ｎ２１は、４５である。実施形態では、ｎ２１は、４６である。実施形態では、ｎ２１は、４７である。実施形態では、ｎ２１は、４８である。実施形態では、ｎ２１は、４９である。実施形態では、ｎ２１は、５０である。実施形態では、ｎ２１は、５１である。実施形態では、ｎ２１は、５２である。実施形態では、ｎ２１は、５３である。実施形態では、ｎ２１は、５４である。実施形態では、ｎ２１は、５５である。実施形態では、ｎ２１は、５６である。実施形態では、ｎ２１は、５７である。実施形

態では、ｎ２１は、５８である。実施形態では、ｎ２１は、５９である。実施形態では、ｎ２１は、６０である。実施形態では、ｎ２１は、６１である。実施形態では、ｎ２１は、６２である。実施形態では、ｎ２１は、６３である。実施形態では、ｎ２１は、６４である。実施形態では、ｎ２１は、６５である。実施形態では、ｎ２１は、６６である。実施形態では、ｎ２１は、６７である。実施形態では、ｎ２１は、６８である。実施形態では、ｎ２１は、６９である。実施形態では、ｎ２１は、７０である。実施形態では、ｎ２１は、７１である。実施形態では、ｎ２１は、７２である。実施形態では、ｎ２１は、７３である。実施形態では、ｎ２１は、７４である。実施形態では、ｎ２１は、７５である。実施形態では、ｎ２１は、７６である。実施形態では、ｎ２１は、７７である。実施形態では、ｎ２１は、７８である。実施形態では、ｎ２１は、７９である。実施形態では、ｎ２１は、８０である。実施形態では、ｎ２１は、８１である。実施形態では、ｎ２１は、８２である。実施形態では、ｎ２１は、８３である。実施形態では、ｎ２１は、８４である。実施形態では、ｎ２１は、８５である。実施形態では、ｎ２１は、８６である。実施形態では、ｎ２１は、８７である。実施形態では、ｎ２１は、８８である。実施形態では、ｎ２１は、８９である。実施形態では、ｎ２１は、９０である。実施形態では、ｎ２１は、９１である。実施形態では、ｎ２１は、９２である。実施形態では、ｎ２１は、９３である。実施形態では、ｎ２１は、９４である。実施形態では、ｎ２１は、９５である。実施形態では、ｎ２１は、９６である。実施形態では、ｎ２１は、９７である。実施形態では、ｎ２１は、９８である。実施形態では、ｎ２１は、９９である。実施形態では、ｎ２１は、１００である。

【０３０３】

実施形態では、ＬＰ２は、以下の式を有し、

【化５３】



、

式中、ｎ２２は、１～１００の整数であり、Ｒ２０２は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、ｎ２２は、５であり、Ｒ２０２は、非置換Ｃ９アルケニルである。実施形態では、非置換Ｃ９アルケニルは、ノネニルである。

【０３０４】

実施形態では、Ｒ２０２は、独立して、Ｒ２０２Ａ置換もしくは非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ３０またはＣ１－Ｃ６）アルキル、Ｒ２０２Ａ置換もしくは非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、Ｒ２０２Ａ置換もしくは非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、Ｒ２０２Ａ置換もしくは非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、Ｒ２０２Ａ置換もしくは非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリール、またはＲ２０２Ａ置換もしくは非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールである。

【０３０５】

実施形態では、Ｒ２０２Ａは、独立して、Ｒ２０２Ｂ置換もしくは非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ３０またはＣ１－Ｃ６）アルキル、Ｒ２０２Ｂ置換もしくは非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、Ｒ２０２Ｂ置換もしくは非置換（例えば、Ｃ３－

Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、Ｒ２０２Ｂ置換もしくは非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、Ｒ２０２Ｂ置換もしくは非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリール、またはＲ２０２Ｂ置換もしくは非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールである。

【０３０６】

実施形態では、Ｒ２０２Ｂは、独立して、非置換（例えば、Ｃ１－Ｃ３０またはＣ１－Ｃ６）アルキル、非置換（例えば、２～２０員または２～６員）ヘテロアルキル、非置換（例えば、Ｃ３－Ｃ８またはＣ５－Ｃ７）シクロアルキル、非置換（例えば、３～８員または３～６員）ヘテロシクロアルキル、非置換（例えば、Ｃ５－Ｃ１０またはＣ５－Ｃ６）アリール、または非置換（例えば、５～１０員または５～６員）ヘテロアリールである。

【０３０７】

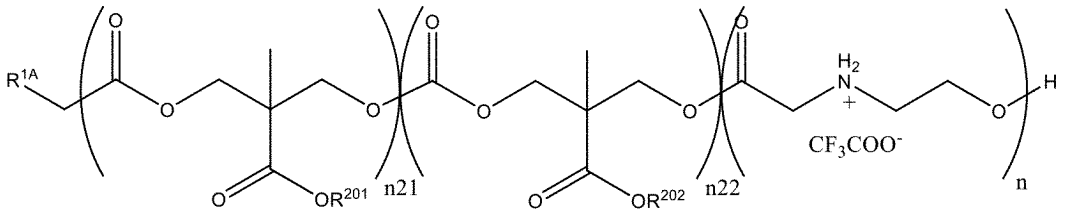
実施形態では、ｎ２２は、０～１００の整数である。実施形態では、ｎ２２は、０～９０の整数である。実施形態では、ｎ２２は、０～８０の整数である。実施形態では、ｎ２２は、０～７０の整数である。実施形態では、ｎ２２は、０～６０の整数である。実施形態では、ｎ２２は、０～５０の整数である。実施形態では、ｎ２２は、０～４０の整数である。実施形態では、ｎ２２は、０～３０の整数である。実施形態では、ｎ２２は、０～２０の整数である。実施形態では、ｎ２２は、または０～１０の整数である。実施形態では、ｎ２２は、５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２２は、１５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２２は、２５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２２は、３５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２２は、４５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２２は、５５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２２は、６５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２２は、７５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２２は、８５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２２は、９５～１００の整数である。実施形態では、ｎ２２は、０である。実施形態では、ｎ２２は、１である。実施形態では、ｎ２２は、２である。実施形態では、ｎ２２は、３である。実施形態では、ｎ２２は、４である。実施形態では、ｎ２２は、５である。実施形態では、ｎ２２は、６である。実施形態では、ｎ２２は、７である。実施形態では、ｎ２２は、８である。実施形態では、ｎ２２は、９である。実施形態では、ｎ２２は、１０である。実施形態では、ｎ２２は、１１である。実施形態では、ｎ２２は、１２である。実施形態では、ｎ２２は、１３である。実施形態では、ｎ２２は、１４である。実施形態では、ｎ２２は、１５である。実施形態では、ｎ２２は、１６である。実施形態では、ｎ２２は、１７である。実施形態では、ｎ２２は、１８である。実施形態では、ｎ２２は、１９である。実施形態では、ｎ２２は、２０である。実施形態では、ｎ２２は、２１である。実施形態では、ｎ２２は、２２である。実施形態では、ｎ２２は、２３である。実施形態では、ｎ２２は、２４である。実施形態では、ｎ２２は、２５である。実施形態では、ｎ２２は、２６である。実施形態では、ｎ２２は、２７である。実施形態では、ｎ２２は、２８である。実施形態では、ｎ２２は、２９である。実施形態では、ｎ２２は、３０である。実施形態では、ｎ２２は、３１である。実施形態では、ｎ２２は、３２である。実施形態では、ｎ２２は、３３である。実施形態では、ｎ２２は、３４である。実施形態では、ｎ２２は、３５である。実施形態では、ｎ２２は、３６である。実施形態では、ｎ２２は、３７である。実施形態では、ｎ２２は、３８である。実施形態では、ｎ２２は、３９である。実施形態では、ｎ２２は、４０である。実施形態では、ｎ２２は、４１である。実施形態では、ｎ２２は、４２である。実施形態では、ｎ２２は、４３である。実施形態では、ｎ２２は、４４である。実施形態では、ｎ２２は、４５である。実施形態では、ｎ２２は、４６である。実施形態では、ｎ２２は、４７である。実施形態では、ｎ２２は、４８である。実施形態では、ｎ２２は、４９である。実施形態では、ｎ２２は、５０である。実施形態では、ｎ２２は、５１である。実施形態では、ｎ２２は、５２である。実施形態では、ｎ２２は、５３である。実施形態では、ｎ２２は、５４である。実施形態では、ｎ２２は、５５である。実施形態では、ｎ２２は、５６である。実施形態では、ｎ２２は、５７である。実施形態では、ｎ２２は、５８である。実施形態では、ｎ２２は、５９である。実施形態では、

ｎ２２は、６０である。実施形態では、ｎ２２は、６１である。実施形態では、ｎ２２は、６２である。実施形態では、ｎ２２は、６３である。実施形態では、ｎ２２は、６４である。実施形態では、ｎ２２は、６５である。実施形態では、ｎ２２は、６６である。実施形態では、ｎ２２は、６７である。実施形態では、ｎ２２は、６８である。実施形態では、ｎ２２は、６９である。実施形態では、ｎ２２は、７０である。実施形態では、ｎ２２は、７１である。実施形態では、ｎ２２は、７２である。実施形態では、ｎ２２は、７３である。実施形態では、ｎ２２は、７４である。実施形態では、ｎ２２は、７５である。実施形態では、ｎ２２は、７６である。実施形態では、ｎ２２は、７７である。実施形態では、ｎ２２は、７８である。実施形態では、ｎ２２は、７９である。実施形態では、ｎ２２は、８０である。実施形態では、ｎ２２は、８１である。実施形態では、ｎ２２は、８２である。実施形態では、ｎ２２は、８３である。実施形態では、ｎ２２は、８４である。実施形態では、ｎ２２は、８５である。実施形態では、ｎ２２は、８６である。実施形態では、ｎ２２は、８７である。実施形態では、ｎ２２は、８８である。実施形態では、ｎ２２は、８９である。実施形態では、ｎ２２は、９０である。実施形態では、ｎ２２は、９１である。実施形態では、ｎ２２は、９２である。実施形態では、ｎ２２は、９３である。実施形態では、ｎ２２は、９４である。実施形態では、ｎ２２は、９５である。実施形態では、ｎ２２は、９６である。実施形態では、ｎ２２は、９７である。実施形態では、ｎ２２は、９８である。実施形態では、ｎ２２は、９９である。実施形態では、ｎ２２は、１００である。

【０３０８】

実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有し、

【化５４】



式中、ｎ２１が、５であり、Ｒ２０１が、オレイルであり、ｎ２２が、５であり、Ｒ２０２が、ノネニルであり、ｎが、７である。

【０３０９】

実施形態では、核酸は、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、ショートヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）、ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）、トランス活性化ＲＮＡ（ｔｒａｃｒＲＮＡ）、プラスミドＤＮＡ（ｐＤＮＡ）、ミニサークルＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ（ｇＮＤＡ）である。実施形態では、核酸は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする配列を含む。

【０３１０】

一態様では、その実施形態を含む、本明細書で提供されるような複数の細胞透過性複合体を含むナノ粒子組成物が提供される。

【０３１１】

一態様では、その実施形態を含む、本明細書で提供されるような複合体を含む薬学的組成物および薬学的に許容される担体が提供される。

【０３１２】

一態様では、核酸を細胞にトランスフェクトする方法が提供され、その方法は、その実施形態を含む、本明細書で提供されるような複合体と細胞を接触させることを含む。

【０３１３】

実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、細胞内で分解することができ、それによって分解産物を形成する。実施形態では、分解産物は、置換または非置換ジケトピペラジ

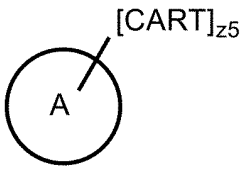
ンである。
【０３１４】
実施形態では、核酸は、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）をコードするＣＡＲを含む。
【０３１５】
実施形態では、この方法は、ｍＲＮＡが細胞内で発現されることを可能にすることをさらに含む。実施形態では、細胞は、真核細胞である。実施形態では、細胞は、哺乳動物またはヒト細胞である。実施形態では、細胞は、生物の一部を形成する。実施形態では、生物は、ヒトである。実施形態では、細胞は、リンパ系細胞または骨髄系細胞である。実施形態では、細胞は、Ｔ細胞である。実施形態では、細胞は、骨髄系細胞である。
【０３１６】
一態様では、免疫応答の誘導を必要とする対象においてそれを誘導する方法、その実施形態を含む、有効量の本明細書で提供される複合体を投与することを含む方法が提供される。実施形態では、免疫応答は、抗癌免疫応答である。
【０３１７】
一態様では、癌の治療を必要とする対象においてそれを治療する方法が提供される。この方法は、その実施形態を含む、本明細書で提供される有効量の複合体を投与することを含む。実施形態では、投与は、静脈内注射または皮下注射を含む。
【０３１８】
一態様では、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする核酸を細胞にトランスフェクトする方法が提供される。この方法は、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合した核酸を含む細胞透過性複合体、ｐＨ感受性犠牲ドメインおよび親油性ポリマードメインを含むカチオン性両親媒性ポリマー、ならびにキメラ抗原受容体をコードする配列を含む核酸と細胞を接触させることを含む。
【０３１９】
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有し、
$R^{1A}-[L^{1}-[(LP^{1})_{z1}-(IM)_{z2}-(LP^{2})_{z3}]_{z4}-L^{2}-R^{2A}]_{z5}$
式中、
R^{1A}は、水素、ハロゲン、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、
$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、$-CN$、$-OH$、$-NH_2$、$-COOH$、$-CONH_2$、$-NO_2$、$-SH$、
$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、$-NHC(O)NHNH_2$、$-NHC(O)NH_2$、$-NHSO_2H$、
$-NHC(O)H$、$-NHC(O)OH$、$-NHOH$、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、$-OCHF_2$、$-OCH_2Cl$、$-OCH_2Br$、$-OCH_2I$、$-OCH_2F$、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
R^{2A}は、水素、ハロゲン、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、
$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、$-CN$、$-OH$、$-NH_2$、$-COOH$、$-CONH_2$、$-NO_2$、$-SH$、
$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、$-NHC(O)NHNH_2$、$-NHC(O)NH_2$、$-NHSO_2H$、
$-NHC(O)H$、$-NHC(O)OH$、$-NHOH$、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、$-OCHF_2$、$-OCH_2Cl$、$-OCH_2Br$、$-OCH_2I$、$-OCH_2F$、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置

換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
L^1およびL^2は、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
LP^1およびLP^2は、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、LP^1またはLP^2のうちの少なくとも１つは、親油性ポリマードメインであり、ＩＭは、ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、ｚ５は、１～１００の整数であり、ｚ１およびｚ３は、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３の少なくとも１つは、０でなく、ｚ４は、１～１００の整数であり、ｚ２は、２～１００の整数である。

【０３２０】

実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有し、

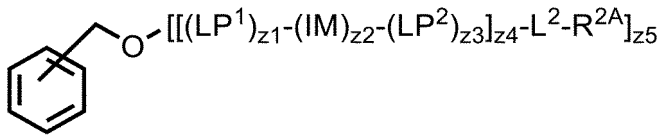
【化５５】



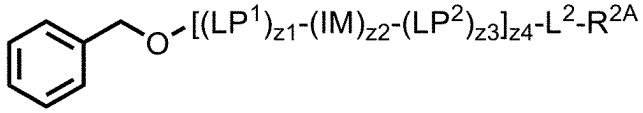
、

式中、環Ａは、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、ＣＡＲＴは、式：－L^1－［（LP^1）$_{z1}$－（ＩＭ）$_{z2}$－（LP^2）$_{z3}$］$_{z4}$－L^2－R^{2A}を有し、
式中、
R^{2A}は、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ$_3$、－ＣＢｒ$_3$、－ＣＦ$_3$、－ＣＩ$_3$、ＣＨＣｌ$_2$、－ＣＨＢｒ$_2$、－ＣＨＦ$_2$、
－ＣＨＩ$_2$、－ＣＨ$_2$Ｃｌ、－ＣＨ$_2$Ｂｒ、－ＣＨ$_2$Ｆ、－ＣＨ$_2$Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ$_2$、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ$_2$、－ＮＯ$_2$、－ＳＨ、
－ＳＯ$_3$Ｈ、－ＳＯ$_4$Ｈ、－ＳＯ$_2$ＮＨ$_2$、－ＮＨＮＨ$_2$、－ＯＮＨ$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ$_2$、－ＮＨＳＯ$_2$Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ$_3$、－ＯＣＦ$_3$、－ＯＣＢｒ$_3$、－ＯＣＩ$_3$、－ＯＣＨＣｌ$_2$、－ＯＣＨＢｒ$_2$、－ＯＣＨＩ$_2$、－ＯＣＨＦ$_2$、－ＯＣＨ$_2$Ｃｌ、－ＯＣＨ$_2$Ｂｒ、－ＯＣＨ$_2$Ｉ、－ＯＣＨ$_2$Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
L^1およびL^2は、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
LP^1およびLP^2は、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、LP^1またはLP^2のうちの少なくとも１つは、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭは、ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、ｚ５は、１～１００の整数であり、ｚ１およびｚ３は、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つは、０ではなく、ｚ４は、１～１００の整数であり、ｚ２は、２～１００の整数である。

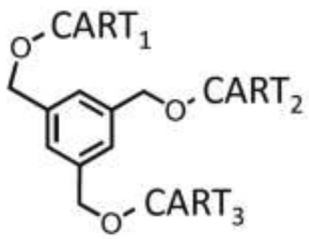
【０３２１】
実施形態では、環Ａは、置換または非置換アリールである。実施形態では、環Ａは、置換または非置換フェニルである。実施形態では、環Ａは、置換または非置換アリールである。実施形態では、環Ａは、置換または非置換フェニルまたはナフタレニルである。実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有する。
【化５６】



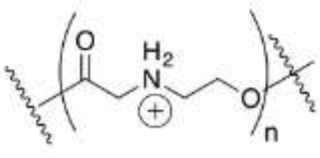
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有する。
【化５７】



実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有し、
【化５８】



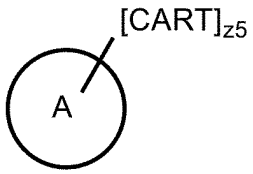
式中、ＣＡＲＴ１、ＣＡＲＴ２、およびＣＡＲＴ３は、独立して、本明細書で定義されるようなＣＡＲＴである。
【０３２２】
実施形態では、Ｌ１は、－ＣＨ２－Ｏ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンである。
【０３２３】
実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、以下の式を有し、
【化５９】



（ＩＶ）

式中、ｎは、２以上の整数である。
【０３２４】
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有し、
Ｒ１Ａ－［Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＬＰ２）ｚ３－（ＩＭ）ｚ２］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａ］ｚ５
式中、
Ｒ１Ａは、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２

、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、
－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）
ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－Ｏ
ＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２
、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換
アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置
換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もし
くは非置換ヘテロアリールであり、
Ｒ２Ａは、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２
、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、
－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）
ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－Ｏ
ＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２
、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換
アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置
換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もし
くは非置換ヘテロアリールであり、
Ｌ１およびＬ２は、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ
（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換も
しくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シ
クロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリ
ーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ１およびＬＰ２は、独立して、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭは、ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、ｚ５は、１～１０の整数であり、ｚ１およびｚ
３は、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つは、
０ではなく、ｚ４は、１～１００の整数であり、ｚ２は、２～１００の整数である。
【０３２５】
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有し、
【化６０】



式中、環Ａは、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロア
ルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり
、
ＣＡＲＴは、式：－Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＬＰ２）ｚ３－（ＩＭ）ｚ２］ｚ４－Ｌ
２－Ｒ２Ａを有し、
式中、
Ｒ２Ａは、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２
、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、

－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、

Ｌ１およびＬ２は、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、ＬＰ１およびＬＰ２は、独立して、親油性ポリマードメインであり、

ＩＭは、ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、ｚ５は、１～１０の整数であり、ｚ１およびｚ３は、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つは、０ではなく、ｚ４は、１～１００の整数であり、ｚ２は、２～１００の整数である。

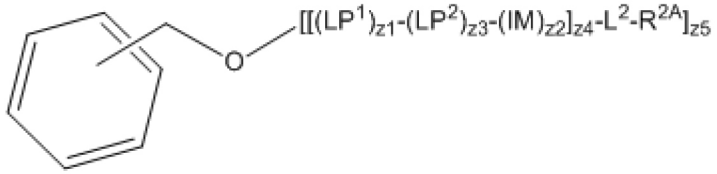
【０３２６】

実施形態では、環Ａは、置換または非置換アリールである。実施形態では、環Ａは、置換または非置換フェニルである。実施形態では、環Ａは、置換または非置換アリールである。実施形態では、環Ａは、置換または非置換フェニルまたはナフタレニルである。

【０３２７】

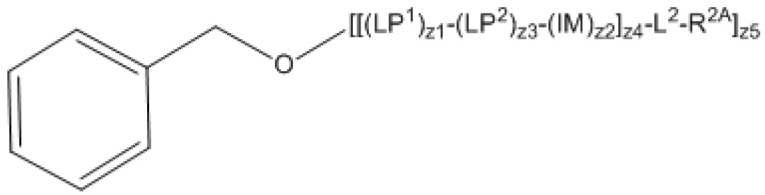
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有する。

【化６１】



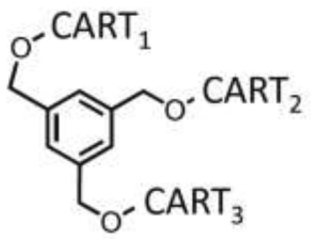
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有する。

【化６２】



実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有し、

【化６３】



式中、ＣＡＲＴ１、ＣＡＲＴ２、およびＣＡＲＴ３は、独立して、本明細書で定義されるようなＣＡＲＴである。

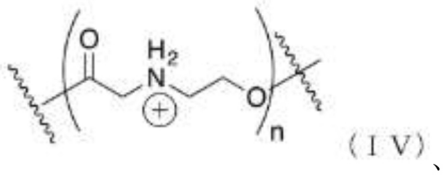
【０３２８】

実施形態では、ｚ５は、１～３の整数である。実施形態では、ｚ５は、１または３である。実施形態では、ｚ５は、１である。実施形態では、ｚ５は、３である。実施形態では、Ｒ２Ａは、水素である。実施形態では、Ｌ２は、結合である。

【０３２９】

実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、以下の式を有し、

【化６４】



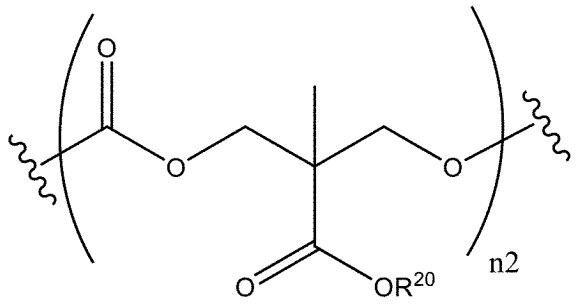
（ＩＶ）、

式中、ｎは、２以上の整数である。実施形態では、ｎは、２～５０の範囲の整数である。実施形態では、ｎは、７である。

【０３３０】

実施形態では、親油性ポリマードメインは、以下の式を有し、

【化６５】

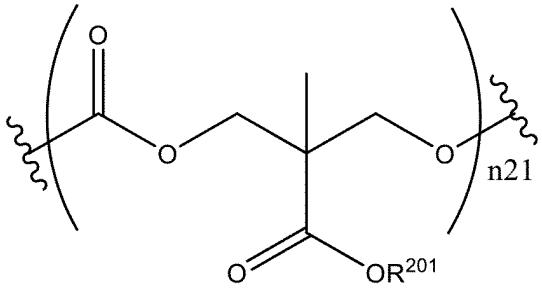


式中、ｎ２は、１～１００の整数であり、Ｒ２０は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

【０３３１】

実施形態では、ＬＰ１は、以下の式を有し、

【化６６】

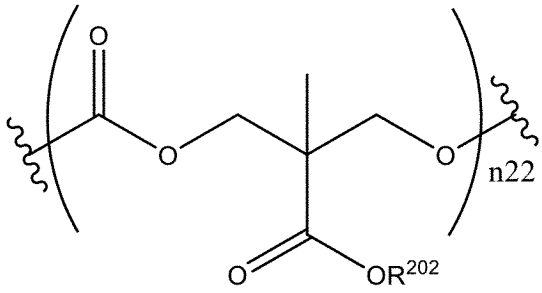


式中、ｎ２１は、０～１００の整数であり、Ｒ２０１は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、ｎ２１は、５であり、Ｒ２０１は、非置換Ｃ１８アルケニルである。

【０３３２】

実施形態では、ＬＰ２は、以下の式を有し、

【化６７】



、

式中、ｎ２２は、１～１００の整数であり、Ｒ２０２は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

【０３３３】

実施形態では、ｎ２２は、５であり、Ｒ２０２は、非置換Ｃ９アルケニルである。

【０３３４】

実施形態では、細胞は、真核細胞である。実施形態では、細胞は、哺乳動物またはヒト細胞である。実施形態では、細胞は、生物の一部を形成する。実施形態では、生物は、ヒトである。実施形態では、細胞は、リンパ系細胞または骨髄系細胞である。実施形態では、細胞は、Ｔ細胞である。実施形態では、細胞は、骨髄系細胞である。

【０３３５】

一態様では、カチオン性両親媒性ポリマーが提供される。カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有し、

Ｒ１Ａ－［Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＬＰ２）ｚ３－（ＩＭ）ｚ２］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａ］ｚ５

式中、

Ｒ１Ａは、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、

－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、

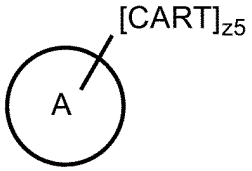
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）

ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
Ｒ２Ａは、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、
－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
Ｌ１およびＬ２は、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ１およびＬＰ２は、独立して、親油性ポリマードメインであり、ＩＭは、ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、ｚ５は、１～１０の整数であり、ｚ１およびｚ３は、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３の少なくとも１つは、０でなく、ｚ４は、１～１００の整数であり、ｚ２は、２～１００の整数である。

【０３３６】

実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有し、

【化６８】



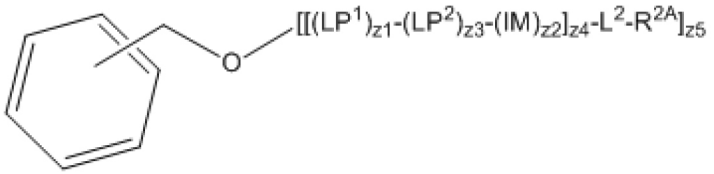
式中、
環Ａは、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、ＣＡＲＴは、式：－Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＬＰ２）ｚ３－（ＩＭ）ｚ２］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａを有し、
式中、
Ｒ２Ａは、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、
－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、

－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
Ｌ１およびＬ２は、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ１およびＬＰ２は、独立して、親油性ポリマードメインであり、ＩＭは、ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、ｚ５は、１～１０の整数であり、ｚ１およびｚ３は、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３の少なくとも１つは、０でなく、ｚ４は、１～１００の整数であり、ｚ２は、２～１００の整数である。実施形態では、環Ａは、置換または非置換アリールである。実施形態では、環Ａは、置換または非置換フェニルである。実施形態では、環Ａは、置換または非置換アリールである。実施形態では、環Ａは、置換または非置換フェニルまたはナフタレニルである。

【０３３７】

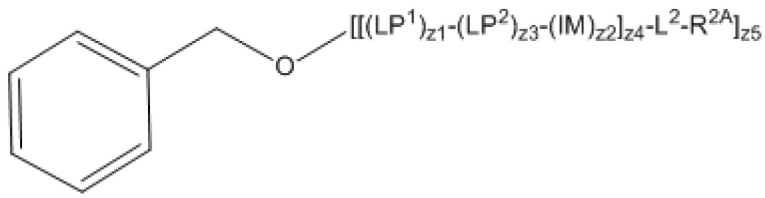
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有する。

【化６９】



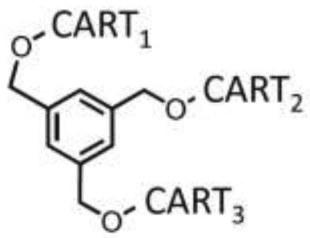
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有する。

【化７０】



実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有し、

【化７１】



式中、ＣＡＲＴ１、ＣＡＲＴ２、およびＣＡＲＴ３は、独立して、本明細書で定義されるようなＣＡＲＴである。

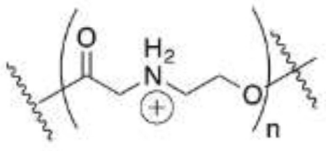
【０３３８】

実施形態では、ｚ５は、１～３の整数である。実施形態では、ｚ５は、１または３である。実施形態では、ｚ５は、１である。実施形態では、ｚ５は、３である。実施形態では、Ｒ２Ａは、水素である。実施形態では、Ｌ２は、結合である。

【０３３９】

実施形態では、ｐＨ感受性犠牲ドメインは、以下の式を有し、

【化７２】



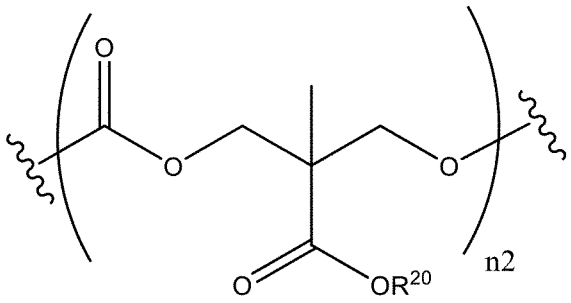
（ＩＶ）、

式中、ｎは、２以上の整数である。実施形態では、ｎは、２～５０の範囲の整数である。実施形態では、ｎは、７である。

【０３４０】

実施形態では、親油性ポリマードメインは、以下の式を有し、

【化７３】

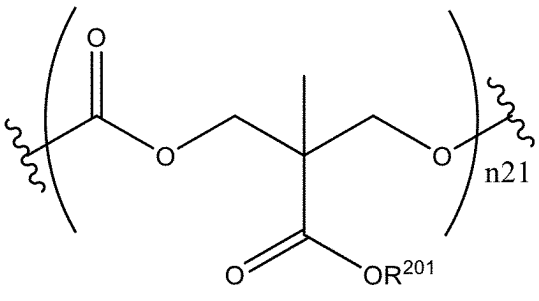


式中、ｎ２は、１～１００の整数であり、Ｒ２０は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

【０３４１】

実施形態では、ＬＰ１は、以下の式を有し、

【化７４】



、

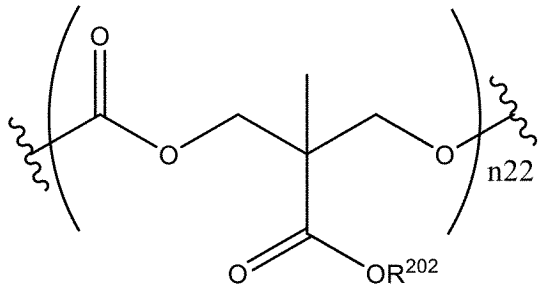
式中、ｎ２１は、１～１００の整数であり、

Ｒ２０１は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。

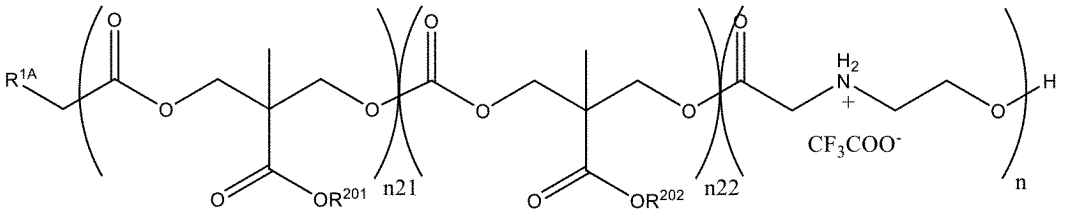
【０３４２】

実施形態では、ｎ２１は、５であり、Ｒ２０１は、非置換Ｃ１８アルケニルである。実施形態では、非置換Ｃ１８アルケニルは、オレイルである。

【０３４３】
実施形態では、ＬＰ２は、以下の式を有し、
【化７５】



式中ｎ２２は、１～１００の整数であり、
Ｒ２０２は、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである。実施形態では、ｎ２２は、５であり、Ｒ２０２は、非置換Ｃ９アルケニルである。実施形態では、非置換Ｃ９アルケニルは、ノネニルである。
【０３４４】
実施形態では、カチオン性両親媒性ポリマーは、以下の式を有し、
【化７６】



式中、ｎ２１が、５であり、Ｒ２０１が、オレイルであり、ｎ２２が、５であり、Ｒ２０２が、ノネニルであり、ｎが、７である。
【０３４５】
一態様では、受容体タンパク質をコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする方法が提供される。この方法は、化合物に結合した受容体タンパク質をコードする核酸を含む細胞透過性複合体を対象に投与することを含み、化合物が、細胞への送達時に分解し、それによって受容体タンパク質をコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする。本明細書で称される「受容体タンパク質」は、その表面上の細胞によって発現され、リガンドに結合することができるタンパク質である。受容体タンパク質の非制限的な例としては、キメラ抗原受容体、Ｔ細胞受容体、Ｂ細胞受容体、成長因子受容体、およびサイトカイン受容体が挙げられる。実施形態では、受容体タンパク質は、キメラ抗原受容体である。実施形態では、受容体タンパク質は、Ｔ細胞受容体である。実施形態では、受容体タンパク質は、抗体である。実施形態では、受容体タンパク質は、抗ＩＬ１０である。実施形態では、受容体タンパク質は、抗ＰＤ１である。実施形態では、受容体タンパク質は、抗ＰＤＬ１である。実施形態では、受容体タンパク質は、抗ＴＧＦベータである。実施形態では、受容体タンパク質は、抗ＴＮＦアルファである。実施形態では、受容体タンパク質は、抗ＩＬ－６である。
【０３４６】
一態様では、分泌タンパク質をコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする方法が提供される。この方法は、化合物に結合した分泌タンパク質をコードする核酸を含む細胞透過性複合体を対象に投与することを含み、化合物が、細胞への送達時に分解し、それによって分泌タンパク質をコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする。本明細

書で称される「分泌タンパク質」は、細胞によってその細胞外環境に分泌されるタンパク質である。分泌タンパク質の非制限的な例としては、成長因子またはサイトカインが挙げられる。実施形態では、分泌タンパク質は、インターロイキンである。実施形態では、分泌タンパク質は、ＩＬ－１２である。実施形態では、分泌タンパク質は、ＩＬ－１５である。実施形態では、分泌タンパク質は、ＩＬ－１８である。実施形態では、分泌タンパク質は、ＩＬ－３である。実施形態では、分泌タンパク質は、ＩＬ－２１である。実施形態では、分泌タンパク質は、ＩＬ－７である。実施形態では、分泌タンパク質は、ＩＬ－９である。実施形態では、分泌タンパク質は、ＩＦＮｇである。実施形態では、分泌タンパク質は、ＩＬ－１Ｒアンタゴニストである。

【０３４７】

別の態様では、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）をコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする方法が提供される。この方法は、化合物に結合したＴＣＲをコードする核酸を含む細胞透過性複合体を対象に投与することを含み、化合物が、細胞への送達時に分解し、それによってＴＣＲをコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする。

【０３４８】

別の態様では、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする方法が提供される。この方法は、化合物に結合したＣＡＲをコードする核酸を含む細胞透過性複合体を対象に投与することを含み、化合物が、該細胞への送達時に分解し、それによってＣＡＲをコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする。

【０３４９】

実施形態では、細胞受容体は、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）である。実施形態では、細胞受容体は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）である。実施形態では、ＣＡＲは、ルイスＹ抗原ＣＡＲ（すなわち、ルイスＹ抗原に結合するキメラ抗原受容体）である。実施形態では、ＣＡＲは、抗ＣＤ４４ｖ６　ＣＡＲである。実施形態では、ＣＡＲは、抗ＮＫＧ２Ｄリガンド　ＣＡＲである。実施形態では、ＣＡＲは、抗葉酸受容体ベータＣＡＲである。実施形態では、ＣＡＲは、抗ＣＤ３８　ＣＡＲである。実施形態では、ＣＡＲは、抗ＣＤ２０　ＣＡＲである。実施形態では、ＣＡＲは、抗ＣＤ２２　ＣＡＲである。実施形態では、ＣＡＲは、抗ＦＬＴ３　ＣＡＲである。実施形態では、ＣＡＲは、抗ＣＤ７　ＣＡＲである。実施形態では、ＣＡＲは、抗ＣＤ３３　ＣＡＲである。実施形態では、ＣＡＲは、抗ＣＤ１２３　ＣＡＲである。実施形態では、ＣＡＲは、抗ＣＬＥＣ１２Ａ　ＣＡＲである。

【０３５０】

実施形態では、化合物は、カチオン性両親媒性ポリマー化合物である。実施形態では、化合物は、その実施形態を含む、本明細書で提供される化合物である。実施形態では、核酸は、ｍＲＮＡである。実施形態では、核酸は、ＤＮＡである。実施形態では、ＣＡＲは、抗ＣＤ１９　ＣＡＲである。実施形態では、核酸は、エフェクター増強タンパク質をさらにコードする。エフェクター増強タンパク質は、本明細書で提供される分泌タンパク質または受容体タンパク質（例えば、ＩＬ－１２、抗ＰＤ１）であり得る。実施形態では、核酸は、複数の核酸である。本明細書で提供される核酸が複数の核酸である場合、本明細書で提供される複合体は、その実施形態を含む本明細書で提供される化合物に結合した２つ以上の核酸（２、３、４、５、６、７、またはそれ以上）を含み得る。実施形態では、核酸は、ポリシストロン性核酸である。

【０３５１】

実施形態では、細胞は、骨髄系細胞またはリンパ系細胞である。実施形態では、細胞は、骨髄系細胞である。実施形態では、細胞は、リンパ系細胞である。実施形態では、細胞は、Ｔ細胞、Ｂ細胞、またはナチュラルキラー細胞である。実施形態では、細胞は、Ｔ細胞である。実施形態では、細胞は、Ｂ細胞である。実施形態では、細胞は、ナチュラルキラー細胞である。実施形態では、細胞は、マクロファージ、好酸球、または好中球である。実施形態では、細胞は、マクロファージである。実施形態では、細胞は、好酸球である。実施形態では、細胞は、好中球である。実施形態では、投与は、静脈内、皮下、腫瘍内である。実施形態では、投与は、静脈内である。実施形態では、投与は、皮下である。実施

形態では、投与は、腫瘍内である。
【実施例】
【０３５２】
実施例１：
一般的な方法と実験
材料
試薬は、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈから購入し、特に明記されていない限り、受け取ったままの状態で使用した。１－（３，５－ビス－トリフルオロメチル－フェニル）－３－シクロヘキシル－チオ尿素（Ｍａｃｒｏｍｏｌｅｃｕｌｅｓ ３９（２３）：７８６３－７８７１）、ＭＴＣ－グアニジンモノマー（Ｊ Ａｍ Ｃｈｅｍ Ｓｏｃ １３１（４５）：１６４０１－１６４０３）、ＭＴＣ－ドデシルモノマー（Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ １０９（３３）：１３１７１－１３１７６）、ＭＴＣ－ピペリジンモノマー（Ｃｈｅｍ Ｃｏｍｍｕｎ（１）：１１４－１１６）、Ｎ－Ｂｏｃモルホリノンモノマー（Ｊ Ａｍ Ｃｈｅｍ Ｓｏｃ １３６（２６）：９２５２－９２５５）、およびダンシルアルコール（Ｊ Ａｍ Ｃｈｅｍ Ｓｏｃ １３１（４５）：１６４０１－１６４０３）はすべて、文献の手順に従って調製した。特に断りのない限り、すべての市販の溶媒および試薬は、さらに精製することなく使用した。塩化メチレン（CH_2Cl_2）およびテトラヒドロフラン（ＴＨＦ）は、窒素圧下でアルミナ乾燥カラム（Ｓｏｌｖ－ｔｅｋ Ｉｎｃ．）に通した。石油エーテル、ペンタン、ヘキサン、エチルアセテート（ＥｔＯＡｃ）およびメタノール（ＭｅＯＨ）は、Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃから入手した。重水素化溶媒は、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ｉｓｏｔｏｐｅ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓから購入した。再生セルロース透析膜（Ｓｐｅｃｔｒａ／Ｐｏｒ（登録商標）６ Ｓｔａｎｄａｒｄ ＲＣ、ＭＷＣＯ１０００）は、Ｓｐｅｃｔｒｕｍ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．から購入した。
【０３５３】
ｍＲＮＡ
以下のすべての実施例では、ｅＧＦＰ ｍＲＮＡ（５ｍｅＣ、ψ、Ｌ－６１０１）、Ｆｌｕｃ ｍＲＮＡ（５ｍｅＣ、ψ、Ｌ－６１０７）、ＯＶＡ ｍＲＮＡ（５ｍｅＣ、ψ、Ｌ－７２１０）、およびＣｙ５－ｅＧＦＰ ｍＲＮＡ（５ｍｅＣ、ψ、Ｌ－６４０２）は、ＴｒｉＬｉｎｋ ＢｉｏＴｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ Ｉｎｃ．から購入した。
【０３５４】
計装
粒径は、Ｍａｌｖｅｒｎ Ｚｅｔａｓｉｚｅｒ Ｎａｎｏ ＺＳ９０で、動的光散乱によって測定した。フローサイトメトリー解析は、ＢＤ ＬＳＲＩＩ ＦＡＣＳアナライザーで行った（Ｓｔａｎｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｓｈａｒｅｄ ＦＡＣＳ Ｆａｃｉｌｉｔｙ）。レーザー走査共焦点顕微鏡観察は、ＣＳ２油浸対物レンズの４０×ＨＣＰＬ ＡＰＯを備えたＬｅｉｃａ ＳＰ８ Ｗｈｉｔｅ Ｌｉｇｈｔ Ｃｏｎｆｏｃａｌ顕微鏡を用いて行った（Ｓｔａｎｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｃｅｌｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ Ｉｍａｇｉｎｇ Ｆａｃｉｌｉｔｙ）。生物発光は、電荷結合素子（ＣＣＤ）カメラ（ＩＶＩＳ１００，Ｘｅｎｏｇｅｎ Ｃｏｒｐ．，Ａｌａｍｅｄａ，ＣＡ）を用いて測定し、Ｌｉｖｉｎｇ Ｉｍａｇｅ Ｓｏｆｔｗａｒｅ（Ｐｅｒｋｉｎ－Ｅｌｍｅｒ）を用いて解析した。落射蛍光顕微鏡観察は、広視野励起光源のＸ－Ｃｉｔｅ １２０Ｑと ＧＦＰフィルターセットとを備えたＺｅｉｓｓ Ａｘｉｏ Ｏｂｓｅｒｖｅｒ．Ｚ１で行った。画像は、ＣｏｏｌＳＮＡＰ ＨＱ^{2}カメラで取得し、画像解析のためにコンピュータに転送した。
【０３５５】
細胞株
ＨｅＬａ細胞、Ｊ７７４細胞、ＨｅｐＧ２細胞、およびＨＥＫ－２９３細胞は、１０％ウシ胎仔血清（ＦＢＳ）と１％ペニシリン／ストレプトマイシンとを添加したダルベッコ改変イーグル培地（ＤＭＥＭ）で維持した。ＣＨＯ細胞は、１０％ＦＢＳと１％ペニシリン

