(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-500547
(P2025-500547A)
(43)公表日　令和7年1月9日(2025.1.9)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*9/127(2025.01)*	Ａ６１Ｋ	9/127	４Ｃ０７６
Ａ６１Ｋ	*47/34 (2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/34	４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*47/10 (2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/10	
Ａ６１Ｐ	*1/16 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	1/16	
Ａ６１Ｐ	*11/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/00	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全210頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-538973(P2024-538973)
(86)(22)出願日　令和4年12月27日(2022.12.27)
(85)翻訳文提出日　令和6年8月16日(2024.8.16)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/082411
(87)国際公開番号　WO2023/129915
(87)国際公開日　令和5年7月6日(2023.7.6)
(31)優先権主張番号　63/294,066
(32)優先日　令和3年12月27日(2021.12.27)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,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
最終頁に続く

(71)出願人　508152917
ザ ボード オブ リージェンツ オブ ザ ユニバーシティー オブ テキサス システム
ＴＨＥ ＢＯＡＲＤ ＯＦ ＲＥＧＥＮＴＳ ＯＦ ＴＨＥ ＵＮＩＶＥＲＳＩＴＹ ＯＦ ＴＥＸＡＳ ＳＹＳＴＥＭ
アメリカ合衆国 ７８７０１ テキサス，オースティン， ウェスト ７番 ストリート ２１０
(74)代理人　100102978
弁理士　清水 初志
(74)代理人　100205707
弁理士　小寺 秀紀
(74)代理人　100160923
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　細胞に対する標的指向送達のための組成物および方法

(57)【要約】
対象の細胞に対する効力ある送達のための組成物、キット、および方法が、本明細書に記載される。細胞は、基底細胞などの、特定の細胞型のものであることができる。場合によっては、細胞は、特定の細胞型の肺細胞であることができる。また、脂質組成物とアセンブルした治療剤または予防剤を含む薬学的組成物も、本明細書に記載される。脂質組成物は、イオン化可能カチオン性脂質および選択的臓器ターゲティング脂質を含むことができる。脂質組成物は、リン脂質をさらに含むことができる。さらに、脂質組成物と共に製剤化された治療剤または予防剤の強力な静脈内剤形が、本明細書に記載される。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
脂質組成物とアセンブルした治療剤を含む組成物であって、
該脂質組成物が、
イオン化可能カチオン性脂質；
約８～約２０個の炭素原子を各々含む１つまたは複数の炭化水素鎖を含む、ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに
該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の選択的臓器ターゲティング（ＳＯＲＴ）脂質
を含み、
該脂質組成物が、２-(ｐ-トルイジノ)-６-ナフタレンスルホン酸（ＴＮＳ）滴定アッセイによって決定される場合、約６～約７の見かけのイオン化定数（ｐＫａ）を特徴とする、
前記組成物。
【請求項２】
脂質組成物とアセンブルした治療剤を含む組成物であって、
該脂質組成物が、
イオン化可能カチオン性脂質；
約８～約２０個の炭素原子を各々含む１つまたは複数の炭化水素鎖を含む、ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに
該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の選択的臓器ターゲティング（ＳＯＲＴ）脂質
を含み、
該脂質組成物が、２-(ｐ-トルイジノ)-６-ナフタレンスルホン酸（ＴＮＳ）滴定アッセイによって決定される場合、約６～約７の範囲外の見かけのイオン化定数（ｐＫａ）を特徴とする、
前記組成物。
【請求項３】
前記脂質組成物が、２-(ｐ-トルイジノ)-６-ナフタレンスルホン酸（ＴＮＳ）滴定アッセイによって決定される場合、約６以下の見かけのイオン化定数（ｐＫａ）を特徴とする、請求項２記載の組成物。
【請求項４】
前記脂質組成物が、２-(ｐ-トルイジノ)-６-ナフタレンスルホン酸（ＴＮＳ）滴定アッセイによって決定される場合、約３～約６の見かけのイオン化定数（ｐＫａ）を特徴とする、請求項３記載の組成物。
【請求項５】
脂質組成物とアセンブルした治療剤を含む組成物であって、
該脂質組成物が、
イオン化可能カチオン性脂質；
約８～約２０個の炭素原子を各々含む１つまたは複数の炭化水素鎖を含む、ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに
該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の選択的臓器ターゲティング（ＳＯＲＴ）脂質
を含み、
該脂質組成物が、２-(ｐ-トルイジノ)-６-ナフタレンスルホン酸（ＴＮＳ）滴定アッセイによって決定される場合、約６よりも大きい見かけのイオン化定数（ｐＫａ）を特徴とする、
前記組成物。
【請求項６】
前記脂質組成物が、２-(ｐ-トルイジノ)-６-ナフタレンスルホン酸（ＴＮＳ）滴定アッセイによって決定される場合、約８以上の見かけのイオン化定数（ｐＫａ）を特徴とする、請求項２または５記載の組成物。

【請求項７】
前記脂質組成物が、2-(p-トルイジノ)-6-ナフタレンスルホン酸（TNS）滴定アッセイによって決定される場合、約8～約13の見かけのイオン化定数（pKa）を特徴とする、請求項6記載の組成物。
【請求項８】
前記脂質組成物が、2-(p-トルイジノ)-6-ナフタレンスルホン酸（TNS）滴定アッセイによって決定される場合、約9以上の見かけのイオン化定数（pKa）を特徴とする、請求項6記載の組成物。
【請求項９】
前記脂質組成物が、2-(p-トルイジノ)-6-ナフタレンスルホン酸（TNS）滴定アッセイによって決定される場合、約9～約13の見かけのイオン化定数（pKa）を特徴とする、請求項8記載の組成物。
【請求項１０】
前記脂質組成物が、動的光散乱（DLS）によって決定される場合、約-10ミリボルト（mV）～約10 mVの該脂質組成物のゼータ（ζ）電位を特徴とする、請求項1～9のいずれか一項記載の組成物。
【請求項１１】
前記脂質組成物が、動的光散乱（DLS）によって決定される場合、約0ミリボルト（mV）～約10 mVの該脂質組成物のゼータ（ζ）電位を特徴とする、請求項10記載の組成物。
【請求項１２】
前記ポリマーコンジュゲート脂質が、ポリエチレングリコール（PEG）コンジュゲート脂質である、請求項1～11のいずれか一項記載の組成物。
【請求項１３】
前記1つまたは複数の炭化水素鎖が、約8～約18個の炭素原子を各々含む、請求項1～12のいずれか一項記載の組成物。
【請求項１４】
前記1つまたは複数の炭化水素鎖が、約8～約16個の炭素原子を各々含む、請求項1～12のいずれか一項記載の組成物。
【請求項１５】
前記1つまたは複数の炭化水素鎖が、約8～約14個の炭素原子を各々含む、請求項1～12のいずれか一項記載の組成物。
【請求項１６】
前記ポリマーコンジュゲート脂質の前記1つまたは複数の炭化水素鎖のうちの1つの炭化水素鎖が、3個以下の不飽和炭素-炭素結合を含む、請求項1～15のいずれか一項記載の組成物。
【請求項１７】
前記ポリマーコンジュゲート脂質の前記1つまたは複数の炭化水素鎖のうちの1つの炭化水素鎖が、2個以下の不飽和炭素-炭素結合を含む、請求項1～15のいずれか一項記載の組成物。
【請求項１８】
前記ポリマーコンジュゲート脂質が、約100ダルトン（Da）～約100,000 Daの分子量を有するポリマーを含む、請求項1～17のいずれか一項記載の組成物。
【請求項１９】
前記ポリマーコンジュゲート脂質が、約500 Da～約100,000 Daの分子量を有するポリマーを含む、請求項1～17のいずれか一項記載の組成物。
【請求項２０】
前記脂質組成物が、約0.5％～約20％のモルパーセンテージの前記ポリマーコンジュゲート脂質を含む、請求項1～19のいずれか一項記載の組成物。
【請求項２１】

前記脂質組成物が、約0.5％～約15％のモルパーセンテージの前記ポリマーコンジュゲート脂質を含む、請求項1～19のいずれか一項記載の組成物。

【請求項２２】

前記脂質組成物が、約0.5％～約10％のモルパーセンテージの前記ポリマーコンジュゲート脂質を含む、請求項1～19のいずれか一項記載の組成物。

【請求項２３】

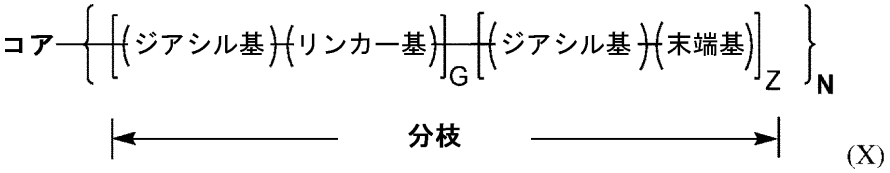
前記カチオン性イオン化可能脂質が、1つまたは複数の分枝を含むデンドロンまたはデンドリマーであり含み、該1つまたは複数の分枝が、各々、2つ以上の分解性官能基を含む、請求項1～22のいずれか一項記載の組成物。

【請求項２４】

前記カチオン性イオン化可能脂質が、1つまたは複数のジアシル基を含むデンドロンまたはデンドリマーである、請求項1～23のいずれか一項記載の組成物。

【請求項２５】

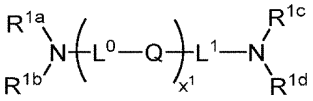
前記イオン化可能カチオン性脂質が、構造式：



(X)

を有する世代（g）のデンドリマーもしくはデンドロン、またはその薬学的に許容される塩であり、ここで、

（a）コアが、構造式（$X_{コア}$）：



($X_{コア}$)

を含み、

式中：

Qは、各出現で独立して、共有結合、-O-、-S-、-NR^2-、または-$CR^{3a}R^{3b}$-であり；

R^2は、各出現で独立して、R^{1g}または-L^2-$NR^{1e}R^{1f}$であり；

R^{3a}およびR^{3b}は、各出現で各々独立して、水素または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_6、例えばC_1-C_3）アルキルであり；

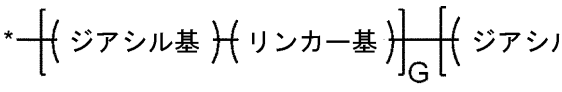
R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、R^{1e}、R^{1f}、およびR^{1g}（存在する場合）は、各出現で各々独立して、分枝に対する接続点、水素、または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アルキルであり；

L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、共有結合、（例えば、C_1-C_{12}、例えばC_1-C_6またはC_1-C_3）アルキレン、（例えば、C_1-C_{12}、例えばC_1-C_8またはC_1-C_6）ヘテロアルキレン（例えば、C_2-C_8アルキレンオキシド、例えばオリゴ(エチレンオキシド)）、[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]-[（例えば、C_4-C_6）ヘテロシクロアルキル]-[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]、[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]-(アリーレン)-[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]（例えば、[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]-フェニレン-[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]）、（例えば、C_4-C_6）ヘテロシクロアルキル、およびアリーレン（例えば、フェニレン）から選択され；または

代替的に、L^1の一部は、R^{1c}およびR^{1d}のうちの1つと、（例えば、C_4-C_6）ヘテロシクロアルキル（例えば、1個または2個の窒素原子、ならびに任意で、酸素および硫黄から選択される追加のヘテロ原子を含有する）を形成し；かつ

x^1は、0、1、2、3、4、5、または6である；ならびに

（b）複数（N）の分枝のうちの各分枝が、独立して、構造式（$X_{分枝}$）：

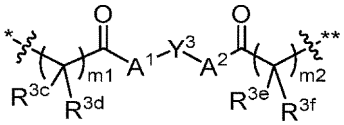


(X分枝)

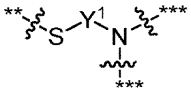
を含み、
式中：
*は、コアに対する分枝の付着点を示し；
gは、1、2、3、または4であり；
$Z = 2^{(g-1)}$；
g＝1の時、G＝0；またはg≠1の時、

$$G = \sum_{i=0}^{i=g-2} 2^i$$

である；
（c）各ジアシル基が、独立して、構造式

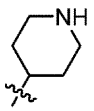
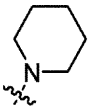


を含み、
式中：
*は、その近位端でのジアシル基の付着点を示し；
**は、その遠位端でのジアシル基の付着点を示し；
Y^3は、各出現で独立して、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）;アルキレン、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アルケニレン、または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アレニレンであり；
A^1およびA^2は、各出現で各々独立して、-O-、-S-、または-NR^4-であり、ここで、
R^4は、水素または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_6）アルキルであり；
m^1およびm^2は、各出現で各々独立して、1、2、または3であり；かつ
R^{3c}、R^{3d}、R^{3e}、およびR^{3f}は、各出現で各々独立して、水素または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_8）アルキルである；ならびに
（d）各リンカー基が、独立して、構造式



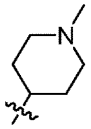
を含み、
式中：
**は、近位ジアシル基に対するリンカーの付着点を示し；
***は、遠位ジアシル基に対するリンカーの付着点を示し；かつ
Y_1は、各出現で独立して、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アルキレン、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アルケニレン、または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アレニレンである；ならびに
（e）各末端基が、独立して、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{18}、例えばC_4-C_{18}）アルキルチオール、および置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{18}、例えばC_4-C_{18}）アルケニルチオールから選択される、
請求項1～24のいずれか一項記載の組成物。
【請求項２６】
x^1が、0、1、2、または3である、請求項25記載の組成物。
【請求項２７】
R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、R^{1e}、R^{1f}、およびR^{1g}（存在する場合）が、各出現で各々

独立して、（例えば、*によって示されるような）分枝に対する接続点、水素、またはC_1-C_{12}アルキル（例えば、C_1-C_8アルキル、例えばC_1-C_6アルキルもしくはC_1-C_3アルキル）であり、該アルキル部分が、-OH、C_4-C_8（例えば、C_4-C_6）ヘテロシクロアルキル（例えば、ピペリジニル（例えば、

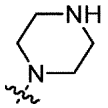



,もしくは

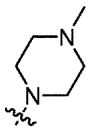
）、N-(C_1-C_3アルキル)-ピペリジニル（例えば、



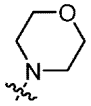
）、ピペラジニル（例えば、



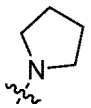
）、N-(C_1-C_3アルキル)-ピペラジジニル（例えば、



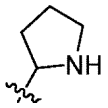
）、モルホリニル（例えば、



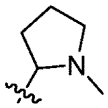
）、N-ピロリジニル（例えば、



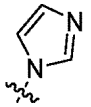
）、ピロリジニル（例えば、



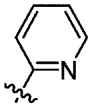
）、またはN-(C_1-C_3アルキル)-ピロリジニル（例えば、



））、（例えば、C_6-C_{10}）アリール、およびC_3-C_5ヘテロアリール（例えば、イミダゾリル（例えば、



）、またはピリジニル（例えば、



））から各々独立して選択される1つまたは複数の置換基で置換されていてもよい、請求項25または26記載の組成物。

【請求項２８】

R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、R^{1e}、R^{1f}、およびR^{1g}（存在する場合）が、各出現で各々独立して、（例えば、*によって示されるような）分枝に対する接続点、水素、またはC_1-C_{12}アルキル（例えば、C_1-C_8アルキル、例えばC_1-C_6アルキルもしくはC_1-C_3アルキル）であり、該アルキル部分が、1つの置換基-OHで置換されていてもよい、請求項25～27のいずれか一項記載の組成物。

【請求項２９】

R^{3a}およびR^{3b}が、各出現で各々独立して、水素である、請求項25～28のいずれか一項記載の組成物。

【請求項３０】

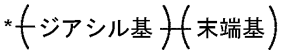
複数（N）の分枝が、少なくとも3個（例えば、少なくとも4個、または少なくとも5個）の分枝を含む、請求項25～29のいずれか一項記載の組成物。

【請求項３１】

g＝1；G＝0；およびZ＝1である、請求項25～30のいずれか一項記載の組成物。

【請求項３２】

複数の分枝のうちの各分枝が、構造式



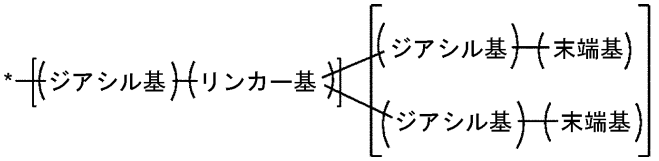
を含む、請求項31記載の組成物。

【請求項３３】

g＝2；G＝1；およびZ＝2である、請求項25～30のいずれか一項記載の組成物。

【請求項３４】

複数の分枝のうちの各分枝が、構造式



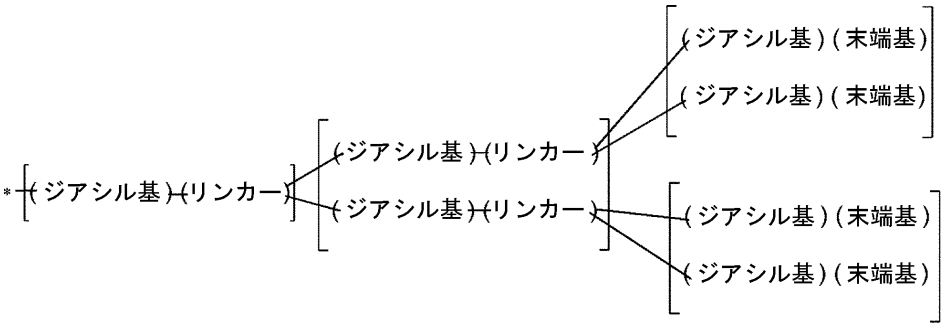
を含む、請求項33記載の組成物。

【請求項３５】

g＝3；G＝3；およびZ＝4である、請求項25～30のいずれか一項記載の組成物。

【請求項３６】

複数の分枝のうちの各分枝が、構造式



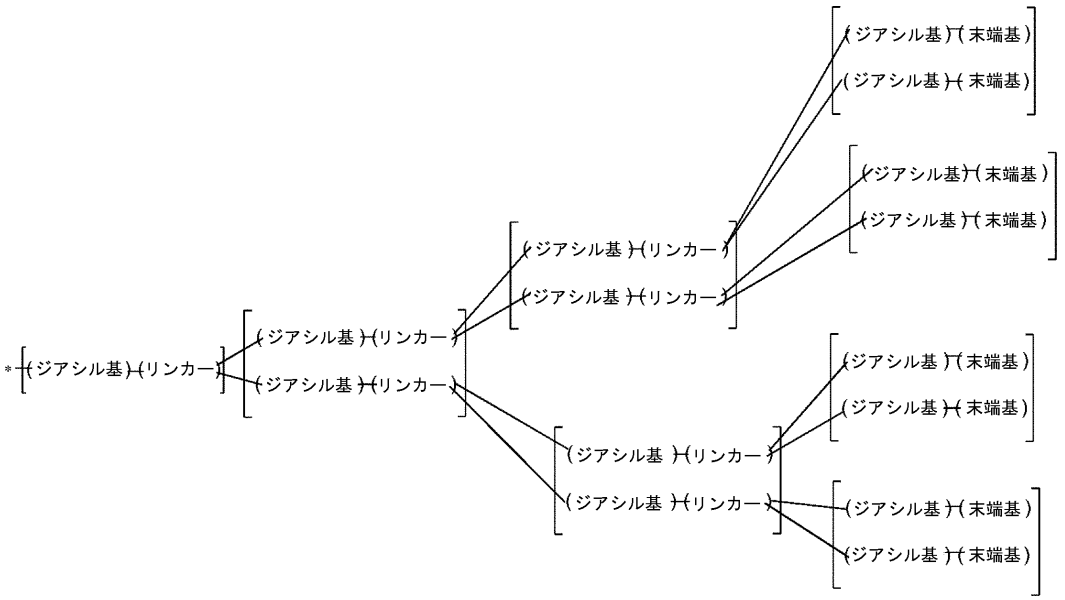
を含む、請求項35記載の組成物。

【請求項３７】

ｇ＝４；Ｇ＝７；およびＺ＝８である、請求項２５～３０のいずれか一項記載の組成物。

【請求項３８】

複数の分枝のうちの各分枝が、構造式



を含む、請求項37記載の組成物。

【請求項３９】

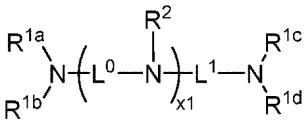
コアが、構造式：



を含む、請求項25～38のいずれか一項記載の組成物。

【請求項４０】

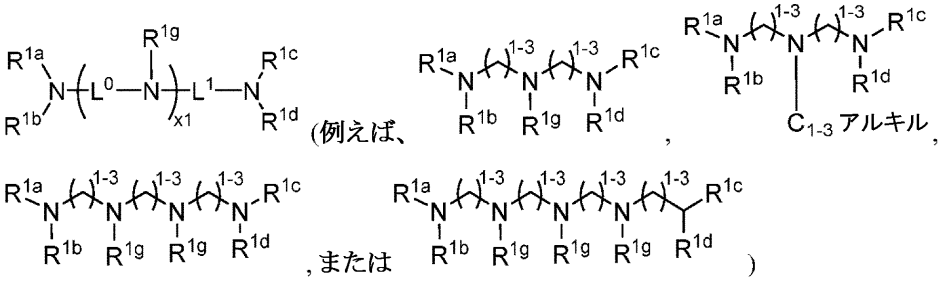
コアが、構造式：



を含む、請求項25～38のいずれか一項記載の組成物。

【請求項４１】

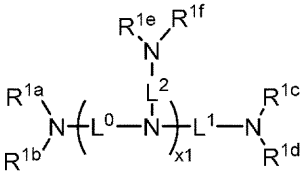
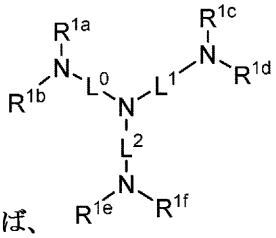
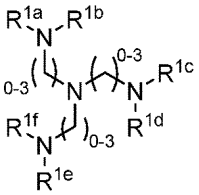
コアが、構造式：



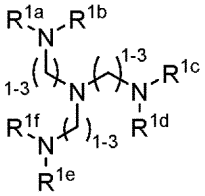
を含む、請求項25～38のいずれか一項記載の組成物。

【請求項４２】

コアが、構造式：

(例えば、 , 例えば または

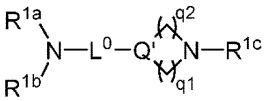


)

を含む、請求項25～38のいずれか一項記載の組成物。

【請求項４３】

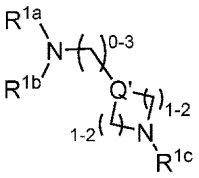
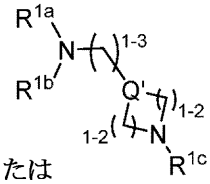
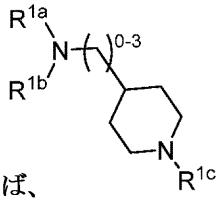
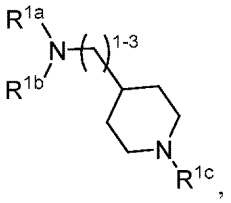
コアが、構造式：



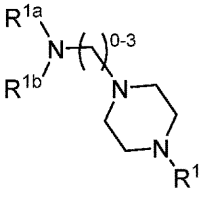
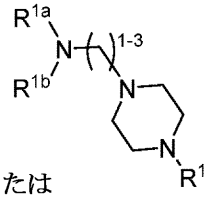
を含み、式中、Q'が、-NR^{2}-または-CR^{3a}R^{3b}-であり；q^{1}およびq^{2}が、各々独立して、1または2である、請求項25～38のいずれか一項記載の組成物。

【請求項４４】

コアが、構造式：

または (例えば、 , ,

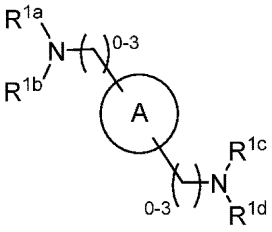



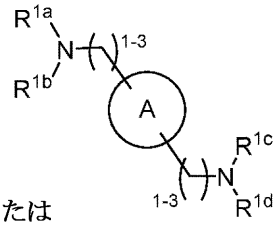
, または)

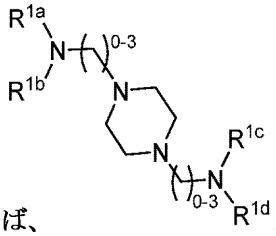
を含む、請求項25～38のいずれか一項記載の組成物。

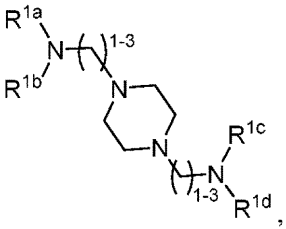
【請求項４５】

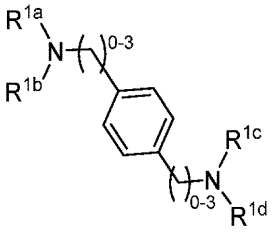
コアが、構造式

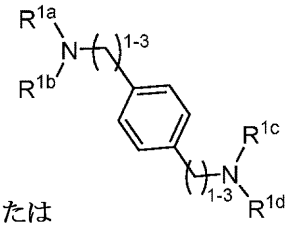


または


(例えば、


,


,


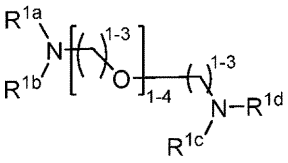
, または


)

を含み、式中、環Aが、置換されていてもよいアリール、または置換されていてもよい（例えば、C_3-C_{12}、例えばC_3-C_5）ヘテロアリールである、請求項25～38のいずれか一項記載の組成物。

【請求項４６】

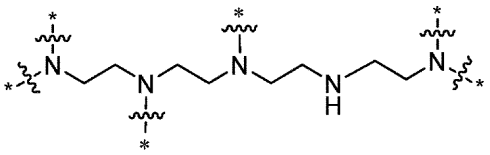
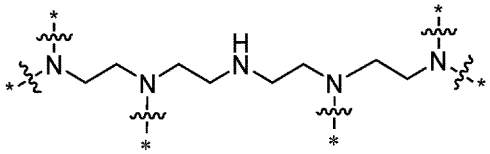
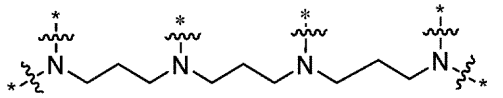
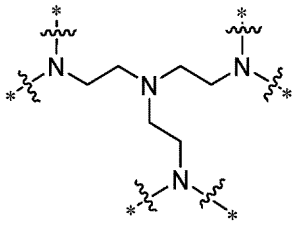
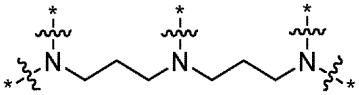
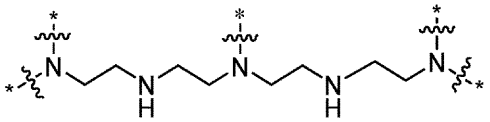
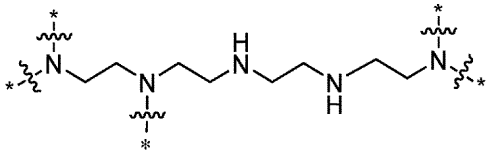
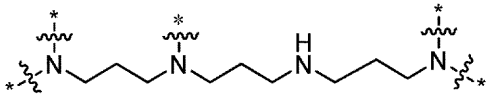
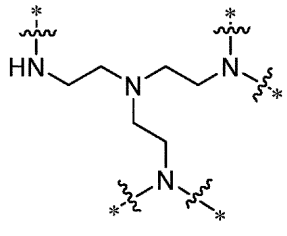
コアが、構造式



を含み、有する、請求項25～38のいずれか一項記載の組成物。

【請求項４７】

コアが、


,

,

,

,

,

,

,

,

,

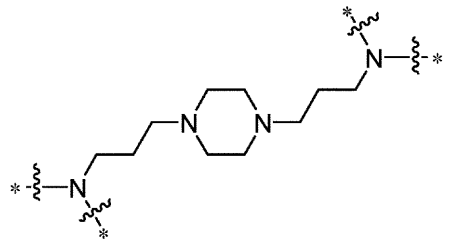
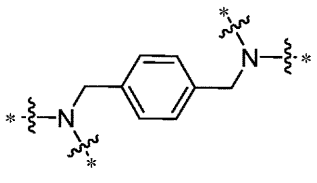
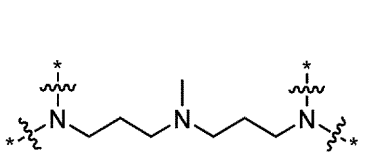
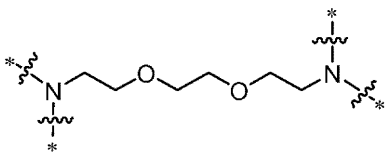
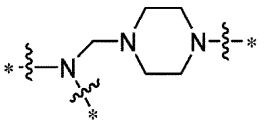
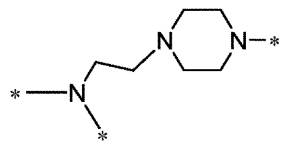
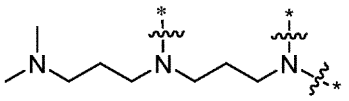
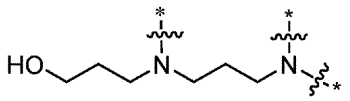
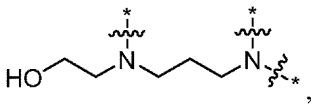
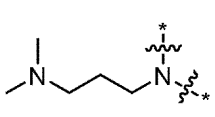
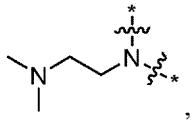
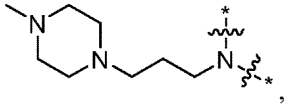
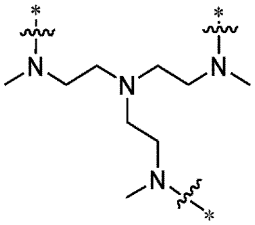
10

20

30

40

50


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


からなる群より選択される構造式、およびその薬学的に許容される塩を含み、式中、*が、複数の分枝のうちの1つの分枝に対するコアの付着点を示す、請求項25～38のいずれか一項記載の組成物。

【請求項４８】

A^1が、-O-または-NH-である、請求項25～47のいずれか一項記載の組成物。

【請求項４９】

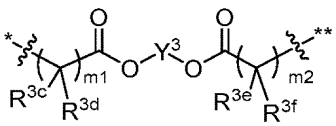
A^2が、-O-または-NH-である、請求項25～48のいずれか一項記載の組成物。

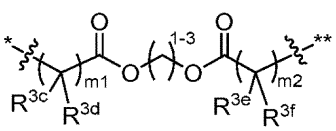
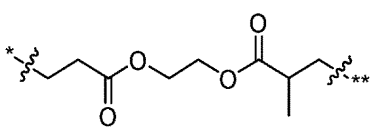
【請求項５０】

Y^3が、C_1-C_{12}（例えば、C_1-C_6、例えばC_1-C_3）アルキレンである、請求項25～49のいずれか一項記載の組成物。

【請求項５１】

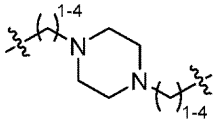
ジアシル基が、各出現で独立して、構造式


(例えば、

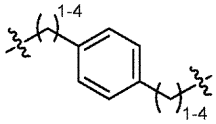

, 例えば 
)

を含み、任意で、式中、R^{3c}、R^{3d}、R^{3e}、およびR^{3f}が、各出現で各々独立して、水素またはC_1-C_3アルキルである、請求項25～50のいずれか一項記載の組成物。

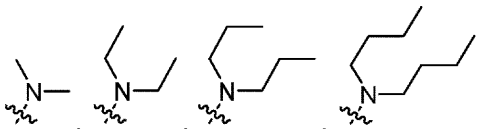
【請求項５２】
L^0、L^1、およびL^2が、各出現で各々独立して、共有結合、C_1-C_6アルキレン（例えば、C_1-C_3アルキレン）、C_2-C_{12}（例えば、C_2-C_8）アルキレンオキシド（例えば、オリゴ(エチレンオキシド)、例えば-$(CH_2CH_2O)_{1-4}$-(CH_2CH_2)-）、[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]-[$(C_4$-$C_6)$ヘテロシクロアルキル]-[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]（例えば、



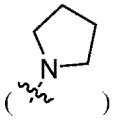
）、および[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]-フェニレン-[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]（例えば、



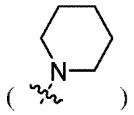
）から選択される、請求項25～51のいずれか一項記載の組成物。
【請求項５３】
L^0、L^1、およびL^2が、各出現で各々独立して、C_1-C_6アルキレン（例えば、C_1-C_3アルキレン）、-$(C_1$-C_3アルキレン-O$)_{1-4}$-$(C_1$-C_3アルキレン$)$、-$(C_1$-C_3アルキレン$)$-フェニレン-$(C_1$-C_3アルキレン$)$-、および-$(C_1$-C_3アルキレン$)$-ピペラジニル-$(C_1$-C_3アルキレン$)$-から選択される、請求項25～51のいずれか一項記載の組成物。
【請求項５４】
L^0、L^1、およびL^2が、各出現で各々独立して、C_1-C_6アルキレン（例えば、C_1-C_3アルキレン）である、請求項25～51のいずれか一項記載の組成物。
【請求項５５】
L^0、L^1、およびL^2が、各出現で各々独立して、C_2-C_{12}（例えば、C_2-C_8）アルキレンオキシド（例えば、-$(C_1$-C_3アルキレン-O$)_{1-4}$-$(C_1$-C_3アルキレン$)$）である、請求項25～51のいずれか一項記載の組成物。
【請求項５６】
L^0、L^1、およびL^2が、各出現で各々独立して、[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]-[$(C_4$-$C_6)$ヘテロシクロアルキル]-[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]（例えば、-$(C_1$-C_3アルキレン$)$-フェニレン-$(C_1$-C_3アルキレン$)$-）、および[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]-[$(C_4$-$C_6)$ヘテロシクロアルキル]-[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]（例えば、-$(C_1$-C_3アルキレン$)$-ピペラジニル-$(C_1$-C_3アルキレン$)$-）から選択される、請求項25～51のいずれか一項記載の組成物。
【請求項５７】
各末端基が、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルケニルチオールまたはC_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールであり、該アルキル部分またはアルケニル部分が、ハロゲン、C_6-C_{12}アリール（例えば、フェニル）、C_1-C_{12}（例えば、C_1-C_8）アルキルアミノ（例えば、C_1-C_6モノ-アルキルアミノ（例えば-$NHCH_2CH_2CH_2CH_3$）またはC_1-C_8ジ-アルキルアミノ（例えば



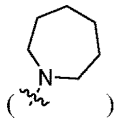
））、C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル（例えば、N-ピロリジニル



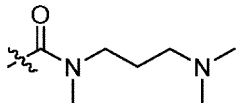
、N-ピペリジニル



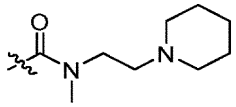
、N-アゼパニル



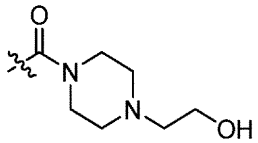
）、-OH、-C(O)OH、-C(O)N(C_1-C_3アルキル)-(C_1-C_6アルキレン)-(C_1-C_{12}アルキルアミノ（例えば、モノ-またはジ-アルキルアミノ）)（例えば、



）、-C(O)N(C_1-C_3アルキル)-(C_1-C_6アルキレン)-(C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル)（例えば、



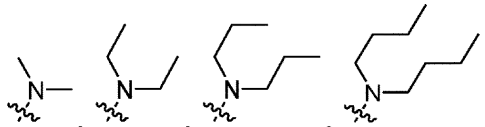
）、-C(O)-(C_1-C_{12}アルキルアミノ（例えば、モノ-またはジ-アルキルアミノ）)、および-C(O)-(C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル)（例えば、



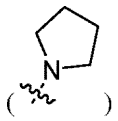
）から各々独立して選択される1つまたは複数の置換基で置換されていてもよく、前述の置換基のうちのいずれかのC_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル部分が、C_1-C_3アルキルまたはC_1-C_3ヒドロキシアルキルで置換されていてもよい、請求項25～56のいずれか一項記載の組成物。

【請求項５８】

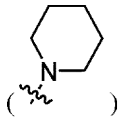
各末端基が、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールであり、該アルキル部分が、C_6-C_{12}アリール（例えば、フェニル）、C_1-C_{12}（例えば、C_1-C_8）アルキルアミノ（例えば、C_1-C_6モノ-アルキルアミノ（例えば-NHCH$_2$CH$_2$CH$_2$CH$_3$）またはC_1-C_8ジ-アルキルアミノ（例えば



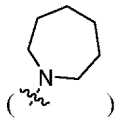
））、C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル（例えば、N-ピロリジニル



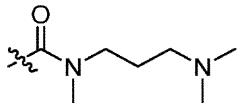
、N-ピペリジニル



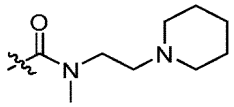
、N-アゼパニル



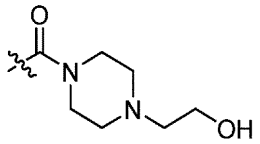
）、-OH、-C(O)OH、-C(O)N(C_1-C_3アルキル)-(C_1-C_6アルキレン)-(C_1-C_{12}アルキルアミノ（例えば、モノ-またはジ-アルキルアミノ））（例えば、



）、-C(O)N(C_1-C_3アルキル)-(C_1-C_6アルキレン)-(C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル）（例えば、



）、および-C(O)-(C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル)（例えば、



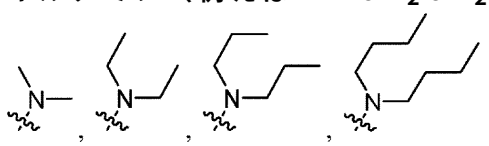
）から各々独立して選択される1つまたは複数の（例えば、1つの）置換基で置換されていてもよく、前述の置換基のうちのいずれかのC_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル部分が、C_1-C_3アルキルまたはC_1-C_3ヒドロキシアルキルで置換されていてもよい、請求項25～56のいずれか一項記載の組成物。

【請求項５９】

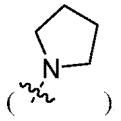
各末端基が、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールであり、該アルキル部分が、1つの置換基-OHで置換されていてもよい、請求項25～56のいずれか一項記載の組成物。

【請求項６０】

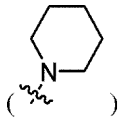
各末端基が、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールであり、該アルキル部分が、C_1-C_{12}（例えば、C_1-C_8）アルキルアミノ（例えば、C_1-C_6モノ-アルキルアミノ（例えば-NHCH$_2$CH$_2$CH$_2$CH$_3$）またはC_1-C_8ジ-アルキルアミノ（例えば



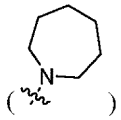
））およびC_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル（例えば、N-ピロリジニル



、N-ピペリジニル



、N-アゼパニル



）から選択される1つの置換基で置換されていてもよい、請求項25～56のいずれか一項記載の組成物。

【請求項６１】

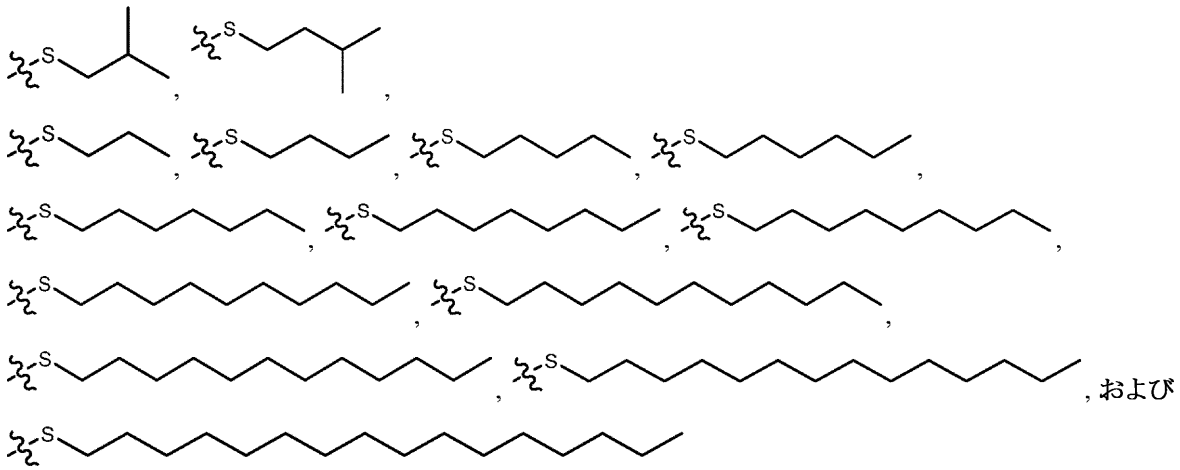
各末端基が、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルケニルチオールまたはC_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールである、請求項25～56のいずれか一項記載の組成物。

【請求項６２】

各末端基が、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールである、請求項25～56のいずれか一項記載の組成物。

【請求項６３】

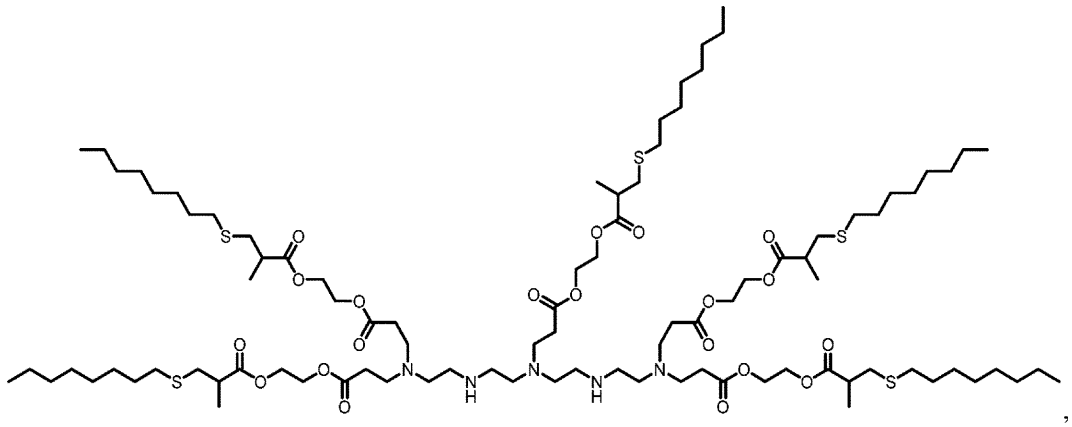
各末端基が、独立して、

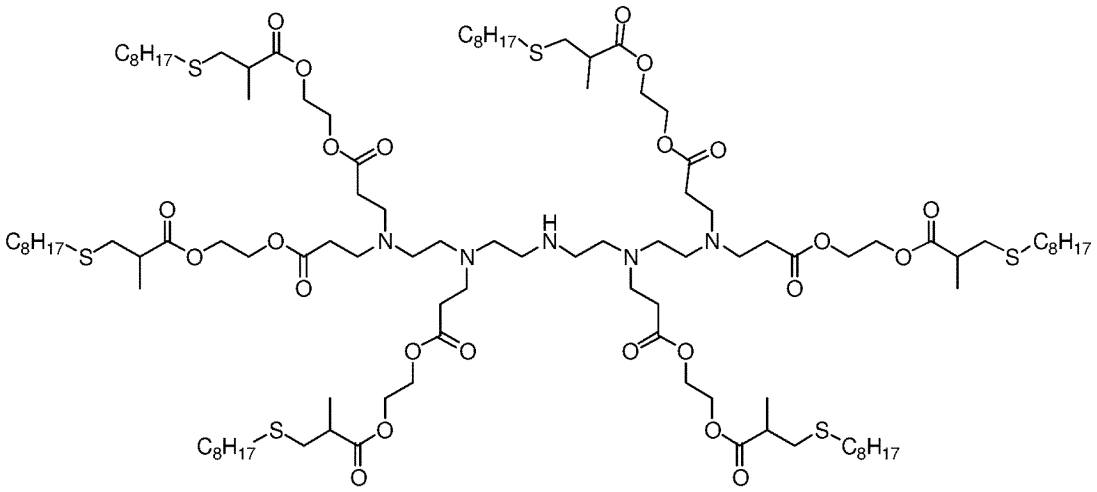


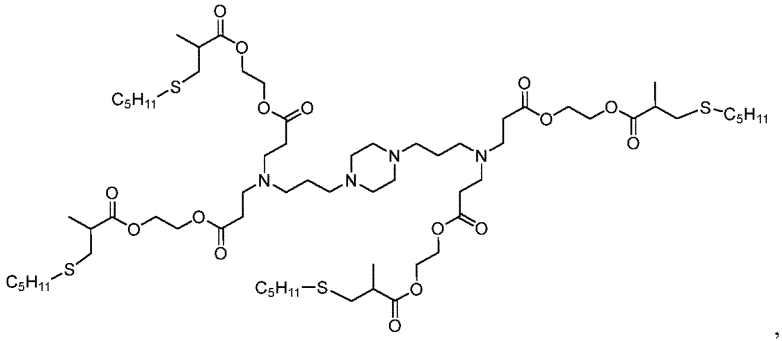
からなる群より選択される、請求項25～56のいずれか一項記載の組成物。

【請求項６４】

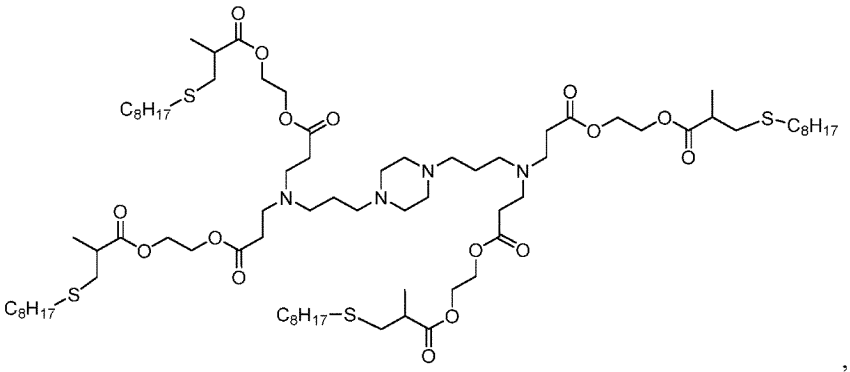
前記デンドリマーまたはデンドロンが、



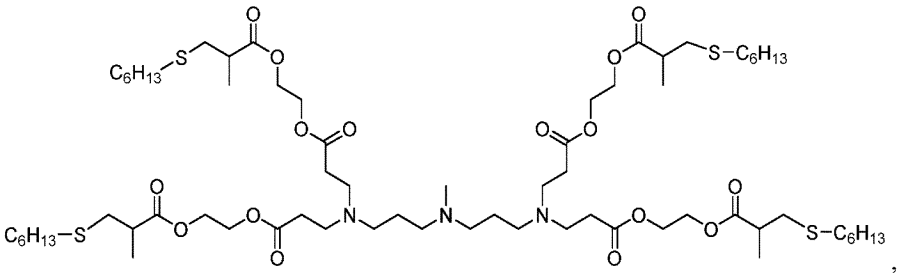




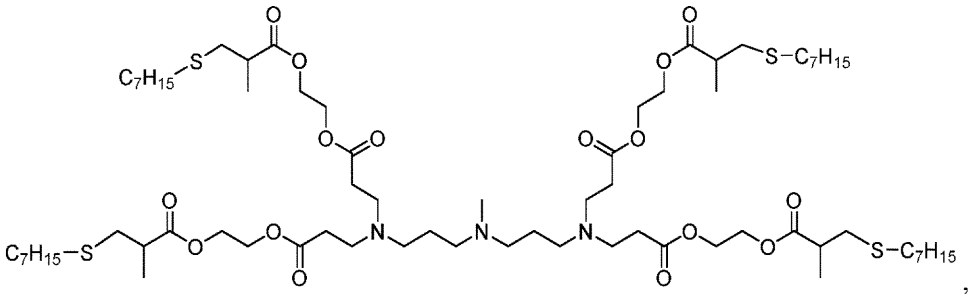
,



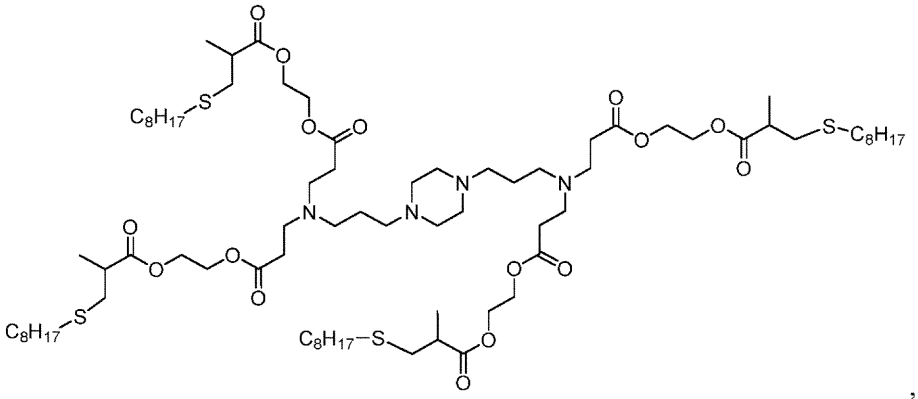
,



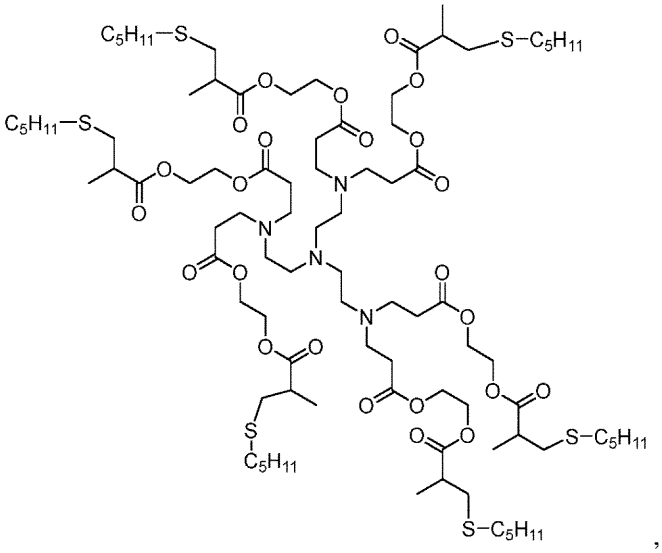
,



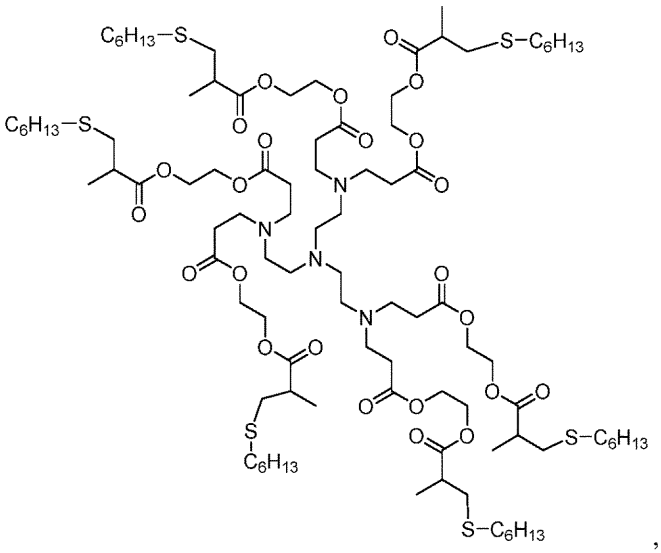
,



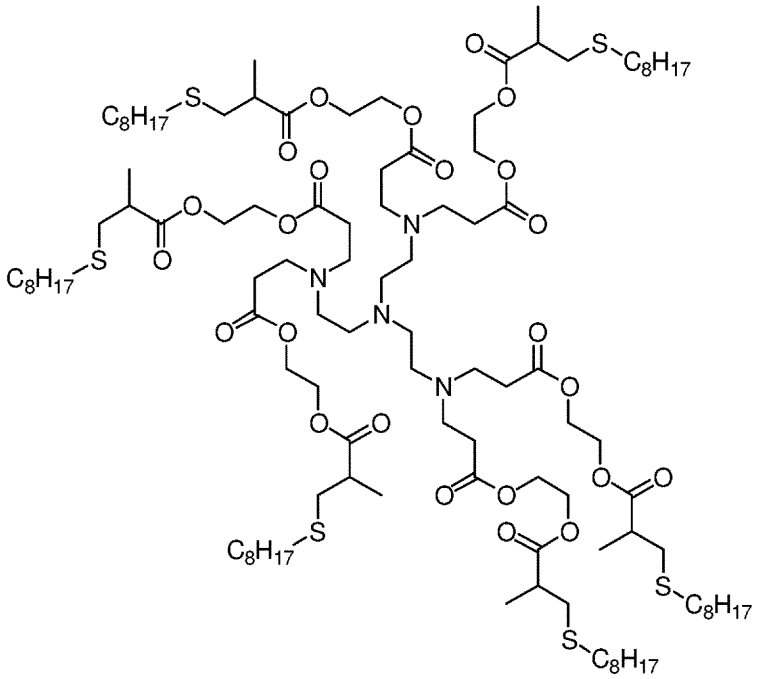
,



,



,



、およびその薬学的に許容される塩からなる群より選択される、請求項25記載の組成物。

【請求項６５】

前記脂質組成物が、約5％～約30％のモルパーセンテージの前記イオン化可能カチオン性脂質を含む、請求項1～64のいずれか一項記載の組成物。

【請求項６６】

前記脂質組成物が、リン脂質をさらに含む、請求項1～65のいずれか一項記載の組成物。

【請求項６７】

前記脂質組成物が、約5％～約30％のモルパーセンテージの前記リン脂質を含む、請求項66記載の組成物。

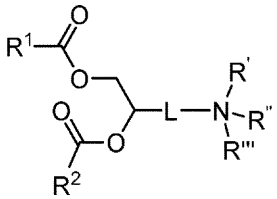
【請求項６８】

前記脂質組成物が、約8％～約23％のモルパーセンテージの前記リン脂質を含む、請求項66記載の組成物。

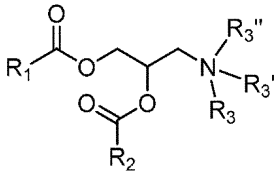
【請求項６９】

前記リン脂質が、エチルホスホコリンではない、請求項66～68のいずれか一項記載の組成物。

【請求項７０】
前記脂質組成物が、ステロイドまたはステロイド誘導体をさらに含む、請求項1～69のいずれか一項記載の組成物。
【請求項７１】
前記脂質組成物が、約15％～約46％のモルパーセンテージの前記ステロイドまたはステロイド誘導体を含む、請求項70記載の組成物。
【請求項７２】
前記ステロイドまたはステロイド誘導体が、コレステロールである、請求項70または71記載の組成物。
【請求項７３】
前記SORT脂質が、カチオン性である、請求項1～72のいずれか一項記載の組成物。
【請求項７４】
前記SORT脂質が、イオン化可能カチオン性部分（例えば、第三級アミン部分）を含む、請求項1～73のいずれか一項記載の組成物。
【請求項７５】
前記SORT脂質が、構造式：



を有し、
式中：
Lは、結合または（例えば、生分解性）リンカーであり；
R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル$_{(C8-C24)}$、アルケニル$_{(C8-C24)}$、またはいずれかの基の置換バージョンであり；かつ
R'、R''、およびR'''は、各々独立して、アルキル$_{(C\leqq6)}$または置換アルキル$_{(C\leqq6)}$である、
請求項74記載の組成物。
【請求項７６】
前記SORT脂質が、構造式：



を有し、
式中：
R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル$_{(C8-C24)}$、アルケニル$_{(C8-C24)}$、またはいずれかの基の置換バージョンであり；かつ
R_3、R_3'、およびR_3''は、各々独立して、アルキル$_{(C\leqq6)}$または置換アルキル$_{(C\leqq6)}$である、
請求項74記載の組成物。
【請求項７７】
前記SORT脂質が、永久カチオン性部分（例えば、第四級アンモニウムイオン）を含む、請求項1～73のいずれか一項記載の組成物。
【請求項７８】
前記SORT脂質が、前記永久カチオン性部分に対する対イオンを含む、請求項77記載

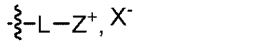
の組成物。

【請求項７９】

前記ＳＯＲＴ脂質が、アルキル化ホスホコリン（例えば、エチルホスホコリン）である、請求項７７または７８記載の組成物。

【請求項８０】

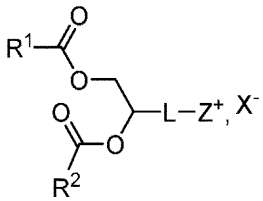
前記ＳＯＲＴ脂質が、構造式：



を有する頭部基を含み、式中、Ｌは、結合または（例えば、生分解性）リンカーであり；Z^+は、正に荷電した部分（例えば、第四級アンモニウムイオン）であり；かつX^-は、対イオンである、請求項７７または７８記載の組成物。

【請求項８１】

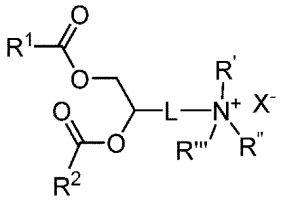
前記ＳＯＲＴ脂質が、構造式：



を有し、式中、R^1およびR^2は、各々独立して、置換されていてもよいC_6-C_{24}アルキル、または置換されていてもよいC_6-C_{24}アルケニルである、請求項８０記載の組成物。

【請求項８２】

前記ＳＯＲＴ脂質が、構造式：



を有し、

式中：

R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル$_{(C8-C24)}$、アルケニル$_{(C8-C24)}$、またはいずれかの基の置換バージョンであり；

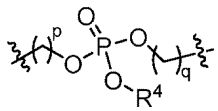
R'、R''、およびR'''は、各々独立して、アルキル$_{(C\leqq6)}$または置換アルキル$_{(C\leqq6)}$であり；かつ

X^-は、一価アニオンである、

請求項８０記載の組成物。

【請求項８３】

Ｌが、



であり、

式中：

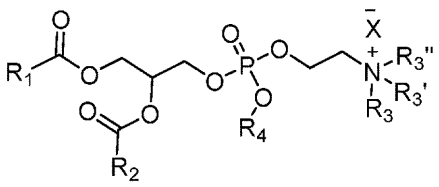
ｐおよびｑは、各々独立して、１、２、または３であり；かつ

R^4は、置換されていてもよいC_1-C_6アルキルである、

請求項８０～８２のいずれか一項記載の組成物。

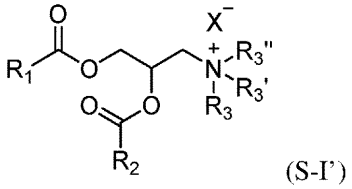
【請求項８４】

前記ＳＯＲＴ脂質が、構造式：



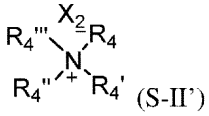
(IA)

を有し、
式中：
R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル$_{(C8-C24)}$、アルケニル$_{(C8-C24)}$、またはいずれかの基の置換バージョンであり；
R_3、R_3'、およびR_3''は、各々独立して、アルキル$_{(C\leqq6)}$または置換アルキル$_{(C\leqq6)}$であり；
R_4は、アルキル$_{(C\leqq6)}$または置換アルキル$_{(C\leqq6)}$であり；かつ
X^-は、一価アニオンである、
請求項77または78記載の組成物。
【請求項８５】
前記SORT脂質が、構造式：



(S-I')

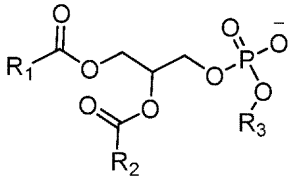
を有し、
式中：
R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル$_{(C8-C24)}$、アルケニル$_{(C8-C24)}$、またはいずれかの基の置換バージョンであり；
R_3、R_3'、およびR_3''は、各々独立して、アルキル$_{(C\leqq6)}$または置換アルキル$_{(C\leqq6)}$であり；
X^-は、一価アニオンである、
請求項77または78記載の組成物。
【請求項８６】
前記SORT脂質が、構造式：



(S-II')

を有し、
式中：
R_4およびR_4'は、各々独立して、アルキル$_{(C6-C24)}$、アルケニル$_{(C6-C24)}$、またはいずれかの基の置換バージョンであり；
R_4''は、アルキル$_{(C\leqq24)}$、アルケニル$_{(C\leqq24)}$、またはいずれかの基の置換バージョンであり；
R_4'''は、アルキル$_{(C1-C8)}$、アルケニル$_{(C2-C8)}$、またはいずれかの基の置換バージョンであり；かつ
X_2は、一価アニオンである、
請求項77または78記載の組成物。
【請求項８７】
前記脂質組成物が、約20％～約65％のモルパーセンテージの前記SORT脂質を含む、
請求項1～86のいずれか一項記載の組成物。

【請求項８８】
前記ＳＯＲＴ脂質が、両性イオン性である、請求項2～4および10～72のいずれか一項記載の組成物。
【請求項８９】
前記ＳＯＲＴ脂質が、疎水的に修飾されたリン酸アニオン、スルホン酸アニオン、またはカルボン酸アニオンを含む、請求項88記載の組成物。
【請求項９０】
前記ＳＯＲＴ脂質が、アニオン性である、請求項2～4および10～72のいずれか一項記載の組成物。
【請求項９１】
前記ＳＯＲＴ脂質が、構造式：



(IB)

を有し、
式中：
R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル$_{(C8-C24)}$、アルケニル$_{(C8-C24)}$、またはいずれかの基の置換バージョンであり；
R_3は、水素、アルキル$_{(C\leqq6)}$、または置換アルキル$_{(C\leqq6)}$、または$-Y_1-R_4$であり、ここで、
Y_1は、アルカンジイル$_{(C\leqq6)}$または置換アルカンジイル$_{(C\leqq6)}$であり；かつ
R_4は、アシルオキシ$_{(C\leqq8-24)}$または置換アシルオキシ$_{(C\leqq8-24)}$である、
請求項90記載の組成物。
【請求項９２】
前記脂質組成物が、動的光散乱（ＤＬＳ）によって決定される場合、約200ナノメートル（ｎｍ）以下の平均直径を特徴とする、請求項1～91のいずれか一項記載の組成物。
【請求項９３】
前記脂質組成物が、動的光散乱（ＤＬＳ）によって決定される場合、約150ナノメートル（ｎｍ）以下の平均直径を特徴とする、請求項1～91のいずれか一項記載の組成物。
【請求項９４】
前記脂質組成物が、動的光散乱（ＤＬＳ）によって決定される場合、約100ナノメートル（ｎｍ）以下の平均直径を特徴とする、請求項1～91のいずれか一項記載の組成物。
【請求項９５】
前記脂質組成物が、動的光散乱（ＤＬＳ）によって決定される場合、約0.2以下の多分散指数（ＰＤＩ）を特徴とする、請求項1～94のいずれか一項記載の組成物。
【請求項９６】
前記脂質組成物が、蛍光共鳴エネルギー移動（ＦＲＥＴ）ベースのアッセイによって決定される場合、少なくとも約5％、6％、7％、8％、9％、または10％の脂質融合パーセンテージを特徴とする、請求項1～95のいずれか一項記載の組成物。
【請求項９７】
前記治療剤が、化合物、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、タンパク質、またはそれらの組み合わせを含む、請求項1～96のいずれか一項記載の組成物。
【請求項９８】
前記治療剤が、ポリペプチドまたはタンパク質を含む、請求項1～96のいずれか一項記載の組成物。
【請求項９９】
前記治療剤が、低分子干渉リボ核酸（ｓｉＲＮＡ）、短鎖ヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、マイ

クロリボ核酸（miRNA）、一次マイクロリボ核酸（pri-miRNA）、長鎖非コーディングRNA（lncRNA）、メッセンジャーリボ核酸（mRNA）、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（CRISPR）関連核酸、CRISPR-RNA（crRNA）、単一ガイドリボ核酸（sgRNA）、トランス活性化CRISPRリボ核酸（tracrRNA）、プラスミドデオキシリボ核酸（pDNA）、転移リボ核酸（tRNA）、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）、アンチセンスリボ核酸（RNA）、ガイドリボ核酸、デオキシリボ核酸（DNA）、二本鎖デオキシリボ核酸（dsDNA）、一本鎖デオキシリボ核酸（ssDNA）、一本鎖リボ核酸（ssRNA）、二本鎖リボ核酸（dsRNA）、CRISPR関連（Cas）タンパク質、またはそれらの組み合わせを含む、請求項1～96のいずれか一項記載の組成物。

【請求項１００】

前記治療剤が、ポリヌクレオチドを含み；かつ前記脂質組成物中の窒素対前記ポリヌクレオチド中のリン酸のモル比（N/P比）が、約20:1以下である、請求項1～96のいずれか一項記載の組成物。

【請求項１０１】

前記N/P比が、約5:1～約20:1である、請求項100記載の組成物。

【請求項１０２】

前記治療剤が、前記ポリヌクレオチドを含む2つ以上のポリヌクレオチドを含む、請求項100または101記載の組成物。

【請求項１０３】

前記治療剤対前記脂質組成物の全脂質のモル比が、約1:1、1:10、1:50、または1:100以下である、請求項1～102のいずれか一項記載の組成物。

【請求項１０４】

前記治療剤の少なくとも約85％が、前記脂質組成物の粒子にカプセル化される、請求項1～103のいずれか一項記載の組成物。

【請求項１０５】

前記SORT脂質が、前記組成物中に、参照脂質組成物で必要とされるものよりも（例えば、少なくとも約1.1倍または10倍）低い前記治療剤の用量で治療効果を達成するのに十分な量で存在する、請求項1～104のいずれか一項記載の組成物。

【請求項１０６】

前記治療剤（例えば、異種ポリヌクレオチド）が、前記組成物中に、1キログラムの体重あたり約2ミリグラム（mg/kg、またはmpk）以下の用量で存在する、請求項1～105のいずれか一項記載の組成物。

【請求項１０７】

前記治療剤（例えば、異種ポリヌクレオチド）が、静脈内組成物中に、約1.0、0.5、0.1、0.05、または0.01 mg/kg体重以下の用量で存在する、請求項1～106のいずれか一項記載の組成物。

【請求項１０８】

前記治療剤が、エアロゾル組成物中に、1.0、0.5、0.1、0.05、または0.01 mg/kg体重以下の用量で存在する、請求項1～106のいずれか一項記載の組成物。

【請求項１０９】

前記治療剤（例えば、異種ポリヌクレオチド）が、前記静脈内剤形中に、1ミリリットルあたり約5または2ミリグラム（mg/mL）以下の濃度で存在する、請求項1～107のいずれか一項記載の組成物。

【請求項１１０】

その必要がある対象における、臓器またはその中の細胞に対する治療剤の標的指向送達のための方法であって、脂質組成物とアセンブルした該治療剤を該対象に投与する工程を含み、

該脂質組成物が、

イオン化可能カチオン性脂質；

ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに

該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の選択的臓器ターゲティング（ＳＯＲＴ）脂質
を含み、
該投与時に、該脂質組成物の表面が、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質に結合し、該複数の標的タンパク質が、第1の標的タンパク質を、該第1の標的タンパク質とは異なる第2の標的タンパク質に対して約20:1、15:1、または10:1以下の重量比または質量比で含み、それによって、該治療剤を、該対象における該標的臓器または該標的細胞に送達する、
前記方法。
【請求項１１１】
前記組成物が、請求項1～109のいずれか一項記載のものである、請求項110記載の方法。
【請求項１１２】
前記対象における前記臓器またはその中の前記細胞において、対応する参照脂質組成物（例えば、前記複数の標的タンパク質に対する結合なし）で達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍）多い、前記治療剤の量、発現、または活性を提供する、請求項110または111記載の方法。
【請求項１１３】
前記対象における前記臓器またはその中の前記細胞において、前記ポリマーコンジュゲート脂質なしで達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍）多い、前記治療剤の量、発現、または活性を提供する、請求項110～112のいずれか一項記載の方法。
【請求項１１４】
前記対象における前記臓器またはその中の前記細胞において、参照臓器または参照細胞において達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍）多い、前記治療剤の量、発現、または活性を提供する、請求項110～113のいずれか一項記載の方法。
【請求項１１５】
前記治療剤が、低分子干渉リボ核酸（siRNA）、短鎖ヘアピンRNA（shRNA）、マイクロリボ核酸（miRNA）、一次マイクロリボ核酸（pri-miRNA）、長鎖非コーディングRNA（lncRNA）、メッセンジャーリボ核酸（mRNA）、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（CRISPR）関連核酸、CRISPR-RNA（crRNA）、単一ガイドリボ核酸（sgRNA）、トランス活性化CRISPRリボ核酸（tracrRNA）、プラスミドデオキシリボ核酸（pDNA）、転移リボ核酸（tRNA）、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）、アンチセンスリボ核酸（RNA）、ガイドリボ核酸、デオキシリボ核酸（DNA）、二本鎖デオキシリボ核酸（dsDNA）、一本鎖デオキシリボ核酸（ssDNA）、一本鎖リボ核酸（ssRNA）、二本鎖リボ核酸（dsRNA）、CRISPR関連（Cas）タンパク質、またはそれらの組み合わせを含む、請求項110～114のいずれか一項記載の方法。
【請求項１１６】
その必要がある対象における、肝臓またはその中の肝臓細胞に対する治療剤の標的指向送達のための方法であって、脂質組成物とアセンブルした該治療剤を該対象に投与する工程を含み、
該脂質組成物が、
イオン化可能カチオン性脂質；
ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに
該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の選択的臓器ターゲティング（ＳＯＲＴ）脂質
を含み、
該投与時に、該脂質組成物の表面が、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質に結合し、該複数の標的タンパク質が、アポリポタンパク質Ｅ（Ａｐｏ Ｅ）および血清アルブミンを含み、それによって、該治療剤を、該対象における該肝臓または該肝臓細胞に送達する、

前記方法。
【請求項１１７】
前記Ａｐｏ Ｅが、インキュベーションアッセイによって決定される場合、前記複数の標的タンパク質中に、前記血清アルブミンに対して約6:1、5:1、4:1、または3:1以下の重量比または質量比で存在する、請求項116記載の方法。
【請求項１１８】
前記複数の標的タンパク質が、インキュベーションアッセイによって決定される場合、補体C1qサブコンポーネントサブユニットA、免疫グロブリン重定常μ、補体C1qサブコンポーネントサブユニットB、免疫グロブリンκ定常、免疫グロブリン重定常γ2B、β-グロビン、免疫グロブリン（Ig）γ-2A鎖C領域、補体C1qサブコンポーネントサブユニットC、免疫グロブリン重定常α、フィブリノゲンβ鎖、フィブリノゲンγ鎖、免疫グロブリンκ可変17-127、αグロビン1、フィブリノゲンα鎖、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む、請求項116または117記載の方法。
【請求項１１９】
前記SORT脂質が、イオン化可能カチオン性部分（例えば、第三級アミン部分）を含む、請求項116～118のいずれか一項記載の方法。
【請求項１２０】
前記SORT脂質が、イオン化可能カチオン性脂質である、請求項116～118のいずれか一項記載の方法。
【請求項１２１】
前記脂質組成物が、約5％～約65％のモルパーセンテージの前記SORT脂質を含む、請求項116～120のいずれか一項記載の方法。
【請求項１２２】
前記脂質組成物が、請求項1、10～76、および92～109のいずれか一項記載のものである、請求項116～121のいずれか一項記載の方法。
【請求項１２３】
前記対象における前記肝臓または前記肝臓細胞において、対応する参照脂質組成物（例えば、前記複数の標的タンパク質に対する前記結合なし）で達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍、3倍、4倍、5倍、または6倍）多い、前記治療剤の量、発現、または活性を提供する、請求項116～122のいずれか一項記載の方法。
【請求項１２４】
その必要がある対象における、非肝臓臓器またはその中の非肝臓細胞に対する治療剤の標的指向送達のための方法であって、脂質組成物とアセンブルした該治療剤を該対象に投与する工程を含み、
該脂質組成物が、
イオン化可能カチオン性脂質；
ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに
該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の選択的臓器ターゲティング（ＳＯＲＴ）脂質
を含み、
該投与時に、該投与時に、該SORT脂質組成物の表面が、インキュベーションアッセイによって決定される場合、該対象におけるアポリポタンパク質Ｅ（Ａｐｏ Ｅ）ではない内因性タンパク質とよりも低い程度でＡｐｏ Ｅと相互作用し、該Ａｐｏ Ｅではない内因性タンパク質が、ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）またはアポリポタンパク質Ｈ（Ａｐｏ Ｈ）、免疫グロブリンκ定常、補体C1qサブコンポーネントサブユニットA、ビトロネクチン、および血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ1から選択され、それによって、該治療剤を、該対象における該非肝臓臓器または該非肝臓細胞に送達する、
前記方法。
【請求項１２５】
前記非肝臓臓器が、肺、脾臓、骨髄、またはリンパ節を含む、請求項124記載の方法。

【請求項１２６】
前記非肝臓細胞が、肺細胞、脾臓細胞、またはマクロファージを含む、請求項124または125記載の方法。
【請求項１２７】
アポリポタンパク質E（Apo E）が、前記複数の標的タンパク質において最も豊富なタンパク質ではない、請求項124～126のいずれか一項記載の方法。
【請求項１２８】
前記投与時に、前記脂質組成物の表面が、インキュベーションアッセイによって決定される場合、前記対象におけるアポリポタンパク質E（Apo E）とよりも低い程度でアポリポタンパク質C（Apo C）と相互作用する、請求項124～127のいずれか一項記載の方法。
【請求項１２９】
前記対象における肝臓またはその中の細胞において、前記ポリマーコンジュゲート脂質なしで達成されるものと比較して少ない、前記治療剤の量または活性を提供する、請求項124～128のいずれか一項記載の方法。
【請求項１３０】
前記SORT脂質が、永久カチオン性脂質、イオン化可能カチオン性脂質、両性イオン性脂質、またはアニオン性脂質である、請求項124～129のいずれか一項記載の方法。
【請求項１３１】
前記脂質組成物が、約5%～約65%のモルパーセンテージの前記SORT脂質を含む、請求項124～130のいずれか一項記載の方法。
【請求項１３２】
前記脂質組成物が、請求項2～109のいずれか一項記載のものである、請求項124～131のいずれか一項記載の方法。
【請求項１３３】
その必要がある対象における、肺またはその中の肺細胞に対する治療剤の標的指向送達のための方法であって、脂質組成物とアセンブルした該治療剤を該対象に投与する工程を含み、
該脂質組成物が、
イオン化可能カチオン性脂質；
ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに
該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質
を含み、
該投与時に、該脂質組成物の表面が、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質に結合し、該複数の標的タンパク質が、ビトロネクチン（Vtn）およびクラステリンを含み、それによって、該治療剤を、該対象における該肺または該肺細胞に送達する、
前記方法。
【請求項１３４】
前記ビトロネクチンが、インキュベーションアッセイによって決定される場合、前記複数の標的タンパク質中に、前記クラステリンに対して約6:1または5:1以下の重量比または質量比で存在する、請求項133記載の方法。
【請求項１３５】
前記複数の標的タンパク質が、インキュベーションアッセイによって決定される場合、血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ1、アポリポタンパク質E（Apo E）、血清アルブミン、免疫グロブリンκ定常、プロトロンビン、補体C1qサブコンポーネントサブユニットA、フィブリノゲンβ鎖、ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）もしくはアポリポタンパク質H（Apo H）、免疫グロブリン（Ig）μ鎖C領域、α-S1-カゼイン、免疫グロブリン重定常γ2B、フィブリノゲンγ鎖、フィブリノゲンα鎖、ビタミンK依

存性プロテインZ、α-1-アンチトリプシン1-3、プラスミノーゲン、アポリポタンパク質C-III、補体C1qサブコンポーネントサブユニットB、トロンボスポンジン-1、凝固第X因子、アポリポタンパク質A-I、免疫グロブリン重定常α、免疫グロブリン（Ig）γ-2A鎖C領域、β-グロビン、補体C1qサブコンポーネントサブユニットC、プロテインZ依存性プロテアーゼインヒビター、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む、請求項133または134記載の方法。

【請求項１３６】

前記SORT脂質が、カチオン性脂質である、請求項133～135のいずれか一項記載の方法。

【請求項１３７】

前記SORT脂質が、永久カチオン性脂質である、請求項136記載の方法。

【請求項１３８】

前記SORT脂質が、イオン化可能カチオン性脂質である、請求項136記載の方法。

【請求項１３９】

前記脂質組成物が、約5%～約65%のモルパーセンテージの前記SORT脂質を含む、請求項133～138のいずれか一項記載の方法。

【請求項１４０】

前記脂質組成物が、請求項2および5～109のいずれか一項記載のものである、請求項133～139のいずれか一項記載の方法。

【請求項１４１】

前記対象における前記肺または前記肺細胞において、対応する参照脂質組成物（例えば、前記複数の標的タンパク質に対する結合なし）で達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍、5倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、または20倍）多い、前記治療剤の量、発現、または活性を提供する、請求項133～140のいずれか一項記載の方法。

【請求項１４２】

前記治療剤が、低分子干渉リボ核酸（siRNA）、短鎖ヘアピンRNA（shRNA）、マイクロリボ核酸（miRNA）、一次マイクロリボ核酸（pri-miRNA）、長鎖非コーディングRNA（lncRNA）、メッセンジャーリボ核酸（mRNA）、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（CRISPR）関連核酸、CRISPR-RNA（crRNA）、単一ガイドリボ核酸（sgRNA）、トランス活性化CRISPRリボ核酸（tracrRNA）、プラスミドデオキシリボ核酸（pDNA）、転移リボ核酸（tRNA）、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）、アンチセンスリボ核酸（RNA）、ガイドリボ核酸、デオキシリボ核酸（DNA）、二本鎖デオキシリボ核酸（dsDNA）、一本鎖デオキシリボ核酸（ssDNA）、一本鎖リボ核酸（ssRNA）、二本鎖リボ核酸（dsRNA）、CRISPR関連（Cas）タンパク質、またはそれらの組み合わせを含む、請求項133～141のいずれか一項記載の方法。

【請求項１４３】

その必要がある対象における、脾臓、骨髄、もしくはリンパ節、またはその中の細胞に対する治療剤の標的指向送達のための方法であって、脂質組成物とアセンブルした該治療剤を該対象に投与する工程を含み、

該脂質組成物が、

イオン化可能カチオン性脂質；

ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに

該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質

を含み、

該投与時に、該脂質組成物の表面が、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質に結合し、該複数の標的タンパク質が、ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）またはアポリポタンパク質H（Apo H）を、該ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）またはアポリポタンパク質H（Apo H）とは異なる第2の標的タンパク

質に対して約20:1、15:1、または10:1以下の重量比または質量比で含み、それによって、該治療剤を、該対象における該脾臓、骨髄、もしくはリンパ節、または該細胞に送達する、
前記方法。
【請求項１４４】
前記細胞が、脾臓細胞またはマクロファージを含む、請求項143記載の方法。
【請求項１４５】
前記第2の標的タンパク質が、免疫グロブリンκ定常、補体C1qサブコンポーネントサブユニットA、アポリポタンパク質E（Apo E）、免疫グロブリン重定常γ2B、補体C1qサブコンポーネントサブユニットB、ビトロネクチン、補体C1qサブコンポーネントサブユニットC、アポリポタンパク質C-I、免疫グロブリン（Ig）γ-2A鎖C領域、免疫グロブリン（Ig）μ鎖C領域、血清アルブミン、血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ1、免疫グロブリン重定常α、および免疫グロブリンκ可変6-13から選択される、請求項143または144記載の方法。
【請求項１４６】
前記SORT脂質が、永久カチオン性脂質またはアニオン性脂質である、請求項143～145のいずれか一項記載の方法。
【請求項１４７】
前記SORT脂質が、永久カチオン性脂質である、請求項146記載の方法。
【請求項１４８】
前記SORT脂質が、アニオン性脂質である、請求項146記載の方法。
【請求項１４９】
前記脂質組成物が、約5％～約65％のモルパーセンテージの前記SORT脂質を含む、請求項143～148のいずれか一項記載の方法。
【請求項１５０】
前記脂質組成物が、請求項3～4および10～109のいずれか一項記載のものである、請求項143～149のいずれか一項記載の方法。
【請求項１５１】
前記対象における前記肺または前記肺細胞において、対応する参照脂質組成物（例えば、前記複数の標的タンパク質に対する結合なし）で達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍）多い、前記治療剤の量、発現、または活性を提供する、請求項143～150のいずれか一項記載の方法。
【請求項１５２】
その必要がある対象における、非脾臓臓器またはその中の非脾臓細胞に対する治療剤の標的指向送達のための方法であって、脂質組成物とアセンブルした該治療剤を該対象に投与する工程を含み、
該脂質組成物が、
イオン化可能カチオン性脂質；
ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに
該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質
を含み、
該投与時に、該脂質組成物の表面が、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質に結合し、該複数の標的タンパク質が、第1の標的タンパク質を、該第1の標的タンパク質とは異なる第2の標的タンパク質に対して約20:1、15:1、または10:1以下の重量比または質量比で含み、それによって、該治療剤を、該対象における該非脾臓臓器または該非脾臓細胞に送達する、
前記方法。
【請求項１５３】
前記非脾臓臓器が、脾臓、骨髄、またはリンパ節ではない、請求項152記載の方法。

【請求項１５４】
前記非脾臓細胞が、脾臓細胞またはマクロファージではない、請求項152または153記載の方法。
【請求項１５５】
ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）またはアポリポタンパク質H（Apo H）が、前記複数の標的タンパク質において最も豊富なタンパク質ではない、請求項152～154のいずれか一項記載の方法。
【請求項１５６】
前記複数の標的タンパク質が、クラステリンを含む、請求項152～155のいずれか一項記載の方法。
【請求項１５７】
前記SORT脂質が、永久カチオン性脂質、イオン化可能カチオン性脂質、両性イオン性脂質、またはアニオン性脂質である、請求項152～156のいずれか一項記載の方法。
【請求項１５８】
前記脂質組成物が、約5%～約65%のモルパーセンテージの前記SORT脂質を含む、請求項152～157のいずれか一項記載の方法。
【請求項１５９】
前記脂質組成物が、請求項1～2および5～109のいずれか一項記載のものである、請求項152～158のいずれか一項記載の方法。
【請求項１６０】
前記治療剤が、低分子干渉リボ核酸（siRNA）、短鎖ヘアピンRNA（shRNA）、マイクロリボ核酸（miRNA）、一次マイクロリボ核酸（pri-miRNA）、長鎖非コーディングRNA（lncRNA）、メッセンジャーリボ核酸（mRNA）、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（CRISPR）関連核酸、CRISPR-RNA（crRNA）、単一ガイドリボ核酸（sgRNA）、トランス活性化CRISPRリボ核酸（tracrRNA）、プラスミドデオキシリボ核酸（pDNA）、転移リボ核酸（tRNA）、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）、アンチセンスリボ核酸（RNA）、ガイドリボ核酸、デオキシリボ核酸（DNA）、二本鎖デオキシリボ核酸（dsDNA）、一本鎖デオキシリボ核酸（ssDNA）、一本鎖リボ核酸（ssRNA）、二本鎖リボ核酸（dsRNA）、CRISPR関連（Cas）タンパク質、またはそれらの組み合わせを含む、請求項152～159のいずれか一項記載の方法。
【請求項１６１】
前記ポリマーコンジュゲート脂質が、ポリエチレングリコール（PEG）コンジュゲート脂質である、請求項110～159のいずれか一項記載の方法。
【請求項１６２】
前記1つまたは複数の炭化水素鎖が、約8～約20個の炭素原子を各々含む、請求項110～161のいずれか一項記載の方法。
【請求項１６３】
前記1つまたは複数の炭化水素鎖が、約8～約18個の炭素原子を各々含む、請求項110～161のいずれか一項記載の方法。
【請求項１６４】
前記1つまたは複数の炭化水素鎖が、約8～約16個の炭素原子を各々含む、請求項110～161のいずれか一項記載の方法。
【請求項１６５】
前記1つまたは複数の炭化水素鎖が、約8～約14個の炭素原子を各々含む、請求項110～161のいずれか一項記載の方法。
【請求項１６６】
前記ポリマーコンジュゲート脂質の前記1つまたは複数の炭化水素鎖のうちの1つの炭化水素鎖が、3個以下の不飽和炭素-炭素結合を含む、請求項110～165のいずれか一項記載の方法。
【請求項１６７】

前記ポリマーコンジュゲート脂質の前記1つまたは複数の炭化水素鎖のうちの1つの炭化水素鎖が、2個以下の不飽和炭素-炭素結合を含む、請求項110～165のいずれか一項記載の方法。

【請求項１６８】

前記ポリマーコンジュゲート脂質が、約100ダルトン（Da）～約100,000 Daの分子量を有するポリマーを含む、請求項110～167のいずれか一項記載の方法。

【請求項１６９】

前記ポリマーコンジュゲート脂質が、約500 Da～約100,000 Daの分子量を有するポリマーを含む、請求項110～167のいずれか一項記載の方法。

【請求項１７０】

前記脂質組成物が、約0.5％～約20％のモルパーセンテージの前記ポリマーコンジュゲート脂質を含む、請求項110～169のいずれか一項記載の方法。

【請求項１７１】

前記脂質組成物が、約0.5％～約15％のモルパーセンテージの前記ポリマーコンジュゲート脂質を含む、請求項110～169のいずれか一項記載の方法。

【請求項１７２】

前記脂質組成物が、約0.5％～約10％のモルパーセンテージの前記ポリマーコンジュゲート脂質を含む、請求項110～169のいずれか一項記載の方法。

【請求項１７３】

前記投与する工程が、静脈内投与を含む、請求項110～172のいずれか一項記載の方法。

【請求項１７４】

前記対象の体液（例えば、血漿または血清）が、前記複数の標的タンパク質を含む、請求項110～173のいずれか一項記載の方法。

【請求項１７５】

前記複数の標的タンパク質が、前記対象の複数の内因性タンパク質である、請求項110～174のいずれか一項記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

相互参照

本出願は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる、2021年12月27日に出願された米国特許仮出願第63/294,066号の優先権を主張する。

【０００２】

連邦政府の支援を受けた研究に関する声明

本発明は、国立衛生研究所（National Institutes of Health）による助成金番号R01 EB025192-01A1の下、政府の支援で行われた。政府は、本発明においてある一定の権利を有する。