／ストレプトマイシンとを添加したＦ１２培地で維持した。すべての細胞を、３７℃において、５％CO_2の雰囲気で増殖させた。細胞は、約８０％コンフルエントで継代した。

【０３５６】

間葉幹細胞（ＭＳＣ）は、Ｈｕａｎｇらの方法（Ｊ．Ｏｒｔｈｏｐａｅｄｉｃ Ｔｒａｎｓ．３（１）：２６－３３）に従って調製した。簡単に説明すると、８週齢の雌ＣＤ１マウス２匹から大腿骨を切除し、骨の外側から組織を取り出した。次に、骨の端を、滅菌したはさみで切断した。ペニシリン／ストレプトマイシンを含むＤＭＥＭ１０％ウシ胎仔血清で、３ｍＬのシリンジおよび２５ｇの針を用いて、１０ｃｍの組織培養処理ペトリ皿で、４本の骨から骨髄を洗い出した。骨髄を破壊し、ピペッティングによって分散させたが、濾過したり、他の操作を行ったりはしなかった。皿を６日間インキュベートすると、特徴的な単層が現れた。次に、培養液をＰＢＳで２回洗浄し、０．２５％トリプシン（Ｇｉｂｃｏ）で５分、３７℃においてトリプシン処理した。次に、細胞を回収し、７５ｃｍ^{2}の細胞培養フラスコに移し、９０％コンフルエントが達成されるまで３日間インキュベートした。培養液は、２継代以上維持できたが、増殖は、継代４代目で、大幅に低下した。トランスフェクションのために、細胞を２４ウェルプレートに、１ウェルあたり１．２×１０^{4}個播種した。

【０３５７】

実施例２：

モノマーの合成

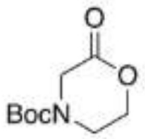
いくつかの例では、新規なラクトンモノマーまたはカーボネートモノマーから、多様なカチオン性犠牲ドメインのＣＡＲＴを生成する。前駆体およびモノマーの合成の例を以下で説明する。

【０３５８】

実施例２．１．ｔｅｒｔ－ブチル２－オキソモルホリン－４－カルボキシレート（Ｎ－Ｂｏｃモルホリノン）の合成：

これらの例では、Ｎ－Ｂｏｃモルホリノンモノマーの合成は、Ｃｈｕｎｇ，ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，２０１３，１３５（２０），７５９３－７６０２の文献から適応させた。

【化７７】



Ｎ－Ｂｏｃモルホリノン

【０３５９】

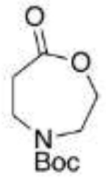
ｔｅｒｔ－ブチル２－オキソモルホリン－４－カルボキシレートの合成：２．０８６ｇ（１０．２ｍｍｏｌ）ｔｅｒｔ－ブチルビス（２－ヒドロキシエチル）カルバメートを７５ｍＬのCH_3CNに溶解し、酸素で５分バブリングした。［（ネオクプロイン）Ｐｄ（ＯＡｃ）］$_2$（ＯＴｆ）$_2$を３９８ｍｇ（０．３８ｍｍｏｌ）加えると、暗赤色溶液が形成された。その反応物を６０℃の油浴に入れ、ＴＬＣ（１：１ヘキサン：ＥｔＯＡｃ）によってモニターしながら、酸素を反応混合物にバブリングした。２４時間後、反応物に、２６３ｍｇ（０．２５ｍｍｏｌ）の［（ネオ）Ｐｄ（ＯＴｆ）（Ａｃ）］$_2$を加えた。４８時間後、反応物に、追加の４２６ｍｇ（０．４１ｍｍｏｌ）の［（ネオクプロイン）Ｐｄ（ＯＡｃ）］$_2$（ＯＴｆ）$_2$を加えた。合計７２時間後、酸素の流れを止めて、反応物を室温まで冷却した。反応混合物を５～１０ｍＬまで濃縮して、黒色の非粘性混合物を得て、SiO_2プラグにロードし、１：１のヘキサン：ＥｔＯＡｃで溶出した。濃縮により、１．７６６ｇの黄色油（８．７８ｍｍｏｌ、８６．４％）が得られ、これを静置したところ、固化した。この粗産物を１０ｍＬのEt_2Oに溶解し、続いて２０ｍＬのヘキサンを

加え、－３０℃で一晩保存した。沈殿物を濾過によって回収し、ペンタンで洗浄して、１．５４ｇの白色粉末を得た（７．６７ｍｍｏｌ、７６％収率）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）：δ４．４１（ｂｒ，２Ｈ），４．２６（ｓ，２Ｈ），３．６６（ｔ，２Ｈ），１．４７（ｓ，９Ｈ）．^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１２５ＭＨｚ，ＣＤ$_{3}$Ｃｌ）：δ２８．２４，４０．６３，４５．４９，６７．１９，８１．３３，１５３．４９，１６６．６３．ＨＲＭＳ（ｍ／ｚ）：Ｍ＋Ｃ$_{9}$Ｈ$_{15}$ＮＯ$_{4}$Ｎａに対する計算値：２２４．０８９３、実測値：２２４．０８９６．

【０３６０】

実施例２．２．ｔｅｒｔ－ブチル７－オキソ－１，４－オキサゼパン－４－カルボキシレート（７－ラクト）の合成：

【化７８】



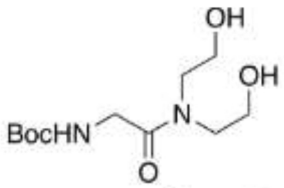
７－ラクトモノマー

フレームドライしたフラスコに、ｔｅｒｔ－ブチル４－オキソピペリジン－１－カルボキシレート（２０５．８ｍｇ、１．０３ｍｍｏｌ）およびＤＣＭ（１０ｍＬ）を入れ、次に０℃で１５分撹拌した。ＤＣＭ（５ｍＬ）中のｍＣＰＢＡ（６００．１ｍｇ、２．９ｍｍｏｌ）を２回に分けて加え、次に室温まで温めた。１８時間後、反応混合物を分液漏斗に移し、飽和ＮａＣＨＯ$_{3}$（２０ｍＬ×３）で洗浄し、次にＮａ$_{2}$ＳＯ$_{4}$で乾燥させ、濾過した。減圧下で溶媒を除去して、３１７．０ｍｇの白色固体を得た。シリカゲルクロマトグラフィーを行い、９：１のＤＣＭ：ＥｔＯＡｃで溶出した。関連する画分を濃縮して、１５１．０ｍｇの白色固体を得た（０．７１ｍｍｏｌ、収率６８．９％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＣＤ$_{3}$Ｃｌ）：δ４．２１（ｓ，２Ｈ），３．８２（ｓ，２Ｈ），３．６５（ｓ，２Ｈ），２．８１（ｓ，２Ｈ），１．４６（ｓ，９Ｈ）．^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１０１ＭＨｚ，ＣＤ$_{3}$Ｃｌ）：δ１７３．９，１５４．４，８１．１，６９．５，４７．３，４１．３，３７．６，２８．４

【０３６１】

実施例２．３．ｔｅｒｔ－ブチル（２－（ビス（２－ヒドロキシエチル）アミノ）－２－オキソエチル）カルバメートの合成。

【化７９】



ｔｅｒｔ－ブチル（２－（ビス（２－ヒドロキシエチル）アミノ）－２－オキソエチル）カルバメート

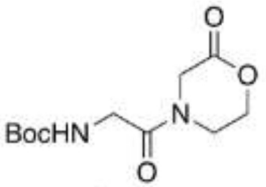
フレームドライしたフラスコに、ジエタノールアミン（２２５ｍｇ、２．１５ｍｍｏｌ）およびメチル（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）グリシネート（３７０ｍｇ、１．９５ｍｍｏｌ）を入れ、次に７５℃の熱浴で撹拌した。１８時間後、反応物をシリカプラグに通し、アセトンで溶出した。溶媒を減圧下で除去して、５０５．１ｍｇの淡黄色の油（１．９３ｍｍｏｌ、収率９９％）を得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＣＤ$_{3}$Ｃｌ）：δ５．７－５．６（ｂｒ，１Ｈ），３．９９（ｄ，２Ｈ），３．７８－３．６５（ｍ，４Ｈ），３．５３－３．３５（ｍ，４Ｈ），３．０５（ｂｒ，１Ｈ）．^{13}Ｃ　ＮＭＲ（１０１

ＭＨｚ，ＣＤ３Ｃｌ）：δ１７０．４，１５６．３，７９．９，６０．０，５１．１，４２．４，２８．３

【０３６２】

実施例２．４．ｔｅｒｔ－ブチル（２－オキソ－２－（２－オキソモルホリノ）エチル）カルバメート（グリシンモノマー）の合成：

【化８０】



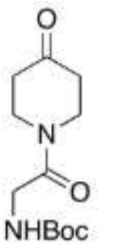
グリシンモノマー

フレームドライしたフラスコに、ジオール（４５０ｍｇ、１．７２ｍｍｏｌ）およびアセトニトリル（１２ｍＬ）を入れ、次に５分間空気でバブリングした。Ｐｄ（Ｎｅｏ）ＯＡｃ（８４．１ｍｇ、０．１６ｍｍｏｌ、９．４ｍｏｌ％）を反応物に加え、５０℃において一定の空気流下で撹拌した。１８時間後、反応物を濃縮し、ＥｔＯＡｃ（３０ｍＬ）で粉砕し、次に濾過して、２２０ｍｇの泡状のオレンジ色の残留物を得た。シリカゲルクロマトグラフィーを行い、１００％ＥｔＯＡｃで溶出した。関連する画分を濃縮して、５３．１ｍｇの透明な油を得て（０．２０５ｍｍｏｌ、収率１２％）、これを静置すると固化した。^{1}Ｈ ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＣＤ３Ｃｌ）：δ５．４５－５．３（ｂｒ，１Ｈ），４．５－４．４５（ｑ，２Ｈ），４．２８－４．４（ｄ，２Ｈ），４．０－３．９３（ｄｄ，２Ｈ），３．８５－３．７（ｄｔ，２Ｈ），１．４５（ｓ，９Ｈ）^{13}Ｃ ＮＭＲ（１２５ＭＨｚ，ＣＤ３Ｃｌ）：δ１６７．７，１６６．１，１６４．８，１５５．８，８０．２，６６．９，６５．９，４５．８，４４．１，４２．４，４１．２，３９．３，２８．３，１５．３１６

【０３６３】

実施例２．５．７－Ｇｌｙ（ケトン）の合成：

【化８１】



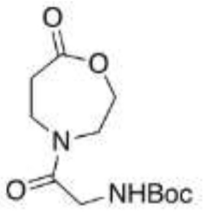
７－ｇｌｙケトン

１０ｍＬのＴＨＦ中のヒドロキシベンゾトリアゾール（６００ｍｇ、４．４ｍｍｏｌ）、ＥＤＣ－ＨＣｌ（４５３ｍｇ、２．９ｍｍｏｌ）、（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）グリシン（５２０ｍｇ）の入ったフラスコに、ＴＥＡ（５００ｕＬ）を加え、２０分撹拌した。ＴＨＦ：Ｈ２Ｏの１０：１混合物（合計１１ｍｌ）中の４－ピペリジノン－ＨＣｌ－一水和物（４６２ｍｇ、３．０ｍｍｏｌ）の溶液を一度に加えた。反応物を一晩撹拌した。反応物を減圧下で濃縮し、次に１５ｍＬのＥｔＯＡｃに取り、Ｈ２Ｏ（１０ｍＬ）中のＡｃＯＨ（５００μＬ）で洗浄し、水相を１５ｍＬのＥｔＯＡｃで抽出した。次に、合わせた有機層をＮａＨＣＯ３（２×２０ｍＬ）およびブライン（１×２０ｍＬ）で洗浄し、次に、ＭｇＳＯ４で乾燥させた。減圧下で濃縮して、３７５ｍｇの白色結晶性粉末（収率５０％）を得て、さらに精製することなく使用した。

【０３６４】

実施例２．６．７－Ｇｌｙモノマーの合成：

【化８２】



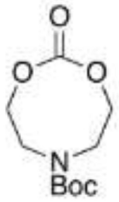
７－ｇｌｙモノマー

７－Ｇｌｙモノマー：Ｎ－グリシニル（Ｂｏｃ）４－ピペリジノン（２８ｍｇ、０．１１ｍｍｏｌ）の入ったフラスコに、５ｍＬのＤＣＭ中のｍＣＰＢＡ（６０ｍｇ、０．３５ｍｍｏｌ）を加えた。反応物を０℃で２時間撹拌し、次に２ｍＬのＤＣＭ中の追加分のｍＣＰＢＡ（２０ｍｇ、０．１２ｍｍｏｌ）を反応混合物に加え、一晩撹拌した。反応物を減圧下で濃縮し、次に１０ｍＬのＥｔＯＡｃに取り込み、ＮａＨＣＯ（４×１０ｍＬ）で洗浄し、次にＭｇＳＯ４で乾燥した。９：１のＥｔＯＡｃ：ＤＣＭの溶媒系を用いて、ＳｉＯ２クロマトグラフィーによって、粗産物を精製した。関連する画分を減圧下で濃縮して、２１ｍｇのｐｄｔを得た（収率７１％）。

【０３６５】

実施例２．７．８員カーボネートベースのモノマーの合成：

【化８３】



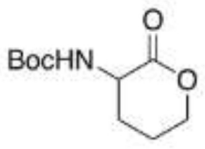
８員カーボネートのモノマー

８員カーボネートベースのモノマー：これらの例は、Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．２０１５，１３７，１３８５１－１３８６０に報告されている、文献の手順によって調製した。

【０３６６】

実施例２．８．Ｔｅｒｔ－ブチル（２－オキソテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３－イル）カルバメート（Ｍｇｌｕｔ）の合成

【化８４】



Ｍｇｌｕｔモノマー

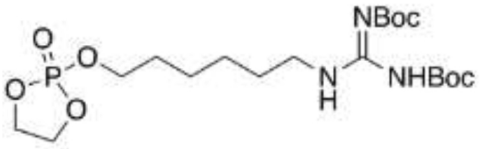
Ｔｅｒｔ－ブチル（２－オキソテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３－イル）カルバメート（Ｍｇｌｕｔ）：１．０７８ｇ（４．９ｍｍｏｌ）（Ｓ）－（－）－２－（Ｂｏｃ－アミノ）－１，５－ペンタンジオールを１０ｍｌのＣＨ３ＣＮ（０．４９Ｍ）に溶解し、空気で５分バブリングした。０．２３３ｇ（０．４５ｍｍｏｌ）の［（ネオ）Ｐｄ（ＯＴｆ）（ＯＡｃ）］２を加え、透明な溶液をオレンジ色に変化させ、黒色まで暗色化した。反応物を４５℃の油浴に入れ、空気を反応混合物にバブリングした。反応物を１Ｈ　ＮＭＲによってモニターし、５．１ｐｐｍでのラクトールピークの消失を確認した。４４時間をかけ

て、反応の進行に基づき、合計０．３１０ｇ（０．６ｍｍｏｌ、１２ｍｏｌ％）の［（ネオ）Ｐｄ（ＯＴｆ）（ＯＡｃ）］$_2$を、少しずつ反応物に加えた。４４時間の時点で、^{1}Ｈ　ＮＭＲによって、反応が完了したことが示された。気流を止め、反応物を室温まで冷却した。反応混合物を濃縮し、残留物を５０ｍＬのＥｔＯＡｃに取り込み、超音波処理し、次に、セライトプラグを通して濾過し、次に濃縮して、０．９４０ｇの桃色からオレンジ色の油を得て、これを静置したところ、固化した。シリカゲルクロマトグラフィーを行い、４：１のＤＣＭ：ＥｔＯＡｃで溶出した。関連する画分を濃縮して、０．４８０ｇ（２．２３ｍｍｏｌ）の白色固体を得た（収率４６％）。スペクトルデータは、過去の報告と一致している。Ｘｉｅ，Ｘ．ａｎｄ　Ｓｔａｈｌ，Ｓ．Ｓ．Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，２０１５，１３７（１１）：３７６７－３７７０

【０３６７】

実施例２．９．ホスホエステルベースのモノマーの合成

【化８５】



ホスホエステルベースのモノマー

ホスホエステルベースのモノマー：いくつかの例としては、ホスフェートまたはホスホエステルベースのカチオン性犠牲ドメインの合成が挙げられる。この一例では、過去の文献の手順（ＭｃＫｉｎｌａｙ，Ｃ．Ｊ．ｅｔ．ａｌ．Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．２０１６，１３８（１０），３５１０－３５１７、ＷＯ２０１７／０８３６３７Ａ１）に従って、必要なモノマーを合成した。簡単に説明すると、（例えば、２－（６－ビス－ｂｏｃグアニジノヘキシルオキシ）－１，３，２－ジオキサホスホラン－２－オキシド）：２－クロロ－１，３，２－ジオキサホスホラン－２－オキシド（７９７ｍｇ、５．５９ｍｍｏｌ、１．２５当量）を不活性Ｎ$_2$雰囲気（グローブボックス）下でシュレンクフラスコに量り入れた。これを窒素下の氷上に置き、ＴＨＦ（７５ｍＬ）を加えた。別のバイアルで、グアンヘキサノール（７．１６ｇ、２０．０ｍｍｏｌ、１当量）をＴＨＦ（１０ｍＬ）に溶解し、トリエチルアミン（２．８ｍＬ、２０ｍｍｏｌ、１当量）を加えた。バイアルの内容物を１０分間かけて、シリンジを介してシュレンクフラスコに滴下し、２０時間反応させた。反応後、産物をセライト（登録商標）パッドで濾過した。粗産物を少量（５ｍＬ）のＴＨＦに溶解し、２０ｍＬの乾燥ペンタンで粉砕した。産物を－５５℃の冷凍庫で一晩、オイルアウトさせた。ペンタン層を除去し、真空下で１０時間乾燥させ、純粋な産物を、わずかに黄色の油として得た（収率７９％）。このモノマーは、以下の標準的な手順に従って合成および脱保護された。

【０３６８】

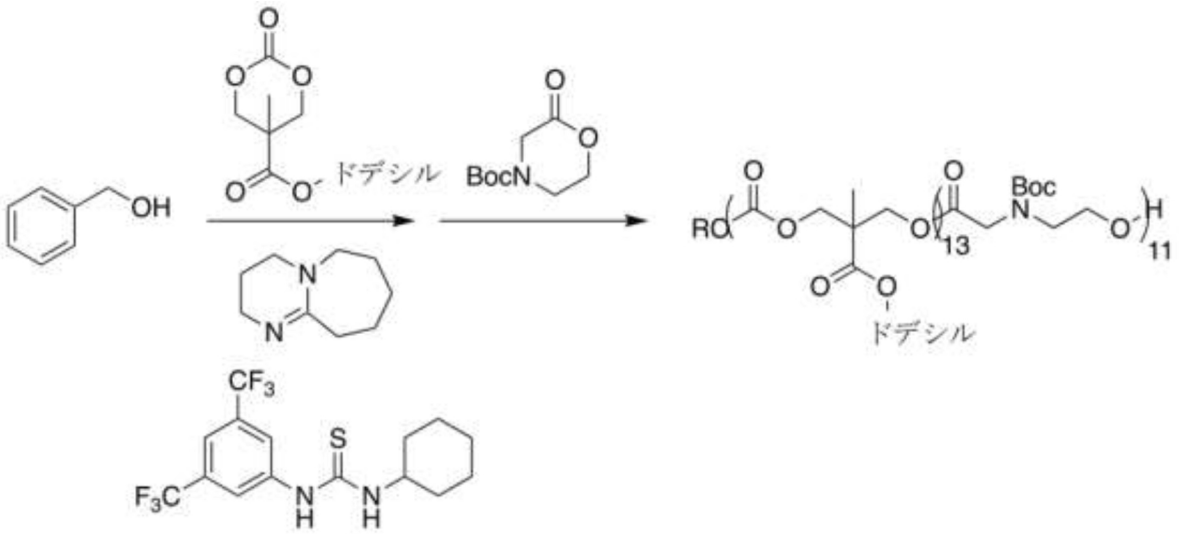
実施例３：

ＣＡＲＴの重合

一般的な手順

モノマーおよび開始剤のトルエン溶液に、ＤＢＵ：ＴＵの共触媒系の溶液を加える。反応物を２時間撹拌し、次に、犠牲ドメインを有するモノマーを固体として加え、次に２時間撹拌する。反応物を酢酸（または安息香酸）でクエンチし、次にＭｅＯＨに対してＤＣＭ中で透析する。透析後、溶媒を減圧下で除去して、純粋なオリゴマーを得る。次に、ＴＦＡ／ＤＣＭまたはＨＣｌ／Ｅｔ$_2$Ｏを用いて、オリゴマーを脱保護して、両親媒性ＣＡＲＴを得る。ＣＡＲＴをＤＭＳＯにおいて２．０ｍＭまで希釈し、次にさらなる精製を行わずに、トランスフェクション研究で使用する。

【化８６】



【０３６９】

ＴＦＡ／ＤＣＭまたはＨＣｌ　Ｅｔ２Ｏの使用を含む脱保護

ＴＦＡ脱保護の例：１．０ｍＬの乾燥ＤＣＭに溶解した１０．５ｍｇのオリゴマーに、１００ｕＬのＴＦＡを加える。反応物を８時間撹拌する。溶媒を減圧下で除去し、残留物として１０．３ｍｇのＣＡＲＴ（ＴＦＡ塩）を得る。

【０３７０】

ＨＣｌ脱保護の例：１５ｍｇの保護ＣＡＲＴに、Ｅｔ２Ｏ中の２．０ＭのＨＣｌを２回に分けて加える（合計２ｍＬ）。反応物を１８時間撹拌し、次に減圧下で濃縮して、残留物として１２．１ｍｇのＣＡＲＴ（ＨＣｌ塩）を得た。

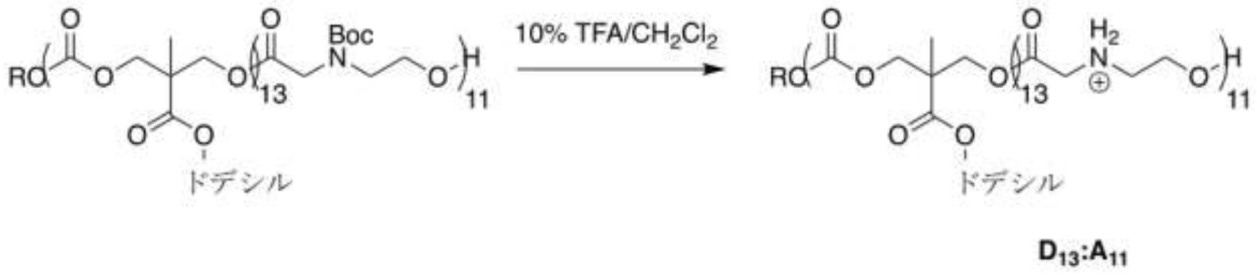
【０３７１】

開始剤の例：一官能性アルコール（すなわちベンジルアルコール、１－ピレンブタノール）、ＰＥＧ、蛍光色素（ダンシル、ＢＨＱ、ＢＤＫ）、多官能性アルコール（トリスベンジルアルコール、ＰＥＧジオール）、標的化リガンド（ビオチン、葉酸）および結合リガンド（ビオチン）。

【０３７２】

親モルホリノンベースのＣＡＲＴは、ＭｃＫｉｎｌａｙ，ｅｔ　ａｌ．ＰＮＡＳ，２０１７，Ｅ４４８－Ｅ４５６の文献での報告で記載されているものから適応させる

【化８７】



$D_{13}:A_{11}$

【０３７３】

コオリゴマーＤｎ：Ａｍの調製：Ｄ１３：Ａ１１の代表的な合成の場合：

フレームドライしたバイアルに、ＭＴＣ－ドデシルモノマー５（３３．２ｍｇ、０．１ｍｍｏｌ）、ダンシル開始剤３（３．９ｍｇ、０．０１３ｍｍｏｌ）、および５０μＬのＣＨ２Ｃｌ２を入れた。反応バイアルに、５０μＬのＣＨ２Ｃｌ２中のジアザビシクロウンデセン（ＤＢＵ）（０．８ｍｇ、０．００５ｍｍｏｌ）およびチオ尿素（ＴＵ）（２．０ｍｇ、０．００５ｍｍｏｌ）触媒を加え、撹拌した。２時間後、Ｎ－Ｂｏｃモノマー（２

２．３ｍｇ、０．１１ｍｍｏｌ）を固体としてバイアルに加え、反応物を３時間撹拌した。合計５時間後、反応物を５滴のＡｃＯＨでクエンチし、次に減圧下で濃縮した。粗物質を、ＭｅＯＨに対してＣＨ$_2$Ｃｌ$_2$中で透析した（１．０ｋＤａ透析バッグ）。濃縮して、３７．９ｍｇの淡緑色残留物を得た。１Ｈ　ＮＭＲによる末端基解析（２．８ｐｐｍ）は、ＤＰ１３：１１を示している。

【０３７４】

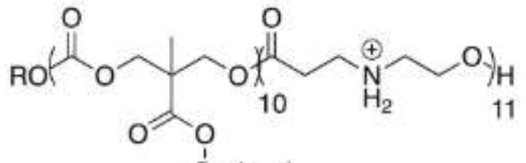
０．８ｍＬの乾燥ＤＣＭに溶解した２３．５ｍｇのオリゴマーに、２０ｕＬのＴＦＡを加える。反応物を１８時間撹拌する。溶媒を減圧下で除去し、残留物として２３．１ｍｇのＣＡＲＴを得る。

【０３７５】

ＣｌベースのＣＡＲＴ

多様なカチオン性犠牲ドメインのＣＡＲＴの例は、以下のとおりである。

【化８８】



Ｄ$_9$：（７－ラクト）$_{11}$

【０３７６】

フレームドライしたバイアルに、ドデシル－ＭＴＣ（３３．０ｍｇ、０．１ｍｍｏｌ）、１－ピレンブタノール（２．３ｍｇ、０．００８３ｍｍｏｌ）、および５０μＬのトルエンを入れた。反応バイアルに、５０μＬのトルエン中のＤＢＵ（０．７６ｍｇ、０．００５ｍｍｏｌ）およびＴＵ（１．８５ｍｇ、０．００５ｍｍｏｌ）を加え、撹拌した。２時間後、７－ラクト（実施例１．２）（２１．５ｍｇ、０．１ｍｍｏｌ）を固体として加え、反応物を撹拌した。さらに２時間撹拌した後、反応物を１滴の酢酸でクエンチした。粗物質を、ＭｅＯＨに対してＤＣＭ中で透析した（１．０ｋＤａ透析バッグ）。減圧下で濃縮して、４１ｍｇを得た（収率７６％）。

【０３７７】

１．０ｍＬの乾燥ＤＣＭに溶解した１０．５ｍｇのオリゴマーに、１００ｕＬのＴＦＡを加える。反応物を８時間撹拌する。溶媒を減圧下で除去し、残留物として１０．３ｍｇのＣＡＲＴを得る。

【０３７８】

６－ＧｌｙベースのＣＡＲＴ

【化８９】



Ｄ$_{12}$：グリシン$_{10.5}$

フレームドライしたバイアルに、ドデシル－ＭＴＣ（３２．８ｍｇ、０．１ｍｍｏｌ）、１－ピレンブタノール（２．３ｍｇ、０．００８３ｍｍｏｌ）、および５０μＬのＤＣＭを入れた。反応バイアルに、５０μＬのＤＣＭ中のＤＢＵ（０．７６ｍｇ、０．００５ｍｍｏｌ）およびＴＵ（１．８５ｍｇ、０．００５ｍｍｏｌ）を加え、撹拌した。２時間後

、ｔｅｒｔ－ブチル（２－オキソ－２－（２－オキソモルホリノ）エチル）カルバメート（３６ｍｇ、０．１４ｍｍｏｌ）を固体として加え、反応物を撹拌した。さらに２時間撹拌した後、反応物を１滴の酢酸でクエンチした。粗物質を、ＭｅＯＨに対してＤＣＭ中で透析した（１．０ｋＤａ透析バッグ）。減圧下で濃縮して、４７ｍｇを得た（収率６８％）。

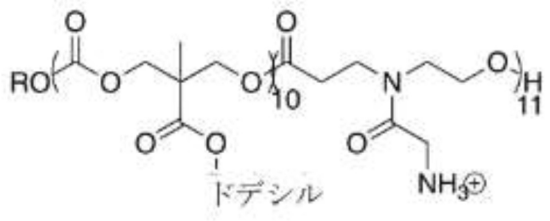
【０３７９】

１．０ｍＬの乾燥ＤＣＭに溶解した１１．１ｍｇのオリゴマーに、１００ｕＬのＴＦＡを加える。反応物を８時間撹拌する。溶媒を減圧下で除去し、残留物として１１ｍｇのＣＡＲＴを得る。

【０３８０】

７－Ｇｌｙベースの ＣＡＲＴ

【化９０】



D_{10}:$(7\text{-gly})_{11}$

フレームドライしたバイアルに、ドデシル－ＭＴＣ（３２．２ｍｇ、０．１ｍｍｏｌ）、ベンジルアルコール（０．９ｍｇ、０．００８３ｍｍｏｌ）、および５０μＬのトルエンを入れた。反応バイアルに、５０μＬのトルエン中のＤＢＵ（０．７６ｍｇ、０．００５ｍｍｏｌ）およびＴＵ（１．８５ｍｇ、０．００５ｍｍｏｌ）を加え、撹拌した。２時間後、ｔｅｒｔ－ブチル（２－オキソ－２－（７－オキソ－１，４－オキサゼパン－４－イル）エチル）カルバメート（３２．１ｍｇ、０．１ｍｍｏｌ）を固体として加え、反応物を撹拌した。さらに２時間撹拌した後、反応物を１滴の酢酸でクエンチした。粗物質を、ＭｅＯＨに対してＤＣＭ中で透析した（１．０ｋＤａ透析バッグ）。減圧下で濃縮して、４９ｍｇを得た（収率７７％）。

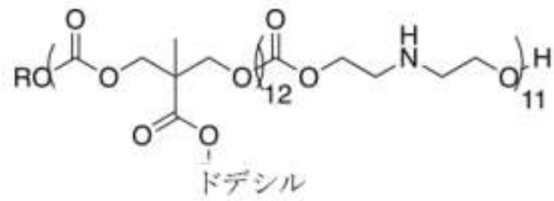
【０３８１】

２．０ｍＬの乾燥ＤＣＭに溶解した２１ｍｇのオリゴマーに、２００ｕＬのＴＦＡを加える。反応物を８時間撹拌する。溶媒を減圧下で除去し、透明な黄色の残留物として２１．３ｍｇのＣＡＲＴを得る。

【０３８２】

ＣａｒｂベースのＣＡＲＴ

【化９１】



D_{12}:$carb_{11}$

フレームドライしたバイアルに、ドデシル－ＭＴＣ（３３．１ｍｇ、０．１ｍｍｏｌ）、５－（ジメチルアミノ）－Ｎ－（２－ヒドロキシエチル）ナフタレン－１－スルホンアミド（ダンシルアルコール）（２．８ｍｇ、０．００８３ｍｍｏｌ）、および５０のＤＣＭを入れた。反応バイアルに、５０μＬのＤＣＭ中のＤＢＵ（０．７６ｍｇ、０．００５ｍｍｏｌ）およびＴＵ（１．８５ｍｇ、０．００５ｍｍｏｌ）を加え、撹拌した。２時間後

、８－Ｃａｒｂ（２３．２ｍｇ、０．１ｍｍｏｌ）を固体として加えた。さらに２時間撹拌した後、反応物を１滴の酢酸でクエンチした。粗物質を、ＭｅＯＨに対してＤＣＭ中で透析した（１．０ｋＤａ透析バッグ）。減圧下で濃縮して、５４．１ｍｇを得た（収率９６％）。

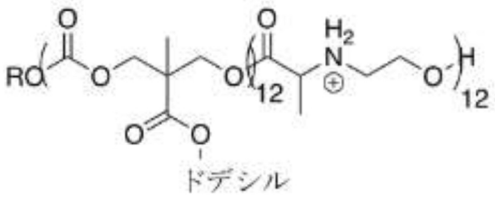
【０３８３】

１．０ｍＬの乾燥ＤＣＭに溶解した１２ｍｇのオリゴマーに、１００ｕＬのＴＦＡを加える。反応物を９時間撹拌した。溶媒を減圧下で除去し、残留物として１２ｍｇのＣＡＲＴを得る。

【０３８４】

ＧｌｕベースのＣＡＲＴ

【化９２】



D_{12}:Glu_{12}

フレームドライしたバイアルに、ドデシル－ＭＴＣ（１５．５ｍｇ、０．０５ｍｍｏｌ）、ベンジルアルコール（０．５ｍｇ、０．００４ｍｍｏｌ）、および５０のＤＣＭを入れた。反応バイアルに、５０μＬのＤＣＭ中のＤＢＵ（０．４ｍｇ、０．００２５ｍｍｏｌ）およびＴＵ（０．９ｍｇ、０．００２５ｍｍｏｌ）を加え、撹拌した。２時間後、ｔｅｒｔ－ブチル（２－オキソテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－３－イル）カルバメート（ＭＧｌｕｔ）（１８．１ｍｇ、０．０８４ｍｍｏｌ）を固体として加えた。さらに２時間撹拌した後、反応物を１滴の酢酸でクエンチした。粗物質を、ＭｅＯＨに対してＤＣＭ中で透析した（１．０ｋＤａ透析バッグ）。減圧下で濃縮して、１７．９ｍｇを得た（収率５１％）。

【０３８５】

１．０ｍＬの乾燥ＤＣＭに溶解した９．０ｍｇのオリゴマーに、１００ｕＬのＴＦＡを加える。反応物を９時間撹拌した。溶媒を減圧下で除去し、残留物として９．０ｍｇのＣＡＲＴを得る。

【０３８６】

これらの方法で合成されたＣＡＲＴの追加の例を、下記の表に詳細に記載されている。

【表１】

エントリ	慣用名	開始剤	脂質ブロック	脂質ブロック長（n）	カチオン性ブロック	カチオン性ブロック長（m）
1	A13	ダンシル	-	0	A	13
2	D13	ダンシル	ドデシル	13	-	0
3	D13:A11	ダンシル	ドデシル	13	A	11
4	D8:A11	ダンシル	ドデシル	8	A	11
5	D18:A17	ダンシル	ドデシル	18	A	17
6	BHQ-D10:A12	BHQ	ドデシル	10	A	12
7	BDK-D10:A10	BDK	ドデシル	10	A	10
8	3arm-D9:A13	３アーム	ドデシル	9	A	13
9	Chol13:A11	Bn	Ｃｈｏｌ	13	A	11
10	N25:A32	BDK	ノネニル	25	A	32
11	N7:A4	Bn	ノネニル	7	A	4
12	N10:A10	Bn	ノネニル	10	A	10
13	N11:A11	Bn	ノネニル	11	A	11
14	S9.5:A9	Bn	ステアリル	9.5	A	9
15	S14:A9	Bn	ステアリル	14	A	9
16	O22:A29	BDK	オレイル	22	A	29
17	O12:A7	Bn	オレイル	12	A	7
18	O11:A9	Bn	オレイル	11	A	9
19	O11:A12	Bn	オレイル	11	A	12
20	L7.5:A8	Bn	リノレイル	7.5	A	8
21	L10:A10	Bn	リノレイル	10	A	10
22	D9：（7－ラクト）11	Bn	ドデシル	9	7－ラクト	11
23	D12：グリシン10．5	Bn	ドデシル	12	グリシン	10.5
24	D10:(7-gly)11	Bn	ドデシル	10	7-gly	11
25	D14（アルファ－Me14．5）	Bn	ドデシル	14	アルファ－Ｍｅ	14.5
26	D12:carb11	Bn	ドデシル	12	Carb	11
27	D12:Glu12	Bn	ドデシル	12	Glu	12

【０３８７】

実施例４：

ＣＡＲＴ／核酸複合体

いくつかの例では、５．７１μＬのＲＮＡｓｅフリーＰＢＳ（１Ｎ　ＨＣｌによってｐＨ５．５に調整）およびｅＧＦＰ　ｍＲＮＡ（ＰＢＳ中の０．２μｇ／μＬのストック由来、ｐＨ７．４）を、０．５９μＬのＣＡＲＴ（ＤＭＳＯ中の２ｍＭのストック由来）と混合することによって、ＣＡＲＴ／ｍＲＮＡポリプレックスを調製して、１０：１の＋／－ＣＡＲＴ／ｍＲＮＡ比率を達成した。これらのＣＡＲＴ／ｍＲＮＡ複合体を、処置または解析の前に、室温で２０秒間インキュベートした。

【０３８８】

比較例では、対応量の他のＣＡＲＴを使用して、同じ１０：１＋／－電荷比に等しくした。

【０３８９】

粒径およびゼータ電位のＤＬＳによる特徴付け
特定の実施例では、動的光散乱（ＤＬＳ）を用いて、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１、およびＣＡＲＴとｅＧＦＰ　ｍＲＮＡとの間で形成された高分子電解質複合体を解析できることを示す。ｐＨ５．５では、得られたポリプレックスの流体力学的直径は、２５４ｎｍ±１０ｎｍであった。これらのポリプレックスを細胞培地に加えると、２時間をかけて、流体力学的直径が２５４ｎｍから５１２ｎｍに変化した。
【０３９０】
ＣＡＲＴ／ｍＲＮＡ複合体を非緩衝水に加えると、大きさは、２時間の実験全体を通じて、２５７±２４ｎｍのままである。
【０３９１】
ゼータ電位測定値は、粒径データと一致しており、表面電荷は、＋３３±７ｍＶで始まり、２時間をかけて－３０±３ｍＶまで変化する。これは、カチオン性アンモニウムが中性アミドに転位し、関連するオリゴヌクレオチドにより、表面が主にアニオン性のままにすることと一致している。理論に束縛されるものではないが、ホモオリゴマーの転位速度（分）とｍＲＮＡポリプレックスの転位速度（時間）との違いには、複合体化に依存して、緩衝水性環境におけるα－アミノエステル材の安定性が向上することが反映されていると見られる。これにより、ＣＡＲＴ／ｍＲＮＡ複合体が、治療上関連するタイムスケールにわたり、ｐＨ７．４において、細胞内分解まで安定状態を維持できる。
【０３９２】
比較例として、非犠牲トランスポーターＤ１３：Ｇ１２で複合体が形成された場合（図７Ｂ）、粒子も約２５０ｎｍで形成された。しかしながら、これらの粒子のサイズおよびゼータ電位では、時間に応じた変化が見られなかったことから、分解が生じていないことが示された。
【０３９３】
比較例としては、配合されたポリプレックスのサイズは、カーゴ依存性ではなかった。長さがｅＧＦＰの約２倍であるルシフェラーゼ（Ｆｌｕｃ）ｍＲＮＡ（ｅＧＦＰ＝９９６ｎｔであるのに対して、Ｆｌｕｃ＝１９２９ｎｔ）でポリプレックスを形成し、ｐＨ７．４の細胞培地に加えた場合、ポリプレックスでは、ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡで形成したものと同じ挙動が示されたことから、ＣＡＲＴによって可能になる送達は、汎用的であることができ、様々なサイズのｍＲＮＡで機能することが示唆された。
【０３９４】
特にこれらの例では、５００ｎｇのｅＧＦＰ　ｍＲＮＡを用いて、１０：１（カチオン：アニオン）の電荷比で、ｍＲＮＡ／コオリゴマー複合体を上記のように調製し、１２０μＬのｐＨ５．５、ｐＨ７．４のＲＮａｓｅフリーＰＢＳ、または中性のＲＮＡｓｅフリー水に加えた。溶液を直ちに使い捨ての透明なプラスチックキュベットに移し、サイズを測定した。サイズの測定は、初期時点（１分）と、２時間にわたって１５分間隔で行った。報告されるサイズは、ｚ平均である。ゼータ電位の測定値は、ＤＬＳ用に配合したｍＲＮＡ：コオリゴマー複合体を８００μＬの水に希釈し、ゼータ細胞（ＤＴＳ１０６０）に移し、ゼータ電位を測定することによって行われた。報告されるすべての値は、３回の試験ランの最小値の平均である。エラーは、±ＳＤとして表された。いくつかの他の例では、カチオンとアニオンとの比率は、約１：１、約１：２、約１：３、約１：４、約１：５、約１：６、約１：７、約１：８、約１：９、約１：１０、約１：１１、約１：１２、約１：１３、約１：１４、約１：１５、約１：１６、約１：１７、約１：１８、約１：１９、約１：２０、約１：３０またはこれを上回る値であることができる。いくつかの他の例では、アニオンとカチオンとの比率は、約１：１、約１：２、約１：３、約１：４、約１：５、約１：６、約１：７、約１：８、約１：９、約１：１０、約１：１１、約１：１２、約１：１３、約１：１４、約１：１５、約１：１６、約１：１７、約１：１８、約１：１９、約１：２０、約１：３０またはこれを上回る値であることができる。
【０３９５】
実施例５：

ＣＡＲＴによるｍＲＮＡの送達
複数の細胞株におけるｅＧＦＰ　ｍＲＮＡの送達および発現
いくつかの例では、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１によって、ＨｅＬａ細胞において、９９％超のトランスフェクション効率、および高い平均蛍光強度で、優れたｅＧＦＰ発現を得た。（図９Ａ、Ｂ、Ｄ）
【０３９６】
例えば、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１によるトランスフェクションでは、ＨｅＬａ細胞を２４ウェルプレートに４０，０００細胞／ウェルで播種し、一晩接着させた。ＲＮＡｓｅフリーＰＢＳ（ｐＨ５．５）およびｅＧＦＰ　ｍＲＮＡを、ＤＭＳＯストック溶液由来の様々な量のオリゴマーと混合することによって、オリゴマー／ｍＲＮＡポリプレックスを調製し、特定のコオリゴマー／ｍＲＮＡ比率を達成した（理論的カチオン：アニオン比率の１０：１に最適化、総体積８．４μＬ）。複合体を、処置の前に、室温で２０秒間インキュベートした。Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ（商標）２０００対照は、メーカーの指示に従ってＯｐｔｉＭＥＭで調製した。細胞を無血清ＤＭＥＭで洗浄し、ｍＲＮＡ／Ｌｉｐｏ溶液を最終体積２００μＬ／ウェルおよび１２５ｎｇ　ｍＲＮＡ／ウェルまで加えた。無血清ＤＭＥＭで洗浄した後、２．５μＬのｍＲＮＡ／コオリゴマー複合体を、総体積２００μＬまで加え、すべての条件はトリプリケートで行い、最終ｍＲＮＡ濃度は１２５ｎｇ／ウェルとした。細胞を８時間、３７℃でインキュベートし、次にトリプシン－ＥＤＴＡ（０．０５％）で１０分、３７℃でトリプシン処理した。血清含有ＤＭＥＭを加え、各ウェルの内容物を遠心分離し、上清を除去し、ペレット化細胞をＰＢＳ（１２５μＬ）に再分散し、ＦＡＣＳチューブに移し、フローサイトメトリーアナライザー（ＬＳＲ－ＩＩ．ＵＶ、Ｓｔａｎｆｏｒｄ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ）で読み取りを行った。提示されたデータ（図９）は、解析した１０，０００個の細胞から得た幾何平均蛍光シグナルである。トランスフェクション効率に関しては、未処理細胞は、ｅＧＦＰの未発現についてゲーティングを行い、提示されたデータは、解析した１０，０００個の細胞のうち、ｅＧＦＰの発現が未処理細胞よりも高い細胞の割合である。エラーは、±ＳＤとして表される。注：他のすべての細胞株は、上記のように、それぞれの培地で使用した。ＨｅｐＧ２細胞では、フローサイトメトリー用に細胞ペレットを再懸濁するのに用いるＰＢＳに、５ｍＭのＥＤＴＡを加えた。
【０３９７】
ブロック長がさらに長い（Ｄ１８：Ａ１７）第２のＣＡＲＴでは、高いトランスフェクション効率（９０％超）が得られたが、平均トランスフェクション値は低くなった（図９Ａ）。比較例では、α－アミノエステルホモオリゴマーＡ１３で形成した複合体では、ｅＧＦＰ発現は誘導されず、疎水性ドメインが、オリゴヌクレオチドの送達に必要であることを示した。さらなる比較例として、ＨｅＬａ細胞を、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅと配合したｍＲＮＡで処理した場合、中程度レベルのｅＧＦＰ発現のみが観察され、細胞の約５０％のみで蛍光を示した。
【０３９８】
いくつかの他の例では、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１によって送達パラメータを最適化するために、カチオン性オリゴマーとアニオン性ｍＲＮＡとの電荷比を１：１～５０：１（＋／－）に変動させ、得られたｅＧＦＰの蛍光は決定された（図９Ｃ）。値は、完全なアミンプロトン化およびホスフェート脱プロトン化と仮定して、アンモニウムカチオンとホスフェートアニオンの理論的な（＋／－）電荷モル比として報告されている。ｅＧＦＰ発現は、電荷比に対しておおよそ放物線状の依存性を示し、ｅＧＦＰの最大蛍光は、１０：１の（＋／－）電荷比で形成した複合体に起因するものであった。この値は、ｓｉＲＮＡの送達で使用され、４．８：１の電荷比で最適な性能を示したグアニジニウムに富むオリゴカーボネート複合体で観察された値よりも高い。落射蛍光顕微鏡をさらに使用して、フローサイトメトリーの結果を確認した（図９Ｄ）。ＣＡＲＴ／ｍＲＮＡ複合体で処理したＨｅＬａ細胞は、ほぼすべての視認可能な細胞で、有意な蛍光を示している。対照的に、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅで処理した細胞では、部分的なｅＧＦＰ発現を示し、他の細胞

は、トランスフェクトされないままであった。

【０３９９】

さらなる例では、細胞株パネル（典型的にはトランスフェクションが困難とみなされているものを含む）において、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１による送達後のｅＧＦＰ　ｍＲＮＡ発現をアッセイした。ＨｅＬａ細胞に加えて、マウスマクロファージ細胞（Ｊ７７４）、ヒト胎児腎細胞（ＨＥＫ－２９３）、チャイニーズハムスター卵巣細胞（ＣＨＯ）およびヒト肝細胞癌細胞（ＨｅｐＧ２）において、ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡで形成したＣＡＲＴ複合体で処理することによって、ｍＲＮＡ発現をＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅの場合と比較した（図６Ａ）。試験したすべての細胞株において、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１を用いた場合、ｅＧＦＰを発現した細胞の割合は、９０％超であったが、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅによる処理では、細胞の２２～５５％でのみ、発現が誘導された（図１１Ａ）。これは、この送達系は、様々な種類のヒト細胞および非ヒト細胞型で一般的であることを示唆している。不死化細胞株に加えて、初代ＣＤ１マウス由来間葉系幹細胞（ＭＳＣ）でも、高いトランスフェクション効率（８５％超）で、ｍＲＮＡ発現が観察された。

【０４００】

他の例では、Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞（ＣＡＲＴではトランスフェクション率が１１％に対して、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅでは７％）、初代Ｔ細胞（トランスフェクション率６％に対して、Ｌｉｐｏでは０％）、ならびに３Ｔ３線維芽細胞（ＣＡＲＴでは７０％に対して、Ｌｉｐｏでは５９％）、およびトロホブラスト幹細胞（ＣＡＲＴでは１９％に対して、Ｌｉｐｏでは６９％）を含め、さらにトランスフェクトするのが困難である他の細胞株において、ＣＡＲＴ活性を示している。

【０４０１】

いくつかの例では、さらに大きいホタルルシフェラーゼ（Ｆｌｕｃ）ｍＲＮＡなどの異なる長さのｍＲＮＡを用いて、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１によるｍＲＮＡの一貫したトランスフェクションも観察され、実質的にＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅの性能を３倍超上回っている（図１１Ｂ）。ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡで観察された傾向と同様に、ｍＲＮＡの長さの違いにかかわらず、１０：１（カチオン：アニオン）の比率は、最も高いレベルのＦｌｕｃ生物発光をもたらし、送達効率が、カーゴのサイズにほとんど依存しないことを示している。

【０４０２】

これらの実施例では、ＨｅＬａ細胞を１０，０００個の細胞／ウェルで黒色９６ウェルプレートに播種し、一晩接着させた。Ｆｌｕｃ　ｍＲＮＡ（５０μＬの総体積において、５０ｎｇ　ｍＲＮＡ／ウェルの最終濃度）を用いて、ｍＲＮＡポリプレックスおよびＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ（商標）２０００対照を上記のように調製した。すべての条件は、６回の繰り返しで行った。細胞を８時間、３７℃で処理しながらインキュベートして、次に培地を除去し、ＤＭＥＭ中の１００μＬのＤ－ルシフェリン溶液（３００μｇ／ｍＬ）を細胞に加えた。ＩＶＩＳ５０またはＩＶＩＳ２００（Ｐｅｒｋｉｎ－ＥｌｍｅｒのＸｅｎｏｇｅｎ　Ｐｒｏｄｕｃｔライン）電荷結合素子カメラおよびＬｉｖｉｎｇ　Ｉｍａｇｅ　Ｓｏｆｔｗａｒｅを用いて、得られた発光を測定した。データは、３回の実験の平均を表し、エラーは±ＳＤとして表される。

【０４０３】

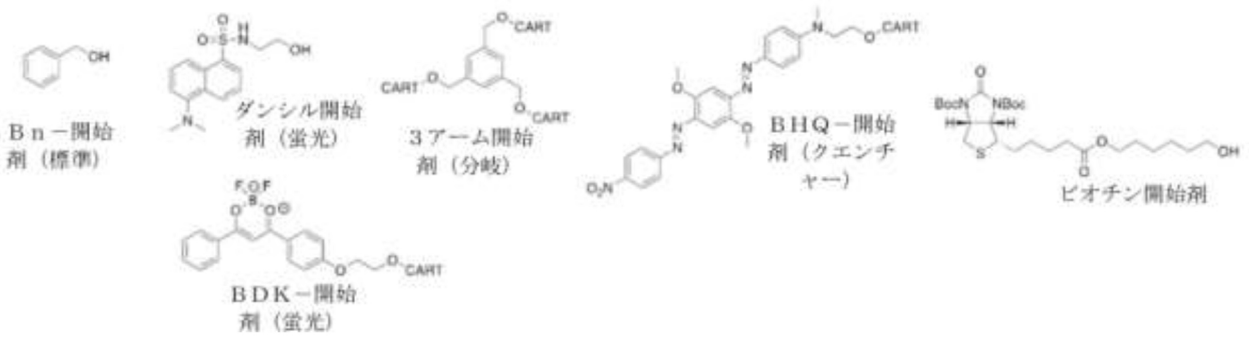
電荷変動性犠牲ドメイン

ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡとＣｙ５標識ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡとの混合物を送達することによって、ｍＲＮＡのインターナリゼーションと発現の解析を切り離して、同時に定量することができ、Ｃｙ５の蛍光によって、局在に関係なく、インターナリゼーションされたｍＲＮＡが示され、ｅＧＦＰの蛍光によって、細胞質での放出と、それに続くｍＲＮＡの発現が示される。この方法により、２つのオリゴマーの細胞取り込みとｍＲＮＡの発現を、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１、非犠牲グアニジニウム含有Ｄ１３：Ｇ１２および非犠牲のアンモニウム含有Ｄ１３：Ｐｉｐ１３で比較することによって、主鎖構造とカチオンタイプの効果が明らかになる。

【０４０４】
これらの例では、Ｃｙ－５　ｍＲＮＡをＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１と配合した場合、細胞内Ｃｙ５とｅＧＦＰの両方の高レベルな蛍光が観察された（図１０Ｂ、Ｄ）。比較例として、非犠牲のグアニジニウム含有Ｄ１３：Ｇ１２または非犠牲のアンモニウム含有Ｄ１３：Ｐｉｐ１３を使用した場合、Ｃｙ５の蛍光のみが観察された。この例は、３つのすべてのｍＲＮＡ複合体が、細胞に効率的にインターナリゼーションされるが、急速に分解する主鎖がないので、Ｄ１３：Ｇ１２およびＤ１３：Ｐｉｐ１３に由来する非犠牲ポリプレックスは、検出可能なレベルの翻訳を可能にするのに必要なタイムスケールで、ｍＲＮＡを放出しなかったことを示している。さらに、アンモニウム含有Ｄ１３：Ｐｉｐ１３で形成した複合体によって、ｅＧＦＰの発現が欠如したことは、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１の有効性が単に、アンモニウムカチオンとグアニジニウムカチオンの静電的結合親和性の違いによるものではないことを示唆している。むしろ、犠牲転位によるカチオン電荷が特異的な、制御された損失は、有効性のためには不可欠である。
【０４０５】
特に、これらの例では、オリゴマー／ｍＲＮＡポリプレックスの細胞取り込みおよび放出を測定するために、最終濃度６２．５ｎｇ　ｍＲＮＡ／ウェルで、Ｃｙ５標識ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡを用いて、上記のように調製したポリプレックスで、ＨｅＬａ細胞を処理した。上記のように、細胞を調製し、ｅＧＦＰとＣｙ５の蛍光の両方について、フローサイトメトリーによって解析した。
【０４０６】
追加の例では、共焦点顕微鏡を用いて、今回の実施形態における犠牲の必要性を確認している。ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１によるＣＡＲＴ媒介性のｍＲＮＡの放出およびエンドソームの脱出について、無効なトランスポーター（Ｄ１３：Ｇ１２）と比較して、共焦点顕微鏡によってさらに確認し、ダンシル化トランスポーター、Ｃｙ５－ｍＲＮＡ、およびテトラメチルローダミン（ＴＲＩＴＣ）－デキストラン４４００の同時検出を行い、エンドソーム区画に対して染色した。ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１／Ｃｙ５－ｍＲＮＡ複合体での処理から４時間後、細胞を画像化すると、Ｃｙ５とダンシルフルオロフォアの両方において、拡散蛍光が観察され、これらの物質が、エンドソームから脱出し、ポリプレックスから解離するのに成功したこと示している（図１０Ｄ）。（ＴＲＩＴＣ）－デキストラン４４００からの拡散蛍光も観察され、これはエンドソームの破裂と、捕捉されていたデキストランの放出に起因する可能性がある。比較例として、細胞を非犠牲Ｄ１３：Ｇ１２／Ｃｙ５－ｍＲＮＡ複合体で処理すると、Ｃｙ５とダンシルの両方の蛍光は、点状で、共局在しているままである。これらのシグナルはまた、点状のＴＲＩＴＣ－デキストラン４４００と大きく重複しており、エンドソームの捕捉を示している（図１０Ｄ）。まとめると、これらのデータは、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１の電荷変動性挙動により、エンドソームの破裂およびｍＲＮＡの放出が可能になり、これらの物質のｍＲＮＡの送達性能の高さに寄与していることを強く示唆している。
【０４０７】
特に、共焦点顕微鏡観察の実施例では、ＨｅＬａ細胞を８チャンバーのガラスボトムディッシュ（Ｎｕｎｃ　Ｌａｂ－Ｔｅｋ　ＩＩ，Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）に１０，０００個の細胞／ウェルで播種し、一晩接着させた。処理の前に、細胞を無血清ＤＭＥＭで洗浄し、２００μＬの無血清ＤＭＥＭを１００μＭのＴＲＩＴＣ－デキストラン（Ｓｉｇｍａ、平均分子量＝４，４００）とともに、各ウェルに加えた。Ｃｙ５－ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡポリプレックスを上記のように調製し（最終濃度１２５ｎｇ　ｍＲＮＡ／ウェル）、対応する各ウェルに加えた。細胞を４時間、３７℃でインキュベートし、次に培地を除去し、１０ｍＭのＨＥＰＥＳ緩衝液を含む５００μＬのＰＢＳを加えた。ＤＡＰＩ（ダンシル）、ＧＦＰ、ＤｓＲｅｄ（ＴＲＩＴＣ－デキストラン）およびＣｙ５用に調整したＬｅｉｃａ　ＳＰ８　Ｗｈｉｔｅ　Ｌｉｇｈｔ　Ｃｏｎｆｏｃａｌ顕微鏡を用いて、細胞を画像化した。
【０４０８】

ＣＡＲＴによるｍＲＮＡのインビボ送達
特定の例では、Ｄ１３：Ａ１１などのＣＡＲＴでは、インビボにおいて優れた遺伝子発現を示した。一例では、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１とルシフェラーゼｍＲＮＡとの複合体を形成して、Ｂａｌｂ／ｃマウスに筋肉内投与すると、高レベルの生物発光を示す。比較例として、送達剤と複合体を形成していないｍＲＮＡでは、結果として生じる生物発光を示さない。この発現は、４時間の時点でのピークに達し、４８時間後でも、依然として観察可能であった。これらの例では、７．５μｇのルシフェラーゼｍＲＮＡと、Ｄ１３：Ａ１１との複合体を１０：１の電荷比で、総体積７５μＬのＰＢＳ（ｐＨ５．５）において形成して、Ｂａｌｂ／ｃマウスの右大腿部の筋肉に注射した（図１１Ｃ、Ｄ）。
【０４０９】
追加の例では、Ｄ１３：Ａ１１と、ルシフェラーゼｍＲＮＡとの複合体を形成して、尾静脈内注射によって投与すると、高レベルの生物発光を示す。高レベルの発現は２４時間持続し、４８時間後でも、検出可能な生物発光が見られた。生物発光は主に、これらの画像において、脾臓および肝臓に局在している（図１１Ｅ、Ｆ）。ネイキッドｍＲＮＡをＩＶ投与した場合、生物発光シグナルは観察されなかった。研究したすべてのマウスにおいて、注射の直後に、または処置から数週間後、毒性は観察されなかった。
【０４１０】
追加の例として、ＣＡＲＴ　Ｏ１１：Ａ９、Ｄ１２：Ｇｌｙ１０．５およびＤ１４：ａ－メチル１４．５と複合体を形成したＦｌｕｃ　ｍＲＮＡを静脈内投与したところ、すべて肝臓および／または脾臓において、ルシフェラーゼの有意な発現をもたらした。これらの例では、７．５μｇのルシフェラーゼｍＲＮＡと、ＣＡＲＴとの複合体を１０：１の電荷比で、総体積７５μＬのＰＢＳ（ｐＨ５．５）において形成して、Ｂａｌｂ／ｃマウスの尾静脈に注射した。
【０４１１】
追加の例では、Ｄ１３：Ａ１１と、ルシフェラーゼｍＲＮＡとの複合体を形成して、腫瘍内注射を介して投与すると、高レベルの生物発光を示す。この例では、４μｇのルシフェラーゼｍＲＮＡと、Ｄ１３：Ａ１１との複合体を１０：１の電荷比で、総体積７５μＬのＰＢＳ（ｐＨ５．５）において形成して、固形の皮下Ａ２０リンパ腫腫瘍の中心に注射した。
【０４１２】
追加の例では、ＣＡＲＴ　Ｏ１１：Ａ９、Ｄ１２：Ｇｌｙ１０．５およびＤ１４：ａ－メチル１４．５と、ルシフェラーゼｍＲＮＡとの複合体を形成して、皮下注射によって投与すると、高レベルの生物発光を示す。この例では、５μｇのルシフェラーゼｍＲＮＡと、Ｄ１３：Ａ１１との複合体を１０：１の電荷比で、総体積７５μＬのＰＢＳ（ｐＨ５．５）において形成して、Ｂａｌｂ／Ｃマウスの背中に、皮下注射した。
【０４１３】
比較例として、従来技術のＤ１２：Ｇ１２とＦｌｕｃ　ｍＲＮＡとの複合体を形成した場合、結果として生じる生物発光は観察されなかった。この例では、５μｇのルシフェラーゼｍＲＮＡと、Ｄ１３：Ａ１１との複合体を１０：１の電荷比で、総体積７５μＬのＰＢＳ（ｐＨ５．５）において形成して、Ｂａｌｂ／Ｃマウスの背中に、皮下注射した。
【０４１４】
新規帯電ドメインによるｍＲＮＡの送達と発現
比較例：元の実施形態によって示された電荷変動性モチーフを用いて、多様な化学構造の新たなモノマーおよび新たなＣＡＲＴオリゴマーを合成した。これらのＣＡＲＴは、いくつかの変種（Ｄ９：（７－ラクト）１１およびＤ１２：（７－グリシン）１１など）であって、Ｃｙ５の細胞内蛍光が親Ｄ１３：Ａ１１系よりも高くなる（１．１～１．２倍）変種によって、蛍光標識（Ｃｙ５）ｍＲＮＡを有効にパッケージングおよびトランスフェクトすることが示された。これらのＣＡＲＴのうちのいくつかの種（ａ－Ｍｅ、ａ－Ｍｅ－ｃｏ－Ａ）は、ｍＲＮＡのいくつかの発現を示す。
【０４１５】

親油性ポリマードメイン
いくつかの例には、材料の親油性ポリマードメイン（または交換可能な脂質ブロック）の変種を含むＣＡＲＴが含まれる。出願者は、親油性ポリマードメインとして組み込まれたコレステロール、ノネニル、ステアリル、オレイル、およびリノレイル側鎖を含むＣＡＲＴの合成を実証した。これらのバリアントは、ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡと複合体を形成すると、オレイルおよびリノレイル官能化材料で様々な性能を示し、ドデシルベースの系と同様のトランスフェクション効率も得られる。
【０４１６】
いくつかの研究は、動的光散乱によって測定したところ、脂質ブロックまたは親油性ポリマードメインの変動が粒径およびゼータ電位に影響を与え、リノレイルおよびオレイルの物質は、ステアリルおよびドデシルベースのＣＡＲＴよりも長く、正のゼータ電位を保持することを示唆している。
【０４１７】
新しい開始剤
いくつかの例では、ＣＡＲＴに追加の機能を組み込むために、開環重合用の開始アルコールの変種が探究されている。探究されてきた開始剤としては、フルオロフォア（ダンシルおよびＢＤＫ）、分岐（３アーム）部分、蛍光クエンチャー（ＢＨＱ）、およびビオチン化誘導体が挙げられる。異なる開始剤機能を含む同等のモノマーブロック長のＣＡＲＴは、一般に、元の実施形態と同様のｅＧＦＰ　ｍＲＮＡトランスフェクション効率を示す。
【０４１８】
いくつかの実施形態では、開始剤は、以下の式を有することができる。
【化９３】



【０４１９】
蛍光開始剤は、フローサイトメトリーおよび共焦点顕微鏡によって、カーゴ（ｍＲＮＡ）およびトランスポーター（ダンシルまたはＢＤＫ）の取り込みを独立して追跡するために使用されてきた。クエンチング開始剤は、クエンチングした粒子からの放出の際の蛍光の再発光をモニタリングすることによって、蛍光標識ｍＲＮＡまたはｍｉＲＮＡカーゴの放出をモニタリングするために使用されてきた。
【０４２０】
初期の結果は、ｍＲＮＡトランスフェクション効率を維持しながら、３アーム開始剤が、ＣＡＲＴ／ｍＲＮＡ粒子に構造変化（例えば、サイズおよびゼータ電位）を導入する可能性があることを示唆している。
【０４２１】
初期の結果は、ビオチン／ストレプトアビジンの相補性を通じて、癌細胞を標的化するため、または追加のカーゴを結合させるためのいずれにも、ビオチン由来の開始剤を使用できることを示唆している。
【０４２２】
実施例６：
対イオン
従来の例は、トリフルオロ酢酸を用いるＢｏｃ脱保護が含まれ、その結果、アンモニウム

カチオンに対するトリフルオロアセテート対アニオンをもたらす。クロライド対イオンをもたらすために、塩酸（ＨＣｌ）を含む異なる条件下で脱保護したＣＡＲＴに同様の有効性があることも本出願者は示している。得られたＣＡＲＴ塩は、元の実施形態とほぼ同等のトランスフェクション効率／発現を示す。

【０４２３】

実施例７：

ｍＲＮＡの組み合わせ

いくつかの実施形態では、複数のｍＲＮＡを組み合わせて単一のＣＡＲＴ複合体にすることができる。この一例は、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１と、ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡおよびｍＣｈｅｒｒｙ　ｍＲＮＡとの二成分混合物との同時配合である。これらの条件下では、得られたｅＧＦＰとｍＣｈｅｒｒｙとの比率は、複合体へのｍＲＮＡ転写産物の供給比率を反映している。追加のフローサイトメトリー解析は、すべての細胞が、二重陽性または二重陰性のいずれかであることが示されており、別々の粒子に各転写産物が含まれているのではなく、両方の転写産物が、同じＣＡＲＴ／ｍＲＮＡ粒子に組み込まれていることを示唆している。この同時配合は、ＣＡＲＴを加えて処理する前に、２つの転写産物を単純に混合することで実現し、追加の最適化は不要である。

【０４２４】

追加の例では、ｅＧＦＰとＦｌｕｃ　ｍＲＮＡとの二成分混合物によって、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１／ｍＲＮＡ複合体を同時配合することによって、複数のｍＲＮＡ転写産物の同時発現を実証した。これらのポリプレックスは、配合物におけるその転写産物の質量％に比例するレベルで、２つの特有のタンパク質の発現を誘導する。

【０４２５】

実施例８：

その他のオリゴヌクレオチドカーゴ

ｍＲＮＡの送達研究に加えて、本出願者は、他の核酸カーゴを送達するための様々なＣＡＲＴ系も探究した。ｓｉＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ、ミニサークルＤＮＡ、およびｐＤＮＡの取り込みと活性は、ＣＡＲＴ技術に適していることが示された。これらのカーゴの多くにおいて、ＣＡＲＴの最適化は実験によって決定された（例えば、電荷比、脂質ドメインの長さ／不飽和度）。

【０４２６】

ｓｉＲＮＡ

非置換モルホリノン（Ｄ１３：Ａ１１）、および７員グリシンで官能化されたラクトン（Ｄ１０：（７－ｇｌｙ）１１）を含むいくつかのＣＡＲＴは、ｓｉＲＮＡの誘導による遺伝子ノックダウンでの有効性レベルが高いことを示している。蛍光ｍＲＮＡの取り込みを示したが、ｍＲＮＡの翻訳が得られなかった（Ｄ１０：（７－ｇｌｙ）１１）などの系にもかかわらず、少ないｓｉＲＮＡ量（例えば５ｐｍｏｌ／ウェル）でのｓｉＲＮＡの送達によって、タンパク質の発現が８５％超ノックダウンされることは予想外であった。

【０４２７】

比較例：これらの２つのＣＡＲＴ送達剤の性能は、Ｄ：Ｇ　４：４などの非放出性トランスポーター（ＷＯ２０１３／０３６５３２Ａ１およびＰＮＡＳ　２０１２，１０９（３３），１３１７１－１３１７６を参照）からなる従来技術（上記の条件下で５０％のノックダウンを示したに過ぎなかった）を著しく上回っていた。

【０４２８】

具体的には、ｓｉＲＮＡノックダウン実験は、（Ｇｅｉｈｅ，ｅｔ．ａｌ．ＰＮＡＳ　２０１２，１０９（３３），１３１７１－１３１７６）から改変した手順に従って行った。ＴｄＴｏｍａｔｏ／ＥＧＦＰを発現するＨａＣａＴ細胞を１０，０００個の細胞／ウェルで、９６ウェルプレートに播種し、３７℃で１８～２４時間インキュベートさせた。ｓｉＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体を、最初に２μＬのＣＢＬ３　ｓｉＲＮＡの２５μＭストックと１７．６０μＬのＰＢＳ（ｐＨ５．５）を予め混合することによって調製した。ＤＭＳＯ中の２ｍＭストックに由来するこの混合物にＣＡＲＴを加えて、正味のカチオン：アニオ

ン電荷比を１０：１にした。溶液を２０秒混合してから、１００μＬの無血清ＤＭＥＭを含む、９６ウェルプレートの３ウェルの各々に５μＬを加え、ｓｉＲＮＡの正味の濃度を５ｐｍｏｌ／ウェルにした。複合体とともに、細胞を４時間インキュベートしてから、培地を血清含有ＤＭＥＭに交換し、細胞を４８時間インキュベートした。インキュベート後、細胞をＰＢＳで洗浄し、トリプシン処理して、フローサイトメトリーによって解析した。ｔｄＴＯＭの正規化発現率を、以下の式、（平均蛍光値ｔｄＴＯＭ処理細胞／平均蛍光値ＥＧＦＰ処理細胞）／（平均蛍光値ｔｄＴＯＭ未処理細胞／平均蛍光値ＥＧＦＰ未処理細胞）×１００によって算出した。

【０４２９】

ｍｉＲＮＡ

いくつかの例では、核酸カーゴは、蛍光標識ｍｉＲＮＡである。ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１を用いると、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅとポリ（乳酸－ｃｏ－グリコール酸）ナノ粒子などの他のトランスフェクション方法と比べて、フローサイトメトリー解析は、標識ｍｉＲＮＡの活発な取り込みを示す。これらの例では、ｍｉＲＮＡの取り込みに最適な電荷比は、２０：１（カチオン：アニオン）であり、この値は、ｍＲＮＡ（１０：１）で観察されたものよりも高い。

【０４３０】

具体的には、ｍｉＲＮＡの取り込みは、Ｃｙ５標識ｍｉＲＮＡを用いて測定した。簡単に説明すると、ＨｅＬａ細胞を２４ウェルプレートに４０，０００細胞／ウェルで播種し、３７℃で一晩接着させた。最初に２．１μＬの０．２μｇ／μＬストックのＣｙ５－ｍｉＲＮＡ（配列：Ｃｙ５－ＵｐＣｐＡｐＡＣＡＵＣＡＧＵＣＵＧＡＵＡＡｐＧｐＣｐＵｐＡ）と、ｐＨ５．５の５．７２μＬのＰＢＳとを予め混合することによって、ＣＡＲＴ／ｍｉＲＮＡ複合体を調製した。次に、トランスフェクションの直前に、ＤＭＳＯ中の２ｍＭストックに由来するこの混合物にＣＡＲＴを加えて、正味のカチオン：アニオン電荷比を１０：１にした。これを２０秒混合してから、２００μＬの無血清ＤＭＥＭを含む、２４ウェルプレートの３ウェルの各々に５μＬを加え、ｍｉＲＮＡの最終濃度を１２５ｎｇ／ウェルにした。これを８時間、３７℃でインキュベートした。この後、細胞をＰＢＳで洗浄し、トリプシン処理し、細胞内Ｃｙ５蛍光をフローサイトメトリーによって決定した。

【０４３１】

ｐＤＮＡ

いくつかの例では、核酸カーゴは、上述のＲＮＡカーゴではなく、二本鎖プラスミド－ＤＮＡ（ｐＤＮＡ）である。これらの場合、ＣＡＲＴは、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅなどの市販の薬剤よりも有効性が向上すること（約２．５倍）を示し、トランスフェクション効率および蛍光強度中央値が高くなる。具体的には、ｐＰＫＣδ－ＧＦＰをコードするプラスミドを蛍光レポーターとして使用した。いくつかの場合、異なる脂質ブロックまたは親油性ポリマードメインを含むＣＡＲＴは、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１よりも、プラスミド送達により効果的であり、オレイルおよびリノレイル官能化材料のトランスフェクション効率が最も高かった。

【０４３２】

ＣＡＲＴ／ｐＤＮＡ複合体の粒径は、一般に、類似のｍＲＮＡ含有粒子よりも小さく、流体力学的直径は、ほとんどの化合物で９０～１１０ｎｍで、リノレイル官能化ＣＡＲＴでは、３９０ｎｍであった。ゼータ電位は、ｍＲＮＡ粒子と同じ傾向に従い、約＋４０ｍＶから始まり、電荷変動性転位が生じるのに応じて、－４０ｍＶまで低下する。

【０４３３】

トランスフェクションの具体的な実験の詳細：例えば、ＣＡＲＴ　Ｏ１１：Ａ９によるトランスフェクションでは、ＣＨＯ細胞を４０，０００個の細胞／ウェルで２４ウェルプレートに播種し、一晩接着させた。ＰＢＳ（ｐＨ５．５）およびｐＰＫＣδ－ＧＦＰと、ＤＭＳＯストック溶液由来の様々な量のオリゴマーとを混合することによって、ｐＤＮＡ：ＣＡＲＴ複合体を調製し、特定のｐＤＮＡ／ＣＡＲＴ比率を達成した（理論的な２５：１のカチオン：アニオン比率に最適化、総体積１１５μＬ）。複合体を、処理の前に、室温

で２０秒間インキュベートした。メーカーの指示に従って、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ２０００対照をＯｐｔｉＭＥＭで調製した。細胞を無血清Ｆ－１２培地で洗浄し、ｐＤＮＡ／Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ溶液を加え、最終体積を５００μＬ／ウェルおよび６７９ｎｇ　ｐＤＮＡ／ウェルにした。無血清Ｆ－１２培地で洗浄後、３ウェルの各々に、３７．５μＬのｐＤＮＡ／ＣＡＲＴ複合体を加え、総体積５００μＬ、最終ｐＤＮＡ濃度６７４ｎｇ／ウェルにした。細胞を２４時間、３７℃でインキュベートし、その時点で培地を血清含有Ｆ－１２培地と交換した。細胞をさらに２４時間インキュベートし、次にトリプシン－ＥＤＴＡ（０．２５％）で５分、３７℃でトリプシン処理した。血清含有Ｆ－１２培地を加え、各ウェルの内容物を遠心分離した。上清を除去し、ペレット化細胞をＰＢＳ（２００μＬ）に再分散し、ＦＡＣＳチューブに移し、フローサイトメトリーアナライザー（ＬＳＲ－ＩＩ．ＵＶ，Ｓｔａｎｆｏｒｄ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ）で読み取りを行った。提示されたデータは、解析した５，０００～１０，０００個の細胞から得た幾何平均蛍光シグナルである。トランスフェクション効率に関しては、未処理細胞は、ｅＧＦＰの未発現についてゲーティングを行い、提示されたデータは、解析した細胞のうち、ｅＧＦＰの発現が未処理細胞よりも高い細胞の割合である。エラーは、±ＳＤとして表される。

【０４３４】

ＣＡＲＴ／ｐトランスポザーゼの送達による安定トランスフェクション

いくつかの例では、ｐルシフェラーゼ（トランスポザーゼ認識部位を含む）とｐトランスポザーゼを別々にコードするプラスミドを組み合わせなどの複数のプラスミドを同時に送達でき、その結果、標的ルシフェラーゼ遺伝子の安定した発現をもたらした。６日後、ＣＡＲＴ　Ｏ１１：Ａ９の性能は、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅを著しく上回り、生物発光レベルは、１０倍超増加した。

【０４３５】

これらの例では、ＣＨＯ細胞を１ウェルあたり１０，０００個の細胞で、黒色の９６ウェルプレートに播種し、３７℃で一晩接着させた。最初に、ｐＨ５．５のＰＢＳと、ホタルルシフェラーゼとＴｄＴｏｍａｔｏの両方をコードする４７０ｎｇのｐＤＮＡ、またはｐトランスポザーゼと２：１の比率で混合した同じプラスミドの合計５８５ｎｇのいずれかと予め混合することによって、ｐＤＮＡ：ＣＡＲＴ複合体を調製した。Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ対照を、メーカーの仕様に従って無血清ＯｐｔｉＭＥＭ培地で調製した。トランスフェクションの直前に、ＤＭＳＯ中の２ｍＭストック溶液に由来するプラスミド／ＰＢＳ溶液にＣＡＲＴを加え、正味の＋／－電荷比を５：１に達成した。得られた複合体は、細胞に加える前に、室温で２０秒間インキュベートした。細胞を無血清Ｆ－１２培地でリンスして、次に無血清培地を含む、９６ウェルプレートの３ウェルの各々に、７．３μＬの複合体を加え、１ウェルあたり５０μＬの最終体積と、１３７または１７１ｎｇ／ウェルのｐＤＮＡ濃度にした。処理とともに、細胞を２４時間、３７℃でインキュベートしてから、０．３ｍｇ／ｍＬのルシフェリンを有する１００μＬの血清含有Ｆ－１２培地に、培地を交換した。ＩＶＩＳ５０またはＩＶＩＳ２００（Ｐｅｒｋｉｎ－ＥｌｍｅｒのＸｅｎｏｇｅｎ　Ｐｒｏｄｕｃｔライン）電荷結合素子カメラおよびＬｉｖｉｎｇ　Ｉｍａｇｅ　Ｓｏｆｔｗａｒｅを用いて、得られた生物発光を測定した。エラーは、±ＳＤとして表された。コンフルエントになったら、０．２５％トリプシンを用いて、新たなウェルに細胞を継代した。

【０４３６】

さらなる例では、複数のプラスミドで、ＣＡＲＴを用いた複数のプラスミドによる効果的な送達と安定的トランスフェクションが確認された。これらの場合、ｐルシフェラーゼ（いずれも、ピューロマイシン耐性を付与し、トランスポザーゼ認識部位を含む）とｐトランスポザーゼを別々にコードするプラスミドの組み合わせによって、ピューロマイシン耐性と併せて、標的ルシフェラーゼ遺伝子の安定発現が得られた。数世代にわたるピューロマイシン選択によって、安定的なトランスフェクションが検証され、生物発光がＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅよりも２倍向上した。

【０４３７】
これらの例では、ＣＨＯ細胞を１ウェルあたり１０，０００個の細胞で、黒色の９６ウェルプレートに播種し、３７℃で一晩接着させた。ｐＨ５．５のＰＢＳと、ホタルルシフェラーゼとｔｄＴｏｍａｔｏとをコードする５８５ｎｇのｐＬｕｃ－ｔｄＴｏｍ／ｐトランスポザーゼミックスと混合することによって、ｐＤＮＡ：ＣＡＲＴ複合体を調製した。メーカーの仕様に従って、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ２０００対照を無血清ＯｐｔｉＭＥＭ培地で調製した。トランスフェクションの直前に、ＤＭＳＯ中の２ｍＭストック溶液に由来するｐＤＮＡ／ＰＢＳ溶液にＣＡＲＴを加え、正味の＋／－電荷比を５：１に達成した。複合体は、細胞に加える前に、室温で２０秒間インキュベートした。細胞を無血清Ｆ－１２培地でリンスして、次に無血清培地を含む、９６ウェルプレートの３ウェルの各々に、７．３μＬの複合体を加え、１ウェルあたり５０μＬの最終体積と、１７１ｎｇ／ウェルのｐＤＮＡ濃度にした。２４時間後、０．３ｍｇ／ｍＬのルシフェリンおよび６μｇ／ｍＬピューロマイシンを有する１００μＬの血清含有Ｆ－１２培地に、培地を交換した。ＩＶＩＳ５０またはＩＶＩＳ２００（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒのＸｅｎｏｇｅｎ Ｐｒｏｄｕｃｔライン）電荷結合素子カメラおよびＬｉｖｉｎｇ Ｉｍａｇｅ Ｓｏｆｔｗａｒｅを用いて、細胞を毎日画像化した。エラーは、±ＳＤとして表された。処理終了後、１ウェルあたり２０μＬの０．２５％トリプシンを用いて、細胞を７２時間継代した。細胞を５分間インキュベートし、次に８０μＬの血清含有Ｆ－１２培地で希釈して、ウェルあたりの最終体積を１００μＬにした。各ウェルから、３０μＬの細胞溶液を、新たな３ウェルの各々に加え、０．３ｍｇ／ｍＬのルシフェリンと６μｇ／ｍＬのピューロマイシンを有する７０μＬの血清含有Ｆ－１２培地で希釈した。元のウェルに残った１０μＬの細胞溶液を、０．３ｍｇ／ｍＬのルシフェリンと６μｇ／ｍＬのピューロマイシンを有する９０μＬの血清含有Ｆ－１２培地で希釈し、各ウェルの最終体積を１００μＬとした。

【０４３８】
ミニサークルＤＮＡ
さらなる例では、ＣＡＲＴを用いたミニサークルＤＮＡ（ｍｃＤＮＡ）の効果的な送達を示している。これらの場合、ＣＡＲＴ Ｄ１３：Ａ１１およびオレイルＣＡＲＴ Ｏ１１：Ａ９の両方によって、ルシフェラーゼをコードするミニサークルＤＮＡをＨｅＬａ細胞に送達した。これにより、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅおよびポリエチレンイミン（ＰＥＩ）の両方の製剤と比較して、高レベルのルシフェラーゼ発現（約１０倍高い）が得られた。

【０４３９】
具体的には、ルシフェラーゼレポーター系を使用して、ミニサークルＤＮＡの取り込みと発現を測定した。簡単に説明すると、ＨｅＬａ細胞を９６ウェルプレートに１５，０００細胞／ウェルで播種し、３７℃で一晩接着させた。最初に、ホタルルシフェラーゼ遺伝子と構成的プロモーターを含む２．１μＬの０．２μｇ／μＬストックのミニサークルＤＮＡと、ｐＨ５．５の５．７１μＬのＰＢＳとを予め混合することによって、ＣＡＲＴ／ミニサークルＤＮＡ複合体を調製した。ＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅおよびＰＥＩ対照を、メーカーの仕様に従って調製した。次に、トランスフェクションの直前に、ＤＭＳＯ中の２ｍＭストックに由来するこの混合物にＣＡＲＴを加えて、正味のカチオン：アニオン電荷比を１０：１（または試験する任意の他の電荷比）にした。これを２０秒混合してから、１００μＬの無血清ＤＭＥＭを含む、９６ウェルプレートの６ウェルの各々に２．５μＬを加え、ミニサークルＤＮＡの最終濃度を６２．５ｎｇ／ウェルにした。これを８時間、３７℃でインキュベートし、次に０．３ｍｇ／ｍＬのルシフェリンを含む血清含有ＤＭＥＭに培地を交換し、ＩＶＩＳのカメラシステムを用いて、細胞の生物発光について画像化した。