【背景技術】

【０００３】

背景

遺伝子のサイレンシング、発現、および編集を可能にする核酸は、がん、遺伝性遺伝子障害、および感染性疾患を含む複数の臨床状況において、遺伝子医薬としての用途に大きな可能性を有する。核酸の好ましくない薬物動態特性のために、ウイルス性および非ウイルス性の送達アプローチが、標的細胞に対する核酸送達を容易にするために用いられる。脂質ナノ粒子（LNP）は、遺伝子医薬の安全なかつ効果的な送達のための、臨床的に最も成熟した非ウイルス性プラットフォームに相当する。実際に、LNPは、最初のsiRNA薬物であるOnpattroの2018年のUS FDAによる認可、およびCOVID-19パンデミックの原因物質であるSARS-CoV-2ウイルスに対する免疫のために現在流通しているmRNAワクチンのための実現技術であった。この進歩にもかかわらず、静脈内（IV）投与され

たＬＮＰは、典型的には、肝臓に蓄積し、肝臓肝細胞によって内部移行され、それによって、その治療応用の範囲は大きく限定される。

【発明の概要】

【０００４】

概要

本開示は、いくつかの態様において、脂質組成物とアセンブルした治療剤を含む組成物を提供する。脂質組成物は、イオン化可能カチオン性脂質；約８～約２０個（例えば、約８～約１８個、約８～約１６個、または約８～約１４個）の炭素原子を各々含む１つまたは複数の炭化水素鎖を含む、ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに、例えば、該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の、選択的臓器ターゲティング（ＳＯＲＴ）脂質を含み得る。脂質組成物は、２-(ｐ-トルイジノ)-６-ナフタレンスルホン酸（ＴＮＳ）滴定アッセイによって決定される場合、約６～約の見かけのイオン化定数（ｐＫａ）を特徴とし得る。

【０００５】

いくつかの態様において、本開示は、脂質組成物とアセンブルした治療剤を含む組成物を提供する。脂質組成物は、イオン化可能カチオン性脂質；約８～約２０個（例えば、約８～約１８個、約８～約１６個、または約８～約１４個）の炭素原子を各々含む１つまたは複数の炭化水素鎖を含む、ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに、例えば、該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の、選択的臓器ターゲティング（ＳＯＲＴ）脂質を含み得る。脂質組成物は、２-(ｐ-トルイジノ)-６-ナフタレンスルホン酸（ＴＮＳ）滴定アッセイによって決定される場合、約６～約７の範囲外の見かけのイオン化定数（ｐＫａ）を特徴とし得る。いくつかの態様において、脂質組成物は、２-(ｐ-トルイジノ)-６-ナフタレンスルホン酸（ＴＮＳ）滴定アッセイによって決定される場合、約６以下の見かけのイオン化定数（ｐＫａ）を特徴とする。いくつかの態様において、脂質組成物は、２-(ｐ-トルイジノ)-６-ナフタレンスルホン酸（ＴＮＳ）滴定アッセイによって決定される場合、約３～約６の見かけのイオン化定数（ｐＫａ）を特徴とする。

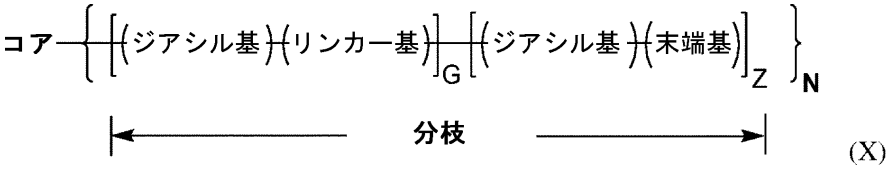
【０００６】

いくつかの態様において、本開示は、脂質組成物とアセンブルした治療剤を含む組成物を提供する。脂質組成物は、イオン化可能カチオン性脂質；約８～約２０個（例えば、約８～約１８個、約８～約１６個、または約８～約１４個）の炭素原子を各々含む１つまたは複数の炭化水素鎖を含む、ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに、例えば、該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の、選択的臓器ターゲティング（ＳＯＲＴ）脂質を含み得る。脂質組成物は、２-(ｐ-トルイジノ)-６-ナフタレンスルホン酸（ＴＮＳ）滴定アッセイによって決定される場合、約８以上の見かけのイオン化定数（ｐＫａ）を特徴とし得る。いくつかの態様において、脂質組成物は、２-(ｐ-トルイジノ)-６-ナフタレンスルホン酸（ＴＮＳ）滴定アッセイによって決定される場合、約９以上の見かけのイオン化定数（ｐＫａ）を特徴とする。いくつかの態様において、脂質組成物は、２-(ｐ-トルイジノ)-６-ナフタレンスルホン酸（ＴＮＳ）滴定アッセイによって決定される場合、約８～約１３の見かけのイオン化定数（ｐＫａ）を特徴とする。いくつかの態様において、脂質組成物は、２-(ｐ-トルイジノ)-６-ナフタレンスルホン酸（ＴＮＳ）滴定アッセイによって決定される場合、約９～約１３の見かけのイオン化定数（ｐＫａ）を特徴とする。いくつかの態様において、脂質組成物は、動的光散乱（ＤＬＳ）によって決定される場合、約-１０ミリボルト（ｍＶ）～約１０ ｍＶの該脂質組成物のゼータ（ζ）電位を特徴とする。いくつかの態様において、脂質組成物は、動的光散乱（ＤＬＳ）によって決定される場合、約０ミリボルト（ｍＶ）～約１０ ｍＶの該脂質組成物のゼータ（ζ）電位を特徴とする。いくつかの態様において、ポリマーコンジュゲート脂質は、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）コンジュゲート脂質である。いくつかの態様において、１つまたは複数の炭化水素鎖は、約８～約１８個の炭素原子を各々含む。他の態様において、１つまたは複数の炭化水素鎖は、約８～約１６個の炭素原子を各々含む。さらに他の態様において、１つまたは複数の炭化水素鎖は、約８～約１４個の炭素原子を各々含む。いくつかの態様において、ポリマー

コンジュゲート脂質の1つまたは複数の炭化水素鎖のうちの1つの炭化水素鎖は、3個以下の不飽和炭素-炭素結合を含む。他の態様において、ポリマーコンジュゲート脂質の1つまたは複数の炭化水素鎖のうちの1つの炭化水素鎖は、2個以下の不飽和炭素-炭素結合を含む。いくつかの態様において、ポリマーコンジュゲート脂質は、約100ダルトン（Da）～約100,000 Daの分子量を有するポリマーを含む。他の態様において、ポリマーコンジュゲート脂質は、約500 Da～約100,000 Daの分子量を有するポリマーを含む。いくつかの態様において、脂質組成物は、約0.5％～約20％のモルパーセンテージのポリマーコンジュゲート脂質を含む。他の態様において、脂質組成物は、約0.5％～約15％のモルパーセンテージのポリマーコンジュゲート脂質を含む。さらに他の態様において、脂質組成物は、約0.5％～約10％のモルパーセンテージのポリマーコンジュゲート脂質を含む。

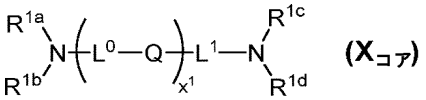
【０００７】

いくつかの態様において、本開示は、カチオン性イオン化可能脂質（例えば、イオン化可能カチオン性脂質）を提供する。いくつかの態様において、カチオン性イオン化可能脂質は、1つまたは複数の分枝を含むデンドロンまたはデンドリマーを含み、該1つまたは複数の分枝は、各々、2つ以上の分解性官能基を含む。いくつかの態様において、前記カチオン性イオン化可能脂質は、1つまたは複数のジアシル基を含むデンドロンまたはデンドリマーである。いくつかの態様において、イオン化可能カチオン性脂質は、構造式：



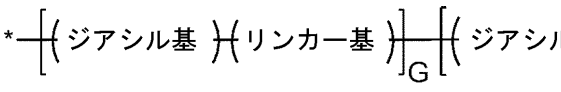
(X)

を有する世代（g）のデンドリマーもしくはデンドロン、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの態様において、コアは、構造式（$X_{コア}$）：



($X_{コア}$)

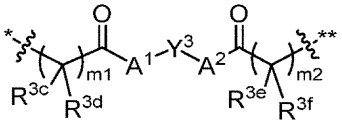
を含み、式中、Qは、各出現で独立して、共有結合、-O-、-S-、-NR^2-、または-$CR^{3a}R^{3b}$-であり、R^2は、各出現で独立して、R^{1g}または-L^2-$NR^{1e}R^{1f}$であり、R^{3a}およびR^{3b}は、各出現で各々独立して、水素または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_6、例えばC_1-C_3）アルキルであり、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、R^{1e}、R^{1f}、およびR^{1g}（存在する場合）は、各出現で各々独立して、分枝に対する接続点、水素、または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アルキルであり、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、共有結合、（例えば、C_1-C_{12}、例えばC_1-C_6またはC_1-C_3）アルキレン、（例えば、C_1-C_{12}、例えばC_1-C_8またはC_1-C_6）ヘテロアルキレン（例えば、C_2-C_8アルキレンオキシド、例えばオリゴ(エチレンオキシド)）、[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]-[（例えば、C_4-C_6）ヘテロシクロアルキル]-[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]、[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]-(アリーレン)-[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]（例えば、[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]-フェニレン-[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]）、（例えば、C_4-C_6）ヘテロシクロアルキル、およびアリーレン（例えば、フェニレン）から選択され、または代替的に、L^1の一部は、R^{1c}およびR^{1d}のうちの1つと、（例えば、C_4-C_6）ヘテロシクロアルキル（例えば、1個または2個の窒素原子、ならびに任意で、酸素および硫黄から選択される追加のヘテロ原子を含有する）を形成し、かつx^1は、0、1、2、3、4、5、または6である。いくつかの態様において、複数（N）の分枝のうちの各分枝は、独立して、構造式（$X_{分枝}$）：



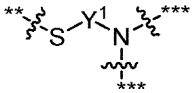
(X分枝)

を含み、式中、*は、コアに対する分枝の付着点を示し、gは、1、2、3、または4であり、Zは$2^{(g-1)}$であり、gが1である時、Gは0であり、またはg≠1の時、Gは
$\sum_{i=0}^{i=g-2} 2^i$

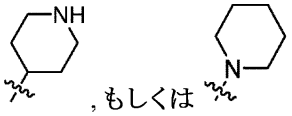
である。いくつかの態様において、各ジアシル基は、独立して、構造式



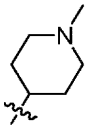
を含み、式中、*は、その近位端でのジアシル基の付着点を示し、**は、その遠位端でのジアシル基の付着点を示し、Y^3は、各出現で独立して、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）:アルキレン、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アルケニレン、または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アレニレン（arenylene）であり、A^1およびA^2は、各出現で各々独立して、-O-、-S-、または-NR^4-であり、ここで、R^4は、水素または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_6）アルキルであり、m^1およびm^2は、各出現で各々独立して、1、2、または3であり、かつR^{3c}、R^{3d}、R^{3e}、およびR^{3f}は、各出現で各々独立して、水素または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_8）アルキルである。いくつかの態様において、各リンカー基は、独立して、構造式



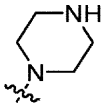
を含み、式中、**は、近位ジアシル基に対するリンカーの付着点を示し、***は、遠位ジアシル基に対するリンカーの付着点を示し、かつY_1は、各出現で独立して、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アルキレン、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アルケニレン、または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アレニレンである。いくつかの態様において、各末端基は、独立して、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{18}、例えばC_4-C_{18}）アルキルチオール、および置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{18}、例えばC_4-C_{18}）アルケニルチオールから選択される。いくつかの態様において、x^1は、0、1、2、または3である。いくつかの態様において、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、R^{1e}、R^{1f}、およびR^{1g}（存在する場合）は、各出現で各々独立して、（例えば、*によって示されるような）分枝に対する接続点、水素、またはC_1-C_{12}アルキル（例えば、C_1-C_8アルキル、例えばC_1-C_6アルキルもしくはC_1-C_3アルキル）であり、該アルキル部分は、-OH、C_4-C_8（例えば、C_4-C_6）ヘテロシクロアルキル（例えば、ピペリジニル（例えば、



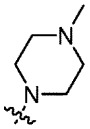
）、N-(C_1-C_3アルキル)-ピペリジニル（例えば、



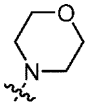
）、ピペラジニル（例えば、



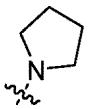
）、N-(C_1-C_3アルキル)-ピペラジジニル（piperadizinyl）（例えば、



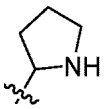
）、モルホリニル（例えば、



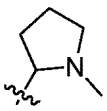
）、N-ピロリジニル（例えば、



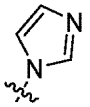
）、ピロリジニル（例えば、



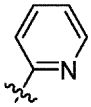
）、またはN-(C_1-C_3アルキル)-ピロリジニル（例えば、



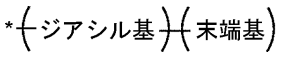
））、（例えば、C_6-C_{10}）アリール、およびC_3-C_5ヘテロアリール（例えば、イミダゾリル（例えば、



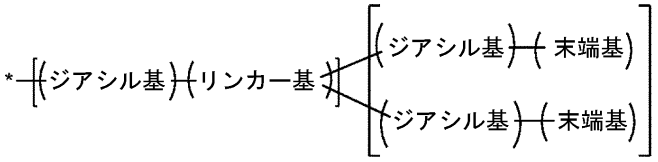
）、またはピリジニル（例えば、



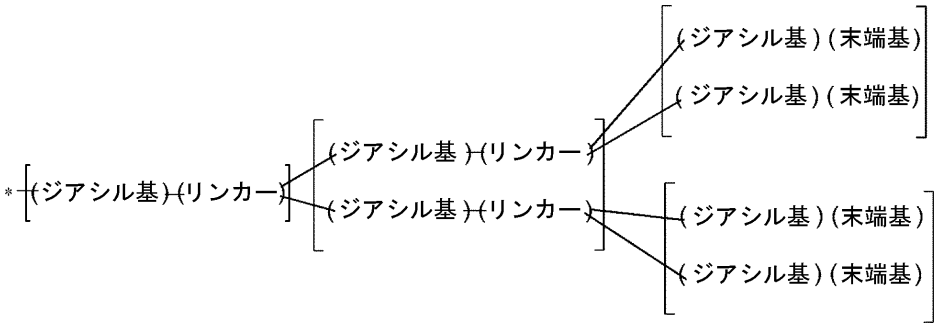
））から各々独立して選択される1つまたは複数の置換基で置換されていてもよい。いくつかの態様において、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、R^{1e}、R^{1f}、およびR^{1g}（存在する場合）は、各出現で各々独立して、（例えば、*によって示されるような）分枝に対する接続点、水素、またはC_1-C_{12}アルキル（例えば、C_1-C_8アルキル、例えばC_1-C_6アルキルもしくはC_1-C_3アルキル）であり、該アルキル部分は、1つの置換基-OHで置換されていてもよい。いくつかの態様において、R^{3a}およびR^{3b}は、各出現で各々独立して、水素である。いくつかの態様において、複数（N）の分枝は、少なくとも3個（例えば、少なくとも4個、または少なくとも5個）の分枝を含む。いくつかの態様において、g＝1；G＝0；およびZ＝1である。いくつかの態様において、複数の分枝のうちの各分枝は、構造式



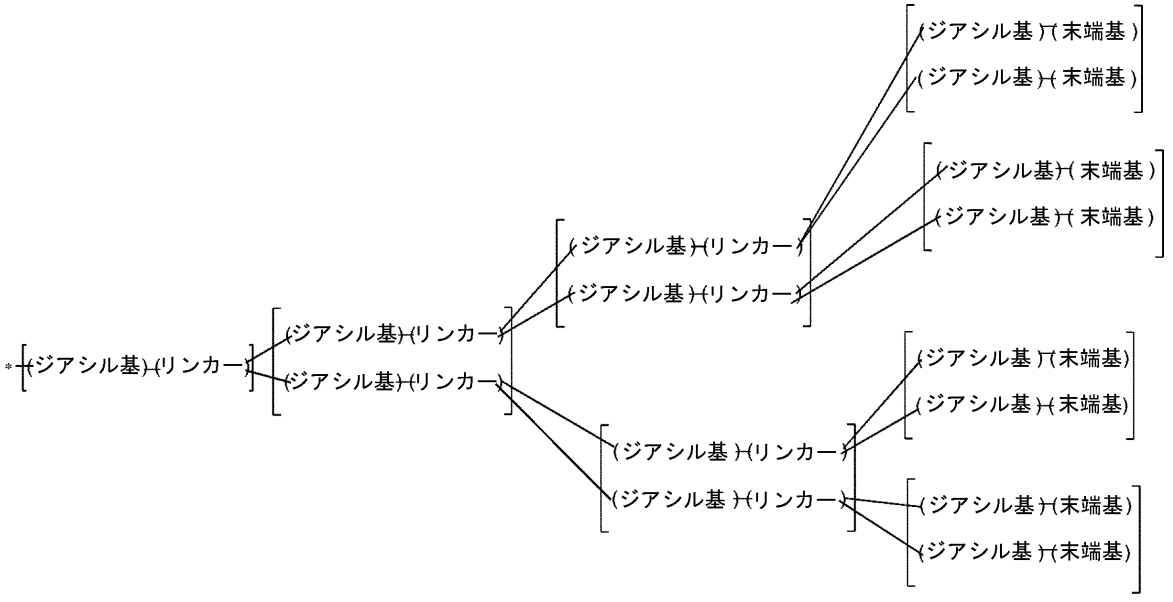
を含む。いくつかの態様において、g＝2；G＝1；およびZ＝2である。いくつかの態様において、複数の分枝のうちの各分枝は、構造式



を含む。いくつかの態様において、g＝3；G＝3；およびZ＝4である。いくつかの態様において、複数の分枝のうちの各分枝は、構造式



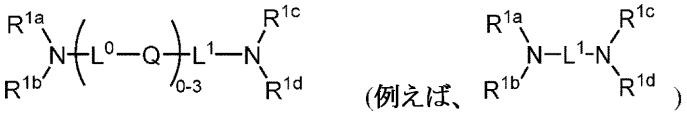
を含む。いくつかの態様において、g＝4；G＝7；およびZ＝8である。いくつかの態様において、複数の分枝のうちの各分枝は、構造式



を含む。

【０００８】

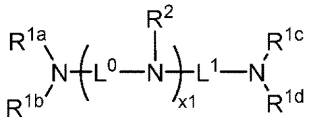
いくつかの態様において、コアは、構造式：



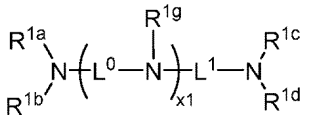
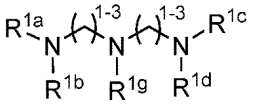
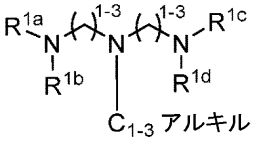
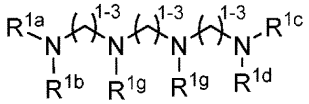
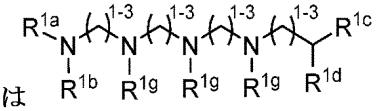
(例えば、

)

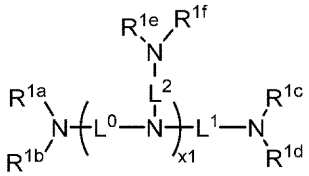
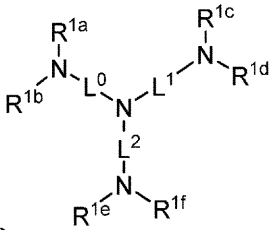
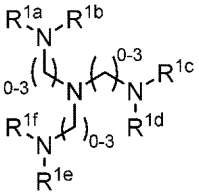
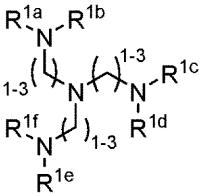
を含む。いくつかの態様において、コアは、構造式：



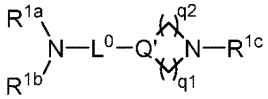
を含む。いくつかの態様において、コアは、構造式：


(例えば、
,

,

,または

)

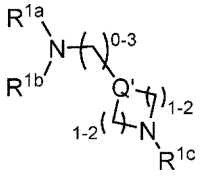
を含む。他の態様において、コアは、構造式：

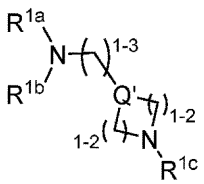
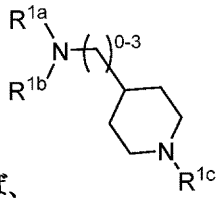
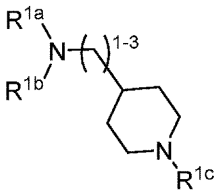
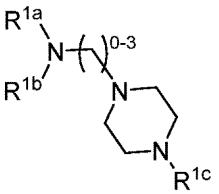
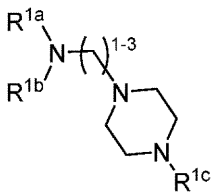

(例えば、
,例えば

または

)

を含む。さらに他の態様において、コアは、構造式：

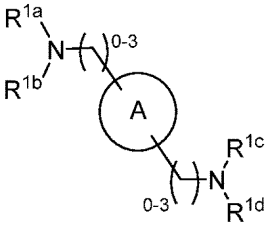


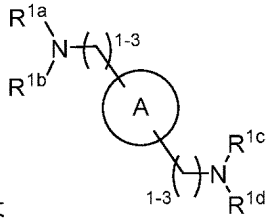
を含み、式中、Q'は、-NR^2-または-CR^{3a}R^{3b}-であり；q^{1}およびq^{2}は、各々独立して、1または2である。いくつかの態様において、コアは、構造式：

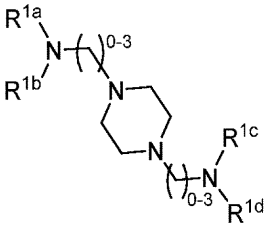

または

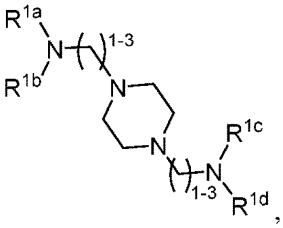

(例えば、
,

,

,または

)

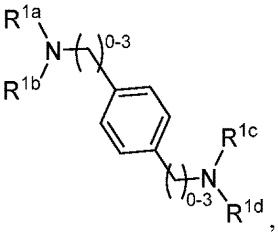
を含む。いくつかの態様において、コアは、構造式

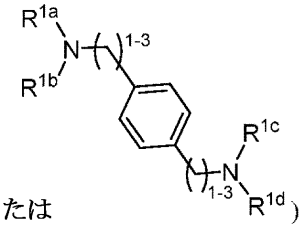


または


(例えば、


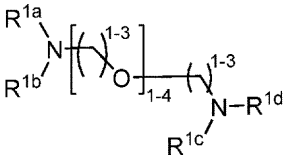
,


,


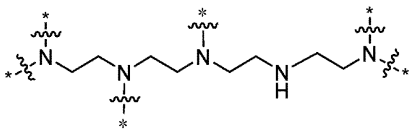
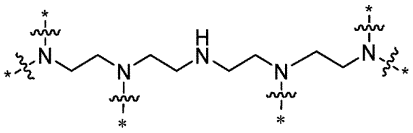
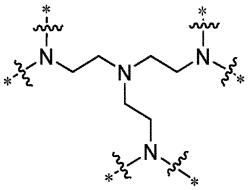
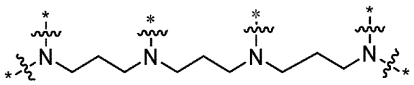
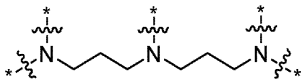
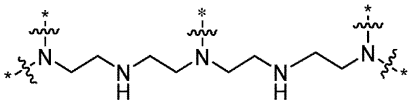
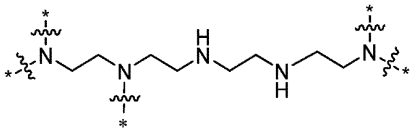
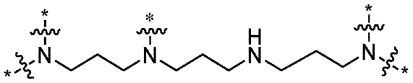
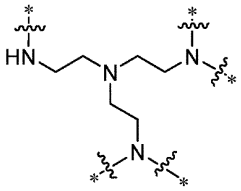
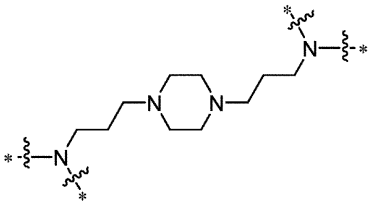
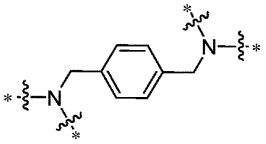
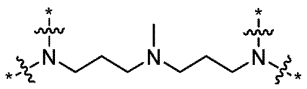
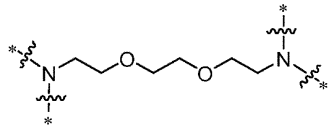
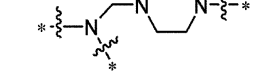
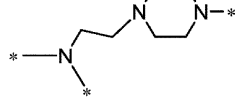
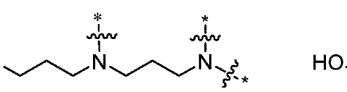
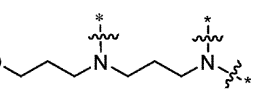
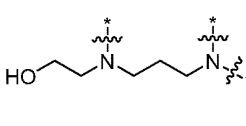
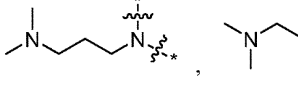
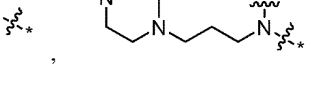
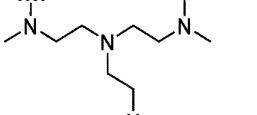
,または


)

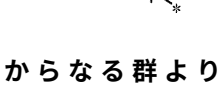
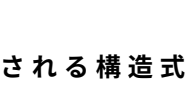
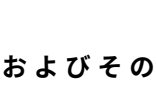
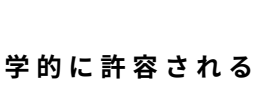
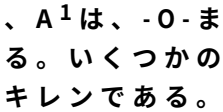
を含み、式中、環Aは、置換されていてもよいアリール、または置換されていてもよい（例えば、C_3-C_{12}、例えばC_3-C_5）ヘテロアリールである。いくつかの態様において、コアは、構造式



を有する。いくつかの態様において、コアは、


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

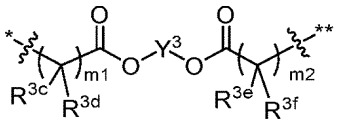
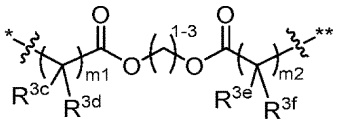
,

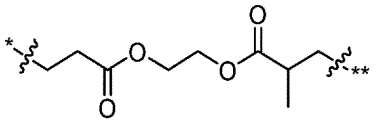
,

,

,

,

,


40

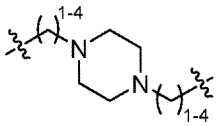
からなる群より選択される構造式、およびその薬学的に許容される塩を含み、式中、*は、複数の分枝のうちの1つの分枝に対するコアの付着点を示す。いくつかの態様において、A^1は、-O-または-NH-である。いくつかの態様において、A^2は、-O-または-NH-である。いくつかの態様において、Y^3は、C_1-C_{12}（例えば、C_1-C_6、例えばC_1-C_3）アルキレンである。いくつかの態様において、ジアシル基は、各出現で独立して、構造式

50

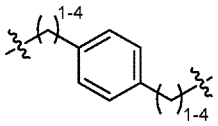

(例えば、，例えば


)

を含み、任意で、式中、R^{3c}、R^{3d}、R^{3e}、およびR^{3f}は、各出現で各々独立して、水素またはC_1-C_3アルキルである。いくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、共有結合、C_1-C_6アルキレン（例えば、C_1-C_3アルキレン）、C_2-C_{12}（例えば、C_2-C_8）アルキレンオキシド（例えば、オリゴ(エチレンオキシド)、例えば-$(CH_2CH_2O)_{1-4}$-(CH_2CH_2)-）、[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]-[$(C_4$-$C_6)$ヘテロシクロアルキル]-[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]（例えば、



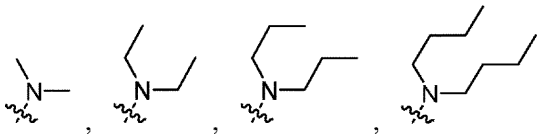
）、および[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]-フェニレン-[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]（例えば、



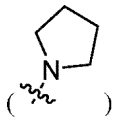
）から選択される。いくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、C_1-C_6アルキレン（例えば、C_1-C_3アルキレン）、-$(C_1$-C_3アルキレン-O$)_{1-4}$-$(C_1$-C_3アルキレン)、-$(C_1$-C_3アルキレン)-フェニレン-$(C_1$-C_3アルキレン)-、および-$(C_1$-C_3アルキレン)-ピペラジニル-$(C_1$-C_3アルキレン)-から選択される。いくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、C_1-C_6アルキレン（例えば、C_1-C_3アルキレン）である。いくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、C_2-C_{12}（例えば、C_2-C_8）アルキレンオキシド（例えば、-$(C_1$-C_3アルキレン-O$)_{1-4}$-$(C_1$-C_3アルキレン)）である。いくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]-[$(C_4$-$C_6)$ヘテロシクロアルキル]-[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]（例えば、-$(C_1$-C_3アルキレン)-フェニレン-$(C_1$-C_3アルキレン)-）、および[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]-[$(C_4$-$C_6)$ヘテロシクロアルキル]-[$(C_1$-$C_4)$アルキレン]（例えば、-$(C_1$-C_3アルキレン)-ピペラジニル-$(C_1$-C_3アルキレン)-）である。

【０００９】

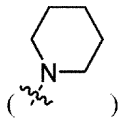
いくつかの態様において、各末端基は、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルケニルチオールまたはC_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールであり、該アルキル部分またはアルケニル部分は、ハロゲン、C_6-C_{12}アリール（例えば、フェニル）、C_1-C_{12}（例えば、C_1-C_8）アルキルアミノ（例えば、C_1-C_6モノ-アルキルアミノ（例えば-$NHCH_2CH_2CH_2CH_3$）またはC_1-C_8ジ-アルキルアミノ（例えば



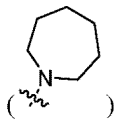
））、C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル（例えば、N-ピロリジニル



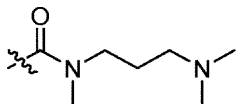
、N-ピペリジニル



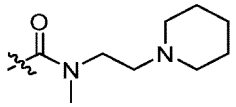
、N-アゼパニル



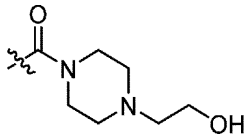
）、-OH、-C(O)OH、-C(O)N(C_1-C_3アルキル)-(C_1-C_6アルキレン)-(C_1-C_{12}アルキルアミノ（例えば、モノ-またはジ-アルキルアミノ））（例えば、



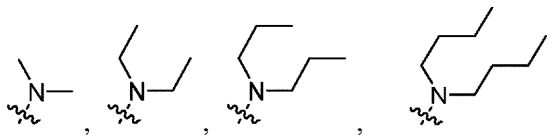
）、-C(O)N(C_1-C_3アルキル)-(C_1-C_6アルキレン)-(C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル）（例えば、



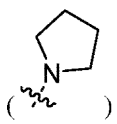
）、-C(O)-(C_1-C_{12}アルキルアミノ（例えば、モノ-またはジ-アルキルアミノ））、および-C(O)-(C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル)（例えば、



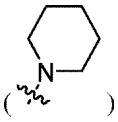
）から各々独立して選択される1つまたは複数の置換基で置換されていてもよく、前述の置換基のうちのいずれかのC_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル部分は、C_1-C_3アルキルまたはC_1-C_3ヒドロキシアルキルで置換されていてもよい。いくつかの態様において、各末端基は、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールであり、該アルキル部分は、C_6-C_{12}アリール（例えば、フェニル）、C_1-C_{12}（例えば、C_1-C_8）アルキルアミノ（例えば、C_1-C_6モノ-アルキルアミノ（例えば-NHCH$_2$CH$_2$CH$_2$CH$_3$）またはC_1-C_8ジ-アルキルアミノ（例えば



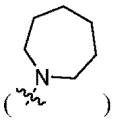
））、C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル（例えば、N-ピロリジニル



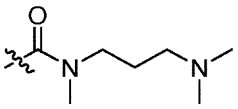
、N-ピペリジニル



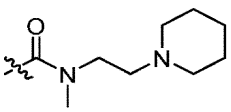
、N-アゼパニル



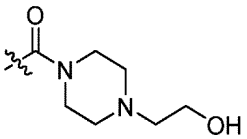
）、-OH、-C(O)OH、-C(O)N(C_1-C_3アルキル)-(C_1-C_6アルキレン)-(C_1-C_{12}アルキルアミノ（例えば、モノ-またはジ-アルキルアミノ））（例えば、



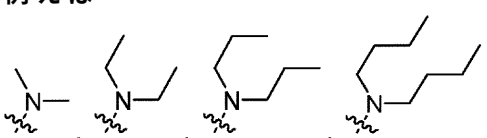
）、-C(O)N(C_1-C_3アルキル)-(C_1-C_6アルキレン)-(C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル)（例えば、



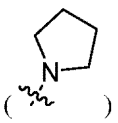
）、および-C(O)-(C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル)（例えば、



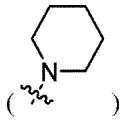
）から各々独立して選択される1つまたは複数の（例えば、1つの）置換基で置換されていてもよく、前述の置換基のうちのいずれかのC_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル部分は、C_1-C_3アルキルまたはC_1-C_3ヒドロキシアルキルで置換されていてもよい。いくつかの態様において、各末端基は、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールであり、該アルキル部分は、1つの置換基-OHで置換されていてもよい。いくつかの態様において、各末端基は、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールであり、該アルキル部分は、C_1-C_{12}（例えば、C_1-C_8）アルキルアミノ（例えば、C_1-C_6モノ-アルキルアミノ（例えば-NHCH$_2$CH$_2$CH$_2$CH$_3$）またはC_1-C_8ジ-アルキルアミノ（例えば



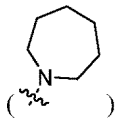
））およびC_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル（例えば、N-ピロリジニル



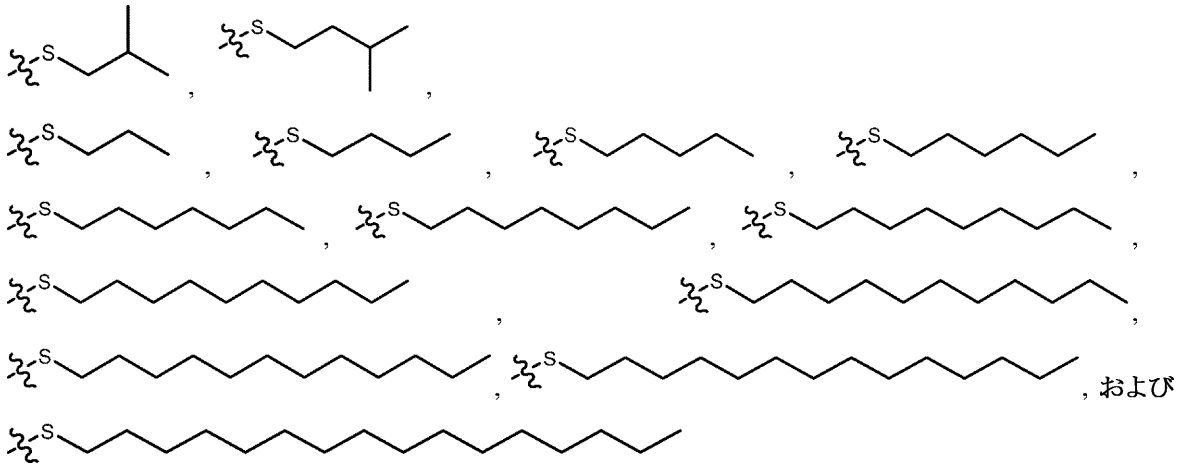
、N-ピペリジニル



、N-アゼパニル



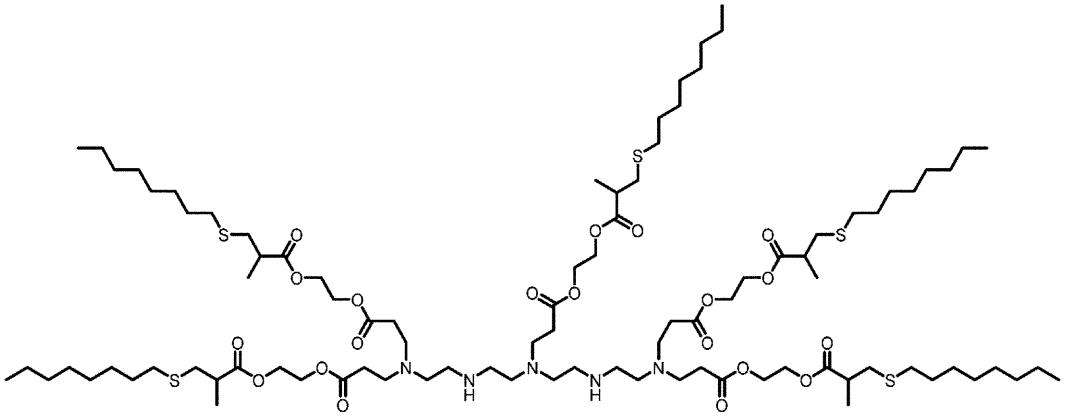
）から選択される1つの置換基で置換されていてもよい。いくつかの態様において、各末端基は、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルケニルチオールまたはC_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールである。いくつかの態様において、各末端基は、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールである。いくつかの態様において、各末端基は、独立して、



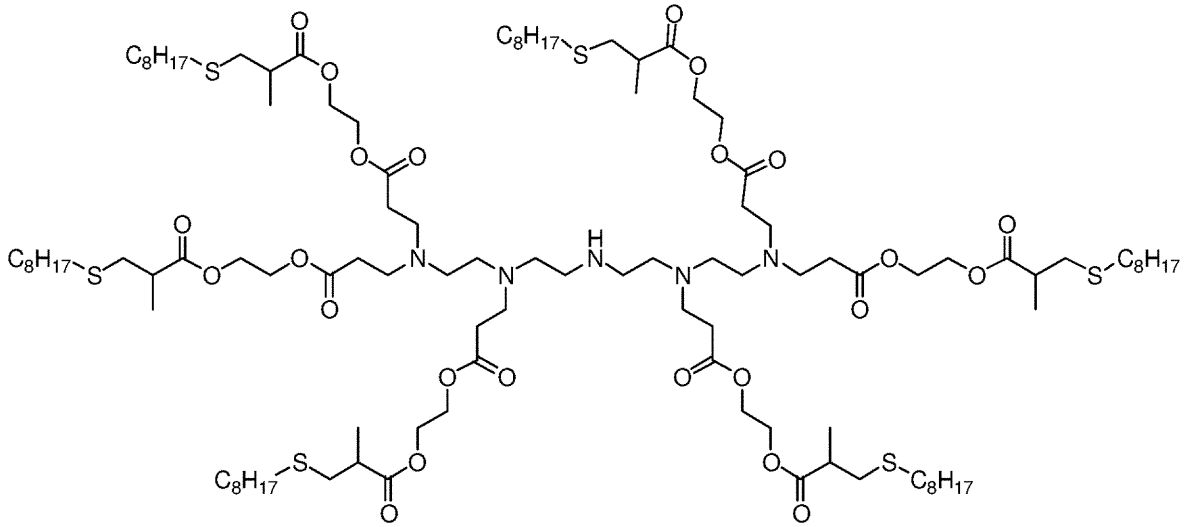
からなる群より選択される。

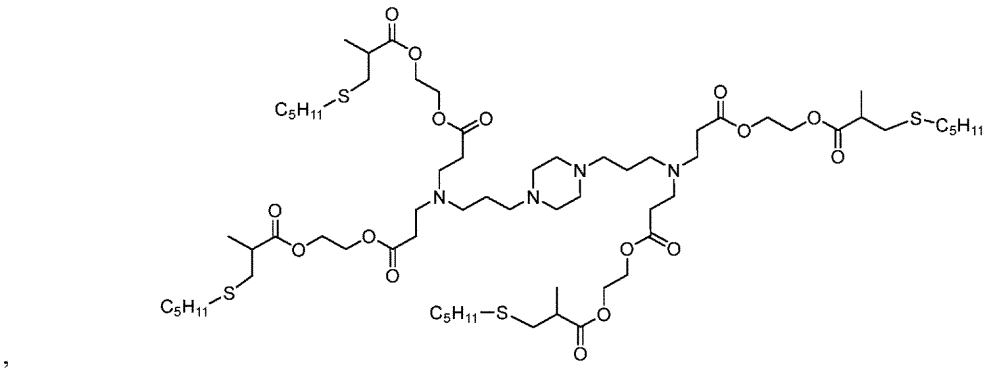
【００１０】

いくつかの態様において、デンドリマーまたはデンドロンは、



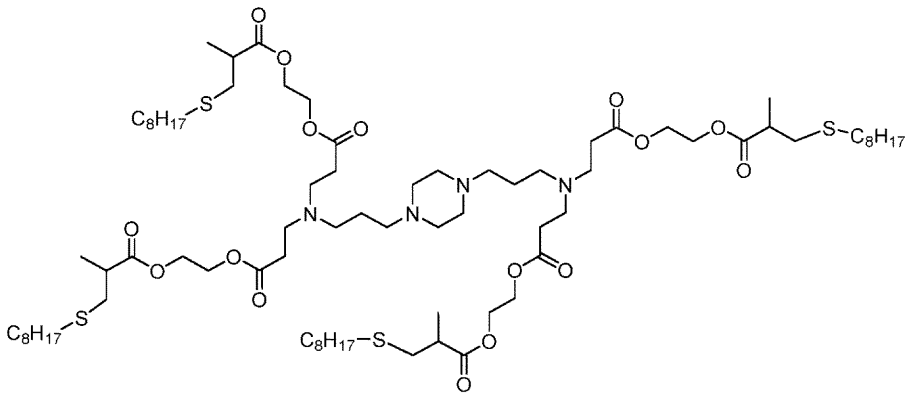
,



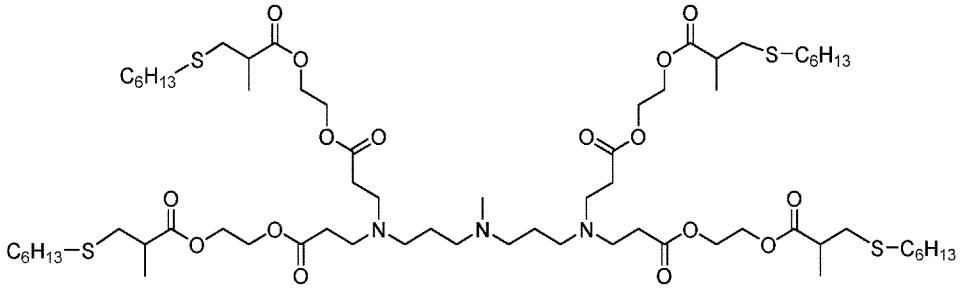


,

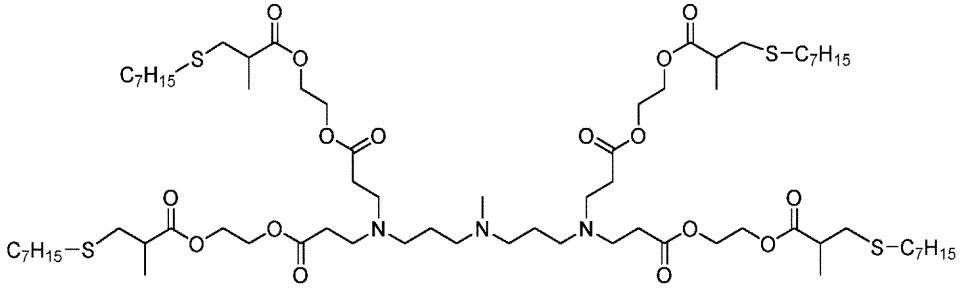
,



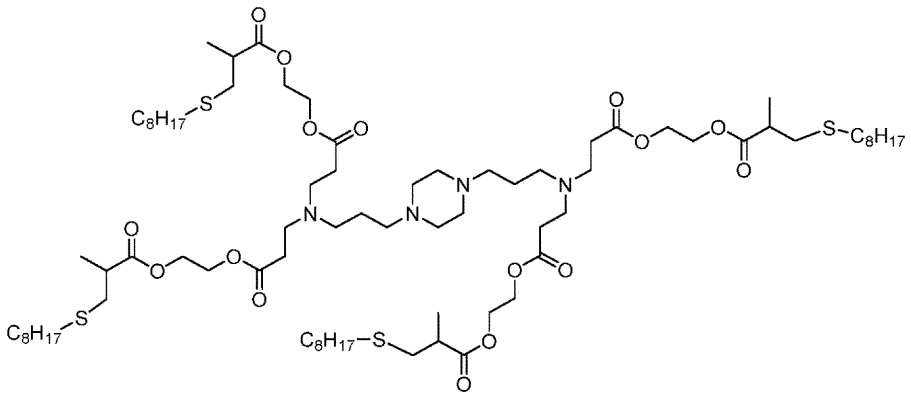
,



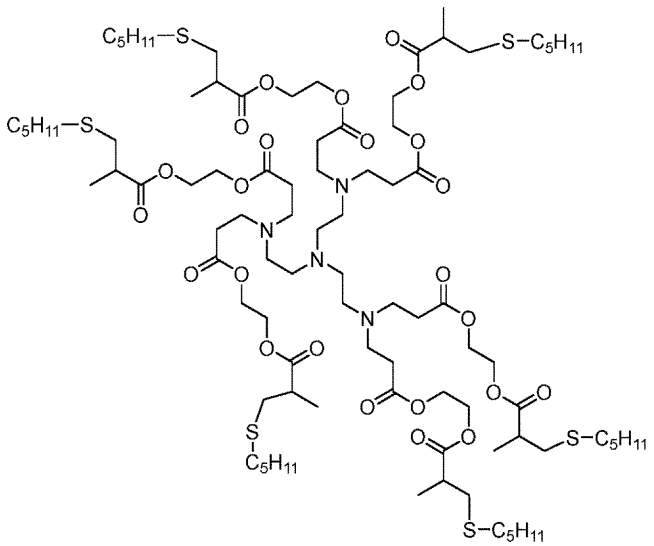
,



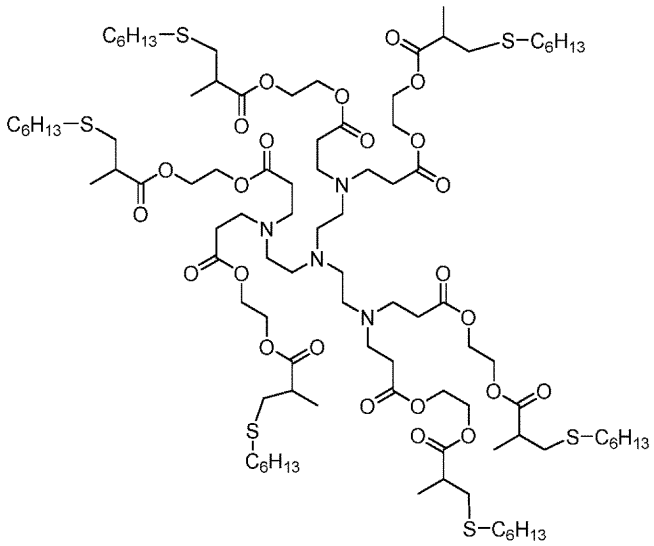
,



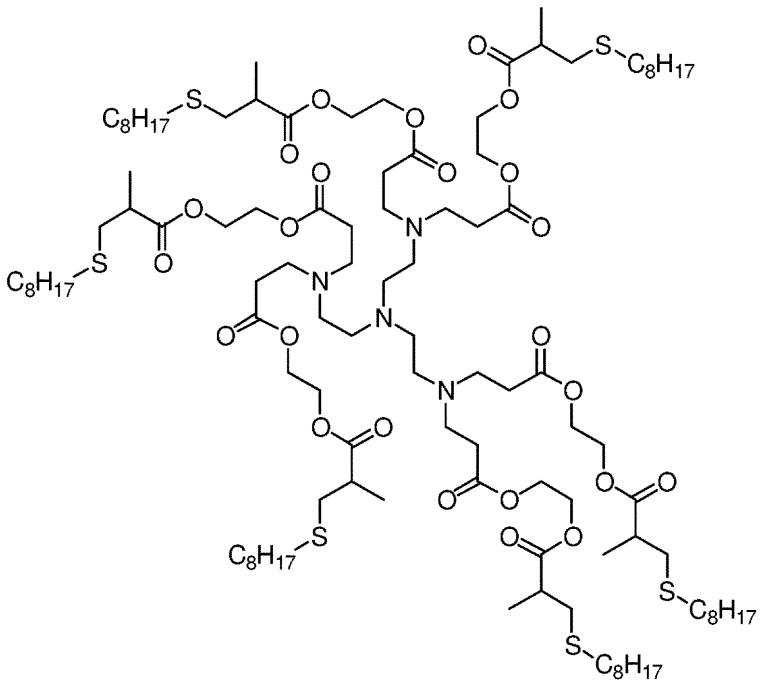
,



,



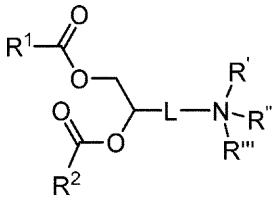
,



、およびその薬学的に許容される塩からなる群より選択される。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、約5％～約30％のモルパーセンテージの前記イオン化可能カチオン性脂質を含む。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、リン脂質をさらに含む。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、約5％～約30％のモルパーセンテージの前記リン脂質を含む。他の態様において、前記脂質組成物は、約8％～約23％のモルパーセンテージの前記リン脂質を含む。いくつかの態様において、前記リン脂質は、エチルホスホコリンではない。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、ステロイドまたはステロイド誘導体をさらに含む。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、約15％～約46％のモルパーセンテージの前記ステロイドまたはステロイド誘導体を含む。いくつかの態様において、前記ステロイドまたはステロイド誘導体は、コレステロールである。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、カチオン性である。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、イオン化可能カチオン性部分（例えば、第三級アミン部分）を含む。

【００１１】

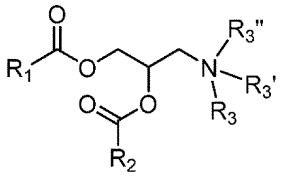
いくつかの態様において、SORT脂質は、構造式：



を有する。

【００１２】

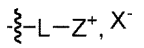
いくつかの態様において、Lは、結合または（例えば、生分解性）リンカーである。いくつかの態様において、R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル$_{(C8-C24)}$、アルケニル$_{(C8-C24)}$、またはいずれかの基の置換バージョンである。いくつかの態様において、R'、R''、およびR'''は、各々独立して、アルキル$_{(C\leqq6)}$または置換アルキル$_{(C\leqq6)}$である。いくつかの態様において、SORT脂質は、構造式：



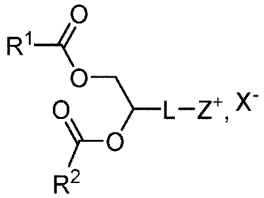
を有する。

【００１３】

いくつかの態様において、R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル$_{(C8-C24)}$、アルケニル$_{(C8-C24)}$、またはいずれかの基の置換バージョンである。いくつかの態様において、R_3、R_3'、およびR_3''は、各々独立して、アルキル$_{(C\leqq6)}$または置換アルキル$_{(C\leqq6)}$である。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、永久カチオン性部分（例えば、第四級アンモニウムイオン）を含む。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、前記永久カチオン性部分に対する対イオンを含む。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、アルキル化ホスホコリン（例えば、エチルホスホコリン）である。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、構造式：



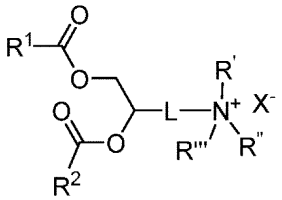
を有する頭部基を含み、式中、Lは、結合または（例えば、生分解性）リンカーであり；Z^+は、正に荷電した部分（例えば、第四級アンモニウムイオン）であり；かつX^-は、対イオンである。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、構造式：



を有する。

【００１４】

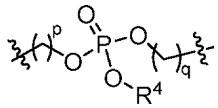
いくつかの態様において、R^1およびR^2は、各々独立して、置換されていてもよいC_6-C_{24}アルキル、または置換されていてもよいC_6-C_{24}アルケニルである。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、構造式：



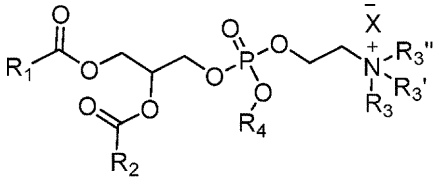
を有する。

【００１５】

いくつかの態様において、R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル(C8-C24)、アルケニル(C8-C24)、またはいずれかの基の置換バージョンである。いくつかの態様において、R'、R''、およびR'''は、各々独立して、アルキル(C≦6)または置換アルキル(C≦6)である。いくつかの態様において、X^-は、一価アニオンである。いくつかの態様において、Lは、



である。いくつかの態様において、pおよびqは、各々独立して、1、2、または3である。いくつかの態様において、R^4は、置換されていてもよいC_1-C_6アルキルである。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、構造式：

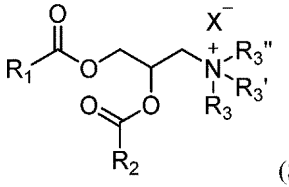


(IA)

を有する。

【００１６】

いくつかの態様において、R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル(C8-C24)、アルケニル(C8-C24)、またはいずれかの基の置換バージョンである。いくつかの態様において、R_3、R_3'、およびR_3''は、各々独立して、アルキル(C≦6)または置換アルキル(C≦6)である。いくつかの態様において、R_4は、アルキル(C≦6)または置換アルキル(C≦6)である。いくつかの態様において、X^-は、一価アニオンである。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、構造式：

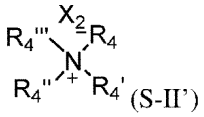


(S-I')

を有する。

【００１７】

いくつかの態様において、R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル(C8-C24)、アルケニル(C8-C24)、またはいずれかの基の置換バージョンである。いくつかの態様において、R_3、R_3'、およびR_3''は、各々独立して、アルキル(C≦6)または置換アルキル(C≦6)である。いくつかの態様において、X^-は、一価アニオンである。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、構造式：

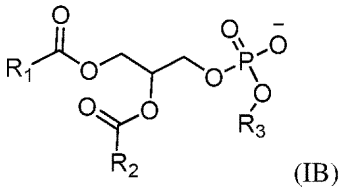


(S-II')

を有する。

【００１８】

いくつかの態様において、R_4およびR_4'は、各々独立して、アルキル(C6-C24)、アルケニル(C6-C24)、またはいずれかの基の置換バージョンである。いくつかの態様において、R_4''は、アルキル(C≦24)、アルケニル(C≦24)、またはいずれかの基の置換バージョンである。いくつかの態様において、R_4'''は、アルキル(C1-C8)、アルケニル(C2-C8)、またはいずれかの基の置換バージョンである。いくつかの態様において、X_2は、一価アニオンである。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、約２０％～約６５％のモルパーセンテージの前記SORT脂質を含む。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、両性イオン性である。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、疎水的に修飾されたリン酸アニオン、スルホン酸アニオン、またはカルボン酸アニオンを含む。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、アニオン性である。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、構造式：



(IB)

を有する。

【００１９】

いくつかの態様において、R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル(C8-C24)、アルケニル(C8-C24)、またはいずれかの基の置換バージョンである。いくつかの態様において、R_3は、水素、アルキル(C≦6)、または置換アルキル(C≦6)、または-Y_1-R_4である。いくつかの態様において、Y_1は、アルカンジイル(C≦6)または置換アルカンジイル(C≦6)である。いくつかの態様において、R_4は、アシルオキシ(C≦8-24)または置換アシルオキシ(C≦8-24)である。

【００２０】

いくつかの態様において、前記脂質組成物は、動的光散乱（ＤＬＳ）によって決定される場合、約２００ナノメートル（ｎｍ）以下の平均直径を特徴とする。他の態様において、前記脂質組成物は、動的光散乱（ＤＬＳ）によって決定される場合、約１５０ナノメートル（ｎｍ）以下の平均直径を特徴とする。さらに他の態様において、前記脂質組成物は、動的光散乱（ＤＬＳ）によって決定される場合、約１００ナノメートル（ｎｍ）以下の平均直径を特徴とする。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、動的光散乱（ＤＬＳ）によって決定される場合、約0.2以下の多分散指数（ＰＤＩ）を特徴とする。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、蛍光共鳴エネルギー移動（ＦＲＥＴ）ベースのアッセイによって決定される場合、少なくとも約５％、６％、７％、８％、９％、または１０％の脂質融合パーセンテージを特徴とする。

【００２１】

いくつかの態様において、前記治療剤は、化合物、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、タンパク質、またはそれらの組み合わせを含む。いくつかの態様において、前記治療剤は、ポリペプチドまたはタンパク質を含む。いくつかの態様において、前記治療剤は、低分子干渉リボ核酸（siRNA）、短鎖ヘアピンRNA（shRNA）、マイクロリボ核酸（miRNA）、一次マイクロリボ核酸（pri-miRNA）、長鎖非コーディングRNA（lncRNA）、メッセンジャーリボ核酸（mRNA）、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（clustered regularly interspaced short palindromic repeats）（CRISPR）関連核酸、CRISPR-RNA（crRNA）、単一ガイドリボ核酸（sgRNA）、トランス活性化CRISPRリボ核酸（tracrRNA）、プラスミドデオキシリボ核酸（pDNA）、転移リボ核酸（tRNA）、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）、アンチセンスリボ核酸（RNA）、ガイドリボ核酸、デオキシリボ核酸（DNA）、二本鎖デオキシリボ核酸（dsDNA）、一本鎖デオキシリボ核酸（ssDNA）、一本鎖リボ核酸（ssRNA）、二本鎖リボ核酸（dsRNA）、CRISPR関連（Cas）タンパク質、またはそれらの組み合わせを含む。いくつかの態様において、前記治療剤は、ポリヌクレオチドを含み；かつ前記脂質組成物中の窒素対前記ポリヌクレオチド中のリン酸のモル比（N/P比）は、約20:1以下である。いくつかの態様において、前記N/P比は、約5:1～約20:1である。いくつかの態様において、前記治療剤は、前記ポリヌクレオチドを含む2つ以上のポリヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、前記治療剤対前記脂質組成物の全脂質のモル比は、約1:1、1:10、1:50、または1:100以下である。いくつかの態様において、前記治療剤の少なくとも約85％は、前記脂質組成物の粒子にカプセル化される。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、前記組成物中に、参照脂質組成物で必要とされるものよりも（例えば、少なくとも約1.1倍または10倍）低い前記治療剤の用量で治療効果を達成するのに十分な量で存在する。いくつかの態様において、前記治療剤（例えば、異種ポリヌクレオチド）は、前記組成物中に、1キログラムの体重あたり約2ミリグラム（mg/kg、またはmpk）以下の用量で存在する。前記治療剤（例えば、異種ポリヌクレオチド）は、前記静脈内組成物中に、約1.0、0.5、0.1、0.05、または0.01 mg/kg体重以下の用量で存在する。いくつかの態様において、治療剤は、エアロゾル組成物中に、1.0、0.5、0.1、0.05、または0.01 mg/kg体重以下の用量で存在する。いくつかの態様において、前記治療剤（例えば、異種ポリヌクレオチド）は、前記静脈内剤形中に、1ミリリットルあたり約5または2ミリグラム（mg/mL）以下の濃度で存在する。

【００２２】

本開示はまた、いくつかの態様において、その必要がある対象における、臓器またはその中の細胞に対する治療剤の標的指向送達のための方法を提供する。方法は、イオン化可能カチオン性脂質；ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに、例えば、該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の、選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質を含む脂質組成物とアセンブルした治療剤を、対象に投与する工程を含み得、投与時に、脂質組成物の表面は、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質に結合し、該複数の標的タンパク質は、第1の標的タンパク質を、該第1の標的タンパク質とは異なる第2の標的タンパク質に対して約20:1、15:1、または10:1以下の重量比または質量比で含み、それによって、治療剤を、対象における標的臓器または標的細胞に送達する。いくつかの態様において、組成物は、本明細書に記載される組成物のいずれかに従う。いくつかの態様において、方法は、前記対象における前記臓器またはその中の前記細胞において、対応する参照脂質組成物（例えば、前記複数の標的タンパク質に対する結合なし）で達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍）多い、前記治療剤の量、発現、または活性を提供する。いくつかの態様において、方法は、前記対象における前記臓器またはその中の前記細胞において、前記ポリマーコンジュゲート脂質なしで達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍）多い、前記治療剤の量、発現、または活性を提供する。いくつかの態様において、方法は、前記対象における前記臓器またはその中の前記細胞において、参照臓器または参照細胞において達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍）多い、前記治療剤の量、発現

、または活性を提供する。いくつかの態様において、前記治療剤は、低分子干渉リボ核酸（siRNA）、短鎖ヘアピンRNA（shRNA）、マイクロリボ核酸（miRNA）、一次マイクロリボ核酸（pri-miRNA）、長鎖非コーディングRNA（lncRNA）、メッセンジャーリボ核酸（mRNA）、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（CRISPR）関連核酸、CRISPR-RNA（crRNA）、単一ガイドリボ核酸（sgRNA）、トランス活性化CRISPRリボ核酸（tracrRNA）、プラスミドデオキシリボ核酸（pDNA）、転移リボ核酸（tRNA）、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）、アンチセンスリボ核酸（RNA）、ガイドリボ核酸、デオキシリボ核酸（DNA）、二本鎖デオキシリボ核酸（dsDNA）、一本鎖デオキシリボ核酸（ssDNA）、一本鎖リボ核酸（ssRNA）、二本鎖リボ核酸（dsRNA）、CRISPR関連（Cas）タンパク質、またはそれらの組み合わせを含む。

【００２３】

いくつかの態様において、本開示は、その必要がある対象における、臓器（例えば、肝臓）またはその中の（例えば、肝臓）細胞に対する治療剤の標的指向送達のための方法であって、イオン化可能カチオン性脂質；ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに、例えば、該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の、選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質を含む脂質組成物とアセンブルした治療剤を、対象に投与する工程を含み、投与時に、脂質組成物の表面が、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質に結合し、該複数の標的タンパク質が、アポリポタンパク質E（Apo E）および血清アルブミンを含み、それによって、治療剤を、対象における標的臓器または標的細胞に送達する、方法を提供する。いくつかの態様において、Apo Eは、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質中に、血清アルブミンに対して約6:1、5:1、4:1、または3:1以下の重量比または質量比で存在する。いくつかの態様において、前記複数の標的タンパク質は、インキュベーションアッセイによって決定される場合、補体C1qサブコンポーネントサブユニットA、免疫グロブリン重定常μ、補体C1qサブコンポーネントサブユニットB、免疫グロブリンκ定常、免疫グロブリン重定常γ2B、β-グロビン、免疫グロブリン（Ig）γ-2A鎖C領域、補体C1qサブコンポーネントサブユニットC、免疫グロブリン重定常α、フィブリノゲンβ鎖、フィブリノゲンγ鎖、免疫グロブリンκ可変17-127、αグロビン1、フィブリノゲンα鎖、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、イオン化可能カチオン性部分（例えば、第三級アミン部分）を含む。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、イオン化可能カチオン性脂質である。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、約5％～約65％のモルパーセンテージの前記SORT脂質を含む。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、本明細書で提供される任意の脂質組成物に従う。いくつかの態様において、方法は、前記対象における前記肝臓または前記肝臓細胞において、対応する参照脂質組成物（例えば、前記複数の標的タンパク質に対する前記結合なし）で達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍、3倍、4倍、5倍、または6倍）多い、前記治療剤の量、発現、または活性を提供する。

【００２４】

いくつかの態様において、本開示は、その必要がある対象における、非肝臓臓器またはその中の非肝臓細胞に対する治療剤の標的指向送達のための方法であって、イオン化可能カチオン性脂質；ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに、例えば、該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の、選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質を含む脂質組成物とアセンブルした治療剤を、対象に投与する工程を含み、投与時に、脂質組成物の表面が、インキュベーションアッセイによって決定される場合、対象におけるアポリポタンパク質E（Apo E）ではない外因性タンパク質とよりも低い程度でApo Eと相互作用し、該Apo Eではない内因性タンパク質が、ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）またはアポリポタンパク質H（Apo H）、免疫グロブリンκ定常、補体C1qサブコンポーネントサブユニットA、ビトロネクチン、および血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ1から選択され、それによって、治療剤を、対象における非肝臓

臓器または非肝臓細胞に送達する、方法を提供する。いくつかの態様において、前記非肝臓臓器は、肺、脾臓、骨髄、またはリンパ節を含む。いくつかの態様において、前記非肝臓細胞は、肺細胞、脾臓細胞、またはマクロファージを含む。いくつかの態様において、アポリポタンパク質E（Apo E）は、前記複数の標的タンパク質において最も豊富なタンパク質ではない。いくつかの態様において、前記投与時に、前記脂質組成物の表面は、インキュベーションアッセイによって決定される場合、前記対象におけるアポリポタンパク質E（Apo E）とよりも低い程度でアポリポタンパク質C（Apo C）と相互作用する。いくつかの態様において、方法は、前記対象における肝臓またはその中の細胞において、前記ポリマーコンジュゲート脂質なしで達成されるものと比較して少ない、前記治療剤の量または活性を提供する。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、永久カチオン性脂質、イオン化可能カチオン性脂質、両性イオン性脂質、またはアニオン性脂質である。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、約5％～約65％のモルパーセンテージの前記SORT脂質を含む。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、本明細書に記載される脂質組成物のいずれかに従う。

【００２５】

いくつかの態様において、本開示は、その必要がある対象における、肺またはその中の肺細胞に対する治療剤の標的指向送達のための方法であって、脂質組成物とアセンブルした治療剤を対象に投与する工程を含み、該脂質組成物が、イオン化可能カチオン性脂質；ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに、例えば、該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の、選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質を含み、投与時に、脂質組成物の表面が、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質に結合し、該複数の標的タンパク質が、ビトロネクチン（Vtn）およびクラステリンを含み、それによって、治療剤を、対象における肺または肺細胞に送達する、方法を提供する。場合によっては、ビトロネクチンは、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質中に、クラステリンに対して約6:1または5:1以下の重量比または質量比で存在する。いくつかの態様において、前記複数の標的タンパク質は、インキュベーションアッセイによって決定される場合、血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ1、アポリポタンパク質E（Apo E）、血清アルブミン、免疫グロブリンκ定常、プロトロンビン、補体C1qサブコンポーネントサブユニットA、フィブリノゲンβ鎖、ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）もしくはアポリポタンパク質H（Apo H）、免疫グロブリン（Ig）μ鎖C領域、α-S1-カゼイン、免疫グロブリン重定常γ2B、フィブリノゲンγ鎖、フィブリノゲンα鎖、ビタミンK依存性プロテインZ、α-1-アンチトリプシン1-3、プラスミノーゲン、アポリポタンパク質C-III、補体C1qサブコンポーネントサブユニットB、トロンボスポンジン-1、凝固第X因子、アポリポタンパク質A-I、免疫グロブリン重定常α、免疫グロブリン（Ig）γ-2A鎖C領域、β-グロビン、補体C1qサブコンポーネントサブユニットC、プロテインZ依存性プロテアーゼインヒビター、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、カチオン性脂質である。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、永久カチオン性脂質である。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、イオン化可能カチオン性脂質である。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、約5％～約65％のモルパーセンテージの前記SORT脂質を含む。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、本明細書で提供される任意の脂質組成物に従う。いくつかの態様において、方法は、前記対象における前記肺または前記肺細胞において、対応する参照脂質組成物（例えば、前記複数の標的タンパク質に対する結合なし）で達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍、5倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、または20倍）多い、前記治療剤の量、発現、または活性を提供する。いくつかの態様において、前記治療剤は、低分子干渉リボ核酸（siRNA）、短鎖ヘアピンRNA（shRNA）、マイクロリボ核酸（miRNA）、一次マイクロリボ核酸（pri-miRNA）、長鎖非コーディングRNA（lncRNA）、メッセンジャーリボ核酸（mRNA）、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（CRISPR）関連核酸、CRISPR

-RNA（crRNA）、単一ガイドリボ核酸（sgRNA）、トランス活性化CRISPRリボ核酸（tracrRNA）、プラスミドデオキシリボ核酸（pDNA）、転移リボ核酸（tRNA）、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）、アンチセンスリボ核酸（RNA）、ガイドリボ核酸、デオキシリボ核酸（DNA）、二本鎖デオキシリボ核酸（dsDNA）、一本鎖デオキシリボ核酸（ssDNA）、一本鎖リボ核酸（ssRNA）、二本鎖リボ核酸（dsRNA）、CRISPR関連（Cas）タンパク質、またはそれらの組み合わせを含む。

【００２６】

いくつかの態様において、本出願は、その必要がある対象における、脾臓、骨髄、もしくはリンパ節、またはその中の細胞に対する治療剤の標的指向送達のための方法であって、脂質組成物とアセンブルした治療剤を対象に投与する工程を含み、該脂質組成物が、イオン化可能カチオン性脂質；ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに、例えば、該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の、選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質を含み、投与時に、脂質組成物の表面が、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質に結合し、該複数の標的タンパク質が、ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）またはアポリポタンパク質H（Apo H）を、ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）またはアポリポタンパク質H（Apo H）とは異なる第2の標的タンパク質に対して約20:1、15:1、または10:1以下の重量比または質量比で含み、それによって、治療剤を、対象における脾臓、骨髄、もしくはリンパ節、または細胞に送達する、方法を提供する。いくつかの態様において、いくつかの態様において、前記細胞は、脾臓細胞またはマクロファージを含む。いくつかの態様において、前記第2の標的タンパク質は、免疫グロブリンκ定常、補体C1qサブコンポーネントサブユニットA、アポリポタンパク質E（Apo E）、免疫グロブリン重定常γ2B、補体C1qサブコンポーネントサブユニットB、ビトロネクチン、補体C1qサブコンポーネントサブユニットC、アポリポタンパク質C-I、免疫グロブリン（Ig）γ-2A鎖C領域、免疫グロブリン（Ig）μ鎖C領域、血清アルブミン、血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ1、免疫グロブリン重定常α、および免疫グロブリンκ可変6-13から選択される。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、永久カチオン性脂質またはアニオン性脂質である。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、永久カチオン性脂質である。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、アニオン性脂質である。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、約5％～約65％のモルパーセンテージの前記SORT脂質を含む。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、本明細書で提供される任意の脂質組成物に従う。いくつかの態様において、方法は、前記対象における前記肺または前記肺細胞において、対応する参照脂質組成物（例えば、前記複数の標的タンパク質に対する結合なし）で達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍）多い、前記治療剤の量、発現、または活性を提供する。

【００２７】

いくつかの態様において、本開示は、その必要がある対象における、非脾臓臓器またはその中の非脾臓細胞に対する治療剤の標的指向送達のための方法であって、脂質組成物とアセンブルした治療剤を対象に投与する工程を含み、該脂質組成物が、イオン化可能カチオン性脂質；ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに、例えば、該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の、選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質を含み、投与時に、脂質組成物の表面が、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質に結合し、該複数の標的タンパク質が、第1の標的タンパク質を、該第1の標的タンパク質とは異なる第2の標的タンパク質に対して約20:1、15:1、または10:1以下の重量比または質量比で含み、それによって、治療剤を、対象における非脾臓臓器または非脾臓細胞に送達する、方法を提供する。いくつかの態様において、前記非脾臓臓器は、脾臓、骨髄、またはリンパ節ではない。いくつかの態様において、前記非脾臓細胞は、脾臓細胞またはマクロファージではない。いくつかの態様において、ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）またはアポリポタンパク質H（Apo H）は、前記複数の標的タンパク質において最も豊富なタンパク質ではない。いくつかの態

様において、前記複数の標的タンパク質は、クラステリンを含む。いくつかの態様において、前記SORT脂質は、永久カチオン性脂質、イオン化可能カチオン性脂質、両性イオン性脂質、またはアニオン性脂質である。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、約5％～約65％のモルパーセンテージの前記SORT脂質を含む。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、本明細書で提供される任意の脂質組成物に従う。いくつかの態様において、前記治療剤は、低分子干渉リボ核酸（siRNA）、短鎖ヘアピンRNA（shRNA）、マイクロリボ核酸（miRNA）、一次マイクロリボ核酸（pri-miRNA）、長鎖非コーディングRNA（lncRNA）、メッセンジャーリボ核酸（mRNA）、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（CRISPR）関連核酸、CRISPR-RNA（crRNA）、単一ガイドリボ核酸（sgRNA）、トランス活性化CRISPRリボ核酸（tracrRNA）、プラスミドデオキシリボ核酸（pDNA）、転移リボ核酸（tRNA）、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）、アンチセンスリボ核酸（RNA）、ガイドリボ核酸、デオキシリボ核酸（DNA）、二本鎖デオキシリボ核酸（dsDNA）、一本鎖デオキシリボ核酸（ssDNA）、一本鎖リボ核酸（ssRNA）、二本鎖リボ核酸（dsRNA）、CRISPR関連（Cas）タンパク質、またはそれらの組み合わせを含む。

【００２８】

いくつかの態様において、前記ポリマーコンジュゲート脂質は、ポリエチレングリコール（PEG）コンジュゲート脂質である。いくつかの態様において、前記1つまたは複数の炭化水素鎖は、約8～約20個の炭素原子を各々含む。いくつかの態様において、前記1つまたは複数の炭化水素鎖は、約8～約18個の炭素原子を各々含む。いくつかの態様において、前記1つまたは複数の炭化水素鎖は、約8～約16個の炭素原子を各々含む。いくつかの態様において、前記1つまたは複数の炭化水素鎖は、約8～約14個の炭素原子を各々含む。いくつかの態様において、前記ポリマーコンジュゲート脂質の前記1つまたは複数の炭化水素鎖のうちの1つの炭化水素鎖は、3個以下の不飽和炭素-炭素結合を含む。いくつかの態様において、前記ポリマーコンジュゲート脂質の前記1つまたは複数の炭化水素鎖のうちの1つの炭化水素鎖は、2個以下の不飽和炭素-炭素結合を含む。いくつかの態様において、前記ポリマーコンジュゲート脂質は、約100ダルトン（Da）～約100,000 Daの分子量を有するポリマーを含む。いくつかの態様において、前記ポリマーコンジュゲート脂質は、約500 Da～約100,000 Daの分子量を有するポリマーを含む。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、約0.5％～約20％のモルパーセンテージの前記ポリマーコンジュゲート脂質を含む。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、約0.5％～約15％のモルパーセンテージの前記ポリマーコンジュゲート脂質を含む。いくつかの態様において、前記脂質組成物は、約0.5％～約10％のモルパーセンテージの前記ポリマーコンジュゲート脂質を含む。いくつかの態様において、前記投与する工程は、静脈内投与を含む。いくつかの態様において、前記対象の体液（例えば、血漿または血清）は、前記複数の標的タンパク質を含む。いくつかの態様において、前記複数の標的タンパク質は、前記対象の複数の内因性タンパク質である。

【００２９】

本出願の追加の局面および利点は、本出願の例証となる態様のみが示され、説明される以下の詳細な説明から、当業者に容易に明らかになるであろう。理解されるように、本出願は、他のおよび異なる態様が可能であり、そのいくつかの詳細は、すべて本開示から逸脱することなく、様々な明白な点で改変が可能である。したがって、図面および説明は、本質的に例証となるとみなされ、制限的ではないとみなされるべきである。

【００３０】

参照による組み入れ

本明細書において言及されるすべての刊行物、特許、および特許出願は、各個々の刊行物、特許、または特許出願が、参照により組み入れられるように具体的におよび個々に示される場合と同じ程度まで、参照により本明細書に組み入れられる。参照により組み入れられる刊行物および特許または特許出願が、本明細書に含有される本開示と矛盾する程度まで、本明細書は、任意のそのような矛盾する材料に取って代わり、かつ/またはそれよ

りも優位であるように意図される。

【図面の簡単な説明】

【００３１】

本開示の特徴は、添付の特許請求の範囲に詳細に示される。本発明の特徴および利点のより良好な理解は、本開示の原理が利用されている、例証となる態様を示す以下の詳細な説明、および添付の図面（本明細書において「図（Figure）」および「図（FIG.）」でもある）を参照することによって得られるであろう。

【００３２】

【図１Ａ】図1A～1Eは、組織特異的mRNA送達のための選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質組成物（例えば、ナノ粒子）を、その特有の生体内分布およびイオン化挙動を含めて示す。図1Aに示すように、参照である、例えば、4成分脂質組成物（15:15:30:3の5A2-SC8：DOPE：コレステロール：C14-PEG2K モル：モル）に補足的な（例えば、5番目の）SORT分子を添加することによって、送達されるmRNAの組織特異的活性は、含まれるSORT分子の化学構造に基づいて変化する。例えば、イオン化可能カチオン性脂質（DODAP）は、肝臓特異的mRNA翻訳を増強し（肝臓SORT- 15:15:30:3:15.75の5A2-SC8：DOPE：コレステロール：C14-PEG2K：DODAP）、アニオン性脂質（18PA）は、脾臓特異的mRNA翻訳を結果としてもたらし（脾臓SORT- 15:15:30:3:27の5A2-SC8：DOPE：コレステロール：C14-PEG2K：18PA）、およびカチオン性第四級アンモニウム脂質（DOTAP）は、肺特異的mRNA翻訳を結果としてもたらす（肺SORT- 15:15:30:3:63の5A2-SC8：DOPE：コレステロール：C14-PEG2K：DOTAP）。

【図１Ｂ】図1A～1Eは、組織特異的mRNA送達のための選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質組成物（例えば、ナノ粒子）を、その特有の生体内分布およびイオン化挙動を含めて示す。図1Bは、増大するパーセンテージの様々なSORT分子を組み込んだ（本明細書に記載されるような）例示的なSORT LNPを静脈内注射したC57BL/6マウスから抽出した主要臓器における、Cy5標識mRNAのエクスビボ蛍光を示す（0.5 mg/kg mRNA/体重、6時間）。

【図１Ｃ】図1A～1Eは、組織特異的mRNA送達のための選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質組成物（例えば、ナノ粒子）を、その特有の生体内分布およびイオン化挙動を含めて示す。図1Cは、肝臓、肺、および脾臓において測定された相対平均Cy5蛍光を、SORT分子の包含パーセントの関数として示す（0.5 mg/kg mRNA/体重、n＝2）。SORT分子は、標的臓器へのmRNAの生体内分布を促進する。データは、平均値±s.e.m.として示す。

【図１Ｄ】図1A～1Eは、組織特異的mRNA送達のための選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質組成物（例えば、ナノ粒子）を、その特有の生体内分布およびイオン化挙動を含めて示す。図1Dは、増大するパーセンテージのイオン化可能カチオン性脂質、アニオン性脂質、またはカチオン性脂質のSORT分子を組み込んだ（本明細書に記載されるような）例示的なSORT LNPの見かけのpKaを決定するための、代表的なTNSアッセイ曲線を示す。見かけのpKaは、TNS蛍光の50％が達成された点として定義した。

【図１Ｅ】図1A～1Eは、組織特異的mRNA送達のための選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質組成物（例えば、ナノ粒子）を、その特有の生体内分布およびイオン化挙動を含めて示す。図1Eに示すように、LNPに、機能的ルシフェラーゼmRNAが検出された組織に基づいて、組織特異性スコアを割り当てた（肝臓発現＝1.0、脾臓発現＝2.0、肺発現＝3.0）。TNSアッセイで試験した67個のLNPについて、LNPの見かけのpKaは、ルシフェラーゼmRNAの組織送達の特異性と相関していた。

【図２】図2A～2Hは、例として、特有のタンパク質コロナの形成を含む、複数の段階が、SORT LNP組織ターゲティングの機構に関与していることを示す。図2Aは、例としてのみ、SORT LNPによる組織特異的mRNA送達のための提案される3段階の内因性ターゲティング機構を示し、（1）PEG-脂質の脱着が、（2）別個の血清タンパク質がSORT LNPに結合することを可能にし、（3）受容体媒介性取り込みによる標的組織における細

胞内部移行を結果としてもたらす。図2Bは、脱離できる（sheddable）PEG-脂質（C14-PEG2K）または脱離しにくい（less-sheddable）PEG-脂質（C18-PEG2K）のいずれかを組み込んだ例示的な肝臓SORT LNP、脾臓SORT LNP、および肺SORT LNPをIV注射したC57BL/6マウスから摘出した主要臓器の、エクスビボ生物発光を示す（0.1 mg FLuc mRNA/kg体重、6時間）。各臓器によって生じた総発光は、脱離しにくいPEG-脂質を用いた場合に低減し、これは、PEG-脂質の脱着が、試験したSORT LNPによる効果的なmRNA送達のための鍵となるプロセスであることを示唆する。図2Cは、C14-PEG2KまたはC18-PEG2Kのいずれかを組み込んだ例示的な肝臓SORT LNP、脾臓SORT LNP、および肺SORT LNPをIV注射したC57BL/6マウスの標的臓器における、FLuc mRNAから翻訳された機能的タンパク質によって生じた総発光の定量を示す（0.1 mg FLuc mRNA/kg体重、6時間）。図2Dは、hEPO mRNAをカプセル化した例示的な肝臓SORT LNP、脾臓SORT LNP、または肺SORT LNPで処置したC57BL/6マウスにおける、血清hEPOのELISA定量を示す（0.1 mg hEPO mRNA/kg体重、6時間）。脱離しにくいPEGの使用は、SORT LNPの効力を低減させる。図2Eは、参照mDLNP、例示的な肝臓SORT LNP、例示的な脾臓SORT LNP、および例示的な肺SORT LNPの表面に吸着された血清タンパク質のSDS-PAGEを示す。異なる臓器ターゲティング特性を有するLNPは、別個の血清タンパク質に結合する。図2Fは、参照mDLNP、ならびに例示的な肝臓SORT LNP、脾臓SORT LNP、および肺SORT LNPのタンパク質コロナにおける、別個の生物学的機能を有するタンパク質の平均存在量を示す。SORT分子の選択は、LNPに結合する血清タンパク質の機能的集合に大規模な相違をもたらす。図2Gは、LNPのタンパク質コロナの80％を構成する、最も濃縮されたタンパク質の等電点分布を示す。SORT分子の頭部基構造は、タンパク質コロナの等電点分布に影響する。図2Hは、異なる例示的なSORT LNPに結合する、上位5つの最も豊富な血清タンパク質を示す（n＝3）。SORT分子の化学構造は、例示的なSORT LNPの表面で最も高度に濃縮される第一位の血清タンパク質に影響を及ぼす。データは、平均値±s.e.m.として示す。統計的有意性は、対応のない両側スチューデントのt検定を用いて決定した（*、p＜0.05）。

【図３】図3A～3Dは、別個の血清タンパク質が、インビトロで例示的なSORT LNPの取り込みおよび効力を制御することを示す。図3Aに示すように、例示的なSORT LNPを、関連する細胞株を処理する前に、ApoE、β2-GPI、またはVtnのいずれかとプレインキュベートして、細胞取り込み（Cy5-mRNA追跡）または機能的mRNA送達（生物発光）を測定した。図3Bは、関連する細胞型によって取り込まれた、非コーティングSORT LNPおよびコーティングSORT LNP（例として）の細胞取り込みの代表的な画像を示す。例示的なSORT LNPを、それが最も強く結合するタンパク質とインキュベートすると、同族受容体を発現する細胞株におけるmRNA取り込みが増大する（1ウェルあたり250 ng mRNA、1.5時間、スケールバー＝50μm）。図3Cは、例として非コーティングSORT LNPまたはコーティングSORT LNPで処理した細胞における、Cy5-mRNA蛍光の定量を示す（1ウェルあたり250 ng mRNA、1.5時間、n＝10）。統計的有意性は、対応のない両側スチューデントのt検定を用いて決定した（****、p＜0.0001、*、p＜0.05）。図3Dは、関連する細胞株における、それぞれのタンパク質とプレインキュベートされた例示的なSORT LNPによって送達されたmRNAから翻訳された、機能的ルシフェラーゼタンパク質の活性を示す。（25 ng mRNA、24時間、n＝4）。統計的有意性は、ブラウン・フォーサイス（Brown-Forsythe）検定での一元配置分散分析を用いて決定した（****、p＜0.0001、***、p＜0.001、*、p＜0.05）。個々のタンパク質は、特定のSORT LNPに排他的に結合し、同族受容体を発現する細胞株に対してのみmRNA送達を増強する。データは、平均値±s.e.m.として示す。

【図４】図4A～4Cは、肝外mRNA送達が、ApoE非依存性機構を介して起こることを示す。図4Aは、参照mDLNP、または例示的な肝臓SORT LNP、脾臓SORT LNP、もしくは肺SORT LNPをIV注射した野生型C57BL/6マウスから摘出した主要臓器における、FLuc mRNAから翻訳された機能的タンパク質によって生じたエクスビボ生物発光を示す（0.1 mg/kg FLuc mRNA、6時間）。SORT LNPの有効性に対するApoEの役割は、

含まれるSORT分子の化学構造に基づいて変動する。図4Bは、参照mDLNP、または例示的な肝臓SORT LNP、脾臓SORT LNP、もしくは肺SORT LNPをIV注射したApoE-/-マウスから摘出した主要臓器における、FLuc mRNAから翻訳された機能的タンパク質によって生じたエクスビボ生物発光を示す（0.1mg/kg FLuc mRNA、6時間）。図4Cは、参照mDLNP、または例示的な肝臓SORT LNP、脾臓SORT LNP、もしくは肺SORT LNPで処置した野生型マウスおよびApoE-/-マウスから摘出した標的臓器によって生じた、総生物発光の定量を示す。（0.1 mg/kg FLuc mRNA、6時間、n＝3）。データは、平均値±s.e.m.として示す。統計的有意性は、対応のない両側スチューデントのt検定を用いて決定した（**、p＜0.01、*、p＜0.05、ns、p＞0.05）。遺伝子ノックアウトを用いた血清からのApoEの除去は、参照mDLNPおよび例示的な肝臓SORT LNPによる肝mRNA送達の顕著な低減を結果としてもたらす。対照的に、例示的な脾臓SORT LNPは、ApoEが血清から枯渇した時に、脾臓ターゲティングを増強し、他方、例示的な肺SORT LNPの有効性は、ApoE除去によって影響を受けない。