【０４４０】
実施例９：
ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ９編集

ＣＡＲＴ媒介性のトランスフェクションのいくつかの例では、特異的ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ９遺伝子編集を通じた標的遺伝子のノックインの成功が示されている。この場合、マウスβアクチン遺伝子の非翻訳領域を標的化するｓｇＲＮＡとともに、Ｃａｓ９をコードするｍＲＮＡをＤ１３：Ａ１１と同時配合した。ルシフェラーゼまたはｍＣｈｅｒｒｙ遺伝子と、βアクチン遺伝子由来の同じＣＲＩＳＰＲ切断部位とを含み、プロモーターを含まないミニサークルＤＮＡも同時配合した。この系を用いると、マウスゲノムとミニサークルの両方のＣａｓ９切断によって、ミニサークルベクターがβアクチン非翻訳領域に挿入されて、βアクチンプロモーターの制御下となった場合のみに、レポーター遺伝子が発現することになる。

【０４４１】

Ｃａｓ９　ｍＲＮＡおよびｓｇＲＮＡコンストラクトと蛍光レポーター遺伝子との同時配合は、これらのカーゴの存在によって、ＣＡＲＴによる核酸送達が妨げられないようにして行った。この場合、ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡは、Ｃａｓ９　ｍＲＮＡもしくはｓｇＲＮＡのいずれかとの５０％ｗ／ｗ混合物、または５０％のｅＧＦＰ　ｍＲＮＡと、２５％のＣａｓ９　ｍＲＮＡと、２５％のｓｇＲＮＡとからなる調合物として配合した。これらの例の両方で、細胞内でのｅＧＦＰの蛍光は、完全にｅＧＦＰ　ｍＲＮＡからなる調合物の約５０％であった。ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１とＣＡＲＴ　Ｏ１１：Ａ９の両方で、これと同じ結果が得られた。これにより、上述のＣＡＲＴによるＣＲＩＳＰＲ成分の同時配合の成功が裏付けられている。ＤＬＳ（標準手順に従って）による追加の特性決定によって、Ｄ１３：Ａ１１またはＯ１１：Ａ９のいずれかと、Ｃａｓ９　ｍＲＮＡとｓｇＲＮＡとの混合物で形成した粒子は、サイズが約１７３ｎｍであったことが示され、他のｍＲＮＡ転写物において観察されたサイズと一致している。

【０４４２】

ｌｕｃミニサークルコンストラクトによって上記のように配合した複合体で３Ｔ３マウス線維芽細胞を処理した場合、有意な生物発光の読み取りが観察された。スクランブルｓｇＲＮＡ配列を使用した場合、このシグナルは観察されなかったことから、このシグナルが、ルシフェラーゼ遺伝子の３Ｔ３ゲノムへの特異的挿入によるものであったことが確認された。調合物でミニサークルＤＮＡを用いた比率が高いほど、得られた生物発光が増加した。さらに、ｍＣｈｅｒｒｙを含むミニサークルで複合体を形成し、３Ｔ３線維芽細胞に曝露された場合、フローサイトメトリー解析は、その標的集団の約２％で、ｍＣｈｅｒｒｙの強力な蛍光が見られたことが示され、ゲノムの効率的な組み込みが示された。

【０４４３】

具体的には、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ９遺伝子編集は、下記の一般的な手順に従って、３Ｔ３線維芽細胞で行った。簡単に説明すると、ＨｅＬａ細胞を２４ウェルプレートに４０，０００細胞／ウェルで播種し、３７℃で一晩接着させた。最初に、１３４ｎｇのＣａｓ９ｍＲＮＡと、１３４ｎｇのｓｇＲＮＡと、ルシフェラーゼ遺伝子を含む１３４ｎｇのミニサークルＤＮＡとを、ｐＨ５．５の２２．８μＬのＰＢＳと予め混合することによって、ＣＡＲＴ／オリゴヌクレオチド複合体を調製した。次に、トランスフェクションの直前に、ＤＭＳＯ中の２ｍＭストックに由来するこの混合物にＣＡＲＴを加えて、正味のカチオン：アニオン電荷比を１０：１にした。これを２０秒混合してから、４００μＬの無血清ＤＭＥＭを含む、２４ウェルプレートの３ウェルの各々に７．５μＬを加え、各成分の最終濃度を４０ｎｇにした。これを８時間、３７℃でインキュベートした。この８時間の後、培地を血清加ＤＭＥＭに交換し、２４～４８時間放置した。インキュベート後、０．３ｍｇ／ｍＬのルシフェリンを有する血清含有ＤＭＥＭに培地を交換し、ＩＶＩＳのカメラシステムを用いて、細胞の生物発光について画像化した。

【０４４４】

実施例１０：

ｍＲＮＡワクチン接種

ワクチン接種の例では、ＣＡＲＴ単独でも、アジュバントと組み合わせたＣＡＲＴ（ｍＲＮＡは存在しない）でも、サロゲート抗原モデルにおいて、抗腫瘍防御免疫は誘導されな

い（図２）。具体的には、この例では、６～８週齢マウスに、１０^{7}個の腫瘍特異的抗原（ＴＳＡ）発現Ａ２０細胞を同時接種し、皮下注射によって、腫瘍と異なる解剖学的部位に、２０６μｇのＣＡＲＴ単独、または２０６μｇのＣＡＲＴ＋５０μｇのアジュバントで処置した。腫瘍サイズを毎日測定し、腫瘍直径が１５ｍｍ超のマウスを動物のプロトコルに従って安楽死させた。これらの対照群のいずれについても、接種されたマウスでは寿命の延長は観察されなかった。ＣＡＲＴは免疫応答を惹起しない。

【０４４５】

同時腫瘍曝露による予防接種

腫瘍接種前または接種時にワクチン接種を行うと、抗原特異的な予防応答が得られる。これらの研究では、ＴＳＡ発現腫瘍細胞を有するマウスモデルにおいて、ＴＳＡ－ｍＲＮＡ＋アジュバントを含むＣＡＲＴによるワクチン接種によって、同時配合の実施形態、またはワクチン接種時に別々に投与する場合のいずれにおいても、防御免疫が誘導されることを示している。ＣＡＲＴ／ＴＳＡ－ｍＲＮＡによる処置によって、防御を提供し、免疫刺激アジュバントの使用によって、有効性が向上する。アジュバント単独で処置したマウスでは、大きな腫瘍が急速に成長し、動物のプロトコルに従って犠牲にされた。単回用量から活発な応答が得られ、ワクチン追加免疫は不要であり、２回目の腫瘍チャレンジの際に、リコールを起こすことができる（図３）。

【０４４６】

具体的には、この例では、６～８週齢マウスに、皮下注射によって、１０^{7}個の腫瘍特異的抗原（ＴＳＡ）発現Ａ２０細胞を同時接種し、ＣＡＲＴ＋ＴＳＡ－ｍＲＮＡ＋アジュバント（上記のように配合したもの）またはアジュバント単独のいずれかで、皮下注射によって、腫瘍とは異なる解剖学的部位に処置した。最初の３０日間、腫瘍サイズを１日おきに測定した。腫瘍直径が１５ｍｍ超のマウスを安楽死させた。リコール応答実験では、ＣＡＲＴ＋ＴＳＡ－ｍＲＮＡ＋アジュバントで処置した群の生存マウスを１０^{7}個のＴＳＡ発現Ａ２０細胞で再チャレンジした。

【０４４７】

確立腫瘍の処置

大きな腫瘍の確立後、ＣＡＲＴ／ｍＲＮＡ＋アジュバントワクチンの接種を行うと、抗原特異的な治療的応答が誘導される。大きな腫瘍への接種の７日後、ＣＡＲＴ／ｍＲＮＡ＋アジュバントでの処置を行うと、腫瘍の退縮と寛解の両方が得られる（３×３μｇのＴＳＡ－ｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体）。この研究（合計５匹のマウス）では、マウスにおいて、腫瘍の成長の進行が有意に遅延し、約６０～９０日後でも、マウスの４０％（５匹中２匹のマウス）の腫瘍が完全に治癒した。ｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ＋アジュバントを用いたワクチン接種の性能は、動物試験で防御作用が繰り返し示されている確立されているタンパク質ワクチン接種策を上回る。

【０４４８】

具体的には、この例では、６～８週齢マウスに、１０^{7}個の腫瘍特異的抗原（ＴＳＡ）発現Ａ２０リンパ腫細胞を皮下接種した。腫瘍サイズが１５０ｍｍ^{3}に達したら、マウスを３回、３μｇのＴＳＡ－ｍＲＮＡ＋アジュバントと複合体を形成したＣＡＲＴ、アジュバント単独、または生理食塩水のいずれかで、皮下注射によって、腫瘍と異なる解剖学的部位で、各処置後に４日間空けて処置した。最初の４０日間、腫瘍サイズを１日おきに測定した。腫瘍直径が１５ｍｍ超のマウスを安楽死させた。

【０４４９】

腫瘍内ワクチン接種

ＣＡＲＴ／ｍＲＮＡ複合体の腫瘍内注射は、腫瘍が退縮をもたらす。確立されたＡ２０リンパ腫腫瘍を、ＣＡＲＴと複合体を形成させたｍＲＮＡで処理すると、腫瘍における４つの異なる細胞集団のサブセットで、タンパク質が発現する。Ｔ細胞機能を増強することによって、抗腫瘍免疫応答を調節すると考えられるタンパク質候補は、処理した腫瘍に対する大きな効果を示した。特に、同じ動物において、成長速度の遅延による作用は、遠位の未処理腫瘍でも観察された（図５）。これらの発見は、ｉｎ　ｓｉｔｕワクチン接種／増

強策に、転移性疾患を治療する可能性があることを示唆している。

【０４５０】

具体的には、この例では、６～８週齢マウスに、１０^{7}個のＡ２０細胞を２つの異なる解剖学的部位に同時に皮下接種した。腫瘍サイズが１５０ｍｍ^{3}に達したら、各マウスの腫瘍の１つに、ＣＡＲＴ＋１０μｇの免疫調節タンパク質ｍＲＮＡまたは生理食塩水のいずれかを３回、腫瘍内注射することで処置した。他の腫瘍は未処置のままにした。最初の２０日間、またはマウスを安楽死させる必要のあるサイズに腫瘍のサイズが達するまで、１日おきに両方の腫瘍を測定した。

【０４５１】

実施例１１：

メッセンジャーＲＮＡの送達および

放出用の電荷変動性放出性トランスポーター（ＣＡＲＴ）

本発明で提供するのは、新しい、調整可能で有効性に優れるクラスの合成生分解性材料、電荷変動性放出性トランスポーター（ＣＡＲＴ）を少ない工程数で合成することと、評価することである。本明細書において、いくつかの実施形態に従って提供されるＣＡＲＴは、構造的に独自のものであり、今まで見られなかった機序で作用し、細胞培養液と動物の両方において、タンパク質の高効率な翻訳のために、最初は、ｍＲＮＡと複合体を形成するとともに、ｍＲＮＡを保護および送達するα－アミノエステルカチオンとして機能し、その後、分解性・電荷中和性の分子内転位を通じて物理的特性を変化させて、ｍＲＮＡを放出する。この新しいｍＲＮＡ送達技術は、多くの研究および治療用途に広く適用可能である。

【０４５２】

メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）によって、そのｍＲＮＡがコードするタンパク質のインビボ合成が可能になり、急速に発展しつつあるタイプの遺伝子療法薬物であって、癌、遺伝的障害および感染症のような様々な病気の治療を一変させる可能性がある薬物の基盤を提供する。ｍＲＮＡによってコードされるタンパク質を特異的に発現させるための本発明における特定の実施形態による方法および組成物を使用することは、研究用途、画像化用途、タンパク質の補充または増強を必要とする治療用途、および予防適応と免疫療法適応の両方における新規ワクチン接種策に活用できる。

【０４５３】

本発明で提供するいくつかの実施形態による電荷変動性放出性トランスポーター（ＣＡＲＴ）は最初は、ポリアニオン性ｍＲＮＡと一過性に複合体を形成するとともに、そのｍＲＮＡを保護するポリカチオンとして機能し、その後、制御された自己犠牲機序を通じて、そのカチオン電荷、すなわち、アニオン結合能を速やかに変化させる。

【０４５４】

特定の実施形態の例として提供されるのは、ｍＲＮＡの非共有結合による複合体形成、保護、細胞内送達、および放出のために設計されている新規な種類の材料として、ＣＡＲＴを開発することである。これらのＣＡＲＴは、特有の自己犠牲機序によって転位して、カチオン性アミンを中性アミドに変換する動的なカチオン性α－アミノエステルで構成されている。この物質は、有機分子触媒的開環重合（ＯＲＯＰ）と脱保護を通じて、少ない工程数（２工程）で合成され、複数の細胞種と動物モデルにおいて、筋肉内投与および静脈内投与を介して、ｍＲＮＡを送達および放出する自己組織化高分子電解質複合体をｍＲＮＡと効果的に形成する。本明細書の実施例１０では、これらの物質によるｍＲＮＡ送達の有効性が、強固なエンドソーム脱出と、細胞質内でのｍＲＮＡの放出を惹起する特有の電荷変動性分子内転位によるものであることがさらに示されている。

【０４５５】

ｍＲＮＡの送達と関連する特定の課題に対応する動的な特性を有する新しい種類のオリゴヌクレオチド送達ビヒクルである両親媒性オリゴ（カーボネート－ｂ－α－アミノエステル）を本発明者は設計した。ｓｉＲＮＡに関する本発明者の過去の研究では、アニオン性ｓｉＲＮＡデュプレックスとナノスケールのポリプレックスを形成するように設計された

、親油性ブロックとカチオン性ブロックの両方を含むブロックコオリゴマーを用いて、効率的な送達を達成できることが示された。一本鎖ｍＲＮＡは、細胞内半減期がｓｉＲＮＡとｐＤＮＡよりも短いので、効率的な発現には速やかなエンドソーム脱出と、その後のオリゴヌクレオチド放出が不可欠なのではないかと本発明者は仮定した。これらの課題の両方に対処するために、同時にオリゴマー主鎖を切断するとともに、カチオン性アミンを中性アミドに変換する役割を果たす、速やかに自己犠牲するカチオン性ブロックが組み込まれた両親媒性オリゴマー送達ビヒクルを本発明者は考案した。細胞取り込み後に主鎖が分解すると、エンドソーム内の浸透圧を向上させることによって、エンドソームの破裂を促すと仮定されている。さらに、この機序は同時に、ポリアニオン成分とポリカチオン成分のマルチサイトかつ静電的な会合を解消して、細胞質内でのｍＲＮＡの放出と、その後の遺伝子発現を促す。

【０４５６】

以前、Ｎ－保護モルホリン－２－オンのＯＲＯＰによって、ポリ（α－アミノエステル）（図７Ａ、１）を合成することを本発明者は報告したが、その後、本明細書に記載されているように、これをｍＲＮＡの送達に使用する研究に至った。その官能化ラクトンモノマーは、高収率な２工程で、市販の出発物質から容易に生成される。これらのモノマーは、有機分子触媒的条件下で、第一級アルコール開始剤によって開環して、鎖長および分散度が正確に制御されたポリ（α－アミノエステル）を得ることができる。脱保護時には、オリゴマーは水溶性（０．５Ｍ超）であり、非緩衝水において安定である（D_2Oにおいて２日超安定である）。しかしながら、これらのオリゴマーは、周知のポリ（β－アミノエステル）とは異なり、弱塩基性条件に曝露されると、制御された自己犠牲転位を通じて、５分未満に分解し、本発明では、これを利用して、静電的相互作用の喪失によるｍＲＮＡの放出を促す。

【０４５７】

この分解機序の研究によって、アンモニウムカチオンが部分的に脱プロトン化して、５員遷移状態を経て、主鎖エステルへの分子内環化を可能にすることが示されている（図７Ａ）。主鎖のこの最初の収縮後、隣接するモノマー単位の窒素基が、６員遷移状態を経る２回目の環化に関与して、ヒドロキシエチルグリシン（ＨＥＧＤ、２）の小分子ダイマー（メイラード反応の既知の無毒代謝物）を形成する。この転位は非常に速く、効率的であり、ホモオリゴマーは、ｐＨ７．４において、２分未満の$t_{1/2}$で分解する。この系特有の再活性は、カルボニルによる、必要な求核性アミンの脱プロトン化と同時に進行する誘導的および水素結合相互作用による、主鎖エステルカルボニルの相補的活性化によって説明できる。新たに形成されたヒドロキシエチルアミドによる、６員遷移状態の硬直化によって、最後の環化が促され、ＨＥＧＤ２が形成される。この転位に関する機序と変異形態のさらなる研究については、別途報告するが、ポリカチオン性オリゴマーを電荷中性断片に速やかに変換するこの系特有の動態は、ポリアニオン性薬物とプローブ送達に対して広く活用可能な概念である可能性がある。

【０４５８】

ドデカノールで官能化された親油性カーボネートブロックが自己犠牲α－アミノエステルのカチオン性ブロックに付加されていることを特徴とするｍＲＮＡを送達するための材料を本発明者は設計し、この材料は、ＯＲＯＰ手法を用いて、環状カーボネートとともに、モルホリン－２－オンモノマーを共重合化することによって容易に得られる（図７Ｂ）。

【０４５９】

この技術の魅力的な面は、ジブロックコオリゴマーにおける親油性ポリマードメイン（または脂質ブロック）の長さの違いを用いて、性能を調整できる点である。第一級アルコールを用いて、ドデシル－カーボネートブロックの開環を開始させてから、カチオン性ブロックの付加とオリゴマー化を行って、少数の一連のオリゴマー送達ビヒクルを合成した。この方策を用いて、平均で１３個の脂質モノマー単位と、１１個のカチオン性モノマー単位を含むオリゴマー（Ｄ１３：Ａ１１、７）と、１８個の脂質単位と、１７個のカチオン性単位を含むオリゴマー（Ｄ１８：Ａ１７、８）と、１３個のカチオン性単位のホモオリ

ゴマー（Ａ１３、９）を合成した。各々の新しいベクターは、２つの工程のみで作製でき、プロセス所要時間をわずか数時間にできる。

【０４６０】

ＣＡＲＴ送達ビヒクルに適用する場合のこの転位への理解を深めるために、ゲル浸透クロマトグラフィー（ＧＰＣ）を用いて、生理学的ｐＨにおけるオリゴ（カーボネート－ｂ－α－アミノエステル）の動態を解析した。転位反応が、両親媒性ＣＡＲＴのカチオン性結合部分のみに影響を与えるが、親油性ドメインは無傷のままにすることを示すために、モデルコオリゴマーＰｙｒ－Ｄ１５：Ａ１２（１０）をｐＨ７．４のＰＢＳ緩衝液に溶解して、転位させた（図８Ａ）。１時間後、溶液を濃縮し、ＧＰＣによって解析した（図８Ｂ）。分解したコオリゴマーのＧＰＣトレースを、独立して合成したＰｙｒ－Ｄ１５オリゴマー１１と、転位およびＢｏｃ脱保護の前のＰｙｒ－Ｄ１５：Ａ１２ブロックコオリゴマーと比較した。予想どおり、保護Ｄ１５：Ａ１２ブロックコオリゴマーのＧＰＣトレースでは、ホモオリゴマーＰｙｒ－Ｄ１５１１よりも高い分子量を示す（それぞれ、６．４ｋＤａおよび４．６ｋＤａ）。しかしながら、ｐＨ７．４のＰＢＳ緩衝液に曝露後には、脱保護ブロックコオリゴマーでは、分子量の低下（４．３ｋＤａ）を示し、その値は、Ｐｙｒ－Ｄ１５脂質ブロック（４．６ｋＤａ）とほぼ同程度であったことから、生理学的ｐＨでは、ＣＡＲＴのカチオン性部分は分解するが、親油性ブロック全体は無傷のままであることが示唆されている。同じＧＰＣデータから得られたＵＶトレースによって、開始アルコール（この場合、ピレンブタノールであるが、他の求核性アルコール、アミンおよびチオールを用いることもできる）は、親油性ブロックに結合したままであり、ＣＡＲＴを様々な細胞と器官を標的にする他の官能基（リガンドなど）を付加するのに、このアルコールを使用する今後の研究が可能になることが示されている。

【０４６１】

ｍＲＮＡの送達ビヒクルとしてのＣＡＲＴの有効性を評価するために、増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）ｍＲＮＡをモデルレポーター遺伝子として選択した。処理後、ｅＧＦＰの蛍光のフローサイトメトリー解析を行うことによって、平均タンパク質発現と、ベースラインの蛍光レベル（トランスフェクション率（％））を上回るレベルを示した細胞の割合の同時定量が可能になる。ＣＡＲＴ複合体による処理後の遺伝子発現を、陽性対照としての市販薬剤のＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　２０００（Ｌｉｐｏ）の場合と、ｓｉＲＮＡ送達に特に有効であることが分かっている２つの化合物（Ｄ４：Ｇ４（１２）およびＤ１２：Ｇ１２（１３））の場合と比較した。メーカーの指示に従ってＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅと配合したｍＲＮＡでＨｅＬａ細胞を処理したときには、中程度の遺伝子発現が観察された（図９Ａ）。しかしながら、この条件では、細胞トランスフェクション率は約５０％に過ぎず、細胞集団の半分は、ｅＧＦＰの発現を示さなかった（図９Ｂ）。全く対照的に、本発明者の設計したオリゴ（カーボネート－ｂ－α－アミノエステル）ＣＡＲＴのＤ１３：Ａ１１７では、高度なｅＧＦＰ発現が見られ、注目すべきことに、９９％超のトランスフェクション効率と、高い平均蛍光値が見られた。さらに長いブロック長の第２のオリゴ（カーボネート－ｂ－アミノエステル）ＣＡＲＴ（Ｄ１８：Ａ１７８）でも、高いトランスフェクション効率（９０％超）が得られたが、平均トランスフェクション値は上記よりも低かった。α－アミノエステルホモオリゴマーで形成した複合体（Ａ１３９）は、ｅＧＦＰの発現を誘導しなかった。これにより、疎水性ドメインと親水性ドメインとの有意な相分離によって、ナノ粒子の形成が安定化され、親油性の向上により、膜会合と取り込みが促進されるという以前の観察結果も確認される。グアニジニウムで官能化された両親媒性オリゴカーボネートＤ４：Ｇ４１２とＤ１２：Ｇ１２１３では、ｓｉＲＮＡ送達剤としての効能とは対照的に、ｍＲＮＡの発現を示さなかった。これらの材料には、受動的加水分解を超越して分解したり、カーゴを放出したりする機序はないので（ｔ１／２：８時間超）、それにより、エンドソーム脱出と細胞質内への放出が、ｍＲＮＡ送達の際には、ｓｉＲＮＡの際よりも速やかなタイムスケールで行われなければならないという本発明者の仮説が裏付けられる。

【０４６２】

ＣＡＲＴ７によって送達パラメータを最適化するために、カチオン性オリゴマーとアニオン性ｍＲＮＡとの電荷比を１：１～５０：１（＋／－）に変動させ、得られたｅＧＦＰの蛍光は決定された（図９Ｃ）。値は、完全なアミンプロトン化およびホスフェート脱プロトン化と仮定して、アンモニウムカチオンとホスフェートアニオンの理論的な（＋／－）電荷モル比として報告されている。ｅＧＦＰ発現は、電荷比に対しておおよそ放物線状の依存性を示し、ｅＧＦＰの最大蛍光は、１０：１の（＋／－）電荷比で形成した複合体に起因するものであった。この値は、ｓｉＲＮＡ送達用の、グアニジニウムに富むオリゴカーボネート複合体（４．８：１の電荷比で最適な性能を示した）で観察された値よりも高く、これは、アンモニウムカチオンとホスフェートアニオンとの静電的相互作用が多少低いことによる可能性が高く、グアニジニウムイオンの場合では、ΔＧ＝－０．５７５ｋｃａｌ／ｍｏｌであるのに対して、アンモニウムイオンの場合では、－０．４１７ｋｃａｌ／ｍｏｌである。すべてのさらなる実験は、この１０：１という最適化（＋／－）電荷比を用いて行った。落射蛍光顕微鏡をさらに使用して、フローサイトメトリーの結果を確認した（図９Ｄ）。ＣＡＲＴ／ｍＲＮＡ複合体で処理したＨｅＬａ細胞は、ほぼすべての視認可能な細胞で、有意な蛍光を示している。対照的に、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅで処理した細胞では、部分的なｅＧＦＰ発現を示し、他の細胞は、トランスフェクトされないままであった。

【０４６３】

ｍＲＮＡの送達に適用した場合のオリゴ（カーボネート－ｂ－α－アミノエステル）ＣＡＲＴの性能に関与すると本発明者が仮定した犠牲転位機序をさらに理解するために、一連の実験を行った。インビトロトランスフェクションに使用される条件と同様の条件下で、動的光散乱（ＤＬＳ）を使用して、ＣＡＲＴ７と、ＣＡＲＴ７とｍＲＮＡとで形成した高分子電解質複合体を解析した。ｍＲＮＡ含有ポリプレックスを細胞培地に加えた場合、その流体力学的サイズは、最初は２５４ｎｍであったが、２時間をかけて、５１２ｎｍまでゆっくり増大した。観察されたサイズの増大には、カチオン性α－アミノエステルブロックが中性アミドへ部分的に転位して、関連する脂質セグメントの凝集が生じたことが反映されている。これは、ＥＳＩ－ＭＳによって確認され、同じタイムスケールで、ＨＥＧＤ小分子の相対的な強度が向上したことを示した。ｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ粒子を非緩衝水に加えると、サイズは、２時間の実験全体を通じて、２５４ｎｍ＋／－１０ｎｍで一定のままである。これには、α－アミノエステルホモオリゴマーがこれらの条件下で転位しない結果が映し出されている。ゼータ電位測定値は、粒径データと一致しており、表面電荷は、最初、調合直後には、カチオン性の高い＋３３ｍＶであり、２時間をかけて－３０ｍＶになる。これも、カチオン性アンモニウム部分が中性アミドに転位し、関連するオリゴヌクレオチドにより、表面は主にアニオン性のままになることと一致している。粒径は、カーゴ依存性ではなかった。長さがｅＧＦＰの２倍超であるルシフェラーゼ（Ｆｌｕｃ）ｍＲＮＡ（Ｆｌｕｃ＝１９２９ｎｔに対して、ｅＧＦＰ＝９９６ｎｔ）とともに、ポリプレックスを形成して、ｐＨ７．４の細胞培地に加えたところ、粒子は、同じ挙動を見せ、最初は２７３ｎｍであり、２時間をかけて、４４４ｎｍまでゆっくり増大した。これは、同じＣＡＲＴによって、今後、多種多様なオリゴヌクレオチドの送達が可能になることを示唆している。ｍＲＮＡカーゴを加えなかった場合、オリゴ（カーボネート－ｂ－アミノエステル）ＣＡＲＴは、その両親媒性構造により、ミセルを形成した。これらのミセルは、非緩衝水において、６８ｎｍのサイズで安定したままであった。しかしながら、これらのミセルを細胞培地（ｐＨ７．４）に加えたところ、ＤＬＳによって特徴付けることができない凝集体を速やかに形成した。ホモオリゴマー単独（ｔ１／２＝２分）と、オリゴ（カーボネート－ｂ－アミノエステル）ミセル（３０分以内に５００ｎｍ超に凝集）と、ｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体（２時間後に５００ｎｍに凝集）の複合転位データでは、ｍＲＮＡとの高分子電解質複合体を形成すると、おそらくは、脱プロトン化とそれによる転位の速度の低下によって、水性環境におけるα－アミノエステル材の安定性が向上することが示されている。このことにより、これらの材料が、ｐＨ７．４において、治療上関連するタイムスケールで分解可能になる一方で、未緩衝化条件下での保存と調合に十分な安定性を保

つことができる。
【０４６４】
最初に、細胞進入の機序を決定するために、Ｃｙ５標識ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡを使用して、エンドサイトーシスプロセスを阻害することが知られている条件である４℃での細胞取り込みと、３７℃での正常な取り込みを比較した。ＨｅＬａ細胞をこれらの条件下で処理したところ、Ｃｙ５－ｍＲＮＡの取り込みの有意な（８５％）低下が観察された（図１０Ａ）。これは、２５０ｎｍの粒子を特徴とする、予測されたエンドサイトーシス機序と一致している。
【０４６５】
オリゴ（カーボネート－ｂ－アミノエステル）ＣＡＲＴによる自己犠牲放出機序を調べるために、７での処理に起因する粒子取り込みと遺伝子発現を、ｍＲＮＡの送達に有効でないカチオン性オリゴマーと直接比較した。ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡとＣｙ５標識ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡとの混合物を送達することによって、ｍＲＮＡのインターナリゼーションと遺伝子発現を切り離して、同時に定量でき、Ｃｙ５の蛍光は、エンドソーム脱出または放出と関係なく、インターナリゼーションされたｍＲＮＡを示し、ｅＧＦＰの蛍光は、ｍＲＮＡの細胞質内放出（これにより、翻訳が可能になる）を示す。本発明者は、この方法を使用して、Ｄ１３：Ａ１１ＣＡＲＴ７と同等の長さの２つの追加のカチオン性ブロックコオリゴマーを調整することによって、主鎖構造とカチオンの種類が取り込みと発現の両方に及ぼす作用を調べた。細胞取り込みと遺伝子発現の両方に関して、３つのオリゴマー、犠牲アンモニウム含有ＣＡＲＴ（Ｄ１３：Ａ１１７）、非電荷変動性グアニジニウム含有オリゴマー（Ｄ１３：Ｇ１２１３）と、非電荷変動性アンモニウム含有オリゴマー（Ｄ１３：Ｐｉｐ１３１４）を直接比較した。
【０４６６】
オリゴマー７、１３および１４をＣｙ５－ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡと１０：１の（＋／－）比率で混合して、得られた複合体をＨｅＬａ細胞に加えた。Ｃｙ５の蛍光によって定量したところ、すべてのコオリゴマーで、ほぼ同レベルのｍＲＮＡの取り込みが見られたが（図１０Ｂ）、電荷変動性のＤ１３：Ａ１１７のみで、ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡの検出可能な発現が見られた。このデータは、すべてのｍＲＮＡ複合体が、細胞に効率的にインターナリゼーションされるが、速やかに分解される主鎖がないので、非ＣＡＲＴ複合体はエンドソームを脱出せず、または細胞質でのｅＧＦＰの発現を可能にするのに必要なタイムスケールで、ｍＲＮＡを放出しないことを示している。Ｄ１３：Ｐｉｐ１３１４の非犠牲アンモニウム含有オリゴマーで形成した複合体によって、ｅＧＦＰの発現が見られないことから、この放出を説明するのは、単に、アンモニウムカチオンとグアニジニウムカチオンとの静電的結合親和性の違いではないことがさらに示されている。むしろ、カチオン電荷の特異的な、制御された形での損失、小分子への転位が、有効性のためには不可欠である。
【０４６７】
本発明のオリゴ（カーボネート－ｂ－α－アミノエステル）材料で観察される電荷変動機序は、ｍＲＮＡの結合を無効にして、ＨＥＧＤ小分子の形成を誘発して、エンドソーム脱出および／またはｍＲＮＡの放出を促進できる。この機序をさらに理解するために、ＨｅＬａ細胞をｍＲＮＡ／ＣＡＲＴ複合体とエンドソーム微小環境に影響を与えることが知られている２つの化合物で同時処理した。コンカナマイシンＡ（ＣｏｎＡ）は、エンドソームの酸性化を阻害することが示されている特異的Ｖ－ＡＴＰａｓｅ阻害剤である。遺伝子送達で使用される他のカチオン性アンモニウム含有材料は、この材料または類似の化合物で同時処理すると、プロトンスポンジ効果によるエンドソーム緩衝浸透圧破裂の低減により、細胞質オリゴヌクレオチド濃度と、その後の遺伝子発現の急激な低下を示す。カチオン性脂質ナノ粒子とＰＥＩなどの化合物は、Ｖ－ＡＴＰａｓｅ阻害剤で処理すると、遺伝子送達が１０～２００倍低下したが、本発明のα－アミノエステルＣＡＲＴ７は、ＣｏｎＡによる処理からあまり影響を受けない（図１０Ｃ、２１％低下、ｐ＝０．１７７）。これは、この系では、エンドソーム脱出または遺伝子発現を実現するのに、エンドソームの酸性化と緩衝化は必要ではないことを示している。クロロキン（Ｃｈｌ）は、エンドソー

ムの緩衝化と破壊を増大させることによって、遺伝子送達を増大させるのに使用されているリソソーム指向剤である。緩衝機能が組み込まれていない遺伝子送達材料（メチル化ＰＥＩなど）によって、遺伝子発現のかなりの増大（２～３倍）が見られる一方で、緩衝化ベクター（ＰＥＩなど）が影響を受けないことが他の研究者によって示されている。本発明のＣＡＲＴでは、発現のわずかな低下（２２％低下、ｐ＝０．４６９）を示したに過ぎず、おそらく、脱重合化とＨＥＧＤ（２）の形成により、浸透圧破裂を通じた効率的な脱出がすでに生じているという理由で、エンドソーム脱出が、オリゴ（カーボネート－ｂ－アミノエステル）ＣＡＲＴによるｍＲＮＡの送達における制限因子ではないことが示されている。

【０４６８】

オリゴ（エステル－ｂ－アミノエステル）ＣＡＲＴによるｍＲＮＡの放出およびエンドソーム脱出の作用を、試料の無効送達ビヒクル（Ｄ１２：Ｇ１２、１３）と比較したものは、トランスポーター（結合したダンシルフルオロフォア３を使用）、Ｃｙ５－ｍＲＮＡおよびテトラメチルローダミン（ＴＲＩＴＣ）－デキストラン４４００（エンドソーム区画の染色）の検出を用いる共焦点顕微鏡によってさらに確認できる。ＣＡＲＴ（７）／Ｃｙ５－ｍＲＮＡ複合体で処理した後、細胞を４時間画像化すると、Ｃｙ５シグナルと、トランスポーターに結合したダンシル（３）の両方の蛍光はいずれも、本質的に主に散乱することから、これらの物質が、無事にエンドソームを脱出し、ナノ粒子複合体から解離したことが示されている（図１０Ｄ、ｉ）。ダンシルシグナル（図１０Ｄ、ｉｉ）において観察された点は、放出された脂質ブロックの多少の細胞内凝集に起因する可能性が高い。ＴＲＩＴＣに由来するシグナルでも、比較的散乱した蛍光が見られ、この蛍光は、エンドソームが破裂し、捕捉されていたデキストランを放出すると生じると思われる。しかしながら、細胞を非犠牲Ｄ：Ｇ（１３）／Ｃｙ５－ｍＲＮＡ複合体で処理すると、Ｃｙ５とダンシルの両方の蛍光とも、かなり多くの点状であり、共局在している（図１０Ｄ、ｉｉｉ）。さらに、この蛍光は、点状のＴＲＩＴＣ－デキストラン４４００との大きな重複が見られ、エンドソーム捕捉の継続を示している。まとめると、これらのデータは、ＣＡＲＴ７の電荷変動性挙動が、その優れたｍＲＮＡ送達性能を担っていることを強く示唆している。

【０４６９】

オリゴ（カーボネート－ｂ－アミノエステル）Ｄ１３：Ａ１１７をｍＲＮＡ送達に対するＣＡＲＴの多様性を調べるために追加の用途において評価した。典型的にはトランスフェクトすることが困難とみなされている細胞株を含む細胞株パネルで、ＣＡＲＴ７による送達後のｅＧＦＰ　ｍＲＮＡの発現をアッセイした。ＨｅＬａですでに行った最適化実験に加えて、ＣＨＯ細胞、ＨＥＫ－２９３細胞、ヒト肝細胞癌（ＨｅｐＧ２）細胞およびマウスマクロファージＪ７７４細胞において、０．１２５μｇ／ウェルのｅＧＦＰ　ｍＲＮＡと形成させたＣＡＲＴ複合体で処理することによって、ｍＲＮＡの発現をＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅと比較した（図１１Ａ）。試験したすべての細胞株において、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１７を用いた場合のトランスフェクション効率は、９０％超であったが、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅでは、２２～５５％しか誘導されなかった。これは、この送達系が、様々なヒト細胞株とヒト以外の細胞株で汎用的であることを示唆している。Ｄ１３：Ａ１１（７）は、ホタルルシフェラーゼ（Ｆｌｕｃ）ｍＲＮＡの送達においても、有効性が高く、性能が実質的にＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅを上回っているため、ＣＡＲＴ媒介性送達は、様々な細胞株で一貫しているのみならず、様々な長さのｍＲＮＡでも一貫している。（図１１Ｂ）。ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡで観察された傾向と同様に、ｍＲＮＡの長さの違い（１９２９ｎｔに対して９９６ｎｔ）にかかわらず、１０：１の（＋／－）比率によって、最高レベルのＦｌｕｃ生物発光が得られたことから、送達効率は、ｍＲＮＡの長さにほとんど依存しないことが示されている。

【０４７０】

生物発光イメージング（ＢＬＩ）は、生きている動物におけるｍＲＮＡの送達、発現および体内分布を定量するための強力なツールを提供する。全身投与経路と局部投与経路の両

方において、ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡ複合体の有効性を評価するために、麻酔したＢＡＬＢ／ｃマウスにおいて、ＢＬＩを用いて、ＣＡＲＴと複合体を形成させたＦｌｕｃ　ｍＲＮＡの静脈内および筋肉内注射を本発明者は評価した。各マウスにおいて、７．５μｇのｍＲＮＡと、ＣＡＲＴ　Ｄ１３：Ａ１１７との複合体を形成して、筋肉内注射によって、右大腿部筋肉に、７５μＬのＰＢＳ中で投与した。直接対照として、７．５ｕｇのネイキッドｍＲＮＡを反対の側腹部に注射した。Ｄ－ルシフェリンを全身投与し、注射の１時間後から、ルシフェラーゼの発現を７２時間にわたって評価した。ｍＲＮＡをＤ１３：Ａ１１で送達した場合、注射部位で、高レベルのルシフェラーゼ活性が観察された（図１１Ｃ、Ｄ）。この発現は、４時間時点にピークとなり、７２時間後でも観察可能であった。しかしながら、ネイキッドｍＲＮＡは、５匹のマウスすべてにおいて、光量子束によって測定されるように、低レベルのルシフェラーゼ発現しか見られなかった。

【０４７１】

尾静脈内注射によって同じ用量で複合体を投与した場合、本発明者は、注射から１時間後という早さで、活発な腹部生物発光を観察し、４時間時点にピークとなったことから、本発明の複合体は、局在して、ｍＲＮＡを主に脾臓に送達し、肝臓においても、高レベルの生物発光が検出可能であることが示された（図１１Ｅ、Ｆ）。高レベルの発現は２４時間持続し、４８時間後でも、検出可能な生物発光が見られた。この発現は主に、脾臓と肝臓に局在し、腹部での総光出力のうち、平均して２３％が脾臓に由来し、７０％が肝臓に由来する。ネイキッドｍＲＮＡをＰＢＳ中で投与した場合、ルシフェラーゼ生物発光は観察されなかった。注射したすべてのマウスにおいて、注射の直後に、または処置から数週間後、毒性は観察されなかった。

【０４７２】

インビボで、複数の投与経路によって機能性ｍＲＮＡを送達できることは、送達技術において重要である。局所筋肉内注射は、投与の容易さと、皮膚組織と筋肉組織においてナイーブ樹状細胞と抗原提示細胞にアクセスできることにより、ワクチン接種を含む多くの療法において好ましい投与経路であることができる。尾静脈を通じたｍＲＮＡポリプレックス製剤の静脈内注射は、肝臓、リンパ節および脾臓のような細網内皮系沿いにある特異的標的または固体腫瘍の標的を対象とする全身投与用として、広範囲にわたって有用である。脾臓への局在は、それらの組織における高レベルな樹状細胞およびその他の免疫細胞を踏まえると、免疫療法に関する今後の研究の際に特に魅力的である。肝臓への局在は、肝疾患の治療に利用できる。

【０４７３】

メッセンジャーＲＮＡ療法には、疾患治療を一変させる可能性があるが、ｍＲＮＡを利用するための重大な技術的課題は依然として、安全で汎用的かつ有効な送達方法の開発である。ｍＲＮＡを細胞および動物に優れた効率で送達するための前例のない機序を通じて作用する調整可能で工程数の少ない独自のｍＲＮＡ送達策を本発明者は開発した。本発明者のアプローチは、ＯＲＯＰと全脱保護を用いて、オリゴ（カーボネート－ｂ－アミノエステル）送達ビヒクルを調製する２工程プロセスに頼るものである。細胞内送達後、これらの電荷変動性物質は、驚くべき分子内転位を起こし、その際、カチオン性アミンが中性アミドに変換されて、その静電的複合体からアニオン性ｍＲＮＡを放出し、翻訳のために、その核酸を細胞質中に放出する。これらのＣＡＲＴを用いるｍＲＮＡ送達の有効性は、細胞と動物の両方において機能性タンパク質を発現させる新たなｍＲＮＡ送達策を表す。

【０４７４】

実施例１２：

癌を治療するためのｍＲＮＡまたはＤＮＡをコードするＣＡＲのインビボ送達

材料。試薬は、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈから購入し、特に明記されていない限り、受け取ったままの状態で使用した。１－（３，５－ビス－トリフルオロメチル－フェニル）－３－シクロヘキシル－チオ尿素（１）、脂質官能化モノマー（２，３）、およびＢｏｃ－モルホリノンモノマー（４）を文献の手順に従ってすべて調整した。再生セルロース透析膜（Ｓｐｅｃｔｒａ／Ｐｏｒ６　Ｓｔａｎｄａｒｄ　ＲＣ、分子量カットオフ１，００