【図５】図5は、様々な質量分率のカチオン性脂質、アニオン性脂質、イオン化可能脂質、および両性イオン性脂質で製剤化された例示的なSORT LNPの、TNS蛍光曲線を示す。LNPの見かけのpKaは、TNS蛍光の50％が測定されるpHとして計算される。

【図６】図6は、様々な質量分率でカチオン性脂質、アニオン性脂質、イオン化可能脂質、および両性イオン性脂質を組み込んだ例示的なSORT LNPから計算された、見かけのpKa値を示す。

【図７】図7A～7Bは、ApoEとプレインキュベートされた例示的なSORT LNPによる、低密度リポタンパク質受容体（LDL-R）発現Hep G2細胞への細胞取り込みおよび機能的mRNA送達を示す。図7Aは、例として、非コーティング肝臓SORT LNPまたはApoEコーティング肝臓SORT LNPのいずれかで処理したHep G2細胞における、Cy5-mRNA蛍光の定量を示す（1ウェルあたり250 ng mRNA、1.5時間、n＝10）。統計的有意性は、対応のない両側スチューデントのt検定を用いて決定した（****、p＜0.0001）。図7Bは、増大する量のApoEとプレインキュベートされた例示的なSORT LNPによって送達されたmRNAから翻訳された、機能的ルシフェラーゼタンパク質の活性を示す。（25 ng mRNA、24時間、n＝4）。統計的有意性は、ブラウン・フォーサイス検定での一元配置分散分析を用いて決定した（ns、p＞0.05）。

【図８】図8A～8Bは、Vtnとプレインキュベートされた例示的なSORT LNPによる、αvβ3発現U87-MG細胞への細胞取り込みおよび機能的mRNA送達を示す。図8Aは、例として、非コーティング肺SORT LNPまたはVtnコーティング肺SORT LNPのいずれかで処理したU87-MG細胞における、Cy5-mRNA蛍光の定量を示す（1ウェルあたり250 ng mRNA、1.5時間、n＝10）。統計的有意性は、対応のない両側スチューデントのt検定を用いて決定した（****、p＜0.0001）。図8Bは、増大する量のVtnとプレインキュベートされた例示的なSORT LNPによって送達されたmRNAから翻訳された、機能的ルシフェラーゼタンパク質の活性を示す。（25 ng mRNA、24時間、n＝4）。統計的有意性は、ブラウン・フォーサイス検定での一元配置分散分析を用いて決定した（****、p＜0.0001）。

【発明を実施するための形態】

【００３３】

詳細な説明

本開示の態様を説明する前に、そのような態様は、例としてのみ提供されること、および、本明細書に記載される本開示の態様に対する様々な代替が、本発明を実施する際に使用され得ることが、理解されるべきである。多数の変形、変化、および置換が、本発明から逸脱することなく、当業者にすぐに生じるであろう。

【００３４】

別段定義されない限り、本明細書で用いられるすべての技術用語および科学用語は、本発明が属する技術分野における当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと類似または等価の方法および材料を、本発明の実施または

試験において用いることができるが、適している方法および材料を、以下に記載する。矛盾がある場合は、本特許明細書が、定義を含めて、支配することになる。加えて、材料、方法、および実施例は、例証となるだけであり、限定するようには意図されない。多数の変形、変化、および置換が、本発明から逸脱することなく、当業者にすぐに生じるであろう。

【００３５】

本出願の文脈において、以下の用語は、別段指定されない限り、それらに付与された意味を有する。

【００３６】

本明細書および特許請求の範囲の全体を通して用いられる場合、「1つの（a）」、「1つの（an）」、および「その（the）」という用語は、その後に上限が具体的に述べられる場合を除いて、一般に、参照される構成要素または工程の「少なくとも1つ」、「少なくとも第1」、「1つまたは複数」、または「複数」を意味する意味で用いられる。例えば、本明細書で用いられる「切断配列」は、「少なくとも第1の切断配列」を意味するが、複数の切断配列を含む。組み合わせの操作可能な限界およびパラメータは、任意の単一の剤の量と同様に、本出願に照らして当業者に公知であろう。

【００３７】

「ポリペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」という用語は、一般に任意の長さのアミノ酸のポリマーを指すように、本明細書において互換的に用いられる。ポリマーは、直線状または分枝状であってもよく、修飾アミノ酸を含んでもよく、非アミノ酸によって中断されていてもよい。この用語はまた、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または任意の他の操作、例えば標識成分とのコンジュゲーションによって修飾されている、アミノ酸ポリマーも包含する。

【００３８】

ポリペプチドの構造の文脈において本明細書で用いられる場合、「N末端」（または「アミノ末端」）および「C末端」（または「カルボキシル末端」）は、一般に、それぞれ、ポリペプチドの先端のアミノ末端およびカルボキシル末端を指す。

【００３９】

「N末端配列」という用語は、関心対象のポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列に関して本明細書で用いられる場合、一般に、N末端で、関心対象のポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列におけるN末端配列の前に、いかなる他のアミノ酸またはヌクレオチド残基もないことを意味する。「C末端配列」という用語は、関心対象のポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列に関して本明細書で用いられる場合、一般に、C末端で、関心対象のポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列におけるC末端配列の後に、いかなる他のアミノ酸またはヌクレオチド残基も続かないことを意味する。

【００４０】

「天然に存在しない」および「非天然の」という用語は、本明細書において互換的に用いられる。「天然に存在しない」または「非天然の」という用語は、治療剤または予防剤に関して本明細書で用いられる場合、一般に、その剤が哺乳動物（ヒトを含むが、それに限定されない）において生物学的に由来しないことを意味する。「天然に存在しない」または「非天然の」という用語は、配列に適用される場合、および本明細書で用いられる場合、哺乳動物において見出される野生型のまたは天然に存在する配列に対して対応物を有しない、それに対して相補的でない、またはそれと高度の相同性を有しない、ポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列を意味する。例えば、天然に存在しないポリペプチドまたは断片は、適しているように整列させた場合、天然の配列と比較して、９９％、９８％、９５％、９０％、８０％、７０％、６０％、５０％以下の、またはさらにより低いアミノ酸配列同一性を共有し得る。

【００４１】

「生理的条件」とは、生きている宿主における一連の条件、および、生きている対象のそれらの条件を模倣する、温度、塩濃度、pHを含むインビトロの条件を指す。インビト

ロアッセイにおける使用のための生理的に関連する条件の多数が、確立されている。一般に、生理的緩衝液は、生理的濃度の塩を含有し、約6.5～約7.8、および好ましくは約7.0～約7.5の範囲の中性pHに調整される。様々な生理的緩衝液が、Sambrook et al. (2001)に列記されている。生理的に関連する温度は、約25℃～約38℃、および好ましくは約35℃～約37℃の範囲である。

【００４２】

本明細書で用いられる場合、「処置」もしくは「処置すること」、または「緩和すること」または「回復させること」という用語は、本明細書において互換的に用いられる。これらの用語は、一般に、治療的有益性および/または予防的有益性を含むがそれらに限定されない、有益なまたは所望の結果を得るためのアプローチを指す。治療的有益性とは、処置されている根底にある障害の根絶または回復を意味する。また、治療的有益性は、対象が依然として根底にある障害に罹患している可能性があるにもかかわらず、対象において改善が観察されるような、生理的症状の1つもしくは複数の根絶もしくは回復、または根底にある障害に関連する1つもしくは複数の臨床パラメータの改善で達成される。予防的有益性のために、組成物は、特定の疾患を発症するリスクがある対象に、または疾患の生理的症状の1つもしくは複数を報告する対象に、この疾患の疾患の診断がなされていない可能性があっても、投与され得る。

【００４３】

本明細書で用いられる「治療効果」または「治療的有益性」とは、一般に、生物学的に活性なタンパク質が有する抗原エピトープに対する抗体の産生を誘導する能力以外の、本開示のポリペプチドの投与に起因する、ヒトまたは他の動物における疾患の軽減、回復、もしくは防止、または根底にある障害に関連する1つもしくは複数の臨床パラメータの改善、または、ヒトまたは動物の身体的または精神的な健康を別の方法で増強することを含むが、それらに限定されない、生理的効果を指す。予防的有益性のために、組成物は、特定の疾患、以前の疾患の再発、疾患の状態もしくは症状を発症するリスクがある対象に、または疾患の生理的症状の1つもしくは複数を報告する対象に、この疾患の診断がなされていない可能性があっても、投与され得る。

【００４４】

本明細書で用いられる「治療的有効量」および「治療的有効用量」という用語は、一般に、対象に1つのまたは反復される用量で投与された場合に、疾患状態または病態の任意の症状、局面、測定されたパラメータ、または特徴に対して、任意の検出可能な有益な効果を有することができる、単独でのまたはポリペプチド組成物の一部としての、薬物または生物学的に活性なタンパク質の量を指す。そのような効果は、有益であることが絶対的である必要はない。治療的有効量の決定は、特に、本明細書で提供される詳細な開示に照らして、十分に当業者の能力の範囲内である。

【００４５】

「等価モル用量」という用語は、一般に、対象に投与される材料の量が、用量において用いられる材料の分子量に基づいて、等価のモル量を有することを意味する。

【００４６】

本明細書で用いられる「治療的に有効かつ非毒性の用量」という用語は、一般に、対象において大きな毒性効果を伴わないか、または本質的に伴わない、腫瘍もしくはがん細胞の枯渇、腫瘍除去、腫瘍縮小、または疾患の安定化を引き起こすのに十分多い、本明細書で定義されるような組成物の耐容用量を指す。そのような治療的に有効かつ非毒性の用量は、当技術分野において記載される用量漸増研究によって決定され得、重篤な有害副作用を誘導する用量よりも下であるべきである。

【００４７】

「がん」および「がん性」という用語は、制御されない細胞成長/増殖を典型的に特徴とする、哺乳動物における生理的状態を指すか、または説明する。

【００４８】

化学基の文脈で用いられる場合：「水素」は-Hを意味し；「ヒドロキシ」は-OHを意

味し；「オキソ」は＝Ｏを意味し；「カルボニル」は-Ｃ(=Ｏ)-を意味し；「カルボキシ」は-Ｃ(=Ｏ)ＯＨ（-ＣＯＯＨまたは-CO_2Hとも書く）を意味し；「ハロ」は独立して、-Ｆ、-Ｃｌ、-Ｂｒ、または-Ｉを意味し；「アミノ」は-NH_2を意味し；「ヒドロキシアミノ」は-ＮＨＯＨを意味し；「ニトロ」は-NO_2を意味し；イミノは=ＮＨを意味し；「シアノ」は-ＣＮを意味し；「イソシアナート」は-Ｎ=Ｃ=Ｏを意味し；「アジド」は-N_3を意味し；一価の文脈において、「ホスファート」は-$OP(O)(OH)_2$またはその脱プロトン化形態を意味し；二価の文脈において、「ホスファート」は-ＯＰ(Ｏ)(ＯＨ)Ｏ-またはその脱プロトン化形態を意味し；「メルカプト」は-ＳＨを意味し；および「チオ」は=Ｓを意味し；「スルホニル」は-$S(O)_2$-を意味し；「ヒドロキシスルホニル」は-$S(O)_2OH$を意味し；「スルホンアミド」は-$S(O)_2NH_2$を意味し；および「スルフィニル」は-Ｓ(Ｏ)-を意味する。

【００４９】

化学式の文脈において、記号「-」は単結合を意味し、「=」は二重結合を意味し、および「≡」は三重結合を意味する。記号

「----」

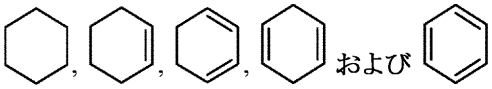
は任意の結合を表し、存在する場合は、単結合または二重結合のいずれかである。記号

「」

は、単結合または二重結合を表す。したがって、例えば、式



は、



を含む。そして、そのような環原子は1つも、1つよりも多い二重結合の一部を形成しないことが理解される。さらに、共有結合記号「-」は、1個または2個の立体原子（stereogenic atom）を接続する場合、いかなる好ましい立体化学も示さないことが注目される。その代わりに、それは、すべての立体異性体およびそれらの混合物を対象にする。記号

「」

は、結合を横切って垂直に描かれた場合（例えば、メチルについて



）、基の付着点を示す。付着点は、典型的には、読者が付着点を明白に特定することを援助するために、より大きい基に対してこの様式で特定されるだけであることが注目される。記号

「」

は、くさびの太い端に付着した基が「ページの外」にある単結合を意味する。記号

「」

は、くさびの太い端に付着した基が「ページの中」にある単結合を意味する。記号

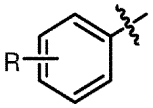
「」

は、二重結合の周囲のジオメトリ（例えば、EまたはZのいずれか）が定義されていない

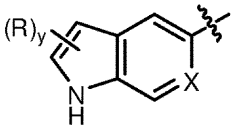
単結合を意味する。したがって、両方の選択肢およびそれらの組み合わせが意図される。本出願において示される構造の原子上の任意の定義されていない結合価は、暗黙的にその原子に結合した水素原子を表す。炭素原子上の太字の点は、その炭素に付着した水素が紙の平面の外に配向されていることを示す。

【００５０】

基「R」が、例えば、式：



において、環系上の「浮遊基（floating group）」として図示される場合、Rは、安定な構造が形成される限り、図示された、暗示された、または明示的に定義された水素を含む、環原子のいずれかに付着した任意の水素原子に取って代わり得る。基「R」が、例えば、式：



におけるように、縮合環系上の「浮遊基」として図示される場合、Rは、別段指定されない限り、縮合環のどちらかの環原子のいずれかに付着した任意の水素に取って代わり得る。置き換え可能な水素には、安定な構造が形成される限り、図示された水素（例えば、上記の式において窒素に付着した水素）、暗示された水素（例えば、示されていないが、存在すると理解される上記の式の水素）、明示的に定義された水素、およびその存在が環原子の同一性に依存する任意の水素（例えば、Xが-CH-に等しい場合、基Xに付着した水素）が含まれる。図示される例において、Rは、縮合環系の5員環または6員環のどちらかに存在し得る。上記の式において、括弧で囲まれた基「R」の直後の添え字「y」は、数値変数を表す。別段指定されない限り、この変数は、0、1、2、または、環もしくは環系の置き換え可能な水素原子の最大数によってのみ限定される、2よりも大きい任意の整数であることができる。

【００５１】

化学基および化合物クラスについて、基またはクラス中の炭素原子の数は、以下のように示される通りである：「Cn」は、基/クラス中の炭素原子の正確な数（n）を定義する。「C≦n」は、基/クラス中にあることができる炭素原子の最大数（n）を定義し、最小数は、問題となる基/クラスについて可能な限り小さく、例えば、基「アルケニル$_{(C\leqq 8)}$」またはクラス「アルケン$_{(C\leqq 8)}$」中の炭素原子の最小数は、2であると理解される。1～10個の炭素原子を有するアルコキシ基を指定する「アルコキシ$_{(C\leqq 10)}$」と比較されたい。「Cn-n'」は、基中の炭素原子の最小数（n）および最大数（n'）の両方を定義する。したがって、「アルキル$_{(C2-10)}$」は、2～10個の炭素原子を有するアルキル基を指定する。これらの炭素数指標は、意味におけるいずれかの変化を表すことなく、それが修飾する化学基またはクラスの前にあってもまたは後にあってもよく、括弧で囲まれていてもまたは囲まれていなくてもよい。したがって、「C5オレフィン」、「C5-オレフィン」、「オレフィン$_{(C5)}$」、および「オレフィン$_{C5}$」という用語はすべて、同義である。

【００５２】

化合物または化学基を修飾するために用いられる場合の「飽和」という用語は、以下に記述される場合を除いて、化合物または化学基が、炭素-炭素二重結合および炭素-炭素三重結合を有しないことを意味する。この用語が原子を修飾するために用いられる場合は、その原子が、いずれかの二重結合または三重結合の一部ではないことを意味する。飽和基の置換バージョンの場合、1つまたは複数の炭素酸素二重結合または炭素窒素二重結合が存在し得る。そして、そのような結合が存在する場合、ケト-エノール互変異性またはイ

ミン/エナミン互変異性の一部として起こり得る炭素-炭素二重結合は排除されない。「飽和」という用語が、物質の溶液を修飾するために用いられる場合は、その物質がそれ以上その溶液中に溶解できないことを意味する。

【００５３】

「脂肪族」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、そのように修飾された化合物または化学基が、非環式または環式であるが、非芳香族炭化水素化合物または基であることを表明する。脂肪族化合物/基において、炭素原子は、直鎖、分枝鎖、または非芳香族環（脂環式）で互いに連結されることができる。脂肪族化合物/基は、単一の炭素-炭素結合によって連結されている飽和（アルカン/アルキル）、または1つもしくは複数の炭素-炭素二重結合を有する不飽和（アルケン/アルケニル）、または1つもしくは複数の炭素-炭素三重結合を有する不飽和（アルキン/アルキニル）であることができる。

【００５４】

「芳香族」という用語は、化合物または化学基原子を修飾するために用いられる場合、化合物または化学基が、環を形成する結合の相互作用によって安定化される原子の平面不飽和環を含有することを意味する。

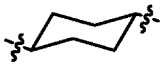
【００５５】

「アルキル」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、炭素原子を付着点として有し、直線状または分枝状の非環式構造を有し、かつ炭素および水素以外の原子を有しない、一価の飽和脂肪族基を指す。基-CH_3（Me）、-CH_2CH_3（Et）、-$CH_2CH_2CH_3$（n-Prまたはプロピル）、-$CH(CH_3)_2$（i-Pr、^{i}Pr、またはイソプロピル）、-$CH_2CH_2CH_2CH_3$（n-Bu）、-$CH(CH_3)CH_2CH_3$（sec-ブチル）、-$CH_2CH(CH_3)_2$（イソブチル）、-$C(CH_3)_3$（tert-ブチル、t-ブチル、t-Bu、または^{t}Bu）、および-$CH_2C(CH_3)_3$（neo-ペンチル）は、アルキル基の非限定的な例である。「アルカンジイル」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、1個または2個の飽和炭素原子を付着点として有し、直線状または分枝状の非環式構造を有し、炭素-炭素二重結合または三重結合を有さず、かつ炭素および水素以外の原子を有しない、二価の飽和脂肪族基を指す。基-CH_2-（メチレン）、-CH_2CH_2-、-$CH_2C(CH_3)_2CH_2$-、および-$CH_2CH_2CH_2$-は、アルカンジイル基の非限定的な例である。「アルカン」とは、式H-Rを有する化合物のクラスを指し、式中、Rは、この用語が上記で定義されるようなアルキルである。これらの用語のいずれかが、「置換」という修飾語と共に用いられる場合、1個または複数個の水素原子は、独立して、-OH、-F、-Cl、-Br、-I、-NH_2、-NO_2、-CO_2H、-CO_2CH_3、-CN、-SH、-OCH_3、-OCH_2CH_3、-$C(O)CH_3$、-$NHCH_3$、-$NHCH_2CH_3$、-$N(CH_3)_2$、-$C(O)NH_2$、-$C(O)NHCH_3$、-$C(O)N(CH_3)_2$、-$OC(O)CH_3$、-$NHC(O)CH_3$、-$S(O)_2OH$、または-$S(O)_2NH_2$によって置き換えられている。以下の基は、置換アルキル基の非限定的な例である：-CH_2OH、-CH_2Cl、-CF_3、-CH_2CN、-$CH_2C(O)OH$、-$CH_2C(O)OCH_3$、-$CH_2C(O)NH_2$、-$CH_2C(O)CH_3$、-CH_2OCH_3、-$CH_2OC(O)CH_3$、-CH_2NH_2、-$CH_2N(CH_3)_2$、および-CH_2CH_2Cl。「ハロアルキル」という用語は、炭素、水素、およびハロゲン以外の他の原子が存在しないように、水素原子の置き換えがハロ（すなわち、-F、-Cl、-Br、または-I）に限定されている、置換アルキルのサブセットである。基-CH_2Clは、ハロアルキルの非限定的な例である。「フルオロアルキル」という用語は、炭素、水素、およびフッ素以外の他の原子が存在しないように、水素原子の置き換えがフルオロに限定されている、置換アルキルのサブセットである。 基-CH_2F、-CF_3、および-CH_2CF_3は、フルオロアルキル基の非限定的な例である。

【００５６】

「シクロアルキル」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、炭素原子を付着点として有し、炭素原子が1つまたは複数の非芳香族環構造の一部を形成し、炭素-炭素二重結合または三重結合を有さず、かつ炭素および水素以外の原子を有しない、一価の飽和脂肪族基を指す。非限定的な例には、-$CH(CH_2)_2$（シクロプロピル）、シクロブチル、シクロペンチル、またはシクロヘキシル（Cy）が含まれる。「シクロアル

カンジイル」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、2個の炭素原子を付着点として有し、炭素-炭素二重結合または三重結合を有さず、かつ炭素および水素以外の原子を有しない、二価の飽和脂肪族基を指す。基



は、シクロアルカンジイル基の非限定的な例である。「シクロアルカン」は、式H-Rを有する化合物のクラスを指し、式中、Rは、この用語が上記で定義されるようなシクロアルキルである。これらの用語のいずれかが、「置換」という修飾語と共に用いられる場合、1個または複数個の水素原子は、独立して、-OH、-F、-Cl、-Br、-I、-NH_2、-NO_2、-CO_2H、-CO_2CH_3、-CN、-SH、-OCH_3、-OCH_2CH_3、-$C(O)CH_3$、-$NHCH_3$、-$NHCH_2CH_3$、-$N(CH_3)_2$、-$C(O)NH_2$、-$C(O)NHCH_3$、-$C(O)N(CH_3)_2$、-$OC(O)CH_3$、-$NHC(O)CH_3$、-$S(O)_2OH$、または-$S(O)_2NH_2$によって置き換えられている。

【００５７】

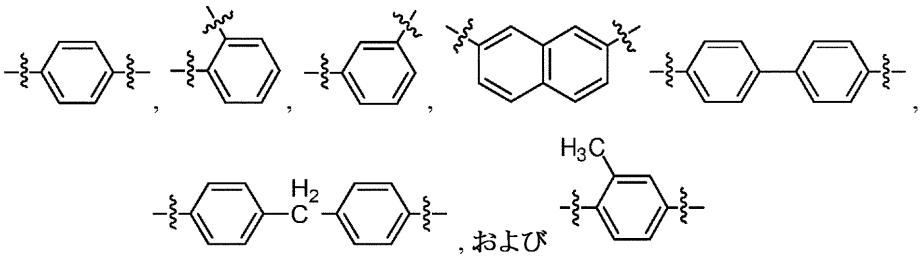
「アルケニル」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、炭素原子を付着点として有し、直線状または分枝状の非環式構造を有し、少なくとも1つの非芳香族炭素-炭素二重結合を有し、炭素-炭素三重結合を有さず、かつ炭素および水素以外の原子を有しない、一価の不飽和脂肪族基を指す。非限定的な例には、-$CH=CH_2$（ビニル）、-$CH=CHCH_3$、-$CH=CHCH_2CH_3$、-$CH_2CH=CH_2$（アリル）、-$CH_2CH=CHCH_3$、および-$CH=CHCH=CH_2$が含まれる。「アルケンジイル」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、2個の炭素原子を付着点として有し、直線状または分枝状であり、直線状または分枝状の非環式構造を有し、少なくとも1つの非芳香族炭素-炭素二重結合を有し、炭素-炭素三重結合を有さず、かつ炭素および水素以外の原子を有しない、二価の不飽和脂肪族基を指す。基-CH=CH-、-$CH=C(CH_3)CH_2$-、-$CH=CHCH_2$-、および-$CH_2CH=CHCH_2$-は、アルケンジイル基の非限定的な例である。アルケンジイル基は、脂肪族であるが、ひとたび両端で接続されると、この基が芳香族構造の一部を形成することから排除されないことが注目される。「アルケン」および「オレフィン」という用語は、同義であり、式H-Rを有する化合物のクラスを指し、式中、Rは、この用語が上記で定義されるようなアルケニルである。同様に、「末端アルケン」および「α-オレフィン」という用語は、同義であり、炭素-炭素二重結合を1つだけ有するアルケンを指し、その結合は、分子の末端にあるビニル基の一部である。これらの用語のいずれかが、「置換」という修飾語と共に用いられる場合、1個または複数個の水素原子は、独立して、-OH、-F、-Cl、-Br、-I、-NH_2、-NO_2、-CO_2H、-CO_2CH_3、-CN、-SH、-OCH_3、-OCH_2CH_3、-$C(O)CH_3$、-$NHCH_3$、-$NHCH_2CH_3$、-$N(CH_3)_2$、-$C(O)NH_2$、-$C(O)NHCH_3$、-$C(O)N(CH_3)_2$、-$OC(O)CH_3$、-$NHC(O)CH_3$、-$S(O)_2OH$、または-$S(O)_2NH_2$によって置き換えられている。基-CH=CHF、-CH=CHCl、および-CH=CHBrは、置換アルケニル基の非限定的な例である。

【００５８】

「アルキニル」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、炭素原子を付着点として有し、直線状または分枝状の非環式構造を有し、少なくとも1つの炭素-炭素三重結合を有し、かつ炭素および水素以外の原子を有しない、一価の不飽和脂肪族基を指す。本明細書で用いられる場合、アルキニルという用語は、1つまたは複数の非芳香族炭素-炭素二重結合の存在を排除しない。基-C≡CH、-C≡CCH_3、および-$CH_2C≡CH$は、アルキニル基の非限定的な例である。「アルキン」とは、式H-Rを有する化合物のクラスを指し、式中、Rは、アルキニルである。これらの用語のいずれかが、「置換」という修飾語と共に用いられる場合、1個または複数個の水素原子は、独立して、-OH、-F、-Cl、-Br、-I、-NH_2、-NO_2、-CO_2H、-CO_2CH_3、-CN、-SH、-OCH_3、-OCH_2CH_3、-$C(O)CH_3$、-$NHCH_3$、-$NHCH_2CH_3$、-$N(CH_3)_2$、-$C(O)NH_2$、-$C(O)NHCH_3$、-$C(O)N(CH_3)_2$、-$OC(O)CH_3$、-$NHC(O)CH_3$、-$S(O)_2OH$、または-$S(O)_2NH_2$によって置き換えられている。

【００５９】

「アリール」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、芳香族炭素原子を付着点として有し、炭素原子が1つまたは複数の6員芳香族環構造の一部を形成する、一価の不飽和芳香族基を指し、ここで、環原子は、すべて炭素であり、かつ基は、炭素および水素以外の原子からは構成されない。1つよりも多い環が存在する場合には、環は、縮合していてもよく、または縮合していなくてもよい。本明細書で用いられる場合、この用語は、第1の芳香環または存在する任意の追加の芳香環に付着した1つまたは複数のアルキル基またはアラルキル基（炭素数の限定が許容する）の存在を排除しない。アリール基の非限定的な例には、フェニル（Ph）、メチルフェニル、(ジメチル)フェニル、-$C_6H_4CH_2CH_3$（エチルフェニル）、ナフチル、およびビフェニルから誘導される一価の基が含まれる。「アレーンジイル」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、2個の芳香族炭素原子を付着点として有し、炭素原子が1つまたは複数の6員芳香族環構造の一部を形成する、二価の芳香族基を指し、ここで、環原子は、すべて炭素であり、かつ一価の基は、炭素および水素以外の原子からは構成されない。本明細書で用いられる場合、この用語は、第1の芳香環または存在する任意の追加の芳香環に付着した1つまたは複数のアルキル基、アリール基、またはアラルキル基（炭素数の限定が許容する）の存在を排除しない。1つよりも多い環が存在する場合には、環は、縮合していてもよく、または縮合していなくてもよい。縮合していない環は、以下のうちの1つまたは複数を介して接続されてもよい：共有結合、アルカンジイル基、またはアルケンジイル基（炭素数の限定が許容する）。アレーンジイル基の非限定的な例には、



, および

が含まれる。

【００６０】

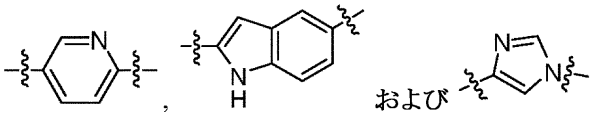
「アレーン」とは、式H-Rを有する化合物のクラスを指し、式中、Rは、その用語が上記で定義されるようなアリールである。ベンゼンおよびトルエンは、アレーンの非限定的な例である。これらの用語のいずれかが、「置換」という修飾語と共に用いられる場合、1個または複数個の水素原子は、独立して、-OH、-F、-Cl、-Br、-I、-NH_2、-NO_2、-CO_2H、-CO_2CH_3、-CN、-SH、-OCH_3、-OCH_2CH_3、-C(O)CH_3、-NHCH_3、-NHCH_2CH_3、-N$(CH_3)_2$、-C(O)NH_2、-C(O)NHCH_3、-C(O)N$(CH_3)_2$、-OC(O)CH_3、-NHC(O)CH_3、-S(O)$_2$OH、または-S(O)$_2$$NH_2$によって置き換えられている。

【００６１】

「アラルキル」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、一価の基-アルカンジイル-アリールを指し、ここで、アルカンジイルおよびアリールという用語は、各々、上記で提供される定義と一致する様式で用いられる。非限定的な例は、フェニルメチル（ベンジル、Bn）および2-フェニル-エチルである。アラルキルという用語が、「置換」という修飾語と共に用いられる場合、アルカンジイル基および/またはアリール基由来の1個または複数個の水素原子は、独立して、-OH、-F、-Cl、-Br、-I、-NH_2、-NO_2、-CO_2H、-CO_2CH_3、-CN、-SH、-OCH_3、-OCH_2CH_3、-C(O)CH_3、-NHCH_3、-NHCH_2CH_3、-N$(CH_3)_2$、-C(O)NH_2、-C(O)NHCH_3、-C(O)N$(CH_3)_2$、-OC(O)CH_3、-NHC(O)CH_3、-S(O)$_2$OH、または-S(O)$_2$$NH_2$によって置き換えられている。置換アラルキルの非限定的な例は、(3-クロロフェニル)-メチル、および2-クロロ-2-フェニル-エタ-1-イルである。

【００６２】

「ヘテロアリール」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、芳香族炭素原子または窒素原子を付着点として有し、炭素原子または窒素原子が1つまたは複数の芳香族環構造の一部を形成する、一価の芳香族基を指し、ここで、環原子の少なくとも1つは、窒素、酸素、または硫黄であり、かつヘテロアリール基は、炭素、水素、芳香族窒素、芳香族酸素、および芳香族硫黄以外の原子からは構成されない。ヘテロアリール環は、窒素、酸素、および硫黄から選択される1、2、3、または4個の環原子を含有し得る。1つよりも多い環が存在する場合には、環は、縮合していてもよく、または縮合していなくてもよい。本明細書で用いられる場合、この用語は、芳香環または芳香環系に付着した1つまたは複数のアルキル基、アリール基、および/またはアラルキル基（炭素数の限定が許容する）の存在を排除しない。ヘテロアリール基の非限定的な例には、フラニル、イミダゾリル、インドリル、インダゾリル（Im）、イソオキサゾリル、メチルピリジニル、オキサゾリル、フェニルピリジニル、ピリジニル（ピリジル）、ピロリル、ピリミジニル、ピラジニル、キノリル、キナゾリル、キノキサリニル、トリアジニル、テトラゾリル、チアゾリル、チエニル、およびトリアゾリルが含まれる。「N-ヘテロアリール」という用語は、窒素原子を付着点として有する、ヘテロアリール基を指す。「ヘテロアレーンジイル」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、2個の芳香族炭素原子、2個の芳香族窒素原子、または1個の芳香族炭素原子および1個の芳香族窒素原子を2つの付着点として有し、原子が、1つまたは複数の芳香族環構造の一部を形成する、二価の芳香族基を指し、ここで、環原子の少なくとも1つは、窒素、酸素、または硫黄であり、かつ二価の基は、炭素、水素、芳香族窒素、芳香族酸素、および芳香族硫黄以外の原子からは構成されない。1つよりも多い環が存在する場合には、環は、縮合していてもよく、または縮合していなくてもよい。縮合していない環は、以下のうちの1つまたは複数を介して接続されてもよい：共有結合、アルカンジイル基、またはアルケンジイル基（炭素数の限定が許容する）。本明細書で用いられる場合、この用語は、芳香環または芳香環系に付着した1つまたは複数のアルキル基、アリール基、および/またはアラルキル基（炭素数の限定が許容する）の存在を排除しない。ヘテロアレーンジイル基の非限定的な例には、



が含まれる。

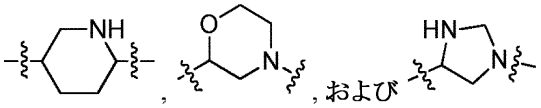
【００６３】

「ヘテロアレーン」とは、式H-Rを有する化合物のクラスを指し、ここで、Rは、ヘテロアリールである。ピリジンおよびキノリンは、ヘテロアレーンの非限定的な例である。これらの用語が、「置換」という修飾語と共に用いられる場合、1個または複数個の水素原子は、独立して、-OH、-F、-Cl、-Br、-I、$-NH_2$、$-NO_2$、$-CO_2H$、$-CO_2CH_3$、-CN、-SH、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、$-C(O)CH_3$、$-NHCH_3$、$-NHCH_2CH_3$、$-N(CH_3)_2$、$-C(O)NH_2$、$-C(O)NHCH_3$、$-C(O)N(CH_3)_2$、$-OC(O)CH_3$、$-NHC(O)CH_3$、$-S(O)_2OH$、または$-S(O)_2NH_2$によって置き換えられている。

【００６４】

「ヘテロシクロアルキル」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、炭素原子または窒素原子を付着点として有し、炭素原子または窒素原子が1つまたは複数の非芳香族環構造の一部を形成する、一価の非芳香族基を指し、ここで、環原子の少なくとも1個は、窒素、酸素、または硫黄であり、かつヘテロシクロアルキル基は、炭素、水素、窒素、酸素、および硫黄以外の原子からは構成されない。ヘテロシクロアルキル環は、窒素、酸素、または硫黄から選択される1、2、3、または4個の環原子を含有し得る。1つよりも多い環が存在する場合には、環は、縮合していてもよく、または縮合していなくてもよい。本明細書で用いられる場合、この用語は、環または環系に付着した1つまたは複数のアルキル基（炭素数の限定が許容する）の存在を排除しない。また、この用語

は、結果として生じた基が非芳香族のままであるという条件で、環または環系における1つまたは複数の二重結合の存在を排除しない。ヘテロシクロアルキル基の非限定的な例には、アジリジニル、アゼチジニル、ピロリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、モルホリニル、チオモルホリニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロチオフラニル、テトラヒドロピラニル、ピラニル、オキシラニル、およびオキセタニルが含まれる。「N-ヘテロシクロアルキル」という用語は、窒素原子を付着点として有するヘテロシクロアルキル基を指す。N-ピロリジニルは、そのような基の例である。「ヘテロシクロアルカンジイル」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、2個の炭素原子、2個の窒素原子、または1個の炭素原子および1個の窒素原子を2つの付着点として有し、原子が、1つまたは複数の環構造の一部を形成する、二価の環状基を指し、ここで、環原子の少なくとも1個は、窒素、酸素、または硫黄であり、かつ二価の基は、炭素、水素、窒素、酸素、および硫黄以外の原子からは構成されない。1つよりも多い環が存在する場合には、環は、縮合していてもよく、または縮合していなくてもよい。縮合していない環は、以下のうちの1つまたは複数を介して接続されてもよい：共有結合、アルカンジイル基、またはアルケンジイル基（炭素数の限定が許容する）。本明細書で用いられる場合、この用語は、環または環系に付着した1つまたは複数のアルキル基（炭素数の限定が許容する）の存在を排除しない。また、この用語は、結果として生じた基が非芳香族のままであるという条件で、環または環系における1つまたは複数の二重結合の存在を排除しない。ヘテロシクロアルカンジイル基の非限定的な例には、



, , および

が含まれる。これらの用語が、「置換」という修飾語と共に用いられる場合、1個または複数個の水素原子は、独立して、-OH、-F、-Cl、-Br、-I、-NH_2、-NO_2、-CO_2H、-CO_2CH_3、-CN、-SH、-OCH_3、-OCH_2CH_3、-C(O)CH_3、-$NHCH_3$、-$NHCH_2CH_3$、-$N(CH_3)_2$、-C(O)NH_2、-C(O)$NHCH_3$、-C(O)$N(CH_3)_2$、-OC(O)CH_3、-NHC(O)CH_3、-S(O)$_2$OH、または-S(O)$_2NH_2$によって置き換えられている。

【００６５】

「アシル」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、基-C(O)Rを指し、ここで、Rは、それらの用語が上記で定義されるような、水素、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、アラルキル、またはヘテロアリールである。基-CHO、-C(O)CH_3（アセチル、Ac）、-C(O)CH_2CH_3、-C(O)$CH_2CH_2CH_3$、-C(O)$CH(CH_3)_2$、-C(O)$CH(CH_2)_2$、-C(O)C_6H_5、-C(O)$C_6H_4CH_3$、-C(O)$CH_2C_6H_5$、-C(O)（イミダゾリル）は、アシル基の非限定的な例である。「チオアシル」は、基-C(O)Rの酸素原子が、硫黄原子で置き換えられていることを除いて、類似の様式で定義され、-C(S)Rである。「アルデヒド」という用語は、水素原子の少なくとも1個が-CHO基で置き換えられている、上記で定義されるようなアルカンに対応する。これらの用語のいずれかが、「置換」という修飾語と共に用いられる場合、1個または複数個の水素原子（もしあれば、カルボニル基またはチオカルボニル基の炭素原子に直接付着した水素原子を含む）は、独立して、-OH、-F、-Cl、-Br、-I、-NH_2、-NO_2、-CO_2H、-CO_2CH_3、-CN、-SH、-OCH_3、-OCH_2CH_3、-C(O)CH_3、-$NHCH_3$、-$NHCH_2CH_3$、-$N(CH_3)_2$、-C(O)NH_2、-C(O)$NHCH_3$、-C(O)$N(CH_3)_2$、-OC(O)CH_3、-NHC(O)CH_3、-S(O)$_2$OH、または-S(O)$_2NH_2$によって置き換えられている。基-C(O)CH_2CF_3、-CO_2H（カルボキシル）、-CO_2CH_3（メチルカルボキシル）、-$CO_2CH_2CH_3$、-C(O)NH_2（カルバモイル）、および-CON$(CH_3)_2$は、置換アシル基の非限定的な例である。

【００６６】

「アルコキシ」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、基-ORを指し、ここで、Rは、その用語が上記で定義されるようなアルキルである。非限定的な例には：-OCH_3（メトキシ）、-OCH_2CH_3（エトキシ）、-$OCH_2CH_2CH_3$、-OCH(CH_3)

2（イソプロポキシ）、-OC(CH3)3（tert-ブトキシ）、-OCH(CH2)2、-O-シクロペンチル、および-O-シクロヘキシルが含まれる。「シクロアルコキシ」、「アルケニルオキシ」、「アルキニルオキシ」、「アリールオキシ」、「アラルコキシ（aralkoxy）」、「ヘテロアリールオキシ」、「ヘテロシクロアルコキシ」、および「アシルオキシ」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、-ORとして定義される基を指し、ここで、Rは、それぞれ、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル、およびアシルである。「アルコキシジイル」という用語は、二価の基-O-アルカンジイル-、-O-アルカンジイル-O-、または-アルカンジイル-O-アルカンジイル-を指す。「アルキルチオ」および「アシルチオ」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、基-SRを指し、ここで、Rは、それぞれ、アルキルおよびアシルである。「アルコール」という用語は、水素原子の少なくとも1個がヒドロキシ基で置き換えられている、上記で定義されるようなアルカンに対応する。「エーテル」という用語は、水素原子の少なくとも1個がアルコキシ基で置き換えられている、上記で定義されるようなアルカンに対応する。これらの用語のいずれかが、「置換」という修飾語と共に用いられる場合、1個または複数個の水素原子は、独立して、-OH、-F、-Cl、-Br、-I、-NH2、-NO2、-CO2H、-CO2CH3、-CN、-SH、-OCH3、-OCH2CH3、-C(O)CH3、-NHCH3、-NHCH2CH3、-N(CH3)2、-C(O)NH2、-C(O)NHCH3、-C(O)N(CH3)2、-OC(O)CH3、-NHC(O)CH3、-S(O)2OH、または-S(O)2NH2によって置き換えられている。

【００６７】

「アルキルアミノ」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、基-NHRを指し、ここで、Rは、その用語が上記で定義されるようなアルキルである。非限定的な例には、-NHCH3および-NHCH2CH3が含まれる。

【００６８】

「ジアルキルアミノ」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、基-NRR'を指し、ここで、RおよびR'は、同じかもしくは異なるアルキル基であることができ、またはRおよびR'は、アルカンジイルを表すようにまとめられることができる。ジアルキルアミノ基の非限定的な例には、-N(CH3)2および-N(CH3)(CH2CH3)が含まれる。「シクロアルキルアミノ」、「アルケニルアミノ」、「アルキニルアミノ」、「アリールアミノ」、「アラルキルアミノ」、「ヘテロアリールアミノ」、「ヘテロシクロアルキルアミノ」、「アルコキシアミノ」、 および「アルキルスルホニルアミノ」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、-NHRとして定義される基を指し、ここで、Rは、それぞれ、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル、アルコキシ、およびアルキルスルホニルである。アリールアミノ基の非限定的な例は、-NHC6H5である。「アルキルアミノジイル」という用語は、二価の基-NH-アルカンジイル-、-NH-アルカンジイル-NH-、または-アルカンジイル-NH-アルカンジイル-を指す。「アミド」（アシルアミノ）という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、基-NHRを指し、ここで、Rは、その用語が上記で定義されるようなアシルである。アミド基の非限定的な例は、-NHC(O)CH3である。「アルキルイミノ」という用語は、「置換」という修飾語なしで用いられる場合、二価の基=NRを指し、ここで、Rは、その用語が上記で定義されるようなアルキルである。これらの用語のいずれかが、「置換」という修飾語と共に用いられる場合、炭素原子に付着した1個または複数個の水素原子は、独立して、-OH、-F、-Cl、-Br、-I、-NH2、-NO2、-CO2H、-CO2CH3、-CN、-SH、-OCH3、-OCH2CH3、-C(O)CH3、-NHCH3、-NHCH2CH3、-N(CH3)2、-C(O)NH2、-C(O)NHCH3、-C(O)N(CH3)2、-OC(O)CH3、-NHC(O)CH3、-S(O)2OH、または-S(O)2NH2によって置き換えられている。基-NHC(O)OCH3および-NHC(O)NHCH3は、置換アミド基の非限定的な例である。

【００６９】

本出願全体を通して、「約」という用語は、値が、装置、値を決定するために使用されている方法についての誤差の固有の変動、または研究対象の間に存在する変動を含むこと

を示すために用いられる。

【００７０】

本出願において用いられる場合、「平均分子量」という用語は、各ポリマー種のモル数とその種のモル質量との関係を指す。特に、各ポリマー分子は、異なる重合のレベルを有し得、したがって、異なるモル質量を有し得る。平均分子量は、複数のポリマー分子の分子量を表すために用いることができる。平均分子量は、典型的には、平均モル質量と同義である。特に、3つの主要なタイプの平均分子量：数平均モル質量、重量（質量）平均モル質量、およびZ平均モル質量がある。本出願の文脈において、別段指定されない限り、平均分子量は、式の数平均モル質量または重量平均モル質量のいずれかを表す。いくつかの態様において、平均分子量は、数平均モル質量である。いくつかの態様において、平均分子量は、脂質中に存在するPEG成分を説明するために用いられ得る。

【００７１】

「含む（comprise）」、「有する（have）」、および「含む（include）」という用語は、開放型の連結動詞である。これらの動詞の1つまたは複数の任意の形態または時制、例えば、「含む（comprises）」、「含む（comprising）」、「有する（has）」、「有する（having）」、「含む（includes）」、および「含む（including）」もまた、開放型である。例えば、1つまたは複数の工程を「含む（comprises）」、「有する（has）」、または「含む（includes）」任意の方法は、それらの1つまたは複数の工程のみを有することに限定されず、他の列記されていない工程もまた対象にする。

【００７２】

「有効な」という用語は、その用語が本明細書および/または特許請求の範囲において用いられる場合、所望の、期待される、または意図される結果を達成するのに妥当であることを意味する。「有効量」、「治療的有効量」、または「薬学的有効量」は、患者または対象を化合物で処置する文脈で用いられる場合、疾患を処置するために対象または患者に投与された時に、そのような疾患の処置をもたらすのに十分である化合物の量を意味する。

【００７３】

本明細書で用いられる場合、「IC_{50}」という用語は、得られる最大応答の50％である阻害用量を指す。この定量的尺度は、特定の薬物または他の物質（阻害剤）のどの程度が、所与の生物学的、生化学的、または化学的プロセス（またはプロセスの構成要素、すなわち、酵素、細胞、細胞受容体、もしくは微生物）を半分阻害するために必要とされるかを示す。

【００７４】

第1の化合物の「異性体」とは、各分子が第1の化合物と同じ構成原子を含有するが、三次元におけるそれらの原子の配置が異なる、別の化合物である。

【００７５】

本明細書で用いられる場合、「患者」または「対象」という用語は、生きている哺乳動物生物、例えば、ヒト、サル、ウシ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、マウス、ラット、モルモット、またはそれらのトランスジェニック種を指す。ある特定の態様において、患者または対象は、霊長類（例えば、非ヒト霊長類）である。ある特定の態様において、患者または対象は、ヒトである。ヒト対象の非限定的な例は、成人、若年者、乳児、および胎児である。

【００７６】

本明細書で用いられる「アセンブルする」または「アセンブルした」という用語は、標的細胞に対するペイロードの送達の文脈において、一般に、例えば、治療剤または予防剤が、脂質組成物と複合体化されるか、または脂質組成物にカプセル化されるような、共有結合性または非共有結合性の相互作用または会合を指す。

【００７７】

本明細書で用いられる場合、「脂質組成物」という用語は、一般に、リポプレックス（lipoplex）、リポソーム、脂質粒子を含むがそれらに限定されない、脂質化合物を含む

組成物を指す。脂質組成物の例には、懸濁液、乳濁液、および小胞組成物が含まれる。

【００７８】

本明細書で用いられる場合、「検出可能な」という用語は、観察または機器使用のいずれかによって直接的または間接的に検出可能である、シグナルの発生または変化を指す。典型的には、検出可能な応答は、蛍光体が本質的に蛍光性であり、金属イオンまたは生物学的化合物に対する結合時にシグナルの変化を生じない、シグナルの発生である。あるいは、検出可能な応答は、波長分布パターンまたは吸光度もしくは蛍光の強度の変化、または光散乱、蛍光寿命、蛍光偏光、もしくは上記のパラメータの組み合わせの変化を結果としてもたらす、光学的応答である。他の検出可能な応答には、例えば、化学発光、リン光、放射性同位体からの放射線、磁気引力、および電子密度が含まれる。

【００７９】

「効力ある」または「効力」という用語は、治療剤の送達に関連して本明細書で用いられる場合、一般に、例えば、参照送達系と比べて、任意の測定可能な程度まで、細胞（例えば、標的細胞）において治療剤または予防剤の所望の量、活性、または効果（タンパク質または遺伝子の所望のレベルの翻訳、転写、産生、発現、または活性など）を達成するかまたはもたらす、送達系（例えば、脂質組成物）のより高い能力を指す。例えば、より高い効力を有する脂質組成物は、より大きい関連する細胞の集団において、より短い応答時間内に、またはより長い期間続く、所望の治療効果を達成し得る。

【００８０】

本明細書で一般的に用いられる場合、「薬学的に許容される」とは、健全な医学的判断の範囲内で、合理的なベネフィット/リスク比に釣り合った、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症を伴わない、ヒトおよび動物の組織、臓器、および/または体液と接触させる使用に適している、化合物、材料、組成物、および/または剤形を指す。

【００８１】

「薬学的に許容される塩」とは、上記で定義されるように薬学的に許容される、かつ所望の薬理学的活性を有する、本出願の化合物の塩を意味する。そのような塩には、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などのような無機酸；または1,2-エタンジスルホン酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、2-ナフタレンスルホン酸、3-フェニルプロピオン酸、4,4'-メチレンビス(3-ヒドロキシ-2-エン-1-カルボン酸)、4-メチルビシクロ[2.2.2]オクト-2-エン-1-カルボン酸、酢酸、脂肪族モノカルボン酸およびジカルボン酸、脂肪族硫酸、芳香族硫酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、カンファースルホン酸、炭酸、桂皮酸、クエン酸、シクロペンタンプロピオン酸、エタンスルホン酸、フマル酸、グルコヘプトン酸、グルコン酸、グルタミン酸、グリコール酸、ヘプタン酸、ヘキサン酸、ヒドロキシナフトエ酸、乳酸、ラウリル硫酸、マレイン酸、リンゴ酸、マロン酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、ムコン酸、o-(4-ヒドロキシベンゾイル)安息香酸、シュウ酸、p-クロロベンゼンスルホン酸、フェニル置換アルカン酸、プロピオン酸、p-トルエンスルホン酸、ピルビン酸、サリチル酸、ステアリン酸、コハク酸、酒石酸、第三ブチル酢酸、トリメチル酢酸などのような有機酸と形成される、酸付加塩が含まれる。薬学的に許容される塩にはまた、存在する酸性プロトンが無機塩基または有機塩基と反応することができる場合に形成され得る、塩基付加塩も含まれる。許容される無機塩基には、水酸化ナトリウム、炭酸ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アルミニウム、および水酸化カルシウムが含まれる。許容される有機塩基には、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、トロメタミン、N-メチルグルカミンなどが含まれる。本開示の任意の塩の一部を形成する特定のアニオンまたはカチオンは、塩が全体として薬理学的に許容される限り、重要ではないことが認識されるべきである。薬学的に許容される塩の追加の例、ならびにその調製および使用の方法は、Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, and Use (P. H. Stahl & C. G. Wermuth eds., Verlag Helvetica Chimica Acta, 2002)に提示されている。

【００８２】

本明細書で用いられる「薬学的に許容される担体」という用語は、化学剤の運搬または輸送に関与する、薬学的に許容される材料、組成物、またはビヒクル、例えば、液体もしくは固体の充填剤、希釈剤、賦形剤、溶媒、またはカプセル化材料を意味する。

【００８３】

「予防」または「予防すること」には、以下が含まれる：（１）疾患のリスクがあり得るおよび/もしくは素因を有し得るが、疾患の病理もしくは総体的症状のいずれかもしくはすべてをまだ経験していないかもしくは示していない対象もしくは患者において、疾患の発症を阻害すること、ならびに/または（２）疾患のリスクがあり得るおよび/もしくは素因を有し得るが、疾患の病理もしくは総体的症状のいずれかもしくはすべてをまだ経験していないかもしくは示していない対象もしくは患者において、疾患の病理もしくは総体的症状の発症を遅らせること。

【００８４】

「反復単位」とは、有機、無機、または金属-有機のいずれにせよ、ある特定の材料、例えば、フレームワークおよび/またはポリマーの最も単純な構造実体である。ポリマー鎖の場合、反復単位は、ネックレスのビーズのように、鎖に沿って連続的に互いに連結されている。例えば、ポリエチレン-[-CH_2CH_2-]$_n$-において、反復単位は-CH_2CH_2-である。添え字の「n」は、重合度、すなわち、互いに連結された反復単位の数を示す。「n」の値が定義されていないままであるか、または「n」が存在しない場合、それは単に、括弧内の式の繰り返しおよび材料の重合性を指定する。反復単位の概念は、反復単位間の接続性が、三次元的に、例えば、金属有機フレームワーク、修飾ポリマー、熱硬化性ポリマーなどに広がる場合に、同同等に適用される。デンドリマーまたはデンドロンの文脈内で、反復単位はまた、分枝単位、内部層、または世代とも記載され得る。同様に、末端基はまた、表面基とも記載され得る。

【００８５】

「立体異性体」または「光学異性体」とは、同じ原子が同じ他の原子に結合しているが、それらの原子の三次元における配置が異なる、所与の化合物の異性体である。「エナンチオマー」とは、左手と右手のように互いの鏡像である、所与の化合物の立体異性体である。「ジアステレオマー」とは、エナンチオマーではない所与の化合物の立体異性体である。キラル分子は、立体中心（stereocenter）または不斉中心（stereogenic center）とも呼ばれるキラル中心を含有し、キラル中心は、任意の2つの基の交換が立体異性体をもたらすような、基を有する分子における、任意の点であるが、必ずしも原子ではない。有機化合物において、キラル中心は、典型的には、炭素原子、リン原子、または硫黄原子であるが、有機化合物および無機化合物において、他の原子が立体中心であることもまた可能である。分子は、複数の立体中心を有することができ、多くの立体異性体を与える。その立体異性が四面体の不斉中心による化合物（例えば、正四面体炭素）において、仮定上で可能な立体異性体の総数は、2^nを超えず、ここで、nは、四面体立体中心の数である。対称性を有する分子は、立体異性体の可能な最大数よりも少ないことが多い。エナンチオマーの50:50混合物は、ラセミ混合物と呼ばれる。あるいは、エナンチオマーの混合物を、1つのエナンチオマーが50％超の量で存在するように、鏡像異性的に濃縮することができる。典型的には、エナンチオマーおよび/またはジアステレオマーは、当技術分野において公知の技法を用いて分解または分離することができる。立体化学が定義されていない任意の立体中心またはキラリティの軸について、その立体中心またはキラリティの軸は、そのR型、S型で、または、ラセミ混合物および非ラセミ混合物を含むR型とS型との混合物として存在できることが企図される。本明細書で用いられる場合、「他の立体異性体を実質的に含まない」という句は、組成物が、≦15％、より好ましくは≦10％、さらに好ましくは≦5％、または最も好ましくは≦1％の別の立体異性体を含有することを意味する。

【００８６】

「処置」または「処置すること」には、以下が含まれる：（１）疾患の病理もしくは総体的症状を経験しているかもしくは示している対象もしくは患者において、疾患を阻害す

ること（例えば、病理および/もしくは総体的症状のさらなる進展を停止すること）、（2）疾患の病理もしくは総体的症状を経験しているかもしくは示している対象もしくは患者において、疾患を回復させること（例えば、病理および/もしくは総体的症状を逆転させること）、ならびに/または（3）疾患の病理もしくは総体的症状を経験しているかもしくは示している対象もしくは患者において、疾患の任意の測定可能な減少をもたらすこと。

【００８７】

上記の定義は、参照により本明細書に組み入れられる任意の参考文献におけるいずれかの矛盾する定義に取って代わる。しかし、ある特定の用語が定義されるという事実は、定義されていない任意の用語が明確でないことを示すとみなされるべきではない。むしろ、用いられるすべての用語は、当業者が範囲を認識し、本出願を実施することができるような用語で、本開示を説明すると考えられる。

【００８８】

組成物

脂質組成物

いくつかの態様において、イオン化可能カチオン性脂質；ポリマーコンジュゲート脂質；および、例えば、該イオン化可能カチオン性脂質とは別の、選択的臓器ターゲティング（ＳＯＲＴ）脂質を含む脂質組成物が、本明細書において提供される。脂質組成物は、リン脂質をさらに含み得る。

【００８９】

イオン化可能カチオン性脂質

本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、イオン化可能カチオン性脂質を含む。いくつかの態様において、カチオン性イオン化可能脂質は、生理的pHではプロトン化されるが、8、9、10、11、または12よりも上のpHでは脱プロトン化され得、電荷を有しない1つまたは複数の基を含有する。イオン化可能カチオン性基は、生理的pHでカチオン性基を形成することができる、1つまたは複数のプロトン化可能なアミンを含有し得る。カチオン性イオン化可能脂質化合物はまた、C_6-C_{24}アルキルまたはアルケニル炭素基を有する2つ以上の脂肪酸などの、1つまたは複数の脂質成分をさらに含み得る。これらの脂質基は、エステル結合を通して付着されてもよく、または硫黄原子へのマイケル付加を通してさらに付加されてもよい。いくつかの態様において、これらの化合物は、デンドリマー、デンドロン、ポリマー、またはそれらの組み合わせであってもよい。

【００９０】

本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、イオン化可能カチオン性脂質は、電荷（pKa）を獲得することができる窒素原子を有する脂質および脂質様分子を指す。これらの脂質は、文献においてカチオン性脂質として既知であり得る。アミノ基を有するこれらの分子は、典型的には、2～6個の疎水性鎖、多くの場合、C_6-C_{24}アルキル基またはアルケニル基などのアルキルまたはアルケニルを有するが、少なくとも1個またはそれ以上、6個の尾部を有し得る。いくつかの態様において、これらのカチオン性イオン化可能脂質は、デンドリマーであり、これは、コアへのまたはコアからの分枝層の連続的または世代的な付加によって形成される、規則的な樹状分枝を示すポリマーであり、コア、少なくとも1つの内部分枝層、および表面分枝層を特徴とする。（Petar R. Dvornic and Donald A. Tomalia in Chem. in Britain, 641-645, August 1994を参照されたい）。他の態様において、本明細書で用いられる「デンドリマー」という用語は、内部コア、この開始剤コアに規則的に付着した反復単位の内部層（または「世代」）、および最も外側の世代に付着した末端基の外部表面を有する分子構成を含むように意図されるが、それらに限定されない。「デンドロン」とは、より大きいデンドリマーを形成するために、直接的にまたは連結部分を通してのいずれかでコアに連結されるか、または連結されることができる、焦点から発出する分枝を有するデンドリマーの一種である。いくつかの態様において、デンドリマー構造は、各分枝について各反復単位で二重になる中心コアからの

放射状の反復基を有する。いくつかの態様において、本明細書に記載されるデンドリマーは、小分子、中サイズの分子、脂質、または脂質様物質として記載され得る。これらの用語は、デンドロン様の外観を有する本明細書に記載される化合物（例えば、単一の焦点から放射状に広がる分子）を説明するために用いられ得る。

【００９１】

デンドリマーはポリマーであるが、デンドリマーは、制御可能な構造、単一の分子量、多数のかつ制御可能な表面官能性を有し、および伝統的に、特定の世代に達した後に球状コンフォメーションをとるため、伝統的なポリマーよりも好ましいことがある。デンドリマーは、単分散、樹木状、および/または世代構造のポリマー構造を生じるための、各反復単位の連続的な反応によって調製することができる。個々のデンドリマーは、中心コア分子からなり、樹状ウェッジが、その中心コア上の1つまたは複数の官能部位に付着している。デンドリマー表面層は、調製中に用いられるアセンブリ単量体に従って、アニオン性、カチオン性、親水性基、または親油性の基を含む、その上に配置された様々な官能基を有することができる。

【００９２】

コア、反復単位、および表面基または末端基の官能基および/または化学的特性を改変することにより、それらの物理的特性を調節することができる。変化させることができるいくつかの特性には、溶解性、毒性、免疫原性、および生体付着能力が含まれるが、それらに限定されない。デンドリマーは、多くの場合、その世代または分枝における反復単位の数によって説明される。コア分子のみからなるデンドリマーは、世代0と呼ばれ、すべての分枝に沿った各々の連続反復単位は、末端基または表面基まで、世代1、世代2などである。いくつかの態様において、アミンとの第1の縮合反応のみから結果として生じ、チオールとの第2の縮合反応からは生じない、半世代が可能である。

【００９３】

デンドリマーの調製は、各々の連続基によってデンドリマーを築くことを含む一連の段階的反応を通して達成される、合成制御のレベルを必要とする。デンドリマー合成は、収束型または発散型のものであることができる。発散型デンドリマー合成中に、分子は、1つの世代を前のものに付着すること、次いで、次の段階の反応のために官能基を変化させることを含む段階的プロセスにおいて、コアから周辺にアセンブルされる。官能基の変換は、制御されない重合を防止するために必要である。そのような重合は、単分散ではない、さもなければ高分岐ポリマーとして知られている、高度に分岐した分子をもたらすであろう。立体効果により、デンドリマー反復単位を反応させ続けると、立体過密が、特定の世代で完全な反応を防止し、分子の単分散性を破壊するまで、球形または球状の分子がもたらされる。したがって、いくつかの態様において、G1～G10世代のデンドリマーが、具体的に企図される。いくつかの態様において、デンドリマーは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10個の反復単位、またはその中の誘導可能な任意の範囲を含む。いくつかの態様において、本明細書で用いられるデンドリマーは、G0、G1、G2、またはG3である。しかし、可能な世代の数（11、12、13、14、15、20、または25など）は、分枝ポリマー中の間隔単位（spacing unit）を低減させることによって、増大させ得る。

【００９４】

追加的に、デンドリマーは、2つの主要な化学的環境：末端世代上の特定の表面基によって作り出される環境、ならびにより高次の構造のためにバルク媒体および表面基から遮蔽され得る樹状構造の内部を有する。これらの異なる化学的環境のために、デンドリマーは、治療応用においてを含み、多数の異なる潜在的用途を見出している。

【００９５】

本開示の脂質組成物のいくつかの態様において、デンドリマーまたはデンドロンは、アクリラート基およびメタクリラート基とアミンおよびチオールとの差次的な反応性を用いてアセンブルされる。デンドリマーまたはデンドロンは、アクリラート基と第一級または第二級アミンとの反応およびメタクリラートとメルカプト基との反応によって形成される

、第二級または第三級アミンおよびチオエーテルを含み得る。追加的に、デンドリマーまたはデンドロンの反復単位は、生理的条件下で分解性である基を含有し得る。いくつかの態様において、これらの反復単位は、1つまたは複数の根源の（germinal）ジエーテル、エステル、アミド、またはジスルフィド基を含有し得る。いくつかの態様において、コア分子は、一方向のみで樹状重合を可能にするモノアミンである。他の態様において、コア分子は、各々が1つまたは複数の反復単位を含み得る、複数の異なる樹状分枝を有するポリアミンである。デンドリマーまたはデンドロンは、1個または複数個の水素原子をこのコアから除去することによって形成され得る。いくつかの態様において、これらの水素原子は、窒素原子などのヘテロ原子上にある。いくつかの態様において、末端基は、長鎖アルキル基またはアルケニル基などの親油性基である。他の態様において、末端基は、長鎖ハロアルキル基またはハロアルケニル基である。他の態様において、末端基は、アミン（$-NH_2$）またはカルボン酸（$-CO_2H$）などのイオン化可能な基を含有する、脂肪族基または芳香族基である。さらに他の態様において、末端基は、水酸化物基、アミド基、またはエステルなどの1つまたは複数の水素結合供与体を含有する、脂肪族基または芳香族基である。

【００９６】

本出願のカチオン性イオン化可能脂質は、1つまたは複数の不斉置換炭素原子または窒素原子を含有していてもよく、光学活性形態またはラセミ形態で単離されてもよい。したがって、特定の立体化学または異性体形態が具体的に示されない限り、化学式のすべてのキラル、ジアステレオマー、ラセミ形態、エピマー形態、およびすべての幾何異性体形態が意図される。カチオン性イオン化可能脂質は、ラセミ体およびラセミ混合物、単一のエナンチオマー、ジアステレオマー混合物および個々のジアステレオマーとして現れ得る。いくつかの態様において、単一のジアステレオマーが得られる。本出願のカチオン性イオン化可能脂質のキラル中心は、S配置またはR配置を有することができる。さらに、カチオン性イオン化可能脂質の1つまたは複数は、構造異性体として存在し得ることが企図される。いくつかの態様において、化合物は、同じ式を有するが、コアの窒素原子に対して異なる接続性を有する。いかなる理論にも束縛されることを望まないが、出発単量体は、最初に第一級アミンと反応し、次いで統計的に、存在する任意の第二級アミンと反応するため、そのようなカチオン性イオン化可能脂質が存在すると考えられる。したがって、構造異性体は、完全に反応した第一級アミン、および次いで、反応した第二級アミンの混合物を示し得る。

【００９７】

本出願のカチオン性イオン化可能脂質を表すために用いられる化学式は、典型的には、恐らくいくつかの異なる互変異性体のうちの1つを示すだけであろう。例えば、多くのタイプのケトン基は、対応するエノール基と平衡状態で存在することが公知である。同様に、多くのタイプのイミン基は、エナミン基と平衡状態で存在する。所与の式についてどの互変異性体が図示されるかにかかわらず、かつどの1つが最も優勢であるかにかかわらず、所与の化学式のすべての互変異性体が意図される。

【００９８】

本出願のカチオン性イオン化可能脂質はまた、本明細書に述べられる適応症における使用のためであろうとまたはその他であろうと、先行技術において公知の化合物よりも、より効果的であり、より毒性が低く、より長く作用し、より強力であり、より少ない副作用を生じ、より容易に吸収され、かつ/もしくはより良好な薬物動態プロファイル（例えば、より高い経口生物学的利用能および/もしくはより低いクリアランス）を有し、ならびに/または、それを上回る他の有用な薬理学的特性、物理的特性、もしくは化学的特性を有するという利点を有し得る。

【００９９】

加えて、本出願のカチオン性イオン化可能脂質を構成する原子は、そのような原子のすべての同位体形態を含むように意図される。本明細書で用いられる同位体には、同じ原子番号を有するが異なる質量数を有する原子が含まれる。一般的な例として、かつ非限定的

に、水素の同位体には、三重水素および重水素が含まれ、炭素の同位体には、^{13}Cおよび^{14}Cが含まれる。

【０１００】

本明細書で提供されるカチオン性イオン化可能脂質の任意の塩形態の一部を形成する特定のアニオンまたはカチオンは、塩が全体として薬理学的に許容される限り、重要ではないことが認識されるべきである。薬学的に許容される塩の追加の例、ならびにその調製および使用の方法は、参照により本明細書に組み入れられる、Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, and Use (2002)に提示されている。

【０１０１】

本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、イオン化可能カチオン性脂質は、デンドリマーまたはデンドロンである。いくつかの態様において、イオン化可能カチオン性脂質は、生理的pHで正に荷電したアンモニウム基を含み、かつ少なくとも2つの疎水性基を含有する。いくつかの態様において、アンモニウム基は、約6～約8のpHで正に荷電している。いくつかの態様において、イオン化可能カチオン性脂質は、デンドリマーまたはデンドロンである。いくつかの態様において、イオン化可能カチオン性脂質は、少なくとも2つのC_6-C_{24}アルキル基またはアルケニル基を含む。

【０１０２】

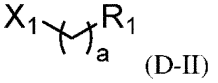
式（I）のデンドリマー

脂質組成物のいくつかの態様において、イオン化可能カチオン性脂質は、少なくとも2つのC_8-C_{24}アルキル基を含む。いくつかの態様において、イオン化可能カチオン性脂質は、式：

コア-反復単位-末端基（D-I）

によってさらに定義されるデンドリマーもしくはデンドロン、またはその薬学的に許容される塩であり、ここで、コアは、1個または複数個の水素原子をコアから除去し、その原子を反復単位で置き換えることによって、反復単位に連結され、かつここで、

コアは、式：


(D-II)

を有し、

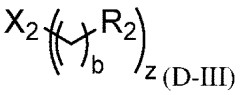
式中：

X_1は、アミノ、またはアルキルアミノ(C≦12)、ジアルキルアミノ(C≦12)、ヘテロシクロアルキル(C≦12)、ヘテロアリール(C≦12)、もしくはその置換バージョンであり；

R_1は、アミノ、ヒドロキシ、もしくはメルカプト、またはアルキルアミノ(C≦12)、ジアルキルアミノ(C≦12)、もしくはこれらの基のうちのいずれかの置換バージョンであり；かつ

aは、1、2、3、4、5、または6であるか；あるいは

コアは、式：


(D-III)

を有し、

式中：

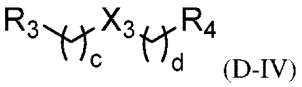
X_2は、$N(R_5)_y$であり；

R_5は、水素、アルキル(C≦18)、または置換アルキル(C≦18)であり；かつ

yは、0、1、または2であり、ただし、yとzとの和は3であり；

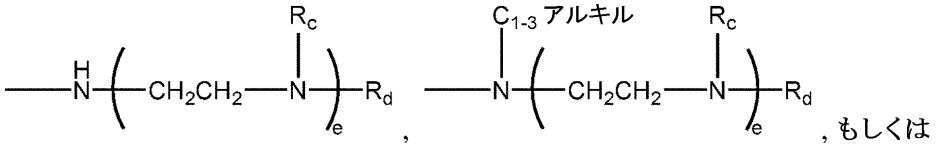
R_2は、アミノ、ヒドロキシ、もしくはメルカプト、またはアルキルアミノ(C≦12)、ジアルキルアミノ(C≦12)、もしくはこれらの基のうちのいずれかの置換バージョンであり；

bは、1、2、3、4、5、または6であり；かつ
zは、1、2、3であり；ただし、zとyとの和は3であるか；あるいは
コアは、式：

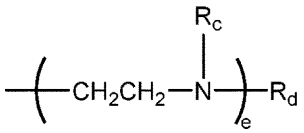


(D-IV)

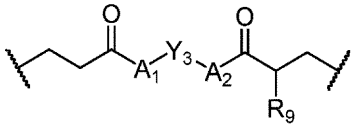
を有し、
式中：
X_3は、-NR_6-であり、ここで、R_6は、水素、アルキル(C≦8)もしくは置換アルキル(C≦8)、-O-、またはアルキルアミノジイル(C≦8)、アルコキシジイル(C≦8)、アレーンジイル(C≦8)、ヘテロアレーンジイル(C≦8)、ヘテロシクロアルカンジイル(C≦8)、もしくはこれらの基のうちのいずれかの置換バージョンであり；
R_3およびR_4は、各々独立して、アミノ、ヒドロキシ、もしくはメルカプト、またはアルキルアミノ(C≦12)、ジアルキルアミノ(C≦12)、もしくはこれらの基のうちのいずれかの置換バージョン；または式：-$N(R_f)_f(CH_2CH_2N(R_c))_eR_d$、



, もしくは

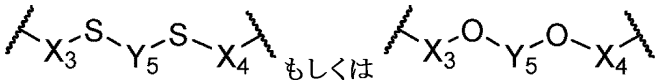


の基であり；
ここで、
eおよびfは、各々独立して、1、2、もしくは3であり；ただし、eとfとの和は3であり；
R_c、R_d、およびR_fは、各々独立して、水素、アルキル(C≦6)、もしくは置換アルキル(C≦6)であり；
cおよびdは、各々独立して、1、2、3、4、5、または6であるか；あるいは
コアは、アルキルアミン(C≦18)、ジアルキルアミン(C≦36)、ヘテロシクロアルカン(C≦12)、またはこれらの基のうちのいずれかの置換バージョンであり；
ここで、反復単位は、分解性ジアシルおよびリンカーを含み；
該分解性ジアシル基は、式：



(D-VII)

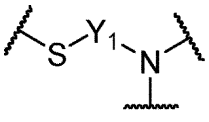
を有し：
式中：
A_1およびA_2は、各々独立して、-O-、-S-、または-NR_a-であり、ここで、
R_aは、水素、アルキル(C≦6)、または置換アルキル(C≦6)であり；
Y_3は、アルカンジイル(C≦12)、アルケンジイル(C≦12)、アレーンジイル(C≦12)、もしくはこれらの基のうちのいずれかの置換バージョン；または式：



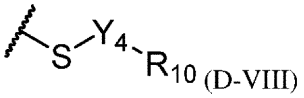
もしくは

の基であり：

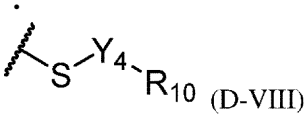
ここで、
X_3およびX_4は、アルカンジイル(C≦12)、アルケンジイル(C≦12)、アレーンジイル(C≦12)、もしくはこれらの基のうちのいずれかの置換バージョンであり；
Y_5は、共有結合、アルカンジイル(C≦12)、アルケンジイル(C≦12)、アレーンジイル(C≦12)、もしくはこれらの基のうちのいずれかの置換バージョンであり；かつ
R_9は、アルキル(C≦8)または置換アルキル(C≦8)であり；
該リンカー基は、式：


(D-VI)

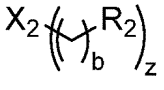
を有し、
式中：
Y_1は、アルカンジイル(C≦12)、アルケンジイル(C≦12)、アレーンジイル(C≦12)、またはこれらの基のうちのいずれかの置換バージョンであり；かつ
ここで、反復単位がリンカー基を含む場合、リンカー基は、nが1よりも大きいならば、リンカー基の窒素原子および硫黄原子の両方に付着した、独立した分解性ジアシル基を含み、反復単位中の第1の基は、分解性ジアシル基であり、各リンカー基について、次の反復単位は、リンカー基の窒素原子に付着した2つの分解性ジアシル基を含み；かつnは、反復単位中に存在するリンカー基の数であり；ならびに
末端基は、式：


(D-VIII)

を有し：
式中：
Y_4は、アルカンジイル(C≦18)、またはアルカンジイル(C≦18)上の水素原子の1個もしくは複数個が-OH、-F、-Cl、-Br、-I、-SH、$-OCH_3$、$-OCH_2CH_3$、$-SCH_3$、もしくは$-OC(O)CH_3$で置き換えられているアルカンジイル(C≦18)であり；
R_{10}は、水素、カルボキシ、ヒドロキシ、またはアリール(C≦12)、アルキルアミノ(C≦12)、ジアルキルアミノ(C≦12)、N-ヘテロシクロアルキル(C≦12)、$-C(O)N(R_{11})$-アルカンジイル(C≦6)-ヘテロシクロアルキル(C≦12)、-C(O)-アルキルアミノ(C≦12)、-C(O)-ジアルキルアミノ(C≦12)、-C(O)-N-ヘテロシクロアルキル(C≦12)であり、ここで、
R_{11}は、水素、アルキル(C≦6)、または置換アルキル(C≦6)であり；
ここで、鎖中の最後の分解性ジアシルは、末端基に付着しており；
nは、0、1、2、3、4、5、または6である。いくつかの態様において、末端基は、式：


(D-VIII)

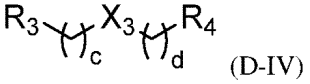
によってさらに定義され、
式中：
Y_4は、アルカンジイル(C≦18)であり；かつ
R_{10}は、水素である。いくつかの態様において、A_1およびA_2は、各々独立して、-O-または$-NR_a$-である。
【０１０３】
式（D-I）のデンドリマーまたはデンドロンのいくつかの態様において、コアは、式：


(D-III)

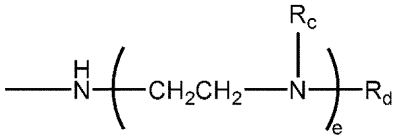
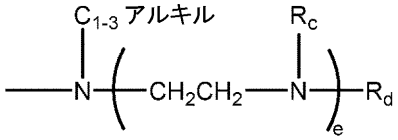
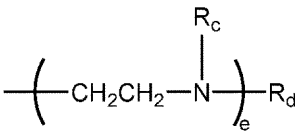
によってさらに定義され、
式中：
X_2は、$N(R_5)_y$であり；
R_5は、水素またはアルキル$(C \leqq 8)$、または置換アルキル$(C \leqq 18)$であり；かつ
yは、0、1、または2であり、ただし、yとzとの和は3であり；
R_2は、アミノ、ヒドロキシ、もしくはメルカプト、またはアルキルアミノ$(C \leqq 12)$、ジアルキルアミノ$(C \leqq 12)$、またはこれらの基のうちのいずれかの置換バージョンであり；
bは、1、2、3、4、5、または6であり；かつ
zは、1、2、3であり；ただし、zとyとの和は3である。

【０１０４】

式（D-I）のデンドリマーまたはデンドロンのいくつかの態様において、コアは、式：


(D-IV)

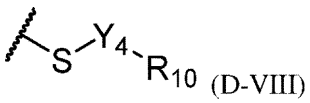
によってさらに定義され、
式中：
X_3は、-NR_6-であり、ここで、R_6は、水素、アルキル$(C \leqq 8)$、もしくは置換アルキル$(C \leqq 8)$、-O-、またはアルキルアミノジイル$(C \leqq 8)$、アルコキシジイル$(C \leqq 8)$、アレーンジイル$(C \leqq 8)$、ヘテロアレーンジイル$(C \leqq 8)$、ヘテロシクロアルカンジイル$(C \leqq 8)$、もしくはこれらの基のうちのいずれかの置換バージョンであり；
R_3およびR_4は、各々独立して、アミノ、ヒドロキシ、もしくはメルカプト、またはアルキルアミノ$(C \leqq 12)$、ジアルキルアミノ$(C \leqq 12)$、もしくはこれらの基のうちのいずれかの置換バージョン；または式：-$N(R_f)_f(CH_2CH_2N(R_c))_eR_d$、


,

,もしくは


の基であり；
ここで、
eおよびfは、各々独立して、1、2、もしくは3であり；ただし、eとfとの和は3であり；
R_c、R_d、およびR_fは、各々独立して、水素、アルキル$(C \leqq 6)$、もしくは置換アルキル$(C \leqq 6)$であり；
cおよびdは、各々独立して、1、2、3、4、5、または6である。

【０１０５】

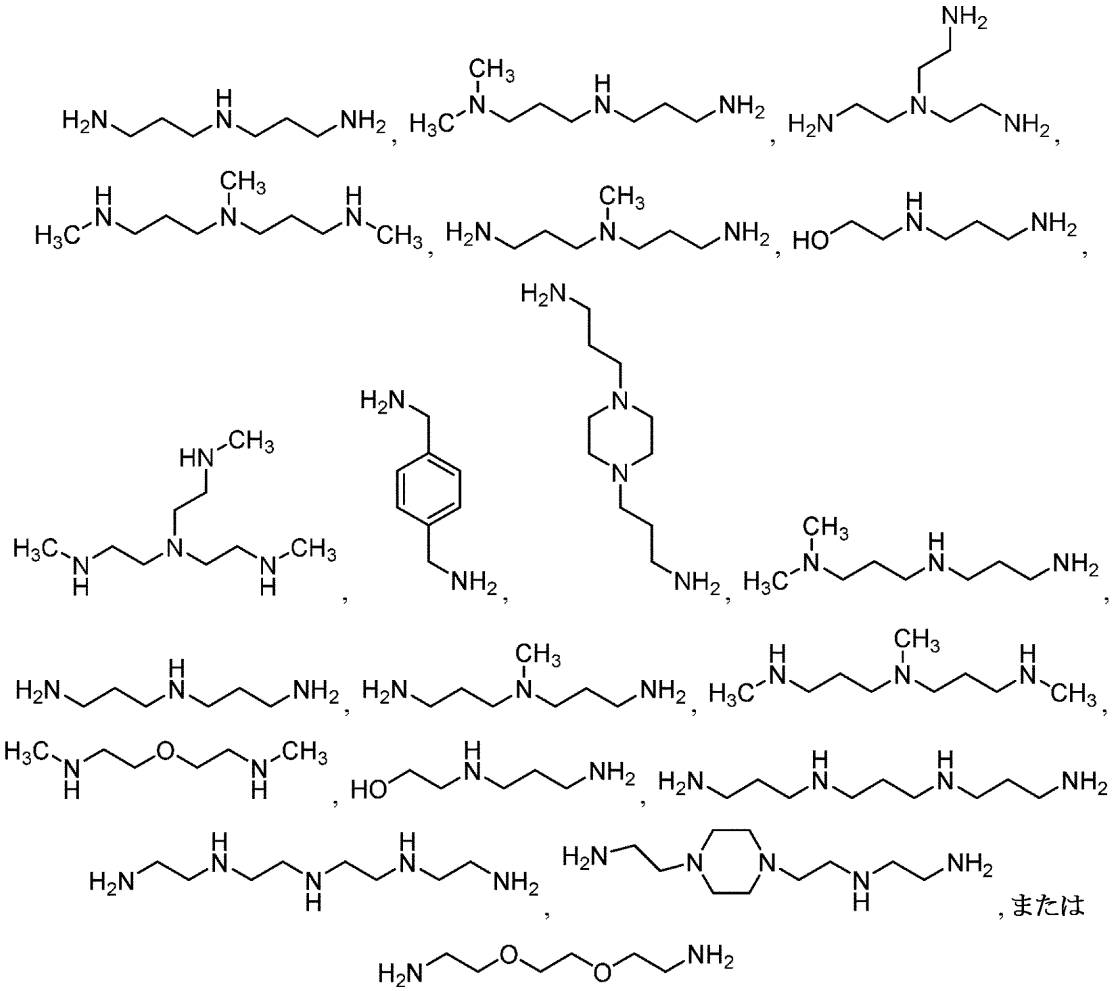
式（I）のデンドリマーまたはデンドロンのいくつかの態様において、末端基は、式：


(D-VIII)

によって表され、
式中：
Y_4は、アルカンジイル$(C \leqq 18)$であり；かつ
R_{10}は、水素である。

【０１０６】

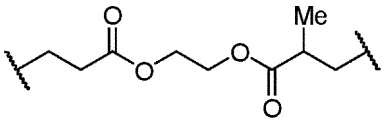
式（D-I）のデンドリマーまたはデンドロンのいくつかの態様において、コアは、



としてさらに定義される。

【０１０７】

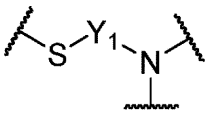
式（D-I）のデンドリマーまたはデンドロンのいくつかの態様において、分解性ジアシルは、



としてさらに定義される。

【０１０８】

式（D-I）のデンドリマーまたはデンドロンのいくつかの態様において、リンカーは、

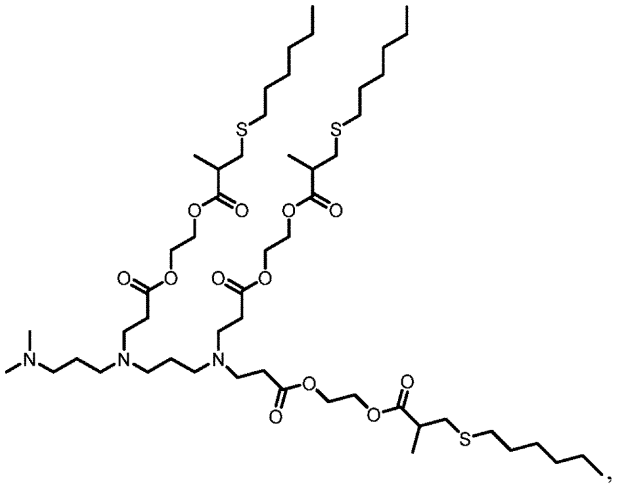


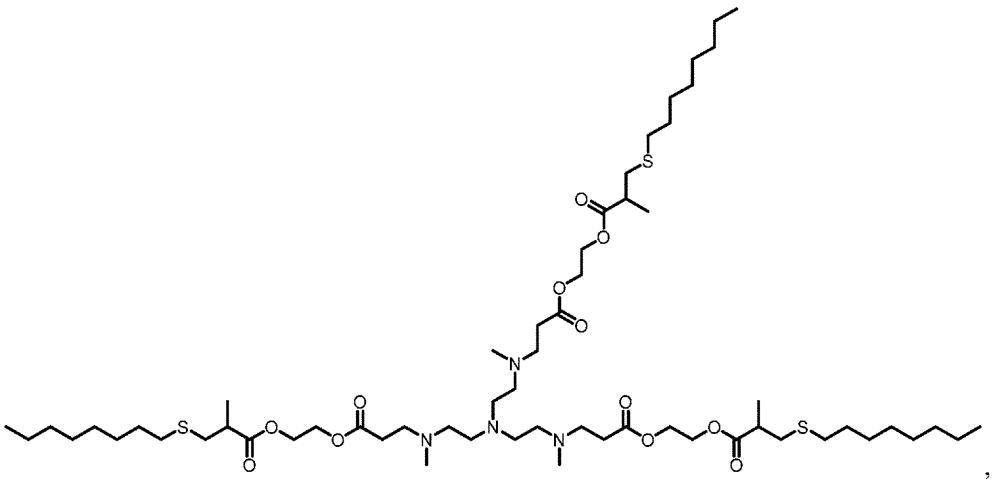
(D-VI)

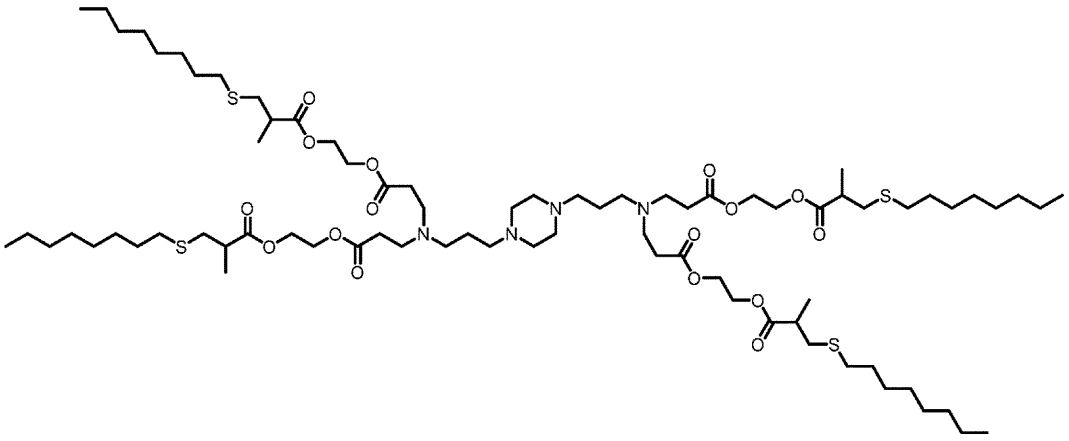
としてさらに定義され、ここで、Y_1は、アルカンジイル$(C \leqq 8)$または置換アルカンジイル$(C \leqq 8)$である。

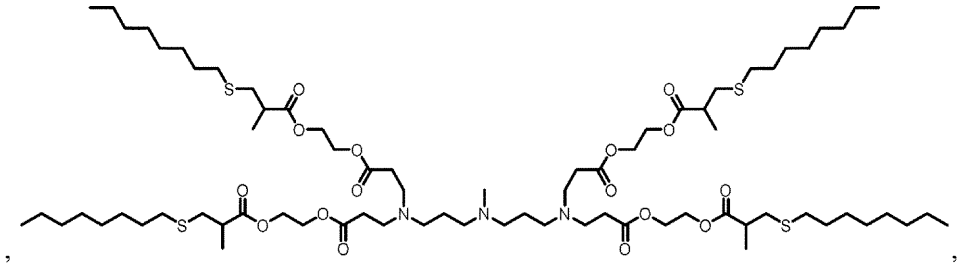
【０１０９】

式（D-I）のデンドリマーまたはデンドロンのいくつかの態様において、デンドリマーまたはデンドロンは、

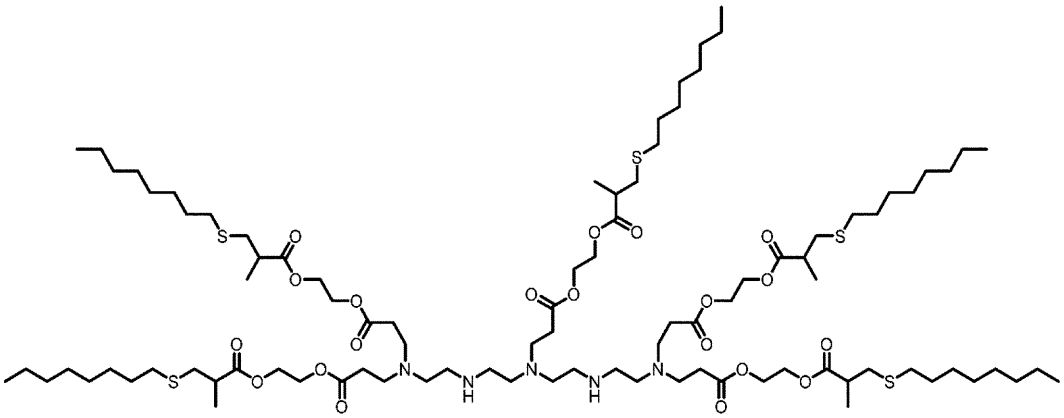




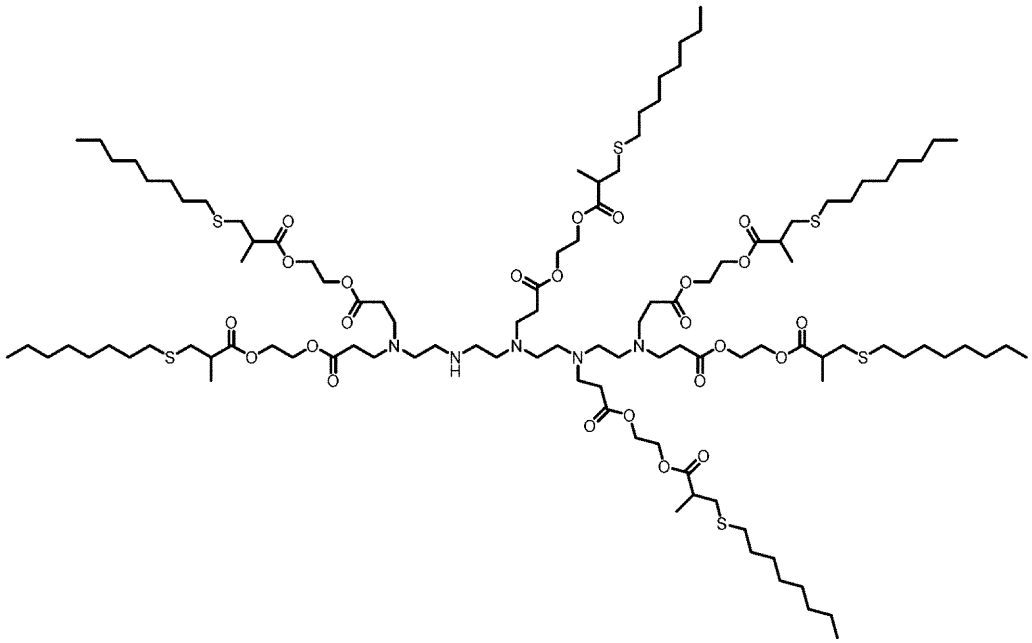




,



, または

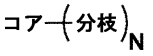


；およびその薬学的に許容される塩からなる群より選択される。

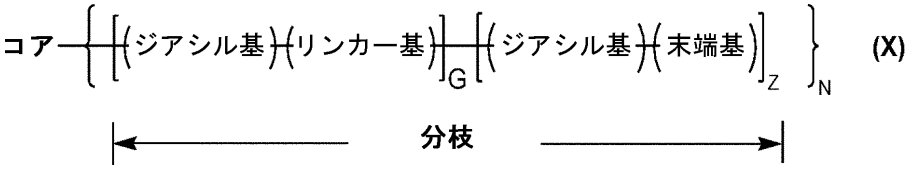
【０１１０】

式（Ｘ）のデンドリマーまたはデンドロン

脂質組成物のいくつかの態様において、イオン化可能カチオン性脂質は、式



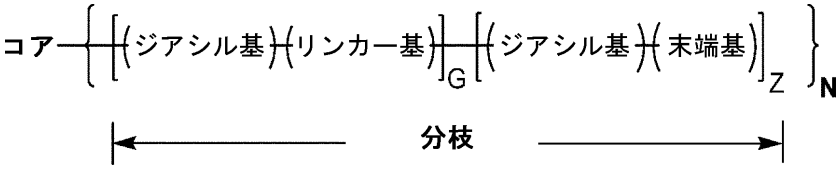
のデンドリマーまたはデンドロンである。いくつかの態様において、イオン化可能カチオン性脂質は、式



のデンドリマーまたはデンドロンである。

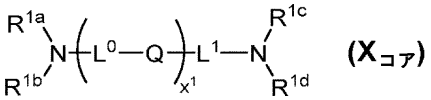
【０１１１】

脂質組成物のいくつかの態様において、イオン化可能カチオン性脂質は、構造式：



を有する世代（g）のデンドリマーもしくはデンドロン、またはその薬学的に許容される塩であり、ここで、

（a）コアは、構造式（$X_{コア}$）：



を含み、

式中：

Qは、各出現で独立して、共有結合、-O-、-S-、-NR^2-、または-$CR^{3a}R^{3b}$-であり；

R^2は、各出現で独立して、R^{1g}または-L^2-$NR^{1e}R^{1f}$であり；

R^{3a}およびR^{3b}は、各出現で各々独立して、水素または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_6、例えばC_1-C_3）アルキルであり；

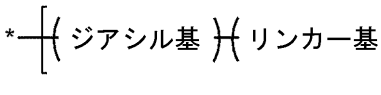
R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、R^{1e}、R^{1f}、およびR^{1g}（存在する場合）は、各出現で各々独立して、分枝に対する接続点、水素、または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アルキルであり；

L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、共有結合、アルキレン、ヘテロアルキレン、[アルキレン]-[ヘテロシクロアルキル]-[アルキレン]、[アルキレン]-(アリーレン)-[アルキレン]、ヘテロシクロアルキル、およびアリーレンから選択され；または

代替的に、L^1の一部は、R^{1c}およびR^{1d}のうちの1つと、（例えば、C_4-C_6）ヘテロシクロアルキル（例えば、1個または2個の窒素原子、ならびに任意で、酸素および硫黄から選択される追加のヘテロ原子を含有する）を形成し；かつ

x^1は、0、1、2、3、4、5、または6であり；ならびに

（b）複数（N）の分枝のうちの各分枝は、独立して、構造式（$X_{分枝}$）：



を含み、

式中：

*は、コアに対する分枝の付着点を示し；

gは、1、2、3、または4であり；

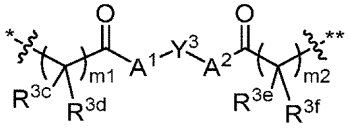
$Z = 2^{(g-1)}$；

g＝1の時、G＝0；またはg≠1の時、

$G = \sum_{i=0}^{i=g-2} 2^i$

であり；

（ｃ）各ジアシル基は、独立して、構造式



を含み、

式中：

*は、その近位端でのジアシル基の付着点を示し；

**は、その遠位端でのジアシル基の付着点を示し；

Y^3は、各出現で独立して、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）;アルキレン、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アルケニレン、または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アレニレンであり；

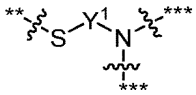
A^1およびA^2は、各出現で各々独立して、-O-、-S-、または-NR^4-であり、ここで、

R^4は、水素または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_6）アルキルであり；

m^1およびm^2は、各出現で各々独立して、1、2、または3であり；かつ

R^{3c}、R^{3d}、R^{3e}、およびR^{3f}は、各出現で各々独立して、水素または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_8）アルキルであり；ならびに

（ｄ）各リンカー基は、独立して、構造式



を含み、

式中：

**は、近位ジアシル基に対するリンカーの付着点を示し；

***は、遠位ジアシル基に対するリンカーの付着点を示し；かつ

Y_1は、各出現で独立して、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アルキレン、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アルケニレン、または置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{12}）アレニレンであり；ならびに

（ｅ）各末端基は、独立して、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{18}、例えばC_4-C_{18}）アルキルチオール、および置換されていてもよい（例えば、C_1-C_{18}、例えばC_4-C_{18}）アルケニルチオールから選択される。

【０１１２】

$X_{コア}$のいくつかの態様において、Ｑは、各出現で独立して、共有結合、-O-、-S-、-NR^2-、または-$CR^{3a}R^{3b}$である。$X_{コア}$のいくつかの態様において、Ｑは、各出現で独立して、共有結合である。$X_{コア}$のいくつかの態様において、Ｑは、各出現で独立して、-O-である。$X_{コア}$のいくつかの態様において、Ｑは、各出現で独立して、-S-である。$X_{コア}$のいくつかの態様において、Ｑは、各出現で独立して、-NR^2であり、かつR^2は、各出現で独立して、R^{1g}または-L^2-$NR^{1e}R^{1f}$である。$X_{コア}$のいくつかの態様において、Ｑは、各出現で独立して、-$CR^{3a}R^{3b}R^{3a}$であり、かつR^{3a}およびR^{3b}は、各出現で各々独立して、水素または置換されていてもよいアルキル（例えば、C_1-C_6、例えばC_1-C_3）である。

【０１１３】

$X_{コア}$のいくつかの態様において、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、R^{1e}、R^{1f}、およびR^{1g}（存在する場合）は、各出現で各々独立して、分枝に対する接続点、水素、または置換されていてもよいアルキルである。$X_{コア}$のいくつかの態様において、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、R^{1e}、R^{1f}、およびR^{1g}（存在する場合）は、各出現で各々独立して、分枝に対する接続点、水素である。$X_{コア}$のいくつかの態様において、R^{1a}、R^{1b}、R^{1c}、R^{1d}、R^{1e}、R^{1f}、およびR^{1g}（存在する場合）は、各出現で各々独立して、分枝に対する接続点、置換

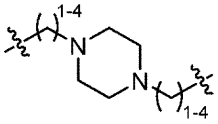
されていてもよいアルキル（例えば、C_1-C_{12}）である。

【０１１４】

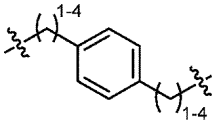
$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、共有結合、アルキレン、ヘテロアルキレン、[アルキレン]-[ヘテロシクロアルキル]-[アルキレン]、[アルキレン]-(アリーレン)-[アルキレン]、ヘテロシクロアルキル、およびアリーレンから選択され；または代替的に、L^1の一部は、R^{1c}およびR^{1d}のうちの1つと、ヘテロシクロアルキル（例えば、C_4-C_6、かつ1個または2個の窒素原子、ならびに任意で、酸素および硫黄から選択される追加のヘテロ原子を含有する）を形成する。$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、共有結合であることができる。$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、水素であることができる。$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、アルキレン（例えば、C_1-C_{12}、例えばC_1-C_6またはC_1-C_3）であることができる。$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、ヘテロアルキレン（例えば、C_1-C_{12}、例えばC_1-C_8またはC_1-C_6）であることができる。$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、ヘテロアルキレン（例えば、C_2-C_8アルキレンオキシド、例えばオリゴ(エチレンオキシド)）であることができる。$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、[アルキレン]-[ヘテロシクロアルキル]-[アルキレン] [（例えば、C_1-C_6）アルキレン]-[（例えば、C_4-C_6）ヘテロシクロアルキル]-[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]であることができる。$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、[アルキレン]-(アリーレン)-[アルキレン] [（例えば、C_1-C_6）アルキレン]-(アリーレン)-[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]であることができる。$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、[アルキレン]-(アリーレン)-[アルキレン]（例えば、[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]-フェニレン-[（例えば、C_1-C_6）アルキレン]）であることができる。$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、ヘテロシクロアルキル（例えば、C_4-C_6ヘテロシクロアルキル）であることができる。$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、アリーレン（例えば、フェニレン）であることができる。$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^1の一部は、R^{1c}およびR^{1d}のうちの1つと、ヘテロシクロアルキルを形成する。$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^1の一部は、R^{1c}およびR^{1d}のうちの1つと、ヘテロシクロアルキル（例えば、C_4-C_6ヘテロシクロアルキル）を形成し、ヘテロシクロアルキルは、1個または2個の窒素原子、ならびに任意で、酸素および硫黄から選択される追加のヘテロ原子を含有することができる。

【０１１５】

$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、共有結合、C_1-C_6アルキレン（例えば、C_1-C_3アルキレン）、C_2-C_{12}（例えば、C_2-C_8）アルキレンオキシド（例えば、オリゴ(エチレンオキシド)、例えば-$(CH_2CH_2O)_{1-4}$-(CH_2CH_2)-）、[（C_1-C_4）アルキレン]-[（C_4-C_6）ヘテロシクロアルキル]-[（C_1-C_4）アルキレン]（例えば、



）、および[（C_1-C_4）アルキレン]-フェニレン-[（C_1-C_4）アルキレン]（例えば、



）から選択される。$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で

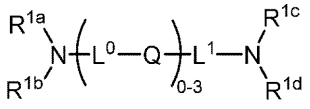
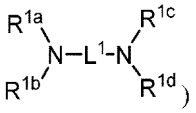
各々独立して、C_1-C_6アルキレン（例えば、C_1-C_3アルキレン）、-(C_1-C_3アルキレン-O)$_{1-4}$-(C_1-C_3アルキレン)、-(C_1-C_3アルキレン)-フェニレン-(C_1-C_3アルキレン)-、および-(C_1-C_3アルキレン)-ピペラジニル-(C_1-C_3アルキレン)-から選択される。$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、C_1-C_6アルキレン（例えば、C_1-C_3アルキレン）である。いくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、C_2-C_{12}（例えば、C_2-C_8）アルキレンオキシド（例えば、-(C_1-C_3アルキレン-O)$_{1-4}$-(C_1-C_3アルキレン)）である。$X_{コア}$のいくつかの態様において、L^0、L^1、およびL^2は、各出現で各々独立して、[（C_1-C_4）アルキレン]-[（C_4-C_6）ヘテロシクロアルキル]-[（C_1-C_4）アルキレン]（例えば、-(C_1-C_3アルキレン)-フェニレン-(C_1-C_3アルキレン)-）、および[（C_1-C_4）アルキレン]-[（C_4-C_6）ヘテロシクロアルキル]-[（C_1-C_4）アルキレン]（例えば、-(C_1-C_3アルキレン)-ピペラジニル-(C_1-C_3アルキレン)-）から選択される。

【０１１６】

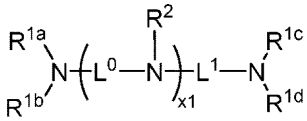
$X_{コア}$のいくつかの態様において、x^1は、0、1、2、3、4、5、または6である。$X_{コア}$のいくつかの態様において、x^1は0である。$X_{コア}$のいくつかの態様において、x^1は1である。$X_{コア}$のいくつかの態様において、x^1は2である。$X_{コア}$のいくつかの態様において、x^1は0、3である。$X_{コア}$のいくつかの態様において、x^1は4である。$X_{コア}$のいくつかの態様において、x^1は5である。$X_{コア}$のいくつかの態様において、x^1は6である。

【０１１７】

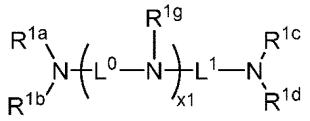
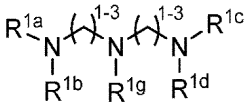
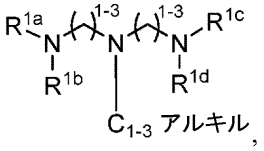
$X_{コア}$のいくつかの態様において、コアは、構造式：

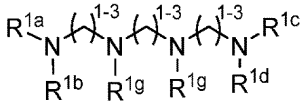
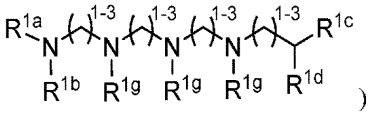

(例えば、)

を含む。$X_{コア}$のいくつかの態様において、コアは、構造式：

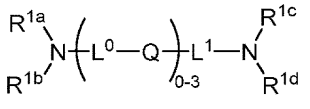
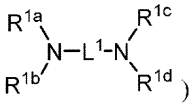


を含む。$X_{コア}$のいくつかの態様において、コアは、構造式：

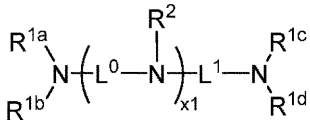

(例えば、, ,

, または )

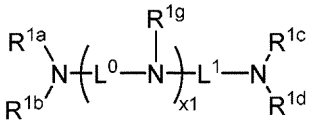
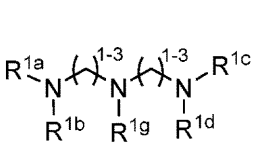
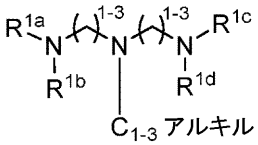
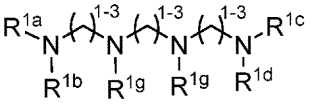
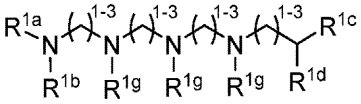
を含む。$X_{コア}$のいくつかの態様において、コアは、構造式：


(例えば、)

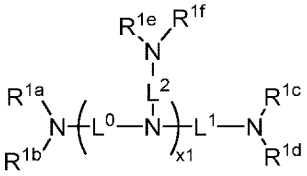
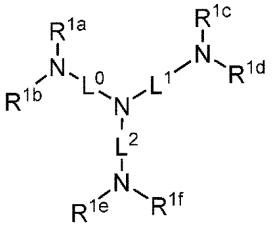
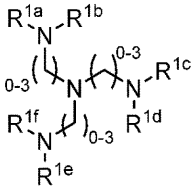
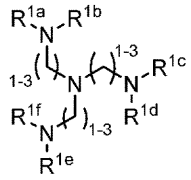
を含む。$X_{コア}$のいくつかの態様において、コアは、構造式：



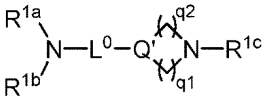
を含む。$X_{コア}$のいくつかの態様において、コアは、構造式：


(例えば、

,

,

, または

)

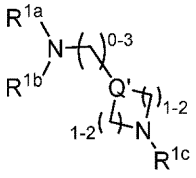
を含む。Xコアのいくつかの態様において、コアは、構造式：

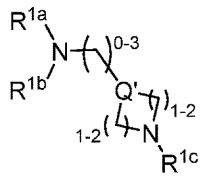
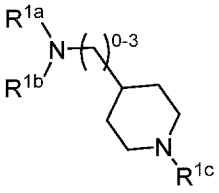
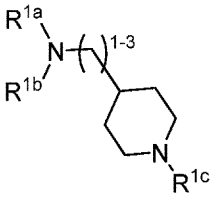
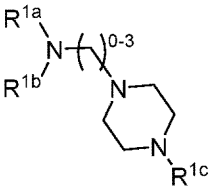

(例えば、

, 例えば

または

)

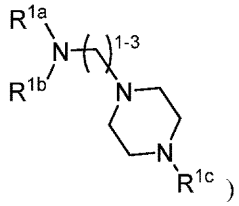
を含む。Xコアのいくつかの態様において、コアは、構造式：



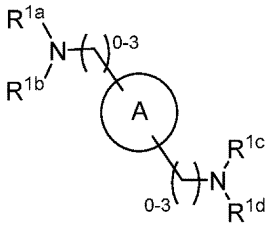
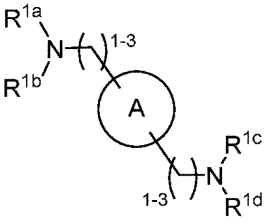
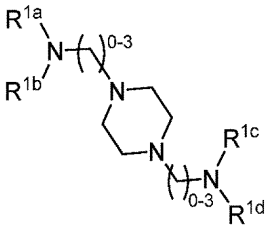
を含み、式中、Q'は、-NR^2-または-CR^{3a}R^{3b}-であり；q^{1}およびq^{2}は、各々独立して、1または2である。Xコアのいくつかの態様において、コアは、構造式：

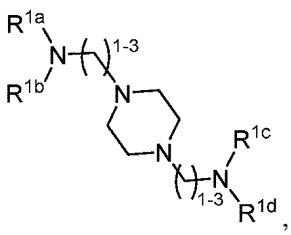
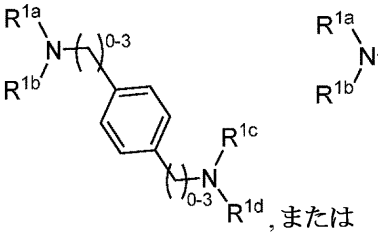
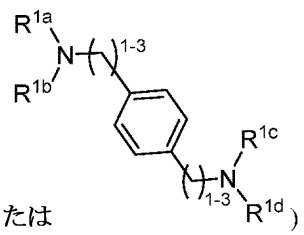

または


(例えば、
,
,
, または

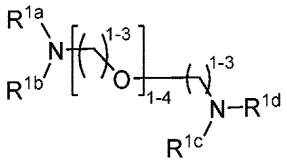

)

を含む。Xコアのいくつかの態様において、コアは、構造式


または
(例えば、
,


,
,または
)

を含み、式中、環Aは、置換されていてもよいアリール、または置換されていてもよい（例えば、C_3-C_{12}、例えばC_3-C_5）ヘテロアリールである。Xコアのいくつかの態様において、コアは、構造式



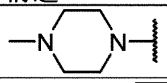
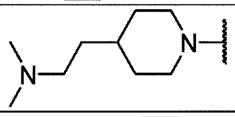
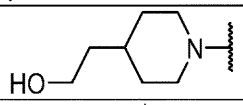
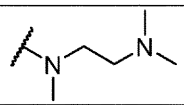
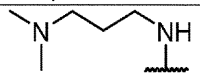
を有する。

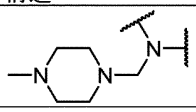
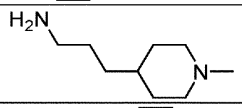
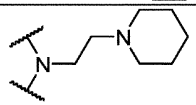
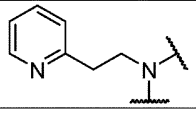
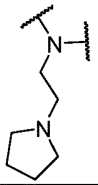
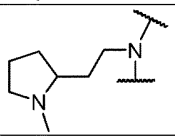
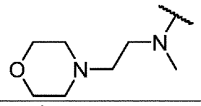
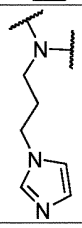
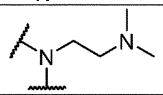
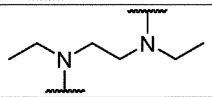
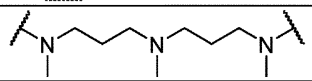
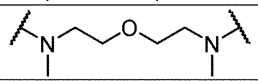
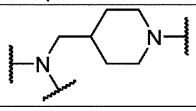
【０１１８】

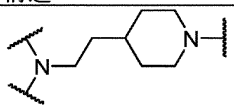
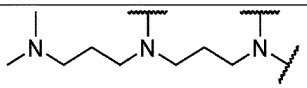
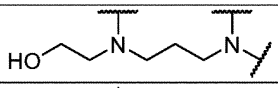
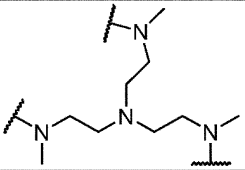
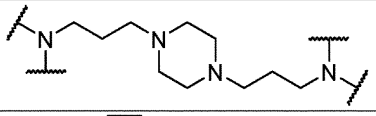
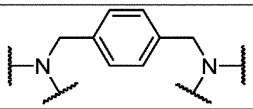
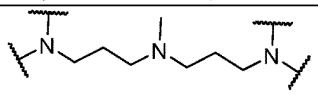
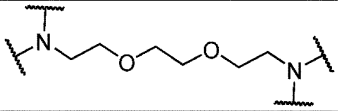
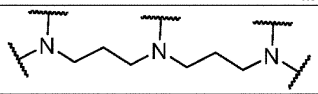
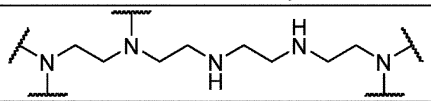
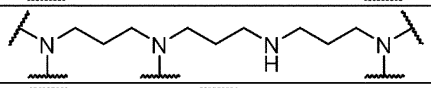
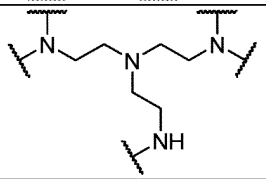
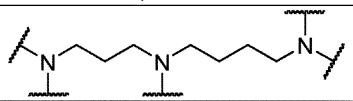
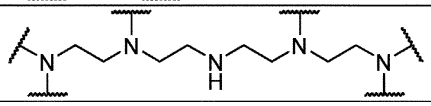
Xコアのいくつかの態様において、コアは、表1に示される構造式、およびその薬学的に許容される塩を含み、式中、*は、複数の分枝のうちの1つの分枝に対するコアの付着点を示す。いくつかの態様において、表1の例示的なコアは、列記される立体異性体（すなわち、エナンチオマー、ジアステレオマー）に限定されない。

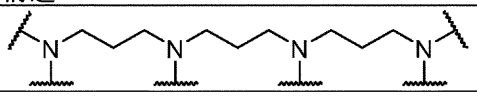
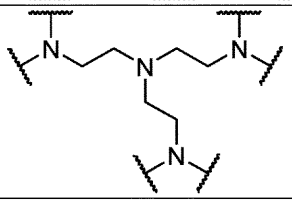
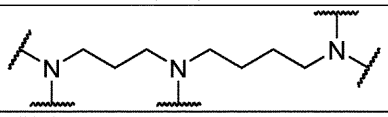
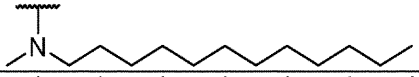
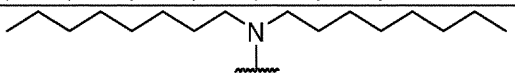
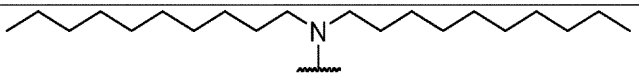
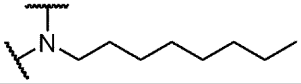
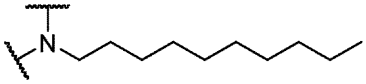
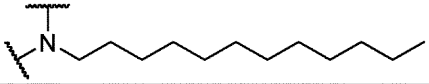
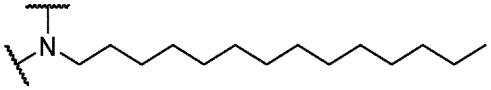
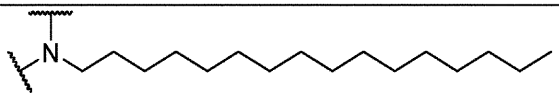
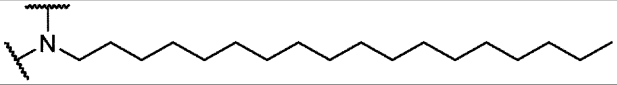
【０１１９】

（表１）例示的なコア構造

ID #	構造
1A1	
1A2	
1A3	
1A4	
1A5	

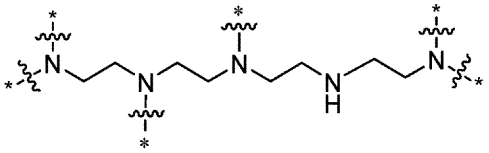
ID #	構造
2A1	
2A2	
2A3	
2A4	
2A5	
2A6	
2A7	
2A8	
2A9	
2A10	
2A11	
2A12	
3A1	

ID #	構造
3A2	
3A3	
3A4	
3A5	
4A1	
4A2	
4A3	
4A4	
5A1	
5A2	
5A3	
5A4	
5A5	
6A1	

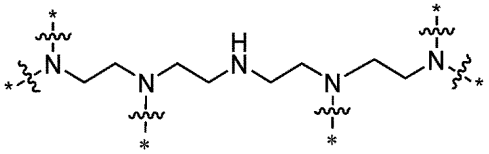
ID #	構造
6A2	
6A3	
6A4	
1H1	
1H2	
1H3	
2H1	
2H2	
2H3	
2H4	
2H5	
2H6	

【０１２０】

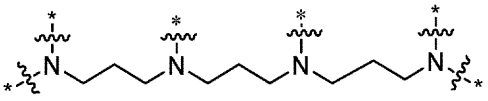
Ｘコアのいくつかの態様において、コアは、



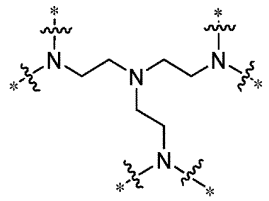
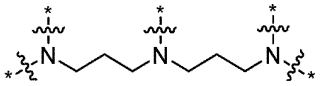
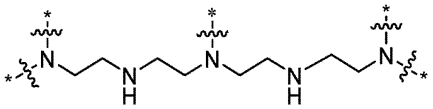
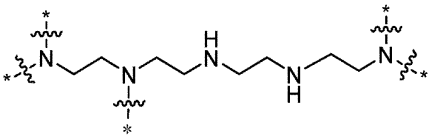
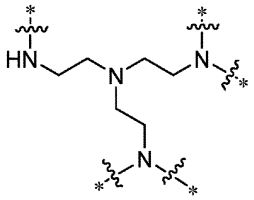
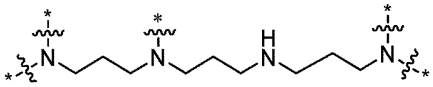
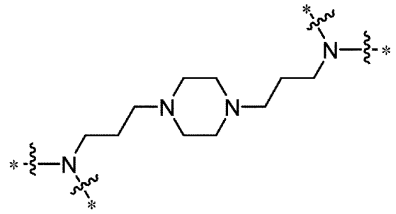
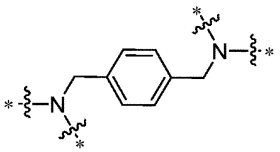
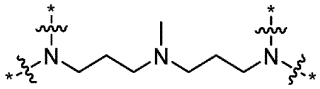
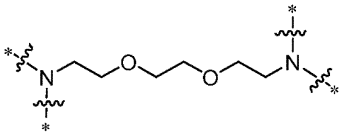
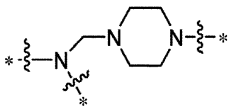
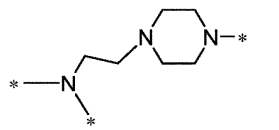
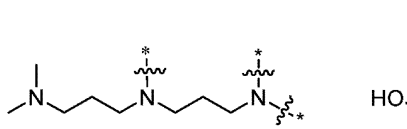
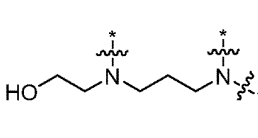
、

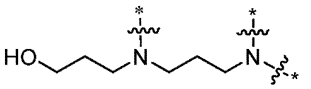


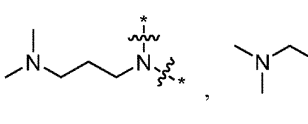
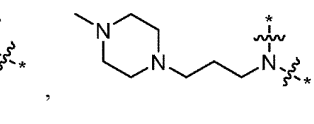
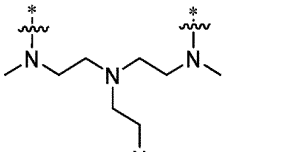
、



、

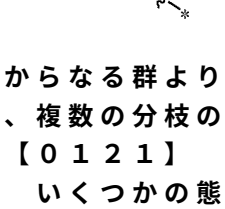

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


からなる群より選択される構造式、およびその薬学的に許容される塩を含み、式中、*は、複数の分枝のうちの1つの分枝に対するコアの付着点を示す。

【０１２１】

いくつかの態様において、複数（Ｎ）の分枝は、少なくとも3個の分枝、少なくとも4個の分枝、少なくとも5個の分枝を含む。いくつかの態様において、複数（Ｎ）の分枝は、少なくとも3個の分枝を含む。いくつかの態様において、複数（Ｎ）の分枝は、少なくとも4個の分枝を含む。いくつかの態様において、複数（Ｎ）の分枝は、少なくとも5個の分枝を含む。

【０１２２】

$X_{分枝}$のいくつかの態様において、gは、1、2、3、または4である。$X_{分枝}$のいくつかの態様において、gは1である。$X_{分枝}$のいくつかの態様において、gは2である。$X_{分枝}$のいくつかの態様において、gは3である。$X_{分枝}$のいくつかの態様において、gは4である。

【０１２３】

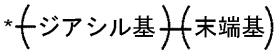
$X_{分枝}$のいくつかの態様において、$Z=2^{(g-1)}$であり、かつg＝1の時、G＝0である。$X_{分枝}$のいくつかの態様において、$Z=2^{(g-1)}$であり、かつg≠1の時、

$$G=\sum_{i=0}^{i=g-2}2^{i}$$

である。

【０１２４】

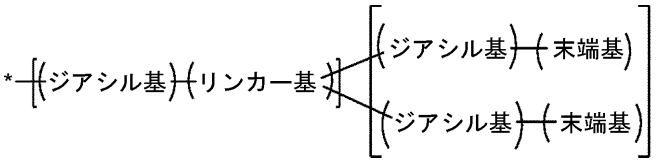
$X_{分枝}$のいくつかの態様において、g＝1、G＝0、Z＝1であり、複数の分枝のうちの各分枝は、構造式を含み、複数の分枝のうちの各分枝は、構造式



を含む。

【０１２５】

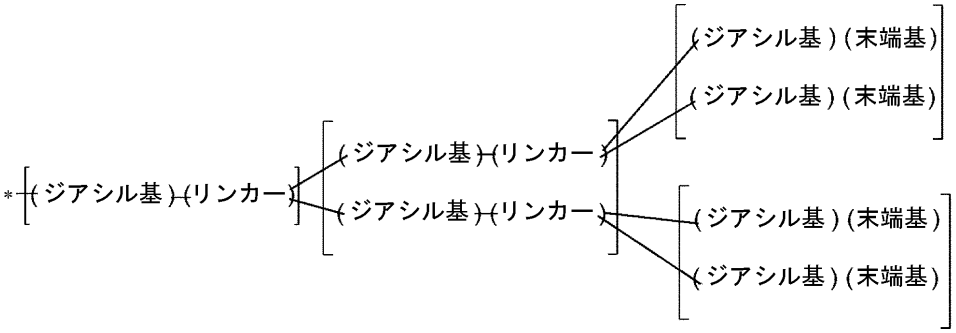
$X_{分枝}$のいくつかの態様において、g＝2、G＝1、Z＝2であり、複数の分枝のうちの各分枝は、構造式



を含む。

【０１２６】

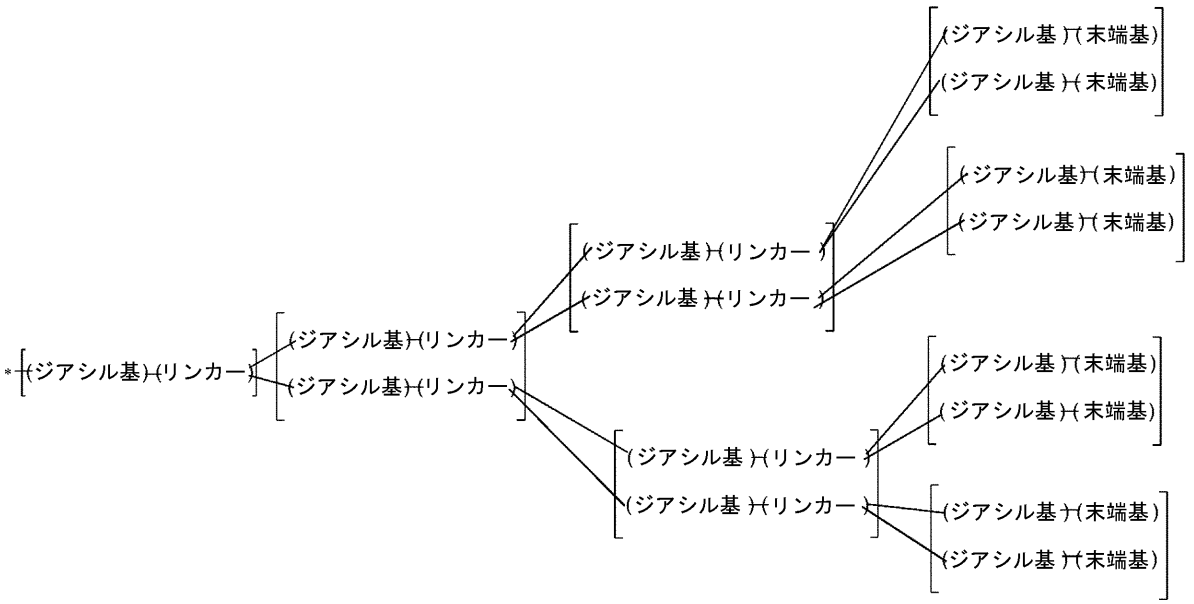
$X_{分枝}$のいくつかの態様において、g＝3、G＝3、Z＝4であり、複数の分枝のうちの各分枝は、構造式



を含む。

【０１２７】

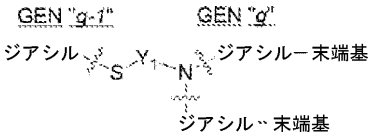
$X_{分枝}$のいくつかの態様において、g＝4、G＝7、Z＝8であり、複数の分枝のうちの各分枝は、構造式



を含む。

【０１２８】

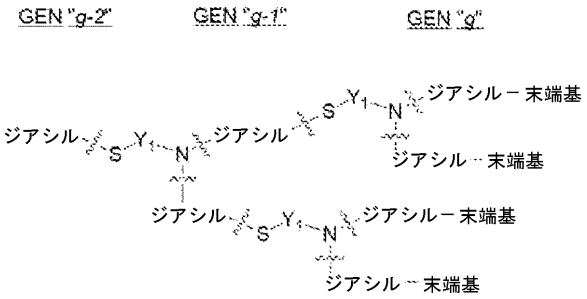
いくつかの態様において、世代（ｇ）＝１を有する本明細書に記載されるデンドリマーまたはデンドロンは、構造：



を有する。

【０１２９】

いくつかの態様において、世代（ｇ）＝１を有する本明細書に記載されるデンドリマーまたはデンドロンは、構造：



を有する。

【０１３０】

世代１～４についての本明細書に記載されるデンドリマーまたはデンドロンの例示的な配合を、表２に示す。ジアシル基、リンカー基、および末端基の数は、ｇに基づいて計算することができる。

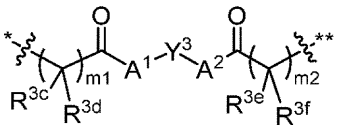
【０１３１】

（表２）世代（ｇ）に基づくデンドリマーまたはデンドロンの基の配合

	$g=1$	$g=2$	$g=3$	$g=4$	
ジアシル基の数	1	1+2=3	$1+2+2^2=7$	$1+2+2^2+2^3=15$	$1+2+\ldots+2^{g-1}$
リンカー基の数	0	1	$1+2$	$1+2+2^2$	$1+2+\ldots+2^{g-2}$
末端基の数	1	2	2^2	2^3	$2^{(g-1)}$

【０１３２】

いくつかの態様において、ジアシル基は、独立して、構造式



を含み、*は、その近位端でのジアシル基の付着点を示し、かつ**は、その遠位端でのジアシル基の付着点を示す。

【０１３３】

$X_{分枝}$のジアシル基のいくつかの態様において、Y^3は、各出現で独立して、置換されていてもよい;アルキレン、置換されていてもよいアルケニレン、または置換されていてもよいアレニレンである。$X_{分枝}$のジアシル基のいくつかの態様において、Y^3は、各出現で独立して、置換されていてもよいアルキレン（例えば、C_1-C_{12}）である。$X_{分枝}$のジアシル基のいくつかの態様において、Y^3は、各出現で独立して、置換されていてもよいアルケニレン（例えば、C_1-C_{12}）である。$X_{分枝}$のジアシル基のいくつかの態様において、Y^3は、各出現で独立して、置換されていてもよいアレニレン（例えば、C_1-C_{12}）である。

【０１３４】

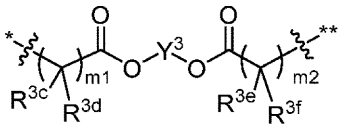
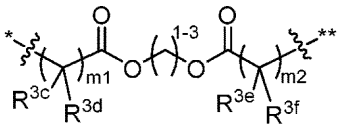
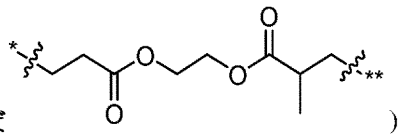
$X_{分枝}$のジアシル基のいくつかの態様において、A^1およびA^2は、各出現で各々独立して、-O-、-S-、または-NR^4-である。$X_{分枝}$のジアシル基のいくつかの態様において、A^1およびA^2は、各出現で各々独立して、-O-である。$X_{分枝}$のジアシル基のいくつかの態様において、A^1およびA^2は、各出現で各々独立して、-S-である。$X_{分枝}$のジアシル基のいくつかの態様において、A^1およびA^2は、各出現で各々独立して、-NR^4-であり、R^4は、水素または置換されていてもよいアルキル（例えば、C_1-C_6）である。$X_{分枝}$のジアシル基のいくつかの態様において、m^1およびm^2は、各出現で各々独立して、1、2、または3である。$X_{分枝}$のジアシル基のいくつかの態様において、m^1およびm^2は、各出現で各々独立して、1である。$X_{分枝}$のジアシル基のいくつかの態様において、m^1およびm^2は、各出現で各々独立して、2である。$X_{分枝}$のジアシル基のいくつかの態様において、m^1およびm^2は、各出現で各々独立して、3である。$X_{分枝}$のジアシル基のいくつかの態様において、R^{3c}、R^{3d}、R^{3e}、およびR^{3f}は、各出現で各々独立して、水素または置換されていてもよいアルキルである。$X_{分枝}$のジアシル基のいくつかの態様において、R^{3c}、R^{3d}、R^{3e}、およびR^{3f}は、各出現で各々独立して、水素である。$X_{分枝}$のジアシル基のいくつかの態様において、R^{3c}、R^{3d}、R^{3e}、およびR^{3f}は、各出現で各々独立して、置換されていてもよい（例えば、C_1-C_8）アルキルである。

【０１３５】

ジアシル基のいくつかの態様において、A^1は、-O-または-NH-である。ジアシル基のいくつかの態様において、A^1は、-O-である。ジアシル基のいくつかの態様において、A^2は、-O-または-NH-である。ジアシル基のいくつかの態様において、A^2は、-O-である。ジアシル基のいくつかの態様において、Y^3は、C_1-C_{12}（例えば、C_1-C_6、例えばC_1-C_3）アルキレンである。

【０１３６】

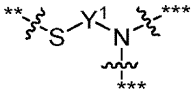
ジアシル基のいくつかの態様において、ジアシル基は、各出現で独立して、構造式


(例えば、

,
例えば

)

を含み、かつ任意で、R^{3c}、R^{3d}、R^{3e}、およびR^{3f}は、各出現で各々独立して、水素またはC_1-C_3アルキルである。

【０１３７】

いくつかの態様において、リンカー基は、独立して、構造式



を含み、**は、近位ジアシル基に対するリンカーの付着点を示し、かつ***は、遠位ジアシル基に対するリンカーの付着点を示す。

【０１３８】

存在する場合の$X_{分枝}$のリンカー基のいくつかの態様において、Y_1は、各出現で独立して、置換されていてもよいアルキレン、置換されていてもよいアルケニレン、または置換されていてもよいアレニレンである。存在する場合の$X_{分枝}$のリンカー基のいくつかの態様において、Y_1は、各出現で独立して、置換されていてもよいアルキレン（例えば、C_1-C_{12}）である。存在する場合の$X_{分枝}$のリンカー基のいくつかの態様において、Y_1は、各出現で独立して、置換されていてもよいアルケニレン（例えば、C_1-C_{12}）である。存在する場合の$X_{分枝}$のリンカー基のいくつかの態様において、Y_1は、各出現で独立して、置換されていてもよいアレニレン（例えば、C_1-C_{12}）である。

【０１３９】

$X_{分枝}$の末端基のいくつかの態様において、各末端基は、独立して、置換されていてもよいアルキルチオール、および置換されていてもよいアルケニルチオールから選択される。$X_{分枝}$の末端基のいくつかの態様において、各末端基は、置換されていてもよいアルキルチオール（例えば、C_1-C_{18}、例えばC_4-C_{18}）である。$X_{分枝}$の末端基のいくつかの態様において、各末端基は、置換されていてもよいアルケニルチオール（例えば、C_1-C_{18}、例えばC_4-C_{18}）である。

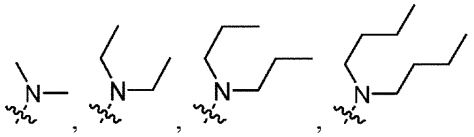
【０１４０】

$X_{分枝}$の末端基のいくつかの態様において、各末端基は、独立して、C_1-C_{18}アルケニルチオールまたはC_1-C_{18}アルキルチオールであり、かつアルキル部分またはアルケニル部分は、ハロゲン、C_6-C_{12}アリール、C_1-C_{12}アルキルアミノ、C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル、-OH、-C(O)OH、-C(O)N(C_1-C_3アルキル)-(C_1-C_6アルキレン)-(C_1-C_{12}アルキルアミノ)、-C(O)N(C_1-C_3アルキル)-(C_1-C_6アルキレン)-(C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル)、-C(O)-(C_1-C_{12}アルキルアミノ)、および-C(O)-(C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル)から各々独立して選択される1つまたは複数の置換基で置換されていてもよく、前述の置換基のうちのいずれかのC_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル部分は、C_1-C_3アルキルまたはC_1-C_3ヒドロキシアルキルで置換されていてもよい。

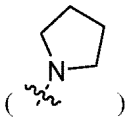
【０１４１】

$X_{分枝}$の末端基のいくつかの態様において、各末端基は、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルケニルチオールまたはC_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールであり、該アルキル部分またはアルケニル部分は、ハロゲン、C_6-C_{12}アリール（例えば

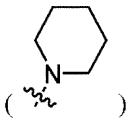
、フェニル）、C_1-C_{12}（例えば、C_1-C_8）アルキルアミノ（例えば、C_1-C_6モノ-アルキルアミノ（例えば-$NHCH_2CH_2CH_2CH_3$）またはC_1-C_8ジ-アルキルアミノ（例えば



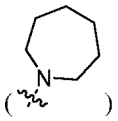
））、C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル（例えば、N-ピロリジニル



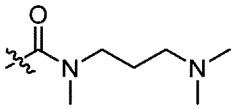
、N-ピペリジニル



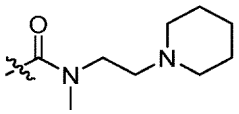
、N-アゼパニル



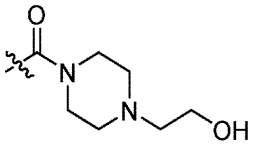
）、-OH、-C(O)OH、-C(O)N(C_1-C_3アルキル)-(C_1-C_6アルキレン)-(C_1-C_{12}アルキルアミノ（例えば、モノ-またはジ-アルキルアミノ））（例えば、



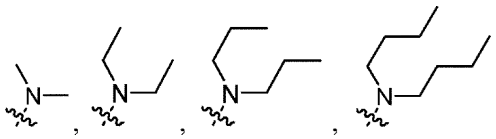
）、-C(O)N(C_1-C_3アルキル)-(C_1-C_6アルキレン)-(C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル)（例えば、



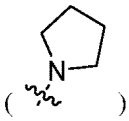
）、-C(O)-(C_1-C_{12}アルキルアミノ（例えば、モノ-またはジ-アルキルアミノ））、および-C(O)-(C_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル)（例えば、



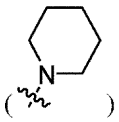
）から各々独立して選択される1つまたは複数の置換基で置換されていてもよく、前述の置換基のうちのいずれかのC_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル部分は、C_1-C_3アルキルまたはC_1-C_3ヒドロキシアルキルで置換されていてもよい。$X_{分枝}$の末端基のいくつかの態様において、各末端基は、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールであり、該アルキル部分は、1つの置換基-OHで置換されていてもよい。$X_{分枝}$の末端基のいくつかの態様において、各末端基は、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールであり、該アルキル部分は、C_1-C_{12}（例えば、C_1-C_8）アルキルアミノ（例えば、C_1-C_6モノ-アルキルアミノ（例えば-$NHCH_2CH_2CH_2CH_3$）またはC_1-C_8ジ-アルキルアミノ（例えば



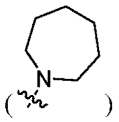
））、およびC_4-C_6 N-ヘテロシクロアルキル（例えば、N-ピロリジニル



、N-ピペリジニル



、N-アゼパニル



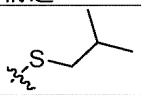
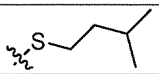
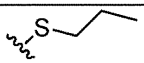
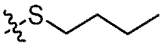
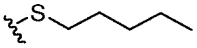
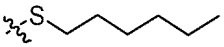
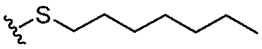
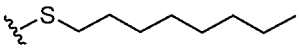
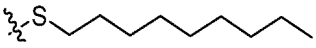
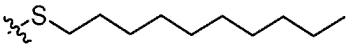
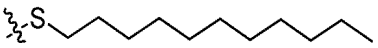
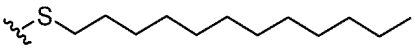
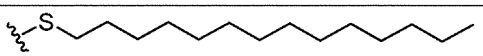
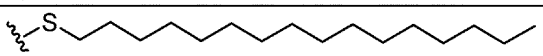
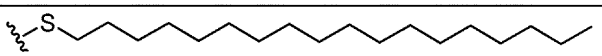
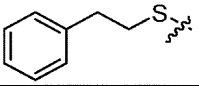
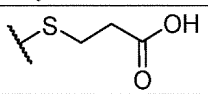
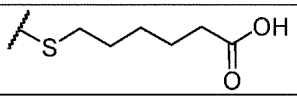
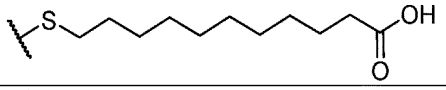
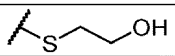
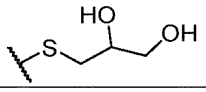
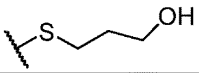
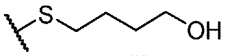
）から選択される1つの置換基で置換されていてもよい。$X_{分枝}$の末端基のいくつかの態様において、各末端基は、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルケニルチオールまたはC_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールである。$X_{分枝}$の末端基のいくつかの態様において、各末端基は、独立して、C_1-C_{18}（例えば、C_4-C_{18}）アルキルチオールである。

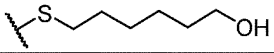
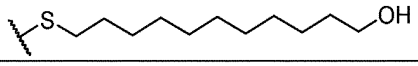
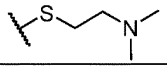
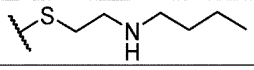
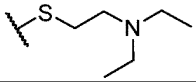
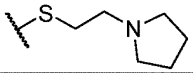
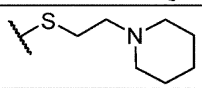
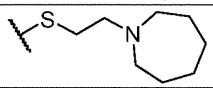
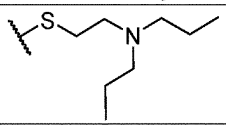
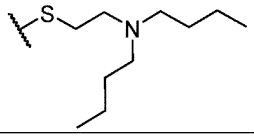
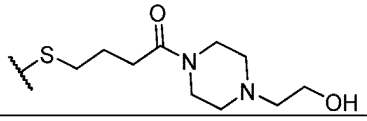
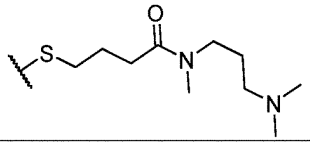
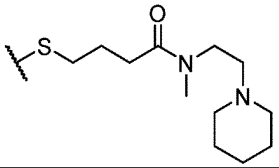
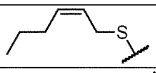
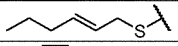
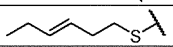
【０１４２】

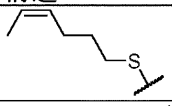
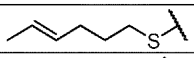
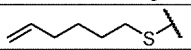
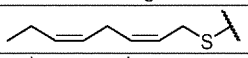
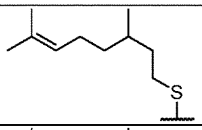
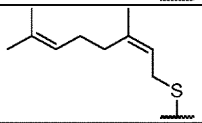
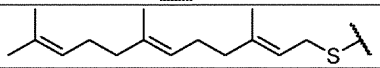
$X_{分枝}$の末端基のいくつかの態様において、各末端基は、独立して、表3に示される構造である。いくつかの態様において、本明細書に記載されるデンドリマーまたはデンドロンは、表3における選択される末端基またはその薬学的に許容される塩を含むことができる。いくつかの態様において、表3の例示的な末端基は、列記される立体異性体（すなわち、エナンチオマー、ジアステレオマー）に限定されない。

【０１４３】

（表３）例示的な末端基/周辺構造

ID #	構造
SC1	
SC2	
SC3	
SC4	
SC5	
SC6	
SC7	
SC8	
SC9	
SC10	
SC11	
SC12	
SC14	
SC16	
SC18	
SC19	
SO1	
SO2	
SO3	
SO4	
SO5	
SO6	
SO7	

ID #	構造
SO8	
SO9	
SN1	
SN2	
SN3	
SN4	
SN5	
SN6	
SN7	
SN8	
SN9	
SN10	
SN11	
2C	
2T	
3C	
3T	

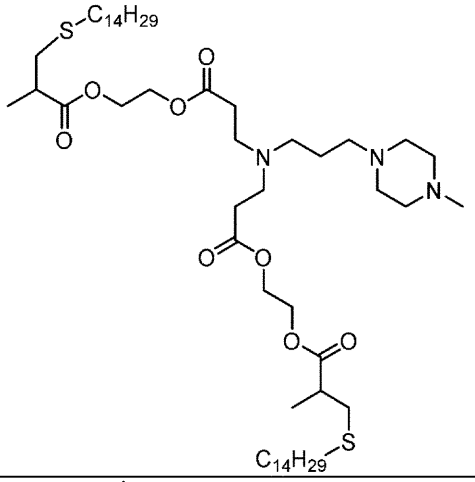
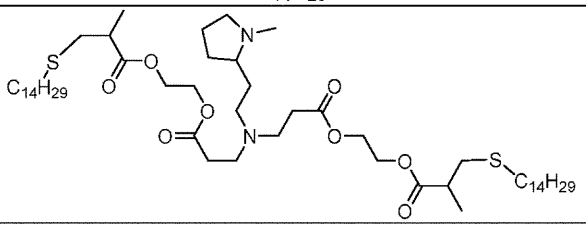
ID #	構造
4C	
4T	
5	
8/2	
シトロネロール (Cit)	
ネロール (Nerol)	
ファルネソール (Far)	

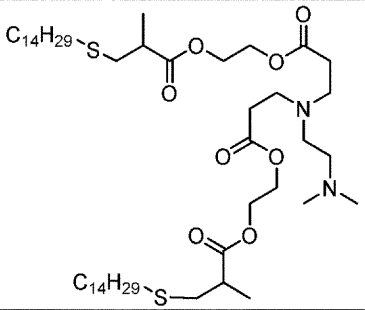
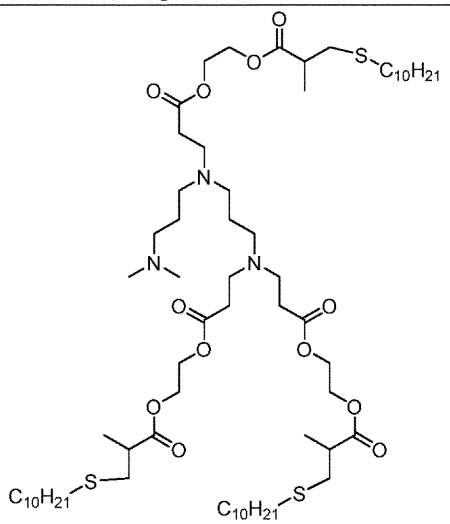
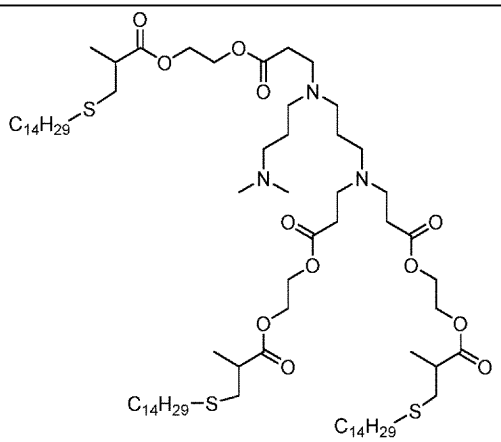
【０１４４】

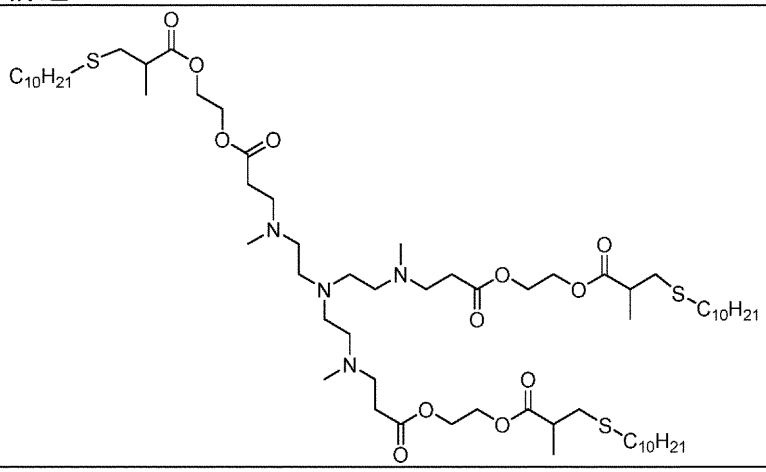
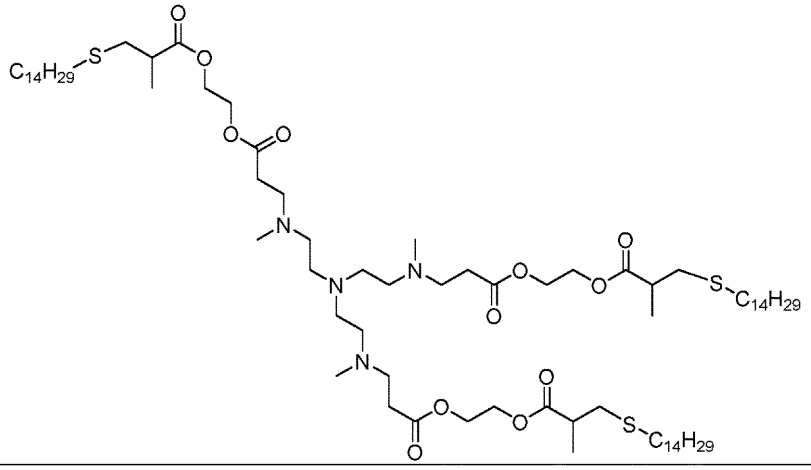
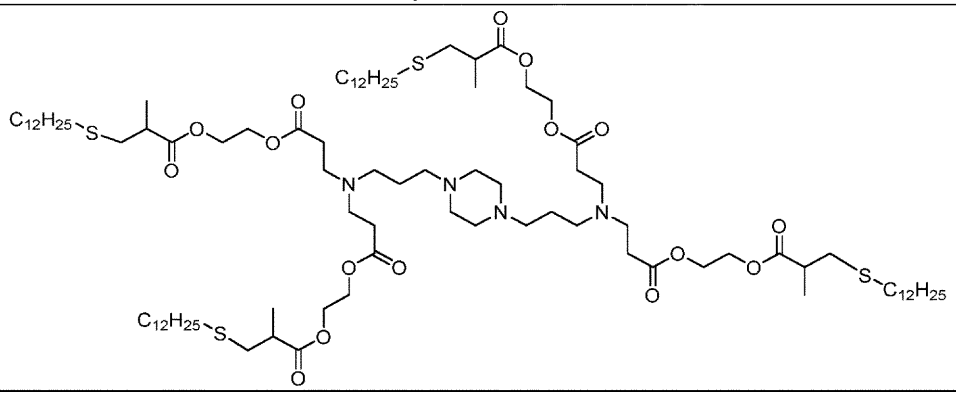
いくつかの態様において、式（Ｘ）のデンドリマーまたはデンドロンは、表４に示されるものおよびその薬学的に許容される塩から選択される。

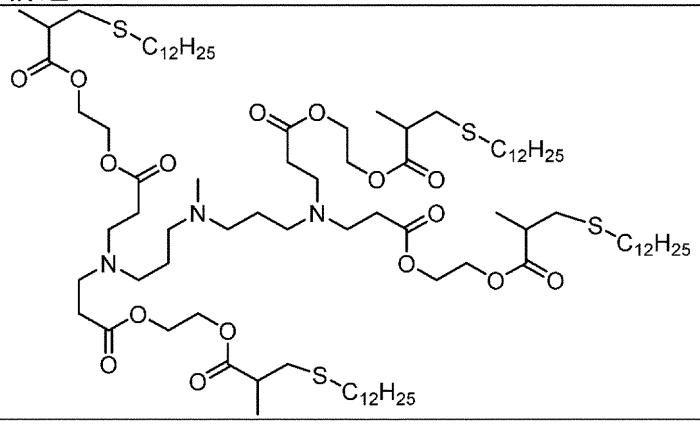
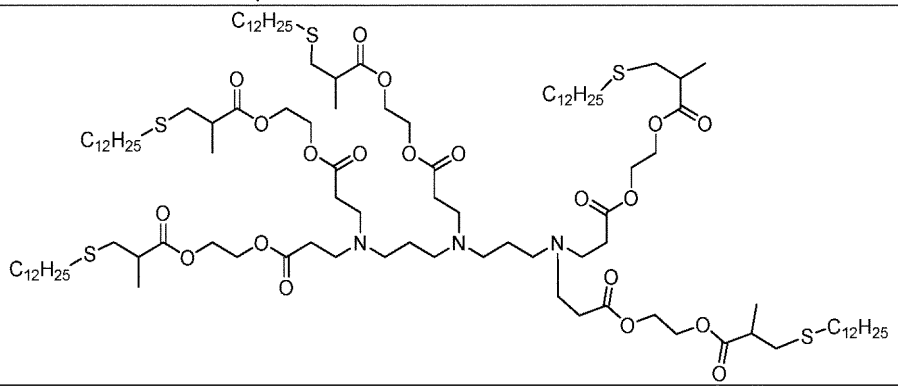
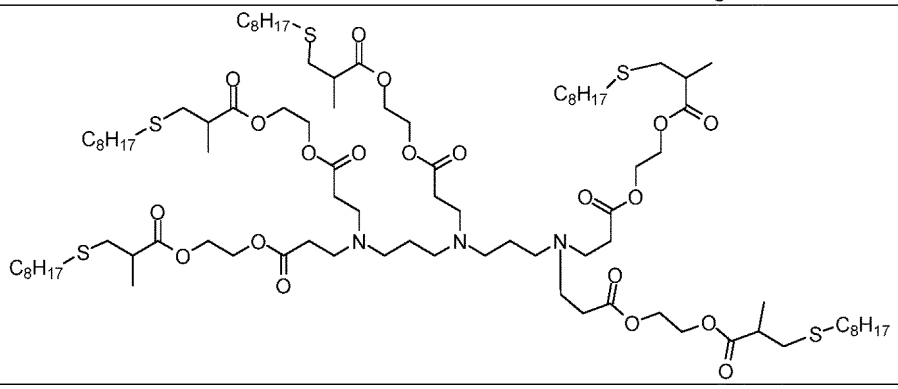
【０１４５】

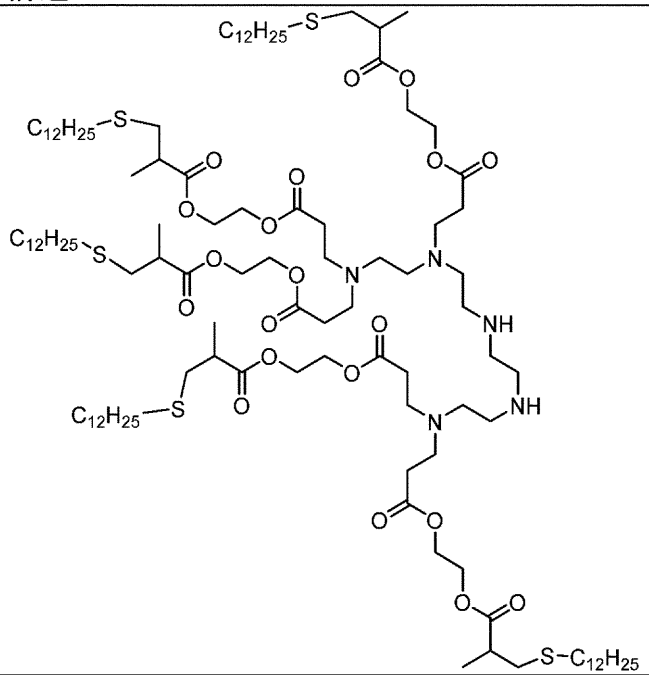
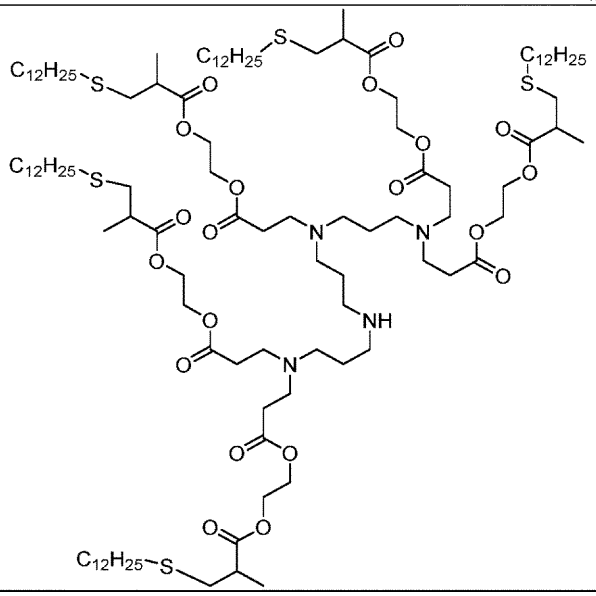
（表４）例示的なイオン化可能カチオン性リポ-デンドリマーまたはリポ-デンドロン

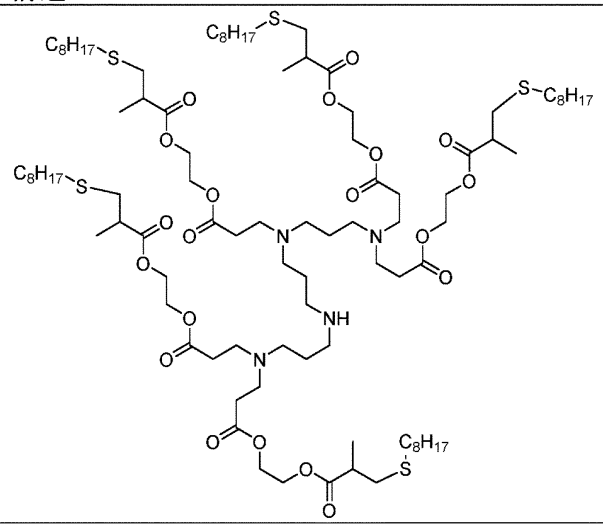
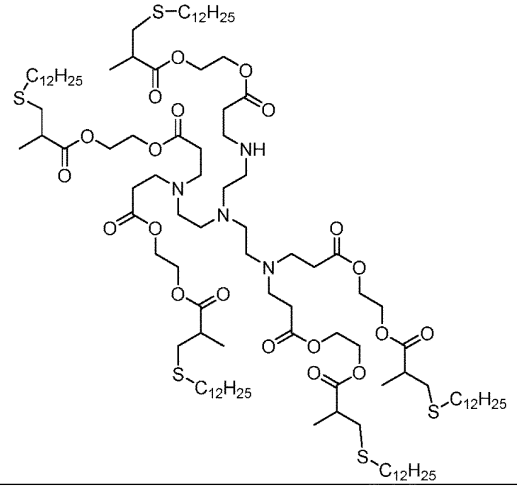
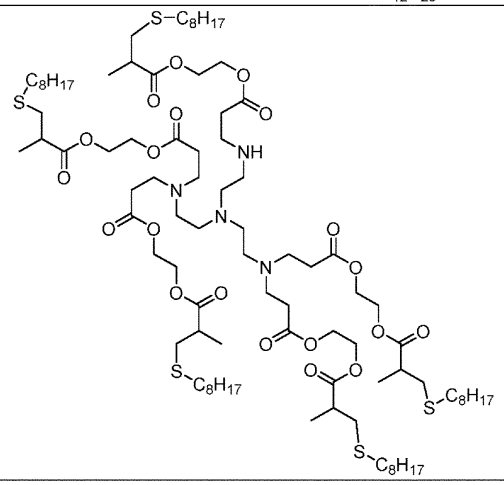
ID #	構造
2A2-SC14	
2A6-SC14	

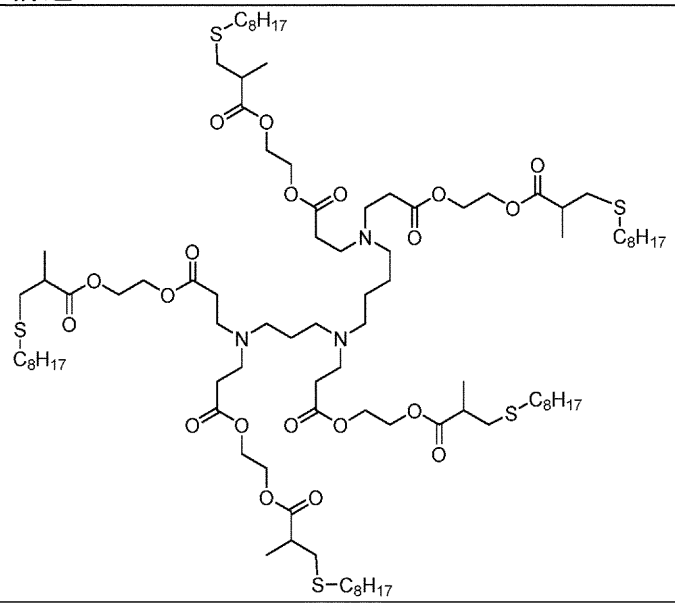
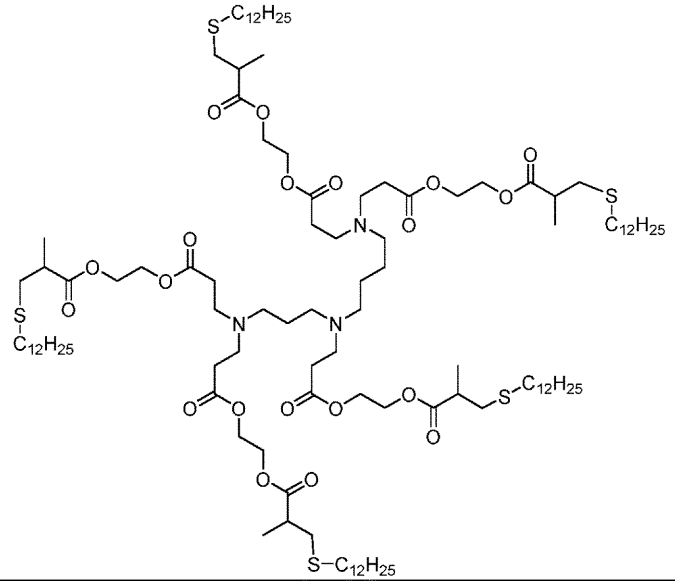
ID #	構造
2A9-SC14	
3A3-SC10	
3A3-SC14	

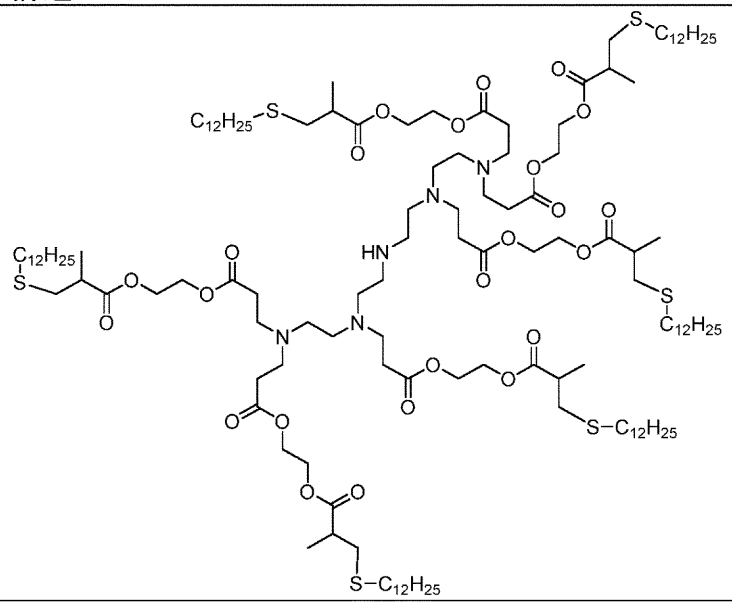
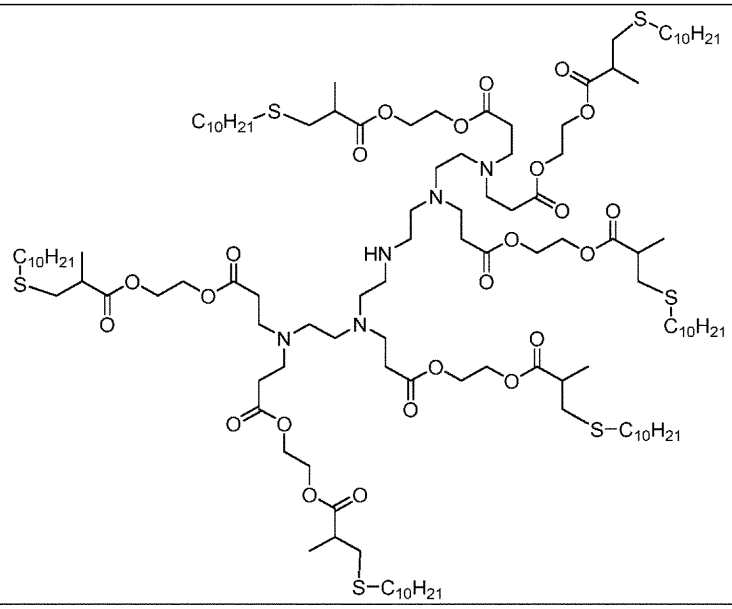
ID #	構造
3A5-SC10	
3A5-SC14	
4A1-SC12	

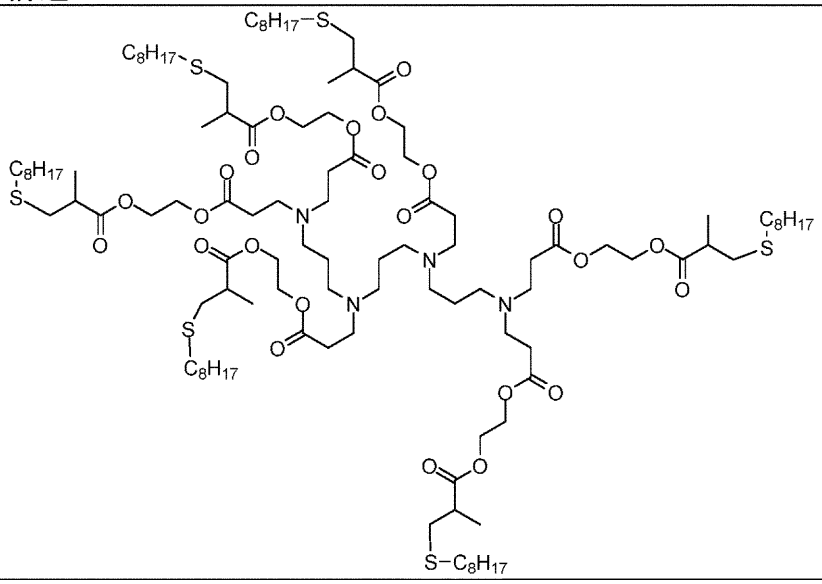
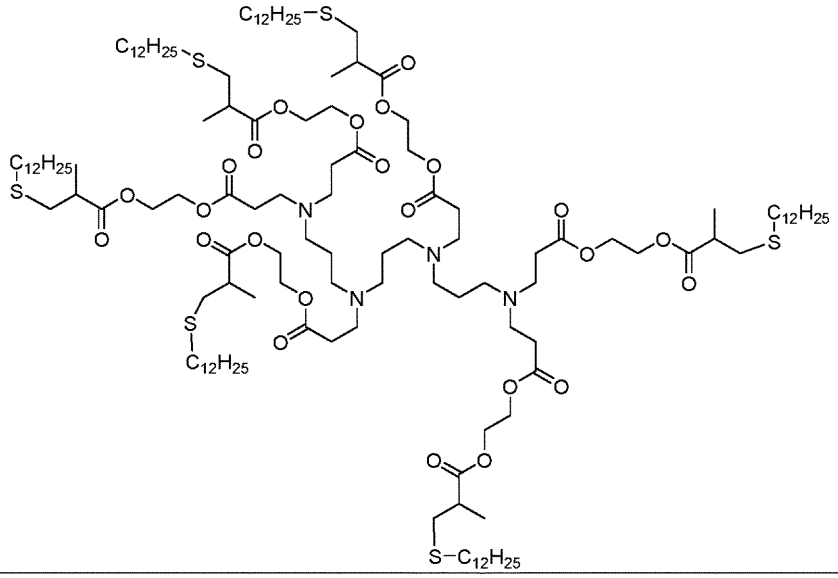
ID #	構造
4A3-SC12	
5A1-SC12	
5A1-SC8	

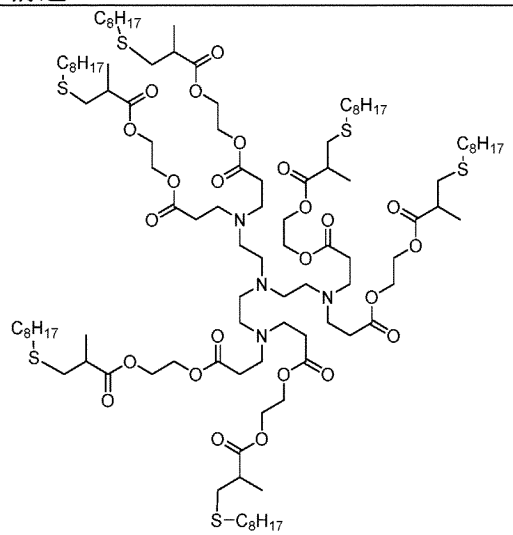
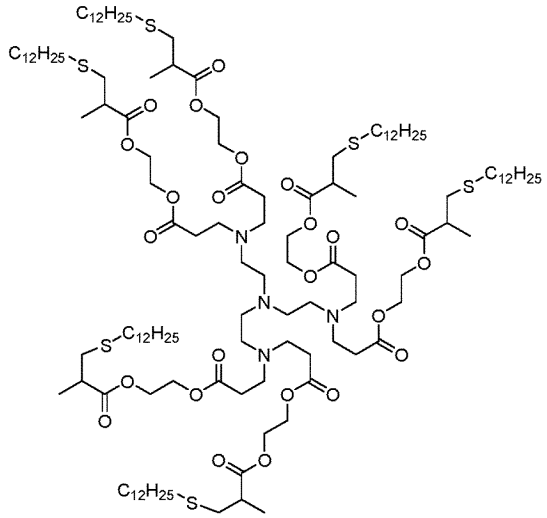
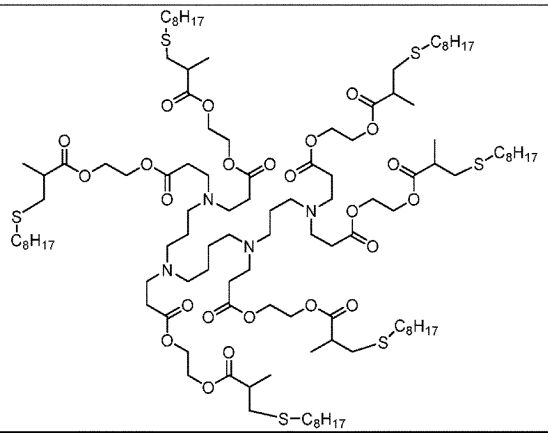
ID #	構造
5A2-2-SC12(5-アーム)	
5A3-1-SC12(5アーム)	

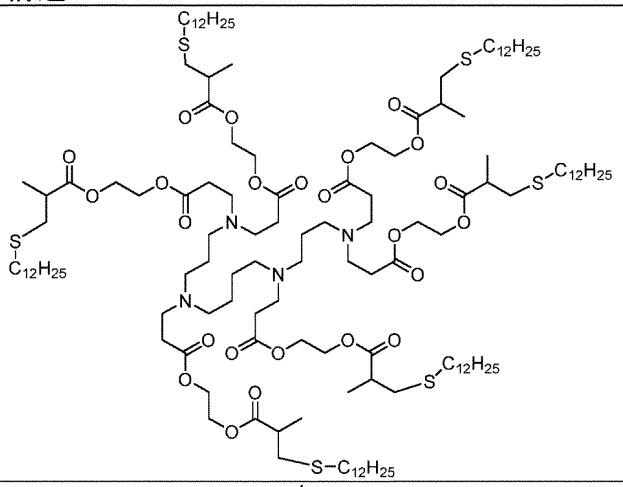
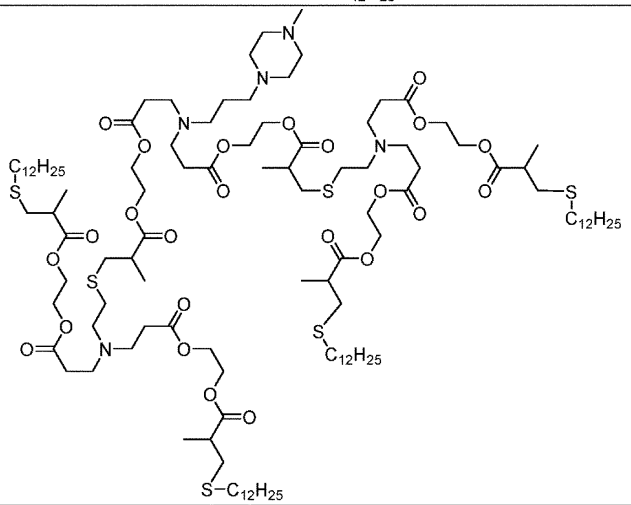
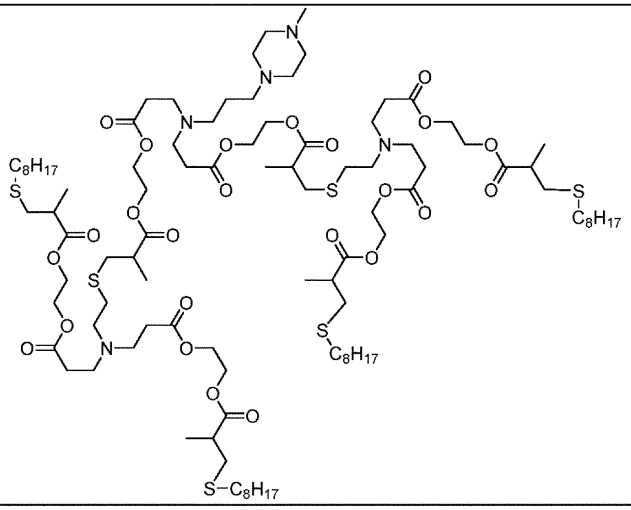
ID #	構造
5A3-1-SC8 (5-アーム)	
5A4-1-SC12 (5-アーム)	
5A4-1-SC8 (5-アーム)	