０）は、Ｓｐｅｃｔｒｕｍ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．から購入した。Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ２０００は、Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓから購入した。ＭＴＴは、Ｆｌｕｋａから購入した。

【０４７５】

ｍＲＮＡＦｌｕｃ ｍＲＮＡ（５ｍｅＣ、Ψ、Ｌ－６１０７）、および分泌型アルカリホスファターゼ（ＳＥＡＰ）（対照ｍＲＮＡ）は、Ｔｒｉｌｉｎｋ ＢｉｏＴｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓから購入した。購入したすべてのｍＲＮＡは、キャッピング、ポリアデニル化されており、５－メトキシウリジン修飾を含む。

【０４７６】

ＣＡＲ－１９コンストラクト：ＣＡＲ－１９ ｍＲＮＡは、ｍＣＤ１９＿２８＿Ｚ．１－３配列をｐｃＤＮＡ３．１（＋）プラスミドにクローニングすることによってインハウスで生成された。プラスミドは、製造プロトコル（Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ ｂｉｏｌａｂｓ）に従ってＮｏｔＩ制限酵素を用いて直線化され、フェノール：クロロホルム抽出とそれに続くアルコール沈殿を用いて抽出した。次に、ＩＮＣＯＧＮＩＴＯ（商標）Ｔ７ ＡＲＣＡ ５ｍＣ－＆Ｙ－ＲＮＡ転写キット（Ｃｅｌｌｓｃｒｉｐｔ）を用いて、直線化されたプラスミドからｍＲＮＡを転写した。

【０４７７】

計装。フローサイトメトリー解析は、ＢＤ ＬＳＲＩＩ．ＵＶ ＦＡＣＳアナライザーで行った（Ｓｔａｎｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｓｈａｒｅｄ ＦＡＣＳ Ｆａｃｉｌｉｔｙ）。生物発光は、ＣＣＤカメラ（ＩＶＩＳ１００，Ｘｅｎｏｇｅｎ Ｃｏｒｐ．）を用いて測定し、Ｌｉｖｉｎｇ Ｉｍａｇｅ Ｓｏｆｔｗａｒｅ（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を用いて解析した。

【０４７８】

細胞株。Ａ２０細胞は、１０％ＦＢＳと１％ペニシリン／ストレプトマイシンとを添加したＲＰＭＩで維持した。非接着細胞は、接着を防ぐために１％のポリ（ビニルアルコール）（ＰＶＡ）を加えて処理された。マウス初代Ｔ細胞の場合、６～８週齢のＢＡＬＢ／ｃマウスの脾臓から単細胞懸濁液を調製した。これらの懸濁液から、Ｐａｎ Ｔ細胞単離キットＩＩ （Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ ＧｍｂＨ）を用いて、メーカーのプロトコルに従って未処理のＴ細胞を単離した。すべての細胞を、３７℃において、５％CO_2の雰囲気で増殖させた。細胞は、約８０％コンフルエントで継代した。

【０４７９】

混合脂質ＣＡＲＴの調製：グローブボックス内のN_2雰囲気下で撹拌棒を備えたオーブン乾燥した１ドラムバイアルに、ＭＴＣオレイル（６当量、０．０７７ｍｍｏｌ、３１．１ｍｇ）およびＴＵ（０．０５当量、０．００３８ｍｍｏｌ、１．４ｍｇ）を加えた。これに、トルエン中の１Ｍ溶液としてベンジルアルコール（１当量、０．０１２８ｍｍｏｌ、１２．８μＬ）を加え、続いてさらに１３４μＬのトルエン（ＭＢＯＣモノマーに関して１Ｍ）を加えた。次に、触媒作用のある１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン（ＤＢＵ）（１滴）を溶液に加え、反応物をグローブボックスで室温で１時間撹拌した。この時点で、ＭＴＣノネニル（６当量、０．０７７ｍｍｏｌ、２１．７ｍｇ）を反応物に加えた。さらに１時間撹拌した後、ＭＢＯＣ （１２．６６当量、０．１２３ｍｍｏｌ、２７ｍｇ）を反応物に加え、さらに４時間撹拌した後、安息香酸でクエンチした。反応物を、メタノール中で一晩透析した（１．０ｋＤａ透析バッグ）。濃縮により、保護コオリゴマーＳ９が透明な油として得られた。重合度は、１Ｈ ＮＭＲ末端基解析およびＴＨＦ中のＧＰＣによる分散度によって決定された。続いて、ＤＣＭ中の１０％ＴＦＡで、Ｎ２下、室温で一晩脱保護すると、ＣＡＲＴ Ｏ５－ｂ－Ｎ６：Ａ９（９）が得られた。完全な保護基の除去は、１Ｈ ＮＭＲ（CD_3OD）によって確認された。

【０４８０】

インビボｍＲＮＡの送達およびフローサイトメトリー。ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡポリプレックスは、１００μＬの総量でマウスあたり５μｇのｍＲＮＡを用いて、上記のように調製された。複合体を２０秒間混合した後、雌のＢＡＬＢ／ｃマウスに尾静脈内注射した。Ｆｌ

ｕｃ発現の場合：７時間後、１５０ｍｇ／ｋｇのＤ－ルシフェリンを腹腔内注射し、ＩＶＩＳイメージングシステムＣＣＤカメラを使用して発光を測定し、Ｌｉｖｉｎｇ Ｉｍａｇｅ ソフトウェアを用いて解析した。脾臓細胞からＴ細胞を単離するために、動物を殺し、脾臓を７０μｍセルストレーナーに通し、続いてＡＣＫ溶解緩衝液で血球を溶解し、ＰＢＳで２回洗浄することによって、単細胞懸濁液を調製した。メーカープロトコルに従って、Ｐａｎ Ｔ細胞単離キット（Ｍｉｌｔｎｅｙ Ｂｉｏｔｅｃ）を用いて、Ｔ細胞を単離した。ＣＡＲ１９ ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴ処理後の脾臓細胞におけるＣＡＲ１９発現のために、脾臓細胞を２つの染色群に分割し、ＣＤ８（ＡＰＣ）、ＣＤ４（ＰＥ）、およびＢ２２０（ＰｅｒＣｐ）またはＣＤ４９ｄ（ＡＰＣ）の蛍光抗体を染色した。ＣＡＲ１９コンストラクトは、ＦＩＴＣに結合したマウス抗ラットカッパ鎖抗体を用いて検出された。Ｐａｃｉｆｉｃ Ｂｌｕｅ ｃｈａｎｎｅｌを用いて、ＬＳＲ－ＩＩ．ＵＶ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で解析を行った。実験プロトコルは、実験動物管理に関するＳｔａｎｆｏｒｄ Ａｄｍｉｎｉｓｔｒａｔｉｖｅ Ｐａｎｅｌによって承認された。

【０４８１】

インビボ生物発光。生物発光評価のために、注射および画像化手順の間、マウスをイソフルランガス（酸素中の２％イソフルラン、１リットル／分）で麻酔した。ｄ－ルシフェリン（Ｂｉｏｓｙｎｔｈ ＡＧ）の腹腔内注射は１５０ｍｇ／ｋｇの用量で行われ、Ｆｌｕｃ酵素の飽和基質濃度を提供した（ルシフェリンは血液脳関門を通過する）。マウスは、冷却された電荷結合素子カメラを備えたインビボ光学イメージングシステム（ＩＶＩＳ１００、Ｘｅｎｏｇｅｎ Ｃｏｒｐ．）を使用して、遮光チャンバー内で画像化された。画像記録中、マウスはノーズコーンを介して送達されたイソフルランを吸入し、カメラシステムのダークボックス内で体温を３７℃に維持した。ルシフェリン投与後、１０～２０分で生物発光画像を取得した。マウスは通常、画像化から２分以内に麻酔から回復した。

【０４８２】

マウスおよび細胞株。８～１２週齢の雌のＢａｌｂ／ｃマウスをＪａｃｋｓｏｎ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙから購入し、Ｓｔａｎｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｃｅｎｔｅｒの実験動物施設に収容した。すべての実験は、実験動物管理に関するＳｔａｎｆｏｒｄ Ａｄｍｉｎｉｓｔｒａｔｉｖｅ Ｐａｎｅｌによって承認され、Ｓｔａｎｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ａｎｉｍａｌ ＦａｃｉｌｉｔｙおよびＮＩＨガイドラインに従って実施された。

【０４８３】

ＣＡＲ１９ ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴを用いた確立された腫瘍の腫瘍内処置。ＣＤ１９発現腫瘍を腹部の右側の皮下に移植した。処置は、腫瘍が最大直径で７ｍｍ～１０ｍｍに達したときに開始した。５ｕｇのＣＡＲ１９ ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴを腫瘍内に腫瘍内注射した。腫瘍サイズをデジタルノギス（Ｍｉｔｕｔｏｙｏ）で２～３日ごとにモニターし、体積（長さ×幅×高さ）で表した。ガイドラインに従って、腫瘍サイズが最大直径で１．５ｃｍに達したときにマウスを犠牲にする。

【０４８４】

ＣＡＲ１９ ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴを用いた確立されたＣＤ１９発現およびＣＤ１９陰性腫瘍の静脈内処置。ＣＤ１９発現およびＣＤ１９陰性腫瘍を腹部の右側の皮下に移植した。処置は、腫瘍が最大直径で７ｍｍ～１０ｍｍに達したときに開始した。５ｕｇのＣＡＲ１９ ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴを静脈内注射した。腫瘍サイズをデジタルノギス（Ｍｉｔｕｔｏｙｏ）で２～３日ごとにモニターし、体積（長さ×幅×高さ）で表した。ガイドラインに従って、腫瘍サイズが最大直径で１．５ｃｍに達したときにマウスを犠牲にする。

【０４８５】

統計的解析。Ｐｒｉｓｍソフトウェア（ＧｒａｐｈＰａｄ、Ｌａ Ｊｏｌｌａ、ＣＡ）を使用して、腫瘍の成長を解析し、ノンパラメトリックなマンホイットニーＵ検定を適用して群間の差異の統計的有意性を決定した。０．０５未満のＰ値は有意であるとみなされた。生存解析にはカプランマイヤー法を用いた。

【０４８６】

実施例１３：
癌を治療するためのｍＲＮＡまたはＤＮＡをコードするキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）のインビボ送達
ＣＡＲ－Ｔ細胞療法は、癌治療を改革した。ＣＡＲ－Ｔ細胞療法の成果：他のほとんどの療法が失敗した場合でも、ＣＡＲ　Ｔ細胞は成功し、非常に効果的で、迅速で、長続きする抗腫瘍反応であり、抗ＣＤ１９ＣＡＲ　Ｔ細胞を用いた場合に非常に高い奏効率、Ｂ－ＡＬＬで約９０％、リンパ腫で約８０％である。現在の市場：リンパ腫の場合、イエスカルタ（アキシカブタゲンシロロイセル）とキムリア（チサゲンレクロイセル）の費用は３７３，０００ドル、白血病の場合、Ｋｙｍｒｉａｈ（ｔｉｓａｇｅｎｌｅｃｌｅｕｃｅｌ）は４７５，０００ドルである。
【０４８７】
ＣＡＲ－Ｔ細胞療法の制限および欠点。技術的な制約：作成には長い時間がかかり、通常、ＣＡＲ　Ｔ細胞製品に応じて約２～６週間、Ｔ細胞の操作および培養には非常に費用がかかる。患者側：アフェレーシス（免疫細胞が回収されるプロセス）と、それに続く活発に成長している進行性の癌を患う患者のための実質的な待機期間が必要であり、患者は、ＣＡＲ　Ｔ細胞を効果的にするために、リンパ球枯渇のための化学療法を受ける必要があり、この化学療法は免疫系に損傷を与え、重篤な感染症のリスクを高め、投与後、患者の体内で急速に拡大するＣＡＲ　Ｔ細胞は、生命を脅かす副作用を引き起こすことがよくあり、この急速な拡大は制御が難しい場合があり得る。
【０４８８】
ｉｎ　ｓｉｔｕＣＡＲ－Ｔ細胞プログラミングは、はるかに優れた方策である。ＣＡＲＴは、脾臓を標的としているため、ＣＡＲでプログラムしたいＴ細胞に直接アクセスできる。
【０４８９】
要約／要求。ＣＡＲＴはｍＲＮＡをリンパ球に効果的に送達し、次に、リンパ球は機能的なＣＡＲ－１９タンパク質を発現する。重要なのは、Ｔ細胞に限定されず、他の細胞がＣＡＲを発現することである。ＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡを含むＣＡＲＴの静脈内注射は、単回投与のみの後の腫瘍量の減少に非常に効果的である。患者に特別に合わせる必要はない。複数のＣＡＲ特異性を、単回投与に混合することができる。サイトカインをコードするｍＲＮＡなどのｍＲＮＡをコードする追加のタンパク質は、治療の効果を調節するためにＣＡＲコンストラクトと容易に同時配合することができる。ｍＲＮＡをコードするＩＬ１受容体アンタゴニストなどの抗炎症タンパク質を、ＣＡＲコンストラクトと同時配合して、サイトカイン放出症候群などの有害作用を弱めることができる。既製の産物。患者にすぐに使用できる。複雑で高価な細胞培養施設を必要としない「ミックスアンドシュート」方策。１回の投与に制限されず、所望の効果が達するまで繰り返すことができる。２５日後の１００％生存率（１５日目の対照群全体の嚢）。ＣＡＲ－Ｔ細胞のインビボｍＲＮＡプログラミングは、前例がない。これは、すでに革命的な治療法を大幅に加速する可能性がある。
【０４９０】
実施例１４：
材料および方法
材料。試薬は、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈから購入し、特に明記されていない限り、受け取ったままの状態で使用した。１－（３，５－ビス－トリフルオロメチル－フェニル）－３－シクロヘキシル－チオ尿素（１）、脂質官能化モノマー（２，３）、およびＢｏｃ－モルホリノンモノマー（４）を文献の手順に従ってすべて調整した。再生セルロース透析膜（Ｓｐｅｃｔｒａ／Ｐｏｒ６　Ｓｔａｎｄａｒｄ　ＲＣ、分子量カットオフ１，０００）は、Ｓｐｅｃｔｒｕｍ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．から購入した。Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ２０００は、Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓから購入した。ＭＴＴは、Ｆｌｕｋａから購入した。
【０４９１】

ｍＲＮＡＦｌｕｃ ｍＲＮＡ（５ｍｅＣ、Ψ、Ｌ－６１０７）、および分泌型アルカリホスファターゼ（ＳＥＡＰ）（対照ｍＲＮＡ）は、Ｔｒｉｌｉｎｋ ＢｉｏＴｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓから購入した。購入したすべてのｍＲＮＡは、キャッピング、ポリアデニル化されており、５－メトキシウリジン修飾を含む。

【０４９２】

ＣＡＲ－１９コンストラクト：

ＣＡＲ－１９ ｍＲＮＡは、ｍＣＤ１９＿２８＿Ｚ．１－３配列をｐｃＤＮＡ３．１（＋）プラスミドにクローニングすることによってインハウスで生成された。プラスミドは、製造プロトコル（Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ ｂｉｏｌａｂｓ）に従ってＮｏｔＩ制限酵素を用いて直線化され、フェノール：クロロホルム抽出とそれに続くアルコール沈殿を用いて抽出した。次に、ＩＮＣＯＧＮＩＴＯ（商標）Ｔ７ ＡＲＣＡ ５ｍＣ－＆Ｙ－ＲＮＡ転写キット（Ｃｅｌｌｓｃｒｉｐｔ）を用いて、直線化されたプラスミドからｍＲＮＡを転写した。

【０４９３】

計装。フローサイトメトリー解析は、ＢＤ ＬＳＲＩＩ．ＵＶ ＦＡＣＳアナライザーで行った（Ｓｔａｎｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｓｈａｒｅｄ ＦＡＣＳ Ｆａｃｉｌｉｔｙ）。生物発光は、ＣＣＤカメラ（ＩＶＩＳ１００，Ｘｅｎｏｇｅｎ Ｃｏｒｐ．）を用いて測定し、Ｌｉｖｉｎｇ Ｉｍａｇｅ Ｓｏｆｔｗａｒｅ（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を用いて解析した。

【０４９４】

細胞株。Ａ２０細胞は、１０％ＦＢＳと１％ペニシリン／ストレプトマイシンとを添加したＲＰＭＩで維持した。非接着細胞は、接着を防ぐために１％のポリ（ビニルアルコール）（ＰＶＡ）を加えて処理された。マウス初代Ｔ細胞の場合、６～８週齢のＢＡＬＢ／ｃマウスの脾臓から単細胞懸濁液を調製した。これらの懸濁液から、Ｐａｎ Ｔ細胞単離キットＩＩ （Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ ＧｍｂＨ）を用いて、メーカーのプロトコルに従って未処理のＴ細胞を単離した。すべての細胞を、３７℃において、５％CO_2の雰囲気で増殖させた。細胞は、約８０％コンフルエントで継代した。

【０４９５】

０．０７７ｍｍｏｌ、３１．１ｍｇ）およびＴＵ（０．０５当量、０．００３８ｍｍｏｌ、１．４ｍｇ）。これに、トルエン中の１Ｍ溶液としてベンジルアルコール（１当量、０．０１２８ｍｍｏｌ、１２．８μＬ）を加え、続いてさらに１３４μＬのトルエン（ＭＢＯＣモノマーに関して１Ｍ）を加えた。次に、触媒作用のある１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン（ＤＢＵ）（１滴）を溶液に加え、反応物をグローブボックスで室温で１時間撹拌した。この時点で、ＭＴＣノネニル（６当量、０．０７７ｍｍｏｌ、２１．７ｍｇ）を反応物に加えた。さらに１時間撹拌した後、ＭＢＯＣ （１２．６６当量、０．１２３ｍｍｏｌ、２７ｍｇ）を反応物に加え、さらに４時間撹拌した後、安息香酸でクエンチした。反応物を、メタノール中で一晩透析した（１．０ｋＤａ透析バッグ）。濃縮により、保護コオリゴマーＳ９が透明な油として得られた。重合度は、１ＨＮＭＲ末端基解析およびＴＨＦ中のＧＰＣによる分散度によって決定された。続いて、ＤＣＭ中の１０％ＴＦＡで、Ｎ２下、室温で一晩脱保護すると、ＣＡＲＴ Ｏ５－ｂ－Ｎ６：Ａ９（９）が得られた。完全な保護基の除去は、１Ｈ ＮＭＲ（CD_3OD）によって確認された。

【０４９６】

インビボｍＲＮＡの送達およびフローサイトメトリー ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡポリプレックスは、１００μＬの総量でマウスあたり５μｇのｍＲＮＡを用いて、上記のように調製された。複合体を２０秒間混合した後、雌のＢＡＬＢ／ｃマウスに尾静脈内注射した。Ｆｌｕｃ発現の場合：７時間後、１５０ｍｇ／ｋｇのＤ－ルシフェリンを腹腔内注射し、ＩＶＩＳイメージングシステムＣＣＤカメラを使用して発光を測定し、Ｌｉｖｉｎｇ Ｉｍａｇｅ ソフトウェアを用いて解析した。脾臓細胞からＴ細胞を単離するために、動物を殺し、脾臓を７０μｍセルストレーナーに通し、続いてＡＣＫ溶解緩衝液で血球を溶解し、

ＰＢＳで２回洗浄することによって、単細胞懸濁液を調製した。メーカープロトコルに従って、Ｐａｎ　Ｔ細胞単離キット（Ｍｉｌｔｎｅｙ　Ｂｉｏｔｅｃ）を用いて、Ｔ細胞を単離した。ＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴ処理後の脾臓細胞におけるＣＡＲ１９発現のために、脾臓細胞を２つの染色群に分割し、ＣＤ８（ＡＰＣ）、ＣＤ４（ＰＥ）、およびＢ２２０（ＰｅｒＣｐ）またはＣＤ４９ｄ（ＡＰＣ）の蛍光抗体を染色した。ＣＡＲ１９コンストラクトは、ＦＩＴＣに結合したマウス抗ラットカッパ鎖抗体を用いて検出された。Ｐａｃｉｆｉｃ　Ｂｌｕｅ　ｃｈａｎｎｅｌを用いて、ＬＳＲ－ＩＩ．ＵＶ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で解析を行った。実験プロトコルは、実験動物管理に関するＳｔａｎｆｏｒｄ　Ａｄｍｉｎｉｓｔｒａｔｉｖｅ　Ｐａｎｅｌによって承認された。

【０４９７】

インビボ生物発光

ｄ－ルシフェリン（Ｂｉｏｓｙｎｔｈ　ＡＧ）の腹腔内注射は１５０ｍｇ／ｋｇの用量で行われ、Ｆｌｕｃ酵素の飽和基質濃度を提供した（ルシフェリンは血液脳関門を通過する）。マウスは、冷却された電荷結合素子カメラを備えたインビボ光学イメージングシステム（ＩＶＩＳ１００、Ｘｅｎｏｇｅｎ　Ｃｏｒｐ．）を使用して、遮光チャンバー内で画像化された。画像記録中、マウスはノーズコーンを介して送達されたイソフルランを吸入し、カメラシステムのダークボックス内で体温を３７℃に維持した。ルシフェリン投与後、１０～２０分で生物発光画像を取得した。マウスは通常、画像化から２分以内に麻酔から回復した。

【０４９８】

マウスおよび細胞株

８～１２週齢の雌のＢａｌｂ／ｃマウスをＪａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙから購入し、Ｓｔａｎｆｏｒｄ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｃｅｎｔｅｒの実験動物施設に収容した。すべての実験は、実験動物管理に関するＳｔａｎｆｏｒｄ　Ａｄｍｉｎｉｓｔｒａｔｉｖｅ　Ｐａｎｅｌによって承認され、Ｓｔａｎｆｏｒｄ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ａｎｉｍａｌ　ＦａｃｉｌｉｔｙおよびＮＩＨガイドラインに従って実施された。

【０４９９】

ＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴを用いた確立された腫瘍の腫瘍内処置

ＣＤ１９発現腫瘍を腹部の右側の皮下に移植した。処置は、腫瘍が最大直径で７ｍｍ～１０ｍｍに達したときに開始した。５ｕｇのＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴを腫瘍内に腫瘍内注射した。腫瘍サイズをデジタルノギス（Ｍｉｔｕｔｏｙｏ）で２～３日ごとにモニターし、体積（長さ×幅×高さ）で表した。ガイドラインに従って、腫瘍サイズが最大直径で１．５ｃｍに達したときにマウスを犠牲にする。

【０５００】

ＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴを用いた確立されたＣＤ１９発現およびＣＤ１９陰性腫瘍の静脈内処置

ＣＤ１９発現およびＣＤ１９陰性腫瘍を腹部の右側の皮下に移植した。処置は、腫瘍が最大直径で７ｍｍ～１０ｍｍに達したときに開始した。５ｕｇのＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴを静脈内注射した。腫瘍サイズをデジタルノギス（Ｍｉｔｕｔｏｙｏ）で２～３日ごとにモニターし、体積（長さ×幅×高さ）で表した。ガイドラインに従って、腫瘍サイズが最大直径で１．５ｃｍに達したときにマウスを犠牲にする。

【０５０１】

統計的解析

Ｐｒｉｓｍソフトウェア（ＧｒａｐｈＰａｄ、Ｌａ　Ｊｏｌｌａ、ＣＡ）を使用して、腫瘍の成長を解析し、ノンパラメトリックなマンホイットニーＵ検定を適用して群間の差異の統計的有意性を決定した。０．０５未満のＰ値は有意であるとみなされた。生存解析にはカプランマイヤー法を用いた。

【０５０２】

実施例１５：

電荷変動性放出性トランスポーター（ＣＡＲＴ）を用いたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）発現エフェクター細胞のｉｎ　ｓｉｔｕ生成
ＣＡＲＴを用いたインビボＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ療法。
概念。ＣＡＲをコードする遺伝子は、ｍＲＮＡおよび／またはＤＮＡを用いて細胞内でインビボで発現され、複数の遺伝子をコードする可能性がある。この方法を使用することにより、遺伝子操作を患者の体外で行う必要がなく、患者から細胞を採取する必要がなく、患者の細胞を費用をかけて輸送する必要がない。本明細書に記載のＣＡＲＴ送達系は、配合が容易であり、インビボで強力なｍＲＮＡ発現を提供し、そして非免疫原性（非ウイルス性）である。重要なことに、この系は、図２５の概略図に示されるように、インビボでｍＲＮＡ（一過性）およびＤＮＡ（安定的）の両方を送達および発現することができる。

【０５０３】
結果。原理実証研究は、図２６に示すように、抗マウスＣＤ１９および抗ヒトＣＤ１９ＣＡＲをコードするＣＡＲＴ送達ｍＲＮＡを使用して完了した。二重標的化アプローチ、新世代のＣＡＲ（ロード／補強されたＣＡＲ、ＴＲＵＣＫＳ）の発現、およびエフェクター機能を強化し、悪影響を軽減し、ＣＡＲ抑制を阻害する表面または分泌分子をコードするｍＲＮＡの同時送達を含む新しい方策が、ＣＡＲＴを用いたインビボｍＲＮＡ療法内で追求される。

【０５０４】
「全身」投与の際、ＣＡＲＴは、白血球および単球にカーゴを送達する。

【０５０５】
出願人は、どの細胞がＣＤ１９発現標的細胞の死滅に関与しているかを評価した。結果は、観察された効果が、図３０Ｃに示されるように、Ｔ細胞に依存しないことを示している。ＣＤ４、ＣＤ８およびＣＤ４＋ＣＤ８Ｔ細胞が枯渇した場合でも、ＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴで処理した動物では、全生存期間の延長が観察される。ＣＡＲＴは、インビボでマクロファージおよびＢ細胞をトランスフェクトし、結果は、ＣＡＲ－１９コンストラクトでトランスフェクトされたＴ細胞以外の白血球がＣＤ－１９＋細胞を死滅させることを示している。ＣＡＲ１９　ｍＲＮＡ－ＣＡＲＴで処理された単離マクロファージおよびナイーブＢ細胞は、図３０Ａ～Ｂに示すようにＣＤ１９発現標的細胞を死滅し、したがって、細胞死がインビボＣＡＲ－Ｔ細胞操作ではないことを実証する。これらの結果は、ＣＡＲ－Ｔ、ＣＡＲ－Ｂ、ＣＡＲ－Ｍａｃおよびおそらくｃａｒ－ＮＫが標的細胞を死滅させることができることを示している。

【０５０６】
ヒトＰＢＭＣにおけるＣＡＲＴ－ｍＲＮＡヒト化ＣＡＲ－１９療法は、ヒトの臨床試験で観察されたネイティブＢ細胞の予想される死滅を示している。

【０５０７】
ヒトの臨床試験では、効果的なＣＡＲ　Ｔ細胞療法により、ネイティブＣＤ１９発現細胞を死滅させるオフターゲット効果が生じる（Ｂ細胞形成不全）。ＣＡＲＴ－ｍＲＮＡ　ＣＡＲ１９がヒトＰＢＭＣに送達される場合、出願人は、ＣＤ１９発現細胞の臨床的に予想される枯渇を観察した。ＣＡＲ１９を発現する循環細胞のレベルの上昇は、Ｂ細胞のレベルの低下と相関している。生き残ったＢ細胞は、通常は、死滅されたＢ細胞よりも少なくＣＤ１９を発現する。図３１Ａ～３１Ｃに示されるように、ヒトＣＡＲ－１９は、ＰＢＭＣ中のＢ細胞を除去するが、非ＣＤ１９標的化ｍＲＮＡは、Ｂ細胞に影響を与えない。

【０５０８】
概要：ＣＡＲ用のＣＡＲＴ
ＣＡＲ－Ｔ細胞療法は、癌治療に革命を起こすという信じられないほどの可能性をすでに示しているが、現在の製造プロセスには、コスト、時間、供給、規模など、多くの制限がある。ＣＡＲＴ－ＣＡＲ－ｍＲＮＡの全身送達を用いた免疫細胞のｉｎ　ｓｉｔｕ／インビボプログラミングは、これらの問題の多くを解決する。例えば、ＣＡＲＴを用いたＣＡＲ－ｍＲＮＡ送達では、複数のタンパク質のパッケージングが可能であるため、ＣＡＲは、他の免疫調節成分、および革新的で改良されたバージョンのＣＡＲで調整できる。さら

に、ｍＲＮＡをコードするＣＡＲ－１９の全身送達は、効果的に、特異的に、および治療的にＣＤ１９発現腫瘍を標的とする。重要なことに、ｍＲＮＡによって生成されたＣＡＲは一過性であり、反復投与によって再生成することができる。本明細書に記載の実験は、モデル系腫瘍が、ＣＤ１９＋またはＣＤ１９－であることが厳密に示されたことを示している。ＣＡＲは、Ｔ細胞、Ｂ細胞、マクロファージ、ＮＫ細胞によって発現される。Ｔ細胞は腫瘍を死滅させる必要がないため、ＣＡＲ－１９発現Ｂ細胞、マクロファージ、およびＮＫ細胞も治療に関連している。最後に、出願人は、ＣＡＲ－１９　ｍＲＮＡのヒト細胞へのエクスビボＣＡＲＴ送達が、ＣＤ１９発現ヒト細胞を死滅させることを実証し、それらの治療効果を確認する。

【０５０９】

参考文献

Ｄｏｖｅ　ＡＰ，Ｐｒａｔｔ　ＲＣ，Ｌｏｈｍｅｉｊｅｒ　ＢＧＧ，Ｗａｙｍｏｕｔｈ　ＲＭ，Ｈｅｄｒｉｃｋ　ＪＬ（２００５）Ｔｈｉｏｕｒｅａ－ｂａｓｅｄ　ｂｉｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ　ｏｒｇａｎｏｃａｔａｌｙｓｉｓ：Ｓｕｐｒａｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｒｅｃｏｇｎｉｔｉｏｎ　ｆｏｒ　ｌｉｖｉｎｇ　ｐｏｌｙｍｅｒｉｚａｔｉｏｎ．Ｊ　Ａｍ　Ｃｈｅｍ　Ｓｏｃ　１２７：１３７９８－１３７９９。

ＭｃＫｉｎｌａｙ　ＣＪ，ｅｔ　ａｌ．（２０１７）Ｃｈａｒｇｅ－ａｌｔｅｒｉｎｇ　ｒｅｌｅａｓａｂｌｅ　ｔｒａｎｓｐｏｒｔｅｒｓ（ＣＡＲＴｓ）ｆｏｒ　ｔｈｅ　ｄｅｌｉｖｅｒｙ　ａｎｄ　ｒｅｌｅａｓｅ　ｏｆ　ｍＲＮＡ　ｉｎ　ｌｉｖｉｎｇ　ａｎｉｍａｌｓ．Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ　１１４：Ｅ４４８－Ｅ４５６。

Ｇｅｉｈｅ　ＥＩ，ｅｔ　ａｌ．（２０１２）Ｄｅｓｉｇｎｅｄ　ｇｕａｎｉｄｉｎｉｕｍ－ｒｉｃｈ　ａｍｐｈｉｐａｔｈｉｃ　ｏｌｉｇｏｃａｒｂｏｎａｔｅ　ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｔｒａｎｓｐｏｒｔｅｒｓ　ｃｏｍｐｌｅｘ，ｄｅｌｉｖｅｒ　ａｎｄ　ｒｅｌｅａｓｅ　ｓｉＲＮＡ　ｉｎ　ｃｅｌｌｓ．Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ　１０９：１３１７１－１３１７６。

Ｂｌａｋｅ　ＴＲ，Ｗａｙｍｏｕｔｈ　ＲＭ（２０１４）Ｏｒｇａｎｏｃａｔａｌｙｔｉｃ　ｒｉｎｇ－ｏｐｅｎｉｎｇ　ｐｏｌｙｍｅｒｉｚａｔｉｏｎ　ｏｆ　ｍｏｒｐｈｏｌｉｎｏｎｅｓ：　Ｎｅｗ　ｓｔｒａｔｅｇｉｅｓ　ｔｏ　ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌｉｚｅｄ　ｐｏｌｙｅｓｔｅｒｓ．Ｊ　Ａｍ　Ｃｈｅｍ　Ｓｏｃ　１３６：９２５２－９２５５。

非公式の配列表

配列番号１

ＣＡＲ　ｃＤＮＡ配列

ＡＴＧＴＡＴＣＧＣＡＴＧＣＡＧＣＴＧＣＴＧＡＧＣＴＧＣＡＴＴＧＣＧＣＴＧＡＧＣＣ
ＴＧＧＣＧＣＴＧＧＴＧＡＣＣＡＡＣＡＧＣＧＡＣＡＴＣＣＡＧＡＴＧＡＣＣＣＡＧＴＣ
ＣＣＣＣＧＣＴＴＣＴＣＴＧＡＧＣＡＣＡＴＣＣＣＴＧＧＧＣＧＡＧＡＣＣＧＴＧＡＣＡ
ＡＴＣＣＡＧＴＧＣＣＡＧＧＣＴＡＧＣＧＡＧＧＡＴＡＴＣＴＡＣＴＣＣＧＧＣＣＴＧＧ
ＣＣＴＧＧＴＡＣＣＡＧＣＡＧＡＡＧＣＣＴＧＧＡＡＡＧＴＣＴＣＣＣＣＡＧＣＴＧＣＴ
ＧＡＴＣＴＡＣＧＧＡＧＣＴＴＣＣＧＡＣＣＴＧＣＡＧＧＡＴＧＧＡＧＴＧＣＣＴＴＣＴ
ＡＧＧＴＴＣＴＣＴＧＧＡＡＧＣＧＧＣＴＣＣＧＧＡＡＣＣＣＡＧＴＡＣＴＣＴＣＴＧＡ
ＡＧＡＴＣＡＣＣＡＧＣＡＴＧＣＡＧＡＣＡＧＡＧＧＡＣＧＡＧＧＧＣＧＴＧＴＡＣＴＴ
ＣＴＧＣＣＡＧＣＡＧＧＧＡＣＴＧＡＣＣＴＡＣＣＣＡＡＧＡＡＣＡＴＴＴＧＧＣＧＧＡ
ＧＧＣＡＣＡＡＡＧＣＴＧＧＡＧＣＴＧＡＡＧＧＧＡＧＧＡＧＧＡＧＧＣＴＣＣＧＧＣＧ
ＧＡＧＧＡＧＧＣＴＣＴＧＧＡＧＧＡＧＧＡＧＧＣＡＧＣＧＡＧＧＴＧＣＡＧＣＴＧＣＡ
ＧＣＡＧＡＧＣＧＧＡＧＣＴＧＡＧＣＴＧＧＴＧＡＧＧＣＣＴＧＧＡＡＣＣＴＣＣＧＴＧ
ＡＡＧＣＴＧＴＣＴＴＧＴＡＡＧＧＴＧＡＧＣＧＧＣＧＡＣＡＣＣＡＴＣＡＣＡＴＴＣＴ
ＡＣＴＡＣＡＴＧＣＡＣＴＴＴＧＴＧＡＡＧＣＡＧＡＧＧＣＣＴＧＧＣＣＡＧＧＧＡＣＴ
ＧＧＡＧＴＧＧＡＴＣＧＧＡＡＧＡＡＴＣＧＡＣＣＣＡＧＡＧＧＡＴＧＡＧＴＣＣＡＣＡ
ＡＡＧＴＡＣＴＣＴＧＡＧＡＡＧＴＴＣＡＡＧＡＡＣＡＡＧＧＣＣＡＣＣＣＴＧＡＣＡＧ
ＣＴＧＡＴＡＣＣＡＧＣＴＣＣＡＡＣＡＣＡＧＣＴＴＡＣＣＴＧＡＡＧＣＴＧＴＣＴＡＧ
ＣＣＴＧＡＣＣＡＧＣＧＡＧＧＡＣＡＣＣＧＣＣＡＣＡＴＡＣＴＴＣＴＧＣＡＴＣＴＡＣ

GGAGGCTACTACTTTGATTACTGGGGCCAGGGAGTGATGG
TGACAGTGTCCTCTATCGAGTTTATGTACCCCCCTCCATA
CCTGGACAACGAGAGATCCAACGGCACCATCATCCACATC
AAGGAGAAGCACCTGTGCCACACACAGAGCTCCCCAAAGC
TGTTCTGGGCTCTGGTGGTGGTGGCTGGCGTGCTGTTTTG
CTACGGACTGCTGGTGACCGTGGCCCTGTGCGTGATCTGG
ACAAACAGCAGGAGAAACCGGGGGAGGCCAGTCCGATTACA
TGAACATGACCCCACGGCGCCCTGGACTGACAAGGAAGCC
ATACCAGCCATACGCTCCTGCTCGCGACTTCGCTGCTTAC
AGGCCAAGAGCCAAGTTCAGCAGGAGCGCCGAGACCGCTG 10
CTAACCTGCAGGACCCCAACCAGCTGTTCAACGAGCTGAA
CCTGGGCAGGAGAGAGGAGTTTGACGTGCTGGAGAAGAAG
CGGGCTCGCGATCCCGAGATGGGAGGCAAGCAGCAGCGGC
GCAGGAACCCTCAGGAGGGCGTGTACAACGCCCTGCAGAA
GGACAAGATGGCCGAGGCTTACTCTGAGATCGGCACCAAG
GGAGAGAGACGGCGCGGCAAGGGACACGATGGCCTGTTCC
AGGGACTGAGCACCGCCACAAAGGACACCTTTGATGCTCT
GCACATGCAGACACTGGCCCCTCGGTGA
配列番号２
Ｔ７ポリエルマーゼプロモーター部位およびＡｆｌＩＩＩ制限部位を有するＣＡＲ　ｃＤ 20
ＮＡ：
TAATACGACTCACTATAGGGAGACCCAAGCTGGCTAGCGT
TTAAACTTAAGGCCACCATGTATCGCATGCAGCTGCTGAG
CTGCATTGCGCTGAGCCTGGCGCTGGTGACCAACAGCGAC
ATCCAGATGACCCAGTCCCCCCGCTTCTCTGAGCACATCCC
TGGGCGAGACCGTGACAATCCAGTGCCAGGCTAGCGAGGA
TATCTACTCCGGCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGA
AAGTCTCCCCAGCTGCTGATCTACGGAGCTTCCGACCTGC
AGGATGGAGTGCCTTCTAGGTTCTCTGGAAGCGGCTCCGG
AACCCAGTACTCTCTGAAGATCACCAGCATGCAGACAGAG 30
GACGAGGGCGTGTACTTCTGCCAGCAGGGACTGACCTACC
CAAGAACATTTGGCGGAGGCACAAAGCTGGAGCTGAAGGG
AGGAGGAGGCTCCGGCGGAGGAGGCTCTGGAGGAGGAGGC
AGCGAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCTGAGCTGGTGA
GGCCTGGAACCTCCGTGAAGCTGTCTTGTAAGGTGAGCGG
CGACACCATCACATTCTACTACATGCACTTTGTGAAGCAG
AGGCCTGGCCAGGGACTGGAGTGGATCGGAAGAATCGACC
CAGAGGATGAGTCCACAAAGTACTCTGAGAAGTTCAAGAA
CAAGGCCACCCTGACAGCTGATACCAGCTCCAACACAGCT
TACCTGAAGCTGTCTAGCCTGACCAGCGAGGACACCGCCA 40
CATACTTCTGCATCTACGGAGGCTACTACTTTGATTACTG
GGGCCAGGGAGTGATGGTGACAGTGTCCTCTATCGAGTTT
ATGTACCCCCCTCCATACCTGGACAACGAGAGATCCAACG
GCACCATCATCCACATCAAGGAGAAGCACCTGTGCCACAC
ACAGAGCTCCCCAAAGCTGTTCTGGGCTCTGGTGGTGGTG
GCTGGCGTGCTGTTTTGCTACGGACTGCTGGTGACCGTGG
CCCTGTGCGTGATCTGGACAAACAGCAGGAGAAACCGGGG
AGGCCAGTCCGATTACATGAACATGACCCCACGGCGCCCT
GGACTGACAAGGAAGCCATACCAGCCATACGCTCCTGCTC
GCGACTTCGCTGCTTACAGGCCAAGAGCCAAGTTCAGCAG 50

GAGCGCCGAGACCGCTGCTAACCTGCAGGACCCCAACCAG
CTGTTCAACGAGCTGAACCTGGGCAGGAGAGAGGAGTTTG
ACGTGCTGGAGAAGAAGCGGGCTCGCGATCCCGAGATGGG
AGGCAAGCAGCAGCGGCGCAGGAACCCTCAGGAGGGCGTG
TACAACGCCCTGCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCTTACT
CTGAGATCGGCACCAAGGGAGAGAAGACGGCGCGGCAAGGG
ACACGATGGCCTGTTCCAGGGACTGAGCACCGCCACAAAG
GACACCTTTGATGCTCTGCACATGCAGACACTGGCCCCTC
GGTGA

配列番号３

Ｔ７ポリエルマーゼプロモーター部位およびＡｆｌＩＩＩ５｀およびＢａｍＨＩ３｀制限部位、２ｘｂ－グロビン３｀　ＵＴＲ領域、および１２０ポリＡテールを有するＣＡＲ　ｃＤＮＡ：