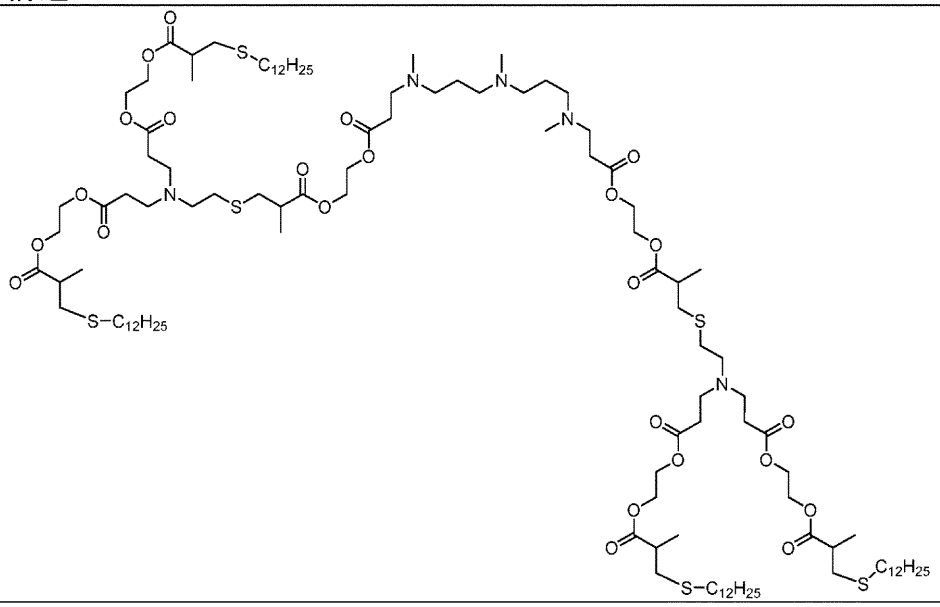
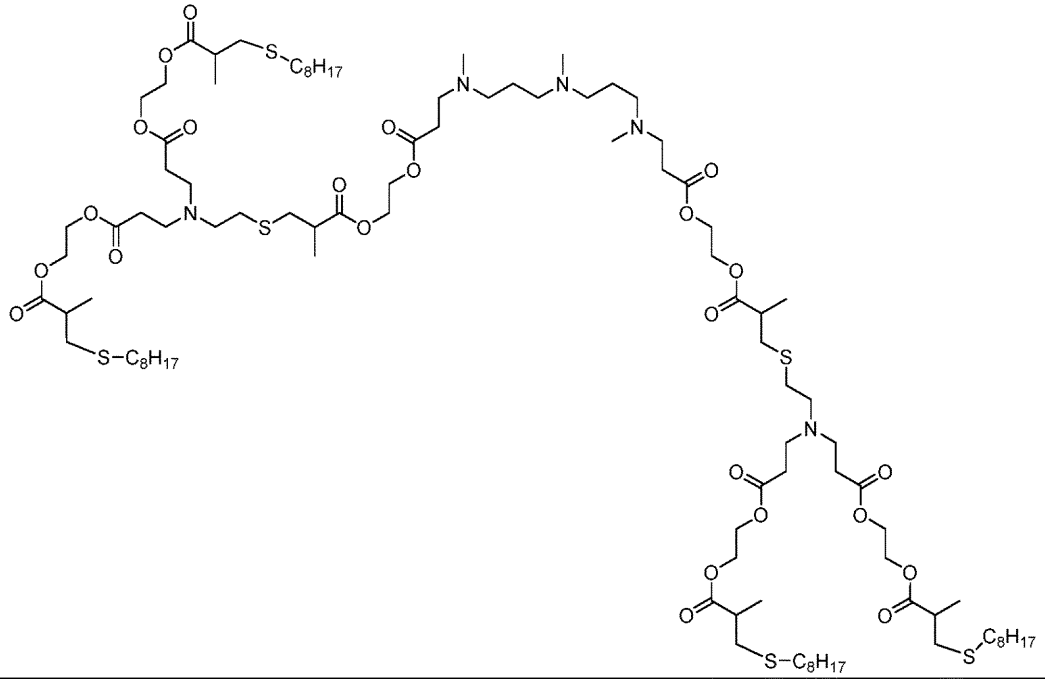
ID #	構造
5A5-SC8	
5A5-SC12	

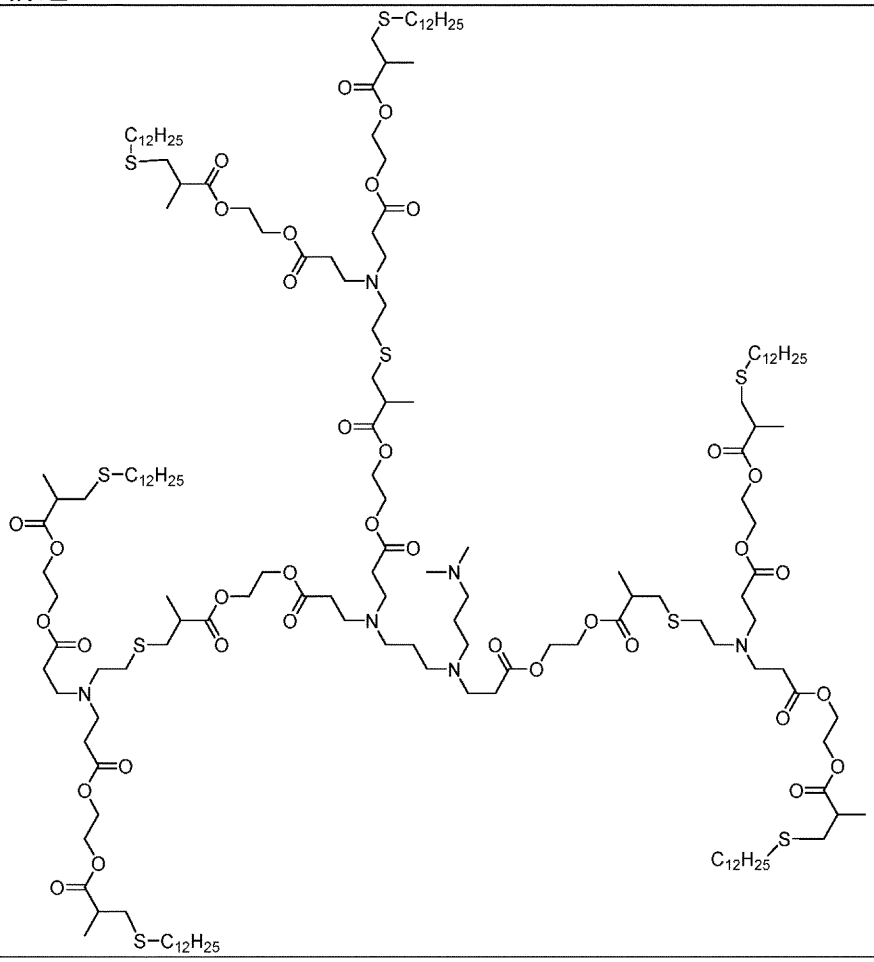
ID #	構造
5A2-4-SC12 (6-アーム)	
5A2-4-SC10 (6-アーム)	

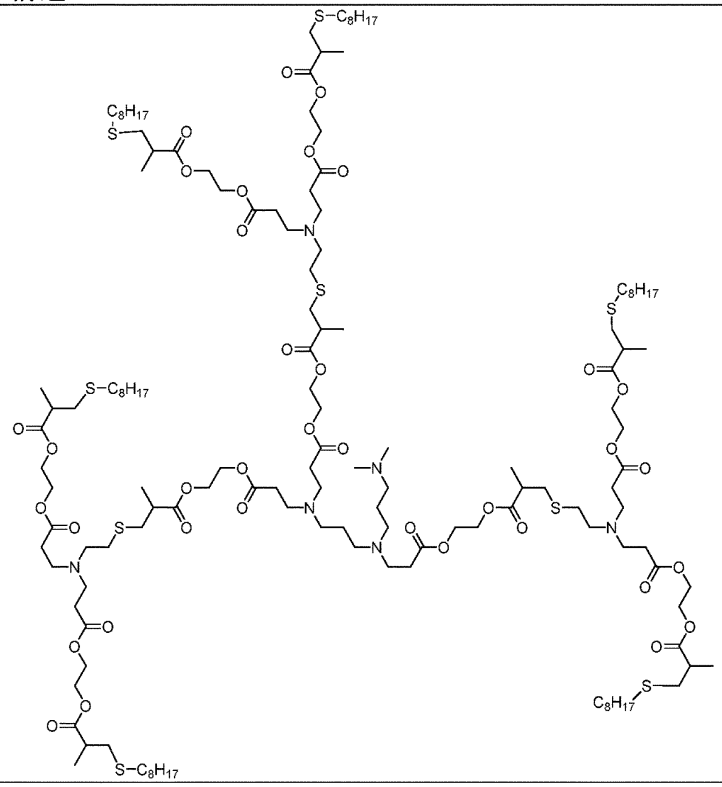
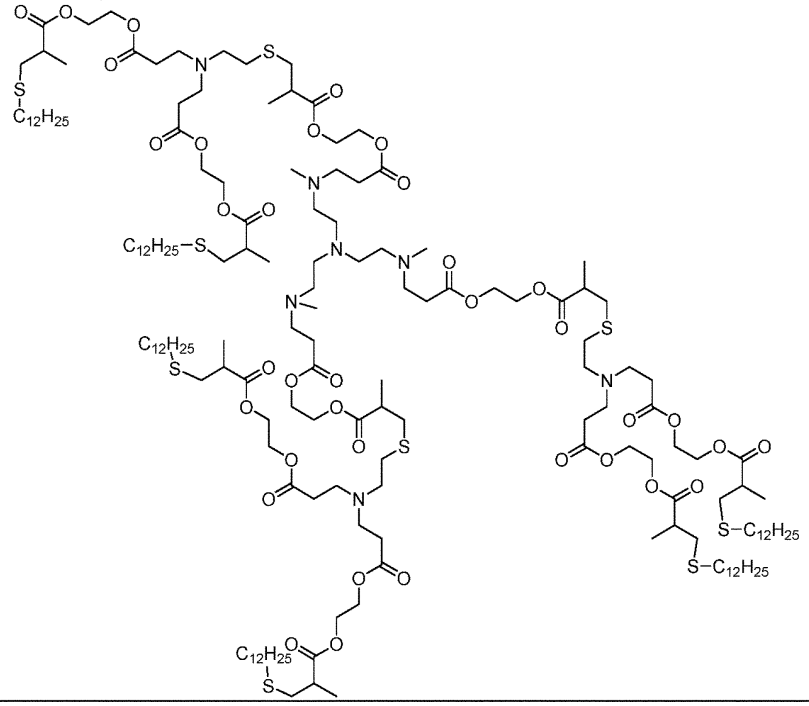
ID #	構造
5A3-2--SC8 (6-アーム)	
5A3-2-SC12 (6-アーム)	

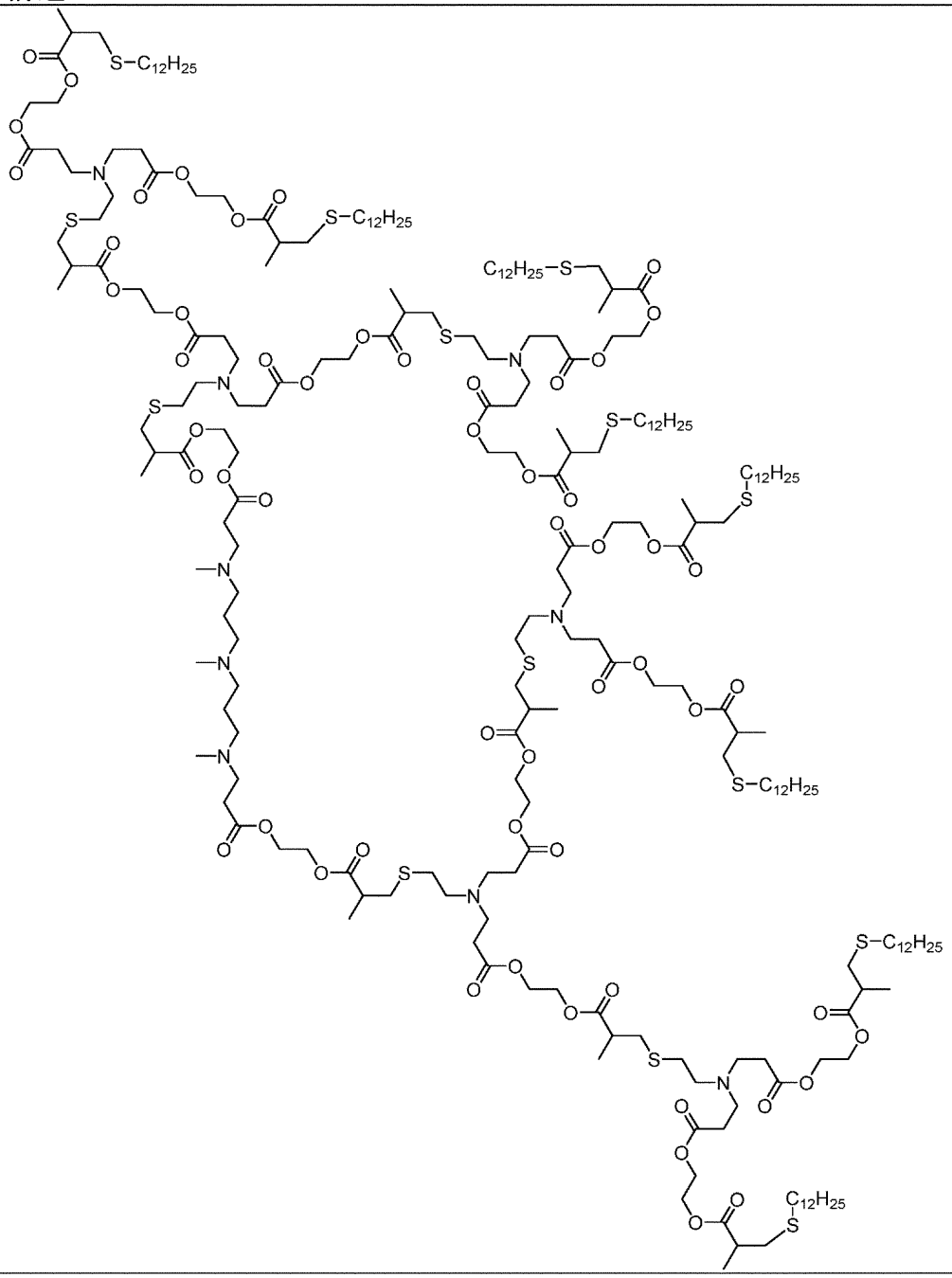
ID #	構造
5A4-2-SC8 (6-アーム)	
5A4-2-SC12 (6-アーム)	
6A4-SC8	

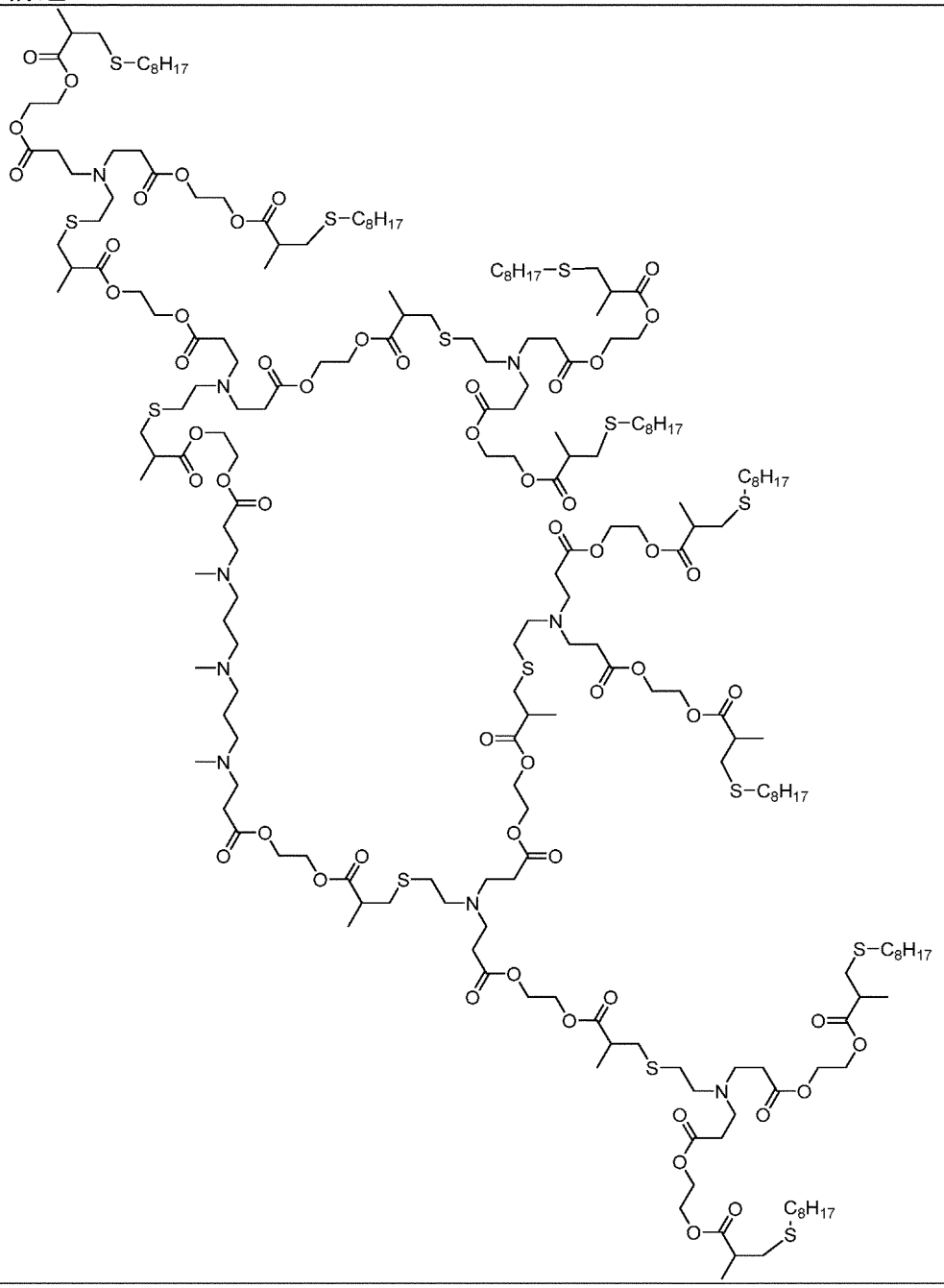
ID #	構造
6A4-SC12	
2A2-g2-SC12	
2A2-g2-SC8	

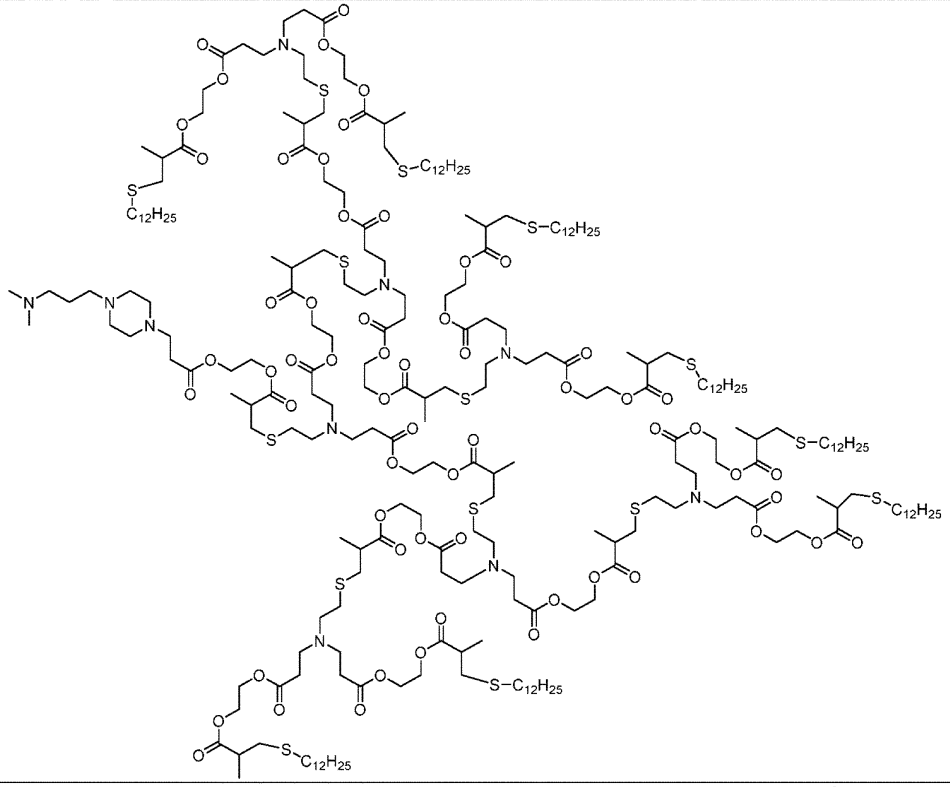
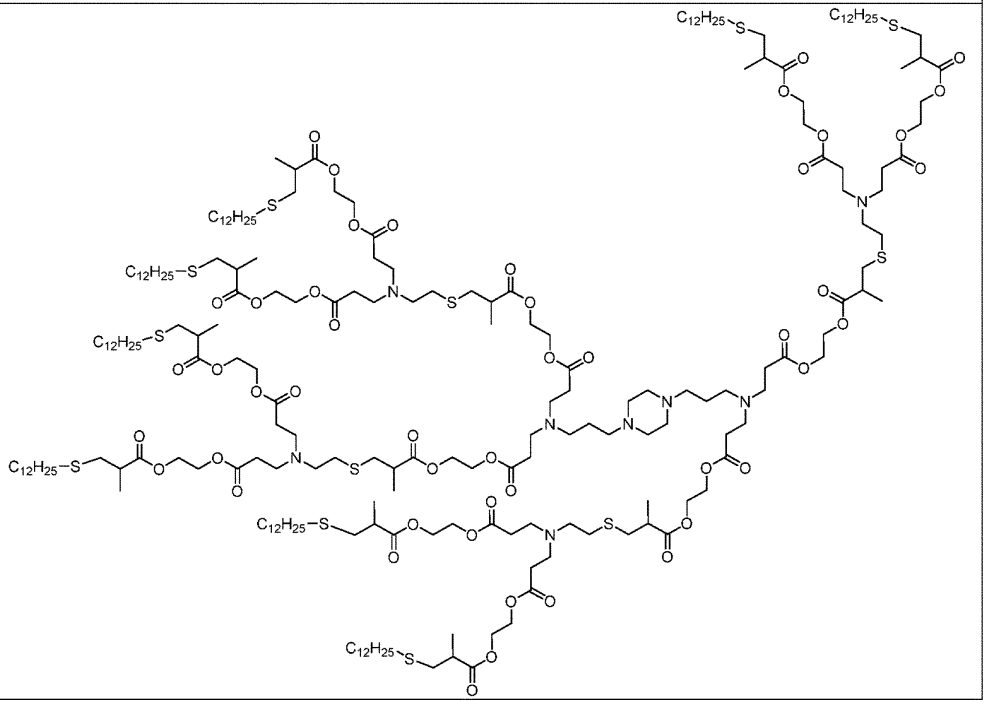
ID #	構造
2A11-g2-SC12	
2A11-g2-SC8	

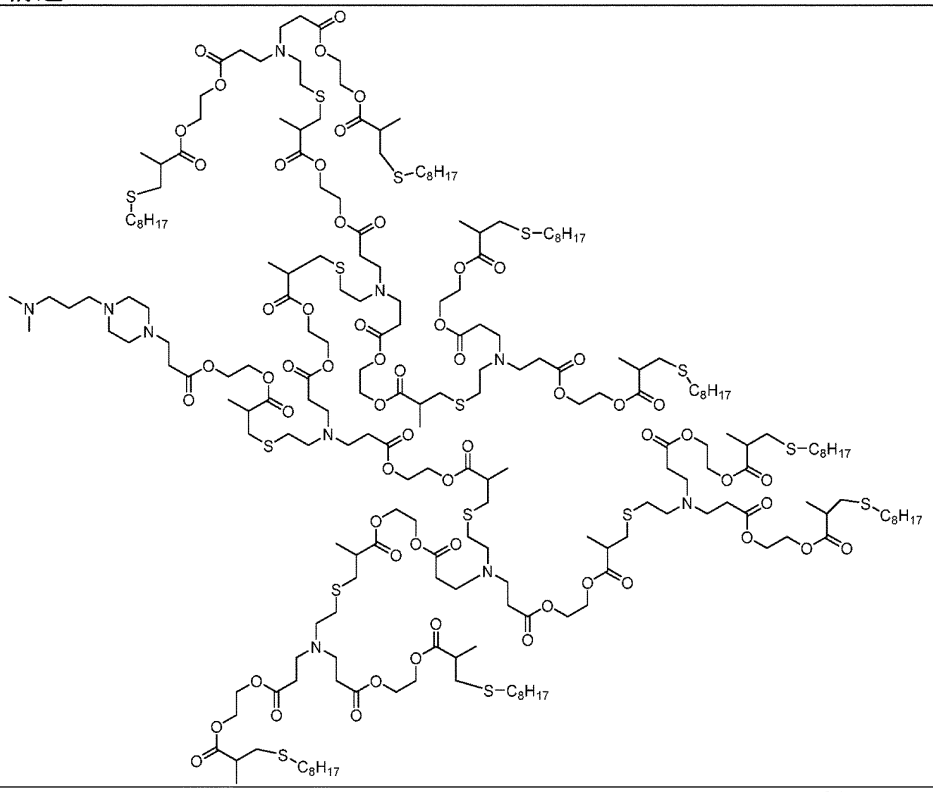
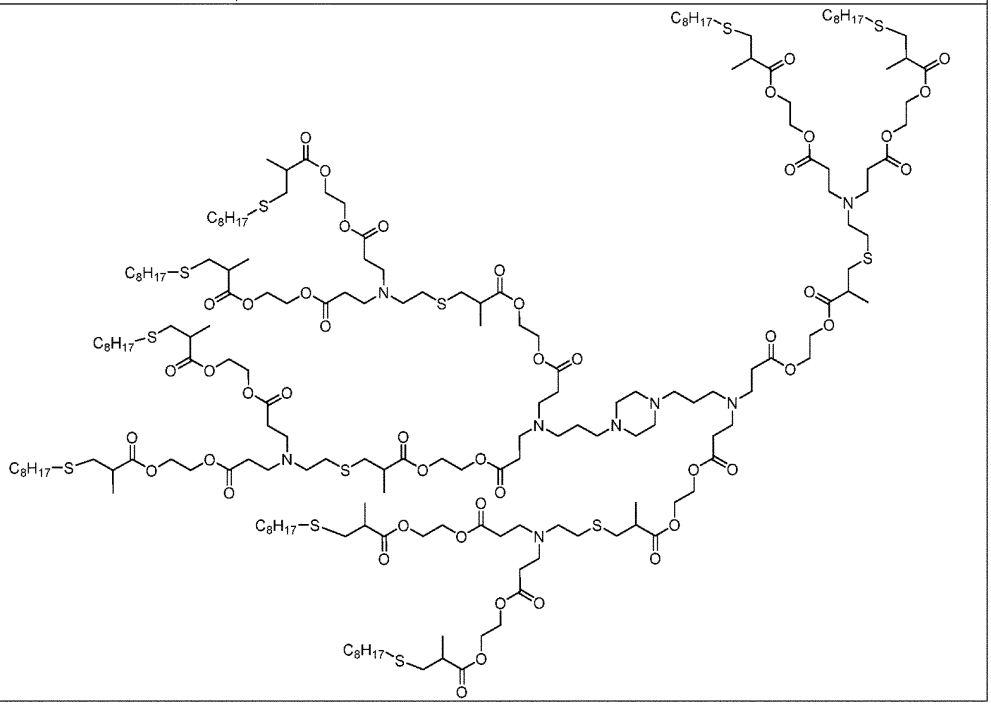
ID #	構造
3A3-g2-SC12	

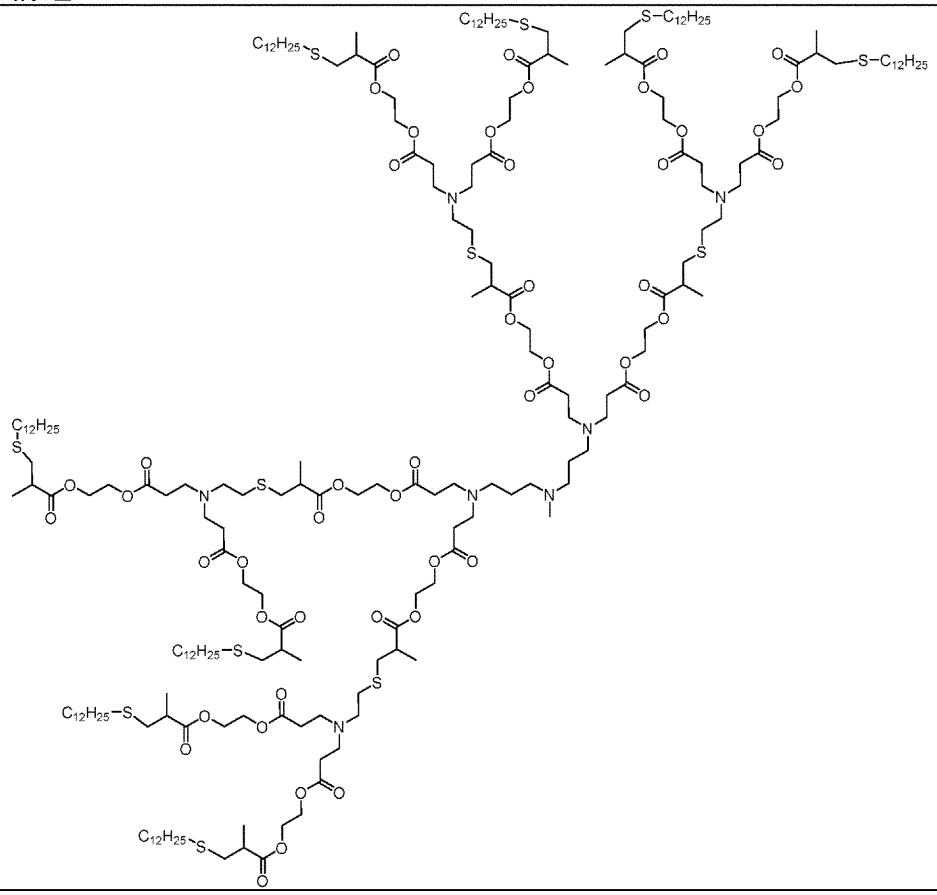
ID #	構造
3A3-g2-SC8	
3A5-g2-SC12	

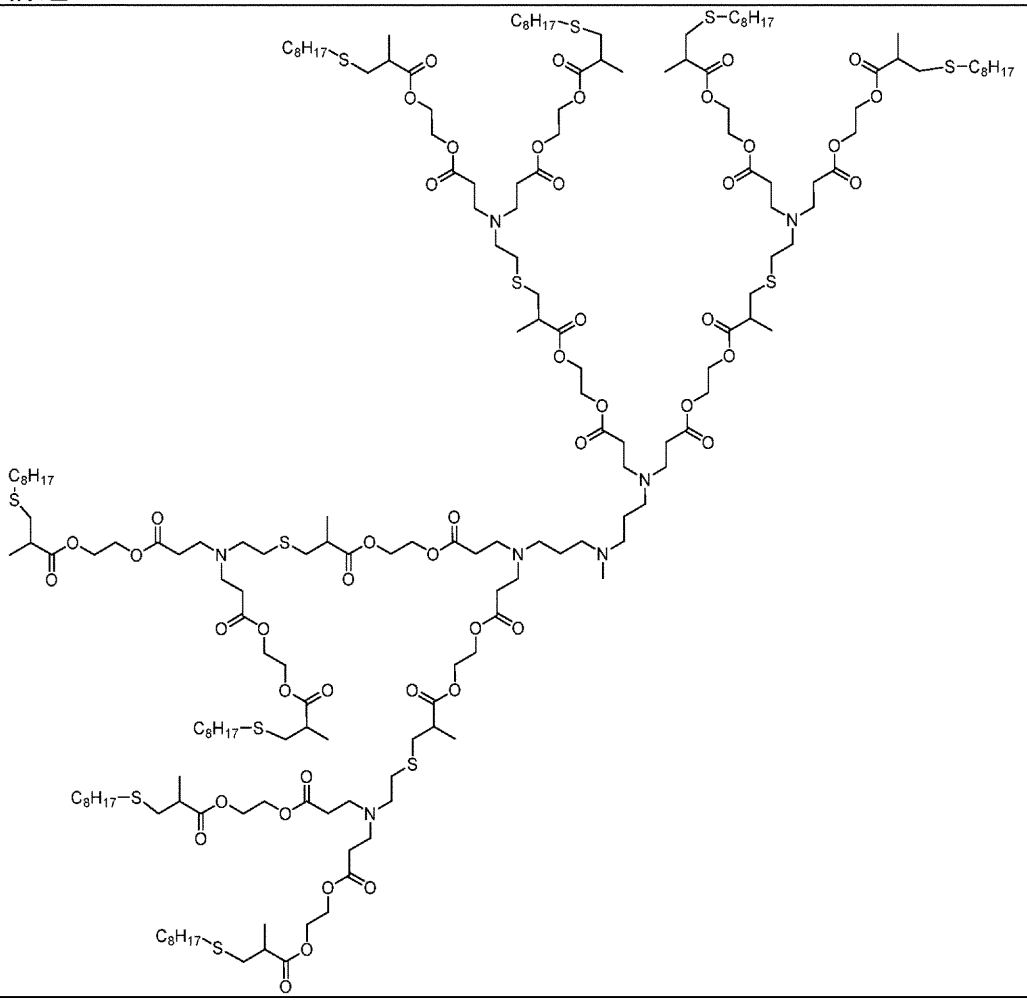
ID #	構造
2A11-g3-SC12	

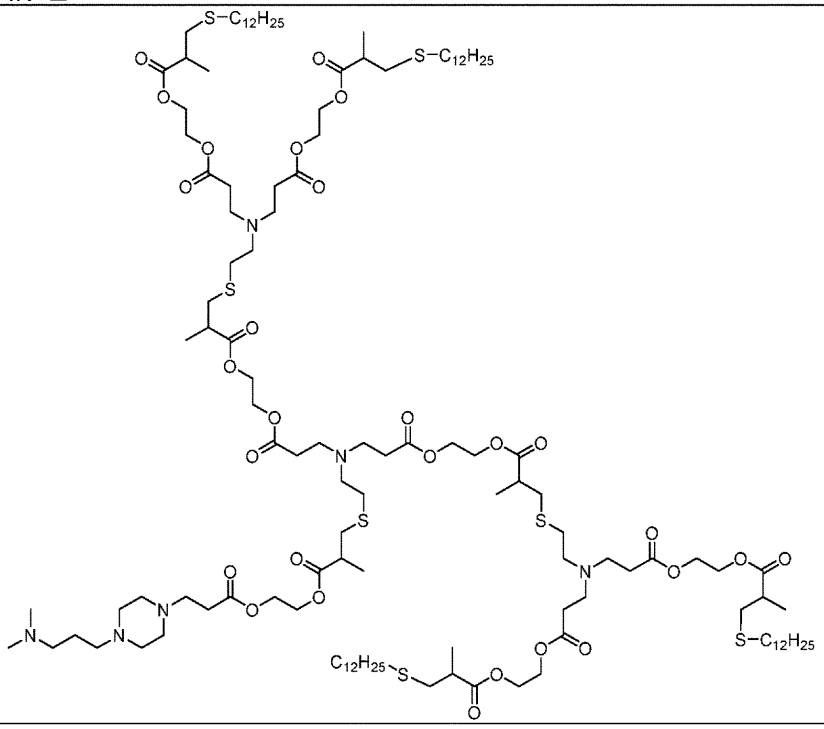
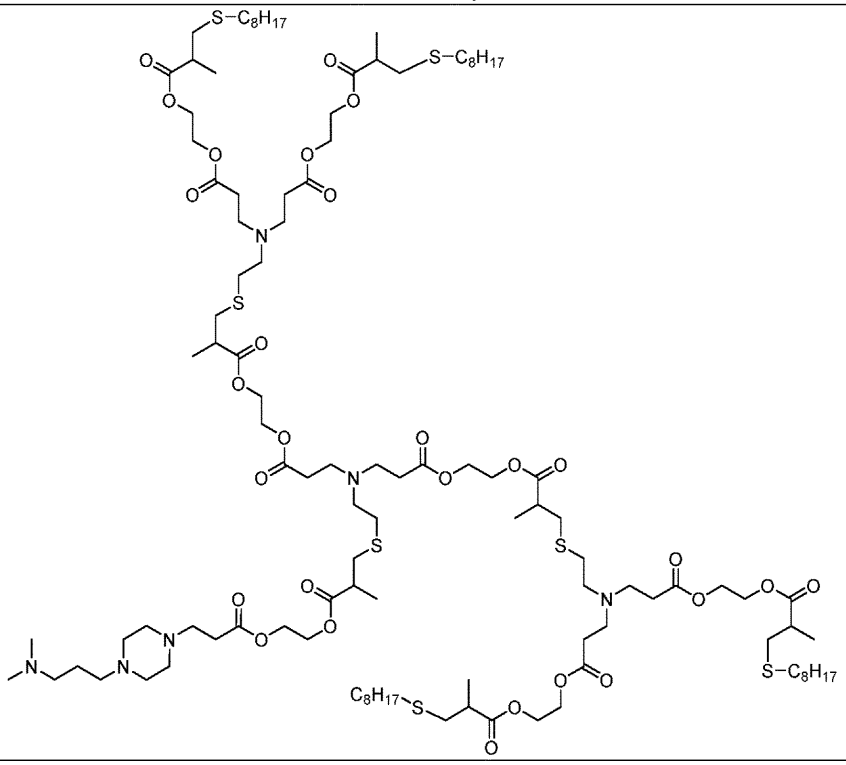
ID #	構造
2A11-g3-SC8	

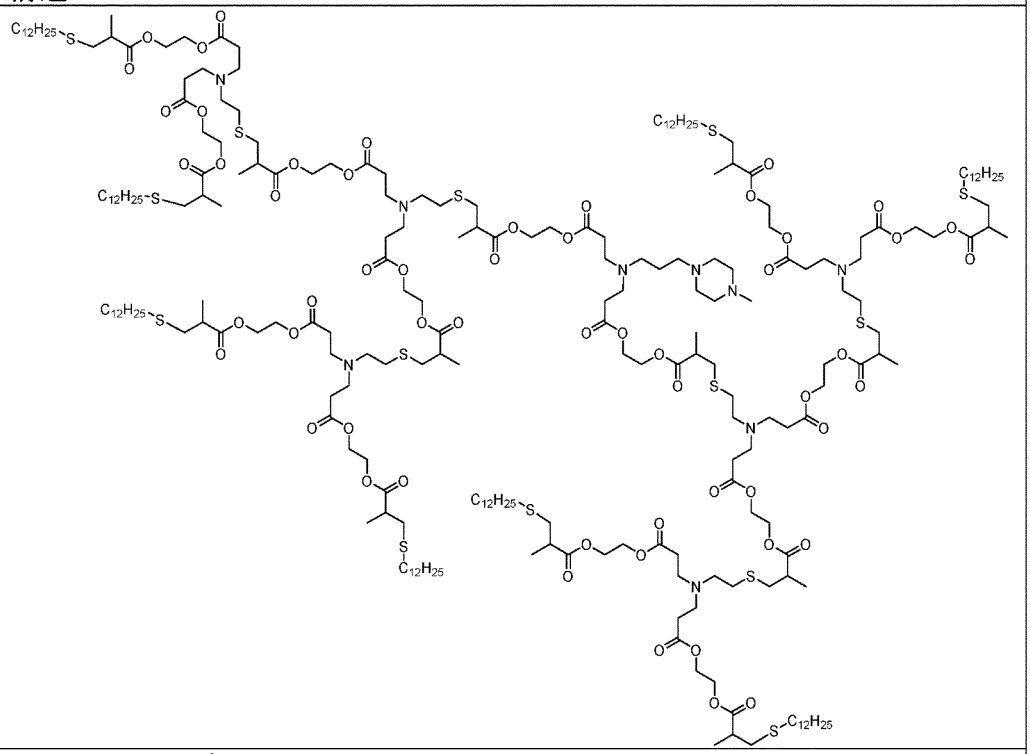
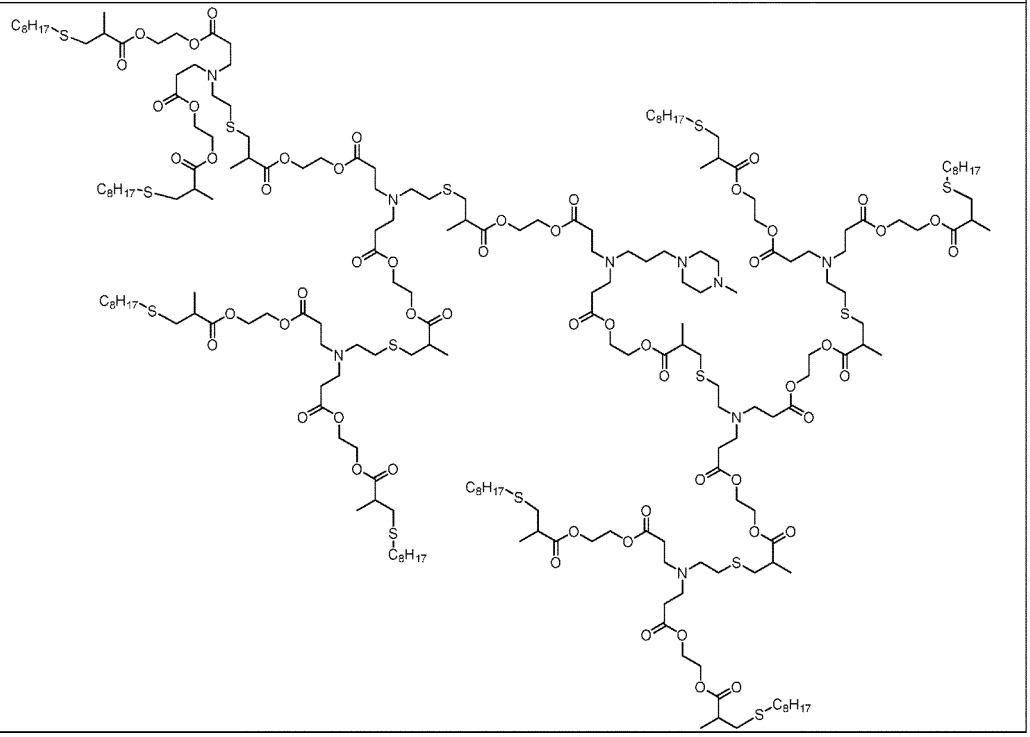
ID #	構造
1A2-g4-SC12	
4A1-g2-SC12	

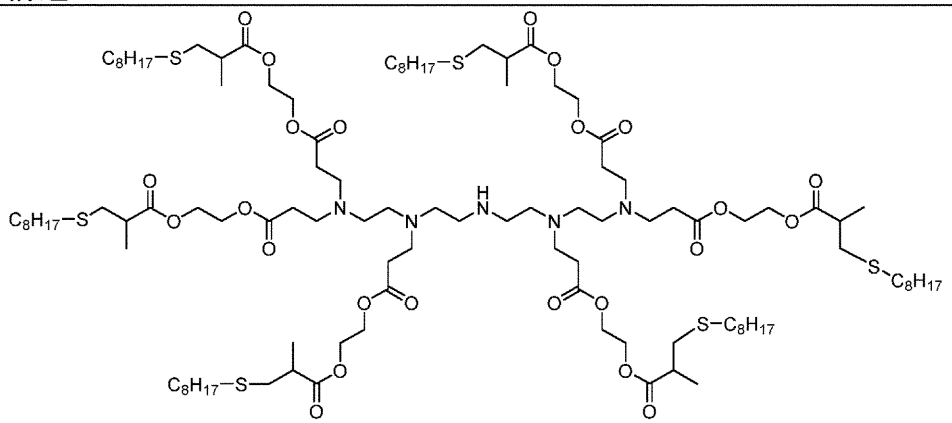
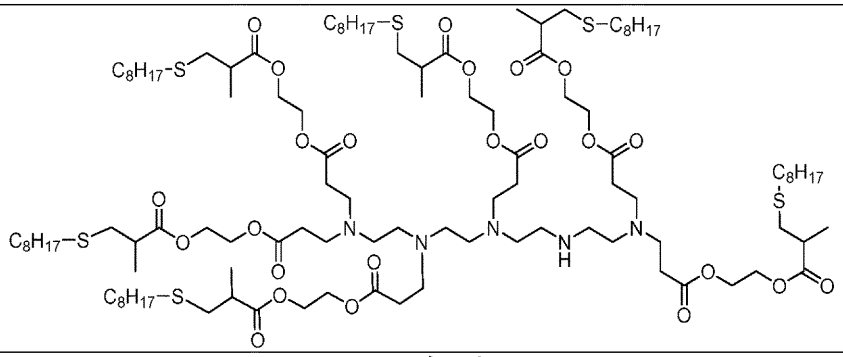
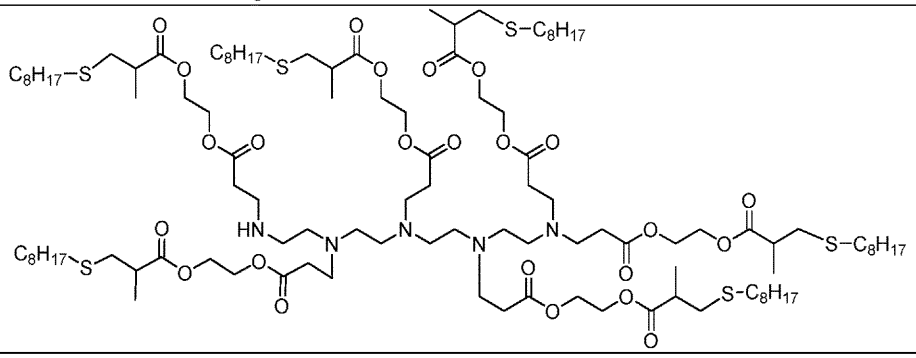
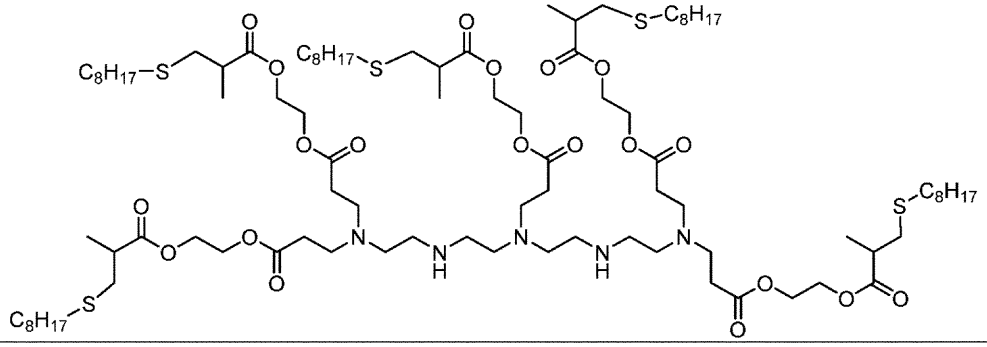
ID #	構造
1A2-g4-SC8	
4A1-g2-SC8	

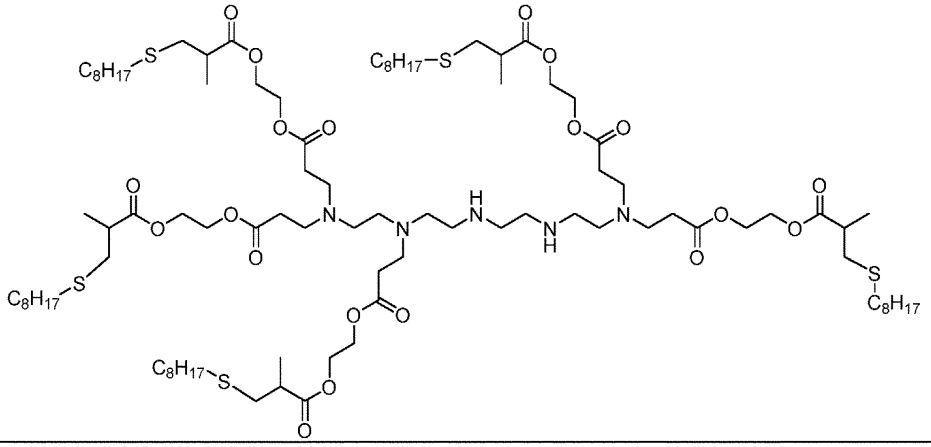
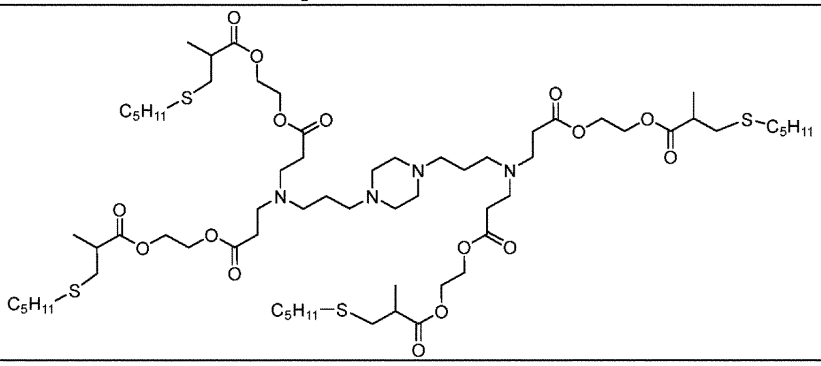
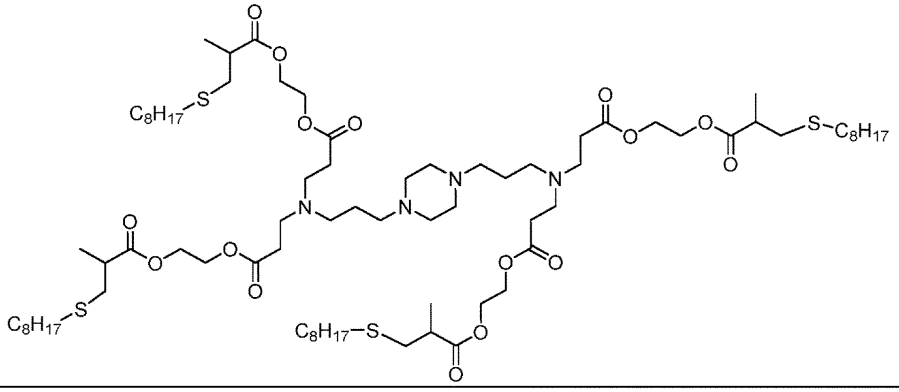
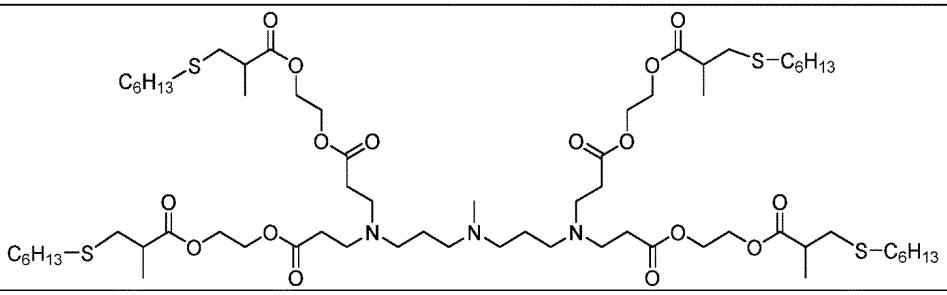
ID #	構造
4A3-g2-SC12	

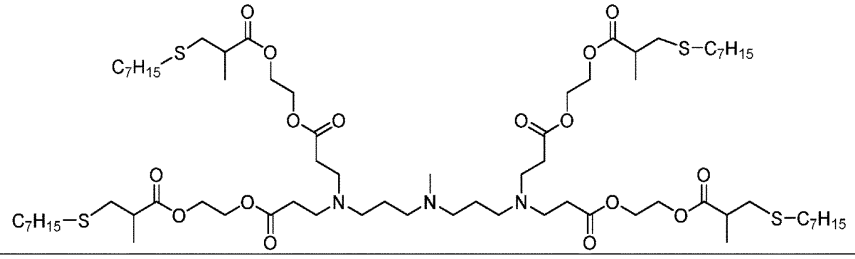
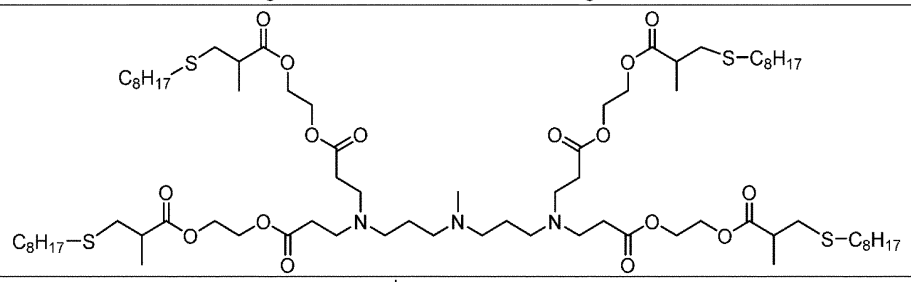
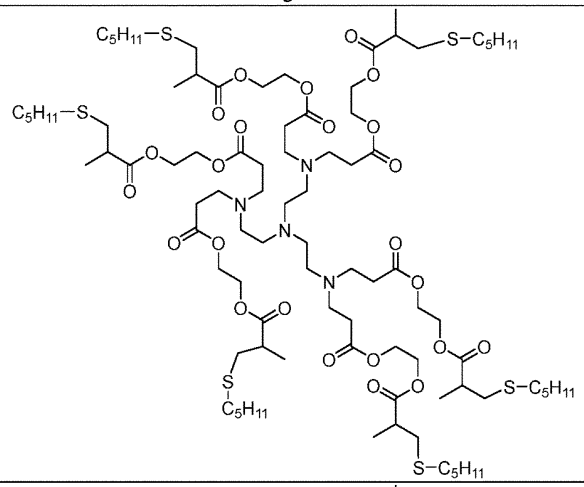
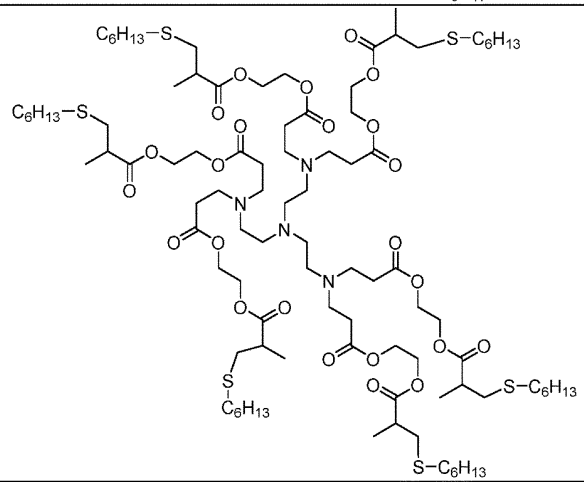
ID #	構造
4A3-g2-SC8	

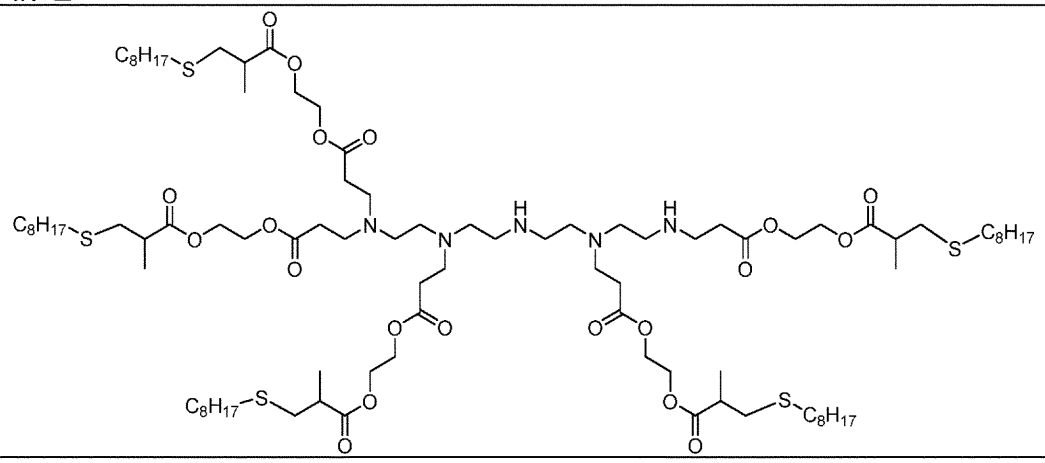
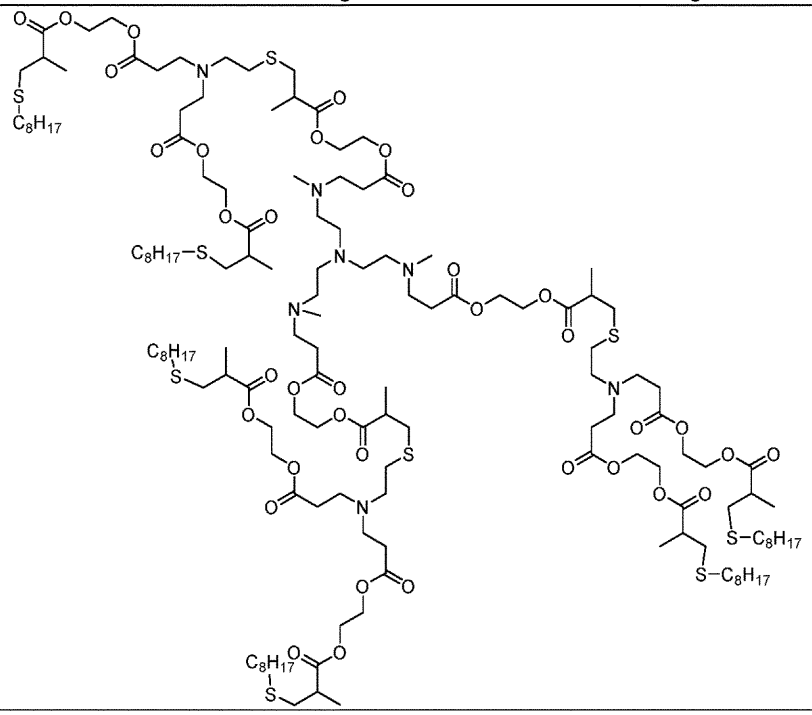
ID #	構造
1A2-g3-SC12	
1A2-g3-SC8	

ID #	構造
2A2-g3-SC12	
2A2-g3-SC8	

ID #	構造
5A2-4-SC8 (6-アーム)	
5A-5-SC8 (6アーム)	
5A2-6-SC8 (6アーム)	
5A2-1-SC8 (5-アーム)	

ID #	構造
5A2-2-SC8	
4A1-SC5	
4A1-SC8	
4A3-SC6	

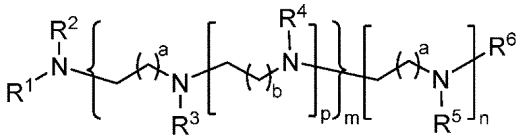
ID #	構造
4A3-SC7	
4A3-SC8	
5A4-2-SC5 (6アーム)	
5A4-2-SC6 (6アーム)	

ID #	構造
5A2-4-SC8 (5-アーム)	
3A5-g2-SC8	

【０１４６】

他のイオン化可能カチオン性脂質

脂質組成物のいくつかの態様において、カチオン性脂質は、構造式（D-I'）：



(D-I')

を含み、

式中：

aは1であり、かつbは2、3、もしくは4であるか；または代替的に、bは1であり、かつaは2、3、もしくは4であり；

mは1であり、かつnは1であるか；または代替的に、mは2であり、かつnは0であるか；または代替的に、mは2であり、かつnは1であり；ならびに

R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、およびR^6は、各々独立して、H、$-CH_2CH(OH)R^7$、$-CH(R^7)CH_2OH$、$-CH_2CH_2C(=O)OR^7$、$-CH_2CH_2C(=O)NHR^7$、および$-CH_2R^7$からなる群より選択され、ここで、R^7は、独立して、C_3-C_{18}アルキル、1つのC=C二重結合を有す

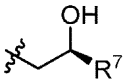
るC3-C18アルケニル、アミノ基の保護基、-C(=NH)NH2、ポリ(エチレングリコール)鎖、および受容体リガンドから選択され；

ただし、R1～R6の中の少なくとも2つの部分は、独立して、-CH2CH(OH)R7、-CH(R7)CH2OH、-CH2CH2C(=O)OR7、-CH2CH2C(=O)NHR7、または-CH2R7から選択され、ここで、R7は、独立して、C3-C18アルキル、または1つのC=C二重結合を有するC3-C18アルケニルから選択され；ならびに

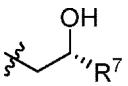
ここで、式（D-I'）に示される窒素原子の1個または複数個は、カチオン性脂質を提供するためにプロトン化されていてもよい。

【０１４７】

式（D-I'）のカチオン性脂質のいくつかの態様において、aは1である。式（D-I'）のカチオン性脂質のいくつかの態様において、bは2である。式（D-I'）のカチオン性脂質のいくつかの態様において、mは1である。式（D-I'）のカチオン性脂質のいくつかの態様において、nは1である。式（D-I'）のカチオン性脂質のいくつかの態様において、R1、R2、R3、R4、R5、およびR6は、各々独立して、Hまたは-CH2CH(OH)R7である。式（D-I'）のカチオン性脂質のいくつかの態様において、R1、R2、R3、R4、R5、およびR6は、各々独立して、Hまたは



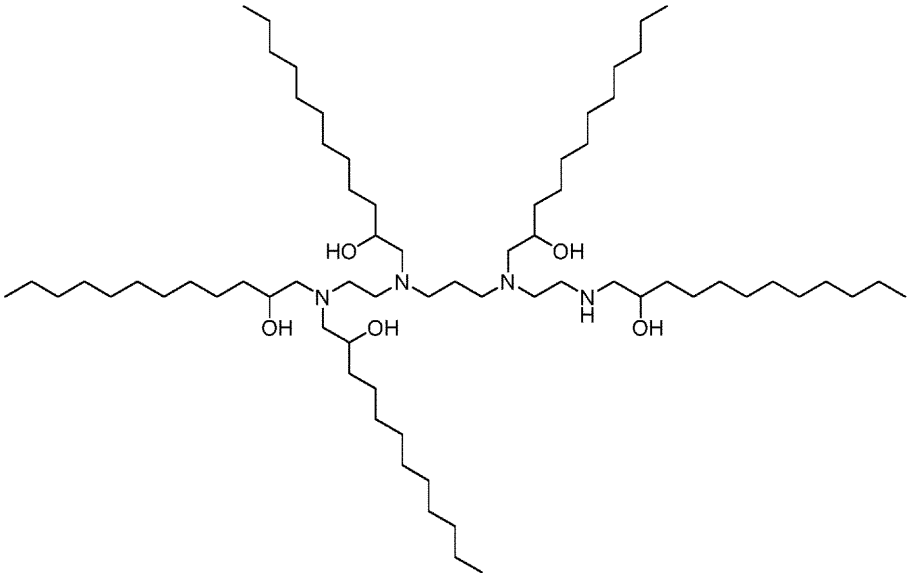
である。式（D-I'）のカチオン性脂質のいくつかの態様において、R1、R2、R3、R4、R5、およびR6は、各々独立して、Hまたは



である。式（D-I'）のカチオン性脂質のいくつかの態様において、R7は、C3-C18アルキル（例えば、C6-C12アルキル）である。

【０１４８】

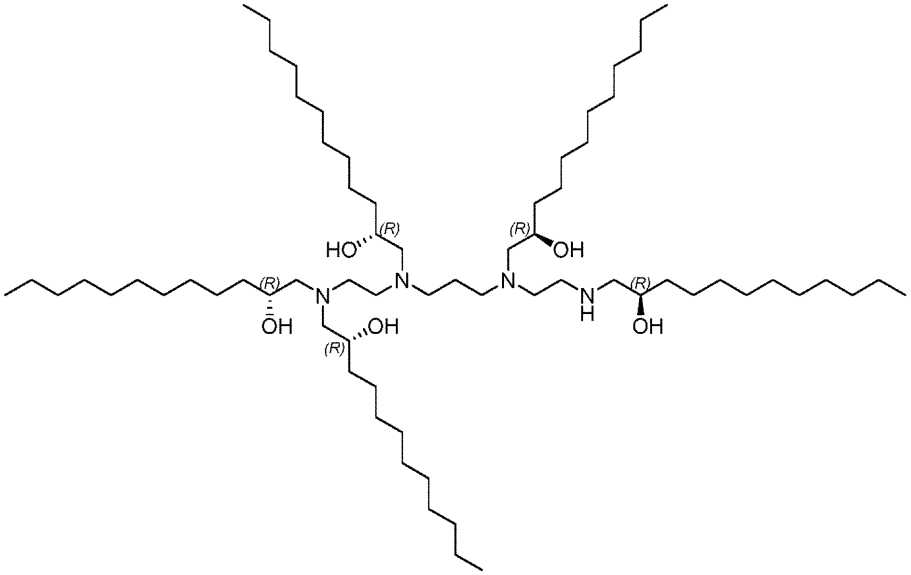
いくつかの態様において、式（D-I'）のカチオン性脂質は、13,16,20-トリス(2-ヒドロキシドデシル)-13,16,20,23-テトラアザペンタトリコンタン-11,25-ジオール：



である。

【０１４９】

いくつかの態様において、式（D-I'）のカチオン性脂質は、(11R,25R)-13,16,20-トリス((R)-2-ヒドロキシドデシル)-13,16,20,23-テトラアザペンタトリコンタン-11,25-ジオール：



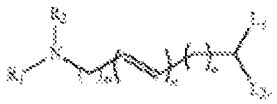
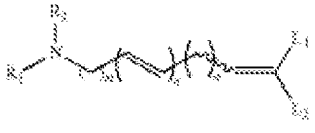
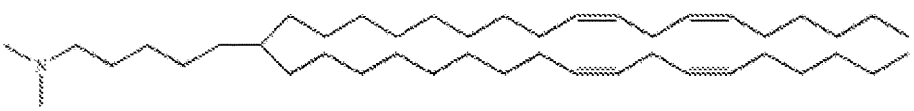
である。

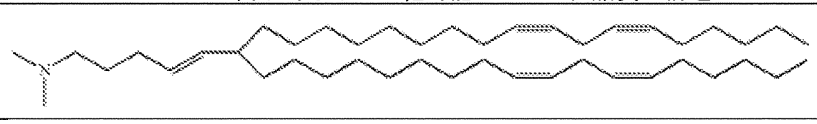
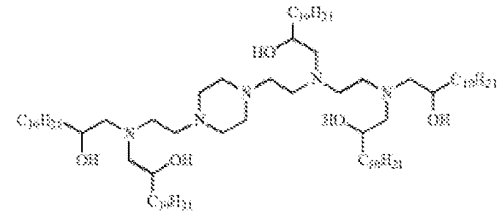
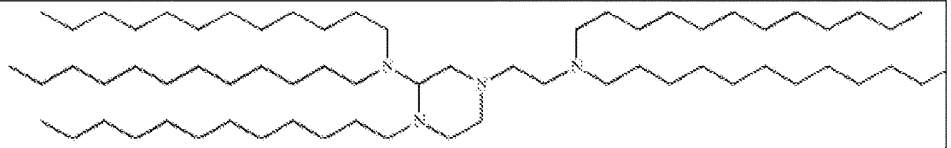
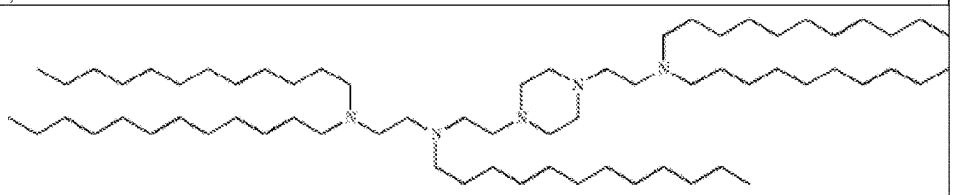
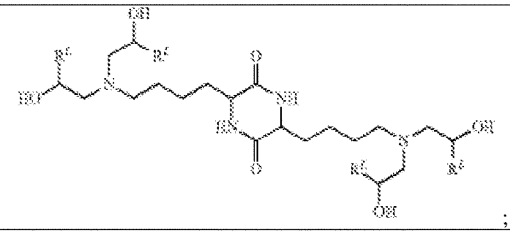
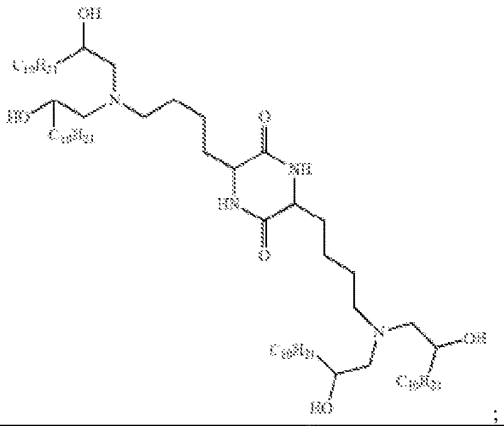
【０１５０】

本出願の組成物および方法において用いることができる追加のカチオン性脂質には、J. McClellan, M. C. King, Cell 2010, 141, 210-217、ならびに国際特許公開WO 2010/144740、WO 2013/149140、WO 2016/118725、WO 2016/118724、WO 2013/063468、WO 2016/205691、WO 2015/184256、WO 2016/004202、WO 2015/199952、WO 2017/004143、WO 2017/075531、WO 2017/117528、WO 2017/049245、WO 2017/173054、およびWO 2015/095340に記載されているようなカチオン性脂質が含まれ、これらは、すべての目的で参照により本明細書に組み入れられる。それらのイオン化可能カチオン性脂質の例には、表5に示されるものが含まれるが、それらに限定されない。

【０１５１】

（表５）例示的なイオン化可能カチオン性脂質

#	例示的なイオン化可能カチオン性脂質の構造
1	 ;
2	 ;
3	 ;
4	 ;

#	例示的なイオン化可能カチオン性脂質の構造
5	 (BRI-6m1) ;
6	 (BRI-6m2) ;
7	 ;
8	 ;
9	
10	 ;
11	 ;

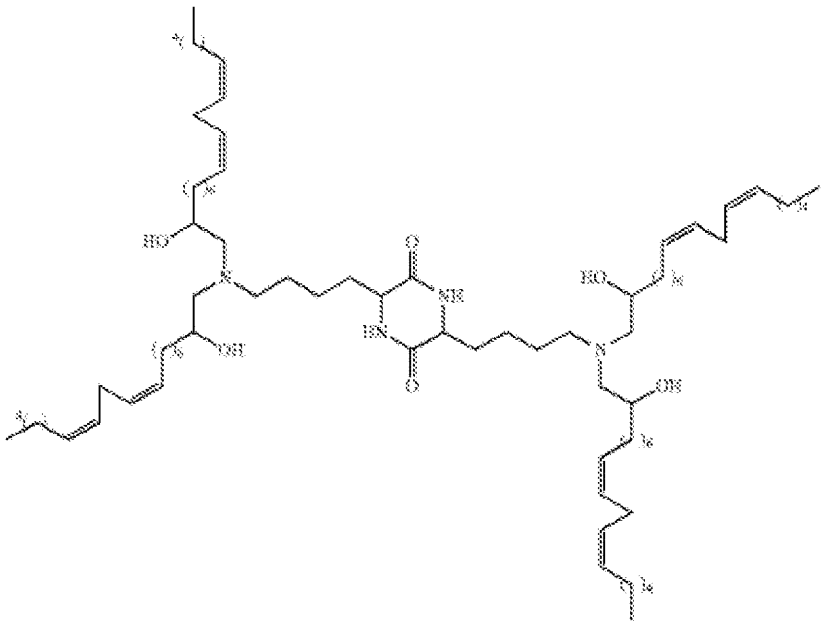
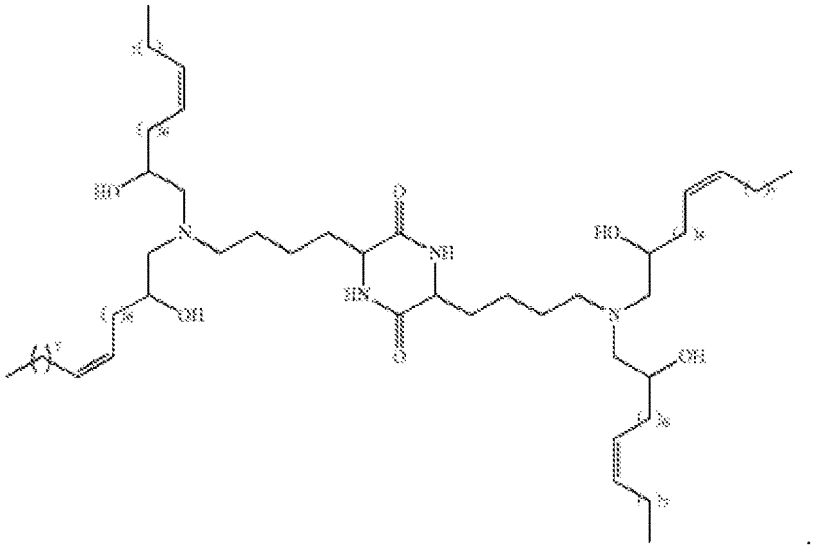
10

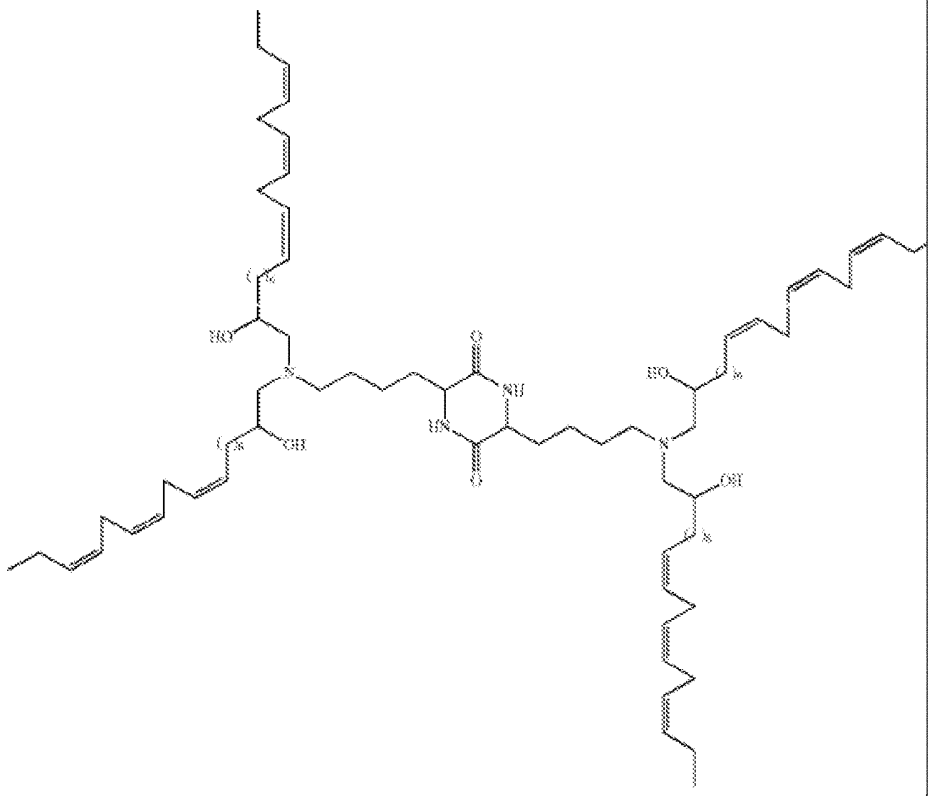
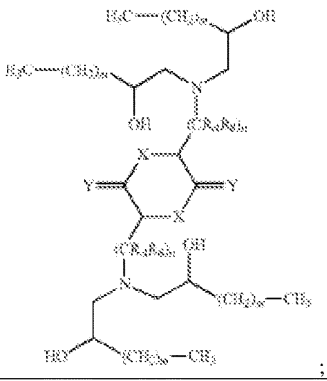
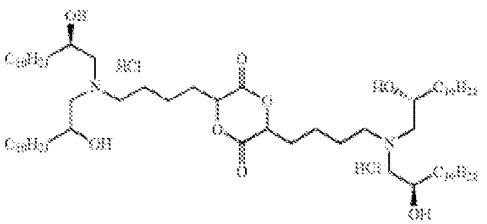
20

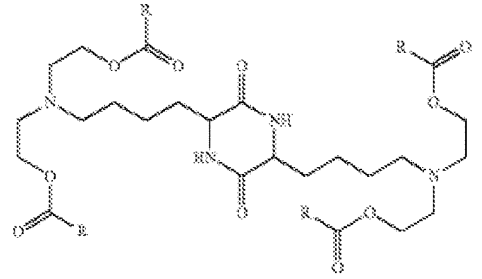
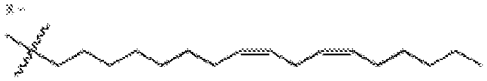
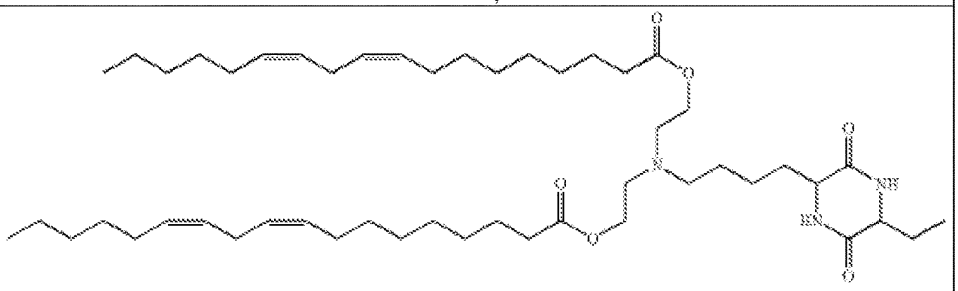
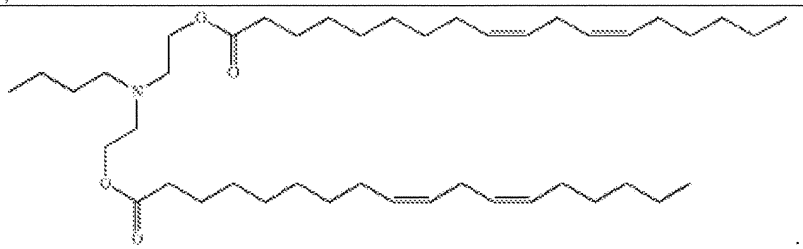
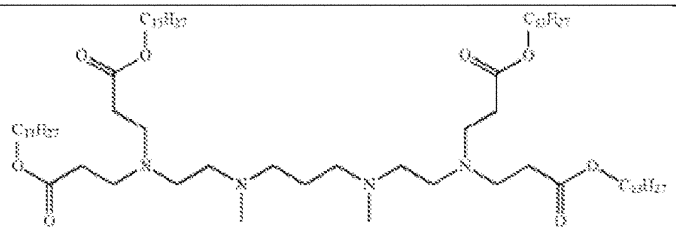
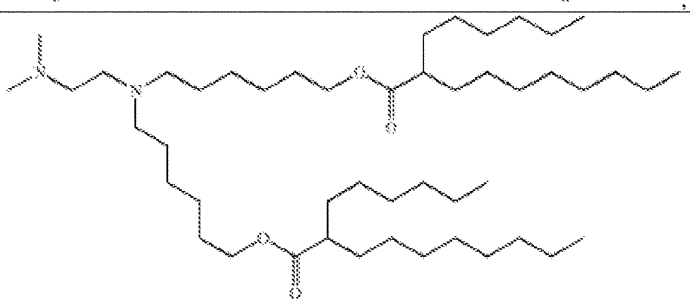
30

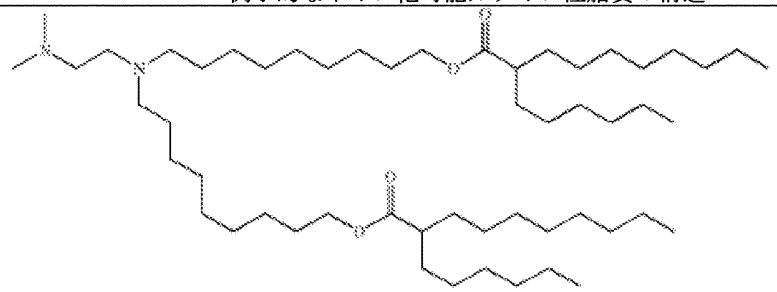
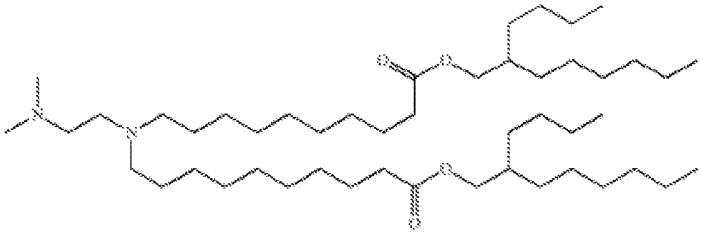
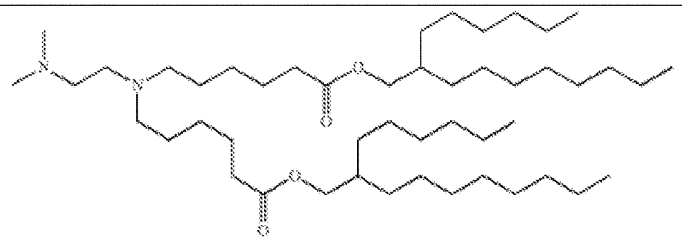
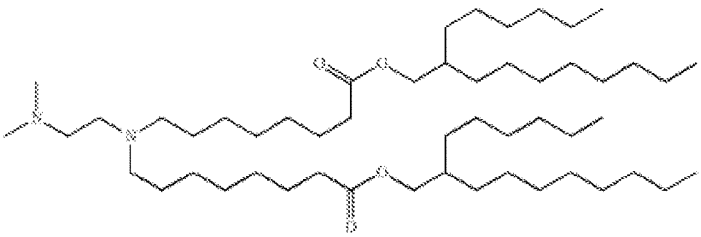
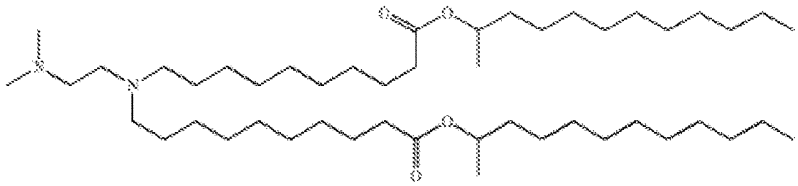
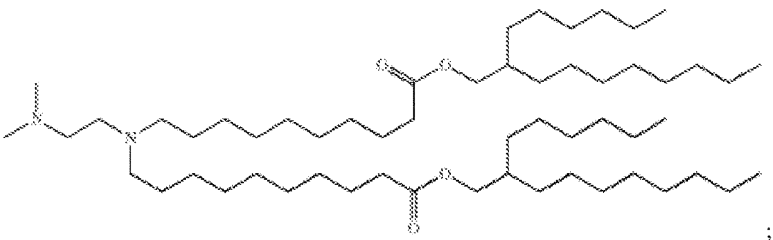
40

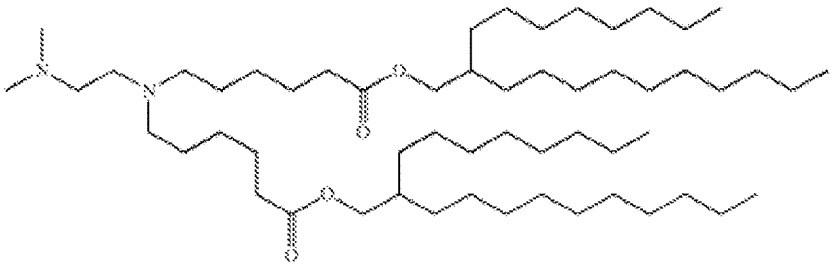
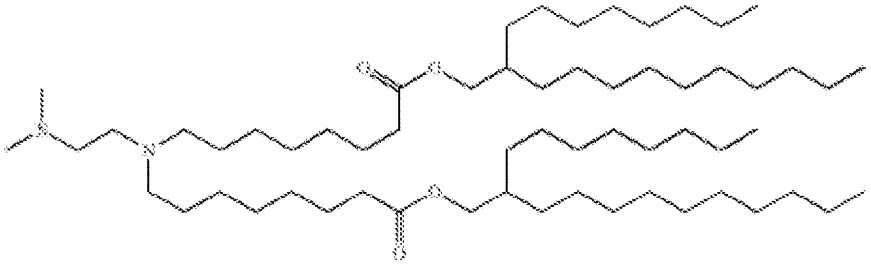
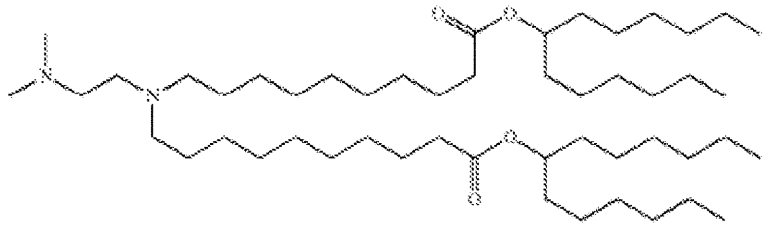
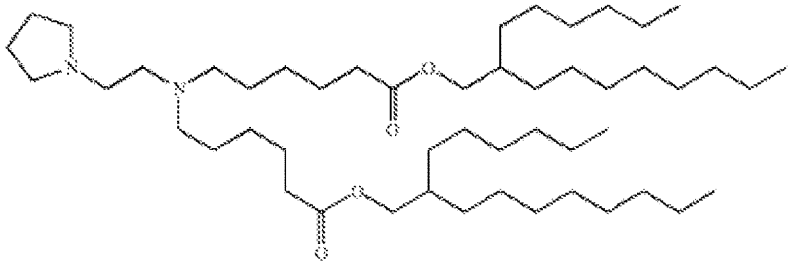
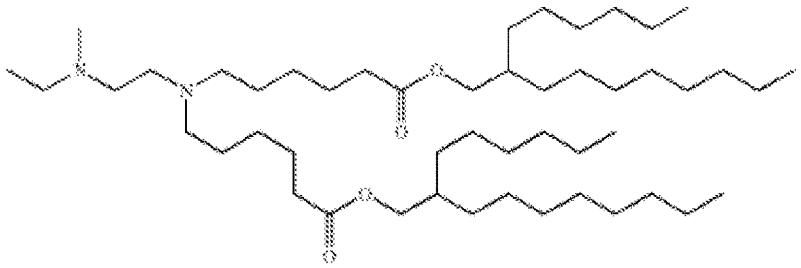
50

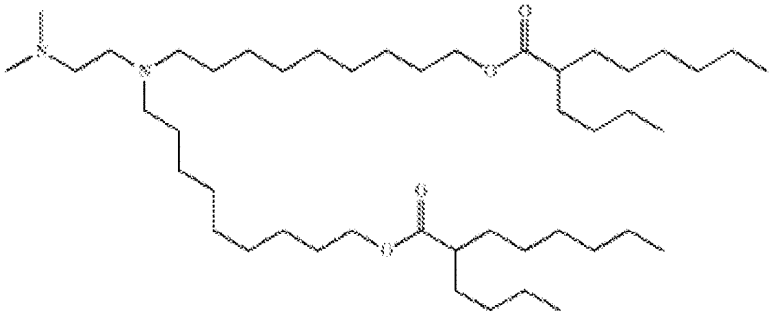
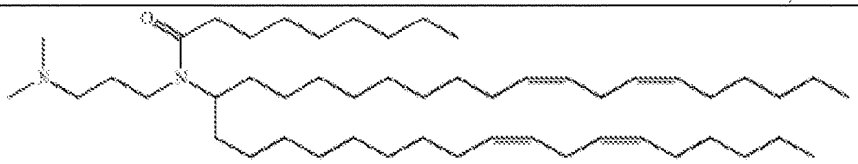
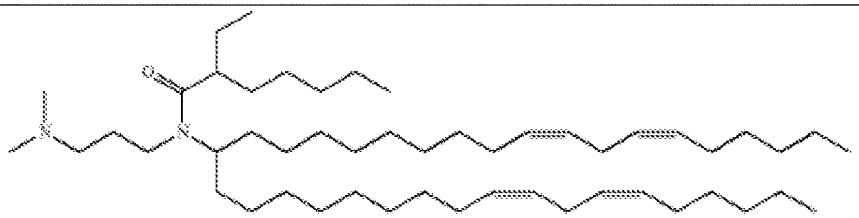
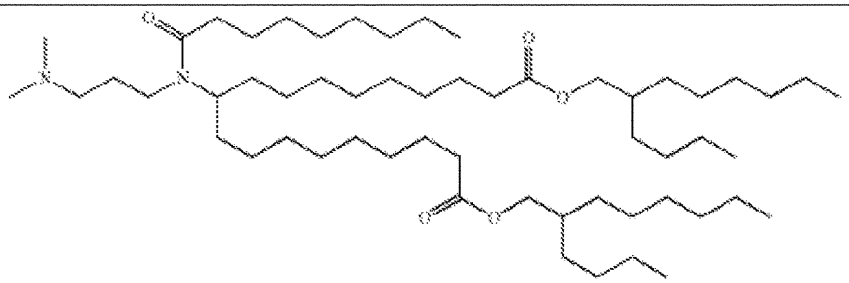
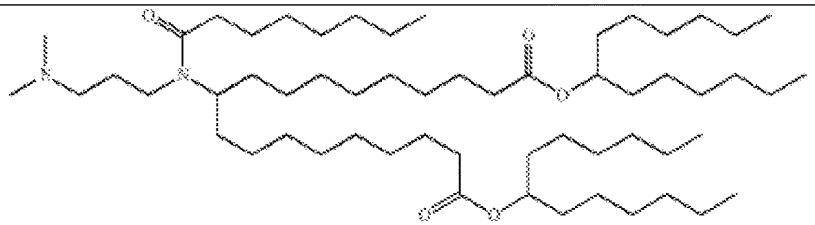
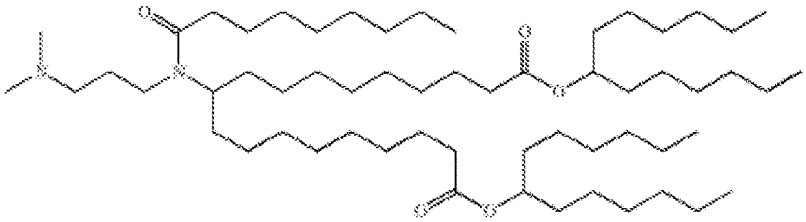
#	例示的なイオン化可能カチオン性脂質の構造
12	 ;
13	 ;

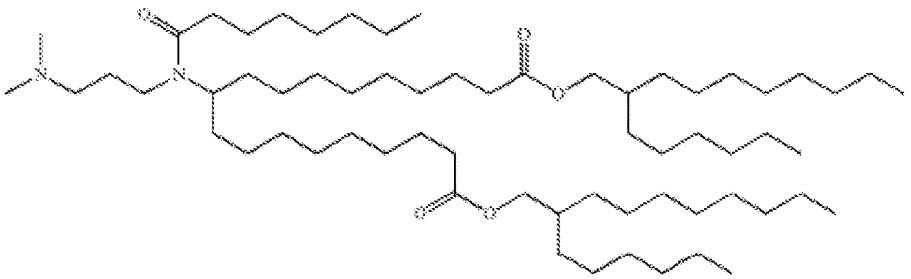
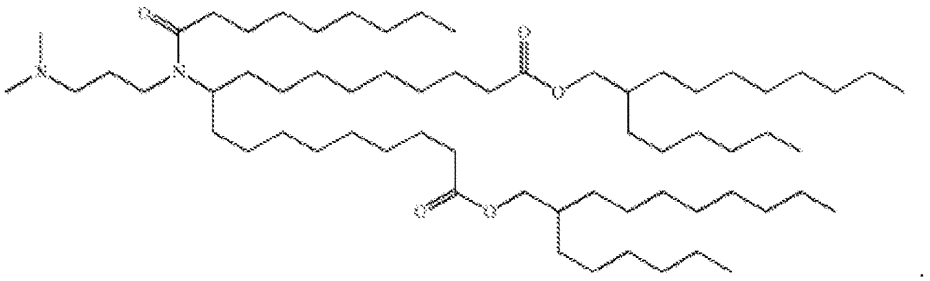
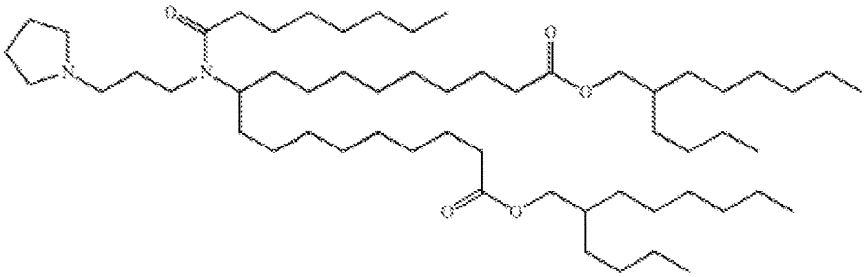
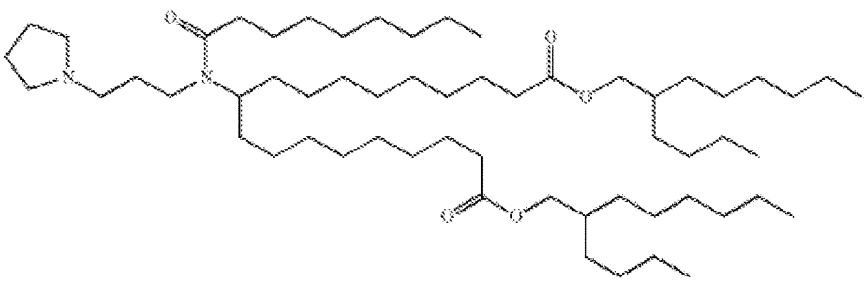
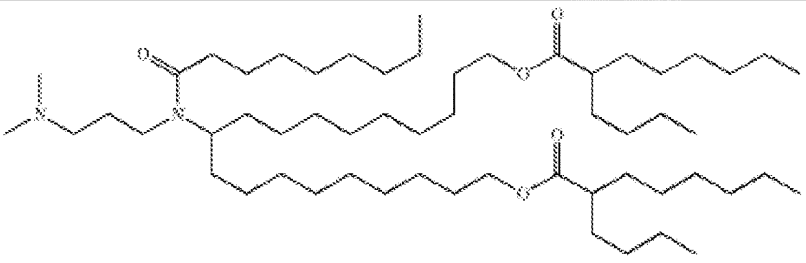
#	例示的なイオン化可能カチオン性脂質の構造
14	 ;
15	 ;
16	(Target 23)  ;

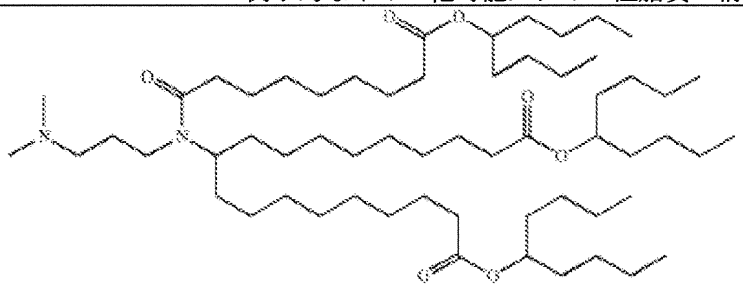
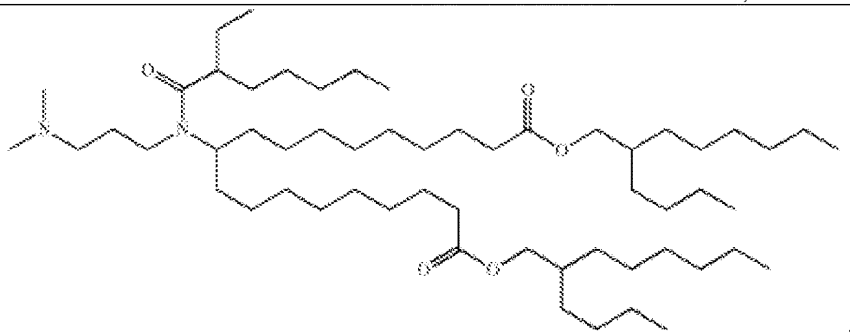
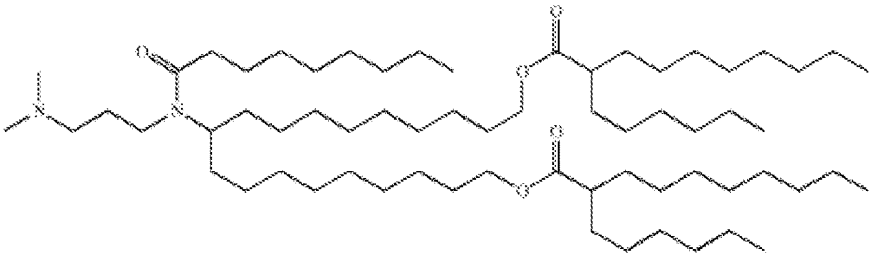
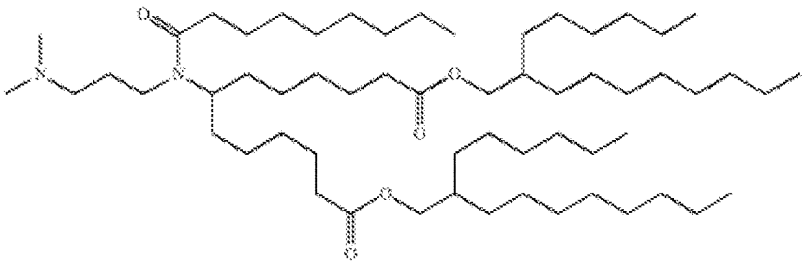
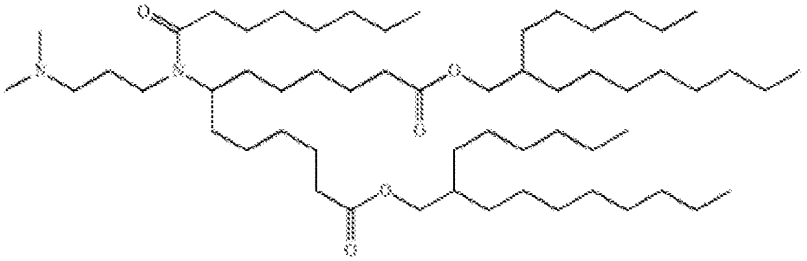
#	例示的なイオン化可能カチオン性脂質の構造
17	 ;
18	 ;
19	 ;
20	 ;
21	 ;
22	 ;

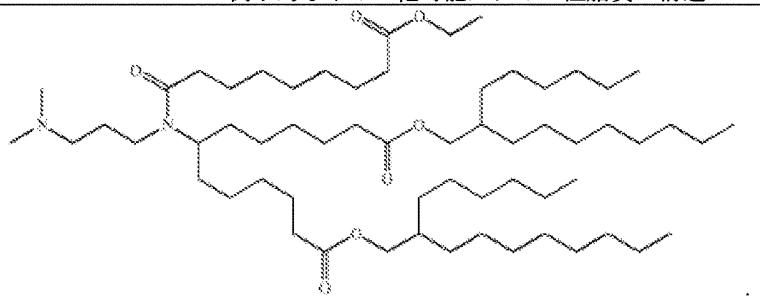
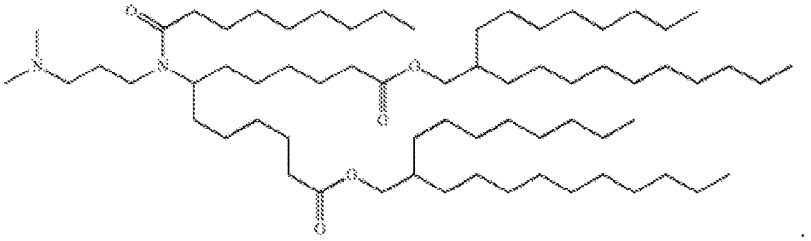
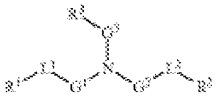
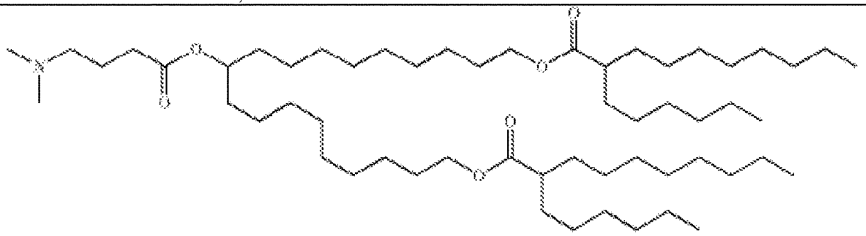
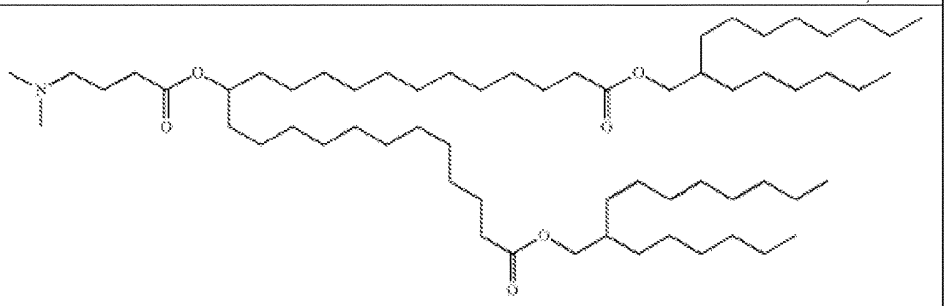
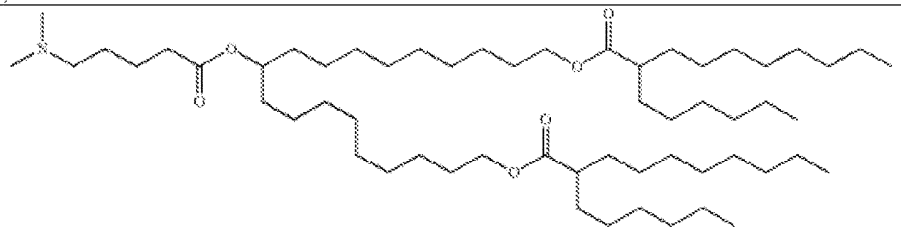
#	例示的なイオン化可能カチオン性脂質の構造
23	 ;
24	 ;
25	 ;
26	 ;
27	 ;
28	 ;

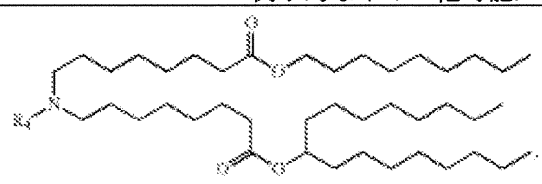
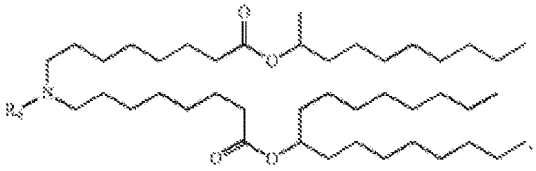
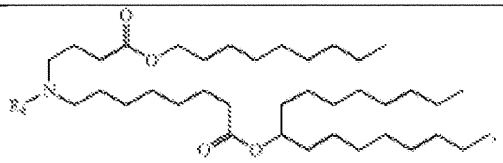
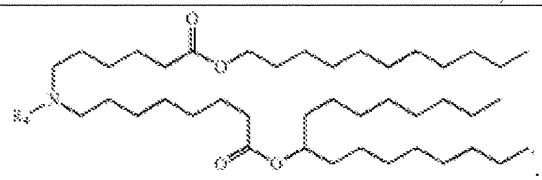
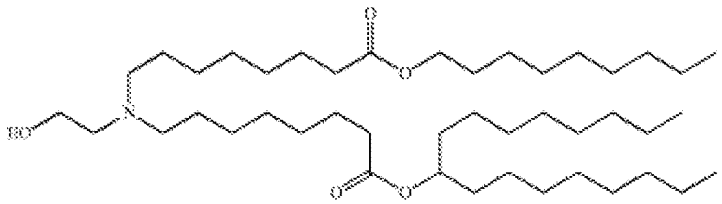
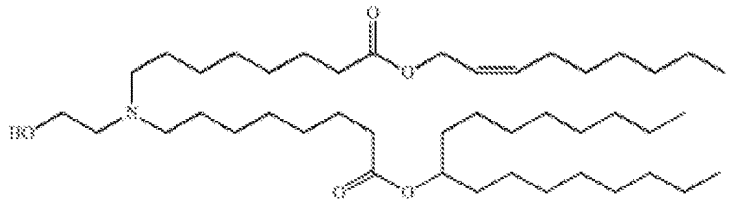
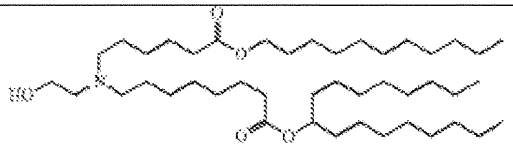
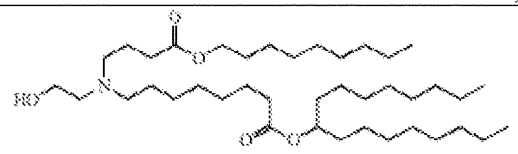
#	例示的なイオン化可能カチオン性脂質の構造
29	 ;
30	 ;
31	 ;
32	 ;
33	 ;

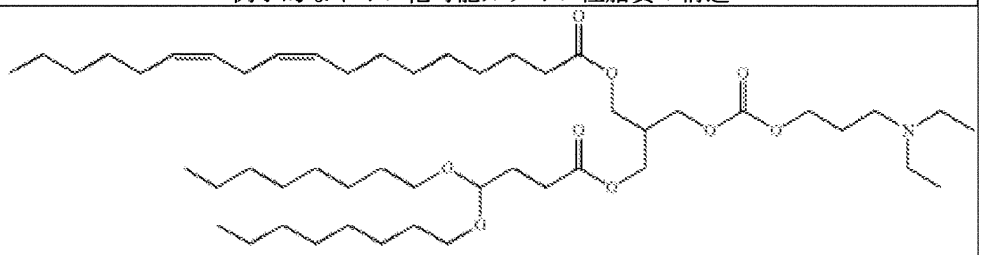
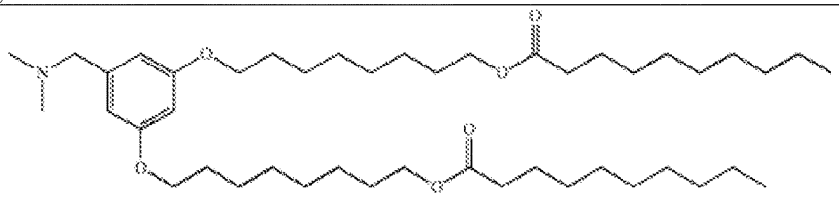
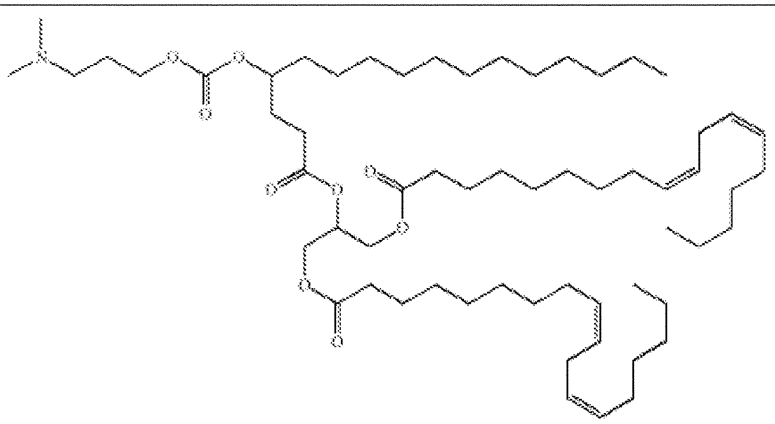
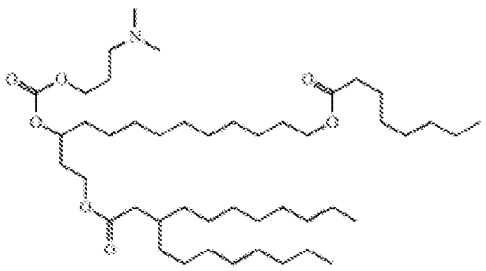
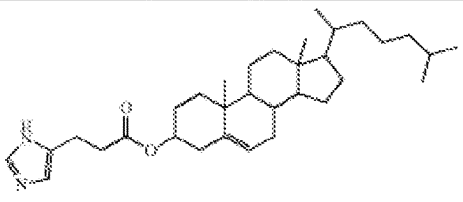
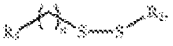
#	例示的なイオン化可能カチオン性脂質の構造
34	 ;
35	 ;
36	 ;
37	 ;
38	 ;
39	 ;

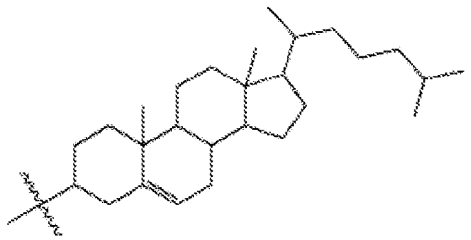
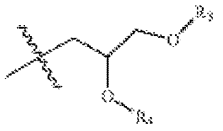
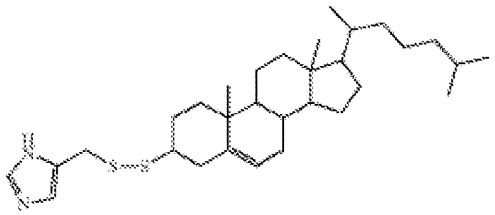
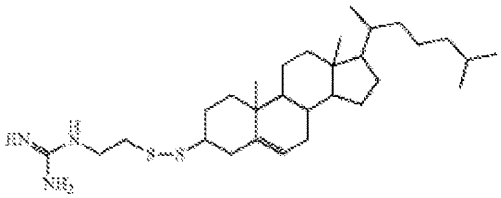
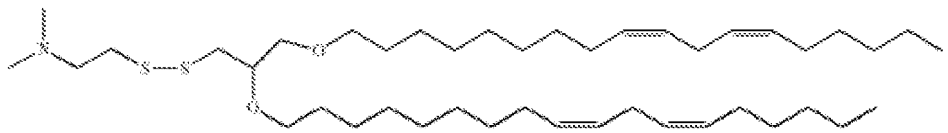
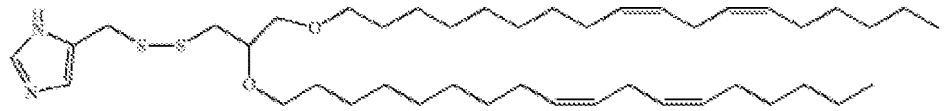
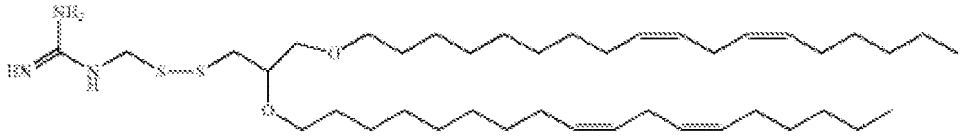
#	例示的なイオン化可能カチオン性脂質の構造
40	 ;
41	 ;
42	 ;
43	 ;
44	 ;

#	例示的なイオン化可能カチオン性脂質の構造
45	 ;
46	 ;
47	 ;
48	 ;
49	 ;

#	例示的なイオン化可能カチオン性脂質の構造
50	 ;
51	 ;
52	 ;
53	 ;
54	 ;
55	 ;

#	例示的なイオン化可能カチオン性脂質の構造
56	 ;
57	 ;
58	 ;
59	 ;
60	 ;
61	 ;
62	 ;
63	 ;

#	例示的なイオン化可能カチオン性脂質の構造
64	 ;
65	 ;
66	 ;
67	 ;
68	 ;
69	 ;

#	例示的なイオン化可能カチオン性脂質の構造
70	 ;
71	 ;
72	(HGT4001)  ;
73	 (HGT4002) ;
74	(HGT4  ;
75	(HGT4  ;
76	(HG 

【０１５２】

本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、イオン化可能カチオン性脂質は、約20から約23までの量で存在する。いくつかの態様において、モルパーセンテージは、約20、20.5、21、21.5、22、22.5から、約23まで、またはその中の誘導可能な任意の範囲である。他の態様において、モルパーセンテージは、約7.5から約20までである。いくつかの態様において、モルパーセンテージは、約7.5、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19から、約20まで、またはその中の誘導可能な任意の範囲である。

【０１５３】

本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約5％～約30％のモルパーセンテージのイオン化可能カチオン性脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約10％～約25％のモルパーセンテージのイオン化可能カチオン性脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約15％～約20％のモルパーセンテージのイオン化可能カチオン性脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約10％～約20％のモルパーセンテージのイオン化可能カチオン性脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約20％～約30％のモルパーセンテージのイオン化可能カチオン性脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、少なくとも（約）5％、少なくとも（約）10％、少なくとも（約）15％、少なくとも（約）20％、少なくとも（約）25％、または少なくとも（約）30％のモルパーセンテージのイオン化可能カチオン性脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、多くても（約）5％、多くても（約）10％、多くても（約）15％、多くても（約）20％、多くても（約）25％、または多くても（約）30％のモルパーセンテージのイオン化可能カチオン性脂質を含む。

【０１５４】

選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質

本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質（例えば、ナノ粒子）組成物は、標的臓器に優先的に送達される。いくつかの態様において、標的臓器は、肺、肺組織、または肺細胞である。本明細書で用いられる場合、「優先的に送達される」という用語は、送達される時に、投与された量の少なくとも25％（例えば、少なくとも30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、または75％）で標的臓器（例えば、肺）、組織、または細胞に送達される組成物を指すように用いられる。

【０１５５】

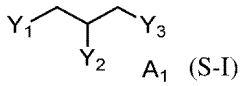
脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、特定の臓器に対する組成物の選択的送達をもたらす、1つまたは複数の選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質を含む。いくつかの態様において、SORT脂質は、2つ以上のC_6-C_{24}のアルキル鎖またはアルケニル鎖を有し得る。

【０１５６】

脂質組成物のいくつかの態様において、SORT脂質は、永久的に正に荷電した部分を含む。永久的に正に荷電した部分は、細胞に対するポリヌクレオチドの送達時にSORT脂質が正電荷を含むように、生理的pHで正に荷電し得る。いくつかの態様において、正に荷電した部分は、第四級アミンまたは第四級アンモニウムイオンである。いくつかの態様において、SORT脂質は、対イオンを含むか、または対イオンと別の方法で複合化するかもしくは相互作用している。

【０１５７】

脂質組成物のいくつかの態様において、SORT脂質は、永久カチオン性脂質（すなわち、1つまたは複数の疎水性成分および永久カチオン性基を含む）である。永久カチオン性脂質は、pHにかかわらず正電荷を有する基を含有し得る。永久カチオン性脂質において用いられ得る1つの永久カチオン性基は、第四級アンモニウム基である。永久カチオン性脂質は、構造式：



(S-I)

を含み得、

式中：

Y_1、Y_2、またはY_3は、各々独立して、$X_1C(O)R_1$または$X_2N^+R_3R_4R_5$であり；

ただし、Y_1、Y_2、およびY_3のうちの少なくとも1つは、$X_2N^+R_3R_4R_5$であり；

R_1は、C_1-C_{24}アルキル、C_1-C_{24}置換アルキル、C_1-C_{24}アルケニル、C_1-C_{24}置換アルケニルであり；

X_1は、OまたはNR_aであり、ここで、R_aは、水素、C_1-C_4アルキル、またはC_1-C_4置換アルキルであり；

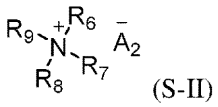
X_2は、C_1-C_6アルカンジイルまたはC_1-C_6置換アルカンジイルであり；

R_3、R_4、およびR_5は、各々独立して、C_1-C_{24}アルキル、C_1-C_{24}置換アルキル、C_1-C_{24}アルケニル、C_1-C_{24}置換アルケニルであり；かつ

A_1は、化合物中の$X_2N^+R_3R_4R_5$基の数に等しい電荷を有するアニオンである。

【０１５８】

SORT脂質のいくつかの態様において、永久カチオン性SORT脂質は、構造式：



(S-II)

を有し、

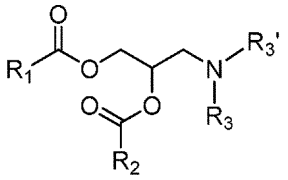
式中：

R_6～R_9は、各々独立して、C_1-C_{24}アルキル、C_1-C_{24}置換アルキル、C_1-C_{24}アルケニル、C_1-C_{24}置換アルケニルであり；ただし、R_6～R_9のうちの少なくとも1つは、C_8-C_{24}の基であり；かつ

A_2は、一価アニオンである。

【０１５９】

脂質組成物のいくつかの態様において、SORT脂質は、イオン化可能カチオン性脂質（すなわち、1つまたは複数の疎水性成分およびイオン化可能カチオン性基を含む）である。イオン化可能な正に荷電した部分は、生理的pHで正に荷電し得る。イオン化可能カチオン性脂質において用いられ得る1つのイオン化可能カチオン性基は、第三級アンミン基である。脂質組成物のいくつかの態様において、SORT脂質は、構造式：



(S-I'a)

を有し、

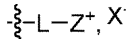
式中：

R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル$_{(C8-C24)}$、アルケニル$_{(C8-C24)}$、またはいずれかの基の置換バージョンであり；かつ

R_3およびR_3'は、各々独立して、アルキル$_{(C\leqq6)}$または置換アルキル$_{(C\leqq6)}$である。

【０１６０】

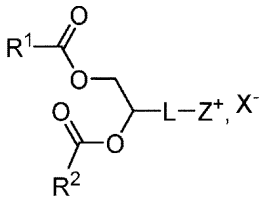
脂質組成物のいくつかの態様において、SORT脂質は、特定の構造の頭部基を含む。いくつかの態様において、SORT脂質は、構造式：



を有する頭部基を含み、式中、Lは、リンカーであり；Z^+は、正に荷電した部分であり、かつX^-は、対イオンである。いくつかの態様において、リンカーは、生分解性リンカーである。生分解性リンカーは、生理的なpHおよび温度下で分解性であり得る。生分解性リンカーは、対象由来のタンパク質または酵素によって分解され得る。いくつかの態様において、正に荷電した部分は、第四級アンモニウムイオンまたは第四級アミンである。

【０１６１】

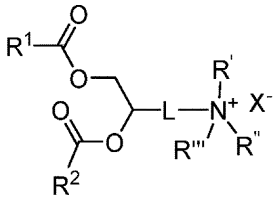
脂質組成物のいくつかの態様において、SORT脂質は、構造式：



を有し、式中、R^1およびR^2は、各々独立して、置換されていてもよいC_6-C_{24}アルキル、または置換されていてもよいC_6-C_{24}アルケニルである。

【０１６２】

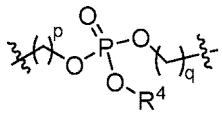
脂質組成物のいくつかの態様において、SORT脂質は、構造式：



を有する。

【０１６３】

脂質組成物のいくつかの態様において、SORT脂質は、リンカー（L）を含む。いくつかの態様において、Lは、



であり、

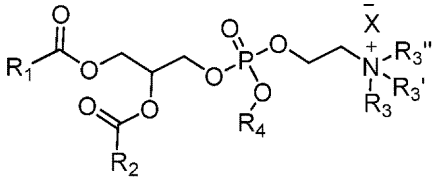
式中：

pおよびqは、各々独立して、1、2、または3であり；かつ

R^4は、置換されていてもよいC_1-C_6アルキルである。

【０１６４】

脂質組成物のいくつかの態様において、SORT脂質は、構造式：



(IA)

を有し、

式中：

R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル$_{(C8\text{-}C24)}$、アルケニル$_{(C8\text{-}C24)}$、またはいずれかの基の置換バージョンであり；

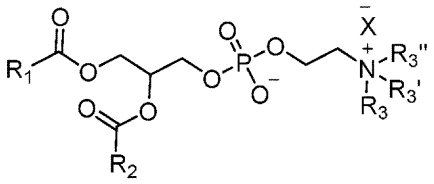
R_3、R_3'、およびR_3''は、各々独立して、アルキル$_{(C\leqq6)}$または置換アルキル$_{(C\leqq6)}$であり；

R_4は、アルキル$_{(C\leqq6)}$または置換アルキル$_{(C\leqq6)}$であり；かつ

X^-は、一価アニオンである。

【０１６５】

脂質組成物のいくつかの態様において、SORT脂質は、ホスホチジルコリン（phosphotidylcholine）（例えば、14:0 EPC）である。いくつかの態様において、ホスファチジルコリン化合物は、さらに、



(IA)

として定義され、

式中：

R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル$_{(C8-C24)}$、アルケニル$_{(C8-C24)}$、またはいずれかの基の置換バージョンであり；

R_3、R_3'、およびR_3''は、各々独立して、アルキル$_{(C\leqq6)}$または置換アルキル$_{(C\leqq6)}$であり；かつ

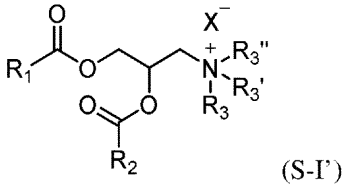
X^-は、一価アニオンである。

【０１６６】

脂質組成物のいくつかの態様において、SORT脂質は、ホスホコリン脂質である。いくつかの態様において、SORT脂質は、エチルホスホコリンである。エチルホスホコリンは、例として、それらに限定されることなく、1,2-ジミリストレオイル-sn-グリセロ-3-エチルホスホコリン、1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-エチルホスホコリン、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-エチルホスホコリン、1,2-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-エチルホスホコリン、1,2-ジミリストイル-sn-グリセロ-3-エチルホスホコリン、1,2-ジラウロイル-sn-グリセロ-3-エチルホスホコリン、1-パルミトイル-2-オレオイル-sn-グリセロ-3-エチルホスホコリンであり得る。

【０１６７】

脂質組成物のいくつかの態様において、SORT脂質は、構造式：



(S-I')

を有し、

式中：

R_1およびR_2は、各々独立して、アルキル$_{(C8-C24)}$、アルケニル$_{(C8-C24)}$、またはいずれかの基の置換バージョンであり；

R_3、R_3'、およびR_3''は、各々独立して、アルキル$_{(C\leqq6)}$または置換アルキル$_{(C\leqq6)}$であり；かつ

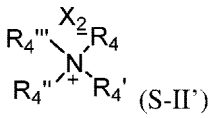
X^-は、一価アニオンである。

【０１６８】

例として、かつそれに限定されることなく、直前の段落の構造式のSORT脂質は、1,2-ジオレオイル-3-トリメチルアンモニウム-プロパン（18:1 DOTAP）（例えば、塩化物塩）である。

【０１６９】

脂質組成物のいくつかの態様において、SORT脂質は、構造式：



(S-II')

を有し、

式中：

R_4およびR_4'は、各々独立して、アルキル$_{(C6-C24)}$、アルケニル$_{(C6-C24)}$、またはい

ずれかの基の置換バージョンであり；

R_4''は、アルキル$(C \leqq 24)$、アルケニル$(C \leqq 24)$、またはいずれかの基の置換バージョンであり；

R_4'''は、アルキル$(C1\text{-}C8)$、アルケニル$(C2\text{-}C8)$、またはいずれかの基の置換バージョンであり；かつ

X_2は、一価アニオンである。

【０１７０】

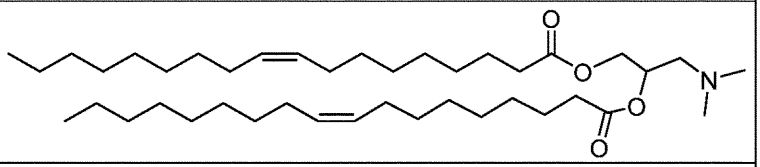
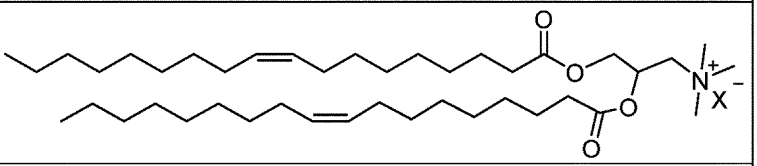
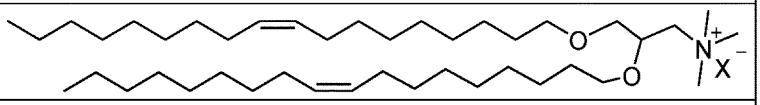
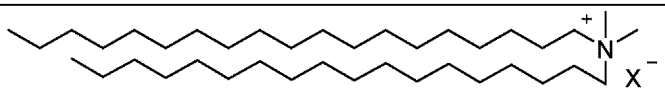
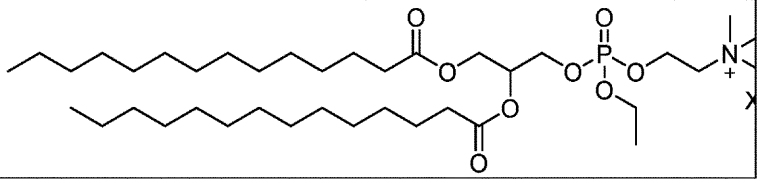
例として、かつそれに限定されることなく、直前の段落の構造式のSORT脂質は、ジメチルジオクタデシルアンモニウム（DDAB）（例えば、臭化物塩）である。

【０１７１】

脂質組成物のいくつかの態様において、SORT脂質は、表6に示される脂質から選択される1つまたは複数を含む。

【０１７２】

（表６）例示的なSORT脂質

脂質名	構造
1,2-ジオレオイル-3-ジメチルアンモニウム-プロパン（18:1 DODAP）	
1,2-ジオレオイル-3-トリメチルアンモニウム-プロパン（18:1 DOTAP）（例えば、塩化物塩）	
1,2-ジ-O-オクタデセニル-3-トリメチルアンモニウムプロパン（DOTMA）（例えば、塩化物塩）	
ジメチルジオクタデシルアンモニウム（DDAB）（例えば、臭化物塩）	
1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-エチルホスホコリン（14:0 EPC）（例えば、塩化物塩）	

X^-は対イオン（例えばCl^-、Br^-など）である。

【０１７３】

本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約20％～約65％のモルパーセンテージのSORT脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約25％～約60％のモルパーセンテージのSORT脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約30％～約55％のモルパーセンテージのSORT脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約20％～約50％のモルパーセンテージのSORT脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約30％～約60％のモルパーセンテージのSORT脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約25％～約60％のモルパーセンテージのSORT脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、少なくとも（約）25％、少なくとも（約）30％、少なくとも（約）35％、少なくとも（約）40％、少なくとも（約）45％、少なくとも（約）50％、少なくとも（約）55％、少なくとも（約）60％、または少なくとも（約）65％のモルパーセンテージのSORT脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において

、脂質組成物は、多くても（約）25%、多くても（約）30%、多くても（約）35%、多くても（約）40%、多くても（約）45%、多くても（約）50%、多くても（約）55%、多くても（約）60%、または多くても（約）65%のモルパーセンテージのSORT脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、もしくは65%の、または前述の値のいずれか2つの間の（両端を含む）範囲のモルパーセンテージのSORT脂質を含む。

【0174】

追加の脂質

本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、ステロイドまたはステロイド誘導体、PEG脂質、およびリン脂質を含むがそれらに限定されない、追加の脂質をさらに含む。

【0175】

リン脂質または他の両性イオン性脂質

本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、リン脂質をさらに含む。いくつかの態様において、リン脂質は、1つまたは2つの長鎖（例えば、C_6-C_{24}）アルキル基またはアルケニル基、グリセロールまたはスフィンゴシン、1つまたは2つのリン酸基、および任意で、小有機分子を含有し得る。小有機分子は、アミノ酸、糖、またはアミノ置換アルコキシ基、例えば、コリンもしくはエタノールアミンであり得る。いくつかの態様において、リン脂質は、ホスファチジルコリンである。いくつかの態様において、リン脂質は、ジステアロイルホスファチジルコリンまたはジオレオイルホスファチジルエタノールアミンである。いくつかの態様において、他の両性イオン性脂質が用いられ、ここで、両性イオン性脂質は、正電荷および負電荷の両方を有する脂質および脂質様分子を定義する。

【0176】

脂質組成物のいくつかの態様において、リン脂質は、エチルホスホコリンではない。

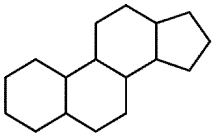
【0177】

本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、組成物は、約20から約23までの、全脂質組成物に対するリン脂質のモルパーセンテージをさらに含み得る。いくつかの態様において、モルパーセンテージは、約20、20.5、21、21.5、22、22.5から、約23まで、またはその中の誘導可能な任意の範囲である。他の態様において、モルパーセンテージは、約7.5から約60までである。いくつかの態様において、モルパーセンテージは、約7.5、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19から、約20まで、またはその中の誘導可能な任意の範囲である。

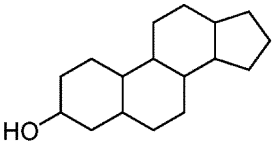
【0178】

本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約8%～約23%のモルパーセンテージのリン脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約10%～約20%のモルパーセンテージのリン脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約15%～約20%のモルパーセンテージのリン脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約8%～約15%のモルパーセンテージのリン脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約10%～約15%のモルパーセンテージのリン脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約12%～約18%のモルパーセンテージのリン脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、少なくとも（約）8%、少なくとも（約）10%、少なくとも（約）12%、少なくとも（約）15%、少なくとも（約）18%、少なくとも（約）20%、または少なくとも（約）23%のモルパーセンテージのリン脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、多くても（約）8%、多くても（約）10%、多くても（約）12%、多くても（約）15%、多くても（約）18%、多くても（約）20%、または多くても（約）23%のモルパーセンテージのリン脂質を含む。

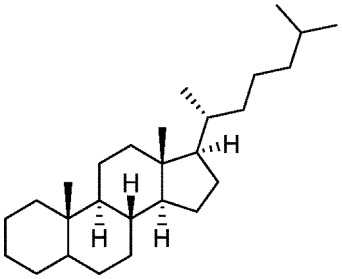
【０１７９】
ステロイドまたはステロイド誘導体
本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、ステロイドまたはステロイド誘導体をさらに含む。いくつかの態様において、ステロイドまたはステロイド誘導体は、任意のステロイドまたはステロイド誘導体を含む。本明細書で用いられる場合、いくつかの態様において、「ステロイド」という用語は、アルキル基、アルコキシ基、ヒドロキシ基、オキソ基、アシル基、または2個以上の炭素原子の間の二重結合を含む1つまたは複数の置換をさらに含むことができる、四環17炭素環状構造を有する化合物のクラスである。いくつかの態様において、ステロイドの環構造は、式：



に示されるように、3つの縮合シクロヘキシル環および縮合シクロペンチル環を含む。いくつかの態様において、ステロイド誘導体は、1つまたは複数の非アルキル置換を有する上記の環構造を含む。いくつかの態様において、ステロイドまたはステロイド誘導体は、式が



としてさらに定義される、ステロールである。本出願のいくつかの態様において、ステロイドまたはステロイド誘導体は、コレスタンまたはコレスタン誘導体である。コレスタンにおいて、環構造は、式：



によってさらに定義される。上記のように、コレスタン誘導体は、上記の環系の1つまたは複数の非アルキル置換を含む。いくつかの態様において、コレスタンまたはコレスタン誘導体は、コレステンもしくはコレステン誘導体、またはステロールもしくはステロール誘導体である。他の態様において、コレスタンまたはコレスタン誘導体は、コレステレ（cholestere）およびステロールまたはその誘導体の両方である。
【０１８０】
脂質組成物のいくつかの態様において、組成物は、約40から約46までの、全脂質組成物に対するステロイドのモルパーセンテージをさらに含み得る。いくつかの態様において、モルパーセンテージは、約40、41、42、43、44、45から、約46まで、またはその中の誘導可能な任意の範囲である。他の態様において、全脂質組成物に対するステロイドのモルパーセンテージは、約15から約40までである。いくつかの態様において、モルパーセンテージは、15、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、もしくは40、またはその中の誘導可能な任意の範囲である。
【０１８１】
本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約15％～約46％のモ

ルパーセンテージのステロイドまたはステロイド誘導体を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約20％～約40％のモルパーセンテージのステロイドまたはステロイド誘導体を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約25％～約35％のモルパーセンテージのステロイドまたはステロイド誘導体を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約30％～約40％のモルパーセンテージのステロイドまたはステロイド誘導体を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約20％～約30％のモルパーセンテージのステロイドまたはステロイド誘導体を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、少なくとも（約）15％、少なくとも（約）20％、少なくとも（約）25％、少なくとも（約）30％、少なくとも（約）35％、少なくとも（約）40％、少なくとも（約）45％、または少なくとも（約）46％のモルパーセンテージのステロイドまたはステロイド誘導体を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、多くても（約）15％、多くても（約）20％、多くても（約）25％、多くても（約）30％、多くても（約）35％、多くても（約）40％、多くても（約）45％、または多くても（約）46％のモルパーセンテージのステロイドまたはステロイド誘導体を含む。

【０１８２】

ポリマーコンジュゲート脂質

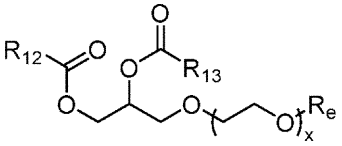
本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、ポリマーコンジュゲート脂質をさらに含む。いくつかの態様において、ポリマーコンジュゲート脂質は、PEG脂質である。いくつかの態様において、PEG脂質は、グリセロール基に付着したPEG鎖もまた含む、ジグリセリドである。他の態様において、PEG脂質は、PEG鎖を有するリンカー基に付着した1つまたは複数のC_6-C_{24}長鎖炭化水素基（例えば、C_6-C_{24}長鎖アルキル基もしくはアルケニル基、またはC_6-C_{24}脂肪酸基）を含有する化合物である。いくつかの態様において、アルキル基、アルケニル基、または脂肪酸基は、約6個の炭素原子～約24個の炭素原子である。いくつかの態様において、アルキル基、アルケニル基、または脂肪酸基は、少なくとも約6個の炭素原子である。いくつかの態様において、アルキル基、アルケニル基、または脂肪酸基は、多くても約24個の炭素原子である。いくつかの態様において、アルキル基、アルケニル基、または脂肪酸基は、約6個の炭素原子～約8個の炭素原子、約6個の炭素原子～約10個の炭素原子、約6個の炭素原子～約12個の炭素原子、約6個の炭素原子～約14個の炭素原子、約6個の炭素原子～約16個の炭素原子、約6個の炭素原子～約20個の炭素原子、約6個の炭素原子～約22個の炭素原子、約6個の炭素原子～約24個の炭素原子、約8個の炭素原子～約10個の炭素原子、約8個の炭素原子～約12個の炭素原子、約8個の炭素原子～約14個の炭素原子、約8個の炭素原子～約16個の炭素原子、約8個の炭素原子～約20個の炭素原子、約8個の炭素原子～約22個の炭素原子、約8個の炭素原子～約24個の炭素原子、約10個の炭素原子～約12個の炭素原子、約10個の炭素原子～約14個の炭素原子、約10個の炭素原子～約16個の炭素原子、約10個の炭素原子～約20個の炭素原子、約10個の炭素原子～約22個の炭素原子、約10個の炭素原子～約24個の炭素原子、約12個の炭素原子～約14個の炭素原子、約12個の炭素原子～約16個の炭素原子、約12個の炭素原子～約20個の炭素原子、約12個の炭素原子～約22個の炭素原子、約12個の炭素原子～約24個の炭素原子、約14個の炭素原子～約16個の炭素原子、約14個の炭素原子～約20個の炭素原子、約14個の炭素原子～約22個の炭素原子、約14個の炭素原子～約24個の炭素原子、約16個の炭素原子～約20個の炭素原子、約16個の炭素原子～約22個の炭素原子、約16個の炭素原子～約24個の炭素原子、約20個の炭素原子～約22個の炭素原子、約20個の炭素原子～約24個の炭素原子、または約22個の炭素原子～約24個の炭素原子である。いくつかの態様において、アルキル基、アルケニル基、または脂肪酸基は、約6個の炭素原子、約8個の炭素原子、約10個の炭素原子、約12個の炭素原子、約14個の炭素原子、約16個の炭素原子、約20個の炭素原子、約22個の炭素原子、または約24個の炭素原子である。いくつかの態様において、長鎖炭化水素基（1つまたは複数）は、1つまたは複数の不飽和炭素結合（

例えば、二重または三重の炭素-炭素結合）を含み得る。いくつかの態様において、長鎖炭化水素基は、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12個、またはそれよりも多い不飽和炭素結合を含み得る。いくつかの態様において、炭化水素基は、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1個以下、またはそれよりも少ない不飽和炭素結合を含み得る。PEG脂質のいくつかの非限定的な例には、PEG修飾ホスファチジルエタノールアミンおよびホスファチジン酸、PEGセラミドコンジュゲート、PEG修飾ジアルキルアミンおよびPEG修飾1,2-ジアシルオキシプロパン-3-アミン、PEG修飾ジアシルグリセロールおよびジアルキルグリセロールが含まれる。いくつかの態様において、PEG修飾ジアステアロイルホスファチジルエタノールアミンまたはPEG修飾ジミリストイル-sn-グリセロールである。いくつかの態様において、PEG修飾は、脂質のPEG成分の分子量によって測定される。いくつかの態様において、PEG修飾は、約100～約15,000の分子量を有する。いくつかの態様において、分子量は、約200～約500、約400～約5,000、約500～約3,000、または約1,200～約3,000である。PEG修飾の分子量は、約100、200、400、500、600、800、1,000、1,250、1,500、1,750、2,000、2,250、2,500、2,750、3,000、3,500、4,000、4,500、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000、10,000、12,500から、約15,000までである。いくつかの態様において、ポリマーコンジュゲート脂質は、約500～約100,000ダルトン（Da）の分子量を有する。いくつかの態様において、ポリマーコンジュゲート脂質は、約100、200、300、500、1,000、2,000、5,000、10,000、20,000、50,000、100,000、またはそれよりも大きいDaの分子量を有する。いくつかの態様において、ポリマーコンジュゲート脂質は、約100、200、300、500、1,000、2,000、5,000、10,000、20,000、50,000、100,000超、またはそれよりも大きい分子量を有する。いくつかの態様において、ポリマーコンジュゲート脂質は、100,000、50,000、20,000、10,000、5,000、2,000、1,000、500、300、200、100以下、またはそれよりも小さい分子量を有する。いくつかの態様において、ポリマーコンジュゲート脂質は、約100 Da～約100,000 Daの分子量を有する。いくつかの態様において、ポリマーコンジュゲート脂質は、少なくとも約100 Daの分子量を有する。いくつかの態様において、ポリマーコンジュゲート脂質は、多くても約100,000 Daの分子量を有する。いくつかの態様において、ポリマーコンジュゲート脂質は、約100 Da～約200 Da、約100 Da～約300 Da、約100 Da～約500 Da、約100 Da～約1,000 Da、約100 Da～約2,000 Da、約100 Da～約5,000 Da、約100 Da～約10,000 Da、約100 Da～約20,000 Da、約100 Da～約50,000 Da、約100 Da～約100,000 Da、約200 Da～約300 Da、約200 Da～約500 Da、約200 Da～約1,000 Da、約200 Da～約2,000 Da、約200 Da～約5,000 Da、約200 Da～約10,000 Da、約200 Da～約20,000 Da、約200 Da～約50,000 Da、約200 Da～約100,000 Da、約300 Da～約500 Da、約300 Da～約1,000 Da、約300 Da～約2,000 Da、約300 Da～約5,000 Da、約300 Da～約10,000 Da、約300 Da～約20,000 Da、約300 Da～約50,000 Da、約300 Da～約100,000 Da、約500 Da～約1,000 Da、約500 Da～約2,000 Da、約500 Da～約5,000 Da、約500 Da～約10,000 Da、約500 Da～約20,000 Da、約500 Da～約50,000 Da、約500 Da～約100,000 Da、約1,000 Da～約2,000 Da、約1,000 Da～約5,000 Da、約1,000 Da～約10,000 Da、約1,000 Da～約20,000 Da、約1,000 Da～約50,000 Da、約1,000 Da～約100,000 Da、約2,000 Da～約5,000 Da、約2,000 Da～約10,000 Da、約2,000 Da～約20,000 Da、約2,000 Da～約50,000 Da、約2,000 Da～約100,000 Da、約5,000 Da～約10,000 Da、約5,000 Da～約20,000 Da、約5,000 Da～約50,000 Da、約5,000 Da～約100,000 Da、約10,000 Da～約20,000 Da、約10,000 Da～約50,000 Da、約10,000 Da～約100,000 Da、約20,000 Da～約50,000 Da、約20,000 Da～約100,000 Da、または約50,000 Da～約100,000 Daの分子量を有する。いくつかの態様において、ポリマーコンジュゲート脂質は、約100 Da、約200 Da、約300 Da、約500 Da、約1,000 Da、約2,000 Da、約5,000 Da、約10,000 Da、約20,000 Da、

約50,000 Da、または約100,000 Daの分子量を有する。本出願において使用され得る脂質のいくつかの非限定的な例は、参照により本明細書に組み入れられる米国特許第5,820,873号、WO 2010/141069、または米国特許第8,450,298号によって教示される。

【０１８３】

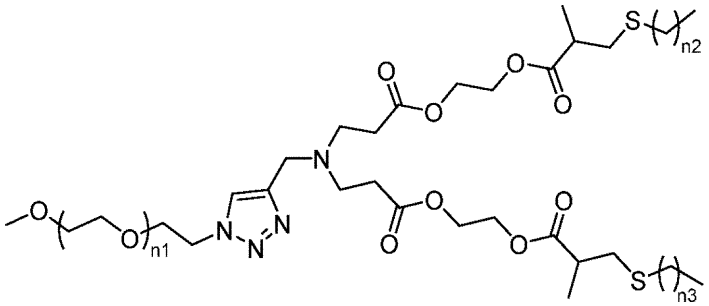
本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、PEG脂質は、構造式：



を有し、式中、R_{12}およびR_{13}は、各々独立して、アルキル$(C \leqq 24)$、アルケニル$(C \leqq 24)$、またはこれらの基のうちのいずれかの置換バージョンであり；R_eは、水素、アルキル$(C \leqq 8)$、または置換アルキル$(C \leqq 8)$であり；かつxは、1～250である。いくつかの態様において、R_eは、アルキル$(C \leqq 8)$、例えばメチルである。R_{12}およびR_{13}は、各々独立して、アルキル$(C \leqq 4\text{-}20)$である。いくつかの態様において、xは、5～250である。1つの態様において、xは、5～125であるか、またはxは、100～250である。いくつかの態様において、PEG脂質は、1,2-ジミリストイル-sn-グリセロール、メトキシポリエチレングリコールである。

【０１８４】

本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、PEG脂質は、構造式：



を有し、式中、n_1は、1～100の整数であり、かつn_2およびn_3は、各々独立して、1～29の整数から選択される。いくつかの態様において、n_1は、5、10、15、20、25、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、もしくは100、またはその中の誘導可能な任意の範囲である。いくつかの態様において、n_1は、約30～約50である。いくつかの態様において、n_2は、5～23である。いくつかの態様において、n_2は、11～約17である。いくつかの態様において、n_3は、5～23である。いくつかの態様において、n_3は、11～約17である。

【０１８５】

本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、組成物は、約4.0から約4.6までの、全脂質組成物に対するPEG脂質のモルパーセンテージをさらに含み得る。いくつかの態様において、モルパーセンテージは、約4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5から、約4.6まで、またはその中の誘導可能な任意の範囲である。他の態様において、モルパーセンテージは、約1.5から約4.0までである。いくつかの態様において、モルパーセンテージは、約1.5、1.75、2、2.25、2.5、2.75、3、3.25、3.5、3.75から、約4.0まで、またはその中の誘導可能な任意の範囲である。

【０１８６】

本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約0.5％～約10％のモルパーセンテージのポリマーコンジュゲート脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約1％～約8％のモルパーセンテージのポリマーコン

ジュゲート脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約2％～約7％のモルパーセンテージのポリマーコンジュゲート脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約3％～約5％のモルパーセンテージのポリマーコンジュゲート脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約5％～約10％のモルパーセンテージのポリマーコンジュゲート脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、少なくとも（約）0.5％、少なくとも（約）1％、少なくとも（約）1.5％、少なくとも（約）2％、少なくとも（約）2.5％、少なくとも（約）3％、少なくとも（約）3.5％、少なくとも（約）4％、少なくとも（約）4.5％、少なくとも（約）5％、少なくとも（約）5.5％、少なくとも（約）6％、少なくとも（約）6.5％、少なくとも（約）7％、少なくとも（約）7.5％、少なくとも（約）8％、少なくとも（約）8.5％、少なくとも（約）9％、少なくとも（約）9.5％、または少なくとも（約）10％のモルパーセンテージのポリマーコンジュゲート脂質を含む。本出願の脂質組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、多くても（約）0.5％、多くても（約）1％、多くても（約）1.5％、多くても（約）2％、多くても（約）2.5％、多くても（約）3％、多くても（約）3.5％、多くても（約）4％、多くても（約）4.5％、多くても（約）5％、多くても（約）5.5％、多くても（約）6％、多くても（約）6.5％、多くても（約）7％、多くても（約）7.5％、多くても（約）8％、多くても（約）8.5％、多くても（約）9％、多くても（約）9.5％、または多くても（約）10％のモルパーセンテージのポリマーコンジュゲート脂質を含む。

【０１８７】

薬学的組成物

治療剤または予防剤

いくつかの態様において、本明細書に記載される脂質組成物とアセンブルした治療剤（または予防剤）を含む薬学的組成物が、本明細書において提供される。

【０１８８】

薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、化合物、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはそれらの組み合わせを含む。いくつかの態様において、化合物、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはそれらの組み合わせは、本明細書に記載される薬学的組成物によって処置されている細胞または対象にとって外因性または異種である。いくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、本明細書に記載される化合物を含む。いくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、本明細書に記載されるポリヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、本明細書に記載されるポリペプチドを含む。いくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、化合物、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはそれらの組み合わせを含む。

【０１８９】

いくつかの態様において、薬学的組成物は、喘息、COPD、または肺がんなどの肺疾患を処置するための治療剤（または予防剤）を含む。いくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、ステロイド、例えば、プレドニゾン、ヒドロコルチゾン、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、またはデキサメタゾンを含む。いくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、Abraxane、アファチニブジマレイン酸塩、Afinitor、Afinitor Disperz、Alecensa、アレクチニブ、Alimta、Alunbrig、アテゾリズマブ、Avastin、ベバシズマブ、ブリガチニブ、カプマチニブ塩酸塩、カルボプラチン、セリチニブ、クリゾチニブ、Cyramza、ダブラフェニブメシル酸塩、ダコミチニブ、ドセタキセル、ドキソルビシン塩酸塩、デュルバルマブ、エヌトレクチニブ、エルロチニブ塩酸塩、エベロリムス、Gavreto、ゲフィチニブ、Gilotrif、ゲムシタビン、イピリムマブ、Iressa、Keytruda、Lorbrena、Mekinist、メトトレキサートナトリウム、ネシツムマブ、ニボルマブ、オシメルチニブメシル酸塩、パクリタキセル、ペムブロリズマブ、ペメトレキセドニナトリウム、プラルセチニブ、ラムシルマブ、Retevmo、セルペルカチニブ、Tabrecta、Tafinlar、Tagrisso、トラメチニブジメチルスルホキシド、Vizimpro、ビノレルビン酒石酸塩、Xalkori、Yervoy、Zirabev、Zykadia、カルボプラチ

ン、ゲムシタビン-シスプラチン、Afinitor、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、Etopophos、エトポシド、Hycamtin、Imfinzi、Keytruda、ルルビネクテジン、メトトレキサートナトリウム、ニボルマブ、Opdivo、ペムブロリズマブ、Tecentriq、トポテカン塩酸塩、Trexall、またはZepzelcaを含む。化合物を含む治療剤（または予防剤）の他の非限定的な例には、以下から選択される小分子が含まれる：7-メトキシプテリジン、7メチルプテリジン、アバカビル、アバファンギン、アバレリクス、アセブトロール、アセナフテン、アセトアミノフェン、アセトアニリド、アセタゾラミド、アセトヘキサミド、アセトレチン、アクリバスチン、アデニン、アデノシン、アラトロフロキサシン、アルベンダゾール、アルブテロール、アルクロフェナク、アルデスロイキン、アレムツズマブ、アルフゾシン、アリトレチノイン、アロバルビタール、アロプリノール、オールトランスレチノイン酸（ATRA）、アロキシプリン、アルプラゾラム、アルプレノロール、アルトレタミン、アミホスチン、アミロリド、アミノグルテチミド、アミノピリン、アミオダロンHCl、アミトリプチリン、アムロジピン、アモバルビタール、アモジアキン、アモキサピン、アンフェタミン、アンホテリシン、アンホテリシンB、アンピシリン、アンプレナビル、アムサクリン、硝酸アミル、アミロバルビトン、アナストロゾール、アンリノン、アントラセン、アントラサイクリン、アプロバルビタール、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、アスピリン、アステミゾール、アテノロール、アトルバスタチン、アトバコン、アトラジン、アトロピン、アトロピンアザチオプリン、オーラノフィン、アザシチジン、アザプロパゾン、アザチオプリン、アジンタミド、アジスロマイシン、アズトレオナム、バクロフェン、バルビトン、BCG生、ベクラミド、ベクロメタゾン、ベンドロフルメチアジド、ベネゼプリル、ベニジピン、ベノリラート、ベンペリドール、ベンタゼパム、ベンズアミド、ベンザントラセン、ベンザチンペニシリン、ベンズヘキソールHCl、ベンズニダゾール、ベンゾジアゼピン、安息香酸、ベフェニウムヒドロキシナフトアート、ベタメタゾン、ベバシズマブ（avastin）、ベキサロテン、ベザフィブラート、ビカルタミド、ビフォナゾール、ビペリデン、ビサコジル、ビサントレン、ブレオマイシン、ブレオマイシン、ボルテゾミブ、ブリンゾラミド、ブロマゼパム、ブロモクリプチンメシラート、ブロムペリドール、ブロチゾラム、ブデソニド、ブメタニド、ブプロピオン、ブスルファン、ブタルビタール、ブタンベン、ブテナフィンHCl、ブトバルビトン、ブトバルビトン（ブテタール）、ブトコナゾール、硝酸ブトコナゾール、ブチルパラベン、カフェイン、カルシフェジオール、カルシプロトリエン、カルシトリオール、カルステロン、カンベンダゾール、カンファー、カンプトテシン、カンプトテシン類似体、カンデサルタン、カペシタビン、カプサイシン、カプトプリル、カルバマゼピン、カルビマゾール、カルボフラン、カルボプラチン、カルブロマール、カリマゾール、カルムスチン、セファマンドール、セファゾリン、セフィキシム、セフタジジム、セフロキシムアキセチル、セレコキシブ、セフラジン、セリバスタチン、セトリジン、セツキシマブ、クロラムブシル、クロラムフェニコール、クロルジアゼポキシド、クロルメチアゾール、クロロキン、クロロチアジド、クロルフェニラミン、クロルプログアニルHCl、クロルプロマジン、クロルプロパミド、クロルプロチキセン、クロルピリホス、クロルテトラサイクリン、クロルタリドン、クロルゾキサゾン、コレカルシフェロール、クリセン、シロスタゾール、シメチジン、シナリジン、シノキサシン、シプロフィブラート、シプロフロキサシンHCl、シサプリド、シスプラチン、シタロプラム、クラドリビン、クラリスロマイシン、フマル酸クレマスチン、クリオキノール、クロバザム、クロファラビン、クロファジミン、クロフィブラート、クエン酸クロミフェン、クロミプラミン、クロナゼパム、クロピドグレル、クロチアゼパム、クロトリマゾール、クロトリマゾール、クロキサシリン、クロザピン、コカイン、コデイン、コルヒチン、コリスチン、コンジュゲートエストロゲン、コルチコステロン、コルチゾン、酢酸コルチゾン、シクリジン、シクロバルビタール、シクロベンザプリン、シクロブタン-スピロバルビツラート、シクロエタン-スピロバルビツルラート、シクロヘプタン-スピロバルビツラート、シクロヘキサン-スピロバルビツラート、シクロペンタン-スピロバルビツラート、シクロホスファミド、シクロプロパン-スピロバルビツラート、シクロセリン、シクロスポリン、シプロヘプタジン、シタラビン、シトシン、ダカルバ

ジン、ダクチノマイシン、ダナゾール、ダントロン、ダントロレンナトリウム、ダプソン、ダルベポエチンα、ダロジピン、ダウノルビシン、デコキナート、デヒドロエピアンドロステロン、デラビルジン、デメクロサイクリン、デニロイキン、デオキシコルチコステロン、デソキシメタゾン、デキサメタゾン、デキサンフェタミン、デクスクロルフェニラミン、デクスフェンフルラミン、デクスラゾキサン、デキストロプロポキシフェン、ジアモルフィン、ジアトリゾ酸、ジアゼパム、ジアゾキシド、ジクロロフェン、ジクロルプロップ、ジクロフェナク、ジクマロール、ジダノシン、ジフルニサル、ジギトキシン、ジゴキシン、ジヒドロコデイン、ジヒドロエキリン、ジヒドロエルゴタミンメシラート、ジヨードヒドロキシキノリン、ジルチアゼムHCl、ジロキサミドフロアート、ジメンヒドリナート、ジモルホラミン、ジニトルミド、ジオスゲニン、ジフェノキシラートHCl、ジフェニル、ジピリダモール、ジリスロマイシン、ジソピラミド、ジスルフィラム、ジウロン、ドセタキセル、ドンペリドン、ドネペジル、ドキサゾシン、ドキサゾシンHCl、ドキソルビシン、ドキシサイクリン、ドロモスタノロンプロピオナート、ドロペリドール、ジフィリン、エキノカンジン、エコナゾール、エコナゾールニトラート、エファビレンツ、エリプチシン、エナラプリル、エンリモマブ、エノキシモン、エピネフリン、エピポドフィロトキシン誘導体、エピルビシン、エポエチンα、エポサルタン、エクイレニン、エクイリン、エルゴカルシフェロール、酒石酸エルゴタミン、エルロチニブ、エリスロマイシン、エストラジオール、エストラムスチン、エストリオール、エストロン、エタクリン酸、エタンブトール、エチナマート、エチオナミド、エトプロパジンHCl、エチル-4-アミノベンゾアート（ベンゾカイン）、エチルパラベン、エチニルエストラジオール、エトドラク、エトミダート、エトポシド、エトレチナート、エキセメスタン、フェルバマート、フェロジピン、フェンベンダゾール、フェンブコナゾール、フェンブフェン、フェンクロルホス、フェンクロフェナク、フェンフルラミン、フェノフィブラート、フェノルデパム、フェノプロフェンカルシウム、フェノキシカルブ、フェンピクロニル、フェンタニル、フェンチコナゾール、フェキソフェナジン、フィルグラスチム、フィナステリド、酢酸フレカミド、フロクスウリジン、フルダラビン、フルコナゾール、フルコナゾール、フルシトシン、フルジオキソニル、フルドロコルチゾン、酢酸フルドロコルチゾン、フルフェナム酸、フルナニゾン、フルナリジンHCl、フルニソリド、フルニトラゼパム、フルオコルトロン、フルオメツロン、フルオレン、フルオロウラシル、フルオキセチンHCl、フルオキシメステロン、フルペンチキソールデカノアート、フルフェンチキソールデカノアート、フルラゼパム、フルルビプロフェン、フルチカゾンプロピオナート、フルバスタチン、葉酸、ホセノプリル、ホスフェニトインナトリウム、フロバトリプタン、フロセミド、フルベストラント、フラゾリドン、ガバペンチン、G-BHC（リンダン）、ゲフィチニブ、ゲムシタビン、ゲムフィブロジル、ゲムツズマブ、グラフェニン、グリベンクラミド、グリクラジド、グリメピリド、グリピジド、グルテチミド、グリブリド、グリセリルトリニトラート（ニトログリセリン）、酢酸ゴセレリン、グレパフロキサシン、グリセオフルビン、グアイフェネシン、酢酸グアナベンズ、グアニン、ハロファントリンHCl、ハロペリドール、ヒドロクロロチアジド、ヘプタバルビタール、ヘロイン、ヘスペレチン、ヘキサクロロベンゼン、ヘキセタール、酢酸ヒストレリン、ヒドロコルチゾン、ヒドロフルメチアジド、ヒドロキシ尿素、ヒオスシアミン、ヒポキサンチン、イブリツモマブ、イブプロフェン、イダルビシン、イドブタール、イホスファミド、イヒドロエキレニン（ihydroequilenin）、イマチニブメシルラート、イミペネム、インダパミド、インジナビル、インドメタシン、インドプロフェン、インターフェロンα-2a、インターフェロンα-2b、ヨーダミド、イオパノ酸、イプロジオン、イルベサルタン、イリノテカン、イサブコナゾール、イソカルボキサジド、イソコナゾール、イソグアニン、イソニアジド、イソプロピルバルビツラート、イソプロツロン、イソソルビドジニトラート、イソソルビドモノニトラート、イズラジピン、イトラコナゾール、イトラコナゾール、イトラコナゾール（Itra）、イベルメクチン、ケトコナゾール、ケトプロフェン、ケトロラク、ケリン、ラベタロール、ラミブジン、ラモトリギン、ラナトシドC、ラノスプラゾール、L-DOPA、レフルノミド、レナリドミド、レトロゾール、ロイコボリン、酢酸ロイプロリド、レバミゾール、

レボフロキサシン、リドカイン、リヌロン、リシノプリル、ロメフロキサシン、ロムスチン、ロペラミド、ロラタジン、ロラゼパム、ロレフロキサシン、ロルメタゼパム、メシル酸ロサルタン、ロバスタチン、マレイン酸リスリド、マプロチリンHCl、マジンドール、メベンダゾール、メクリジンHCl、メクロフェナム酸、メダゼパム、メディゴキシン、酢酸メドロキシプロゲステロン、メフェナム酸、メフロキンHCl、酢酸メゲストロール、メルファラン、臭化メペンゾラート、メプロバマート、メプタジノール、メルカプトプリン、メサラジン、メスナ、メソリダジン、メストラノール、メタドン、メタクアロン、メトカルバモール、メトイン、メトトレキサート、メトキサレン、メトスクシミド、メチクロチアジド、メチルフェニダート、メチルフェノバルビトン、メチル-p-ヒドロキシベンゾアート、メチルプレドニゾロン、メチルテストステロン、メチプリロン、マレイン酸メチセルギド、メトクロプラミド、メトラゾン、メトプロロール、メトロニダゾール、ミアンセリンHCl、ミコナゾール、ミダゾラム、ミフェプリストン、ミグリトール、ミノサイクリン、ミノキシジル、マイトマイシンC、ミトタン、ミトキサントロン、モフェチルミコフェノラート、モリンドン、モンテルカスト、モルヒネ、モキシフロキサシンHCl、ナブメトン、ナドロール、ナ
ルブフィン、ナリジクス酸、ナンドロロン、ナフタセン、ナフタレン、ナプロキセン、ナラトリプタンHCl、ナタマイシン、ネララビン、ネルフィナビル、ネビラピン、ニカルジピンHCl、ニコチンアミド、ニコチン酸、ニクマロン、ニフェジピン、ニルタミド、ニモジピン、ニモラゾール、ニソルジピン、ニトラゼパム、ニトロフラントイン、ニトロフラゾン、ニザチジン、ノフェツモマブ、ノルエチステロン、ノルフロキサシン、ノルゲストレル、ノルトリプチリンHCl、ナイスタチン、エストラジオール、オフロキサシン、オランザピン、オメプラゾール、オモコナゾール、オンダンセトロンHCl、オプレルベキン、オルニダゾール、オキサリプラチン、オキサムニキン、オキサンテルエンボナート、オキサプロジン、オキサトミド、オキサゼパム、オクスカルバゼピン、オクスフェンダゾール、オキシコナゾール、オクスプレノール、オキシフェンブタゾン、オキシフェンサイクリミンHCl、パクリタキセル、パリフェルミン、パミドロナート、p-アミノサリチル酸、パントプラゾール、パラメタジオン、パロキセチンHCl、ペガデマーゼ、ペガスパルガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペメトレキセド二ナトリウム、ペニシラミン、ペンタエリスリトールテトラニトラート、ペンタゾシン、ペンタゾシン、ペントバルビタール、ペントバルビトン、ペントスタチン、ペントキシフィリン、ペルフェナジン、ペルフェナジンピモジド、ペリレン、フェナセミド、フェナセチン、フェナントレン、フェニンジオン、フェノバルビタール、フェノールバルビトン、フェノールフタレイン、フェノキシベンザミン、フェノキシベンザミンHCl、フェノキシメチルペニシリン、フェンスクシミド、フェニルブタゾン、フェニトイン、ピンドロール、ピオグリタゾン、ピポブロマン、ピロキシカム、マレイン酸ピゾチフェン、白金化合物、プリカマイシン、ポリエン、ポリミキシンB、ポルフィマーナトリウム、ポサコナゾール（Posa）、プラミペキソール、プラステロン、プラバスタチン、プラジカンテル、プラゾシン、プラゾシンHCl、プレドニゾロン、プレドニゾン、プリミドン、プロバルビタール、プロベネシド、プロブコール、プロカルバジン、プロクロルペラジン、プロゲステロン、プログアニルHCl、プロメタジン、プロポフォール、プロポクスル、プロプラノロール、プロピルパラベン、プロピルチオウラシル、プロスタグランジン、プソイドエフェドリン、プテリジン-2-メチル-チオール、プテリジン-2-チオール、プテリジン-4-メチル-チオール、プテリジン-4-チオール、プテリジン-7-メチル-チオール、プテリジン-7-チオール、ピランテルエンボナート、ピラジナミド、ピレン、ピリドスチグミン、ピリメタミン、クエチアピン、キナクリン、キナプリル、キニジン、硫酸キニジン、キニーネ、硫酸キニーネ、ラベプラゾールナトリウム、ラニチジンHCl、ラスブリカーゼ、ラブコナゾール、レパグリニド、レポサール、レセルピン、レチノイド、リファブチン、リファンピシン、リファペンチン、リメキソロン、リスペリドン、リトナビル、リツキシマブ、リザトリプタンベンゾアート、ロフェコキシブ、ロピニロールHCl、ロシグリタゾン、サッカリン、サルブタモール、サリチルアミド、サリチル酸、サキナビル、サルグラモスチム、セクブタバルビタール、セコバルビター

ル、セルタコナゾール、セルチンドール、セルトラリンHCl、シンバスタチン、シロリムス、ソラフェニブ、スパルフロキサシン、スピラマイシン、スピロノラクトン、スタノロン、スタノゾロール、スタブジン、スチルベストロール、ストレプトゾシン、ストリキニーネ、スルコナゾール、硝酸スルコナゾール、スルファセトアミド、スルファジアジン、スルファメラジン、スルファメタジン、スルファメトキサゾール、スルファニルアミド、スルファチアゾール、スリンダク、スルファベンザミド、スルファアセトアミド、スルファジアジン、スルファドキシン、スルファフラゾール、スルファメラジン、スルファ-メトキサゾール、スルファピリジン、スルファサラジン、スルフィンピラゾン、スルピリド、スルチアム、コハク酸スマトリプタン、マレイン酸スニチニブ、タクリン、タクロリムス、タルブタール、クエン酸タモキシフェン、タムロシン、タルグレチン、タキサン、タザロテン、テルミサルタン、テマゼパム、テモゾロミド、テニポシド、テノキシカム、テラゾシン、テラゾシンHCl、テルビナフィンHCl、硫酸テルブタリン、テルコナゾール、テルフェナジン、テストラクトン、テストステロン、テトラサイクリン、テトラヒドロカンナビノール、テトロキソプリム、サリドマイド、テバイン、テオブロミン、テオフィリン、チアベンダゾール、チアンフェニコール、チオグアニン、チオリダジン、チオテパ、トトイン（thotoin）、チミン、チアガビンHCl、チボロン、チクロピジン、チニダゾール、チオコナゾール、チロフィバン、チザニジンHCl、トラザミド、トルブタミド、トルカポン、トピラマート、トポテカン、トレミフェン、トシツモマブ、トラマドール、トラスツズマブ、トラゾドンHCl、トレチノイン、トリアムシノロン、トリアムテレン、トリアゾラム、トリアゾール、トリフルプロマジン、トリメトプリム、マレイン酸トリミプラミン、トリフェニレン、トログリタゾン、トロメタミン、トロピカミド、トロバフロキサシン、チバマート、ユビデカレノン（コエンザイムQ10）、ウンデセン酸、ウラシル、ウラシルマスタード、尿酸、バルプロ酸、バルルビシン、バルサルタン、バンコマイシン、ベンラファキシンHCl、ビガバトリン、ビンバルビタール、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビノレルビン、ボリコナゾール、キサンチン、ザフィルルカスト、ジドブジン、ジロイトン、ゾレドロナート、ゾレドロン酸、ゾルミトリプタン、ゾルピデム、またはゾピクロン。

【０１９０】

ポリヌクレオチド

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物とアセンブルした治療剤（または予防剤）は、1つまたは複数のポリヌクレオチドを含む。しかし、当業者は、非ヒト種（例えば、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル、テナガザル、チンパンジー、類人猿、ヒヒ、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ネコ、および他の種）からの核酸を含み、ポリヌクレオチドの様々な他の供給源において関連するホモログを容易に特定することができるため、本出願は、ポリヌクレオチドのいずれかの特定の供給源、配列、またはタイプに範囲が限定されない。本出願において使用されるポリヌクレオチドは、天然に存在する配列に基づく配列を含むことができることが企図される。遺伝コードの縮重を考慮すると、配列は、天然に存在する配列のヌクレオチド配列と同一であるヌクレオチドの、少なくとも約50％、通常は少なくとも約60％、より通常は約70％、最も通常は約80％、好ましくは少なくとも約90％、および最も好ましくは約95％を有する。別の態様において、ポリヌクレオチドは、天然に存在する配列に対して相補的な配列であるか、または75％、80％、85％、90％、95％、および100％に対して相補的である核酸配列を含む。250、500、1000、1212、1500、2000、2500、3000、またはそれ以上をコードする、より長いポリヌクレオチドが、本明細書において企図される。

【０１９１】

いくつかの態様において、本明細書において使用されるポリヌクレオチドは、ゲノムDNAに由来し得、すなわち、特定の生物のゲノムから直接クローニングされ得る。しかし、好ましい態様において、ポリヌクレオチドは、相補的DNA（cDNA）を含むであろう。また、cDNA＋天然のイントロンまたは別の遺伝子由来のイントロンも企図され；そのような操作された分子は、時には「ミニ遺伝子」と呼ばれる。最低でも、本出願のこれら

のおよび他の核酸は、例えば、ゲル電気泳動における分子量標準として用いられ得る。「cDNA」という用語は、メッセンジャーRNA（mRNA）を鋳型として用いて調製されたDNAを指すように意図される。ゲノムDNA、またはゲノムの、プロセシングされていないかもしくは部分的にプロセシングされたRNA鋳型から重合されたDNAとは対照的に、cDNAを用いる利点は、cDNAが、主に、対応するタンパク質のコード配列を含有することである。完全なまたは部分的なゲノム配列が好ましい時、例えば、非コード領域が最適な発現に必要とされる場合、またはイントロンなどの非コード領域がアンチセンス戦略において標的とされるべきである場合がある。

【０１９２】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、低分子干渉リボ核酸（siRNA）、短鎖ヘアピンRNA（shRNA）、マイクロリボ核酸（miRNA）、一次マイクロリボ核酸（pri-miRNA）、長鎖非コーディングRNA（lncRNA）、メッセンジャーリボ核酸（mRNA）、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（CRISPR）関連核酸、CRISPR-RNA（crRNA）、単一ガイドリボ核酸（sgRNA）、トランス活性化CRISPRリボ核酸（tracrRNA）、プラスミドデオキシリボ核酸（pDNA）、転移リボ核酸（tRNA）、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）、アンチセンスリボ核酸（RNA）、ガイドリボ核酸、デオキシリボ核酸（DNA）、二本鎖デオキシリボ核酸（dsDNA）、一本鎖デオキシリボ核酸（ssDNA）、一本鎖リボ核酸（ssRNA）、または二本鎖リボ核酸（dsRNA）を含む1つまたは複数のセグメントを含む。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、本明細書に記載される治療剤（または予防剤）のうちの少なくとも1つをコードする。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、本明細書に記載されるガイドRNAによりガイドされるヌクレアーゼと複合体化するための、ガイドRNA（gRNA）またはガイドDNA（gDNA）などの、少なくとも1つのガイドポリヌクレオチドをコードする。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、少なくとも1つのガイドポリヌクレオチドによりガイドされる異種ヌクレアーゼをコードする。ヌクレアーゼは、エンドヌクレアーゼであり得る。ガイドポリヌクレオチドによりガイドされる異種エンドヌクレアーゼの非限定的な例は、I型CRISPR関連（Cas）ポリペプチド、II型CRISPR関連（Cas）ポリペプチド、III型CRISPR関連（Cas）ポリペプチド、IV型CRISPR関連（Cas）ポリペプチド、V型CRISPR関連（Cas）ポリペプチド、およびVI型CRISPR関連（Cas）ポリペプチドを含む、CRISPR関連（Cas）タンパク質またはCasヌクレアーゼ；ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ZFN）；転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（TALEN）；メガヌクレアーゼ；RNA結合タンパク質（RBP）；CRISPR関連RNA結合タンパク質；リコンビナーゼ；フリッパーゼ；トランスポザーゼ；アルゴノート（Argonaute）（Ago）タンパク質（例えば、原核生物アルゴノート（pAgo）、古細菌アルゴノート（aAgo）、真核生物アルゴノート（eAgo）、およびナトロノバクテリウム・グレゴリー（Natronobacterium gregoryi）アルゴノート（NgAgo））；RNAに作用するアデノシンデアミナーゼ（ADAR）；CIRT、PUF、ホーミングエンドヌクレアーゼ、またはその任意の機能的断片、その任意の誘導体；その任意のバリアント；ならびにその任意の断片から選択され得る。

【０１９３】

いくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、標的遺伝子のタンパク質の成長ペプチド鎖中にアミノ酸を導入する、転移リボ核酸（tRNA）である。

【０１９４】

本明細書で提供される治療剤（または予防剤）のいくつかの態様は、アクチュエータ部分を含む異種ポリペプチドを含む。アクチュエータ部分は、標的遺伝子に対応する標的ポリヌクレオチドと複合体化するように配置されることができる。いくつかの態様において、治療剤（または予防剤）の投与は、標的遺伝子の改変された発現または活性を結果としてもたらす。標的遺伝子の改変された発現または活性は、例えば、対象の少なくとも約1％（例えば、少なくとも約2％、5％、10％、15％、または20％）の細胞（例えば、肺細胞、例えば肺基底細胞）において検出可能であることができる。治療剤（または予防剤

）は、アクチュエータ部分をコードする異種ポリヌクレオチドを含み得る。アクチュエータ部分は、標的遺伝子に対応する標的ポリヌクレオチドと複合体化するように配置され得る。異種ポリヌクレオチドは、アクチュエータ部分を標的ポリヌクレオチドに方向付けるように配置されたガイドポリヌクレオチドをコードし得る。アクチュエータ部分は、異種エンドヌクレアーゼまたはその断片（例えば、標的ポリヌクレオチドに特異的に結合するようにガイドポリヌクレオチドによって方向付けられる）を含み得る。異種エンドヌクレアーゼは、（1）リボヌクレオタンパク質（RNP）の一部であり得、かつ（2）ガイドポリヌクレオチドと複合体化され得る。異種エンドヌクレアーゼは、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（CRISPR）/CRISPR関連（Cas）タンパク質複合体の一部であり得る。異種エンドヌクレアーゼは、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（CRISPR）関連（Cas）エンドヌクレアーゼであり得る。異種エンドヌクレアーゼは、不活性化エンドヌクレアーゼを含み得る。不活性化エンドヌクレアーゼは、調節部分に融合され得る。調節部分は、転写活性化因子、転写抑制因子、エピジェネティック修飾因子、またはその断片を含み得る。