TAATACGACTCACTATAGGGAGACCCAAGCTGGCTAGCGT
TTAAACTTAAGGCCACCATGTATCGCATGCAGCTGCTGAG
CTGCATTGCGCTGAGCCTGGCGCTGGTGACCAACAGCGAC
ATCCAGATGACCCAGTCCCCCGCTTCTCTGAGCACATCCC
TGGGCGAGACCGTGACAATCCAGTGCCAGGCTAGCGAGGA
TATCTACTCCGGCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGA
AAGTCTCCCCAGCTGCTGATCTACGGAGCTTCCGACCTGC
AGGATGGAGTGCCTTCTAGGTTCTCTGGAAGCGGCTCCGG
AACCCAGTACTCTCTGAAGATCACCAGCATGCAGACAGAG
GACGAGGGCGTGTACTTCTGCCAGCAGGGACTGACCTACC
CAAGAACATTTGGCGGAGGCACAAAGCTGGAGCTGAAGGG
AGGAGGAGGCTCCGGCGGAGGAGGCTCTGGAGGAGGAGGC
AGCGAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCTGAGCTGGTGA
GGCCTGGAACCTCCGTGAAGCTGTCTTGTAAGGTGAGCGG
CGACACCATCACATTCTACTACATGCACTTTGTGAAGCAG
AGGCCTGGCCAGGGACTGGAGTGGATCGGAAGAATCGACC
CAGAGGATGAGTCCACAAAGTACTCTGAGAAGTTCAAGAA
CAAGGCCACCCTGACAGCTGATACCAGCTCCAACACAGCT
TACCTGAAGCTGTCTAGCCTGACCAGCGAGGACACCGCCA
CATACTTCTGCATCTACGGAGGCTACTACTTTGATTACTG
GGGCCAGGGAGTGATGGTGACAGTGTCCTCTATCGAGTTT
ATGTACCCCCCTCCATACCTGGACAACGAGAGATCCAACG
GCACCATCATCCACATCAAGGAGAAGCACCTGTGCCACAC
ACAGAGCTCCCCAAAGCTGTTCTGGGCTCTGGTGGTGGTG
GCTGGCGTGCTGTTTTGCTACGGACTGCTGGTGACCGTGG
CCCTGTGCGTGATCTGGACAAACAGCAGGAGAAACCGGGG
AGGCCAGTCCGATTACATGAACATGACCCCACGGCGCCCT
GGACTGACAAGGAAGCCATACCAGCCATACGCTCCTGCTC
GCGACTTCGCTGCTTACAGGCCAAGAGCCAAGTTCAGCAG
GAGCGCCGAGACCGCTGCTAACCTGCAGGACCCCAACCAG
CTGTTCAACGAGCTGAACCTGGGCAGGAGAGAGGAGTTTG
ACGTGCTGGAGAAGAAGCGGGCTCGCGATCCCGAGATGGG
AGGCAAGCAGCAGCGGCGCAGGAACCCTCAGGAGGGCGTG
TACAACGCCCTGCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCTTACT
CTGAGATCGGCACCAAGGGAGAGAAGACGGCGCGGCAAGGG
ACACGATGGCCTGTTCCAGGGACTGAGCACCGCCACAAAG
GACACCTTTGATGCTCTGCACATGCAGACACTGGCCCCTC

ＧＧＴＧＡ
ＧＧＡＴＣＣｇｃｔｃｇｃｔｔｔｃｔｔｇｃｔｇｔｃｃａａｔｔｔｃｔａｔｔａａａｇｇ
ｔｔｃｃｔｔｔｇｔｔｃｃｃｔａａｇｔｃｃａａｃｔａｃｔａａａｃｔｇｇｇｇｇａｔａ
ｔｔａｔｇａａｇｇｇｃｃｔｔｇａｇｃａｔｃｔｇｇａｔｔｃｔｇｃｃｔａａｔａａａａ
ａａｃａｔｔｔａｔｔｔｔｃａｔｔｇｃｇｃｔｃｇｃｔｔｔｃｔｔｇｃｔｇｔｃｃａａｔ
ｔｔｃｔａｔｔａａａｇｇｔｔｃｃｔｔｔｇｔｔｃｃｃｔａａｇｔｃｃａａｃｔａｃｔａ
ａａｃｔｇｇｇｇｇａｔａｔｔａｔｇａａｇｇｇｃｃｔｔｇａｇｃａｔｃｔｇｇａｔｔｃ
ｔｇｃｃｔａａｔａａａａａａｃａｔｔｔａｔｔｔｔｃａｔｔｇｃＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡ
ＡＡ
ＡＡ
ＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＡＧＡＡ

【０５１０】

特定の実施形態

実施形態１

カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合した核酸を含む、細胞透過性複合体であって、該カチオン性両親媒性ポリマーが、ｐＨ感受性犠牲ドメインを含む、細胞透過性複合体。

【０５１１】

実施形態２

該カチオン性両親媒性ポリマーが、ｐＨ感受性犠牲ドメインおよび親油性ポリマードメインを含む、実施形態１に記載の細胞透過性複合体。

【０５１２】

実施形態３

該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、

$R^1-[L^1-[(LP^1)_{z1}-(IM)_{z2}-(LP^2)_{z3}]_{z4}-L^2-R^2]_{z5}$

式中、

R^1が、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、

R^2が、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、

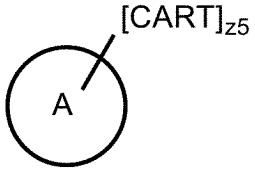
Ｌ１およびＬ２は、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ１およびＬＰ２は、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、ＬＰ１またはＬＰ２のうちの少なくとも１つは、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、該ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１、ｚ３、およびｚ４が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、
ｚ２が、２～１００の整数である、実施形態２に記載の細胞透過性複合体。

【０５１３】

実施形態４

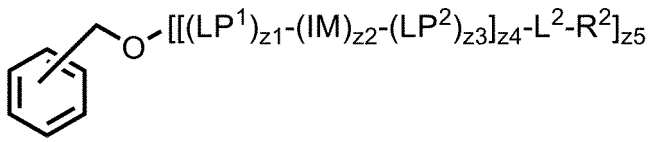
該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、

【化９４】

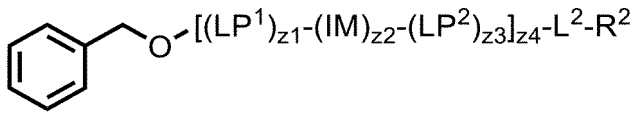


式中、
環Ａが、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
ＣＡＲＴが、式：－Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＩＭ）ｚ２－（ＬＰ２）ｚ３］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２を有し、
式中、
Ｒ２が、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
Ｌ１およびＬ２は、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ１およびＬＰ２は、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、ＬＰ１またはＬＰ２のうちの少なくとも１つは、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、該ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、

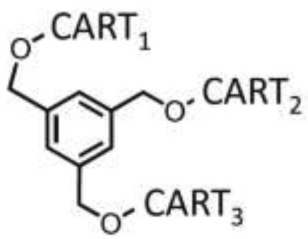
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１、ｚ３、およびｚ４が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、
ｚ２が、２～１００の整数である、実施形態３に記載の細胞透過性複合体。
【０５１４】
実施形態５
環Ａが、置換または非置換アリールである、実施形態４に記載の細胞透過性複合体。
【０５１５】
実施形態６
環Ａが、置換または非置換フェニルである、実施形態４に記載の細胞透過性複合体。
【０５１６】
実施形態７
環Ａが、置換または非置換アリールである、実施形態４に記載の細胞透過性複合体。
【０５１７】
実施形態８
環Ａが、置換または非置換フェニルまたはナフタレニルである、実施形態４に記載の細胞透過性複合体。
【０５１８】
実施形態９
該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、実施形態４に記載の細胞透過性複合体。
【化９５】



【０５１９】
実施形態１０
該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、実施形態４に記載の細胞透過性複合体。
【化９６】

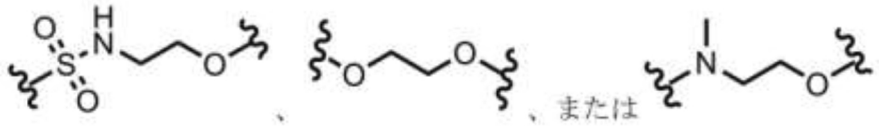


【０５２０】
実施形態１１
該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化９７】

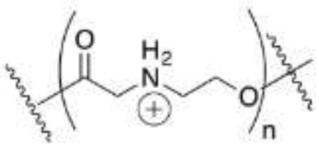


ＣＡＲＴ１、ＣＡＲＴ２、およびＣＡＲＴ３が、独立して、実施形態４に定義されるよう

なＣＡＲＴである、実施形態４に記載の細胞透過性複合体。
【０５２１】
実施形態１２
Ｌ１が、結合、－ＣＨ２－Ｏ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンである、実施形態４に記載の細胞透過性複合体。
【０５２２】
実施形態１３
Ｌ１が、－ＣＨ２－Ｏ－、
【化９８】

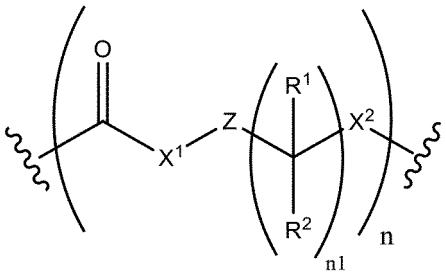


である、実施形態４に記載の細胞透過性複合体。
【０５２３】
実施形態１４
ｚ５が、１～３までの整数である、実施形態４に記載の細胞透過性複合体。
【０５２４】
実施形態１５
ｚ５が、１または３である、実施形態４の細胞透過性複合体。
【０５２５】
実施形態１６
ｚ５が、１である、実施形態４に記載の細胞透過性複合体。
【０５２６】
実施形態１７
ｚ５が、３である、実施形態４に記載の細胞透過性複合体。
【０５２７】
実施形態１８
Ｒ２が、水素である、実施形態４に記載の細胞透過性複合体。
【０５２８】
実施形態１９
Ｌ２が、結合である、実施形態３に記載の細胞透過性複合体。
【０５２９】
実施形態２０
該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、
【化９９】

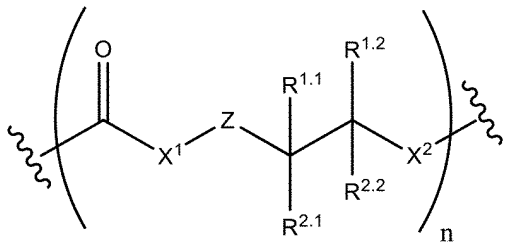


式中、ｎが、２以上の整数である、実施形態１に記載の細胞透過性複合体。
【０５３０】
実施形態２１
ｎが、２～５０の範囲内の整数である、実施形態２０に記載の細胞透過性複合体。
【０５３１】

実施形態２２
該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、
【化１００】

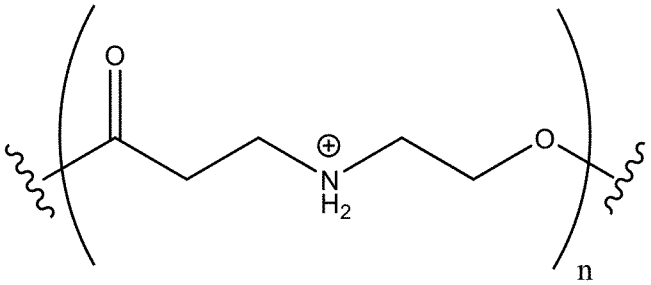


式中、
ｎが、２以上の整数であり、
ｎ１が、０～５０の整数であり、
Ｚが、該求核性部分であり、
Ｘ１が、結合、－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－、－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－Ｃ（Ｒ７）（Ｒ８）－、－Ｏ－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－、または
－Ｏ－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－Ｃ（Ｒ７）（Ｒ８）－であり、
Ｘ２が、－Ｏ－または－Ｓ－であり、
Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、Ｒ４、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、およびＲ８が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態１に記載の細胞透過性複合体。
【０５３２】
実施形態２３
該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、
【化１０１】

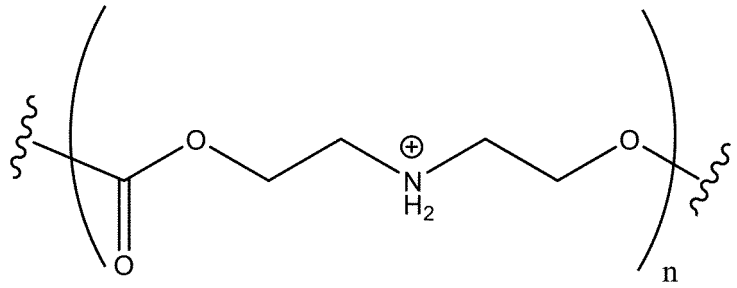


式中、
ｎが、２以上の整数であり、
Ｚが、該求核性部分であり、
Ｘ１が、結合、－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－、－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－Ｃ（Ｒ７）（Ｒ８）－、－Ｏ－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－、または
－Ｏ－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－Ｃ（Ｒ７）（Ｒ８）－であり、
Ｘ２が、－Ｏ－または－Ｓ－であり、
Ｒ１．１、Ｒ１．２、Ｒ２．１、Ｒ２．２、Ｒ３、Ｒ４、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、およびＲ８が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態１に記載の細胞透過性複合体。
【０５３３】
実施形態２４

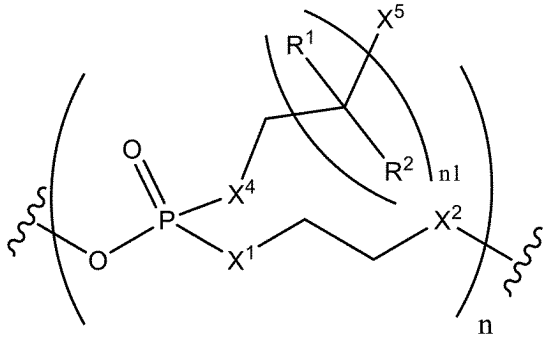
該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、
【化１０２】



式中、ｎが、２以上の整数である、実施形態１に記載の細胞透過性複合体。
【０５３４】
実施形態２５
該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、
【化１０３】



式中、ｎが、２以上の整数である、実施形態１に記載の細胞透過性複合体。
【０５３５】
実施形態２６
該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、
【化１０４】



ｎが、２以上の整数であり、
ｎ１が、０～５０の整数であり、
Ｘ１が、結合、－Ｏ－、－ＮＲ５－、－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－、または－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－Ｃ（Ｒ７）（Ｒ８）－であり、
Ｘ２が、結合、－Ｏ－、－Ｃ（Ｒ９）（Ｒ１０）－、または－Ｃ（Ｒ９）（Ｒ１０）－Ｃ（Ｒ１１）（Ｒ１２）－であり、
Ｘ４が、結合、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ１６）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）（ＯＲ１７）$_2$－、Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－、または
－Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－Ｃ（Ｒ１８）（Ｒ１９）であり、
Ｘ５が、求核性部分であり、

Ｒ１、Ｒ２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、Ｒ８、Ｒ９、Ｒ１０、Ｒ１１、Ｒ１２、Ｒ１５、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８、およびＲ１９が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態１に記載の細胞透過性複合体。

【０５３６】

実施形態２７

Ｚが、－Ｓ－、－Ｓ＋Ｒ１３－、
－ＮＲ１３－、または－Ｎ＋（Ｒ１３）（Ｈ）－であり、Ｒ１３が、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態４に記載の細胞透過性複合体。

【０５３７】

実施形態２８

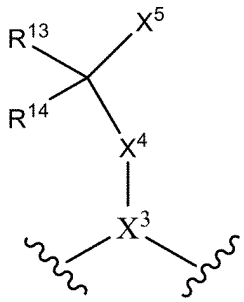
Ｚが、－Ｓ－、－Ｓ＋Ｒ１３－、
－ＮＲ１３－、または－Ｎ＋（Ｒ１３）（Ｈ）－であり、Ｒ１３が、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態２３に記載の細胞透過性複合体。

【０５３８】

実施形態２９

Ｚが、

【化１０５】



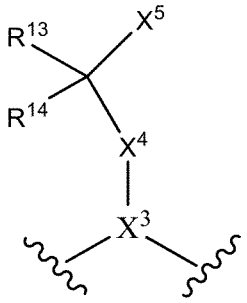
であり、
式中、
Ｘ３が、Ｃ（Ｒ１５）またはＮであり、
Ｘ４が、結合、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ１６）２－、－Ｓ（Ｏ）（ＯＲ１７）２－、Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－、または
－Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－Ｃ（Ｒ１８）（Ｒ１９）であり、
Ｘ５が、求核性部分であり、
Ｒ１３、Ｒ１４、Ｒ１５、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８、およびＲ１９が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態４に記載の細胞透過性複合体。

【０５３９】

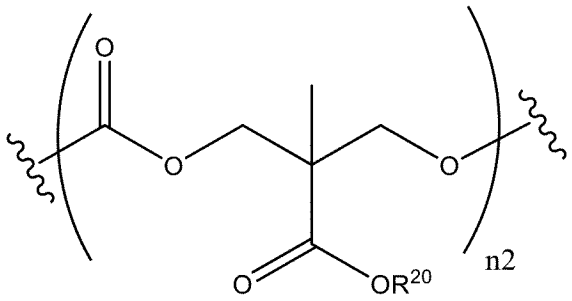
実施形態３０

Ｚが、

【化１０６】



であり、
式中、
Ｘ３が、Ｃ（Ｒ１５）またはＮであり、
Ｘ４が、結合、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ１６）２－、－Ｓ（Ｏ）（ＯＲ１７）２－、Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－、または
－Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－Ｃ（Ｒ１８）（Ｒ１９）であり、
Ｘ５が、求核性部分であり、
Ｒ１３、Ｒ１４、Ｒ１５、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８、およびＲ１９が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態２３に記載の細胞透過性複合体。
【０５４０】
実施形態３１
Ｘ５が、－Ｎ＋（Ｒ１３）（Ｈ）－であり、Ｒ１３が、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態２９に記載の細胞透過性複合体。
【０５４１】
実施形態３２
該親油性ポリマードメインが、以下の式を有し、
【化１０７】



式中、
ｎ２が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態２に記載の細胞透過性複合体。
【０５４２】
実施形態３３
該核酸が、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、ショ

ートヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）、ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）、トランス活性化ＲＮＡ（ｔｒａｃｒＲＮＡ）、プラスミドＤＮＡ（ｐＤＮＡ）、ミニサークルＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ（ｇＮＤＡ）である、実施形態１に記載の細胞透過性複合体。

【０５４３】

実施形態３４

実施形態１に記載の複数の細胞透過性複合体を含む、ナノ粒子組成物。

【０５４４】

実施形態３５

以下式のカチオン性両親媒性ポリマーであって、

$R^1-[L^1-[(LP^1)_{z1}-(IM)_{z2}-(LP^2)_{z3}]_{z4}-L^2-R^2]_{z5}$

式中、

R^1が、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、

R^2が、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、

L^1およびL^2が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、

LP^1およびLP^2が、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、LP^1またはLP^2のうちの少なくとも１つが、親油性ポリマードメインであり、

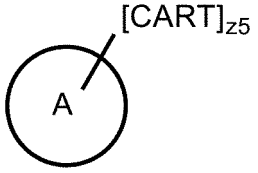
ＩＭが、該ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、

ｚ５が、１～１０の整数であり、

ｚ１、ｚ３、およびｚ４が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、

ｚ２が、２～１００の整数である、カチオン性両親媒性ポリマー。

【０５４５】
実施形態３６
該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化１０８】



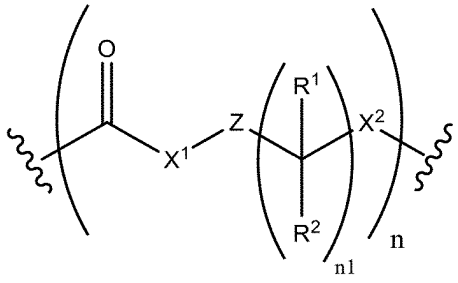
式中、
環Ａが、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
ＣＡＲＴが、式：－Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＩＭ）ｚ２－（ＬＰ２）ｚ３］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２を有し、
式中、
Ｒ２が、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
Ｌ１およびＬ２が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ１およびＬＰ２が、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、ＬＰ１またはＬＰ２のうちの少なくとも１つが、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、該ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１、ｚ３、およびｚ４が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、
ｚ２が、２～１００の整数である、実施形態１に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【０５４６】
実施形態３７
核酸を細胞にトランスフェクトする方法であって、細胞を実施形態１の複合体と接触させることを含む方法であって、該複合体は、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合した核酸を含む、方法。
【０５４７】
実施形態３８
該カチオン性両親媒性ポリマーを該細胞内で分解させ、それによって分解産物を形成させることをさらに含む、実施形態３７に記載の方法。

【０５４８】
実施形態３９
該分解産物が、置換または非置換ジケトピペラジンである、実施形態３８に記載の方法。
【０５４９】
実施形態４０
該核酸が、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、ショートヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）、ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）、トランス活性化ＲＮＡ（ｔｒａｃｒＲＮＡ）、プラスミドＤＮＡ（ｐＤＮＡ）、ミニサークルＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ（ｇＮＤＡ）からなる群から選択される１つ以上を含む、実施形態３７に記載の方法。
【０５５０】
実施形態４１
該ｍＲＮＡが該細胞で発現されることを可能にすることをさらに含む、実施形態４０に記載の方法。
【０５５１】
実施形態４２
１つ以上の遺伝子産物の発現が増加する、実施形態３７に記載の方法。
【０５５２】
実施形態４３
１つ以上の遺伝子産物の発現が減少する、実施形態３７に記載の方法。
【０５５３】
実施形態４４
該細胞が、真核細胞である、実施形態３７に記載の方法。
【０５５４】
実施形態４５
該細胞が、哺乳動物細胞またはヒト細胞である、実施形態３７に記載の方法。
【０５５５】
実施形態４６
該細胞が、生物の一部を形成する、実施形態３７に記載の方法。
【０５５６】
実施形態４７
該生物が、ヒトである、実施形態４６に記載の方法。
【０５５７】
実施形態４８
この方法が細胞内で遺伝子編集を引き起こす、実施形態３７に記載の方法。
【０５５８】
実施形態４９
該核酸が、
ａ）細胞のゲノムにおける標的配列とハイブリダイズするＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系ガイドＲＮＡをコードする第１のヌクレオチド配列と、
ｂ）Ｃａｓ９タンパク質をコードする第２のヌクレオチド配列と、を含む１つ以上のベクターを含み、
該（ａ）および（ｂ）が、同じまたは異なるベクターに配置する、実施形態４８に記載の方法。
【０５５９】
実施形態５０
該核酸が、ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）を含む、実施形態４８に記載の方法。
【０５６０】
実施形態５１
該ｃｒＲＮＡが、第１のヌクレオチド配列の同じベクター内にある、実施形態５０に記載

の方法。
【０５６１】
実施形態５２
該核酸が、トランス活性化ＲＮＡ（ｔｒａｃｒＲＮＡ）を含む、実施形態４８に記載の方法。
【０５６２】
実施形態５３
該ｔｒａｃｒＲＮＡが、第２のヌクレオチド配列の同じベクター内にある、実施形態５２に記載の方法。
【０５６３】
実施形態５４
Ｃａｓ９タンパク質が、該細胞での発現のためにコドン最適化されている、実施形態４８に記載の方法。
【０５６４】
実施形態５５
該核酸が、
ａ）トランスポザーゼをコードする第１のヌクレオチド配列と、
ｂ）トランスポザーゼ認識部位に隣接する目的遺伝子の核酸配列を有する第２のヌクレオチド配列と、を含み、
該（ａ）および（ｂ）が、同じまたは異なるベクターに配置する、実施形態４８に記載の方法。
【０５６５】
実施形態５６
該トランスポザーゼが、目的のゲノム配列を認識して切除する、実施形態５５に記載の方法。
【０５６６】
実施形態５７
目的の遺伝子の核酸配列が、細胞のゲノムに組み込まれる、実施形態５５に記載の方法。
【０５６７】
実施形態５８
該遺伝子編集が、ＤＮＡの欠失、遺伝子の破壊、ＤＮＡの挿入、ＤＮＡの逆位、点変異、ＤＮＡの置換、ノックインおよびノックダウンからなる群から選択される、実施形態４８に記載の方法。
【０５６８】
実施形態５９
この方法が、幹細胞の誘導を引き起こす、実施形態３７に記載の方法。
【０５６９】
実施形態６０
免疫応答の誘導を必要とする対象においてそれを誘導する方法であって、該方法が、
実施形態１に記載の複合体を有効量、該対象に投与することを含み、該複合体が、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合している核酸を含む、方法。
【０５７０】
実施形態６１
疾患が、感染症である、実施形態６０に記載の方法。
【０５７１】
実施形態６２
疾患が、癌である、実施形態６０に記載の方法。
【０５７２】
実施形態６３
対象が以前に疾患と診断されている、実施形態６０に記載の方法。

【０５７３】
実施形態６４
対象が、疾患に関連する検出可能な症状を有さない、実施形態６０に記載の方法。
【０５７４】
実施形態６５
対象が、ヒトである、実施形態６０に記載の方法。
【０５７５】
実施形態６６
実施形態１に記載の複合体が、薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物に含まれている、実施形態６０に記載の方法。
【０５７６】
実施形態６７
薬学的組成物が、癌ワクチンである、実施形態６６に記載の方法。
【０５７７】
実施形態６８
対象が癌を有しておらず、癌ワクチンが、対象において、癌の発症を予防する免疫応答を誘導する、実施形態６７に記載の方法。
【０５７８】
実施形態６９
対象が癌と診断され、癌ワクチンが、対象において、癌を治療する免疫応答を誘導する、実施形態６７に記載の方法。
【０５７９】
実施形態７０
該核酸が、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、ショートヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）、ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）、トランス活性化ＲＮＡ（ｔｒａｃｒＲＮＡ）、プラスミドＤＮＡ（ｐＤＮＡ）、ミニサークルＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ（ｇＮＤＡ）である、実施形態６０に記載の方法。
【０５８０】
実施形態７１
該核酸が、対象の１つ以上の細胞にトランスフェクトされる、実施形態６０に記載の方法。
【０５８１】
実施形態７２
トランスフェクトされた核酸が、対象において、抗癌活性を提供する、実施形態７１に記載の方法。
【０５８２】
実施形態７３
核酸が、癌に関連する１つ以上のペプチドをコードする、実施形態７１に記載の方法。
【０５８３】
実施形態７４
該抗癌活性が、癌細胞数の低減、癌の大きさの縮小、癌細胞の死滅、転移の低減および／または阻害、ならびに癌細胞の成長および／または増殖の低減からなる群から選択される、実施形態実施形態７２に記載の方法。
【０５８４】
実施形態７５
該薬学的に許容される担体が、免疫学的アジュバントを含む、実施形態６６に記載の方法。
【０５８５】
実施形態７６

方法が、
１つ以上の薬学的組成物を有効量で対象に投与することをさらに含み、該追加の薬学的組成物が、抗癌剤および薬学的に許容される担体を含む、実施形態６０に記載の方法。
【０５８６】
実施形態７７
カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合した核酸を含む、細胞透過性複合体であって、該カチオン性両親媒性ポリマーが、ｐＨ感受性犠牲ドメインを含む、細胞透過性複合体。
【０５８７】
実施形態７８
該カチオン性両親媒性ポリマーが、ｐＨ感受性犠牲ドメインおよび親油性ポリマードメインを含む、実施形態７７に記載の細胞透過性複合体。
【０５８８】
実施形態７９
該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
Ｈ－Ｌ^{1}－［（ＬＰ^{1}）$_{z1}$－（ＩＭ）$_{z2}$－（ＬＰ^{2}）$_{z3}$］$_{z4}$－Ｌ^{2}－Ｈ（Ｉ）
式中、
Ｌ^{1}およびＬ^{2}が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ^{1}およびＬＰ^{2}が、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、ＬＰ^{1}またはＬＰ^{2}のうちの少なくとも１つが、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、該ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ１、ｚ３、およびｚ４が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、
ｚ２が、２～１００の整数である、実施形態７８に記載の細胞透過性複合体。
【０５８９】
実施形態８０
該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、
【化１０９】



式中、
ｎが、２以上の整数であり、
ｎ１が、０～５０の整数であり、
Ｚが、該求核性部分であり、
Ｘ^{1}が、結合、－Ｃ（Ｒ^{5}）（Ｒ^{6}）－、－Ｃ（Ｒ^{5}）（Ｒ^{6}）－Ｃ（Ｒ^{7}）（Ｒ^{8}）－、－Ｏ－Ｃ（Ｒ^{5}）（Ｒ^{6}）－、または
－Ｏ－Ｃ（Ｒ^{5}）（Ｒ^{6}）－Ｃ（Ｒ^{7}）（Ｒ^{8}）－であり、
Ｘ^{2}が、－Ｏ－または－Ｓ－であり、
Ｒ^{1}、Ｒ^{2}、Ｒ^{3}、Ｒ^{4}、Ｒ^{5}、Ｒ^{6}、Ｒ^{7}、およびＲ^{8}が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロア

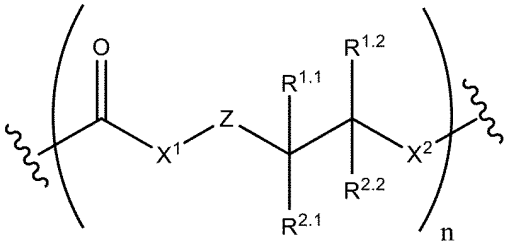
ルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態７７～７９のいずれか１つに記載の細胞透過性複合体。

【０５９０】

実施形態８１

該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、

【化１１０】



式中、

ｎが、２以上の整数であり、

Ｚが、該求核性部分であり、

Ｘ１が、結合、－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－、－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－Ｃ（Ｒ７）（Ｒ８）－、－Ｏ－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－、または

－Ｏ－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－Ｃ（Ｒ７）（Ｒ８）－であり、

Ｘ２が、－Ｏ－または－Ｓ－であり、

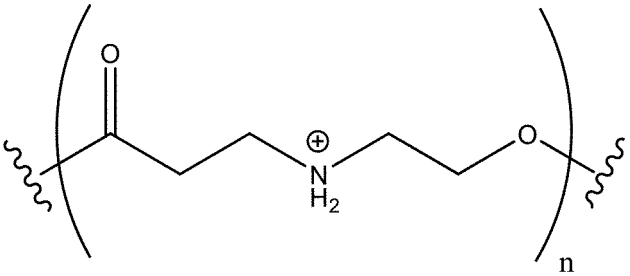
Ｒ１．１、Ｒ１．２、Ｒ２．１、Ｒ２．２、Ｒ３、Ｒ４、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、およびＲ８が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態７７～８０のいずれか１つに記載の細胞透過性複合体。

【０５９１】

実施形態８２

該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、

【化１１１】



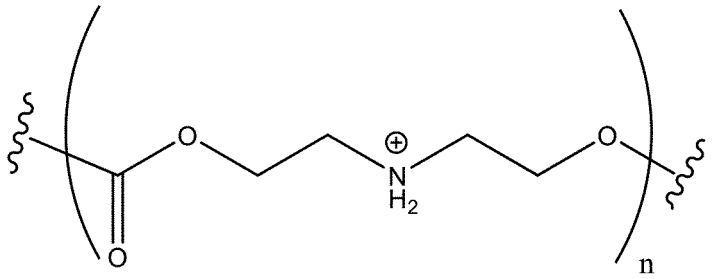
式中、ｎが、２以上の整数である、実施形態７７～８０のいずれか１つに記載の細胞透過性複合体。

【０５９２】

実施形態８３

該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、

【化１１２】



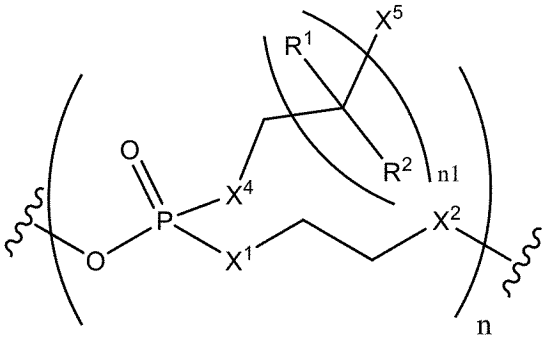
式中、ｎが、２以上の整数である、実施形態７７～８２のいずれか１つに記載の細胞透過性複合体。

【０５９３】

実施形態８４

該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、

【化１１３】



ｎが、２以上の整数であり、

ｎ１が、０～５０の整数であり、

Ｘ１が、結合、－Ｏ－、－ＮＲ５－、－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－、または－Ｃ（Ｒ５）（Ｒ６）－Ｃ（Ｒ７）（Ｒ８）－であり、

Ｘ２が、結合、－Ｏ－、－Ｃ（Ｒ９）（Ｒ１０）－、または－Ｃ（Ｒ９）（Ｒ１０）－Ｃ（Ｒ１１）（Ｒ１２）－であり、

Ｘ４が、結合、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ１６）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）（ＯＲ１７）$_2$－、Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－、または

－Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－Ｃ（Ｒ１８）（Ｒ１９）であり、

Ｘ５が、求核性部分であり、

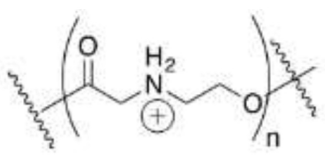
Ｒ１、Ｒ２、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ７、Ｒ８、Ｒ９、Ｒ１０、Ｒ１１、Ｒ１２、Ｒ１５、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８、およびＲ１９が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態７７～８２のいずれか１つに記載の細胞透過性複合体。

【０５９４】

実施形態８５

該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、

【化１１４】



（ＩＶ）

式中、ｎが、２以上の整数である、実施形態７７～８０のいずれか１つに記載の細胞透過性複合体。

【０５９５】

実施形態８６

ｎが、２～５０の範囲内の整数である、実施形態８５に記載の細胞透過性複合体。

【０５９６】

実施形態８７

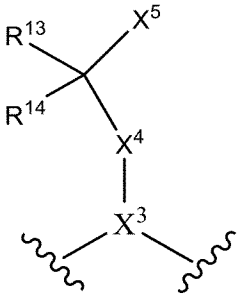
Ｚが、－Ｓ－、－Ｓ＋Ｒ１３－、
－ＮＲ１３－、または－Ｎ＋（Ｒ１３）（Ｈ）－であり、Ｒ１３が、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態７８または７９に記載の細胞透過性複合体。

【０５９７】

実施形態８８

Ｚが、

【化１１５】



であり、

式中、

Ｘ３が、Ｃ（Ｒ１５）またはＮであり、

Ｘ４が、結合、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ１６）２－、－Ｓ（Ｏ）（ＯＲ１７）２－、Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－、または
－Ｃ（Ｒ１６）（Ｒ１７）－Ｃ（Ｒ１８）（Ｒ１９）であり、

Ｘ５が、求核性部分であり、

Ｒ１３、Ｒ１４、Ｒ１５、Ｒ１６、Ｒ１７、Ｒ１８、およびＲ１９が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態７８または７９に記載の細胞透過性複合体。

【０５９８】

実施形態８９

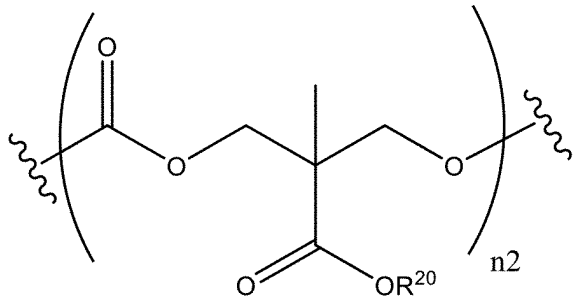
Ｘ５が、－Ｎ＋（Ｒ１３）（Ｈ）－であり、Ｒ１３が、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態８８に記載の細胞透過性複合体。

【０５９９】

実施形態９０

該親油性ポリマードメインが、以下の式を有し、

【化１１６】



式中、
ｎ２が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、実施形態７８～８９のいずれか１つに記載の細胞透過性複合体。

【０６００】

実施形態９１

該核酸が、ｍＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ、ｐＤＮＡ、ｓｈＲＮＡまたはｇＤＮＡである、実施形態７７～８７のいずれか１つに記載の細胞透過性複合体。

【０６０１】

実施形態９２

実施形態７７～９１のいずれか１つに記載の複数の細胞透過性複合体を含む、ナノ粒子組成物。

【０６０２】

実施形態９３

以下式のカチオン性両親媒性ポリマーであって、
Ｈ－Ｌ^{1}－［（ＬＰ^{1}）$_{z1}$－（ＩＭ）$_{z2}$－（ＬＰ^{2}）$_{z3}$］$_{z4}$－Ｌ^{2}－Ｈ（Ｉ）
式中、
Ｌ^{1}およびＬ^{2}が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_{2}$－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ^{1}およびＬＰ^{2}が、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、ＬＰ^{1}またはＬＰ^{2}のうちの少なくとも１つが、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、該ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ１、ｚ３、およびｚ４が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、
ｚ２が、２～１００の整数である、カチオン性両親媒性ポリマー。

【０６０３】

実施形態９４

核酸を細胞にトランスフェクトする方法であって、細胞を実施形態７７～９０のいずれか１つに記載の複合体と接触させることを含む、方法。

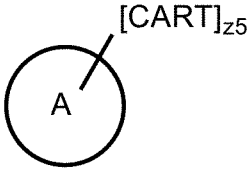
【０６０４】

実施形態９５

該カチオン性両親媒性ポリマーを該細胞内で分解させ、それによって分解産物を形成させることをさらに含む、実施形態９４に記載の方法。

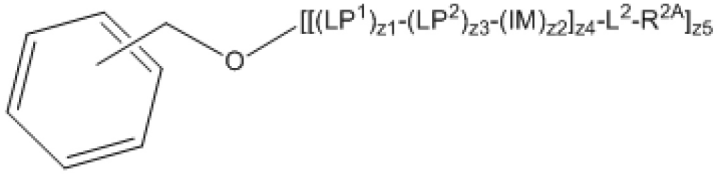
【０６０５】
実施形態９６
該分解産物が、置換または非置換ジケトピペラジンである、実施形態９５に記載の方法。
【０６０６】
実施形態９７
該核酸が、ｍＲＮＡである、実施形態９４～９６のいずれか１つに記載の方法。
【０６０７】
実施形態９８
該ｍＲＮＡが該細胞で発現されることを可能にすることをさらに含む、実施形態９７に記載の方法。
【０６０８】
実施形態９９
該細胞が、生物の一部を形成する、実施形態９４～９７のいずれか１つに記載の方法。
【０６０９】
実施形態１００
該生物が、ヒトである、実施形態９９に記載の方法。
【０６１０】
Ｐ実施形態
Ｐ実施形態１．カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合した核酸を含む細胞透過性複合体であって、該カチオン性両親媒性ポリマーが、ｐＨ感受性犠牲ドメインおよび親油性ポリマードメインを含み、
該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
$R^{1A}-[L^{1}-[(LP^{1})_{z1}-(LP^{2})_{z3}-(IM)_{z2}]_{z4}-L^{2}-R^{2A}]_{z5}$
式中、
R^{1A}が、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
R^{2A}が、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
L^{1}およびL^{2}が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ

（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ^{1}およびＬＰ^{2}が、独立して、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、該ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、
ｚ２が、２～１００の整数である、細胞透過性複合体。
【０６１１】
Ｐ実施形態２．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化１１７】

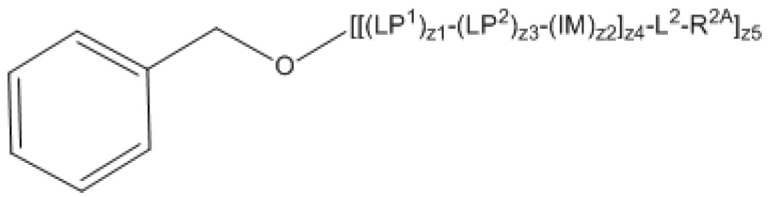


式中、
環Ａが、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
ＣＡＲＴが、式：－Ｌ^1－［（ＬＰ^1）$_{z1}$－（ＬＰ^2）$_{z3}$－（ＩＭ）$_{z2}$］$_{z4}$－Ｌ^2－Ｒ^{2A}を有し、
式中、
Ｒ^{2A}が、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ$_3$、－ＣＢｒ$_3$、－ＣＦ$_3$、－ＣＩ$_3$、ＣＨＣｌ$_2$、－ＣＨＢｒ$_2$、－ＣＨＦ$_2$、
－ＣＨＩ$_2$、－ＣＨ$_2$Ｃｌ、－ＣＨ$_2$Ｂｒ、－ＣＨ$_2$Ｆ、－ＣＨ$_2$Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ$_2$、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ$_2$、－ＮＯ$_2$、－ＳＨ、
－ＳＯ$_3$Ｈ、－ＳＯ$_4$Ｈ、－ＳＯ$_2$ＮＨ$_2$、－ＮＨＮＨ$_2$、－ＯＮＨ$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ$_2$、－ＮＨＳＯ$_2$Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ$_3$、－ＯＣＦ$_3$、－ＯＣＢｒ$_3$、－ＯＣＩ$_3$、－ＯＣＨＣｌ$_2$、－ＯＣＨＢｒ$_2$、－ＯＣＨＩ$_2$、－ＯＣＨＦ$_2$、－ＯＣＨ$_2$Ｃｌ、－ＯＣＨ$_2$Ｂｒ、－ＯＣＨ$_2$Ｉ、－ＯＣＨ$_2$Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
Ｌ^{1}およびＬ^{2}が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ^{1}およびＬＰ^{2}が、独立して、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、該ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、
ｚ２が、２～１００の整数である、Ｐ実施形態１に記載の細胞透過性複合体。

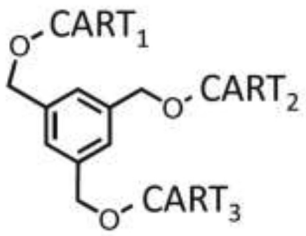
【０６１２】
Ｐ実施形態３．環Ａが、置換または非置換アリールである、Ｐ実施形態２に記載の細胞透過性複合体。
【０６１３】
Ｐ実施形態４．環Ａが、置換または非置換フェニルである、Ｐ実施形態２に記載の細胞透過性複合体。
【０６１４】
Ｐ実施形態５．環Ａが、置換または非置換アリールである、Ｐ実施形態２に記載の細胞透過性複合体。
【０６１５】
Ｐ実施形態６．環Ａが、置換または非置換フェニルまたはナフタレニルである、Ｐ実施形態２に記載の細胞透過性複合体。
【０６１６】
Ｐ実施形態７．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、Ｐ実施形態１または２に記載の細胞透過性複合体。
【化１１８】