【０１９５】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、少なくとも1つのガイドポリヌクレオチド（ガイドRNA（gRNA）またはガイドDNA（gDNA）など）によりガイドされる異種エンドヌクレアーゼをコードする。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、少なくとも1つのガイドポリヌクレオチドおよび少なくとも1つの異種エンドヌクレアーゼをコードし、ここで、ガイドポリヌクレオチドは、本明細書に記載される遺伝子のいずれか1つの遺伝子座を切断するために、少なくとも1つの異種エンドヌクレアーゼと複合体化し、それをガイドすることができる。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、少なくとも1つのガイドポリヌクレオチドによりガイドされる異種エンドヌクレアーゼ、例えば、Cas9、Cas12、Cas13、Cpf1（もしくはCas12a）、C2C1、C2C2（もしくはCas13a）、Cas13b、Cas13c、Cas13d、Cas14、C2C3、Casl、CaslB、Cas2、Cas3、Cas4、Cas5、Cas5e（CasD）、Cas6、Cas6e、Cas6f、Cas7、Cas8a、Cas8al、Cas8a2、Cas8b、Cas8c、Csnl、Csxl2、Cas10、Cas10d、CaslO、CaslOd、CasF、CasG、CasH、Csyl、Csy2、Csy3、Csel（CasA）、Cse2（CasB）、Cse3（CasE）、Cse4（CasC）、Cscl、Csc2、Csa5、Csn2、Csm2、Csm3、Csm4、Csm5、Csm6、Cmrl、Cmr3、Cmr4、Cmr5、Cmr6、Csbl、Csb2、Csb3、Csxl7、Csxl4、CsxlO、Csxl6、CsaX、Csx3、Csxl、Csxl5、Csfl、Csf2、Csf3、Csf4、もしくはCul966；その任意の誘導体；その任意のバリアント；またはその任意の断片をコードする。いくつかの態様において、Cas13は、Cas13a、Cas13b、Cas13c、およびCas13d（例えば、CasRx）を含むことができるが、それらに限定されない。

【０１９６】

いくつかの態様において、異種エンドヌクレアーゼは、関心対象の選択された遺伝子の発現を媒介するエピゲノムをリモデリングするためのエピジェネティック修飾因子などの、調節部分に任意で融合した、不活性化エンドヌクレアーゼを含む。場合によっては、エピジェネティック修飾因子は、メチルトランスフェラーゼ、デメチラーゼ、ジスムターゼ、アルキル化酵素、デプリナーゼ、オキシダーゼ、フォトリアーゼ、インテグラーゼ、トランスポザーゼ、リコンビナーゼ、ポリメラーゼ、リガーゼ、ヘリカーゼ、グリコシラーゼ、アセチルトランスフェラーゼ、デアセチラーゼ、キナーゼ、ホスファターゼ、ユビキチン活性化酵素、ユビキチンコンジュゲート酵素、ユビキチンリガーゼ、脱ユビキチン化酵素、アデニル酸形成酵素、AMPylator、脱AMPylator、SUMO化酵素、脱SUMO化酵素、リボシラーゼ、デリボシラーゼ、 N-ミリストイルトランスフェラーゼ、クロモチンリモデリング酵素、プロテアーゼ、酸化還元酵素、トランスフェラーゼ、ヒドロラーゼ、リアーゼ、イソメラーゼ、シンターゼ、シンテターゼ、または脱ミリストイル化酵素を含むことができる。いくつかの例において、エピジェネティック修飾因子は、p300、TET1、LSD1、HDAC1、HDAC8、HDAC4、HDAC11、HDT1、SIRT3、HST2、Cob

B、SIRT5、SIR2A、SIRT6、NUE、vSET、SUV39H1、DIM5、KYP、SUVR4、Set4、Set1、SETD8、およびTgSET8からなる群より選択される1つまたは複数を含むことができる。

【０１９７】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、遺伝子のゲノム領域に少なくとも部分的に相補的であるガイドポリヌクレオチド（ガイドRNA（gRNA）またはガイドDNA（gDNA）など）をコードし、ここで、ガイドポリヌクレオチドの遺伝子に対する結合時に、ガイドポリヌクレオチドは、ガイドポリヌクレオチドによりガイドされるヌクレアーゼを動員して、領域を切断し、遺伝子改変する。ガイドポリヌクレオチドによりガイドされるヌクレアーゼによって改変され得る遺伝子の例には、CFTR、DNAH5、DNAH11、BMPR2、FAH、PAH、IDUA、COL4A3、COL4A4、COL4A5、PKD1、PKD2、PKHD1、SLC3A1、SLC7A9、PAX9、MYO7A、CDH23、USH2A、CLRN1、GJB2、GJB6、RHO、DMPK、DMD、SCN1A、SCN1B、F8、F9、NGLY1、p53、PPT1、TPP1、hERG、PPT1、ATM、またはFBN1が含まれる。

【０１９８】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、mRNAの発現時に、本明細書に記載される薬学的組成物によって処置されている対象において欠陥遺伝子の機能を回復させる、少なくとも1つのmRNAを含むかまたはコードする。例えば、ポリヌクレオチドは、CFTRタンパク質における先天性変異に苦しむ対象を救うために使用され得る、野生型CFTRタンパク質を発現するmRNAを含むかまたはコードする。ポリヌクレオチドから発現させることができるmRNAの他の例には、DNAH5、DNAH11、BMPR2、FAH、PAH、IDUA、COL4A3、COL4A4、COL4A5、PKD1、PKD2、PKHD1、SLC3A1、SLC7A9、PAX9、MYO7A、CDH23、USH2A、CLRN1、GJB2、GJB6、RHO、DMPK、DMD、SCN1A、SCN1B、F8、F9、NGLY1、p53、PPT1、TPP1、hERG、PPT1、ATM、またはFBN1をコードするmRNAが含まれる。

【０１９９】

いくつかの態様において、本出願のポリヌクレオチドは、1つまたは複数のヌクレオチドの少なくとも1つの化学修飾を含む。いくつかの態様において、化学修飾は、相補的なゲノム遺伝子座（例えば、本明細書に記載される遺伝子のいずれか1つのゲノム遺伝子座）に結合するガイドポリヌクレオチド（ガイドRNA（gRNA）またはガイドDNA（gDNA）など）の特異性を増大させる。いくつかの態様において、少なくとも1つの化学修飾は、ポリヌクレオチドがその必要がある対象に投与される時に、ヌクレアーゼ消化に対する耐性を増大させる。いくつかの態様において、少なくとも1つの化学修飾は、ポリヌクレオチドがその必要がある対象に投与される時に、免疫原性を減少させる。いくつかの態様において、少なくとも1つの化学修飾は、tRNA足場などの足場を安定化する。そのような化学修飾は、少なくとも1つの化学修飾を有しないポリヌクレオチドと比べて、増強されたヌクレアーゼ消化に対する耐性、または増大した標的ゲノム遺伝子座との結合親和性などの、望ましい特性を有し得る。

【０２００】

いくつかの態様において、少なくとも1つの化学修飾は、糖部分に対する修飾を含む。いくつかの態様において、修飾された糖部分は、2'位および/または5'位の置換基を含むがそれらに限定されない、1つまたは複数の非架橋糖置換基を含む、置換糖部分である。2'位に適している糖置換基の例には、2'-F、2'-OCH_3（「OMe」または「O-メチル」）、および2'-$O(CH_2)_2OCH_3$（「MOE」）が含まれるが、それらに限定されない。ある特定の態様において、2'位の糖置換基は、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O--C_1-C_{10}アルキル、O--C_1-C_{10}置換アルキル；OCF_3、$O(CH_2)_2SCH_3$、$O(CH_2)_2$--O--$N(R_m)(R_n)$、およびO--CH_2--C(=O)--$N(R_m)(R_n)$から選択され、ここで、各RmおよびRnは、独立して、H、または置換もしくは非置換C_1-C_{10}アルキルである。5'位の糖置換基の例には、5'-メチル（RまたはS）；5'-ビニル、および5'-メトキシが含まれるが、それらに限定されない。いくつかの態様において、置換糖は、1つよりも多い非架橋

糖置換基、例えば、T-F-5'-メチル糖部分を含む。

【０２０１】

2'-置換糖部分を含むヌクレオシドは、2'-置換ヌクレオシドと呼ばれる。いくつかの態様において、2'-置換ヌクレオシドは、ハロ、アリル、アミノ、アジド、SH、CN、OCN、CF_3、OCF_3、O、S、またはN(R_m)-アルキル；O、S、またはN(R_m)-アルケニル；O、S、またはN(R_m)-アルキニル；O-アルキレニル-O-アルキル、アルキニル、アルカリル、アラルキル、O-アルカリル、O-アラルキル、$O(CH_2)_2SCH_3$、$O(CH_2)_2$--O--N(R_m)(R_n)、またはO--CH_2--C(=O)--N(R_m)(R_n)から選択される2'-置換基の基を含み、ここで、各R_mおよびR_nは、独立して、H、アミノ保護基、または置換もしくは非置換C_1-C_{10}アルキルである。これらの2'-置換基の基は、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ（NO_2）、チオール、チオアルコキシ（S-アルキル）、ハロゲン、アルキル、アリール、アルケニル、およびアルキニルから独立して選択される1つまたは複数の置換基の基で、さらに置換されることができる。

【０２０２】

いくつかの態様において、2'-置換ヌクレオシドは、F、NH_2、N_3、OCF_3、O--CH_3、$O(CH_2)_3NH_2$、CH_2－CH=CH_2、O--CH_2－CH=CH_2、$OCH_2CH_2OCH_3$、$O(CH_2)_2SCH_3$、O--$(CH_2)_2$--O--N(R_m)(R_n)、$O(CH_2)_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$、およびN-置換アセトアミド（O--$CH_2$--C(=O)--N($R_m$)($R_n$)から選択される2'-置換基の基を含み、ここで、各R_mおよびR_nは、独立して、H、アミノ保護基、または置換もしくは非置換C_1-C_{10}アルキルである。

【０２０３】

いくつかの態様において、2'-置換ヌクレオシドは、F、OCF_3、O--CH_3、$OCH_2CH_2OCH_3$、$O(CH_2)_2SCH_3$、$O(CH_2)_2$--O--N(CH_3)$_2$、--$O(CH_2)_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$、およびO--$CH_2$--C(=O)--N(H)$CH_3$から選択される2'-置換基の基を含む、糖部分を含む。

【０２０４】

いくつかの態様において、2'-置換ヌクレオシドは、F、O--CH_3、および$OCH_2CH_2OCH_3$から選択される2'-置換基の基を含む、糖部分を含む。

【０２０５】

ある特定の修飾された糖部分は、二環式糖部分を結果としてもたらす第2の環を形成する、架橋糖置換基を含む。いくつかのそのような態様において、二環式糖部分は、4'および2'のフラノース環原子の間の架橋を含む。そのような4'-2'糖置換基の例には、--[C(R_a)(R_b)]$_n$--、--[C(R_a)(R_b)]$_n$--O--、--C($R_a$$R_b$)--N(R)--O--、または--C($R_a$$R_b$)--O--N(R)--；4'-$CH_2$-2'、4'-$(CH_2)_2$-2'、4'-$(CH_2)$--O-2'（LNA）；4'-$(CH_2)$--S-2'；4'-$(CH_2)_2$--O-2'（ENA）；4'-CH($CH_3$)--O-2'（cEt）および4'-CH($CH_2OCH_3$)--O-2'、ならびにその類似体；4'-C($CH_3$)($CH_3$)--O-2'およびその類似体；4'-$CH_2$--N($OCH_3$)-2'およびその類似体；4'-$CH_2$--O--N($CH_3$)-2'；4'-$CH_2$--O--N(R)-2'および4'-$CH_2$--N(R)--O-2'-（ここで、各Rは、独立して、H、保護基、またはC_1-C_{12}アルキルである）；4'-CH_2--N(R)--O-2'（ここで、Rは、H、C_1-C_{12}アルキル、または保護基である）；4'-CH_2--C(H)(CH_3)-2'；ならびに4'-CH_2--C(=CH_2)-2'およびその類似体が含まれるが、それらに限定されない。

【０２０６】

いくつかの態様において、そのような4'-2'架橋は、独立して、--[C(R_a)(R_b)]$_n$--、--C(R_a)=C(R_b)--、--C(R_a)=N--、--C(=NR_a)--、--C(=O)--、--C(=S)--、--O--、--Si(R_a)$_2$--、--S(=O)$_x$--、および--N(R_a)--から独立して選択される1～4個の連結された基を含み；ここで、xは、0、1、または2であり；nは、1、2、3、または4であり；各R_aおよびR_bは、独立して、H、保護基、ヒドロキシル、C_1-C_{12}アルキル、置換C_1-C_{12}アルキル、C_2-C_{12}アルケニル、置換C_2-C_{12}アルケニル、C_2-C_{12}アルキニル、置換C_2-C_{12}アルキニル、C_5-C_{20}アリール、置換C_5-C_{20}アリール、ヘテロ環ラジカル、置換ヘテロ環ラジカル、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、C_5-C_7脂環式ラジカル、置換C_5-

C_7脂環式ラジカル、ハロゲン、OJ_1、NJ_1J_2、SJ_1、N_3、$COOJ_1$、アシル（C(=O)--H）、置換アシル、CN、スルホニル（$S(=O)_2$-J_1）、またはスルホキシル（S(=O)-J_1）であり；かつ各J_1およびJ_2は、独立して、H、C_1-C_{12}アルキル、置換C_1-C_{12}アルキル、C_2-C_{12}アルケニル、置換C_2-C_{12}アルケニル、C_2-C_{12}アルキニル、置換C_2-C_{12}アルキニル、C_5-C_{20}アリール、置換C_5-C_{20}アリール、アシル（C(=O)--H）、置換アシル、ヘテロ環ラジカル、置換ヘテロ環ラジカル、C_1-C_{12}アミノアルキル、置換C_1-C_{12}アミノアルキル、または保護基である。

【０２０７】

二環式糖部分を含むヌクレオシドは、二環式ヌクレオシドまたはBNAと呼ばれる。二環式ヌクレオシドには、（A）α-L-メチレンオキシ（4'-CH_2--O-2'）BNA、（B）β-D-メチレンオキシ（4'-CH_2--O-2'）BNA（ロックド核酸またはLNAとも呼ばれる）、（C）エチレンオキシ（4'-$(CH_2)_2$--O-2'）BNA、（D）アミノオキシ（4'-CH_2--O--N(R)-2'）BNA、（E）オキシアミノ（4'-CH_2--N(R)--O-2'）BNA、（F）メチル（メチレンオキシ）（4'-$CH(CH_3)$--O-2'）BNA（拘束（constrained）エチルまたはcEtとも呼ばれる）、（G）メチレン-チオ（4'-CH_2--S-2'）BNA、（H）メチレン-アミノ（4'-CH2-N(R)-2'）BNA、（I）メチル炭素環式（4'-CH_2--$CH(CH_3)$-2'）BNA、（J）プロピレン炭素環式（4'-$(CH_2)_3$-2'）BNA、および（K）メトキシ（エチレンオキシ）（4'-$CH(CH_2OMe)$-O-2'）BNA（拘束MOEまたはcMOEとも呼ばれる）が含まれるが、それらに限定されない。

【０２０８】

いくつかの態様において、二環式糖部分およびそのような二環式糖部分を組み込んだヌクレオシドは、異性体配置によってさらに定義される。例えば、4'-2'メチレン-オキシ架橋を含むヌクレオシドは、.α.-L配置または.β.-D配置であり得る。以前に、α-L-メチレンオキシ（4'-CH_2--O-2'）二環式ヌクレオシドは、アンチセンス活性を示したアンチセンスポリヌクレオチド中に組み込まれていた。

【０２０９】

いくつかの態様において、置換糖部分は、1つまたは複数の非架橋糖置換基および1つまたは複数の架橋糖置換基（例えば、5'-置換および4'-2'架橋糖、ここで、LNAは、例えば、5'-メチル基または5'-ビニル基で置換されている）を含む。

【０２１０】

いくつかの態様において、修飾糖部分は、糖サロゲートである。いくつかのそのような態様において、天然に存在する糖の酸素原子は、例えば、硫黄、炭素、または窒素原子で置換される。いくつかのそのような態様において、そのような修飾糖部分はまた、上記のような架橋置換基および/または非架橋置換基も含む。例えば、ある特定の糖サロゲートは、4'-硫黄原子、ならびに2'-位および/または5'位の置換を含む。追加の例として、4'-2'架橋を有する炭素環式二環式ヌクレオシドが記載されている。

【０２１１】

いくつかの態様において、糖サロゲートは、5原子以外を有する環を含む。例えば、いくつかの態様において、糖サロゲートは、6員テトラヒドロピランを含む。そのようなテトラヒドロピランは、さらに修飾または置換され得る。そのような修飾テトラヒドロピランを含むヌクレオシドには、ヘキシトール核酸（HNA）、アニトール核酸（ANA）、マニトール核酸（MNA）、およびフルオロHNA（F-HNA）が含まれるが、それらに限定されない。

【０２１２】

いくつかの態様において、式VIIの修飾THPヌクレオシドが提供され、ここで、q_1、q_2、q_3、q_4、q_5、q_6、およびq_7は、各々Hである。ある特定の態様において、q_1、q_2、q_3、q_4、q_5、q_6、およびq_7のうちの少なくとも1つは、H以外である。いくつかの態様において、q_1、q_2、q_3、q_4、q_5、q_6、およびq_7のうちの少なくとも1つは、メチルである。いくつかの態様において、式VIIのTHPヌクレオシドが提供され、ここで、R_1およびR_2のうちの1つは、Fである。ある特定の態様において、R_1はフルオロであり、か

つR_2はHであり、R_1はメトキシであり、かつR_2はHであり、およびR_1はメトキシエトキシであり、かつR_2はHである。

【０２１３】

多くの他のビシクロおよびトリシクロ糖サロゲート環系がまた、当技術分野において公知であり、アンチセンス化合物中への組み込み用にヌクレオシドを修飾するために用いることができる。

【０２１４】

修飾の組み合わせ、非限定的に、例えば、2'-F-5'-メチル置換ヌクレオシド、およびリボシル環酸素原子のSでの置き換え、および二環式核酸の2'-位でのさらなる置換、または代替的に5'-置換もまた提供される。いくつかの態様において、4'-CH_2--O-2'二環式ヌクレオシドは、5'位が5'-メチル基または5'-ビニル基でさらに置換される。炭素環式二環式ヌクレオシドの合成および調製は、それらのオリゴマー化および生化学的研究と共にまた、記載されている。

【０２１５】

いくつかの態様において、本出願は、修飾ヌクレオシドを含むポリヌクレオチドを提供する。それらの修飾ヌクレオチドは、修飾糖、修飾核酸塩基、および/または修飾連結を含み得る。特定の修飾は、結果として生じたポリヌクレオチドが、望ましい特徴を有するように選択される。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、1つまたは複数のRNA様ヌクレオシドを含む。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、1つまたは複数のDNA様ヌクレオチドを含む。

【０２１６】

いくつかの態様において、本出願のヌクレオシドは、1つまたは複数の非修飾核酸塩基を含む。ある特定の態様において、本出願のヌクレオシドは、1つまたは複数の修飾核酸塩基を含む。

【０２１７】

いくつかの態様において、修飾核酸塩基は、以下から選択される：本明細書で定義されるユニバーサル塩基、疎水性塩基、無差別塩基、サイズ拡張塩基、およびフッ素化塩基。本明細書で定義される5-置換ピリミジン、6-アザピリミジン、ならびにN-2、N-6、およびO-6置換プリン、例えば、2-アミノプロピルアデニン、5-プロピニルウラシル；5-プロピニルシトシン；5-ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、2-アミノアデニン、アデニンおよびグアニンの6-メチルおよび他のアルキル誘導体、アデニンおよびグアニンの2-プロピルおよび他のアルキル誘導体、2-チオウラシル、2-チオチミンおよび2-チオシトシン、 5-ハロウラシルおよびシトシン、5-プロピニルCH_3)ウラシルおよびシトシンならびにピリミジン塩基の他のアルキニル誘導体、6-アゾウラシル、シトシンおよびチミン、5-ウラシル（シュードウラシル）、4-チオウラシル、8-ハロ、8-アミノ、8-チオール、8-チオアルキル、8-ヒドロキシルおよび他の8-置換アデニンおよびグアニン、5-ハロ、特に5-ブロモ、5-トリフルオロメチルおよび他の5-置換ウラシルおよびシトシン、7-メチルグアニンおよび7-メチルアデニン、2-F-アデニン、2-アミノ-アデニン、8-アザグアニンおよび8-アザアデニン、7-デアザグアニンおよび7-デアザアデニン、3-デアザグアニンおよび3-デアザアデニン、ユニバーサル塩基、疎水性塩基、無差別塩基、サイズ拡張塩基、およびフッ素化塩基。さらなる修飾核酸塩基には、三環式ピリミジン、例えばフェノキサジンシチジン（[5,4-b][1,4]ベンゾオキサジン-2(3H)-オン）、フェノチアジンシチジン（1H-ピリミド[5,4-b][1,4]ベンゾチアジン-2(3H)-オン）、G-クランプ、例えば置換フェノキサジンシチジン（例えば、9-(2-アミノエトキシ)-H-ピリミド[5,4-13][1,4]ベンゾオキサジン-2(3H)-オン）、カルバゾールシチジン（^{2}H-ピリミド[4,5-b]インドール-2-オン）、ピリドインドールシチジン（H-ピリド[3',2':4,5]ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-オン）が含まれる。修飾核酸塩基にはまた、プリン塩基またはピリミジン塩基が、他のヘテロ環で置き換えられているもの、例えば、7-デアザ-アデニン、7-デアザグアノシン、2-アミノピリジン、および2-ピリドンが含まれ得る。

【０２１８】
いくつかの態様において、本出願は、連結されたヌクレオシドを含むポリヌクレオチドを提供する。そのような態様において、ヌクレオシドは、任意のヌクレオシド間連結を用いて互いに連結され得る。ヌクレオシド間連結基の2つの主要なクラスは、リン原子の存在または不在によって定義される。代表的なリン含有ヌクレオシド間連結には、ホスホジエステル（P=O）、ホスホトリエステル、メチルホスホナート、ホスホルアミダート、およびホスホロチオアート（P=S）が含まれるが、それらに限定されない。代表的なリン非含有ヌクレオシド間連結基には、メチレンメチルイミノ（--CH_2--N(CH_3)--O--CH_2--）、チオジエステル（--O--C(O)--S--）、チオノカルバマート（thionocarbamate）（--O--C(O)(NH)--S--）；シロキサン（--O--Si(H_2)--O--）；およびN,N'-ジメチルヒドラジン（--CH_2--N(CH_3)--N(CH_3)--）が含まれるが、それらに限定されない。修飾された連結は、天然のホスホジエステル連結と比較して、オリゴヌクレオチドのヌクレアーゼ耐性を変化させる、典型的には増大させるために用いることができる。いくつかの態様において、キラル原子を有するヌクレオシド間連結は、ラセミ混合物として、または別々のエナンチオマーとして調製することができる。代表的なキラル連結には、アルキルホスホナートおよびホスホロチオアートが含まれるが、それらに限定されない。リン含有ヌクレオシド間連結およびリン非含有ヌクレオシド間連結の調製の方法は、当業者に周知である。

【０２１９】
本明細書に記載されるポリヌクレオチドは、1つまたは複数の不斉中心を含有し、したがって、絶対立体化学の点で、（R）もしくは（S）、例えば糖アノマーについてαもしくはβとして、または例えばアミノ酸などについて（D）もしくは（L）として定義され得る、エナンチオマー、ジアステレオマー、および他の立体異性体構成を生じる。すべてのそのような可能な異性体、ならびにそのラセミ形態および任意で光学的に純粋な形態が、本明細書で提供されるアンチセンス化合物に含まれる。

【０２２０】
中性ヌクレオシド間連結には、非限定的に、ホスホトリエステル、メチルホスホナート、MMI（3'-CH_2--N(CH_3)--O-5'）、アミド-3（3'-CH_2--C(=O)--N(H)-5'）、アミド-4（3'-CH_2--N(H)--C(=O)-5'）、ホルムアセタール（3'-O--CH_2--O-5'）、およびチオホルムアセタール（3'-S--CH_2--O-5'）が含まれる。さらなる中性ヌクレオシド間連結には、シロキサン（ジアルキルシロキサン）、カルボン酸エステル、カルボキサミド、スルフィド、スルホン酸エステル、およびアミドを含む非イオン性連結が含まれる（例えば、Carbohydrate Modifications in Antisense Research; Y. S. Sanghvi and P. D. Cook, Eds., ACS Symposium Series 580; Chapter 3 and 4, 40-65を参照されたい）。さらなる中性ヌクレオシド間連結には、混合N、O、S、およびCH_2成分部分を含む非イオン性連結が含まれる。

【０２２１】
追加の修飾がまた、オリゴヌクレオチド上の他の位置、特に3'末端ヌクレオチド上の糖の3'位および5'末端ヌクレオチドの5'位で行われ得る。例えば、本出願のリガンドコンジュゲートポリヌクレオチドの1つの追加の修飾は、オリゴヌクレオチドの活性、細胞分布、または細胞取り込みを増強する1つまたは複数の追加の非リガンド部分またはコンジュゲートを、オリゴヌクレオチドに化学的に連結することを含む。そのような部分には、脂質部分、例えば、コレステロール部分、コール酸、チオエーテル、例えば、ヘキシル-5-トリチルチオール、チオコレステロール、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオールもしくはウンデシル残基、リン脂質、例えば、ジ-ヘキサデシル-rac-グリセロールもしくはトリエチルアンモニウム1,2-ジ-O-ヘキサデシル-rac-グリセロ-3-H-ホスホナート、ポリアミンもしくはポリエチレングリコール鎖、またはアダマンタン酢酸、パルミチル部分、またはオクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノ-カルボニル-オキシコレステロール部分が含まれるが、それらに限定されない。

【０２２２】

いくつかの態様において、本明細書に記載されるポリヌクレオチドは、本明細書に記載される少なくとも1つのtRNAを含むかまたはコードする。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドから発現されるtRNAは、本明細書に記載される薬学的組成物によって処置されている対象において、少なくとも1つの欠陥tRNAの機能を回復させる。いくつかの態様において、本明細書に記載されるポリヌクレオチドによって発現される少なくとも1つのtRNAには、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、ヒドロキシプロリン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアニリン（phenylaniline）、プロリン、ピログルタミン酸、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、またはバリンをコードするtRNAが含まれ得る。いくつかの態様において、本明細書に記載されるポリヌクレオチドによって発現される少なくとも1つのtRNAには、アルギニン、トリプトファン、グルタミン酸、グルタミン、セリン、チロシン、リジン、ロイシン、グリシン、またはシステインをコードするtRNAが含まれ得る。いくつかの態様において、本明細書に記載されるポリヌクレオチドによってコードされるtRNAは、本明細書に記載される遺伝子のいずれか1つの発現を回復させ得る。いくつかの態様において、本明細書に記載されるポリヌクレオチドによってコードされるtRNAは、CFTR、DNAH5、DNAH11、BMPR2、FAH、PAH、IDUA、COL4A3、COL4A4、COL4A5、PKD1、PKD2、PKHD1、SLC3A1、SLC7A9、PAX9、MYO7A、CDH23、USH2A、CLRN1、GJB2、GJB6、RHO、DMPK、DMD、SCN1A、SCN1B、F8、F9、NGLY1、p53、PPT1、TPP1、hERG、PPT1、ATM、またはFBN1の発現を回復させ得る。

【０２２３】

ポリペプチド

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物とアセンブルした治療剤（または予防剤）は、1つまたは複数の、1つまたは複数のポリペプチドを含む。いくつかのポリペプチドは、本明細書に記載されるヌクレアーゼ酵素のいずれか1つなどの酵素を含み得る。例えば、ヌクレアーゼ酵素には、I型CRISPR関連（Cas）ポリペプチド、II型CRISPR関連（Cas）ポリペプチド、III型CRISPR関連（Cas）ポリペプチド、IV型CRISPR関連（Cas）ポリペプチド、V型CRISPR関連（Cas）ポリペプチド、およびVI型CRISPR関連（Cas）ポリペプチドを含む、CRISPR関連（Cas）タンパク質またはCasヌクレアーゼ；ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ZFN）；転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（TALEN）；メガヌクレアーゼ；RNA結合タンパク質（RBP）；CRISPR関連RNA結合タンパク質；リコンビナーゼ；フリッパーゼ；トランスポザーゼ；アルゴノート（Ago）タンパク質（例えば、原核生物アルゴノート（pAgo）、古細菌アルゴノート（aAgo）、真核生物アルゴノート（eAgo）、およびナトロノバクテリウム・グレゴリーアルゴノート（NgAgo））；RNAに作用するアデノシンデアミナーゼ（ADAR）；CIRT、PUF、ホーミングエンドヌクレアーゼ、またはその任意の機能的断片、その任意の誘導体；その任意のバリアント；ならびにその任意の断片が含まれ得る。いくつかの態様において、ヌクレアーゼ酵素には、Casタンパク質、例えば、Cas1、Cas1B、Cas2、Cas3、Cas4、Cas5、Cas6、Cas7、Cas8、Cas9（Csn1およびCsx12としても知られている）、Cas10、Csy1、Csy2、Csy3、Cse1、Cse2、Csc1、Csc2、Csa5、Csn2、Csm2、Csm3、Csm4、Csm5、Csm6、Cmr1、Cmr3、Cmr4、Cmr5、Cmr6、Csb1、Csb2、Csb3、Csx17、Csx14、Csx10、Csx16、CsaX、Csx3、Csx1、Csx15、Csf1、Csf2、Csf3、Csf4、そのホモログ、またはその改変バージョンが含まれ得る。いくつかの態様において、Casタンパク質は、CRISPRリボヌクレオタンパク質（RNP）を形成するために、本明細書に記載されるガイドポリヌクレオチドと複合体化され得る。

【０２２４】

本明細書に記載される組成物中のヌクレアーゼは、Cas9（例えば、S.ピオゲネス（S. pyogenes）またはS.ニューモニア（S. pneumonia）由来）であり得る。CRISPR酵素は、本明細書に記載される遺伝子のいずれか1つの標的配列内および/または標的配列

の相補物内などの、標的配列の場所で、一方または両方の鎖の切断を方向付けることができる。例えば、CRISPR酵素は、CFTR、DNAH5、DNAH11、BMPR2、FAH、PAH、IDUA、COL4A3、COL4A4、COL4A5、PKD1、PKD2、PKHD1、SLC3A1、SLC7A9、PAX9、MYO7A、CDH23、USH2A、CLRN1、GJB2、GJB6、RHO、DMPK、DMD、SCN1A、SCN1B、F8、F9、NGLY1、p53、PPT1、TPP1、hERG、PPT1、ATM、またはFBN1のゲノム遺伝子座に方向付けられ、切断することができる、

【０２２５】

CRISPR酵素を、変異したCRISPR酵素が、標的配列を含有する標的ポリヌクレオチドの一方または両方の鎖を切断する能力を欠くように、対応する野生型酵素に対して変異させてもよい。例えば、S.ピオゲネス由来のCas9のRuvC I触媒ドメインにおけるアスパラギン酸からアラニンへの置換（D10A）は、Cas9を、両方の鎖を切断するヌクレアーゼからニッカーゼ（一本鎖を切断する）に変換する。いくつかの態様において、Cas9ニッカーゼは、ガイド配列、例えば、DNA標的のセンス鎖およびアンチセンス鎖をそれぞれ標的とする2つのガイド配列と組み合わせて、用いられ得る。この組み合わせにより、両方の鎖にニックを入れ、NHEJまたはHDRを誘導するために用いることが可能になる。

【０２２６】

いくつかの態様において、本開示は、1つまたは複数の治療用タンパク質を含有するポリペプチドを提供する。組成物に含まれ得る治療用タンパク質には、サイトカイン、ケモカイン、インターロイキン、インターフェロン、成長因子、凝固因子、抗凝固剤、血液因子、骨形態形成タンパク質、免疫グロブリン、および酵素などの、広範囲の分子が含まれる。特定の治療用タンパク質のいくつかの非限定的な例には、エリスロポエチン（EPO）、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）、α-ガラクトシダーゼA、α-L-イズロニダーゼ、チロトロピンα、N-アセチルガラクトサミン-4-スルファターゼ（rhASB）、ドルナーゼα、組織プラスミノーゲンアクチベーター（TPA）Activase、グルコセレブロシダーゼ、インターフェロン（IF）β-1a、インターフェロンβ-1b、インターフェロンγ、インターフェロンα、TNF-α、IL-1～IL-36、ヒト成長ホルモン（rHGH）、ヒトインスリン（BHI）、ヒト絨毛性ゴナドトロピンα、ダルベポエチンα、卵胞刺激ホルモン（FSH）、および第VIII因子が含まれる。

【０２２７】

いくつかの態様において、ポリペプチドは、ペプチド配列を含む治療剤（または予防剤）のいずれかと少なくとも部分的に同一であるペプチド配列を含む。例えば、ポリペプチドは、肺がんなどの肺疾患を処置するための抗体（例えば、モノクローナル抗体）と少なくとも部分的に同一であるペプチド配列を含み得る。

【０２２８】

いくつかの態様において、ポリペプチドは、本明細書に記載される薬学的組成物によって処置されている対象において欠陥タンパク質の機能を回復させる、ペプチドまたはタンパク質を含む。例えば、ポリヌクレオチドは、嚢胞性線維症膜貫通コンダクタンス制御因子（CFTR）タンパク質の機能を回復させるペプチドまたはタンパク質を含み、これは、変異したCFTRタンパク質の発現をもたらす先天性エラーに苦しむ対象を救うために使用され得る。救済の他の例には、野生型ダイニン軸糸重鎖5、ダイニン軸糸重鎖11、骨形態形成タンパク質受容体2型、フマリルアセトアセタートヒドロラーゼ、フェニルアラニンヒドロキシラーゼ、α-L-イズロニダーゼ、IV型コラーゲンα3鎖、IV型コラーゲンα4鎖、IV型コラーゲンα5鎖、ポリシスチン1、ポリシスチン2、フィブロシスチン（もしくはポリダクチン）、溶質輸送体ファミリー3メンバー1、溶質輸送体ファミリー7メンバー9、ペアボックス（Paired box）遺伝子9、ミオシンVIIA、カドヘリン関連23、アッシャリン（Usherin）、クラリン1、ギャップジャンクションβ-2タンパク質、ギャップジャンクションβ-6タンパク質、ロドプシン、筋緊張性ジストロフィープロテインキナーゼ、ジストロフィン、ナトリウム電位依存性チャネルαサブユニット1、ナトリウム電位依存性チャネルβサブユニット1、凝固第VIII因子、凝固第IX因子、N-グリカナーゼ1、腫瘍タンパク質p53、パルミトイルタンパク質チオエステラーゼ1、トリペプ

チジルペプチダーゼ1、Kv11.1（カリウムイオンチャネルのαサブユニット）、パルミトイルタンパク質チオエステラーゼ1、ATMセリン/スレオニンキナーゼ、またはフィブリリン1のペプチドまたはタンパク質を含むポリペプチドを、その必要がある対象に投与することが含まれ得る。

【０２２９】

いくつかの態様において、本出願の薬学的組成物は、脂質組成物とアセンブルした（例えば、その中にカプセル化された）複数のペイロードを含む。脂質組成物とアセンブルした複数のペイロードは、遺伝子編集または遺伝子発現改変のために配置され得る。脂質組成物とアセンブルした複数のペイロードは、アクチュエータ部分（例えば、Casなどの異種エンドヌクレアーゼを含む）をコードするポリヌクレオチドまたはアクチュエータ部分をコードするポリヌクレオチドを含み得る。脂質組成物とアセンブルした複数のペイロードは、1つまたは複数（例えば、1つまたは2つ）のガイドポリヌクレオチドをさらに含み得る。脂質組成物とアセンブルした複数のペイロードは、1つまたは複数の供与体または鋳型ポリヌクレオチドをさらに含み得る。脂質組成物とアセンブルした複数のペイロードは、リボヌクレオタンパク質（RNP）を含み得る。

【０２３０】

本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、ポリヌクレオチドであり、脂質組成物中の窒素対ポリヌクレオチド中のリン酸のモル比（N/P比）は、（約）20:1以下、（約）15:1以下、（約）10:1以下、または（約）5:1以下である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、ポリヌクレオチドであり、脂質組成物中の窒素対ポリヌクレオチド中のリン酸のモル比（N/P比）は、（約）20:1以上、（約）15:1以上、（約）10:1以上、または（約）5:1以上である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、ポリヌクレオチドであり、脂質組成物中の窒素対ポリヌクレオチド中のリン酸のモル比（N/P比）は、約5:1～約20:1である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、ポリヌクレオチドであり、脂質組成物中の窒素対ポリヌクレオチド中のリン酸のモル比（N/P比）は、約10:1～約20:1である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、ポリヌクレオチドであり、脂質組成物中の窒素対ポリヌクレオチド中のリン酸のモル比（N/P比）は、約15:1～約20:1である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、ポリヌクレオチドであり、脂質組成物中の窒素対ポリヌクレオチド中のリン酸のモル比（N/P比）は、約5:1～約10:1である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、ポリヌクレオチドであり、脂質組成物中の窒素対ポリヌクレオチド中のリン酸のモル比（N/P比）は、約5:1～約15:1である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、ポリヌクレオチドであり、脂質組成物中の窒素対ポリヌクレオチド中のリン酸のモル比（N/P比）は、約5:1～約20:1である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤（または予防剤）は、ポリヌクレオチドであり、脂質組成物中の窒素対ポリヌクレオチド中のリン酸のモル比（N/P比）は、約15:1～約20:1である。

【０２３１】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤対脂質組成物の全脂質のモル比は、約1:1～約1:100である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤対脂質組成物の全脂質のモル比は、約1:1～約1:50である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤対脂質組成物の全脂質のモル比は、約50:1～約1:100である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤対脂質組成物の全脂質のモル比は、約1:1～約1:20である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤対脂質組成物の全脂質のモル比は、約20:1～約1:50である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤対脂質組成物の全脂質のモル比は、約50:1～約1:70である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤対脂質組成物の全脂質のモル比は、約70:1～約1:100である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様

において、治療剤対脂質組成物の全脂質のモル比は、（約）1:1以下、（約）1:5以下、（約）1:10以下、（約）1:15以下、（約）1:20以下、（約）1:25以下、（約）1:30以下、（約）1:35以下、（約）1:40以下、（約）1:45以下、（約）1:50以下、（約）1:60以下、（約）1:70以下、（約）1:80以下、（約）1:90以下、または（約）1:100以下である。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤対脂質組成物の全脂質のモル比は、（約）1:1以上、（約）1:5以上、（約）1:10以上、（約）1:15以上、（約）1:20以上、（約）1:25以上、（約）1:30以上、（約）1:35以上、（約）1:40以上、（約）1:45以上、（約）1:50以上、（約）1:60以上、（約）1:70以上、（約）1:80以上、（約）1:90以上、または（約）1:100以上である。

【０２３２】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療剤の少なくとも（約）85％、少なくとも（約）86％、少なくとも（約）87％、少なくとも（約）88％、少なくとも（約）89％、少なくとも（約）90％、少なくとも（約）91％、少なくとも（約）92％、少なくとも（約）93％、少なくとも（約）94％、少なくとも（約）95％、少なくとも（約）96％、少なくとも（約）97％、少なくとも（約）98％、少なくとも（約）99％、または（約）100％が、脂質組成物の粒子にカプセル化される。

【０２３３】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、以下のうちの1つまたは複数の特徴を特徴とする複数の粒子を含む：（1）100ナノメートル（nm）以下の（例えば、平均）サイズ；（2）約0.2以下の多分散指数（PDI）；および（3）-10ミリボルト（mV）～10 mVのゼータ電位。

【０２３４】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約50ナノメートル（nm）～約100ナノメートル（nm）の（例えば、平均）サイズを有する複数の粒子を含む。本出願の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約70ナノメートル（nm）～約100ナノメートル（nm）の（例えば、平均）サイズを有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約50ナノメートル（nm）～約80ナノメートル（nm）の（例えば、平均）サイズを有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約60ナノメートル（nm）～約80ナノメートル（nm）の（例えば、平均）サイズを有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、多くても約100ナノメートル（nm）、多くても約90ナノメートル（nm）、多くても約85ナノメートル（nm）、多くても約80ナノメートル（nm）、多くても約75ナノメートル（nm）、多くても約70ナノメートル（nm）、多くても約65ナノメートル（nm）、多くても約60ナノメートル（nm）、多くても約55ナノメートル（nm）、または多くても約50ナノメートル（nm）の（例えば、平均）サイズを有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、少なくとも約100ナノメートル（nm）、少なくとも約90ナノメートル（nm）、少なくとも約85ナノメートル（nm）、少なくとも約80ナノメートル（nm）、少なくとも約75ナノメートル（nm）、少なくとも約70ナノメートル（nm）、少なくとも約65ナノメートル（nm）、少なくとも約60ナノメートル（nm）、少なくとも約55ナノメートル（nm）、または少なくとも約50ナノメートル（nm）の（例えば、平均）サイズを有する複数の粒子を含む。（例えば、平均）サイズは、分光学的方法または画像ベースの方法、例えば、動的光散乱、静的光散乱、多角度光散乱、レーザー光散乱、もしくは動的画像解析、またはそれらの組み合わせによって決定され得る。

【０２３５】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約0.05～約0.5の多分散指数（PDI）を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約0.1～約0.5の多分散指数（PDI）を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約0.1～約0.3の

多分散指数（PDI）を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約0.2～約0.5の多分散指数（PDI）を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約0.5以下、約0.4以下、約0.3以下、約0.2以下、約0.1以下、または約0.05以下の多分散指数（PDI）を有する複数の粒子を含む。

【０２３６】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、-5ミリボルト（mV）以下の負のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、-10ミリボルト（mV）以下の負のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、-15ミリボルト（mV）以下の負のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、-20ミリボルト（mV）以下の負のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、-30ミリボルト（mV）以下の負のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。いくつかの態様において、脂質組成物は、0ミリボルト（mV）以下のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。いくつかの態様において、脂質組成物は、5ミリボルト（mV）以下のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。いくつかの態様において、脂質組成物は、10ミリボルト（mV）以下のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、15ミリボルト（mV）以下の負のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、20ミリボルト（mV）以下の負のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。

【０２３７】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、-5ミリボルト（mV）以上の負のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、-10ミリボルト（mV）以上の負のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、-15ミリボルト（mV）以上の負のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、-20ミリボルト（mV）以上の負のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、-30ミリボルト（mV）以上の負のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。いくつかの態様において、脂質組成物は、0ミリボルト（mV）以上のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。いくつかの態様において、脂質組成物は、5ミリボルト（mV）以上のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。いくつかの態様において、脂質組成物は、10ミリボルト（mV）以上のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、15ミリボルト（mV）以上の負のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、20ミリボルト（mV）以上の負のゼータ電位を有する複数の粒子を含む。

【０２３８】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、6～7の範囲外の見かけのイオン化定数（pKa）を有する。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約8以上、約9以上、約10以上、約11以上、約12以上、または約13以上の見かけのpKaを有する。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約8～約13の見かけのpKaを有する。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約8～約10の見かけのpKaを有する。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約9～約11の見かけのpKaを有する。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約10～約13の見かけのpKaを有する。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約8～約12の見かけのpKaを有する。本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、脂質組成物は、約10～約12の見かけのpKaを有する。

【０２３９】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、薬学的組成物中のSORT脂質は、以下のうちの1つまたは複数を特徴とする治療剤の送達をもたらす：（a）参照脂質組成物で達成されるものと比較して大きい、対象の細胞における治療効果；（b）参照脂質組成物で達成されるものと比較して多い対象の複数の細胞における、治療効果；（c）第1の細胞型の第1の複数の細胞における、およびより多い第2の細胞型の第2の複数の細胞における、治療効果；ならびに（d）対象の第2の細胞型の第2の細胞におけるものと比較して大きい、対象の第1の細胞型の第1の細胞における治療効果。いくつかの態様において、第1の細胞型は、第2の細胞型とは異なる。

【０２４０】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、細胞は、肺細胞である。いくつかの態様において、肺細胞は、肺気道細胞である。本開示の送達によって標的とすることができる例示的な肺気道細胞には、基底細胞が含まれるが、それに限定されない。

【０２４１】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、治療効果は、例えば、対象の肺、肺細胞、複数の肺細胞、または肺細胞型における、治療剤の治療的有効量によって特徴付けられる。いくつかの態様において、治療効果は、例えば、対象の肺、肺細胞、複数の肺細胞、または肺細胞型における、治療剤の活性によって特徴付けられる。いくつかの態様において、治療効果は、例えば、対象の肺、肺細胞、複数の肺細胞、または肺細胞型における、治療剤の効果によって特徴付けられる。いくつかの態様において、より大きい治療効果は、より多い治療剤の治療量を特徴とする。いくつかの態様において、より大きい治療効果は、より大きい治療剤の活性を特徴とする。いくつかの態様において、より大きい治療効果は、より大きい治療剤の効果を特徴とする。

【０２４２】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、薬学的組成物中のSORT脂質は、参照脂質組成物で達成されるものと比較して大きい治療効果を特徴とする、対象の細胞に対する治療剤の送達をもたらす。いくつかの態様において、参照脂質組成物は、SORT脂質を含まない。いくつかの態様において、参照脂質組成物は、SORT脂質の量を含まない。いくつかの態様において、参照脂質は、13,16,20-トリス(2-ヒドロキシドデシル)-13,16,20,23-テトラアザペンタトリコンタン-11,25-ジオール（「LF92」）、リン脂質、コレステロール、およびPEG-脂質を含む。

【０２４３】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、薬学的組成物中のSORT脂質は、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約1.1倍～約20倍の治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約1.1倍～約10倍の治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約5倍～約10倍の治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約10倍～約20倍の治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、少なくとも約1.1倍、少なくとも約1.5倍、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約11倍、少なくとも約12倍、少なくとも約13倍、少なくとも約14倍、少なくとも約15倍、少なくとも約16倍、少なくとも約17倍、少なくとも約18倍、少なくとも約19倍、または少なくとも約20倍の治療効果を達成する。

【０２４４】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、薬学的組成物中のSORT脂質は、基底細胞において、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約1.1倍～約20倍の治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、基底細胞において、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約1.1倍～約10倍の治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、基底細胞において、参照脂質組成物で達成されるも

のと比較して、約5倍～約10倍の治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、基底細胞において、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約10倍～約20倍の治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、基底細胞において、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、少なくとも約1.1倍、少なくとも約1.5倍、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約11倍、少なくとも約12倍、少なくとも約13倍、少なくとも約14倍、少なくとも約15倍、少なくとも約16倍、少なくとも約17倍、少なくとも約18倍、少なくとも約19倍、または少なくとも約20倍の治療効果を達成する。

【０２４５】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、薬学的組成物中のSORT脂質は、参照脂質組成物で達成されるものと比較して多い複数の細胞における治療効果を特徴とする、対象の細胞に対する治療剤の送達をもたらす。いくつかの態様において、参照脂質組成物は、SORT脂質を含まない。いくつかの態様において、参照脂質組成物は、SORT脂質の量を含まない。いくつかの態様において、参照脂質は、13,16,20-トリス(2-ヒドロキシドデシル)-13,16,20,23-テトラアザペンタトリコンタン-11,25-ジオール（「LF92」）、リン脂質、コレステロール、およびPEG-脂質を含む。

【０２４６】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、薬学的組成物中のSORT脂質は、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約1.1倍～約20倍の細胞において治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約1.1倍～約10倍の細胞において治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約5倍～約10倍の細胞において治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約10倍～約20倍の細胞において治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、少なくとも約1.1倍、少なくとも約1.5倍、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約11倍、少なくとも約12倍、少なくとも約13倍、少なくとも約14倍、少なくとも約15倍、少なくとも約16倍、少なくとも約17倍、少なくとも約18倍、少なくとも約19倍、または少なくとも約20倍の細胞において治療効果を達成する。

【０２４７】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、薬学的組成物中のSORT脂質は、基底細胞において、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約1.1倍～約20倍の細胞において治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、基底細胞において、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約1.1倍～約10倍多い細胞において治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、基底細胞において、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約5倍～約10倍多い細胞において治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、基底細胞において、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約10倍～約20倍多い細胞において治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、基底細胞において、参照脂質組成物で達成されるものと比較して、約1.1倍、少なくとも約1.5倍、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約11倍、少なくとも約12倍、少なくとも約13倍、少なくとも約14倍、少なくとも約15倍、少なくとも約16倍、少なくとも約17倍、少なくとも約18倍、少なくとも約19倍、または少なくとも約20倍多い細胞において治療効果を達成する。

【０２４８】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、薬学的組成物中のSORT脂質は、第

1の細胞型の第1の複数の細胞における治療効果、および第2の細胞型の第2の複数の細胞における、より大きい治療効果を特徴とする、対象の細胞に対する治療剤の送達をもたらす。いくつかの態様において、第1の細胞型は、第2の細胞型とは異なる。

【０２４９】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、第1の細胞型は、肺細胞である。いくつかの態様において、第1の細胞型は、肺気道細胞である。本出願の送達によって標的とすることができる例示的な肺気道細胞には、基底細胞が含まれるが、それに限定されない。

【０２５０】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、第2の細胞型は、肺細胞である。いくつかの態様において、第2の細胞型は、肺気道細胞である。

【０２５１】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、薬学的組成物中のSORT脂質は、第1の細胞型の第1の複数の細胞と比較して、約1.1倍～約20倍多い第2の細胞型の第2の複数の細胞において、治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、第1の細胞型の第1の複数の細胞と比較して、約1.1倍～約10倍多い第2の細胞型の第2の複数の細胞において、治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、第1の細胞型の第1の複数の細胞と比較して、約5倍～約10倍多い第2の細胞型の第2の複数の細胞において、治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、第1の細胞型の第1の複数の細胞と比較して、約10倍～約20倍多い第2の細胞型の第2の複数の細胞において、治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、第1の細胞型の第1の複数の細胞と比較して、少なくとも約1.1倍、少なくとも約1.5倍、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約11倍、少なくとも約12倍、少なくとも約13倍、少なくとも約14倍、少なくとも約15倍、少なくとも約16倍、少なくとも約17倍、少なくとも約18倍、少なくとも約19倍、または少なくとも約20倍多い第2の細胞型の第2の複数の細胞において、治療効果を達成する。

【０２５２】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、薬学的組成物中のSORT脂質は、第2の細胞型の第2の細胞におけるものと比較して大きい、第1の細胞型の第1の細胞における治療効果を特徴とする、対象の細胞に対する治療剤の送達をもたらす。いくつかの態様において、第1の細胞型は、第2の細胞型とは異なる。

【０２５３】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、第1の細胞型は、肺細胞である。いくつかの態様において、第1の細胞型は、肺気道細胞である。本出願の送達によって標的とすることができる肺気道細胞の例には、基底細胞が含まれるが、それに限定されない。

【０２５４】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、第2の細胞型は、肺細胞である。いくつかの態様において、第2の細胞型は、肺気道細胞である。

【０２５５】

本開示の薬学的組成物のいくつかの態様において、薬学的組成物中のSORT脂質は、第2の細胞型の第2の細胞において達成されるものと比較して約1.1倍～約20倍の、第1の細胞型の第1の細胞における治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、第2の細胞型の第2の細胞において達成されるものと比較して約1.1倍～約10倍の、第1の細胞型の第1の細胞における治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、第2の細胞型の第2の細胞において達成されるものと比較して約5倍～約10倍の、第1の細胞型の第1の細胞における治療効果を達成する。いくつかの態様において、SORT脂質は、第2の細胞型の第2の細胞において達成されるものと比較して約10倍～約20倍の、第1の細胞型の第1の細胞における治療効果を達成する。方法のいくつかの態様

において、SORT脂質は、第2の細胞型の第2の細胞において達成されるものと比較して、少なくとも約1.1倍、少なくとも約1.5倍、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約11倍、少なくとも約12倍、少なくとも約13倍、少なくとも約14倍、少なくとも約15倍、少なくとも約16倍、少なくとも約17倍、少なくとも約18倍、少なくとも約19倍、または少なくとも約20倍の、第1の細胞型の第1の細胞における治療効果を達成する。

【0256】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドの送達に基づいて改善された有効性またはアウトカムを可能にする成分を含む（例えば、薬学的）組成物が、本明細書において提供される。本明細書の他の箇所に記載される組成物は、参照組成物または化合物と比較して、特定の細胞、細胞型、臓器、または身体領域に対する送達において、より有効であり得る。本明細書の他の箇所に記載される組成物は、送達されるポリヌクレオチドの対応するポリペプチドの発現の増大を生じることにおいて、より有効であり得る。本明細書の他の箇所に記載される組成物は、送達されるポリヌクレオチドの対応するポリペプチドを発現する、より多数の細胞を生じることにおいて、より有効であり得る。本明細書の他の箇所に記載される組成物は、参照ポリヌクレオチドと比較して、ポリヌクレオチドの取り込みの増大を結果としてもたらし得る。取り込みの増大は、ポリヌクレオチドの安定性の改善、または特定の細胞型もしくは臓器に対する組成物のターゲティングの改善の結果であり得る。いくつかの態様において、SORT脂質は、13,16,20-トリス(2-ヒドロキシドデシル)-13,16,20,23-テトラアザペンタトリコンタン-11,25-ジオール（「LF92」）、リン脂質、コレステロール、およびPEG-脂質を含む参照脂質組成物で達成されるものと比較して大きい、細胞におけるポリヌクレオチド（またはポリヌクレオチドの対応するポリペプチド）の発現または活性をもたらす量で、脂質組成物中に存在する。いくつかの態様において、SORT脂質は、LF92、リン脂質、コレステロール、およびPEG-脂質を含む参照脂質組成物で達成されるものと比較して少なくとも1.1倍大きい、細胞におけるポリヌクレオチド（またはポリヌクレオチドの対応するポリペプチド）の発現または活性をもたらす量で、脂質組成物中に存在する。いくつかの態様において、SORT脂質は、LF92、リン脂質、コレステロール、およびPEG-脂質を含む参照脂質組成物で達成されるものと比較して少なくとも2倍大きい、細胞におけるポリヌクレオチド（またはポリヌクレオチドの対応するポリペプチド）の発現または活性をもたらす量で、脂質組成物中に存在する。いくつかの態様において、SORT脂質は、LF92、リン脂質、コレステロール、およびPEG-脂質を含む参照脂質組成物で達成されるものと比較して少なくとも5倍大きい、細胞におけるポリヌクレオチド（またはポリヌクレオチドの対応するポリペプチド）の発現または活性をもたらす量で、脂質組成物中に存在する。いくつかの態様において、SORT脂質は、LF92、リン脂質、コレステロール、およびPEG-脂質を含む参照脂質組成物で達成されるものと比較して少なくとも10倍大きい、細胞におけるポリヌクレオチド（またはポリヌクレオチドの対応するポリペプチド）の発現または活性をもたらす量で、脂質組成物中に存在する。

【0257】

いくつかの態様において、SORT脂質は、LF92、リン脂質、コレステロール、およびPEG-脂質を含む参照脂質組成物で達成されるものと比較して多い複数の細胞において、ポリヌクレオチド（またはポリヌクレオチドの対応するポリペプチド）の発現または活性をもたらす量で、脂質組成物中に存在する。いくつかの態様において、SORT脂質は、LF92、リン脂質、コレステロール、およびPEG-脂質を含む参照脂質組成物で達成されるものと比較して少なくとも1.1倍多い複数の細胞において、ポリヌクレオチド（またはポリヌクレオチドの対応するポリペプチド）の発現または活性をもたらす量で、脂質組成物中に存在する。いくつかの態様において、SORT脂質は、LF92、リン脂質、コレステロール、およびPEG-脂質を含む参照脂質組成物で達成されるものと比較して少なくとも2倍多い複数の細胞において、ポリヌクレオチド（またはポリヌクレオチドの対応するポリ

ペプチド）の発現または活性をもたらす量で、脂質組成物中に存在する。いくつかの態様において、SORT脂質は、LF92、リン脂質、コレステロール、およびPEG-脂質を含む参照脂質組成物で達成されるものと比較して少なくとも5倍多い複数の細胞において、ポリヌクレオチド（またはポリヌクレオチドの対応するポリペプチド）の発現または活性をもたらす量で、脂質組成物中に存在する。いくつかの態様において、SORT脂質は、LF92、リン脂質、コレステロール、およびPEG-脂質を含む参照脂質組成物で達成されるものと比較して少なくとも10倍多い複数の細胞において、ポリヌクレオチド（またはポリヌクレオチドの対応するポリペプチド）の発現または活性をもたらす量で、脂質組成物中に存在する。

【０２５８】

いくつかの態様において、SORT脂質は、LF92、リン脂質、コレステロール、およびPEG-脂質を含む参照脂質組成物で達成されるものと比較して多い複数の細胞において、ポリヌクレオチドの取り込みをもたらす量で、脂質組成物中に存在する。いくつかの態様において、SORT脂質は、LF92、リン脂質、コレステロール、およびPEG-脂質を含む参照脂質組成物で達成されるものと比較して多い量で、細胞へのポリヌクレオチドの取り込みをもたらす量で、脂質組成物中に存在する。

【０２５９】

タンパク質コロナ結合

いくつかの態様において、投与時に、本明細書に記載されるような薬学的組成物の表面は、タンパク質コロナを含む1つまたは複数の標的タンパク質に結合する。いくつかの態様において、薬学的組成物の表面は、第1の標的タンパク質に結合し得る。いくつかの態様において、薬学的組成物の表面は、第1の標的タンパク質および第2の標的タンパク質に結合し得る。薬学的組成物の表面は、第1の標的タンパク質および第2の標的タンパク質に、ある重量比または質量比で結合し得る。重量比または質量比は、例えば、インキュベーションアッセイによって決定され得る。

【０２６０】

本明細書に開示されるような薬学的組成物の表面は、タンパク質コロナを含み得る。タンパク質コロナは、1つまたは複数の（例えば、血清または血液）タンパク質を含み得る。1つまたは複数のタンパク質は、アポリポタンパク質、補体タンパク質、免疫タンパク質、凝固タンパク質、または任意の他のタンパク質を含み得る。いくつかの態様において、1つまたは複数のタンパク質は、標的タンパク質を含む。1つまたは複数の標的タンパク質は、アポリポタンパク質、補体タンパク質、免疫タンパク質、凝固タンパク質、または任意の他のタンパク質を含み得る。いくつかの態様において、1つまたは複数の標的タンパク質は、α-2-HS-糖タンパク質、補体C1qサブコンポーネントサブユニットC、α-1-アンチトリプシン1-3、Igα鎖C領域、Igμ鎖C領域（断片）、セリンプロテアーゼインヒビターA3K、アポリポタンパク質C-I、血清アルブミン、免疫グロブリン重可変1-34（断片）、ビタミンK依存性プロテインZ、免疫グロブリンκ可変6-13、Igγ-2B鎖C領域、ヒストンH、β-2-糖蛋白質1、Ig重鎖V領域X44、プロテインZ依存性プロテアーゼインヒビター、免疫グロブリン重定常α（断片）、C反応性タンパク質、マンノース結合タンパク質C、免疫グロブリンκ可変1-110（断片）、β-カゼイン、免疫グロブリン重定常μ、血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ、グリコシルホスファチジルイノシトール特異的ホスホリパーゼD1、インターα-トリプシンインヒビター、重鎖、免疫グロブリン重定常γ2C（断片）、補体C3、免疫グロブリンκ可変17-127（断片）、Ig重鎖V領域AC38 205.12、補体D因子、セロトランスフェリン、β-グロビン、凝固第VII因子、Igκ鎖V-III領域50S10.1、α-S1-カゼイン、インターα-トリプシンインヒビター重鎖H3、アポリポタンパク質A-IV、タンパク質Igkv12-41（断片）、α-S2-カゼイン様A、Ig重鎖V領域6.96、クラステリン、ムリノグロブリン-1、ラクトアドヘリン、フィブリノゲンβ鎖、凝固第V因子、Igκ鎖V-II領域26-10、Igγ-1鎖C領域分泌型（断片）、免疫グロブリン重定常γ3（断片）、血小板第4因子、アポリポタンパク質A-I、リポ多糖結合タンパク質、免疫グロブリン重可変5-9（断片）、Igκ鎖V-V領域HP 1

24E、ヒスチジンリッチ糖タンパク質、Ig重鎖V-III領域J606、Igκ鎖V-III領域PC 2880/PC 1229、Igκ鎖V-V領域HP 124E1、バンド3アニオン輸送タンパク質、免疫グロブリンκ可変17-121（断片）、アポリポタンパク質N、プラスミノーゲン、免疫グロブリンκ鎖可変8-30（断片）、補体C1s-Aサブコンポーネント、ヘモグロビンサブユニットβ-2、免疫グロブリンκ可変1-135（断片）、ビタミンK依存性プロテインC、H-2クラスI組織適合抗原、Q10α鎖、αグロビン1、トロンボスポンジン-1、アポリポタンパク質D、凝固因子、フィブリノゲンγ鎖、免疫グロブリン重可変7-1（断片）、免疫グロブリンκ可変4-57（断片）、免疫グロブリン重可変V1-5、Ig重鎖V領域914、ヒストンH2B、免疫グロブリン重定常γ3（断片）、アポリポタンパク質E、フィブリノゲンα鎖、補体C1qサブコンポーネントサブユニットA、免疫グロブリン重可変5-9（断片）、免疫グロブリンκ定常、アポリポタンパク質C-III、免疫グロブリン重定常γ2B（断片）、プロトロンビン、補体C1qサブコンポーネントサブユニット、カルボキシペプチダーゼN触媒鎖、ビトロネクチン、免疫グロブリンκ可変12-46（断片）、Igγ-2A鎖C領域、膜結合型、または免疫グロブリンκ可変12-44（断片）を含む。

【０２６１】

いくつかの態様において、薬学的組成物は、第1の標的タンパク質および第2の標的タンパク質に、ある特定の重量比または質量比で結合し得る。重量比または質量比は、1:1～20:1またはそれ以上の範囲であり得る。いくつかの態様において、重量比または質量比は、1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、またはそれ以上であり得る。いくつかの態様においては、重量比または質量比は、20:1、19:1、18:1、17:1、16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1、10:1、9:1、8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、またはそれ以下であり得る。

【０２６２】

いくつかの態様において、タンパク質コロナの組成は、本明細書に記載されるような薬学的組成物の臓器および/または細胞型指向性（例えば、ターゲティング）を決定し得る。臓器および/または細胞型ターゲティングは、ある特定の標的タンパク質の存在もしくは不在、1つの標的タンパク質と別の標的タンパク質（1つまたは複数）との間の重量比もしくは質量比、またはそれらのいくつかの組み合わせによって決定され得る。タンパク質の存在、不在、および/または、1つのタンパク質もしくは別のものの間またはタンパク質の群の間の重量比または質量比は、インキュベーションアッセイによって決定され得る。いくつかの態様において、インキュベーションアッセイは、生物（例えば、マウス）由来の血清または血漿試料において脂質組成物をインキュベートすることを含み得る。脂質組成物に結合したタンパク質は、単離および/または精製され、当技術分野において公知の任意の適している技法、例えば、ブラッドフォード（Bradford）アッセイまたは他の比色アッセイ、UV-vis分光法、ビウレットアッセイ、および蛍光アッセイによって定量され得る。そのような試料から単離されたタンパク質は、質量分析、ゲル電気泳動（例えば、ネイティブゲル、SDS PAGEゲル）、または当技術分野において公知の他の適している技法によって、さらに特徴付けられ得るかまたは特定され得る。

【０２６３】

所与のタンパク質コロナを含む組成物のターゲティングは、1つまたは複数の臓器または細胞型に送達された組成物またはその一部分（例えば、ペイロード、治療剤）の量を（直接的に、間接的に、および/または相対的に）測定することによって、決定され得る。例えば、タンパク質コロナを含む組成物のターゲティングを測定することは、標的臓器または細胞型対参照臓器または細胞型において、組成物に含有される治療用ペイロードの量、発現、または活性を測定することを含み得る。いくつかの態様において、タンパク質コロナを含む組成物によって送達される治療剤の量、発現、または活性は、少なくとも約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約11倍、約12倍、約13倍、約14倍、約15倍、約16倍、約17倍、約18倍、約19倍、約20倍であるか、またはそれよりも多い。いくつかの態様において、タンパク質コロナを含む組成物に

よって送達される治療剤の量、発現、または活性は、約1/20、約1/19、約1/18、約1/17、約1/16、約1/15、約1/14、約1/13、約1/12、約1/11、約1/10、約1/9、約1/8、約1/7、約1/6、約1/5、約1/4、約1/3、約1/2未満であるか、またはそれよりも少ない。

【0264】

タンパク質コロナを含む組成物のターゲティングを決定するためのアッセイは、当技術分野において公知の任意の適している定量手順または機能アッセイを含み得る。非限定的な例として、そのようなアッセイは、蛍光ペイロードまたはその転写/翻訳産物の発光の定量、ペイロードまたはその翻訳産物を標的とする免疫蛍光アッセイなどを含み得る。

【0265】

いくつかの態様において、タンパク質コロナは、アポリポタンパク質E（Apo E）および血清アルブミンを含む。そのような場合に、タンパク質コロナを含む組成物は、肝臓または肝臓細胞を標的とし得る。いくつかの態様において、Apo Eは、血清アルブミンに対して約6:1、約5:1、約4:1、または約3:1以下の重量比または質量比で存在する。いくつかの態様において、タンパク質コロナは、インキュベーションアッセイによって決定される場合、補体C1qサブコンポーネントサブユニットA、免疫グロブリン重定常μ、補体C1qサブコンポーネントサブユニットB、免疫グロブリンκ定常、免疫グロブリン重定常γ2B、β-グロビン、免疫グロブリン（Ig）γ-2A鎖C領域、補体C1qサブコンポーネントサブユニットC、免疫グロブリン重定常α、フィブリノゲンβ鎖、フィブリノゲンγ鎖、免疫グロブリンκ可変17-127、αグロビン1、フィブリノゲンα鎖、クラステリン、別のタンパク質、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む。いくつかの態様において、タンパク質コロナは、表10に列記される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または少なくとも3つのタンパク質（例えば、表9に列記されていないか、または表9とは異なって列記されるもの）を含む。

【0266】

いくつかの態様において、タンパク質コロナは、インキュベーションアッセイによって決定される場合、Apo Eを、Apo Eではない内因性タンパク質よりも少ない量で含む。いくつかの態様において、内因性タンパク質は、ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）またはアポリポタンパク質H（Apo H）、免疫グロブリンκ定常、補体C1qサブコンポーネントサブユニットA、ビトロネクチン、および血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ1、クラステリン、別のタンパク質、またはそれらの組み合わせである。場合によっては、タンパク質コロナは、アポリポタンパク質C（Apo C）をさらに含む。そのような場合に、タンパク質コロナは、インキュベーションアッセイによって決定される場合、Apo Eよりも少ないApo Cを含み得る。

【0267】

いくつかの態様において、タンパク質コロナは、ビトロネクチンおよびクラステリンを含む。そのような場合に、タンパク質コロナを含む組成物は、肺または肺細胞を標的とし得る。いくつかの態様において、ビトロネクチンは、インキュベーションアッセイによって決定される場合、クラステリンに対して約6:1または約5:1以下の重量比または質量比で存在する。いくつかの態様において、タンパク質コロナは、インキュベーションアッセイによって決定される場合、血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ1、アポリポタンパク質E（Apo E）、血清アルブミン、免疫グロブリンκ定常、プロトロンビン、補体C1qサブコンポーネントサブユニットA、フィブリノゲンβ鎖、ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）またはアポリポタンパク質H（Apo H）、免疫グロブリン（Ig）μ鎖C領域、α-S1-カゼイン、免疫グロブリン重定常γ2B、フィブリノゲンγ鎖、フィブリノゲンα鎖、ビタミンK依存性プロテインZ、α-1-アンチトリプシン1-3、プラスミノーゲン、アポリポタンパク質C-III、補体C1qサブコンポーネントサブユニットB、トロンボスポンジン-1、凝固第X因子、アポリポタンパク質A-I、免疫グロブリン重定常α、免疫グロブリン（Ig）γ-2A鎖C領域、β-グロビン、補体C1qサブコンポーネントサブユニットC、プロテインZ依存性プロテアーゼインヒビター、クラステリン、別のタンパク質、

またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む。いくつかの態様において、タンパク質コロナは、表12に列記される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または少なくとも3つのタンパク質（例えば、表9に列記されていないか、または表9とは異なって列記されるもの）を含む。

【０２６８】

いくつかの態様において、タンパク質コロナは、β-2糖タンパク質1（β2-GP1）またはアポリポタンパク質H（Apo H）、およびベータ-2糖タンパク質1またはApo Hとは異なる第2の標的タンパク質を含む。ベータ-2糖タンパク質1またはApo Hは、第2の標的タンパク質に対して約20:1、15:1、10:1以下の重量比または質量比で存在し得る。そのような場合に、薬学的組成物は、脾臓、骨髄、もしくはリンパ節、またはその中の細胞を標的とし得る。いくつかの態様において、細胞は、脾臓細胞またはマクロファージである。いくつかの態様において、第2の標的タンパク質は、免疫グロブリンκ定常、補体C1qサブコンポーネントサブユニットA、アポリポタンパク質E（Apo E）、免疫グロブリン重定常γ2B、補体C1qサブコンポーネントサブユニットB、ビトロネクチン、補体C1qサブコンポーネントサブユニットC、アポリポタンパク質C-I、免疫グロブリン（Ig）γ-2A鎖C領域、免疫グロブリン（Ig）μ鎖C領域、血清アルブミン、血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ1、免疫グロブリン重定常α、クラステリン、および免疫グロブリンκ可変6-13、別のタンパク質、またはそれらの組み合わせを含む。いくつかの態様において、タンパク質コロナは、表11に列記される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または少なくとも3つのタンパク質（例えば、表9に列挙されていないか、または表9とは異なって列記されるもの）を含む。いくつかの態様において、タンパク質コロナは、ベータ-2糖タンパク質1またはApo Hを含まない。そのような場合に、組成物は、脾臓、骨髄、もしくはリンパ節ではない臓器、またはその中の細胞を標的とし得る。組成物は、脾臓細胞またはマクロファージを標的とし得ない。

【０２６９】

標的指向送達のための方法

いくつかの態様において、その必要がある対象における臓器またはその中の細胞に対する治療剤の標的指向送達のための方法が、本明細書において提供される。方法は、本明細書に記載されるものなどの脂質組成物とアセンブルした治療剤を、対象に投与する工程を含み得る。いくつかの態様において、脂質組成物は、イオン化可能カチオン性脂質；ポリマーコンジュゲート脂質；ならびに、該イオン化可能カチオン性脂質および該ポリマーコンジュゲート脂質とは別の選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質を含む。いくつかの態様において、投与する工程は、静脈内投与を含む。いくつかの態様において、対象の体液（例えば、血漿または血清）は、複数の標的タンパク質を含む。いくつかの態様において、複数の標的タンパク質は、対象の複数の内因性タンパク質である。

【０２７０】

本明細書に記載される方法のいくつかの態様において、投与時に、脂質組成物の表面は、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質に結合し、該複数の標的タンパク質は、第1の標的タンパク質を、第1の標的タンパク質とは異なる第2の標的タンパク質に対して約20:1、15:1、または10:1以下の重量比または質量比で含み、それによって、治療剤を、対象における標的臓器または標的細胞に送達する。いくつかの態様において、方法は、対象における臓器またはその中の細胞において、対応する参照脂質組成物（例えば、複数の標的タンパク質に対する結合なし）で達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍）多い、治療剤の量、発現、または活性を提供する。いくつかの態様において、方法は、対象における臓器またはその中の細胞において、ポリマーコンジュゲート脂質なしで達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍）多い、治療剤の量、発現、または活性を提供する。いくつかの態様において、方法は、対象における臓器またはその中の細胞において、参照臓器または参照細胞において達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍）多い、治療剤の量、発現、または活性を提供する。

【０２７１】
いくつかの態様において、本明細書に記載される方法は、その必要がある対象における肝臓またはその中の肝臓細胞に対する治療剤の標的指向送達のためのものである。いくつかの態様において、投与時に、脂質組成物の表面は、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質に結合し、該複数の標的タンパク質は、アポリポタンパク質Ｅ（Ａｐｏ Ｅ）および血清アルブミンを含み、それによって、治療剤を、対象における肝臓または肝臓細胞に送達する。いくつかの態様において、Ａｐｏ Ｅは、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質中に、血清アルブミンに対して約6:1、5:1、4:1、または3:1以下の重量比または質量比で存在する。いくつかの態様において、複数の標的タンパク質は、インキュベーションアッセイによって決定される場合、補体Ｃ1ｑサブコンポーネントサブユニット Ａ、免疫グロブリン重定常μ、補体Ｃ1ｑサブコンポーネントサブユニット Ｂ、免疫グロブリンκ定常、免疫グロブリン重定常γ2Ｂ、β-グロビン、免疫グロブリン（Ｉｇ）γ-2Ａ鎖Ｃ領域、補体Ｃ1ｑサブコンポーネントサブユニット Ｃ、免疫グロブリン重定常α、フィブリノゲンβ鎖、フィブリノゲンγ鎖、免疫グロブリンκ可変17-127、αグロビン1、フィブリノゲンα鎖、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む。いくつかの態様において、複数の標的タンパク質は、表10に列記される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または少なくとも3つのタンパク質（例えば、表9に列記されていないか、または表9とは異なって列記されるもの）を含む。いくつかの態様において、ＳＯＲＴ脂質は、イオン化可能カチオン性部分（例えば、第三級アミン部分）を含む。いくつかの態様において、ＳＯＲＴ脂質は、イオン化可能カチオン性脂質である。いくつかの態様において、脂質組成物は、約５％～約６５％のモルパーセンテージのＳＯＲＴ脂質を含む。いくつかの態様において、方法は、対象における肝臓または肝臓細胞において、対応する参照脂質組成物（例えば、複数の標的タンパク質に対する結合なし）で達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍、3倍、4倍、5倍、または6倍）多い、治療剤の量、発現、または活性を提供する。
【０２７２】
いくつかの態様において、本明細書に記載される方法は、その必要がある対象における非肝臓臓器またはその中の非肝臓細胞に対する治療剤の標的指向送達のためのものである。いくつかの態様において、投与時に、投与時に、ＳＯＲＴ脂質組成物の表面は、インキュベーションアッセイによって決定される場合、対象におけるアポリポタンパク質Ｅ（Ａｐｏ Ｅ）ではない内因性タンパク質とよりも低い程度でＡｐｏ Ｅと相互作用し、該Ａｐｏ Ｅではない内因性タンパク質は、ベータ-2糖タンパク質1（β2-ＧＰ1）またはアポリポタンパク質Ｈ（Ａｐｏ Ｈ）、免疫グロブリンκ定常、補体Ｃ1ｑサブコンポーネントサブユニット Ａ、ビトロネクチン、および血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ1から選択され、それによって、治療剤を、対象における非肝臓臓器または非肝臓細胞に送達する。いくつかの態様において、非肝臓臓器は、肺、脾臓、骨髄、またはリンパ節を含む。いくつかの態様において、非肝臓細胞は、肺細胞、脾臓細胞、またはマクロファージを含む。いくつかの態様において、アポリポタンパク質Ｅ（Ａｐｏ Ｅ）は、複数の標的タンパク質において最も豊富なタンパク質ではない。いくつかの態様において、投与時に、脂質組成物の表面は、インキュベーションアッセイによって決定される場合、対象におけるアポリポタンパク質Ｅ（Ａｐｏ Ｅ）とよりも低い程度でアポリポタンパク質Ｃ（Ａｐｏ Ｃ）と相互作用する。いくつかの態様において、方法は、対象における肝臓またはその中の細胞において、ポリマーコンジュゲート脂質なしで達成されるものと比較して少ない、治療剤の量または活性を提供する。いくつかの態様において、ＳＯＲＴ脂質は、永久カチオン性脂質、イオン化可能カチオン性脂質、両性イオン性脂質、またはアニオン性脂質である。いくつかの態様において、脂質組成物は、約５％～約６５％のモルパーセンテージのＳＯＲＴ脂質を含む。
【０２７３】
いくつかの態様において、本明細書に記載される方法は、その必要がある対象における肺またはその中の肺細胞に対する治療剤の標的指向送達のためのものである。いくつかの態様において、投与時に、脂質組成物の表面は、インキュベーションアッセイによって決

定される場合、複数の標的タンパク質に結合し、該複数の標的タンパク質は、ビトロネクチン（Vtn）およびクラステリンを含み、それによって、治療剤を、対象における肺または肺細胞に送達する。いくつかの態様において、ビトロネクチンは、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質中に、クラステリンに対して約6:1、または5:1以下の重量比または質量比で存在する。いくつかの態様において、複数の標的タンパク質は、インキュベーションアッセイによって決定される場合、血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ1、アポリポタンパク質E（Apo E）、血清アルブミン、免疫グロブリンκ定常、プロトロンビン、補体C1qサブコンポーネントサブユニットA、フィブリノゲンβ鎖、ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）またはアポリポタンパク質H（Apo H）、免疫グロブリン（Ig）μ鎖C領域、α-S1-カゼイン、免疫グロブリン重定常γ2B、フィブリノゲンγ鎖、フィブリノゲンα鎖、ビタミンK依存性プロテインZ、α-1-アンチトリプシン1-3、プラスミノーゲン、アポリポタンパク質C-III、補体C1qサブコンポーネントサブユニットB、トロンボスポンジン-1、凝固第X因子、アポリポタンパク質A-I、免疫グロブリン重定常α、免疫グロブリン（Ig）γ-2A鎖C領域、β-グロビン、補体C1qサブコンポーネントサブユニットC、プロテインZ依存性プロテアーゼインヒビター、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む。いくつかの態様において、複数の標的タンパク質は、表12に列記される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または少なくとも3つのタンパク質（例えば、表9に列記されていないか、または表9とは異なって列記されるもの）を含む。いくつかの態様において、SORT脂質は、カチオン性脂質である。いくつかの態様において、SORT脂質は、永久カチオン性脂質である。いくつかの態様において、SORT脂質は、イオン化可能カチオン性脂質である。いくつかの態様において、脂質組成物は、約5％～約65％のモルパーセンテージのSORT脂質を含む。いくつかの態様において、方法は、対象における肺または肺細胞において、対応する参照脂質組成物（例えば、複数の標的タンパク質に対する結合なし）で達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍、5倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、または20倍）多い、治療剤の量、発現、または活性を提供する。

【０２７４】

いくつかの態様において、本明細書に記載される方法は、その必要がある対象における脾臓、骨髄、もしくはリンパ節、またはその中の細胞に対する治療剤の標的指向送達のためのものである。いくつかの態様において、投与時に、脂質組成物の表面は、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質に結合し、該複数の標的タンパク質は、ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）またはアポリポタンパク質H（Apo H）を、ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）またはアポリポタンパク質H（Apo H）とは異なる第2の標的タンパク質に対して約20:1、15:1、または10:1以下の重量比または質量比で含み、それによって、治療剤を、対象における脾臓、骨髄、もしくはリンパ節、または細胞に送達する。いくつかの態様において、細胞は、脾臓細胞またはマクロファージを含む。いくつかの態様において、第2の標的タンパク質は、免疫グロブリンκ定常、補体C1qサブコンポーネントサブユニットA、アポリポタンパク質E（Apo E）、免疫グロブリン重定常γ2B、補体C1qサブコンポーネントサブユニットB、ビトロネクチン、補体C1qサブコンポーネントサブユニットC、アポリポタンパク質C-I、免疫グロブリン（Ig）γ-2A鎖C領域、免疫グロブリン（Ig）μ鎖C領域、血清アルブミン、血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ1、免疫グロブリン重定常α、および免疫グロブリンκ可変6-13から選択される。いくつかの態様において、SORT脂質は、永久カチオン性脂質またはアニオン性脂質である。いくつかの態様において、複数の標的タンパク質は、表11に列記される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または少なくとも3つのタンパク質（例えば、表9に列記されていないか、または表9とは異なって列記されるもの）を含む。いくつかの態様において、SORT脂質は、永久カチオン性脂質である。いくつかの態様において、SORT脂質は、アニオン性脂質である。いくつかの態様において、脂質組成物は、約5％～約65％のモルパーセンテージのSORT脂質を含む。いくつかの態様に

おいて、方法は、対象における肺または肺細胞において、対応する参照脂質組成物（例えば、複数の標的タンパク質に対する結合なし）で達成されるものと比較して（例えば、少なくとも約2倍）多い、治療剤の量、発現、または活性を提供する。

【０２７５】

いくつかの態様において、本明細書に記載される方法は、その必要がある対象における非脾臓臓器またはその中の非脾臓細胞に対する治療剤の標的指向送達のためのものである。いくつかの態様において、投与時に、脂質組成物の表面は、インキュベーションアッセイによって決定される場合、複数の標的タンパク質に結合し、該複数の標的タンパク質は、第1の標的タンパク質を、第1の標的タンパク質とは異なる第2の標的タンパク質に対して約20:1、15:1、または10:1以下の重量比または質量比で含み、それによって、治療剤を、対象における非脾臓臓器または非脾臓細胞に送達する。いくつかの態様において、非脾臓臓器は、脾臓、骨髄、またはリンパ節ではない。いくつかの態様において、非脾臓細胞は、脾臓細胞またはマクロファージではない。いくつかの態様において、ベータ-2糖タンパク質1（β2-GP1）またはアポリポタンパク質H（Apo H）は、複数の標的タンパク質において最も豊富なタンパク質ではない。いくつかの態様において、複数の標的タンパク質は、クラステリンを含む。いくつかの態様において、SORT脂質は、永久カチオン性脂質、イオン化可能カチオン性脂質、両性イオン性脂質、またはアニオン性脂質である。いくつかの態様において、脂質組成物は、約5％～約65％のモルパーセンテージのSORT脂質を含む。

【０２７６】

場合によっては、本明細書に記載される方法において、治療剤は、低分子干渉リボ核酸（siRNA）、短鎖ヘアピンRNA（shRNA）、マイクロリボ核酸（miRNA）、一次マイクロリボ核酸（pri-miRNA）、長鎖非コーディングRNA（lncRNA）、メッセンジャーリボ核酸（mRNA）、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（CRISPR）関連核酸、CRISPR-RNA（crRNA）、単一ガイドリボ核酸（sgRNA）、トランス活性化CRISPRリボ核酸（tracrRNA）、プラスミドデオキシリボ核酸（pDNA）、転移リボ核酸（tRNA）、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）、アンチセンスリボ核酸（RNA）、ガイドリボ核酸、デオキシリボ核酸（DNA）、二本鎖デオキシリボ核酸（dsDNA）、一本鎖デオキシリボ核酸（ssDNA）、一本鎖リボ核酸（ssRNA）、二本鎖リボ核酸（dsRNA）、CRISPR関連（Cas）タンパク質、またはそれらの組み合わせを含み得る。

【０２７７】

製剤

いくつかの態様において、本明細書で提供される方法または組成物のいずれかでは、本明細書で提供される治療剤は、静脈内組成物中に存在し得る。いくつかの態様において、本明細書で提供される治療剤は、エアロゾル組成物中に存在し得る。いくつかの態様において、脂質組成物は、エアロゾルとして製剤化され得る。いくつかの態様において、本明細書で提供される組成物は、エアロゾル剤形として製剤化され得る。他の態様において、本明細書で提供される組成物は、静脈内剤形として製剤化される。いくつかの態様において、脂質組成物は、ネブライザーとして製剤化され得る。いくつかの態様において、本明細書に記載される組成物は、ネブライザーを介して投薬される。いくつかの態様において、脂質組成物は、エアロゾルとして投薬され得る。いくつかの態様において、本明細書に記載される組成物は、-70℃以下で保存され得る。

【０２７８】

いくつかの態様において、本明細書に記載される組成物は、分散液として製剤化され得る。いくつかの態様において、分散液の濃度は、約0.5 mg/mL～約5 mg/mLである。いくつかの態様において、分散液の濃度は、約0.5 mg/mL～約1 mg/mLである。いくつかの態様において、分散液の濃度は、約0.5 mg/mL～約2 mg/mLである。いくつかの態様において、分散液の濃度は、約0.5 mg/mL～約3 mg/mLである。いくつかの態様において、分散液の濃度は、約2 mg/mL～約3 mg/mLである。いくつかの態様にお

いて、分散液の濃度は、約2 mg/mL～約4 mg/mLである。いくつかの態様において、分散液の濃度は、5 mg/mL以下である。いくつかの態様において、分散液の濃度は、1 mg/mLである。いくつかの態様において、本明細書に記載される組成物は、pH 7.5で分散される。

【０２７９】

いくつかの態様において、本明細書で提供される組成物は、ヒトに投与される。いくつかの態様において、本明細書で提供される組成物は、成人に投与される。他の態様において、本明細書で提供される組成物は、小児に投与される。いくつかの態様において、本明細書で提供される組成物は、18～35 kg/m^2のボディーマス指数を有する患者に投与される。他の態様において、本明細書で提供される組成物は、≧50 kgの総体重を有する患者に投与される。いくつかの態様において、本明細書に記載される組成物は、静脈内投与される。いくつかの態様において、本明細書に記載される組成物は、吸入を介して送達される。いくつかの態様において、本明細書に記載される組成物は、噴霧による投与を含み得る。いくつかの態様において、本明細書に記載される組成物は、噴霧による肺への投与を含み得る。いくつかの態様において、本明細書に記載される組成物は、少なくとも週に1回投与される。いくつかの態様において、本明細書に記載される組成物は、少なくとも週に2回投与される。

【０２８０】

本明細書で提供される組成物または方法のいずれかにおいて、組成物は、任意の適している用量で投与される。いくつかの態様において、用量とは、組成物の量を指す。いくつかの態様において、用量とは、治療剤の量を指す。いくつかの態様において、投与される用量は、約1 mg～約30 mgである。いくつかの態様において、投与される用量は、約1 mg～約2.5 mg、約1 mg～約5 mg、約1 mg～約7.5 mg、約1 mg～約10 mg、約1 mg～約15 mg、約1 mg～約20 mg、約1 mg～約25 mg、約1 mg～約30 mg、約2.5 mg～約5 mg、約2.5 mg～約7.5 mg、約2.5 mg～約10 mg、約2.5 mg～約15 mg、約2.5 mg～約20 mg、約2.5 mg～約25 mg、約2.5 mg～約30 mg、約5 mg～約7.5 mg、約5 mg～約10 mg、約5 mg～約15 mg、約5 mg～約20 mg、約5 mg～約25 mg、約5 mg～約30 mg、約7.5 mg～約10 mg、約7.5 mg～約15 mg、約7.5 mg～約20 mg、約7.5 mg～約25 mg、約7.5 mg～約30 mg、約10 mg～約15 mg、約10 mg～約20 mg、約10 mg～約25 mg、約10 mg～約30 mg、約15 mg～約20 mg、約15 mg～約25 mg、約15 mg～約30 mg、約20 mg～約25 mg、約20 mg～約30 mg、または約25 mg～約30 mgである。いくつかの態様において、投与される用量は、約1 mg、約2.5 mg、約5 mg、約7.5 mg、約10 mg、約15 mg、約20 mg、約25 mg、または約30 mgである。いくつかの態様において、投与される用量は、少なくとも約1 mg、約2.5 mg、約5 mg、約7.5 mg、約10 mg、約15 mg、約20 mg、または約25 mgである。いくつかの態様において、投与される用量は、多くても約2.5 mg、約5 mg、約7.5 mg、約10 mg、約15 mg、約20 mg、約25 mg、または約30 mgである。いくつかの態様において、投与される用量は、約2.5 mgである。いくつかの態様において、投与される用量は、約5.0 mgである。いくつかの態様において、投与される用量は、約10.0 mgである。いくつかの態様において、投与される用量は、約20.0 mgである。