【０６１７】
Ｐ実施形態８．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、Ｐ実施形態１または２に記載の細胞透過性複合体。
【化１１９】

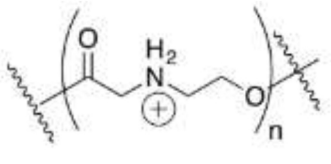


【０６１８】
Ｐ実施形態９．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化１２０】



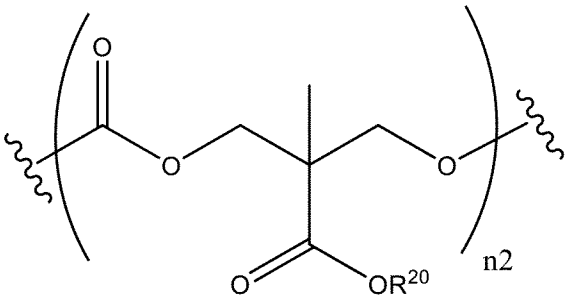
式中、ＣＡＲＴ１、ＣＡＲＴ２、およびＣＡＲＴ３が、独立して、請求項２に定義されるようなＣＡＲＴである、Ｐ実施形態１または２に記載の細胞透過性複合体。
【０６１９】
Ｐ実施形態１０．ｚ５が、１～３までの整数である、Ｐ実施形態１または２に記載の細胞透過性複合体。
【０６２０】

Ｐ実施形態１１．ｚ５が、１または３である、Ｐ実施形態１または２に記載の細胞透過性複合体。
【０６２１】
Ｐ実施形態１２．ｚ５が、１である、Ｐ実施形態１または２に記載の細胞透過性複合体。
【０６２２】
Ｐ実施形態１３．ｚ５が、３である、Ｐ実施形態１または２に記載の細胞透過性複合体。
【０６２３】
Ｐ実施形態１４．Ｒ２Ａが、水素である、Ｐ実施形態１または２に記載の細胞透過性複合体。
【０６２４】
Ｐ実施形態１５．Ｌ２が、結合である、Ｐ実施形態１または２に記載の細胞透過性複合体。
【０６２５】
Ｐ実施形態１６．該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、
【化１２１】



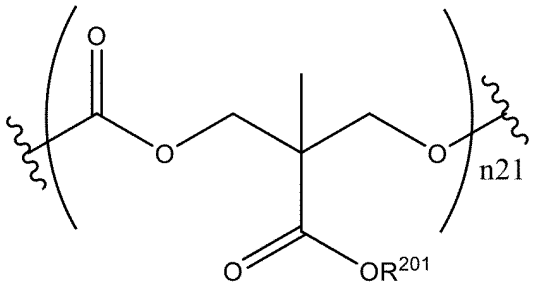
（ＩＶ）

式中、ｎが、２以上の整数である、Ｐ実施形態１に記載の細胞透過性複合体。
【０６２６】
Ｐ実施形態１７．ｎが、２～５０の範囲内の整数である、Ｐ実施形態１６に記載の細胞透過性複合体。
【０６２７】
Ｐ実施形態１８．ｎが、７である、Ｐ実施形態１６に記載の細胞透過性複合体。
【０６２８】
Ｐ実施形態１９．該親油性ポリマードメインが、以下の式を有し、
【化１２２】

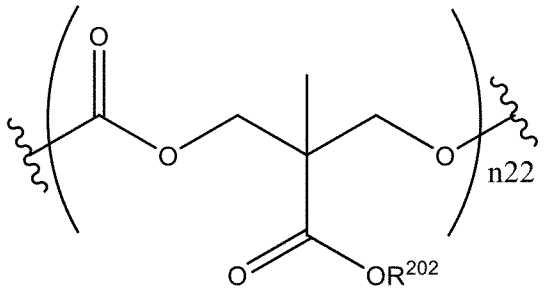


式中、
ｎ２が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、Ｐ実施形態１または２に記載の細胞透過性複合体。
【０６２９】
Ｐ実施形態２０．ＬＰ１が、以下の式を有し、

【化１２３】

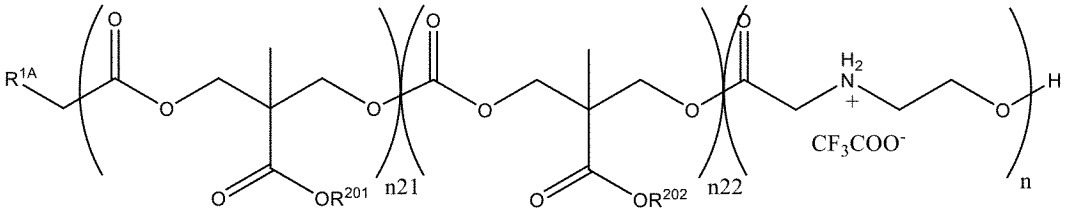


式中、
ｎ２１が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０１が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、Ｐ実施形態１～１９のいずれか１つに記載の細胞透過性複合体。
【０６３０】
Ｐ実施形態２１．ｎ２１が、５であり、Ｒ２０１が、非置換Ｃ１８アルケニルである、請求項２０に記載の細胞透過性複合体。
【０６３１】
Ｐ実施形態２２．該非置換Ｃ１８アルケニルが、オレイルである、Ｐ実施形態２１に記載の細胞透過性複合体。
【０６３２】
Ｐ実施形態２３．ＬＰ２が、以下の式を有し、
【化１２４】



式中、
ｎ２２が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０２が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、Ｐ実施形態１～２２のいずれか１つに記載の細胞透過性複合体。
【０６３３】
Ｐ実施形態２４．ｎ２２が、５であり、Ｒ２０２が、非置換Ｃ９アルケニルである、Ｐ実施形態２３に記載の細胞透過性複合体。
【０６３４】
Ｐ実施形態２５．該非置換Ｃ９アルケニルが、ノネニルである、Ｐ実施形態２４に記載の細胞透過性複合体。
【０６３５】
Ｐ実施形態２６．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、

【化１２５】



式中、ｎ２１が、５であり、Ｒ２０１が、オレイルであり、ｎ２２が、５であり、Ｒ２０２が、ノネニルであり、ｎが、７である、Ｐ実施形態１～２５のいずれか１つに記載の細胞透過性複合体。

【０６３６】

Ｐ実施形態２７．該核酸が、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、ショートヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）、ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）、トランス活性化ＲＮＡ（ｔｒａｃｒＲＮＡ）、プラスミドＤＮＡ（ｐＤＮＡ）、ミニサークルＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ（ｇＮＤＡ）である、Ｐ実施形態１～２６のいずれか１つに記載の細胞透過性複合体。

【０６３７】

Ｐ実施形態２８．該核酸が、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする配列を含む、Ｐ実施形態１～２７のいずれか１つに記載の細胞透過性複合体。

【０６３８】

Ｐ実施形態２９．Ｐ実施形態１～２８のいずれか１つに記載の複数の細胞透過性複合体を含む、ナノ粒子組成物。

【０６３９】

Ｐ実施形態３０．Ｐ実施形態１～２８のいずれかに記載の複合体および薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物。

【０６４０】

Ｐ実施形態３１．核酸を細胞にトランスフェクトする方法であって、細胞をＰ実施形態１～２８のいずれか１つに記載の複合体と接触させることを含む、方法。

【０６４１】

Ｐ実施形態３２．該カチオン性両親媒性ポリマーを該細胞内で分解させ、それによって分解産物を形成させることをさらに含む、Ｐ実施形態３１に記載の方法。

【０６４２】

Ｐ実施形態３３．該分解産物が、置換または非置換ジケトピペラジンである、Ｐ実施形態３２に記載の方法。

【０６４３】

Ｐ実施形態３４．該核酸が、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）をコードするＣＡＲを含む、Ｐ実施形態３１に記載の方法。

【０６４４】

Ｐ実施形態３５．該ｍＲＮＡが、該細胞で発現されることを可能にすることをさらに含む、Ｐ実施形態３４に記載の方法。

【０６４５】

Ｐ実施形態３６．該細胞が、真核細胞である、Ｐ実施形態３５に記載の方法。

【０６４６】

Ｐ実施形態３７．該細胞が、哺乳動物細胞またはヒト細胞である、Ｐ実施形態３５に記載の方法。

【０６４７】

Ｐ実施形態３８．該細胞が、生物の一部を形成する、Ｐ実施形態３５に記載の方法。

【０６４８】

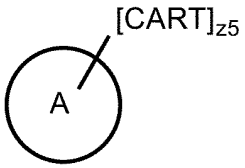
Ｐ実施形態３９．該生物が、ヒトである、Ｐ実施形態３８に記載の方法。
【０６４９】
Ｐ実施形態４０．該細胞が、リンパ系細胞または骨髄系細胞である、Ｐ実施形態３５～３９のいずれか１つの請求項に記載の方法。
【０６５０】
Ｐ実施形態４１．該細胞が、Ｔ細胞である、Ｐ実施形態３５～４０のいずれか１つの請求項に記載の方法。
【０６５１】
Ｐ実施形態４２．該細胞が、骨髄系細胞である、Ｐ実施形態３５～４０のいずれか１つの請求項に記載の方法。
【０６５２】
Ｐ実施形態４３．免疫応答の誘導を必要とする対象においてそれを誘導する方法であって、Ｐ実施形態１～２８のいずれか１つに記載の複合体の有効量を該対象に投与することを含む、方法。
【０６５３】
Ｐ実施形態４４．該免疫応答が、抗癌免疫応答である、Ｐ実施形態４３に記載の方法。
【０６５４】
Ｐ実施形態４５．癌の治療を必要とする対象においてそれを治療する方法であって、Ｐ実施形態１～２８のいずれか１つに記載の複合体の有効量を該対象に投与することを含む、方法。
【０６５５】
Ｐ実施形態４６．該投与が、静脈内注射または皮下注射を含む、Ｐ実施形態４３～４５のいずれか１つの請求項に記載の方法。
【０６５６】
Ｐ実施形態４７．キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする核酸を細胞にトランスフェクトする方法であって、該方法が、細胞をカチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合した核酸を含む細胞透過性複合体と接触させることを含み、該カチオン性両親媒性ポリマーが、ｐＨ感受性犠牲ドメインおよび親油性ポリマードメインを含み、該核酸が、キメラ抗原受容体をコードする配列を含む、方法。
【０６５７】
Ｐ実施形態４８．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
$R^{1A}-[L^{1}-[(LP^{1})_{z1}-(IM)_{z2}-(LP^{2})_{z3}]_{z4}-L^{2}-R^{2A}]_{z5}$
式中、
R^{1A}が、水素、ハロゲン、－CCl_3、－CBr_3、－CF_3、－CI_3、$CHCl_2$、－$CHBr_2$、－CHF_2、
－CHI_2、－CH_2Cl、－CH_2Br、－CH_2F、－CH_2I、－ＣＮ、－ＯＨ、－NH_2、－ＣＯＯＨ、－$CONH_2$、－NO_2、－ＳＨ、
－SO_3H、－SO_4H、－SO_2NH_2、－$NHNH_2$、－ONH_2、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）NH_2、－$NHSO_2H$、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－$OCCl_3$、－OCF_3、－$OCBr_3$、－OCI_3、－$OCHCl_2$、－$OCHBr_2$、－$OCHI_2$、－$OCHF_2$、－OCH_2Cl、－OCH_2Br、－OCH_2I、－OCH_2F、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
R^{2A}が、水素、ハロゲン、－CCl_3、－CBr_3、－CF_3、－CI_3、$CHCl_2$、－$CHBr_2$、－CHF_2、
－CHI_2、－CH_2Cl、－CH_2Br、－CH_2F、－CH_2I、－ＣＮ、－ＯＨ、－NH_2、－ＣＯＯＨ、－$CONH_2$、－NO_2、－ＳＨ、

－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
Ｌ１およびＬ２が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ１およびＬＰ２が、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、ＬＰ１またはＬＰ２のうちの少なくとも１つが、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、該ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、
ｚ２が、２～１００の整数である、Ｐ実施形態４７に記載の方法。

【０６５８】

Ｐ実施形態４９．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、

【化１２６】



式中、
環Ａが、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
ＣＡＲＴは、式：－Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＩＭ）ｚ２－（ＬＰ２）ｚ３］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａを有し、
式中、
Ｒ２Ａが、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
Ｌ１およびＬ２が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、

－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ^{1}およびＬＰ^{2}が、独立して、結合または親油性ポリマードメインであり、ＬＰ^{1}またはＬＰ^{2}のうちの少なくとも１つが、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、該ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、
ｚ２が、２～１００の整数である、Ｐ実施形態４７または４８に記載の方法。

【０６５９】

Ｐ実施形態５０．環Ａが、置換または非置換アリールである、Ｐ実施形態４９に記載の方法。

【０６６０】

Ｐ実施形態５１．環Ａが、置換または非置換フェニルである、Ｐ実施形態４９に記載の方法。

【０６６１】

Ｐ実施形態５２．環Ａが、置換または非置換アリールである、Ｐ実施形態４９に記載の方法。

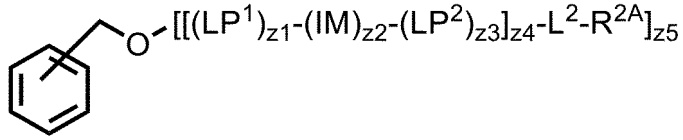
【０６６２】

Ｐ実施形態５３．環Ａが、置換または非置換フェニルまたはナフタレニルである、Ｐ実施形態４９に記載の方法。

【０６６３】

Ｐ実施形態５４．該カチオン性両親媒性ポリマーが以下の式を有する、Ｐ実施形態４８または４９に記載の方法。

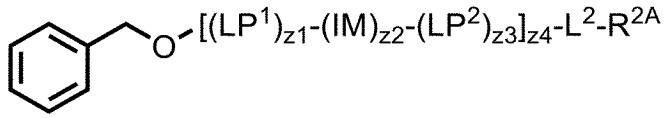
【化１２７】



【０６６４】

Ｐ実施形態５５．該カチオン性両親媒性ポリマーが以下の式を有する、Ｐ実施形態４８または４９に記載の方法。

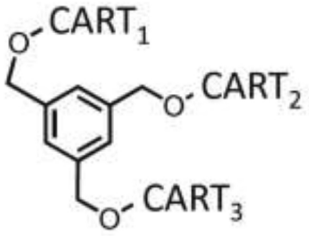
【化１２８】



【０６６５】

Ｐ実施形態５６．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、

【化１２９】



式中、ＣＡＲＴ１、ＣＡＲＴ２、およびＣＡＲＴ３が、独立して、請求項４に定義されるようなＣＡＲＴである、Ｐ実施形態４８または４９に記載の方法。

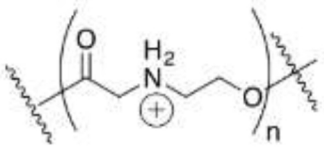
【０６６６】

Ｐ実施形態５７．Ｌ１が、－ＣＨ２－Ｏ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンである、Ｐ実施形態４８または４９に記載の方法。

【０６６７】

Ｐ実施形態５８．該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、

【化１３０】



（ＩＶ）

式中、ｎが、２以上の整数である、Ｐ実施形態４７～５７のいずれか１つに記載の方法。

【０６６８】

Ｐ実施形態５９．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、

Ｒ１Ａ－［Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＬＰ２）ｚ３－（ＩＭ）ｚ２］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａ］ｚ５

式中、

Ｒ１Ａが、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、

－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、

－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、

－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、

Ｒ２Ａが、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、

－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、

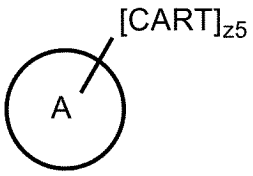
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、

－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、

Ｌ１およびＬ２が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、

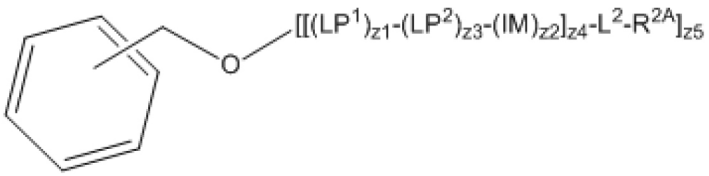
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シ

クロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ１およびＬＰ２が、独立して、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、該ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、
ｚ２が、２～１００の整数である、Ｐ実施形態４７に記載の方法。
【０６６９】
Ｐ実施形態６０．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化１３１】

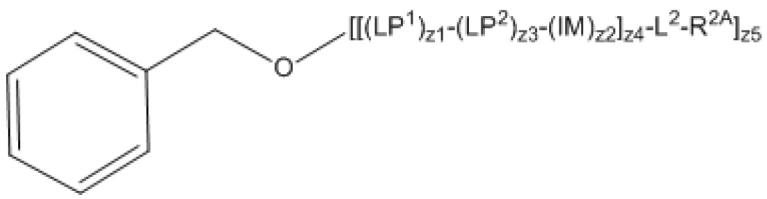


式中、
環Ａが、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
ＣＡＲＴが、式：－Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＬＰ２）ｚ３－（ＩＭ）ｚ２］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａを有し、
式中、
Ｒ２Ａが、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
Ｌ１およびＬ２が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ１およびＬＰ２が、独立して、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、該ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、
ｚ２が、２～１００の整数である、Ｐ実施形態４７または４９に記載の方法。
【０６７０】
Ｐ実施形態６１．環Ａが、置換または非置換アリールである、Ｐ実施形態６０に記載の方法。

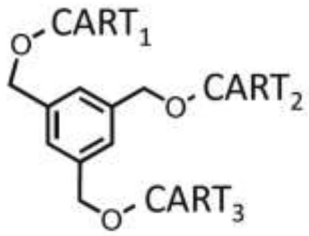
【０６７１】
Ｐ実施形態６２．環Ａが、置換または非置換フェニルである、Ｐ実施形態６０に記載の方法。
【０６７２】
Ｐ実施形態６３．環Ａが、置換または非置換アリールである、Ｐ実施形態６０に記載の方法。
【０６７３】
Ｐ実施形態６４．環Ａが、置換または非置換フェニルまたはナフタレニルである、Ｐ実施形態６０に記載の方法。
【０６７４】
Ｐ実施形態６５．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、Ｐ実施形態５９～６４のいずれか１つに記載の方法。
【化１３２】



【０６７５】
Ｐ実施形態６６．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、Ｐ実施形態５９～６５のいずれか１つに記載の方法。
【化１３３】



【０６７６】
Ｐ実施形態６７．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化１３４】



式中、ＣＡＲＴ１、ＣＡＲＴ２、およびＣＡＲＴ３が、独立して、Ｐ実施形態４に定義されるようなＣＡＲＴである、Ｐ実施形態５９～６６のいずれか１つに記載の方法。
【０６７７】
Ｐ実施形態６８．ｚ５が、１～３の整数である、Ｐ実施形態５９～６７のいずれか１つに記載の方法。
【０６７８】
Ｐ実施形態６９．ｚ５が、１または３である、Ｐ実施形態５９～６７のいずれか１つに記載の方法。
【０６７９】

Ｐ実施形態７０．ｚ５が、１である、Ｐ実施形態５９～６７のいずれか１つに記載の方法。

【０６８０】

Ｐ実施形態７１．ｚ５が、３である、Ｐ実施形態５９～６７のいずれか１つに記載の方法。

【０６８１】

Ｐ実施形態７２．Ｒ２Ａが、水素である、Ｐ実施形態５９～７１のいずれか１つに記載の方法。

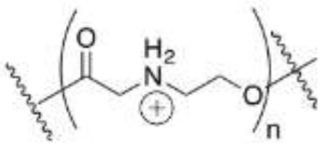
【０６８２】

Ｐ実施形態７３．Ｌ２が、結合である、Ｐ実施形態５９～７２のいずれか１つに記載の方法。

【０６８３】

Ｐ実施形態７４．該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、

【化１３５】



（ＩＶ）

式中、ｎが、２以上の整数である、Ｐ実施形態５９～７３のいずれか１つに記載の方法。

【０６８４】

Ｐ実施形態７５．ｎが、２～５０の範囲内の整数である、Ｐ実施形態７４に記載の方法。

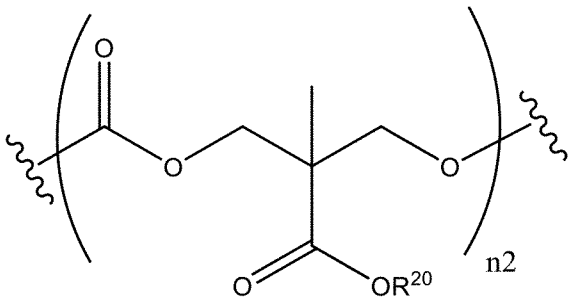
【０６８５】

Ｐ実施形態７６．ｎが、７である、Ｐ実施形態７４に記載の方法。

【０６８６】

Ｐ実施形態７７．該親油性ポリマードメインが、以下の式を有し、

【化１３６】



式中、

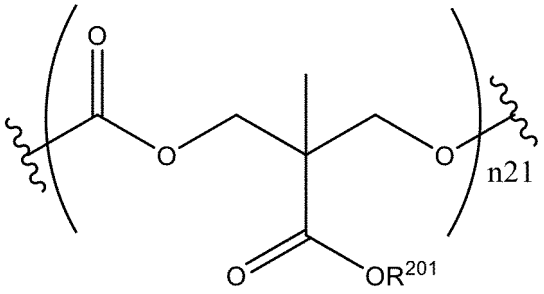
ｎ２が、１～１００の整数であり、

Ｒ２０が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、Ｐ実施形態５９～７６のいずれか１つに記載の方法。

【０６８７】

Ｐ実施形態７８．ＬＰ１が、以下の式を有し、

【化１３７】



式中、
ｎ２１が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０１が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、Ｐ実施形態５９～７７のいずれか１つに記載の方法。

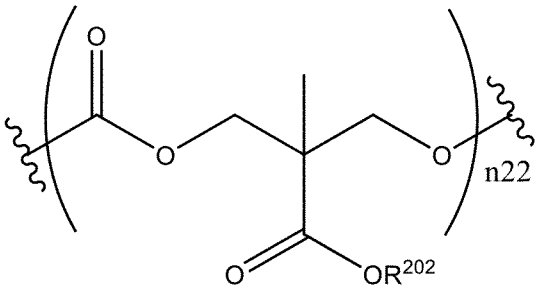
【０６８８】

Ｐ実施形態７９．ｎ２１が、５であり、Ｒ２０１が、非置換Ｃ１８アルケニルである、Ｐ実施形態７８に記載の方法。

【０６８９】

Ｐ実施形態８０．ＬＰ２が、以下の式を有し、

【化１３８】



式中、
ｎ２２が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０２が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、Ｐ実施形態５９～７７のいずれか１つに記載の方法。

【０６９０】

Ｐ実施形態８１．ｎ２２が、５であり、Ｒ２０２が、非置換Ｃ９アルケニルである、Ｐ実施形態８０に記載の方法。

【０６９１】

Ｐ実施形態８２．該細胞が、真核細胞である、Ｐ実施形態４７～８１のいずれか１つに記載の方法。

【０６９２】

Ｐ実施形態８３．該細胞が、哺乳動物またはヒトの細胞である、Ｐ実施形態４７～８１のいずれか１つに記載の方法。

【０６９３】

Ｐ実施形態８４．該細胞が、生物の一部を形成する、Ｐ実施形態４７～８１のいずれか１つに記載の方法。

【０６９４】

Ｐ実施形態８５．該生物が、ヒトである、Ｐ実施形態４７～８１のいずれか１つに記載の方法。

【０６９５】

Ｐ実施形態８６．該細胞が、リンパ系細胞または骨髄系細胞である、Ｐ実施形態４７～８１のいずれか１つに記載の方法。

【０６９６】

Ｐ実施形態８７．該細胞が、Ｔ細胞である、Ｐ実施形態４７～８１のいずれか１つに記載の方法。

【０６９７】

Ｐ実施形態８８．該細胞が、骨髄系細胞である、Ｐ実施形態４７～８１のいずれか１つに記載の方法。

【０６９８】

Ｐ実施形態８９．以下式のカチオン性両親媒性ポリマーであって、

$R^{1A}-[L^{1}-[(LP^{1})_{z1}-(LP^{2})_{z3}-(IM)_{z2}]_{z4}-L^{2}-R^{2A}]_{z5}$

式中、

R^{1A}が、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、

R^{2A}が、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、

L^{1}およびL^{2}が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、

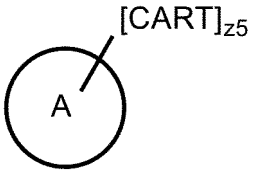
LP^{1}およびLP^{2}が、独立して、親油性ポリマードメインであり、

ＩＭが、該ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、

ｚ５が、１～１０の整数であり、

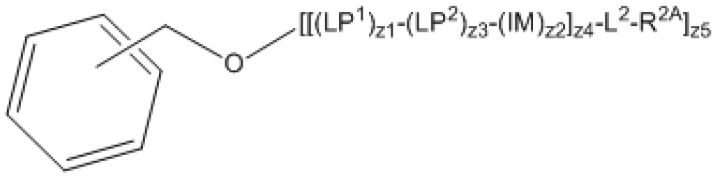
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なく

ｚ４が、１～１００の整数であり、
ｚ２が、２～１００の整数である、カチオン性両親媒性ポリマー。
【０６９９】
Ｐ実施形態９０．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化１３９】

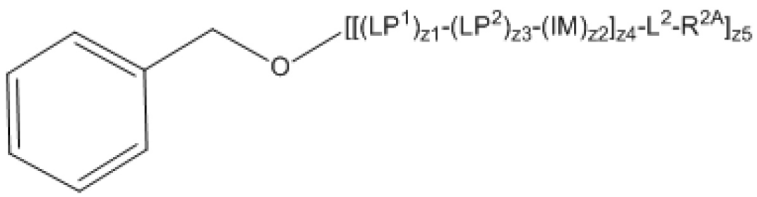


式中、
環Ａが、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
ＣＡＲＴが、式：－Ｌ１－［（ＬＰ１）ｚ１－（ＬＰ２）ｚ３－（ＩＭ）ｚ２］ｚ４－Ｌ２－Ｒ２Ａを有し、
式中、
Ｒ２Ａが、水素、ハロゲン、－ＣＣｌ３、－ＣＢｒ３、－ＣＦ３、－ＣＩ３、ＣＨＣｌ２、－ＣＨＢｒ２、－ＣＨＦ２、
－ＣＨＩ２、－ＣＨ２Ｃｌ、－ＣＨ２Ｂｒ、－ＣＨ２Ｆ、－ＣＨ２Ｉ、－ＣＮ、－ＯＨ、
－ＮＨ２、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ２、－ＮＯ２、－ＳＨ、
－ＳＯ３Ｈ、－ＳＯ４Ｈ、－ＳＯ２ＮＨ２、－ＮＨＮＨ２、－ＯＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨＮＨ２、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ２、－ＮＨＳＯ２Ｈ、
－ＮＨＣ（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＣｌ３、－ＯＣＦ３、－ＯＣＢｒ３、－ＯＣＩ３、－ＯＣＨＣｌ２、－ＯＣＨＢｒ２、－ＯＣＨＩ２、－ＯＣＨＦ２、－ＯＣＨ２Ｃｌ、－ＯＣＨ２Ｂｒ、－ＯＣＨ２Ｉ、－ＯＣＨ２Ｆ、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールであり、
Ｌ１およびＬ２が、独立して、結合、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－ＮＨ－、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－、
－ＮＨＣ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）２－、－Ｓ（Ｏ）ＮＨ－、－ＮＨＣ（Ｏ）ＮＨ－、置換もしくは非置換アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロアルキレン、置換もしくは非置換シクロアルキレン、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキレン、置換もしくは非置換アリーレン、または置換もしくは非置換ヘテロアリーレンであり、
ＬＰ１およびＬＰ２が、独立して、親油性ポリマードメインであり、
ＩＭが、該ｐＨ感受性犠牲ドメインであり、
ｚ５が、１～１０の整数であり、
ｚ１およびｚ３が、独立して、０～１００の整数であり、ｚ１またはｚ３のうちの少なくとも１つが、０ではなく、ｚ４が、１～１００の整数であり、
ｚ２が、２～１００の整数である、Ｐ実施形態８９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【０７００】
Ｐ実施形態９１．環Ａが、置換または非置換アリールである、Ｐ実施形態９０に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【０７０１】
Ｐ実施形態９２．環Ａが、置換または非置換フェニルである、Ｐ実施形態９０に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【０７０２】
Ｐ実施形態９３．環Ａが、置換または非置換アリールである、Ｐ実施形態９０に記載のカ

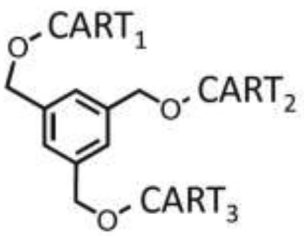
チオン性両親媒性ポリマー。
【０７０３】
Ｐ実施形態９４．環Ａが、置換または非置換フェニルまたはナフタレニルである、Ｐ実施形態９０に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【０７０４】
Ｐ実施形態９５．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、Ｐ実施形態８９～９４のいずれか１つに記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【化１４０】



【０７０５】
Ｐ実施形態９６．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有する、Ｐ実施形態８９～９４のいずれか１つに記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【化１４１】



【０７０６】
Ｐ実施形態９７．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、
【化１４２】



式中、ＣＡＲＴ１、ＣＡＲＴ２、およびＣＡＲＴ３が、独立して、Ｐ実施形態４に定義されるようなＣＡＲＴである、Ｐ実施形態８９～９４のいずれか１つに記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【０７０７】
Ｐ実施形態９８．ｚ５が、１～３の整数である、Ｐ実施形態８９～９７のいずれか１つに記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【０７０８】
Ｐ実施形態９９．ｚ５が、１または３である、Ｐ実施形態８９～９７のいずれか１つに記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【０７０９】
Ｐ実施形態１００．ｚ５が、１である、Ｐ実施形態８９～９７のいずれか１つに記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【０７１０】

Ｐ実施形態１０１．ｚ５が、３である、Ｐ実施形態８９～９７のいずれか１つに記載のカチオン性両親媒性ポリマー。

【０７１１】

Ｐ実施形態１０２．Ｒ２Ａが、水素である、Ｐ実施形態８９～１０１のいずれか１つに記載のカチオン性両親媒性ポリマー。

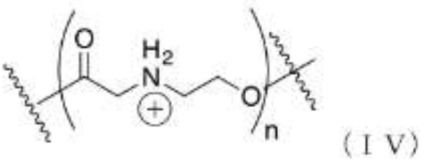
【０７１２】

Ｐ実施形態１０３．Ｌ２が、結合である、Ｐ実施形態８９～１０２のいずれか１つに記載のカチオン性両親媒性ポリマー。

【０７１３】

Ｐ実施形態１０４．該ｐＨ感受性犠牲ドメインが、以下の式を有し、

【化１４３】



（ＩＶ）

式中、ｎが、２以上の整数である、Ｐ実施形態８９～１０３のいずれか１つに記載のカチオン性両親媒性ポリマー。

【０７１４】

Ｐ実施形態１０５．ｎが、２～５０の範囲内の整数である、Ｐ実施形態１０４に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。

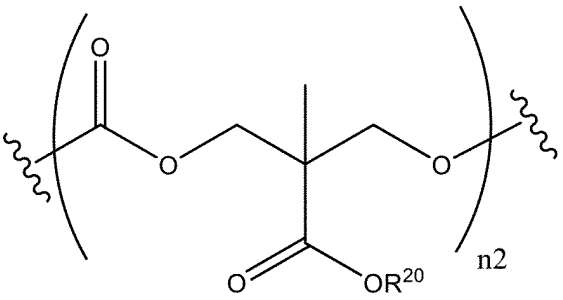
【０７１５】

Ｐ実施形態１０６．ｎが、７である、Ｐ実施形態１０５に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。

【０７１６】

Ｐ実施形態１０７．該親油性ポリマードメインが、以下の式を有し、

【化１４４】



式中、

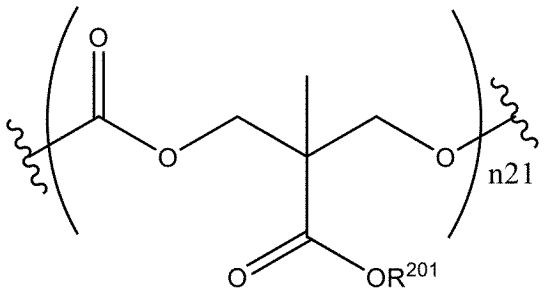
ｎ２が、１～１００の整数であり、

Ｒ２０が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、Ｐ実施形態８９～１０６のいずれか１つに記載のカチオン性両親媒性ポリマー。

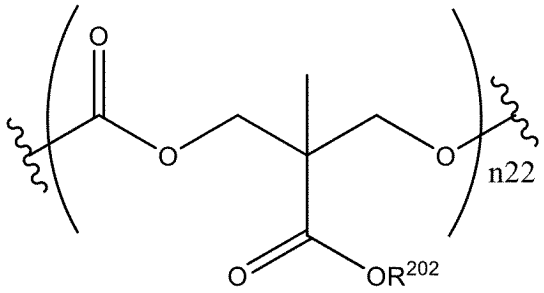
【０７１７】

Ｐ実施形態１０８．ＬＰ１が、以下の式を有し、

【化１４５】

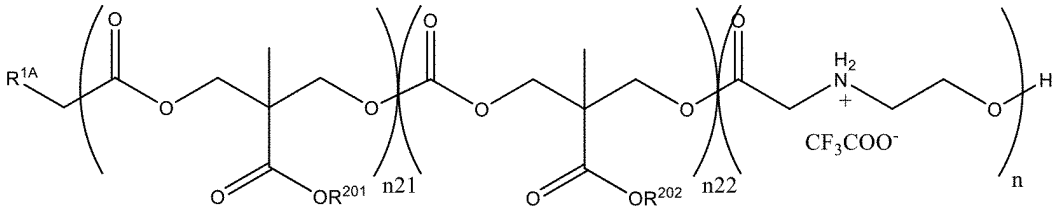


式中、
ｎ２１が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０１が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、Ｐ実施形態８９～１０７のいずれか１つに記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【０７１８】
Ｐ実施形態１０９．ｎ２１が、５であり、Ｒ２０１が、非置換Ｃ１８アルケニルである、Ｐ実施形態１０８に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【０７１９】
Ｐ実施形態１１０．該非置換Ｃ１８アルケニルが、オレイルである、Ｐ実施形態１０９に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【０７２０】
Ｐ実施形態１１１．ＬＰ２が、以下の式を有し、
【化１４６】



式中、
ｎ２２が、１～１００の整数であり、
Ｒ２０２が、独立して、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換ヘテロアルキル、置換もしくは非置換シクロアルキル、置換もしくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換もしくは非置換アリール、または置換もしくは非置換ヘテロアリールである、Ｐ実施形態８９～１１０のいずれか１つに記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【０７２１】
Ｐ実施形態１１２．ｎ２２が、５であり、Ｒ２０２が、非置換Ｃ９アルケニルである、Ｐ実施形態１１１に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【０７２２】
Ｐ実施形態１１３．該非置換Ｃ９アルケニルが、ノネニルである、Ｐ実施形態１１２に記載のカチオン性両親媒性ポリマー。
【０７２３】
Ｐ実施形態１１４．該カチオン性両親媒性ポリマーが、以下の式を有し、

【化１４７】



式中、ｎ２１が、５であり、Ｒ２０１が、オレイルであり、ｎ２２が、５であり、Ｒ２０２が、ノネニルであり、ｎが、７である、Ｐ実施形態８９～１１３のいずれか１つに記載のカチオン性両親媒性ポリマー。

【０７２４】

Ｐ実施形態１１５．受容体タンパク質をコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする方法であって、該方法が、化合物に結合した受容体タンパク質をコードする核酸を含む細胞透過性複合体を対象に投与することを含み、該化合物が、該細胞への送達時に分解し、それによって受容体タンパク質をコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする、方法。

【０７２５】

Ｐ実施形態１１６．該細胞受容体が、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）である、Ｐ実施形態１１５に記載の方法。

【０７２６】

Ｐ実施形態１１７．該細胞受容体が、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）である、Ｐ実施形態１１５に記載の方法。

【０７２７】

Ｐ実施形態１１８．Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）をコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする方法であって、該方法が、化合物に結合したＴＣＲをコードする核酸を含む細胞透過性複合体を対象に投与することを含み、該化合物が、該細胞への送達時に分解し、それによってＴＣＲをコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする、方法。

【０７２８】

Ｐ実施形態１１９．キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする方法であって、該方法が、化合物に結合したＣＡＲをコードする核酸を含む細胞透過性複合体を対象に投与することを含み、該化合物が、該細胞への送達時に分解し、それによってＣＡＲをコードする核酸を対象の細胞にトランスフェクトする、方法。

【０７２９】

Ｐ実施形態１２０．該化合物が、カチオン性両親媒性ポリマー化合物である、Ｐ実施形態１１５、１１８、または１１９のいずれか１つの請求項に記載の方法。

【０７３０】

Ｐ実施形態１２１．該化合物が、Ｐ実施形態８９～１１４のいずれか１つに記載の化合物である、Ｐ実施形態１１５、１１８、または１１９のいずれか１つに記載の方法。

【０７３１】

Ｐ実施形態１２２．該核酸が、ｍＲＮＡである、Ｐ実施形態１１５または１１８～１２１のいずれか１つに記載の方法。

【０７３２】

Ｐ実施形態１２３．該核酸が、ＤＮＡである、Ｐ実施形態１１５または１１８～１２１のいずれか１つに記載の方法。

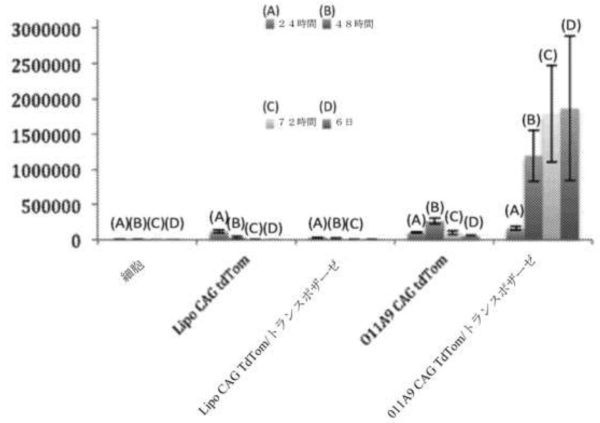
【０７３３】

Ｐ実施形態１２４．該ＣＡＲが、抗ＣＤ１９　ＣＡＲである、Ｐ実施形態１１９～１２３のいずれか１つに記載の方法。

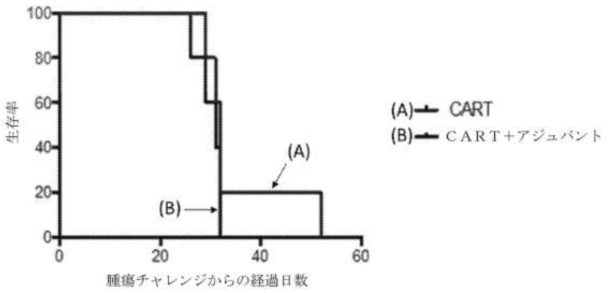
【０７３４】

Ｐ実施形態１２５．該核酸が、エフェクター増強タンパク質をさらにコードする、Ｐ実施

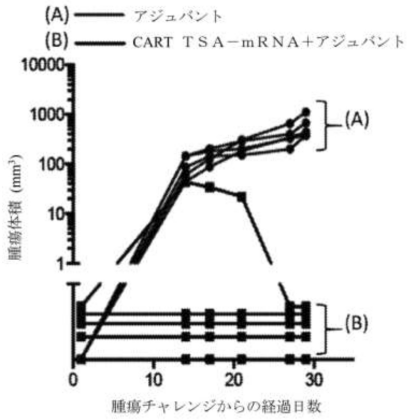
形態１１５または１１８～１２４のいずれか１つに記載の方法。
【０７３５】
Ｐ実施形態１２６．該核酸が、複数の核酸である、Ｐ実施形態１１５または１１８～１２５のいずれか１つに記載の方法。
【０７３６】
Ｐ実施形態１２７．該細胞が、骨髄系細胞またはリンパ系細胞である、Ｐ実施形態１１５または１１８～１２４のいずれか１つに記載の方法。
【０７３７】
Ｐ実施形態１２８．該細胞が、Ｔ細胞、Ｂ細胞、またはナチュラルキラー細胞である、Ｐ実施形態１１５～１２７のいずれか１つに記載の方法。
【０７３８】
Ｐ実施形態１２９．該細胞が、マクロファージ、好酸球、または好中球である、Ｐ実施形態１１５～１２７のいずれか１つに記載の方法。
【０７３９】
Ｐ実施形態１３０．該投与が、静脈内、皮下、または腫瘍内である、Ｐ実施形態１１５～１２８のいずれか１つに記載の方法。
【図面】
【図１】



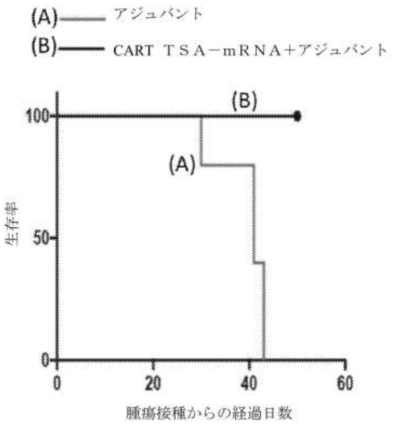
【図２】



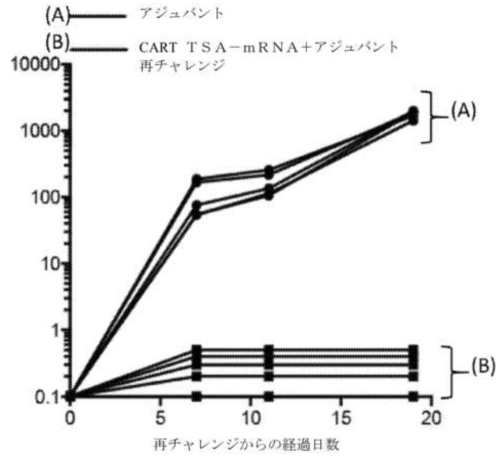
【図３Ａ】



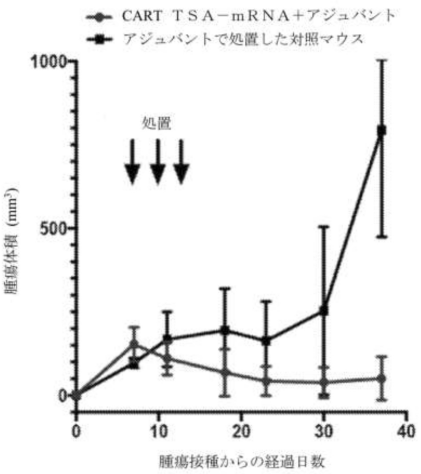
【図３Ｂ】



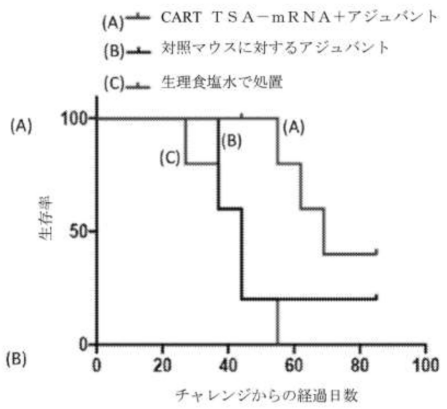
【図３Ｃ】



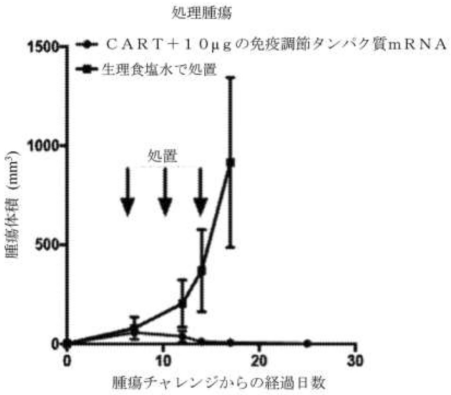
【図４Ａ】



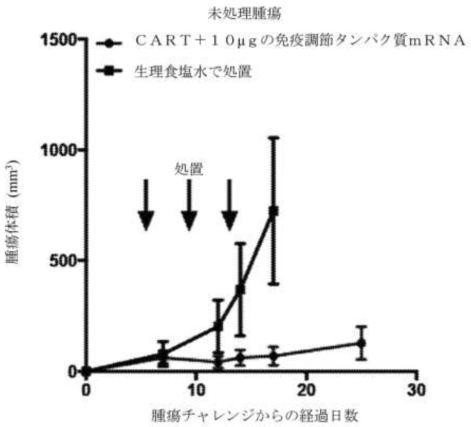
【図４Ｂ】



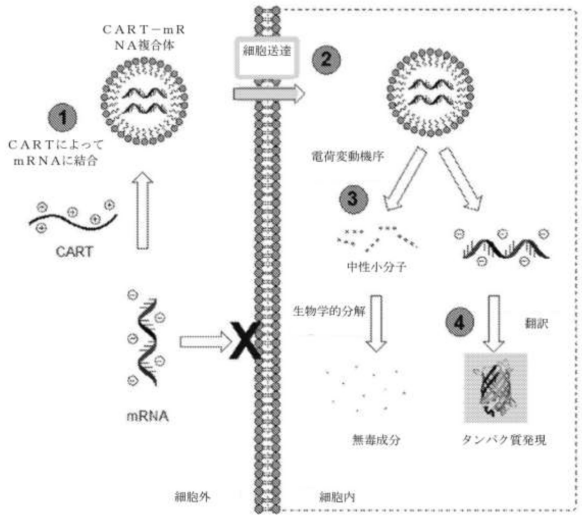
【図５Ａ】



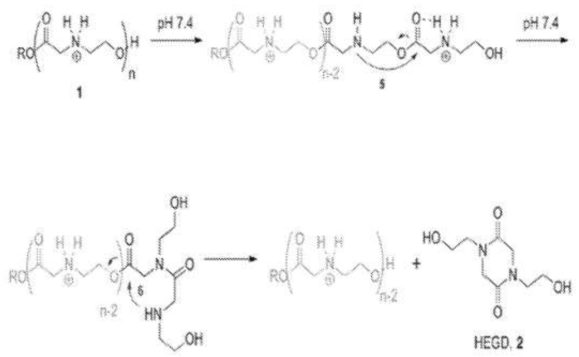
【図５Ｂ】



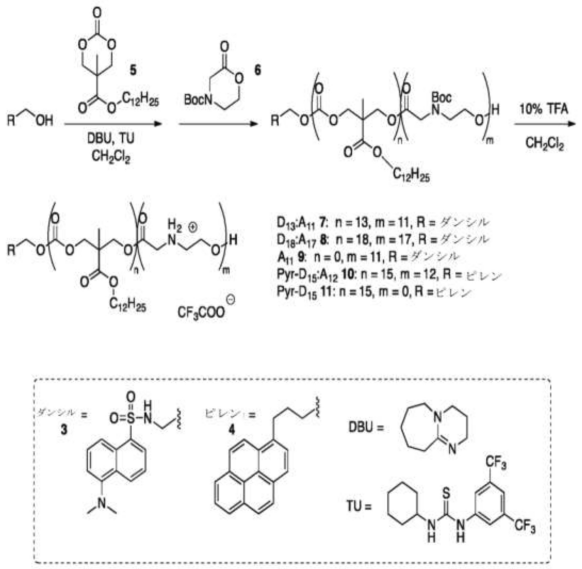
【図６】



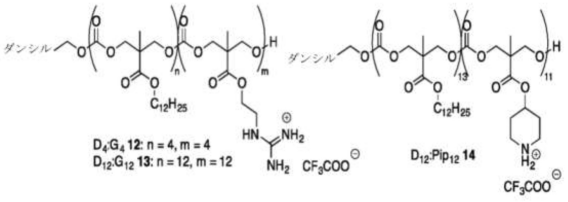
【図７Ａ】



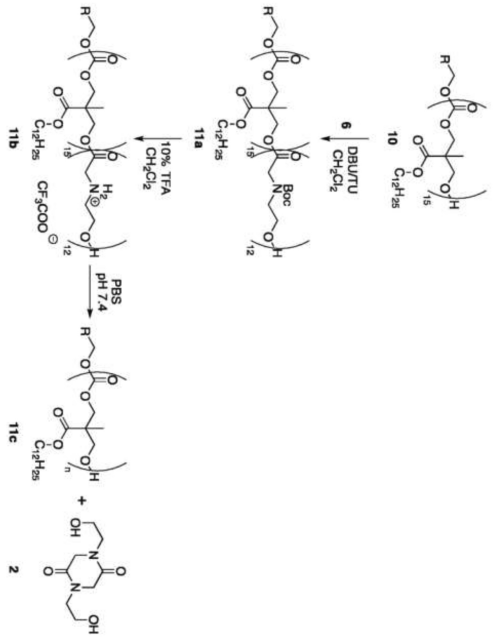
【図７Ｂ】



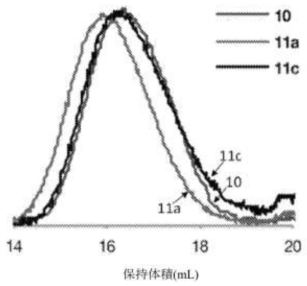
【図７Ｃ】



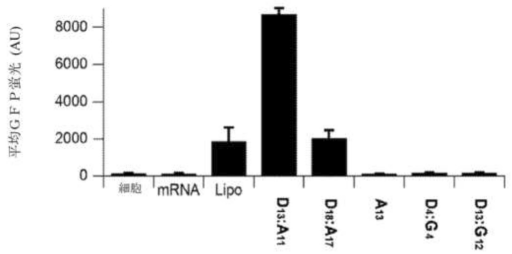
【図８Ａ】



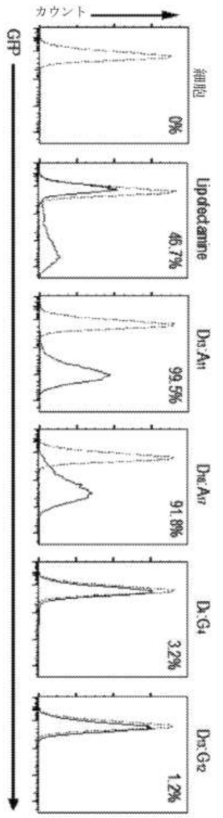
【図８Ｂ】



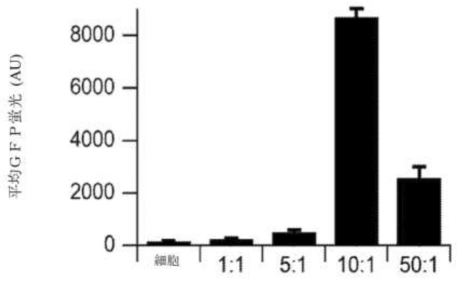
【図９Ａ】



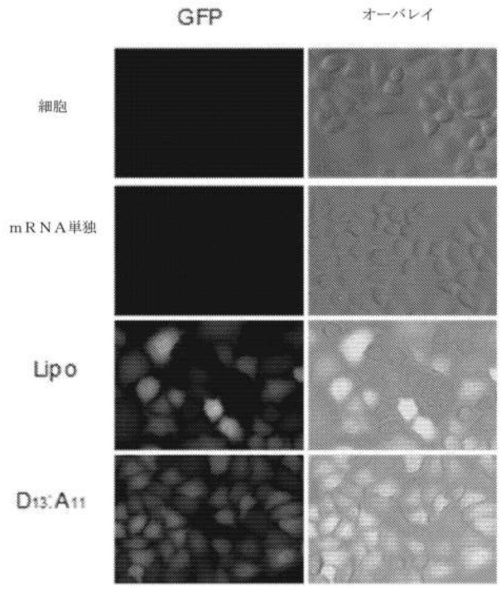
【図９Ｂ】



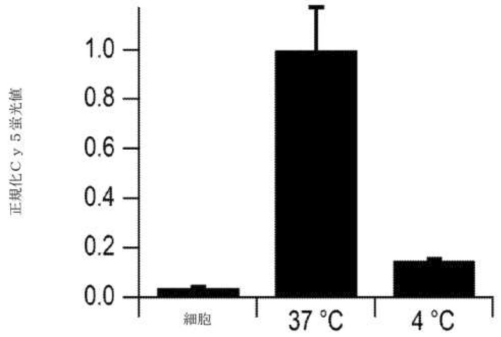
【図９Ｃ】



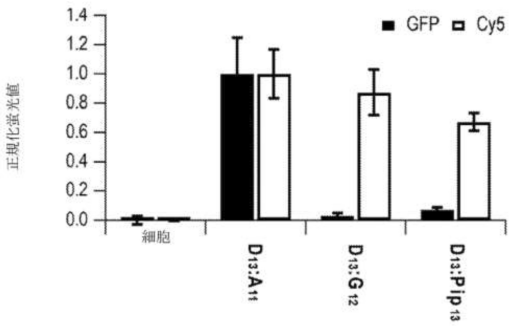
【図９Ｄ】



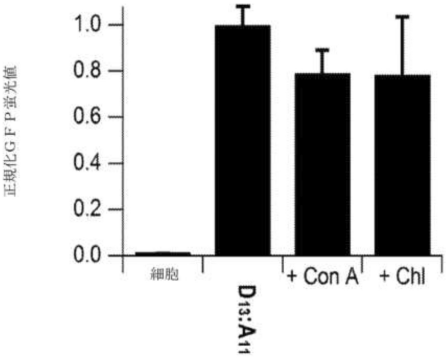
【図１０Ａ】



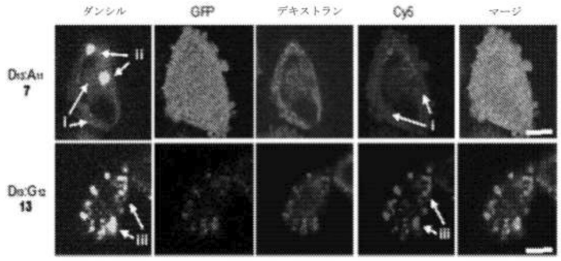
【図１０Ｂ】



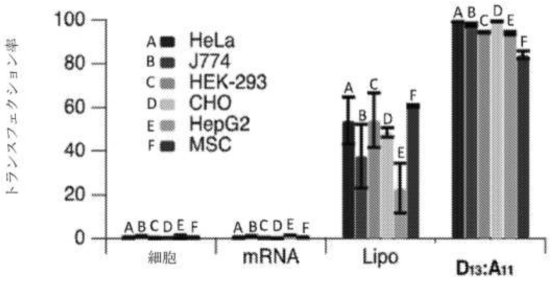
【図１０Ｃ】



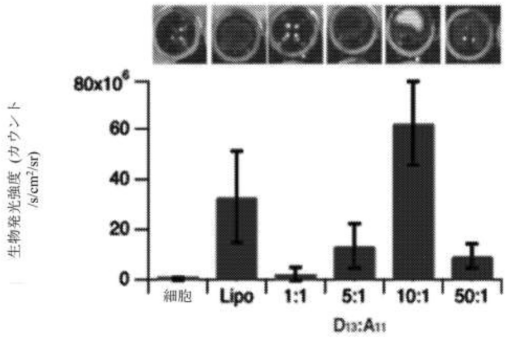
【図１０Ｄ】



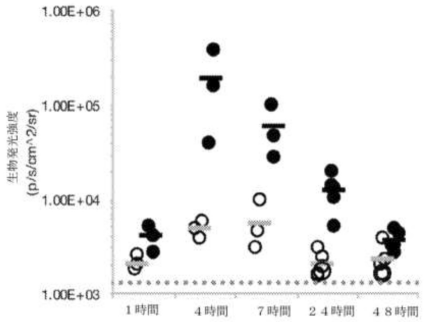
【図１１Ａ】



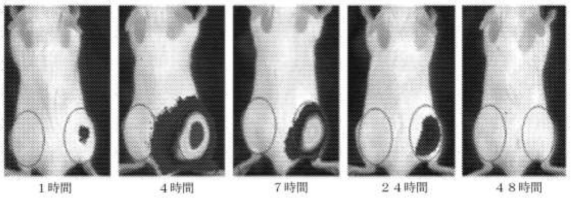
【図１１Ｂ】



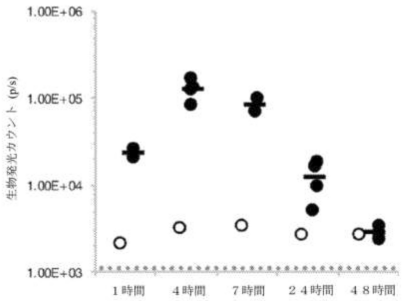
【図１１Ｃ】



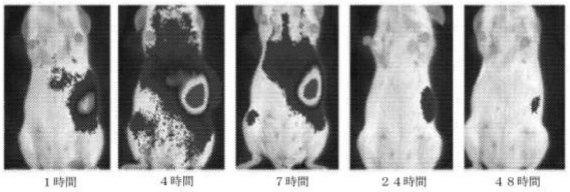
【図１１Ｄ】



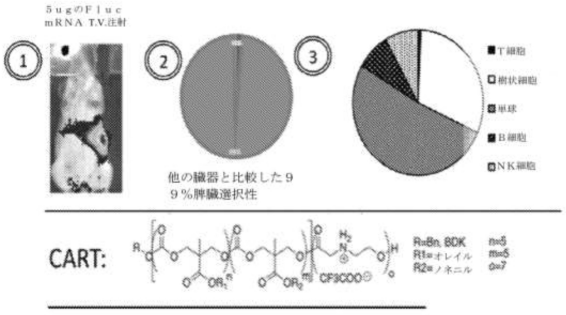
【図１１Ｅ】



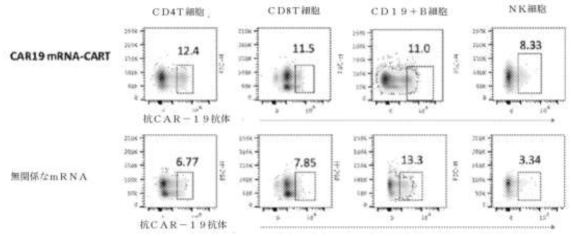
【図１１Ｆ】



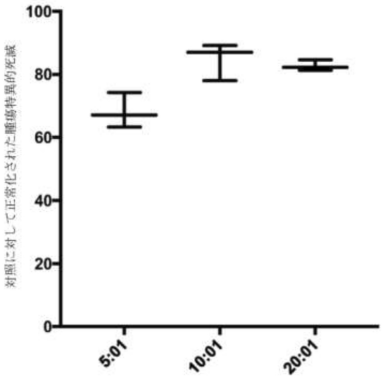
【図１２】



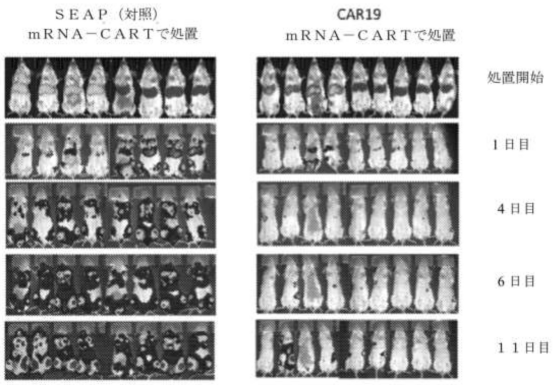
【図１３】



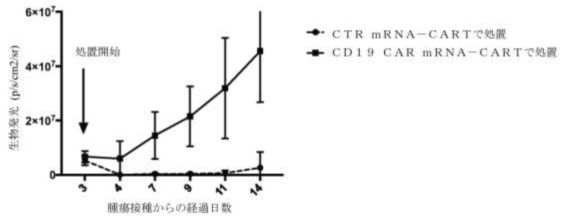
【図１４】



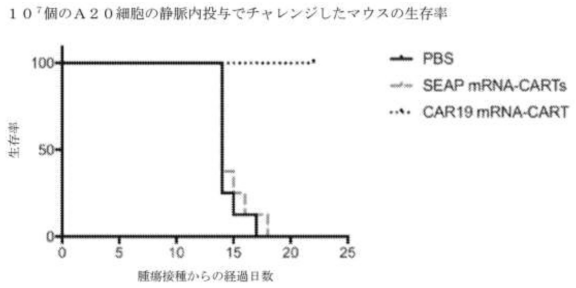
【図１５】



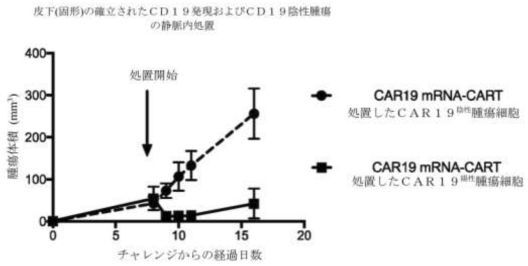
【図１６】



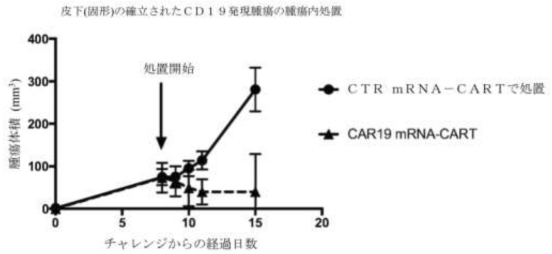
【図１７】



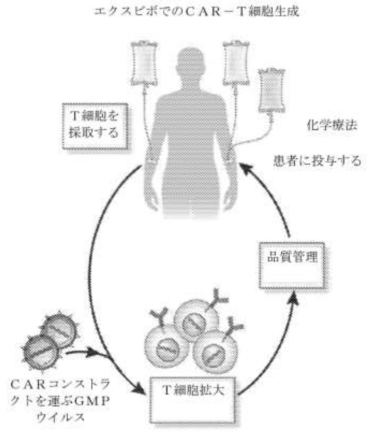
【図１８】



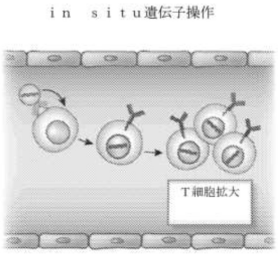
【図１９】



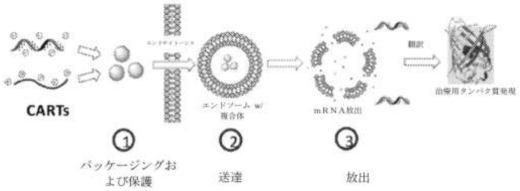
【図２０】



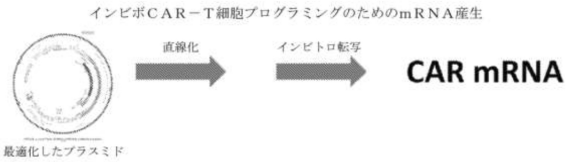
【図２１】



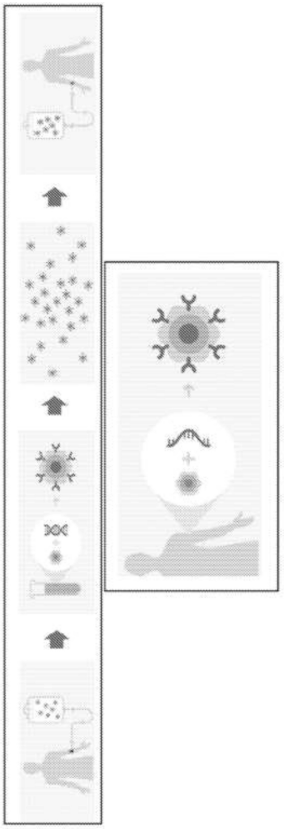
【図２２】



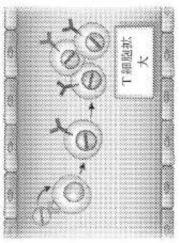
【図２３】



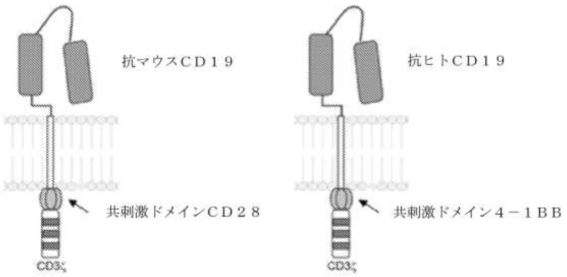
【図２４】



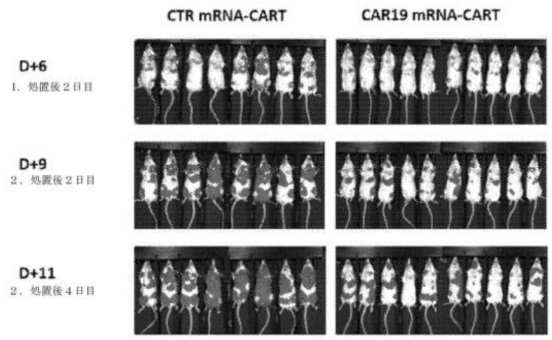
【図２５】



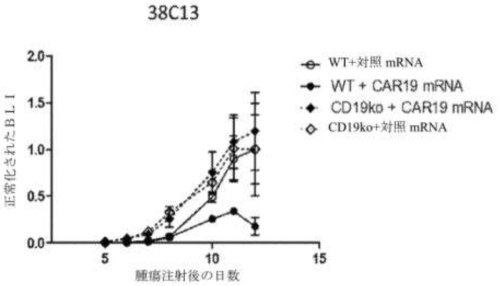
【図２６】



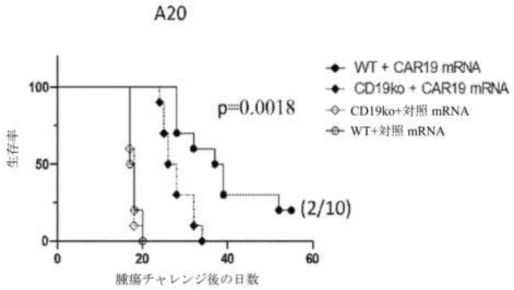
【図２７】



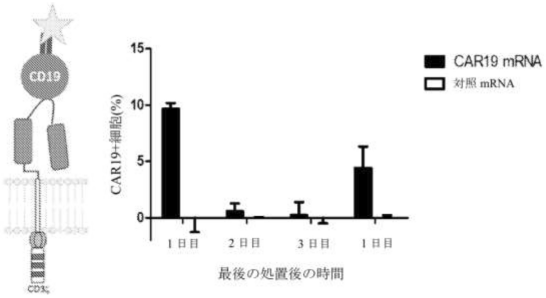
【図２８Ａ】



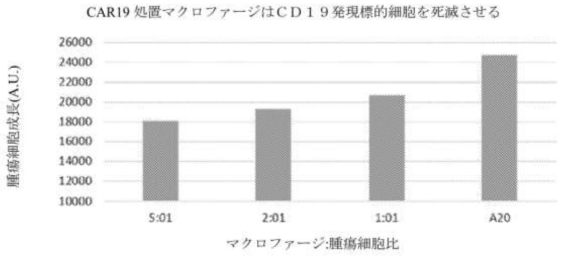
【図２８Ｂ】



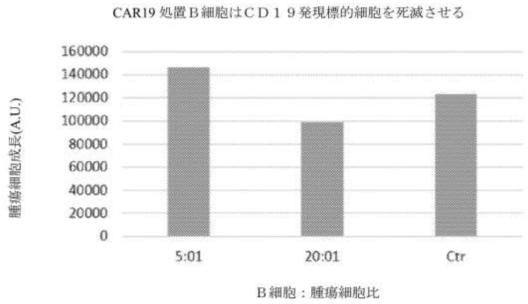
【図２９】



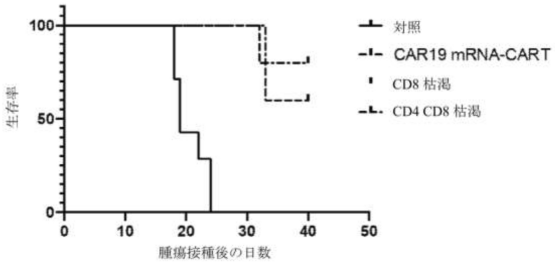
【図３０Ａ】



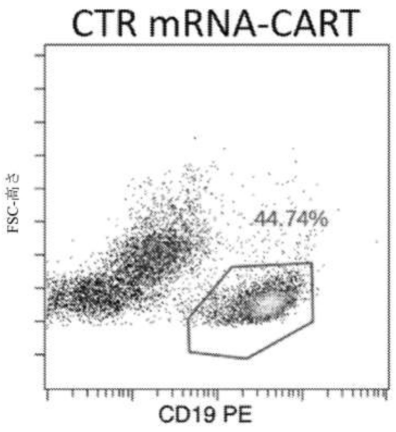
【図３０Ｂ】



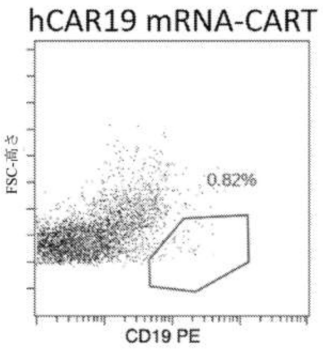
【図３０Ｃ】



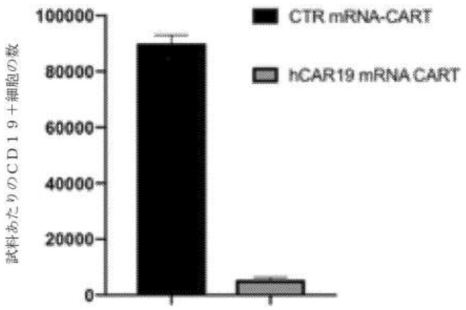
【図３１Ａ】



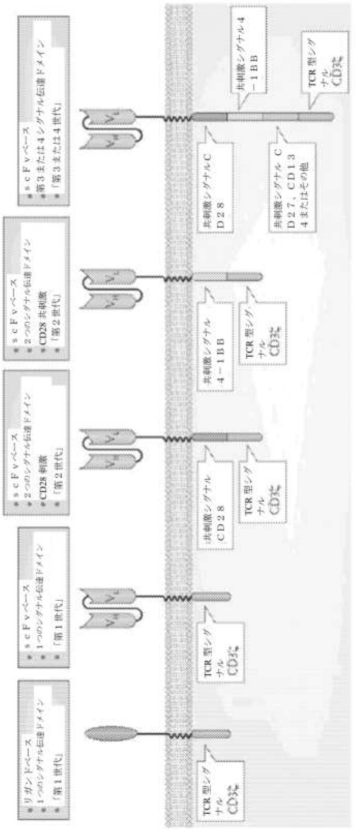
【図３１Ｂ】



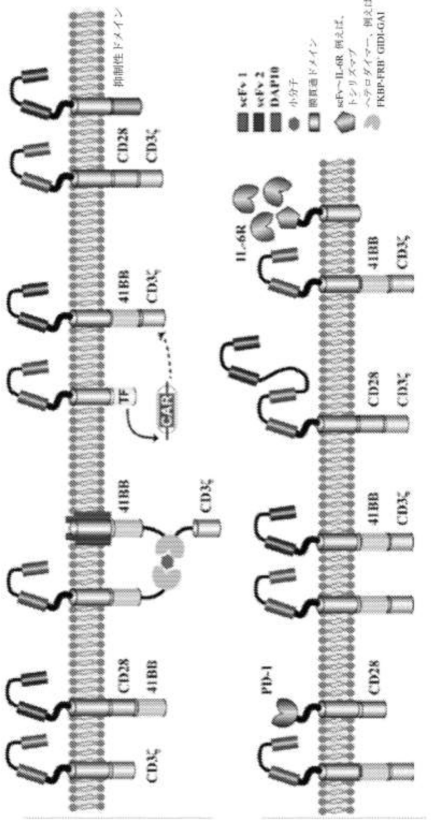
【図３１Ｃ】



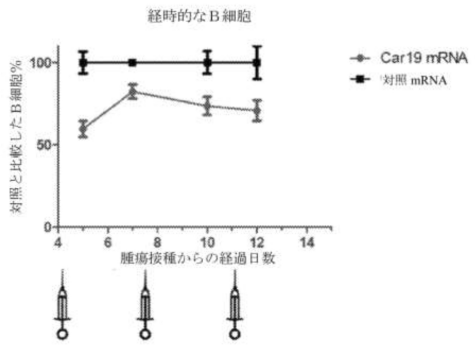
【図３２】



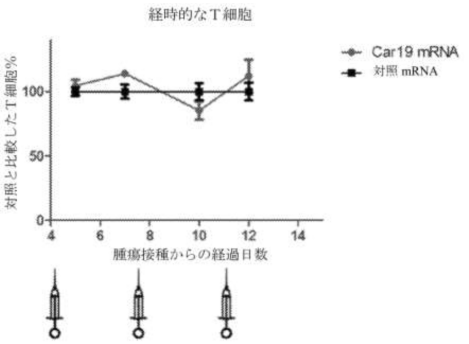
【図３３】



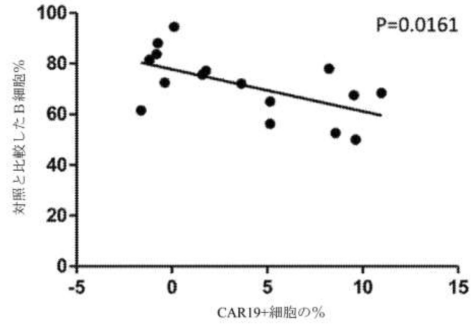
【図３４Ａ】



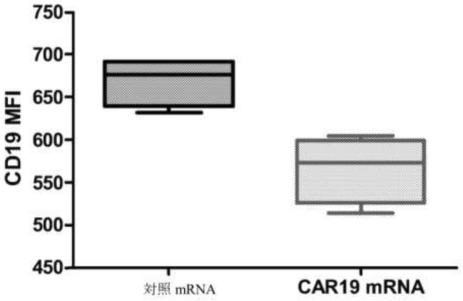
【図３４Ｂ】



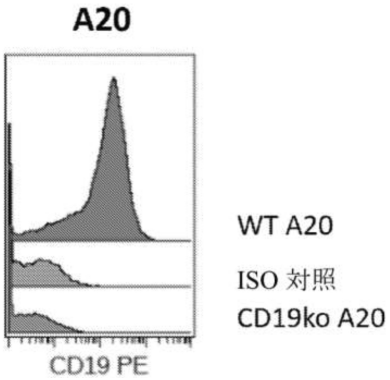
【図３５Ａ】



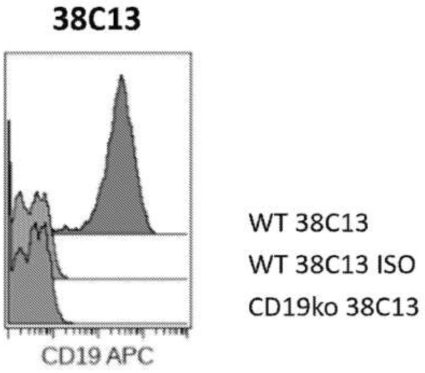
【図３５Ｂ】



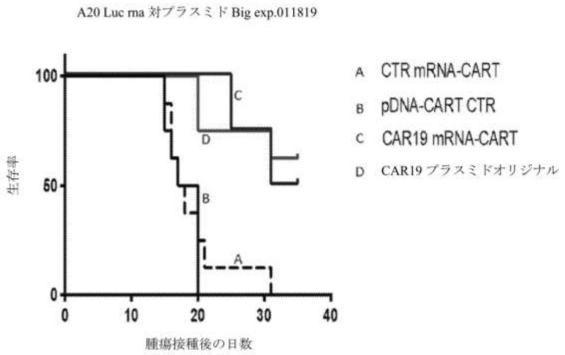
【図３６Ａ】



【図３６Ｂ】



【図３７】



【配列表】

2022512941000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 19/60807

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - A61K 48/00; C12N 15/85; A61K 47/69 (2020.01)
CPC - A61K 48/0041; C12N 15/115; C12N 15/85; A61K 47/6883

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X -- Y	US 2018/0028688 A1 (The Board of Trustees of the Leland Stanford Junior University) 01 February 2018 (01.02.2018); Figure 7B, para [0005], [0007], [0009], [0011], [0117], [0121], [0126], [0131], [0135], [0152], [0198], [0207], [0209]-[0210], [0217]-[0218], [0223], [0229], [0267], [0273]-[0274], [0317], [0325], [0631]-[0634], [0719]	1-27, 29-33, 43-46, 89-114 ---------- 28, 34-42
Y	Inoo et al. "Immunological quality and performance of tumor vessel-targeting CAR-T cells prepared by mRNA-EP for clinical research" Molecular Therapy - Oncolytics. 11 January 2017 (11.01.2017) vol 3, pg. 1-13; pg. 1, abstract	28, 34-42
A	US 2016/0348073 A1 (President and Fellows of Harvard College) 01 December 2016 (01.12.2016); entire document	1-46, 89-114
A	WO 2014/099671 A1 (BLUEBIRD BIO, INC.) 26 June 2014 (26.06.2014); entire document	1-46, 89-114

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
22 April 2020	15 MAY 2020
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Lee Young Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 19/60807

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
(see supplemental page)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-46 and 89-114

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US 19/60807

--continued from Box No. III--

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I: Claims 1-46 and 89-114, directed to a cell-penetrating complex of claim 1 comprising a nucleic acid non-covalently bound to a cationic amphipathic polymer, said cationic amphipathic polymer comprising a pH-sensitive immolation domain and a lipophilic polymer domain, wherein said cationic amphipathic polymer has the formula: R1A-[L1-[(LP1)z1-(LP2)z3-(IM)z2]z4-L2-R2A]z5.

Group II: Claims 47-88 and 115-130, directed to a method of transfecting a nucleic acid encoding a receptor protein/chimeric antigen receptor (CAR) / cell receptor (TCR) into a cell, the method comprising contacting a cell with a cell-penetrating complex comprising a nucleic acid encoding said receptor bound to a compound wherein said compound degrades upon delivery into said cell, thereby transfecting a nucleic acid encoding a said receptor into a cell in a subject.

The group of inventions listed above do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features:

Group I includes the technical feature of a cell-penetrating complex comprising a nucleic acid non-covalently bound to a cationic amphipathic polymer, wherein said cationic amphipathic polymer has the formula: R1A-[L1-[(LP1)z1-(LP2)z3-(IM)z2]z4-L2-R2A]z5, which is not required by any other invention of Group II.

Group II includes the technical feature of a method of transfecting a nucleic acid encoding a receptor protein/chimeric antigen receptor (CAR) / cell receptor (TCR) into a cell in a subject, which is not required by any other invention of Group I.

Common technical features:

The inventions of Groups I and II share the technical feature of a cell-penetrating complex comprising a nucleic acid non-covalently bound to a cationic amphipathic polymer, said cationic amphipathic polymer comprising a pH-sensitive immolation domain and a lipophilic polymer domain.

These shared technical features, however, do not provide a contribution over the prior art, as being anticipated by US 2018/0028688 A1 to The Board of Trustees of the Leland Stanford Junior University (hereinafter Stanford). Stanford discloses a cell-penetrating complex comprising a nucleic acid non-covalently bound to a cationic amphipathic polymer (para [0131]: a cell - penetrating complex including a nucleic acid non - covalently bound to a cationic amphipathic polymer , the cationic amphipathic polymer including a pH - sensitive immolation domain), said cationic amphipathic polymer comprising a pH-sensitive immolation domain (para [0131]: pH - sensitive immolation domain) and a lipophilic polymer domain (para [0007]: wherein at least one of LP1 or LP2 is a lipophilic polymer domain).

As said compound was known in the art at the time of the invention, these cannot be considered special technical features that would otherwise unify the inventions of Groups I or II. The inventions of Group I or II thus lack unity under PCT Rule 13.

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
A61P 35/00	*(2006.01)*	A61P	35/00		
C12N 15/09	*(2006.01)*	C12N	15/09	100	
C12N 15/13	*(2006.01)*	C12N	15/09	110	
C12N 15/62	*(2006.01)*	C12N	15/13		
C12N 15/63	*(2006.01)*	C12N	15/62	Z	
C12N 15/113	*(2010.01)*	C12N	15/63	Z	
C12N 15/88	*(2006.01)*	C12N	15/113	Z	
C12N 1/15	*(2006.01)*	C12N	15/88	Z	
C12N 1/19	*(2006.01)*	C12N	1/15		
C12N 1/21	*(2006.01)*	C12N	1/19		
C12N 5/10	*(2006.01)*	C12N	1/21		
C12P 21/08	*(2006.01)*	C12N	5/10		
		C12P	21/08		

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

リアル・３０００、ビルディング・ファイブ、サード・フロア、オフィス・オブ・テクノロジー・ライセンシング気付

(72)発明者 ハーベス，オーレ・アウドゥン・ウェルナー
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９４３０６、パロ・アルト、エル・カミノ・リアル・３０００、ビルディング・ファイブ、サード・フロア、オフィス・オブ・テクノロジー・ライセンシング気付

(72)発明者 フランク，マシュー
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９４３０６、パロ・アルト、エル・カミノ・リアル・３０００、ビルディング・ファイブ、サード・フロア、オフィス・オブ・テクノロジー・ライセンシング気付

(72)発明者 サレッツ，アドリエンヌ
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９４３０６、パロ・アルト、エル・カミノ・リアル・３０００、ビルディング・ファイブ、サード・フロア、オフィス・オブ・テクノロジー・ライセンシング気付

(72)発明者 ブレイク，ティム・アール
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９４３０６、パロ・アルト、エル・カミノ・リアル・３０００、ビルディング・ファイブ、サード・フロア、オフィス・オブ・テクノロジー・ライセンシング気付

(72)発明者 ウェイマス，ロバート・エム
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９４３０６、パロ・アルト、エル・カミノ・リアル・３０００、ビルディング・ファイブ、サード・フロア、オフィス・オブ・テクノロジー・ライセンシング気付

(72)発明者 ウェンダー，ポール
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９４３０６、パロ・アルト、エル・カミノ・リアル・３０００、ビルディング・ファイブ、サード・フロア、オフィス・オブ・テクノロジー・ライセンシング気付

Ｆターム（参考） 4B064 AG27 CA01 CA19 CC24 DA01
4B065 AA94X AB01 AC14 BA01 CA25 CA44 CA45
4C076 AA95 BB11 CC07 CC27 EE59
4C084 AA13 MA66 NA05 NA06 NA13 ZB091 ZB092 ZB261 ZB262
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA02 MA05 MA66 NA05 NA06 NA13

Fターム（参考） ZB09 ZB26