【０２８１】

本明細書で提供される組成物または方法のいずれかにおいて、用量は、体重を参照して決定され得る。これらの組成物または方法のいずれかにおいて、任意の適している用量が、使用され得る。いくつかの態様において、用量は、約0.01 mg/kg体重～約1 mg/kg体重である。いくつかの態様において、用量は、約0.01 mg/kg体重～約0.05 mg/kg体重、約0.01 mg/kg体重～約0.1 mg/kg体重、約0.01 mg/kg体重～約0.5 mg/kg体重、約0.01 mg/kg体重～約0.8 mg/kg体重、約0.01 mg/kg体重～約1 mg/kg体重、約0.05 mg/kg体重～約0.1 mg/kg体重、約0.05 mg/kg体重～約0.5 mg/kg体重、約0.05 mg/kg体重～約0.8 mg/kg体重、約0.05 mg/kg体重～約1 mg/kg体重

、約0.1 mg/kg体重～約0.5 mg/kg体重、約0.1 mg/kg体重～約0.8 mg/kg体重、約0.1 mg/kg体重～約1 mg/kg体重、約0.5 mg/kg体重～約0.8 mg/kg体重、約0.5 mg/kg体重～約1 mg/kg体重、または約0.8 mg/kg体重～約1 mg/kg体重である。いくつかの態様において、用量は、約0.01 mg/kg体重、約0.05 mg/kg体重、約0.1 mg/kg体重、約0.5 mg/kg体重、約0.8 mg/kg体重、または約1 mg/kg体重である。いくつかの態様において、用量は、少なくとも約0.01 mg/kg体重、約0.05 mg/kg体重、約0.1 mg/kg体重、約0.5 mg/kg体重、または約0.8 mg/kg体重である。いくつかの態様において、用量は、多くても約0.05 mg/kg体重、約0.1 mg/kg体重、約0.5 mg/kg体重、約0.8 mg/kg体重、または約1 mg/kg体重である。いくつかの態様において、用量は、約1.0、0.5、0.1、0.05、または0.01 mg/kg体重以下を含む。

【０２８２】

本明細書で提供される組成物または方法のいずれかにおいて、用量は、肺重量を参照して決定され得る。これらの組成物または方法のいずれかにおいて、任意の適している用量が、使用され得る。いくつかの態様において、投与される用量は、約0.002 mg/g肺重量～約0.03 mg/g肺重量である。いくつかの態様において、投与される用量は、約0.002 mg/g肺重量～約0.005 mg/g肺重量、約0.002 mg/g肺重量～約0.008 mg/g肺重量、約0.002 mg/g肺重量～約0.01 mg/g肺重量、約0.002 mg/g肺重量～約0.015 mg/g肺重量、約0.002 mg/g肺重量～約0.02 mg/g肺重量、約0.002 mg/g肺重量～約0.025 mg/g肺重量、約0.002 mg/g肺重量～約0.03 mg/g肺重量、約0.005 mg/g肺重量～約0.008 mg/g肺重量、約0.005 mg/g肺重量～約0.01 mg/g肺重量、約0.005 mg/g肺重量～約0.015 mg/g肺重量、約0.005 mg/g肺重量～約0.02 mg/g肺重量、約0.005 mg/g肺重量～約0.025 mg/g肺重量、約0.005 mg/g肺重量～約0.03 mg/g肺重量、約0.008 mg/g肺重量～約0.01 mg/g肺重量、約0.008 mg/g肺重量～約0.015 mg/g肺重量、約0.008 mg/g肺重量～約0.02 mg/g肺重量、約0.008 mg/g肺重量～約0.025 mg/g肺重量、約0.008 mg/g肺重量～約0.03 mg/g肺重量、約0.01 mg/g肺重量～約0.015 mg/g肺重量、約0.01 mg/g肺重量～約0.02 mg/g肺重量、約0.01 mg/g肺重量～約0.025 mg/g肺重量、約0.01 mg/g肺重量～約0.03 mg/g肺重量、約0.015 mg/g肺重量～約0.02 mg/g肺重量、約0.015 mg/g肺重量～約0.025 mg/g肺重量、約0.015 mg/g肺重量～約0.03 mg/g肺重量、約0.02 mg/g肺重量～約0.025 mg/g肺重量、約0.02 mg/g肺重量～約0.03 mg/g肺重量、または約0.025 mg/g肺重量～約0.03 mg/g肺重量である。いくつかの態様において、投与される用量は、約0.002 mg/g肺重量、約0.005 mg/g肺重量、約0.008 mg/g肺重量、約0.01 mg/g肺重量、約0.015 mg/g肺重量、約0.02 mg/g肺重量、約0.025 mg/g肺重量、または約0.03 mg/g肺重量である。

【０２８３】

以下は、本開示の組成物の実施例および組成物の評価である。上記で提供される一般的な説明を考慮すると、様々な他の態様が実施され得ることが理解される。

【実施例】

【０２８４】

実施例1：DOTAPまたはDODAP修飾脂質ナノ粒子の調製

脂質ナノ粒子（LNP）は、インビボ核酸送達に最も効果的な担体クラスである。歴史的に、有効なLNPは、4つの成分：イオン化可能カチオン性脂質、両性イオン性リン脂質、コレステロール、および脂質ポリ(エチレングリコール)（PEG）から構成される。しかし、これらのLNPは、臓器または組織標的指向送達ではなく、核酸の一般的な送達のみを結果としてもたらす。LNPは、典型的には、肝臓にのみRNAを送達する。したがって、標的核酸送達を提供する努力において、LNPの新しい製剤を探求した。

【０２８５】

4つの標準的なタイプの脂質を、永久カチオン性脂質の添加を伴ってまたは伴わずに、15:15:30:3のモル比で混合した。簡潔に述べると、デンドリマーまたはデンドロン脂質（イオン化可能カチオン性）、DOPE（両性イオン性）、コレステロール、DMG-PEG、

およびDOTAP（永久カチオン性）を混合することによって、LNPを調製した。あるいは、DOTAPをDODAPと置換して、DODAPを含むLNPを生成することができる。

【０２８６】

LNP製剤の調製のために、デンドリマーまたはデンドロン脂質、DOPE、コレステロール、およびDMG-PEGを、所望のモル比でエタノールに溶解した。mRNAを、クエン酸緩衝液（10 mM、pH 4.0）に溶解した。次いで、mRNAを脂質溶液中に3:1（mRNA：脂質、v/v）の体積比で素早く混合することによって、40:1（全脂質：mRNA）の重量比を達成するように、mRNAを脂質溶液中に希釈した。次いで、この溶液を、室温で10分間インキュベートした。DOTAP修飾LNP製剤の形成のために、mRNAを、1×PBSまたはクエン酸緩衝液（10 mM、pH 4.0）に溶解し、5A2-SC8、DOPE、コレステロール、DMG-PEG、およびDOTAPを含有するエタノール中に、40:1（全脂質：mRNA）の重量比および3:1（mRNA：脂質）の体積比を固定して、素早く混合した。製剤は、X％DOTAP Y（またはX％DODAP Y）と命名され、ここで、Xは、全脂質におけるDOTAP（またはDODAP）モルパーセンテージを表し、かつYは、デンドリマーまたはデンドロン脂質のタイプを表す。あるいは、製剤は、Y X％DOTAPまたはY X％DODAPと命名され得、ここで、Xは、全脂質におけるDOTAP（またはDODAP）モルパーセンテージを表し、かつYは、デンドリマーまたはデンドロン脂質のタイプを表す。

【０２８７】

実施例2：SORT LNPの安定性

脂質（LNP）組成物を、安定性について試験する。本明細書に記載されるような脂質組成物、例えば、イオン化可能カチオン性脂質としてのデンドリマーまたはデンドロン（例えば、5A2-SC8）、および選択的臓器ターゲティング（SORT）脂質（例えば、DODAP）を、例えば、20％～50％の全脂質におけるモルパーセンテージで含む脂質組成物を、マイクロ流体混合法またはクロス/ティー混合法のいずれかを用いて生成する。様々なLNP製剤のサイズ、多分散指数（PDI）、およびゼータ電位を、動的光散乱（DLS）によって特徴付ける（各製剤について別々の3回）。

【０２８８】

LNPのカプセル化効率を、Ribogreen RNAアッセイ（Zhao et al., 2016）を用いて試験する。簡潔に述べると、mRNAを酸性緩衝液（例えば、10 mMクエン酸、pH 4）に溶解した場合、mRNAは、90％超（例えば、95％超）の効率でLNPにカプセル化される。特徴を、試験したLNPについて28日にわたって、例えば、28日の経過にわたって観察する。

【０２８９】

加えて、本明細書に記載されるような脂質組成物（LNP）の溶液中での安定性および結果として生じるmRNA発現を、マウスにおいて観察する。簡潔に述べると、マウスに、1 mg/kg未満を静脈内注射し、インビボで観察する。ルシフェリンを、注射の5時間後に添加し、可視化する。肺におけるSORT（例えば、肺-SORT）LNPで生成された組織特異的な放射輝度は、14日後でも高度に検出可能なままであり、21日目および28日目までにはシグナルがわずかに減衰する。例示的なSORT LNPで処置した後の特定の期間で、試験したマウスの臓器の画像を撮影する。

【０２９０】

実施例3A：SORT分子はLNP生体内分布を変化させる

メッセンジャーRNA治療薬は、容易にはアニオン性細胞膜を通して拡散せず、かつ血液中のRNアーゼによる分解を受けやすいため、細胞内送達のためには複数の障壁を克服しなければならない。理想的には、LNPは、mRNAをカプセル化して酵素分解から保護し、標的臓器における蓄積を可能にし、細胞中への受容体媒介性エンドサイトーシスを容易にし、かつmRNAを、機能的タンパク質への翻訳を受けるようにエンドソームから細胞質中に放出するであろう。SORT LNPの開発を通して、本発明者らは、組み込まれたSORT分子の化学的同一性および量が、mRNA送達後の組織特異的タンパク質発現を体系的に変化させることを示した。イオン化可能カチオン性脂質の包含は、肝臓ターゲティン

グを増強し、アニオン性脂質は、脾臓に対する送達のリターゲティングを結果としてもたらし、第四級アンモニウム頭部基を持つ永久カチオン性脂質は、肺に対する送達をリターゲティングした（図1A）。これらの実験により、SORT分子の選択がいかに、mRNAがインビボで機能的タンパク質に翻訳される場所を予測通りに指図するためのデザインパラメータとして働くかが明らかになったが、例示的なSORT LNPが集積する臓器、およびSORT分子が機能する機構は解明されなかった。標的臓器に対する生体内分布は、原則として、標的指向送達のための必須段階であるはずである。

【０２９１】

SORT LNPが蓄積する臓器とその組織特異的mRNA活性との間に相関関係があるかどうかを判定するために、本発明者らは、最初に、例示的なSORT LNPにカプセル化されたmRNAの生体内分布を調べた。Cy5標識mRNAをカプセル化した例示的な肝臓SORT LNP、肺SORT LNP、および脾臓SORT LNPを、本発明者らの以前の刊行物において用いた同一のプロトコールおよび製剤パラメータに従って製剤化した。各LNPを、C57BL/6マウスにIV投与し、蛍光画像化を用いてCy5-mRNAのインビボ生体内分布を追跡した。注射の6時間後に、臓器を摘出し、エクスビボで画像化した（図1B）。肝臓、脾臓、および肺によって生じた平均蛍光を、定量した（図1C）。イオン化可能カチオン性脂質DODAPの参照mDLNPへの組み込みは、肝臓における平均Cy5-mRNAシグナルの増大、および脾臓における平均Cy5-mRNAシグナルの減少を結果としてもたらし、DODAPの20％の包含で、最適な肝臓生体内分布であった（図1B～1C）。一方、LNPに添加したアニオン性SORT分子18PAのパーセンテージを増大させると、脾臓における平均Cy5-mRNAシグナルが増大した（図1B～1C）。同様に、永久カチオン性SORT分子DOTAPを、増大する割合でLNPに含めた場合、肺におけるCy5-mRNAシグナルの漸進的な増大があった（図1B～1C）。重要なことに、これらの追跡研究は、例示的なSORT LNPが生体内分布する場所を定量するが、mRNAがタンパク質に翻訳される（機能的送達）場所は定量しない。これらの研究により、SORT分子の参照mDLNPにおける包含は、標的臓器に対するmRNA生体内分布を容易にするが、組織特異的mRNA活性を説明するには十分でないことが実証される。

【０２９２】

実施例3B：SORT分子は見かけのLNP pK_aを変化させる

そのすべてがインビボで組織特異的mRNA送達について効果的であった、実施例1に記載されるように調製した67個の異なる例示的なSORT LNP（表7）の見かけのpK_aを、6-(p-トルイジノ)-2-ナフタレンスルホン酸（TNS）アッセイを用いて解析した。簡潔に述べると、mRNA製剤（60μM全脂質）およびTNSプローブ（2μM）を、10 mM HEPES、10 mM MES（4-モルホリンエタンスルホン酸）、10 mM酢酸アンモニウム、および130 mM NaClを含有する一連の緩衝液（pHは2.5～11の範囲）と5分間インキュベートした。各ウェル（黒底96ウェルプレート）の平均蛍光強度を、Tecanプレートリーダーによって、励起波長（λ_{Ex}）＝321 nmおよび発光波長（λ_{Em}）＝445 nmで測定し、データを、pH＝2.5の値に対して正規化した。典型的には、見かけのpK_aは、最大半量蛍光でのpHによって定義される。この方法は、ほとんどすべてのLNPについて、LNPのグローバル/見かけのpK_aを推定するのに有用であったが、40％超の永久カチオン性脂質を含有する例示的なSORT LNPについては、これらのLNPが常に荷電しているため、用いることができなかった。したがって、その代わりに、相対pK_aを、最低の蛍光測定値に正規化された50％の蛍光が生じた場合に、基礎となるLNP製剤（SORT脂質を添加していない）と比較して推定した。この代替計算は、ほとんどのLNPのpK_aを変化させなかったが、40％超のカチオン性脂質を有する例示的なSORT LNPのpK_aの推定を可能にし、これは、組織選択的RNA送達の実験結果と一致した。アッセイの代表的な結果を、図1Dに示す。67個の異なる例示的なSORT LNPについてのアッセイの完全な結果を、図6に示す。

【０２９３】

（表７）TNSアッセイにおいて調査した例示的なSORT LNPの分子組成

	モル比 (モルパーセンテージ)				
mDLNPベースのSORT LNP					
名称	5A2-SC8	DOPE	コレステロール	DMG-PEG2K	SORT分子
mDLNP (参照)	15 (23.81)	15 (23.81)	30 (47.62)	3 (4.76)	n/a (0)
カチオン性脂質SORT分子					
5% DOTAP	15 (22.62)	15 (22.62)	30 (45.24)	3 (4.52)	3.315 (5)
10% DOTAP	15 (21.43)	15 (21.43)	30 (42.86)	3 (4.29)	7 (10)

15% DOTAP	15 (20.24)	15 (20.24)	30 (40.47)	3 (4.05)	11.12 (15)
20% DOTAP	15 (19.05)	15 (19.05)	30 (38.10)	3 (3.81)	15.75 (20)
30% DOTAP	15 (16.67)	15 (16.67)	30 (33.33)	3 (3.33)	27 (30)
40% DOTAP	15 (14.29)	15 (14.29)	30 (28.57)	3 (2.86)	42 (40)
50% DOTAP (肺SORT)	15 (11.90)	15 (11.90)	30 (23.81)	3 (2.38)	63 (50)
60% DOTAP	15 (9.52)	15 (9.52)	30 (19.05)	3 (1.90)	94.5 (60)
70% DOTAP	15 (7.14)	15 (7.14)	30 (14.29)	3 (1.43)	147 (70)
80% DOTAP	15 (4.76)	15 (4.76)	30 (9.52)	3 (0.95)	252 (80)
90% DOTAP	15 (2.38)	15 (2.38)	30 (4.76)	3 (0.48)	567 (90)
5% DDAB	15 (22.62)	15 (22.62)	30 (45.24)	3 (4.52)	3.315 (5)
15% DDAB	15 (20.24)	15 (20.24)	30 (40.47)	3 (4.05)	11.12 (15)
40% DDAB	15 (14.29)	15 (14.29)	30 (28.57)	3 (2.86)	42 (40)
50% DDAB	15 (11.90)	15 (11.90)	30 (23.81)	3 (2.38)	63 (50)
5% 14EPC	15 (22.62)	15 (22.62)	30 (45.24)	3 (4.52)	3.315 (5)
15% 14EPC	15 (20.24)	15 (20.24)	30 (40.47)	3 (4.05)	11.12 (15)
40% 14EPC	15 (14.29)	15 (14.29)	30 (28.57)	3 (2.86)	42 (40)
50% 14EPC	15 (11.90)	15 (11.90)	30 (23.81)	3 (2.38)	63 (50)
アニオン性脂質SORT分子					
5% 18PA	15 (22.62)	15 (22.62)	30 (45.24)	3 (4.52)	3.315 (5)
10% 18PA	15 (21.43)	15 (21.43)	30 (42.86)	3 (4.29)	7 (10)
20% 18PA	15 (19.05)	15 (19.05)	30 (38.10)	3 (3.81)	15.75 (20)
30% 18PA (脾臓SORT)	15 (16.67)	15 (16.67)	30 (33.33)	3 (3.33)	27 (30)
40% 18PA	15 (14.29)	15 (14.29)	30 (28.57)	3 (2.86)	42 (40)
5% 14PA	15 (22.62)	15 (22.62)	30 (45.24)	3 (4.52)	3.315 (5)
10% 14PA	15 (21.43)	15 (21.43)	30 (42.86)	3 (4.29)	7 (10)
20% 14PA	15 (19.05)	15 (19.05)	30 (38.10)	3 (3.81)	15.75 (20)
30% 14PA	15 (16.67)	15 (16.67)	30 (33.33)	3 (3.33)	27 (30)
5% 18BMP	15 (22.62)	15 (22.62)	30 (45.24)	3 (4.52)	3.315 (5)
10% 18BMP	15 (21.43)	15 (21.43)	30 (42.86)	3 (4.29)	7 (10)
20% 18BMP	15 (19.05)	15 (19.05)	30 (38.10)	3 (3.81)	15.75 (20)

30% 18BMP	15 (16.67)	15 (16.67)	30 (33.33)	3 (3.33)	27 (30)
イオン化可能カチオン性脂質SORT分子					
10% DODAP	15 (21.43)	15 (21.43)	30 (42.86)	3 (4.29)	7 (10)
20% DODAP (肝臓SORT)	15 (19.05)	15 (19.05)	30 (38.10)	3 (3.81)	15.75 (20)
50% DODAP	15 (11.90)	15 (11.90)	30 (23.81)	3 (2.38)	63 (50)
80% DODAP	15 (4.76)	15 (4.76)	30 (9.52)	3 (0.95)	252 (80)
10% C12-200	15 (21.43)	15 (21.43)	30 (42.86)	3 (4.29)	7 (10)
20% C12-200	15 (19.05)	15 (19.05)	30 (38.10)	3 (3.81)	15.75 (20)
50% C12-200	15 (11.90)	15 (11.90)	30 (23.81)	3 (2.38)	63 (50)
10% 5A2-SC8	15 (21.43)	15 (21.43)	30 (42.86)	3 (4.29)	7 (10)
15% 5A2-SC8	15 (20.24)	15 (20.24)	30 (40.47)	3 (4.05)	11.12 (15)
20% 5A2-SC8	15 (19.05)	15 (19.05)	30 (38.10)	3 (3.81)	15.75 (20)
25% 5A2-SC8	15 (17.86)	15 (17.86)	30 (35.71)	3 (3.57)	21 (25)
30% 5A2-SC8	15 (16.67)	15 (16.67)	30 (33.33)	3 (3.33)	27 (30)
両性イオン性脂質SORT分子					
20% DSPC	15 (19.05)	15 (19.05)	30 (38.10)	3 (3.81)	15.75 (20)
50% DSPC	15 (11.90)	15 (11.90)	30 (23.81)	3 (2.38)	63 (50)
80% DSPC	15 (4.76)	15 (4.76)	30 (9.52)	3 (0.95)	252 (80)
20% DOCPe	15 (19.05)	15 (19.05)	30 (38.10)	3 (3.81)	15.75 (20)
50% DOCPe	15 (11.90)	15 (11.90)	30 (23.81)	3 (2.38)	63 (50)
DLin-MC3-DMAベースのLNP					
名称	DLin-MC3-DMA	DOPE	コレステロール	DMG-PEG2K	SORT分子
MC3-LNP	15 (23.81)	15 (23.81)	30 (47.62)	3 (4.76)	n/a (0)
カチオン性脂質SORT分子					
15% DOTAP MC3	15 (20.24)	15 (20.24)	30 (40.47)	3 (4.05)	11.12 (15)
50% DOTAP MC3	15 (11.90)	15 (11.90)	30 (23.81)	3 (2.38)	63 (50)
アニオン性脂質SORT分子					
10% 18PA MC3	15 (21.43)	15 (21.43)	30 (42.86)	3 (4.29)	7 (10)
20% 18PA MC3	15 (19.05)	15 (19.05)	30 (38.10)	3 (3.81)	15.75 (20)
30% 18PA MC3	15 (16.67)	15 (16.67)	30 (33.33)	3 (3.33)	27 (30)
C12-200ベースのLNP					
名称	C12-200	DOPE	コレステロール	DMG-PEG2K	SORT分子
C12-200-LNP	15	15	30	3	n/a

	(23.81)	(23.81)	(47.62)	(4.76)	(0)
カチオン性脂質SORT分子					
15% DOTAP C12-200	15 (20.24)	15 (20.24)	30 (40.47)	3 (4.05)	11.12 (15)
50% DOTAP C12-200	15 (11.90)	15 (11.90)	30 (23.81)	3 (2.38)	63 (50)
アニオン性脂質SORT分子					
10% 18PA C12-200	15 (21.43)	15 (21.43)	30 (42.86)	3 (4.29)	7 (10)
20% 18PA C12-200	15 (19.05)	15 (19.05)	30 (38.10)	3 (3.81)	15.75 (20)
30% 18PA C12-200	15 (16.67)	15 (16.67)	30 (33.33)	3 (3.33)	27 (30)
C1ベースのLNP					
名称	5A2-SC8	DOPE	コレステロール	DMG-PEG2K	SORT分子
イオン化可能カチオン性脂質SORT分子					
20% DODAP C1	15 (19.05)	15 (19.05)	30 (38.10)	3 (3.81)	15.75 (20)
30% DODAP C1	15 (16.67)	15 (16.67)	30 (33.33)	3 (3.33)	27 (30)
カチオン性脂質SORT分子					
10% DOTAP C1	15 (21.43)	15 (21.43)	30 (42.86)	3 (4.29)	7 (10)
20% DOTAP C1	15 (19.05)	15 (19.05)	30 (38.10)	3 (3.81)	15.75 (20)
30% DOTAP C1	15 (16.67)	15 (16.67)	30 (33.33)	3 (3.33)	27 (30)

【０２９４】

図１Ｅは、組織特異的活性に対する相対pK_aのプロットを示す。肝臓をターゲティングする（スコア＝１）例示的なＳＯＲＴ ＬＮＰは、６～７の範囲の見かけのpK_aを有していた。例として、すべての肺ターゲティング（スコア＝３）ＳＯＲＴ ＬＮＰは、より大きい見かけのpK_a（例えば、＞９）を有し、他方、脾臓ターゲティング（スコア＝２）ＬＮＰは、より低いpK_aを有していた。

【０２９５】

グローバル/見かけのpKaは、ＬＮＰによるＲＮＡ送達の効力を決定する際に重要な役割を果たすことが確立されている。実際に、肝臓肝細胞に対するｓｉＲＮＡ送達は、ＬＮＰのpKaに強く依存し、６.２～６.４のpKaが、遺伝子サイレンシングに最適であり；その狭い範囲外のpKaを有するＬＮＰは、ｓｉＲＮＡを肝臓に機能的に送達することができなかった。pKaと細胞送達との間の関連に基づいて、そのすべてがインビボで組織特異的ｍＲＮＡ送達について効果的であった、６７個の異なる例示的なＳＯＲＴ ＬＮＰ（表７）の見かけのpKaを、６-(ｐ-トルイジノ)-２-ナフタレンスルホン酸（ＴＮＳ）アッセイを用いて解析した（図１Ｄ～１Ｅおよび６～７）。ＳＯＲＴは、追加の荷電脂質の包含を伴うため、結果として生じたＴＮＳ滴定曲線は、より複雑な混合種ＬＮＰのイオン化挙動を捉える。０％という下限のＴＮＳ蛍光が、ＴＮＳアッセイにおいて用いた緩衝液のｐＨ範囲にわたっていくつかのＳＯＲＴ ＬＮＰについて測定されなかったため、５０％正規化ＴＮＳ蛍光シグナルが測定されるｐＨとして、見かけのpKaを定義した（図１Ｄ）。

【０２９６】

組織特異的活性に対して相対pKaをプロットした場合、例示的なＳＯＲＴ ＬＮＰは、その臓器ターゲティング特性に基づいて定義された範囲にグループ化された（図１Ｅ）。文献の先例を確認すると、すべての肝臓ターゲティングＳＯＲＴ ＬＮＰは、十分に確立された６～７の範囲内の見かけのpKaを有していた（図１Ｅ）。驚くべきことに、すべての肺ターゲティングＳＯＲＴ ＬＮＰは、より大きい見かけのpKa（例えば、９よりも大きい）を有し（図１Ｅ）、他方、脾臓ターゲティングＬＮＰは、２～６の間の、より低いpKaを有していた（図１Ｅ）。この結果は、肝臓に対する従来のＬＮＰ送達のドグマとは対照的であり、ＳＯＲＴ

LNPがなぜ、従来とは異なり、肝外送達を可能にできるのかの理解に寄与する。本明細書において試験したSORT LNPは、類似した、中性に近いゼータ電位の表面電荷を有することに注目することが重要である（表8を参照されたい）。したがって、多成分LNPへのSORT分子の添加は、LNPの臓器ターゲティング特性に直接関連するその全体的なpKaを変化させる。

【０２９７】

実施例4：PEG-脂質の脱着は、マウスにおいてインビボの有効なmRNA送達に寄与する

LNPは、コロイド安定性を促進するために、表面にPEG-脂質を組み込む。PEG-脂質分子は、LNP中に非共有結合で組み込まれるため、その対応する脂質アンカーの長さに反比例する速度で脱着する。さらに、LNP表面上のPEG-脂質は、血清タンパク質または血漿タンパク質の吸着を損なうことが公知である。PEG-脂質の脱離（shedding）は、血清タンパク質または血漿タンパク質による認識のために、下にあるSORT分子を露出させ、血液中の例示的なSORT LNPのその結合を促進すると予想される。

【０２９８】

mRNA送達に対するPEG-脂質の脱着の重要さを特徴付けるために、例示的なSORT LNPのインビボ効力に対する、より短いアルキル尾部を有するmPEGグリセリド（例えば、14-炭素のアルキル尾部を有するDMG-PEG2000（C14-PEG2K））を、より長いアルキル尾部を有するmPEGグリセリド（例えば、18-炭素長のアルキル尾部を有するDSG-PEG2000（C18-PEG2K））と置換する効果を測定した。より短いアルキル尾部を有するmPEGは、より長いアルキル尾部を有するmPEGと比較して、LNPから脱離しにくいと予想される。ルシフェラーゼmRNAの送達に対するPEG-脂質アンカー長の増大の効果を、C57BL/6マウスに0.1 mg/kg mRNAの投与量でIV注射すること、および注射後6時間の時点で臓器発光をエクスビボで画像化することによって測定した。画像化結果を、図2Aに示す。肝臓、肺、および脾臓の平均蛍光を、各臓器の周囲に関心対象の領域を描くことによって、Living Image Software（Perkin Elmer）を用いて測定した。各臓器についての相対蛍光は、

$$F_{相対.臓器} = \frac{F_{平均.臓器}}{\sum F_{平均.臓器}} \times 100$$

として計算した。図2Bに示すように、脱離しにくいPEG-脂質を用いた場合に、各臓器によって生じた総発光は低減し、これは、PEG-脂質の脱着が、例示的なSORT LNPによる効果的なmRNA送達のための鍵となるプロセスであることを示唆した。図2Cは、処置したマウスの標的臓器における、ルシフェラーゼmRNAの定量（総発光によって決定）を示す。

【０２９９】

mRNA送達に対するPEG-脂質の脱着の重要さをさらに特徴付けるために、ヒトエリスロポエチン（hEPO）mRNAを、より短い（例えば、C14-PEG2K）またはより長い（例えば、C18-PEG2K）アルキル鎖PEG-脂質のいずれかを組み込んだ例示的な肝臓SORT LNP、脾臓SORT LNP、または肺SORT LNPを用いて、インビボで標的組織に送達させた。hEPOは分泌タンパク質であるため、送達有効性を、処置したマウスの血清または血漿中のhEPOレベルを測定することによって定量した。血清または血漿のhEPO濃度は、図2Dに示すように、C18-PEG2K SORT LNPで処置したマウスにおいて、C14-PEG2K SORT LNPで処置したマウスと比較して低かった。したがって、より長い疎水性アンカーを有するPEG-脂質を組み込んだSORT LNPは、標的臓器に対するmRNA送達について有効性がより低く、PEG-脂質の脱着が、LNPによる標的組織に対する有効なmRNA送達に必要なプロセスであることをさらに示唆した。

【０３００】

従来の4成分LNPは、LNP表面からのPEG-脂質の脱着が、アポリポタンパク質E（ApoE）がLNPに結合することを可能にし；これがその後、低密度リポタンパク質受容体（LDL-R）によるLNPの受容体媒介性結合および取り込みを可能にするという内因性機構

を介して、肝臓肝細胞中への機能的RNA送達を可能にすることが公知である。本発明者らは、例示的なSORT LNPが、（1）PEG-脂質が、LNPから脱着して、下にあるSORT分子を露出させる、（2）別個の血清タンパク質が、露出したSORT分子を認識し、LNP表面に吸着する、および（3）これらの表面に吸着されたタンパク質が、同族受容体と相互作用し、これが、標的組織において細胞によるLNPの取り込みを媒介する、という類似した機構によって作動し得ると仮説を立てた（図2A）。最初に、インビボでmRNA送達有効性に対するPEG-脂質成分の役割を確立した。LNPは、コロイド安定性を促進するために、表面にPEG-脂質を組み込む。PEG-脂質分子は、LNP中に非共有結合で組み込まれるため、PEG-脂質の疎水性アンカーの長さに反比例する速度で自然に脱着する。LNP表面上のPEG-脂質は、血清タンパク質の吸着を損ない、細胞ターゲティングおよび送達有効性の低減を結果としてもたらす可能性がある。PEG-脂質の脱離は、血清タンパク質による認識のために、下にあるSORT分子を露出させ、血液中の例示的なSORT LNPのその結合を促進すると予想される。

【０３０１】

mRNA送達に対するPEG-脂質の脱着の重要さを機能的に特徴付けるために、例示的なSORT LNPのインビボ効力に対する、14-炭素長のアルキル尾部を有するmPEGグリセリドであるDMG-PEG2000（C14-PEG2K）を、18-炭素長のアルキル尾部を有するmPEGグリセリドであるDSG-PEG2000（C18-PEG2K）と置換する効果を測定した。C18-PEG2Kは、そのより長い疎水性アンカーのために、C14-PEG2Kと比較して、LNPから脱離しにくいと予想される。最初に、ルシフェラーゼmRNAの送達に対するPEG-脂質アンカー長の増大の効果を、C57BL/6マウスに0.1 mg/kg mRNAの投与量でIV注射すること、および注射後6時間の時点で臓器発光をエクスビボで画像化することによって測定した（図2B）。C18-PEG2Kに切り換えると、すべての例示的なSORT LNPについて、C14-PEG2Kと比較した場合に、標的臓器において機能的タンパク質に翻訳されたルシフェラーゼmRNAによって生じる総発光は、有意に低減した（図2C）。これらの知見を確認するために、ヒトエリスロポエチン（hEPO）mRNAを、C14-PEG2KまたはC18-PEG2Kのいずれかを組み込んだ例示的な肝臓SORT LNP、脾臓SORT LNP、または肺SORT LNPを用いて、インビボで標的組織に送達させた。hEPOは、分泌タンパク質であるため、送達有効性は、血清中のhEPOレベルを測定することによって、容易に定量することができる。本発明者らは、血清hEPO濃度が、例示的なC18-PEG2K SORT LNPで処置したマウスにおいて、例示的なC14-PEG2K SORT LNPで処置したマウスと比較して低かったことを検証した（図2D）。したがって、より長い疎水性アンカーを有するPEG-脂質を組み込んだ例示的なSORT LNPは、標的臓器に対するmRNA送達について有効性がより低いことが定量的に確認された。これらの研究は、PEG-脂質の脱着が、例示的なSORT LNPによる標的組織に対する効果的なmRNA送達に必要なプロセスであることを示唆する。

【０３０２】

実施例5：SORT分子の選択は、血清中のLNP-タンパク質相互作用に影響する

従来の4成分LNP製剤（mDLNP）、および本明細書に記載される3つの異なる例示的なSORT LNP製剤（イオン化可能カチオン性脂質（例えば、DODAP）を含む肝臓SORT；カチオン性脂質（例えば、DOTAP）を含む肺SORT；アニオン性脂質（例えば、18PA）を含む脾臓SORT）に結合する血漿タンパク質を、マウス血漿とのエクスビボインキュベーション後に、分画遠心分離を用いて単離した。SORT製剤の詳細を、表8に記載する。簡潔に述べると、マウス血漿を、各LNPの溶液（実施例1におけるように調製し、1×PBSで1 g/L濃度の脂質に希釈）に1:1の体積比で添加し、37℃で15分間インキュベートした。0.7 Mスクロース溶液を、固体スクロースをMilliQ水に溶解することによって調製した。LNP/血漿混合物を、混合物と等体積の0.7 Mスクロースクッション上にロードし、15,300 gおよび4℃で1時間、遠心分離した。上清を除去し、ペレットを1×PBSで洗浄した。次に、ペレットを、15,300 gおよび4℃で5分間、遠心分離し、上清を除去した。合計で3回の洗浄のために、洗浄をさらに2回行った。最後の洗浄後に、ペレ

ットを、2 wt% SDSに再懸濁した。過剰な脂質を、ReadyPrep 2-D Cleanup（Bio Rad）と共に提供されるプロトコールに従うことによって、各試料から除去した。クリーンアップ段階から結果として生じたペレットを、2×Laemmli緩衝液に再懸濁した。各試料におけるタンパク質の濃度を、イオン性界面活性剤適合性試薬と混合したPierce 660 nm タンパク質アッセイ試薬を用いたブラッドフォードアッセイによって定量した。4成分mDLNP参照を、基礎となる肝臓ターゲティングLNP組成物として取り扱い、SDS-PAGEゲルを泳動して、SORT分子の選択がいかに、どのタンパク質が5成分SORT LNPに吸着するかに影響を及ぼしたかを、定性的に研究した。図2Eに示すように、肝臓SORTに吸着した血漿タンパク質のセットは、mDLNP（参照）のものと定性的に類似していたが、肝外臓器を標的とするSORT LNPに結合した血漿タンパク質は、顕著に異なっていた。特に、図2Eに示すように、脾臓SORT LNPについて、鍵となるバンドは54 kDaに高度に濃縮され、他方、肺SORT LNPについては、65 kDa近くのバンドが高度に濃縮された。

【０３０３】

（表８）LNP製剤の組成および生理化学的特徴付け

脂質ナノ粒子の組成および特性

名称	脂質組成物	モルパーセンテージ（モル比）	サイズ (nm)	PDI	ζ-電位 (mV)
mDLNP（参照）	5A2-SC8:DOPE:コレステロール:DMG-PEG2K	23.8:23.8:47.6:4.8 (15:15:30:3)	144.0	0.135	-3.59
例示的な肝臓SORT	5A2-SC8:DOPE:コレステロール:DMG-PEG2K:DODAP	19:19:38:4:20 (15:15:30:3:15.75)	154.6	0.115	-3.82
例示的な脾臓SORT	5A2-SC8:DOPE:コレステロール:DMG-PEG2K:18PA	16.7:16.7:33.3:3.3:30 (15:15:30:3:27)	167.8	0.144	-1.84
例示的な肺SORT	5A2-SC8:DOPE:コレステロール:DMG-PEG2K:DOTAP	11.9:11.9:23.8:2.4:50 (15:15:30:3:63)	114.8	0.159	-0.89

【０３０４】

バイアスのない質量分析を、どのタンパク質が血漿においてSORT LNPに結合したかの特定および定量に用いた。血漿タンパク質を、アポリポタンパク質、凝固タンパク質、補体タンパク質、免疫タンパク質、およびその他のタンパク質の生理的クラスに分類した。従来の4成分LNPおよびSORT LNPに対応するプロテオミクスシグネチャを、図2Fに示す。各クラスにおけるタンパク質の割合は、SORT分子の選択に応じて変動した。

【０３０５】

mDLNP（参照）および各SORT LNPに結合した主要タンパク質の等電点（pI）は、データベース（Expasy）から決定した。図2Gの上2つのパネルに示すように、イオン化可能カチオン性脂質（例えば、DODAP）のmDLNPにおける包含は、LNPに結合した主要タンパク質のpI分布を大きく変化させなかった。対照的に、アニオン性頭部基を有する脂質（例えば、18PA）のmDLNPにおける包含は、（図2Gの3番目のパネルに示すように）生理的pHよりも高いpIを有する血漿タンパク質の吸着を促進し、他方、カチオン性頭部基を有する脂質（例えば、DOTAP）の包含は、（図2Gの下のパネルに示すように）生理的pHよりも下のpIを有するタンパク質の濃縮に好都合であった。

【０３０６】

LNPを、そのそれぞれのコロナにおける5つの最も豊富なタンパク質に基づいて、さらに特徴付けた。図2Hは、各コロナにおいて最も高度に濃縮されたタンパク質が、SORT分子の同一性に依存すると見出されたことを示す。図2Hの左上および右上のパネルは、

ApoEが、mDLNP（参照）および肺SORT LNPについて最も高度に濃縮された血清または血漿タンパク質であると見出され、平均でmDLNPのタンパク質コロナの13.9%、および肺SORTについては13.3%を構成することを示す。対照的に、脾臓SORT LNPは、図2Hの左下に示すように、β2-糖タンパク質I（β2-GPI）において最も高度に濃縮され、20.1%の平均存在量であり、他方、肺SORT LNPは、図2Hの右下に示すように、ビトロネクチン（Vtn）において最も高度に濃縮され、12.2%の平均存在量であった。したがって、図2Hは、異なるSORT分子が、特有のタンパク質コロナシグネチャを結果としてもたらし得ることを示す。各LNP製剤についてタンパク質コロナの80%を構成するタンパク質の平均存在量、等電点、および生理的機能を、表9～12に列記する。

【0307】

（表9）参照mDLNPのタンパク質コロナの80%を構成するタンパク質の平均存在量、等電点、および生理的機能

タンパク質	CD1[1]	C57BL/6[2]	pI	機能的クラス
アポリポタンパク質E	13.95%	33.82%	5.56	アポリポタンパク質
補体C1qサブコンポーネントサブユニットA	7.79%	2.79%	9.25	補体タンパク質
免疫グロブリンκ定常	7.74%	4.51%	5.6	免疫タンパク質
免疫グロブリン重定常γ2B（断片）	4.86%	1.36%	6.1	免疫タンパク質
補体C1qサブコンポーネントサブユニットB	4.78%	4.71%	8.3	補体タンパク質
ビトロネクチン	4.33%	0.99%	5.67	その他
Igγ-2A鎖C領域、膜結合型	3.96%	0.04%	5.88	免疫タンパク質

タンパク質	CD1[1]	C57BL/6[2]	pI	機能的クラス
補体C1qサブコンポーネントサブユニットC	3.93%	2.52%	8.84	補体タンパク質
Igμ鎖C領域（断片）	3.77%	n.d.[3]	6.6	免疫タンパク質
血清アルブミン	2.27%	5.98%	5.75	その他
免疫グロブリンκ可変6-13	1.50%	0.09%	6.24	免疫タンパク質
ベータ-2-糖タンパク質1	1.26%	0.25%	8.59	その他
免疫グロブリン重定常α（断片）	1.22%	0.45%	5.12	免疫タンパク質
免疫グロブリンκ可変1-110（断片）	1.15%	n.d.	9.06	免疫タンパク質
血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ1	1.09%	0.09%	5.07	その他
免疫グロブリン重定常γ2C（断片）	1.04%	0.57%	6.49	免疫タンパク質
Ig重鎖V領域AC38 205.12	0.94%	n.d.	6.85	免疫タンパク質
β-グロビン	0.83%	0.09%	7.13	その他
α-S1-カゼイン	0.81%	5.16%	6.08	その他
タンパク質Igkv12-41（断片）	0.73%	n.d.	n/a	免疫タンパク質
クラステリン	0.68%	0.11%	5.45	その他
フィブリノゲンβ鎖	0.66%	1.31%	6.68	凝固タンパク質
Igγ-1鎖C領域分泌型（断片）	0.57%	0.11%	7.2	免疫タンパク質
アポリポタンパク質A-I	0.57%	0.49%	5.51	アポリポタンパク質
Igκ鎖V-V領域HP 124E1	0.56%	n.d.	8.64	免疫タンパク質
Igκ鎖V-III領域PC 2880/PC 1229	0.55%	n.d.	5.18	免疫タンパク質
免疫グロブリンκ可変17-121（断片）	0.55%	2.11%	4.17	免疫タンパク質
免疫グロブリンκ鎖可変8-30（断片）	0.54%	0.18%	6.09	免疫タンパク質
免疫グロブリンκ可変1-135（断片）	0.51%	0.23%	6.54	免疫タンパク質
αグロビン1	0.50%	0.46%	7.97	その他
アポリポタンパク質D	0.49%	1.84%	4.82	アポリポタンパク質
フィブリノゲンγ鎖	0.49%	1.44%	5.38	凝固タンパク質
免疫グロブリンκ可変4-57（断片）	0.47%	0.08%	9.06	免疫タンパク質
Ig重鎖V領域914	0.47%	0.005%	9.27	免疫タンパク質
免疫グロブリン重定常γ3（断片）	0.46%	0.45%	6.77	免疫タンパク質
フィブリノゲンα鎖	0.45%	0.86%	5.78	凝固タンパク質
免疫グロブリン重可変5-9（断片）	0.39%	0.02%	9.1	免疫タンパク質
アポリポタンパク質C-III	0.38%	0.02%	5.43	アポリポタンパク質
プロトロンビン	0.37%	0.05%	6.04	凝固タンパク質
カルボキシペプチダーゼN触媒鎖	0.35%	0.63%	8.42	その他
免疫グロブリンκ可変12-46（断片）	0.35%	0.02%	5.59	免疫タンパク質

タンパク質	CD1[1]	C57BL/6[2]	pI	機能的クラス
免疫グロブリンκ可変12-44（断片）	0.34%	0.11%	7.71	免疫タンパク質
α-1-アンチトリプシン1-3	0.34%	0.41%	5.25	その他
セリンプロテアーゼインヒビターA3K	0.33%	0.25%	5.05	その他
免疫グロブリン重可変1-34（断片）	0.33%	n.d.	8.85	免疫タンパク質
Igγ-2B鎖C領域	0.32%	0.01%	6.10	免疫タンパク質
Ig重鎖V領域X44	0.32%	0.005%	8.00	免疫タンパク質

[1]試料をThermo Fusion Lumos質量分析計を用いて実行。
[2]試料をThermo QExactive HF質量分析計を用いて実行。
[3]n.d.、不検出。

【０３０８】

（表１０）例示的な肝臓SORTのタンパク質コロナの８０％を構成するタンパク質の平均存在量、等電点、および生理的機能

タンパク質	CD1[1]	C57BL/6[2]	pI	機能的クラス
アポリポタンパク質E	13.34%	23.81%	5.56	アポリポタンパク質
補体C1qサブコンポーネントサブユニットA	8.20%	2.89%	9.25	補体タンパク質
免疫グロブリン重定常μ	6.74%	8.31%	6.56	免疫タンパク質
補体C1qサブコンポーネントサブユニットB	6.01%	4.65%	8.3	補体タンパク質
血清アルブミン	5.68%	7.06%	5.75	その他
免疫グロブリンκ定常	4.92%	3.48%	5.6	免疫タンパク質
免疫グロブリン重定常γ2B（断片）	2.93%	1.81%	6.1	免疫タンパク質
β-グロビン	2.67%	0.19%	7.13	その他
Igγ-2A鎖C領域、膜結合型	2.39%	0.04%	5.88	免疫タンパク質
補体C1qサブコンポーネントサブユニットC	2.28%	2.67%	8.84	補体タンパク質
免疫グロブリン重定常α（断片）	2.01%	0.67%	5.12	免疫タンパク質
フィブリノゲンβ鎖	1.81%	3.30%	6.68	凝固タンパク質
フィブリノゲンγ鎖	1.55%	3.02%	5.38	凝固タンパク質
免疫グロブリンκ可変17-127（断片）	1.53%	n.d.[3]	4.17	免疫タンパク質
αグロビン1	1.26%	0.38%	7.97	その他
フィブリノゲンα鎖	1.15%	1.69%	5.78	凝固タンパク質
アポリポタンパク質A-I	0.98%	0.41%	5.51	アポリポタンパク質
ビトロネクチン	0.92%	1.38%	5.67	その他
Ig重鎖V領域AC38 205.12	0.90%	n.d.	6.85	免疫タンパク質
α-2-HS-糖タンパク質	0.90%	0.08%	6.04	その他
Igα鎖C領域	0.79%	n.d.	4.97	免疫タンパク質
セリンプロテアーゼインヒビターA3K	0.78%	n.d.	5.05	その他
Igγ-1鎖C領域分泌型（断片）	0.64%	0.24%	7.2	免疫タンパク質
ヒストンH4	0.62%	0.03%	11.36	その他
免疫グロブリン重定常γ2C（断片）	0.57%	1.81%	6.49	免疫タンパク質
Igκ鎖V-V領域HP 124E1	0.51%	n.d.	8.64	免疫タンパク質
免疫グロブリンκ可変1-110（断片）	0.49%	n.d.	9.06	免疫タンパク質
インターα-トリプシンインヒビター、重鎖4	0.47%	0.001%	5.99	その他

タンパク質	CD1[1]	C57BL/6[2]	pI	機能的クラス
免疫グロブリン重定常γ3（断片）	0.46%	0.46%	6.77	免疫タンパク質
セロトランスフェリン	0.46%	0.37%	6.94	その他
Igκ鎖V-III領域50S10.1	0.45%	0.02%	4.9	免疫タンパク質
アポリポタンパク質A-IV	0.44%	0.09%	5.34	アポリポタンパク質
Ig重鎖V領域6.96	0.42%	0.08%	8	免疫タンパク質
ラクトアドヘリン	0.41%	0.40%	6.1	その他
Igκ鎖V-II領域26-10	0.40%	0.91%	9.04	免疫タンパク質
血小板第4因子	0.39%	0.002%	9.42	その他
α-1-アンチトリプシン1-3	0.38%	n.d.	5.25	その他
Ig重鎖V-III領域J606	0.38%	n.d.	6.86	免疫タンパク質
バンド3アニオン輸送タンパク質	0.36%	0.05%	5.31	その他
アポリポタンパク質D	0.35%	2.30%	4.82	アポリポタンパク質
ヘモグロビンサブユニットβ-2	0.34%	n.d.	7.85	その他
H-2クラスI組織適合抗原、Q10α鎖	0.34%	0.18%	5.13	免疫タンパク質
免疫グロブリンκ可変6-13	0.33%	0.07%	6.24	免疫タンパク質
α-S1-カゼイン	0.32%	2.52%	6.08	その他
免疫グロブリン重可変7-1（断片）	0.31%	0.55%	8.49	免疫タンパク質
免疫グロブリン重可変V1-5	0.31%	n.d.	9.18	免疫タンパク質
ヒストンH2B	0.31%	n.d.	10.37	その他

[1]試料をThermo Fusion Lumos質量分析計を用いて実行。
[2]試料をThermo QExactive HF質量分析計を用いて実行。
[3]n.d.、不検出。

【０３０９】

（表１１）例示的な脾臓SORTのタンパク質コロナの80%を構成するタンパク質の平均存在量、等電点、および生理的機能

タンパク質	CD1[1]	C57BL/6[2]	pI	機能的クラス
ベータ-2-糖タンパク質1	20.10%	42.02%	8.59	その他
免疫グロブリンκ定常	7.38%	2.96%	5.6	免疫タンパク質
補体C1qサブコンポーネントサブユニットA	6.86%	1.92%	9.25	補体タンパク質
アポリポタンパク質E	6.20%	5.52%	5.56	アポリポタンパク質
免疫グロブリン重定常γ2B（断片）	3.65%	0.54%	6.1	免疫タンパク質
補体C1qサブコンポーネントサブユニットB	3.61%	3.85%	8.3	補体タンパク質
ビトロネクチン	3.52%	1.26%	5.67	その他
補体C1qサブコンポーネントサブユニットC	2.74%	2.28%	8.84	補体タンパク質
アポリポタンパク質C-I	2.58%	0.59%	9.05	アポリポタンパク質
Igγ-2A鎖C領域、膜結合型	2.57%	0.02%	5.88	免疫タンパク質
Igμ鎖C領域（断片）	2.36%	n.d.[3]	6.6	免疫タンパク質
血清アルブミン	1.80%	4.69%	5.75	その他
血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ1	1.22%	0.15%	5.07	その他
免疫グロブリン重定常α（断片）	1.17%	0.11%	5.12	免疫タンパク質
免疫グロブリンκ可変6-13	1.09%	0.06%	6.24	免疫タンパク質
免疫グロブリン重定常γ2C（断片）	0.87%	0.39%	6.49	免疫タンパク質
フィブリノゲンβ鎖	0.81%	1.62%	6.68	凝固タンパク質
α-S1-カゼイン	0.80%	2.02%	6.08	その他
Ig重鎖V領域AC38 205.12	0.80%	n.d.	6.85	免疫タンパク質
クラステリン	0.73%	0.15%	5.45	その他
免疫グロブリンκ可変1-110（断片）	0.66%	n.d.	9.06	免疫タンパク質
タンパク質Igkv12-41（断片）	0.63%	n.d.	n/a	免疫タンパク質
β-グロビン	0.61%	0.06%	7.13	その他
フィブリノゲンα鎖	0.57%	1.09%	5.76	凝固タンパク質
アポリポタンパク質A-I	0.54%	0.58%	5.51	アポリポタンパク質
フィブリノゲンγ鎖	0.52%	1.69%	5.38	凝固タンパク質
リポ多糖結合タンパク質	0.52%	0.61%	8.64	その他
ヒスチジンリッチ糖タンパク質	0.51%	0.13%	7.26	その他
Igκ鎖V-V領域HP 124E1	0.48%	n.d.	8.64	免疫タンパク質
Igκ鎖V-III領域PC 2880/PC 1229	0.46%	n.d.	5.18	免疫タンパク質
Igγ-1鎖C領域分泌型（断片）	0.44%	0.03%	7.2	免疫タンパク質
免疫グロブリンκ鎖可変8-30（断片）	0.42%	0.14%	6.09	免疫タンパク質
アポリポタンパク質C-III	0.39%	0.001%	5.43	アポリポタンパク質
αグロビン1	0.38%	0.71%	7.97	その他
免疫グロブリン重可変5-9（断片）	0.37%	0.47%	9.1	免疫タンパク質
補体C3	0.36%	0.24%	6.29	補体タンパク質
凝固第V因子	0.36%	0.17%	5.68	凝固タンパク質
α-1-アンチトリプシン1-3	0.35%	0.30%	5.25	その他
カルボキシペプチダーゼN触媒鎖	0.35%	0.29%	8.42	その他
免疫グロブリン重定常γ3（断片）	0.34%	0.32%	6.77	免疫タンパク質

[1]試料をThermo Fusion Lumos質量分析計を用いて実行。
[2]試料をThermo QExactive HF質量分析計を用いて実行。
[3]n.d.、不検出。

【０３１０】

（表１２）例示的な肺SORTのタンパク質コロナの８０％を構成するタンパク質の平均存在量、等電点、および生理的機能

タンパク質	CD1[1]	C57BL/6[2]	pI	機能的クラス
ビトロネクチン	12.23%	22.08%	5.67	その他
血清パラオキソナーゼ/アリールエステラーゼ1	6.43%	9.26%	5.07	その他
アポリポタンパク質E	6.07%	1.43%	5.56	アポリポタンパク質
血清アルブミン	5.38%	6.47%	5.75	その他
クラステリン	4.01%	4.66%	5.45	その他
免疫グロブリンκ定常	3.37%	0.84%	5.6	免疫タンパク質
プロトロンビン	2.26%	7.12%	6.04	凝固タンパク質
補体C1qサブコンポーネントサブユニットA	2.12%	0.38%	9.25	補体タンパク質
フィブリノゲンβ鎖	2.11%	6.96%	6.68	凝固タンパク質
ベータ-2-糖タンパク質1	1.96%	0.07%	8.59	アポリポタンパク質
Igμ鎖C領域（断片）	1.70%	n.d.[3]	6.6	免疫タンパク質
α-S1-カゼイン	1.68%	1.96%	6.08	その他
免疫グロブリン重定常γ2B（断片）	1.55%	0.47%	6.1	免疫タンパク質
フィブリノゲンγ鎖	1.50%	6.00%	5.38	凝固タンパク質
フィブリノゲンα鎖	1.41%	1.64%	5.78	凝固タンパク質
ビタミンK依存性プロテインZ	1.33%	0.73%	5.6	凝固タンパク質
α-1-アンチトリプシン1-3	1.33%	0.02%	5.25	その他
プラスミノーゲン	1.31%	1.26%	6.21	凝固タンパク質
アポリポタンパク質C-III	1.30%	0.15%	5.43	アポリポタンパク質
補体C1qサブコンポーネントサブユニットB	1.27%	0.78%	8.3	補体タンパク質
トロンボスポンジン-1	1.26%	0.26%	4.72	凝固タンパク質
凝固第X因子	1.18%	0.16%	5.48	凝固タンパク質
アポリポタンパク質A-I	1.17%	0.10%	5.51	アポリポタンパク質
免疫グロブリン重定常α（断片）	1.17%	0.20%	5.12	免疫タンパク質
Igγ-2A鎖C領域、膜結合型	1.11%	0.02%	5.88	免疫タンパク質
β-グロビン	1.04%	0.07%	7.13	その他
補体C1qサブコンポーネントサブユニットC	0.99%	0.42%	8.84	補体タンパク質
プロテインZ依存性プロテアーゼインヒビター	0.96%	0.75%	5.49	凝固タンパク質
マンノース結合タンパク質C	0.85%	0.15%	4.94	補体タンパク質
セリンプロテアーゼインヒビターA3K	0.77%	0.001%	5.05	その他
ビタミンK依存性プロテインC	0.76%	0.62%	5.94	凝固タンパク質
免疫グロブリンκ可変6-13	0.73%	0.03%	6.24	免疫タンパク質
カルボキシペプチダーゼN触媒鎖	0.68%	0.34%	8.42	その他
アポリポタンパク質N	0.67%	0.67%	5.56	アポリポタンパク質
H-2クラスI組織適合抗原、Q10α鎖	0.62%	0.64%	5.13	免疫タンパク質
補体C1s-Aサブコンポーネント	0.62%	n.d.	4.96	補体タンパク質
αグロビン1	0.60%	0.29%	7.97	その他
C-反応性タンパク質	0.60%	0.01%	5.82	その他
β-カゼイン	0.59%	0.24%	5.82	その他
グリコシルホスファチジルイノシトール特異的ホスホリパーゼD1	0.58%	0.21%	6.32	その他
補体C3	0.55%	0.34%	6.29	補体タンパク質
補体D因子	0.50%	0.74%	6.18	補体タンパク質
凝固第VII因子	0.48%	0.53%	6.19	凝固タンパク質
インターα-トリプシンインヒビター重鎖H3	0.44%	0.16%	5.70	その他
α-S2-カゼイン様A	0.43%	0.01%	6.20	その他
ムリノグロブリン-1	0.40%	n.d.	6.00	その他

[1]試料をThermo Fusion Lumos質量分析計を用いて実行。
[2]試料をThermo QExactive HF質量分析計を用いて実行。
[3]n.d.、不検出。

【０３１１】

例示的なSORT LNPについて仮説を立てた内因性ターゲティング機構の第2の段階は、特有のタンパク質コロナを形成するためのLNP表面に対する別個のタンパク質の吸着を伴う（図2A）。PEG-脂質の脱着後に、血清タンパク質は、静脈内投与されたLNPの表面に容易に吸着し、その生物学的同一性を規定する「タンパク質コロナ」として知られる界面層を形成する。ApoEの吸着は、肝細胞上に高発現しているLDL-Rの結合を通して

、従来の4成分LNPの肝臓ターゲティングを駆動することが示されている。例示的な肺SORT LNPおよび脾臓SORT LNPの著しく異なる臓器ターゲティング能を考慮して、本発明者らは、LNPに結合する血清タンパク質のセットが異なるであろうと仮説を立てた。mDLNP、肝臓SORT、脾臓SORT、および肺SORTに結合する血漿タンパク質を、マウス血漿とのエクスビボインキュベーション後に、分画遠心分離を用いて単離した。基礎となる肝臓ターゲティングLNP組成物として4成分mDLNPを取り扱い、SDS-PAGEを用いて、どのタンパク質が例示的な5成分SORT LNPに吸着するかということに、SORT分子の選択がいかに影響を及ぼしたかを、定性的に研究した（図2E）。肝臓SORTに吸着する血漿タンパク質のセットは、参照mDLNP（mRNA最適化デンドリマー脂質ナノ粒子（製剤））のものと定性的に類似しているように見えるが、肝外臓器を標的とする例示的なSORT LNPに結合する血漿タンパク質は、顕著に異なっている（図2E）。特に、脾臓SORTについて、鍵となるバンドは54 kDaのMwに高度に濃縮され、他方、例示的な肺SORTについては、65 kDa近くのバンドが高度に濃縮される（図2E）。したがって、SORT分子をmDLNPに添加すると、SORT分子の化学構造に従って、タンパク質コロナの組成が変化する。

【０３１２】

バイアスのない質量分析プロテオミクスにより、どのタンパク質が血漿において例示的なSORT LNPに結合するかの特定および定量が可能になった。本発明者らは、900個を上回る異なるタンパク質が、例示的なSORT LNPに吸着したが、これらのタンパク質のほぼ98％は、0.1％未満の存在量で存在することを見出した。本発明者らは、最も豊富なタンパク質が、機能的に重要である可能性が最も高いものであると予想し、したがって、各LNPについてタンパク質コロナの大部分（80％の存在量）を構成するタンパク質に、その後の解析の焦点を合わせた（表9～12）。最初に、これらの高度に豊富なタンパク質の生物学的機能を評価した。血漿タンパク質を、アポリポタンパク質、凝固タンパク質、補体タンパク質、免疫タンパク質、およびその他のタンパク質の生理的クラスにクラスター化することによって、各クラスにおけるタンパク質の割合が、SORT分子の選択に基づいて変化することを発見し、これは、SORT分子の包含が、LNPに結合するタンパク質の集合に大規模な相違を結果としてもたらすことを示唆した（図2F）。これらのタンパク質の別個の機能は、LNPの内因性同一性およびその後のインビボの運命を形作る際に役割を果たし得る。

【０３１３】

タンパク質コロナの機能的組成物において、何がこれらの大規模な相違を駆動するかをより良く理解するために、SORT分子の化学構造がいかに、どのタンパク質がLNPに結合するかに影響を及ぼし得るかを研究した。各SORT分子は、分子がLNPに自己アセンブルすることを可能にする共通の疎水性足場を共有するが、頭部基の化学構造および電荷状態によって区別される。これらの分子的特色は、恐らく、特定のタンパク質を例示的なSORT LNPの近傍にもたらしてさらなるタンパク質-LNPの相互作用をさらに容易にする静電気力を通して、別個の特徴を有するタンパク質の差次的濃縮において役割を果たし得る。タンパク質の等電点（pI）は、タンパク質分子が正味の電荷を持たないpHとして定義され、生理的環境におけるタンパク質の電荷状態の推定値を提供する。mDLNPおよび各々の例示的なSORT LNPに結合した主要タンパク質のpIを、バイオインフォマティクスリソースExPASyを用いて決定した。イオン化可能カチオン性脂質であるDODAPのmDLNPへの包含は、LNPに結合した主要タンパク質のpI分布を大きく変化させなかった（図2G）。対照的に、アニオン性頭部基を有する脂質である18PAのmDLNPへの包含は、生理的pHよりも高いpIを有する血漿タンパク質の吸着を促進し（図2G）、他方、カチオン性第四級アンモニウム頭部基を有する脂質であるDOTAPのmDLNPにおける包含は、生理的pHよりも下のpIを有するタンパク質の濃縮に好都合であった（図2G）。すべての例示的なSORT LNPは、広範囲のpIにわたってタンパク質に結合したが、選択されたSORT分子の頭部基の性質は、どのタンパク質がLNPに吸着するかに影響を及ぼす。

【０３１４】

各LNPのタンパク質コロナにおける5つの最も豊富なタンパク質を、さらに解析した。各タンパク質コロナにおいて最も高度に濃縮されたタンパク質は、SORT分子の選択に基づいて特有であったことが発見された（図2H）。ApoEが、肝臓を標的とする従来の4成分LNPであるmDLNPについて、最も高度に濃縮された血漿タンパク質であり、平均でmDLNPのタンパク質コロナの13.9％を構成していた（図2H）。この結果は、肝臓に対するRNA送達におけるApoEの確立された役割と一致し、実験的アプローチの妥当性を支持する。追加的に、肝臓SORTは、ApoEに最も強く結合し、13.3％の平均存在量であり、天然のマウス血漿と比較して55倍の濃縮に相当した（図2H）。対照的に、脾臓SORTは、β2-糖タンパク質I（β2-GPI）において最も高度に濃縮され、20.1％の平均存在量（天然のマウス血漿よりも125倍多い）であり（図2H）、他方、肺SORTは、ビトロネクチン（Vtn）において最も高度に濃縮され、12.2％の平均存在量（天然のマウス血漿よりも108倍高い）であった（図2H）。したがって、肝外mRNA用の例示的なSORT LNPは、mDLNPと比較して、ApoEとは別個のタンパク質と最も強く結合する。さらに、個々の分子種およびその生理的機能の点で、例示的なSORT LNPに結合した上位5つの血漿タンパク質には、追加の差異があった（図2H）。本発明者らの知見をさらに検証するために、追加のマウス系統の血漿において例示的なSORT LNPの周囲に形成されたタンパク質コロナを検討し、例示的なSORT LNPのタンパク質コロナにおいて高度に濃縮された同じ鍵となるタンパク質を特定した（表9～12）。究極的に、例示的なSORT LNPは、組み込まれたSORT分子の性質に基づいて、低い存在量の血清タンパク質に結合して、定量的に別個の組成を有する特有のタンパク質コロナを形成し、これが、組織特異的mRNA送達に影響を及ぼし得る。

【０３１５】

実施例6：鍵となる血清タンパク質が、SORT LNPの細胞ターゲティングを規定する

図3Aに示すように、SORT LNPを、本明細書の上記の実施例5に記載されるようにSORT LNPと会合する最も高度に濃縮された血清または血漿タンパク質である、ApoE、β2-GPI、またはVtnのいずれかとインキュベートし、インビトロでのLNPの取り込みおよびmRNA送達効率に対するこれらのタンパク質の効果を調べた。Cy5-mRNAをカプセル化したSORT LNPを、ApoEとインキュベートし、ApoEの受容体であるLDL-Rを高発現する2つの細胞株であるHuH-7細胞およびHep G2細胞において、細胞取り込みを測定した。

【０３１６】

簡潔に述べると、細胞（例えば、HuH-7、Hep G2、A-498、U-87 MG細胞）を、12ウェルプレート中に1ウェルあたり1×105細胞の密度で播種し、37℃で一晩インキュベートし、他方、未分化のTHP-1細胞を、12ウェルプレート中に1ウェルあたり2×105細胞の密度で播種し、（マクロファージへの分化を可能にするために）100 nMのホルボール12-ミリスタート13-アセタートで一晩処理した。すべての細胞は、供給者によって推奨されるように、完全培地において培養した。次いで、古い培地を新しくし、細胞を、250 ngのSORT LNPにカプセル化されたCyanine 5 FLuc mRNAで処理した。LNPは、非コーティングか、1.0 gタンパク質/g全脂質のApoE、1.0 gタンパク質/g全脂質のβ2-GPIとプレインキュベートしたか、または0.25 gタンパク質/g全脂質のVtnとプレインキュベートしたかのいずれかであった。処理の90分後に、細胞を、1×PBSで2回洗浄し、Hoechst 33342（0.1 mg mL^{-1}）で10分間、37℃で染色した。細胞を、PBSでさらに2回洗浄し、次いで、蛍光顕微鏡（Keyence BZ-X800）によって画像化した。画像は、10倍の倍率を用いて捉えた。すべての画像設定は、単一の実験について一貫して保った。Cy5蛍光強度は、ImageJソフトウェアバージョン1.53c（NIH）を用いて定量した。各処理群は、二連で行い、各ウェルについて5枚の画像を撮影した。

【０３１７】

Cy5-mRNAの細胞内蓄積は、肝臓SORT LNPをApoEとインキュベートした場合、HuH-7細胞およびHep G2細胞において、図3B～3Cの各々の上段に示すように、それぞれ、2.4倍および6.5倍増大した。アニオン性リン脂質を含有するβ2-GPI結合粒子と相互

作用することが公知の細胞株であるTHP-1マクロファージは、β2-GPI増強Cy5-mRNA SORT LNPとインキュベートし、図3B～3Cの各々の代表的な中段および図3Dの2番目のパネルに示すように、2.1倍増大したアップデートを示した。Vtnの受容体であるαvβ3インテグリンを高発現するA-498細胞およびU-87 MG細胞を検討した。Vtnとのインキュベーションは、肺SORT LNPの細胞取り込みを、非コーティングLNPよりも23.2倍（図3B～3Cの各々の代表的な下段および図3Dの下のパネルに示すように）および4.2倍（図8に示すように）多くに増大させた。

【０３１８】

さらに、インビトロで非コーティングSORT LNPおよびコーティングSORT LNPによって送達されたmRNAから翻訳されたルシフェラーゼ酵素の活性を測定した。図3Dの上のパネルに示すように、ルシフェラーゼ活性は、HuH-7細胞およびHep G2細胞において、ApoEコーティング肝臓SORT LNPによって増強されたのに対して、これらの細胞におけるルシフェラーゼ活性は、ApoEとプレインキュベートした脾臓SORT LNPまたは肺SORT LNPによっては改善されず、これは、脾臓SORT LNPおよび肺SORT LNPが、ApoEに効率的に結合せず、LDL-R発現細胞に入らないことを示唆した。したがって、ApoEは、LDL-R発現細胞において、肝臓SORT LNPによる機能的mRNA送達を排他的に増強した。同様に、脾臓SORT LNPをβ2-GPIとインキュベートすることは、図4Cの中央のパネルに示すように、THP-1マクロファージに対する機能的mRNA送達を排他的に増強し、他方、肺SORT LNPをVtnとインキュベートすることは、図3Dの下のパネルに示すように、A-498細胞およびU-87 MG細胞に対する機能的mRNA送達を排他的に増強した。集合的に、これらの研究により、特定のSORT分子と個々の血漿タンパク質との間の特有の相互作用は、細胞取り込みを増強することによって、別個の細胞型に対するSORT LNPターゲティングを選択的に促進することが明らかになった。

【０３１９】

表面に吸着されたタンパク質が特定の組織を内因性に標的とすることができる1つの機構は、LNPの受容体媒介性エンドサイトーシスを結果としてもたらす、同族細胞受容体との相互作用を通してである（図2A）。例示的なSORT LNPに最も強く結合する血清タンパク質を特定して、これらの単一タンパク質がいかに、例示的なSORT LNPによるmRNAの細胞内送達に影響を及ぼすかを、機能的に特徴付けた。すべての例示的なSORT LNPを、本発明者らのプロテオミクス研究においてSORT LNPと会合することが発見された、最も高度に濃縮された血清タンパク質である、ApoE、β2-GPI、またはVtnのいずれかとインキュベートし、インビトロでのLNPの取り込みおよびmRNA送達有効性に対するこれらの単一タンパク質の効果を測定した（図3A）。最初に、Cy5-mRNAをカプセル化した例示的なSORT LNPを、ApoEとインキュベートし、ApoEの受容体であるLDL-Rを高発現する2つの細胞株であるHuH-7細胞およびHep G2細胞において、細胞取り込みを測定した。Cy5-mRNAの細胞内蓄積は、例示的な肝臓SORT LNPをApoEとインキュベートした場合、HuH-7細胞およびHep G2細胞において、それぞれ、2.4倍（図3B～3C）および6.5倍（図7）増大した。次に、アニオン性リン脂質を含有するβ2-GPI結合粒子と相互作用することが公知の細胞株であるTHP-1マクロファージを検討し、β2-GPIとのインキュベーションが、例示的な脾臓SORT LNPのCy5-mRNA取り込みを2.1倍増強したことが見出された（図3B～3C）。最後に、Vtnの受容体であるαvβ3インテグリンを高発現するA-498細胞およびU-87 MG細胞を検討した。Vtnとのインキュベーションは、例示的な肺SORT LNPの細胞取り込みを、非コーティングLNPよりも23.2倍（図3B～3C）および4.2倍（図8）多くに増大させた。したがって、SORT分子の選択は、どの血漿タンパク質がLNP表面に吸着するかに影響を及ぼし、これらのタンパク質は、標的細胞が発現する同族受容体と相互作用して、細胞取り込みを増強し、細胞内mRNA送達を促進する可能性が高い。

【０３２０】

鍵となるタンパク質が、別個の受容体による細胞取り込みを増強できることを決定して、本発明者らは、これらのタンパク質が機能的mRNA送達を改善することを、インビト

口で非コーティングSORT LNPおよびコーティングSORT LNPによって送達されたmRNAから翻訳されたルシフェラーゼ酵素の活性を測定することにより、検証した。追加的に、単一タンパク質のコーティングが、それらのタンパク質に最も強く結合する個々の製剤の送達を特異的に増強するかどうかを判定することを目的とした。細胞を、増大する量のApoE、β2-GPI、またはVtnとインキュベートした、ルシフェラーゼmRNAをカプセル化した肝臓SORT LNP、脾臓SORT LNP、および肺SORT LNPで処理した（図3D）。ルシフェラーゼ活性は、HuH-7細胞およびHep G2細胞において、ApoEコーティング肝臓SORT LNPによって増強されたのに対して、これらの細胞におけるルシフェラーゼ活性は、ApoEとプレインキュベートした脾臓SORT LNPまたは肺SORT LNPによっては改善されず（図3D、図7）、これは、例示的な脾臓SORT LNPおよび肺SORT LNPが、ApoEに効率的に結合せず、LDL-R発現細胞に入らないことを示唆した。したがって、ApoEは、LDL-R発現細胞において、例示的な肝臓SORT LNPによる機能的mRNA送達を排他的に増強した。同様に、例示的な脾臓SORT LNPをβ2-GPIとインキュベートすることは、THP-1マクロファージに対する機能的mRNA送達を排他的に増強し（図3D）、他方、肺SORT LNPをVtnとインキュベートすることは、A-498細胞およびU-87 MG細胞に対する機能的mRNA送達を排他的に増強した（図3D、図8）。興味深いことに、例示的な肺SORT LNPを1.0 gビトロネクチン/g全脂質の比でインキュベートすることは、ルシフェラーゼ活性の低下を結果としてもたらし、これは、過剰な（培地における遊離の）ビトロネクチンが、αvβ3インテグリンを阻害して、mRNA送達を限定し得ることを示唆した。集合的に、これらの研究により、特定の例示的なSORT分子と個々の血清タンパク質との間の特有の相互作用は、細胞取り込みを増強することによって、別個の細胞型に対する例示的なSORT LNPターゲティングを選択的に促進することが明らかになった。

【０３２１】

実施例7：SORT LNPによる肝外mRNA送達は、ApoE非依存性機構によって起こる

従来の4成分LNPへのSORT分子（例えば、DOTAP、PA18）の添加を、それがいかに、組織特異的mRNA送達に対するApoEの機能的役割に影響を及ぼすかを判定するために、ノックアウトマウスを用いて研究した。SORT LNPを、実施例1に従って調製した。18～20 gの体重を有するB6.129P2-Apoe^{tm1Unc}/Jマウスに、mDLNP（参照）、ならびに肝臓SORT LNP、肺SORT LNP、および脾臓SORT LNPを、0.1 mg/kg FLuc mRNAの投与量でIV注射した（n＝3）。比較として、18～20gの体重を有するC57BL/6マウスに、mDLNP、ならびに肝臓SORT LNP、肺SORT LNP、および脾臓SORT LNPを、0.1 mg/kg FLuc mRNAの投与量でIV注射した（n＝3）。6時間後に、マウスに、D-ルシフェリン（150 mg/kg、腹腔内（IP））を注射し、IVIS Luminaシステム（Perkin Elmer）によって画像化した。標的臓器の総発光を、Living Image Software（Perkin Elmer）を用いて定量した。ApoE発現を欠く遺伝子ノックアウトモデルであるB6.129P2-Apoetm1Unc/J（ApoE-/-）マウスにおける、標的臓器に対するSORT LNPによるルシフェラーゼmRNAの送達を、血清中または血漿中に正常レベルのApoEを含有する野生型（WT）C57BL/6マウスにおけるものと比較した。標的臓器に対する機能的なルシフェラーゼmRNA送達を測定するために、発光を定量した。代表的な画像を、図4A～4Bに示す。ApoEを血清または血漿から除去することによって、mDLNPは、図4A～4Bの上段に示すように、WT C57BL/6マウスと比較して、有意に低減した肝臓に対するmRNA送達を示し、78％のルシフェラーゼ活性の平均低減であった。血清または血漿からのApoEにまた選択的に結合する肝臓SORT LNPは、肝臓に対するmRNA送達についてApoEへのこの依存性を維持しており：ApoEのノックアウトは、肝臓ターゲティングを有意に損ね、図4A～4Bの2番目の段は、WT C57BL/6マウスと比較して87％のルシフェラーゼ活性の平均低減を示す。したがって、ApoEは、mDLNPおよび肝臓SORT LNPの両方による、肝臓の効果的なターゲティングに不可欠である。対照的に、脾臓に対する脾臓SORTによるmRNA送達は、ApoE-/-マウスにおいて2.2倍増強され（図4A～4Bの3番目の段）、これは、ApoEが、脾臓に対する効果的なmRNA送達にお

いて拮抗的な役割を果たすことを示唆した。肺SORT LNPによる組織特異的mRNA送達は、図4A～4Bの下の段に示し、測定したように、ApoE-/-マウスにおいて、WTマウスと比較して有意に異ならず、これは、この血清または血漿タンパク質が、肺ターゲティングを調節するために機能的に重要ではないことを示した。合わせると、これらの結果は、mRNA送達が、mDLNP（参照）へのアニオン性脂質またはカチオン性脂質のいずれかの包含時には、もはやApoE依存性プロセスではないことを示す。むしろ、脾臓SORTおよび肺SORT LNPは、ApoE非依存性機構を介して肝外mRNA送達を可能にすることができる。ApoEとLDL-Rとの間の相互作用は、コレステロール（colestoral）代謝中に内因性リポタンパク質の肝蓄積を駆動し、ApoE吸着がなぜ、肝臓SORTのホールマークであるかを説明し得る。類似して、Vtnは、肺内皮によって高発現しているが、肝臓細胞または他の血管床によっては高発現していない、その同族受容体である$\alpha_V\beta_3$インテグリンに結合することができ、Vtnがなぜ、肺特異性を促進するかについてもっともらしい説明を提供する。最後に、β2-GPIは、老化赤血球によって露出されるアニオン性脂質であるホスファチジルセリンに結合して、脾臓における循環からのその濾過を促進することができ、これは、β2-GPIがいかに、脾臓SORT LNPターゲティングに関係できるかを示唆する。これらの知見は、SORT LNPの臓器ターゲティング特性に対する個々のタンパク質の機能的役割を支持する。肝臓SORTについてのアルブミンなどの、臓器ターゲティングを増強する際の他の高度に濃縮されたタンパク質が、同様に臓器ターゲティングにおいて役割を果たし得る。例えば、肺SORTにおいて高度に濃縮されたクラステリンは、肺ターゲティングを促進するために、単核食細胞系を回避する際に役割を果たすことができる。追加的に、肝臓ターゲティングを駆動する際のApoEの鍵となる役割に基づいて、脾臓SORT LNPおよび肺SORT LNPに対するApoEの結合の低減は、肝外mRNA送達を促進することができ、これは恐らく、脾臓SORT LNPおよび肺SORT LNPのタンパク質コロナに存在するが、肝臓SORTには存在しない、アポリポタンパク質CによるApoEの置換のためである。

【０３２２】

従来の4成分LNPの表面に対するApoEの吸着は、肝臓肝細胞に対する高度に効果的なRNA送達に必要な重大なプロセスである。肝臓に対するmRNA送達のための4成分LNPであるmDLNPは、血清中のApoEに強く結合する。しかし、mDLNPへのSORT分子の添加は、どの血清タンパク質がLNP表面に吸着するかを変化させる。LNPに結合するタンパク質のセットは、それによって表面に吸着されたタンパク質が標的臓器における細胞により発現される同族受容体と相互作用する内因性機構を介して、例示的なSORT LNPの臓器ターゲティング特性を規定する際に役割を果たし得る。例示的な肺SORT LNPおよび脾臓SORT LNPは、従来のLNPにとって一般的ではない分子（それぞれ、DOTAP（1,2-ジオレオイル-3-トリメチルアンモニウム-プロパン）および18PA（1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-ホスファート））を含むため、本発明者らは、臓器ターゲティングにおける相違は、タンパク質コロナ組成における相違によって駆動され得ると推論した。遺伝子改変マウスを、血清から鍵となるタンパク質を枯渇させて、LNP表面に対するその吸着を阻止し、かつ恐らく、期待される臓器ターゲティングを損なうために、用いることができる。インビボで内因性ターゲティング機構の妥当性を評価するために、本発明者らは、従来の4成分LNPへのSORT分子の添加がいかに、組織特異的mRNA送達に対するApoEの機能的役割に影響を及ぼすかを、ノックアウトマウスを用いて調べた。

【０３２３】

本発明者らは、ApoE発現を欠く遺伝子ノックアウトモデルであるB6.129P2-Apoetm1Unc/J（ApoE-/-）マウスにおける、標的臓器に対する例示的なSORT LNPによるルシフェラーゼmRNAの送達を、血清中に正常レベルのApoEを含有する野生型（WT）C57BL/6マウスと比較した。各々の例示的なSORT LNPの標的臓器に対する機能的なルシフェラーゼmRNA送達を測定するために、発光を定量した（図4A～4C）。ApoEを血清から除去することによって、mDLNPは、WT C57BL/6マウスと比較して、有意に低減した肝臓に対するmRNA送達を示し、78％のルシフェラーゼ活性の平均低減であっ

た（図4A～4C）。血清からのApoEにまた選択的に結合する例示的な肝臓SORT LNPは、肝臓に対するmRNA送達についてApoEへのこの依存性を維持しており：ApoEのノックアウトは、肝臓ターゲティングを有意に損ね、WT C57BL/6マウスと比較して、87%のルシフェラーゼ活性の平均低減であった（図4A～4C）。したがって、ApoEは、mDLNP参照および例示的な肝臓SORT LNPの両方による、肝臓の効果的なターゲティングに不可欠である。全く対照的に、脾臓に対する例示的な脾臓SORTによるmRNA送達は、ApoE-/-マウスにおいて2.2倍増強され、これは、ApoEが、脾臓に対する効果的なmRNA送達において拮抗的な役割を果たすことを示唆した（図4A～4C）。例示的な肺SORT LNPによる組織特異的mRNA送達は、ApoE-/-マウスにおいて、WTマウスと比較して有意に異ならず、これは、この血清タンパク質が、肺ターゲティングを調節するために機能的に重要ではないことを示した（図4A～4C）。合わせると、これらの結果は、mRNA送達が、mDLNPへのアニオン性脂質またはカチオン性脂質のいずれかの包含時には、もはやApoE依存性プロセスではないことを示す。むしろ、例示的な脾臓SORTおよび肺SORT LNPは、ApoE非依存性機構を介して肝外mRNA送達を可能にすることができる。他の血清タンパク質、例えばプロテオミクス研究において特定されたものが、インビボで脾臓および肺に対する内因性ターゲティングを担い得ることがもっともらしい。

【０３２４】

考察

遺伝子医薬の臨床応用は、標的組織に対する核酸生体分子の細胞内送達のための効果的な担体の利用可能性によって限定される。静脈内投与されたLNPは、これまで、肝臓肝細胞を標的とすることに限定されているため、肝外ターゲティングが可能な薬物送達系を開発する大きな必要性がある。本明細書で、本発明者らは、肝外mRNA送達のための例示的なSORT LNPの組織ターゲティング特性の根底にある、機構的要因を特定した。本発明者らは、SORT分子の化学構造が、LNPの生体内分布、見かけのpKa、および血清タンパク質相互作用に、特有の影響を及ぼすことを見出した。さらに、本発明者らは、例示的なSORT LNPの臓器ターゲティングプロファイルを恐らく説明するための、PEG-脂質の脱着、血清タンパク質の吸着、および受容体結合、それに続く細胞取り込みを含む、もっともらしい内因性ターゲティング機構について証拠を提供する（図2A）。例示的なSORT LNPの優先的な取り込みおよび活性は、例示的なSORT LNPの表面に濃縮された血清タンパク質と有利に相互作用する、関連する細胞受容体を高発現する臓器において、起こる可能性が高い。追加の機構を除外することはできないが、本発明者らは、例示的なSORT LNPの臓器ターゲティング特性を規定する、複数の鍵となる要因を特定した。

【０３２５】

提案される機構は、血液を通した生理的コレステロール輸送のためのナノ粒子の天然のクラスと考えることができる、リポタンパク質のものと類似性を有し得る。血清におけるApoEの獲得は、LDL-Rによる受容体媒介性エンドサイトーシスを通した、肝臓肝細胞によるリポタンパク質の取り込みを結果としてもたらす。ApoEのこの生理的機能は、肝臓に対するsiRNA送達のためのDLin-MC3-DMA LNPによって強化され；血清中のApoEに結合することによって、これらのナノ粒子は、肝臓肝細胞によって高発現されるLDL-Rを内因性に標的とすることができる。本明細書において本発明者らが証拠を提供する、仮説を立てた機構は、この内因性ターゲティングの概念を基礎とし、その範囲を拡張する。重要なことに、例示的なSORT LNPは、LNPの分子組成を調整して、典型的にはタンパク質コロナにおいて観察されない、LNPに対する別個のタンパク質種の結合を促進し、かつ肝臓肝細胞以外の細胞および臓器に対するmRNA送達を可能にすることができる、「型にはまらない」補助分子のクラスを含む。例示的なSORT LNPは、以前にはLNPに含まれていなかった分子の追加のクラスを含むため、SORTプラットフォームは、有効性の喪失なくタンパク質コロナを調節するために利用可能な、分子のツールボックスを拡大する。静的なエクスビボインキュベーションは、タンパク質コロナがインビボで形成される動的な流動環境を完全には要約しないが、研究により、静的インキュベーション対動的インキュベーション中に、SORT LNPと会合する本発明者らが発見した鍵となるタン

パク質の相対存在量に、有意な相違は確認されていない。

【０３２６】

タンパク質コロナの組成は、ナノ粒子の表面化学によって影響されることが公知である。SORT LNPは、別個の化学構造を有するSORT分子を組み込んでいるため、SORT LNPは、PEG層の下に異なる表面化学を有する可能性が高い。LNPからのPEG-脂質の脱着は、この表面の覆いを取り、特定の血漿タンパク質の吸着を可能にする。最近、ApoEの結合が、DLin-MC3-DMA LNPにおける脂質の再配列を誘導し、ある特定の脂質のコアからシェルへの移動を促進することが示された。これらの観察は、タンパク質の吸着が、SORT LNPの表面組成を変化させ、LNP表面に対する別個のタンパク質の吸着をさらに促進する特有のナノドメインを、恐らく生成することを示唆する。例示的なSORT LNPの別個の表面化学は、どの特定のタンパク質がLNPに結合するかを説明することができる。β2-GPIは、18PAを含むアニオン性リン脂質と相互作用することが公知であり、Vtnは、DOTAPと会合している。さらに、LNPの肝臓ターゲティングを促進するApoEは、肝臓SORT LNPにおいて高度に濃縮される。これらの結果は、プロテオミクスの知見をさらに支持する。

【０３２７】

これらの個々のタンパク質の分子相互作用を理解することは、その濃縮がなぜ、観察されるSORT LNPの臓器ターゲティング特性を結果としてもたらし得るかを明らかにすることができる。ApoEとLDL-Rとの間の相互作用は、コレステロール代謝中に内因性リポタンパク質の肝蓄積を駆動し、恐らく、ApoE吸着がなぜ、肝臓SORTを含む多くの肝臓ターゲティングLNPのホールマークであるかを説明する。類似した様式で、Vtnは、肺内皮によって高発現しているが、肝臓細胞または他の血管床によっては高発現していない、その同族受容体であるαvβ3インテグリンと結合することができ、Vtnがなぜ、肺特異性を促進するかについてもっともらしい説明を提供する。最後に、β2-GPIは、老化赤血球によって露出されるアニオン性脂質であるホスファチジルセリンに結合して、脾臓における循環からのその濾過を促進することができ、これは、β2-GPIがいかに、脾臓SORT LNPターゲティングに関係できるかを示唆する。これらの知見は、SORT LNPの臓器ターゲティング特性に対する個々のタンパク質の機能的役割を支持する。肝臓SORTについてのアルブミンなどの、臓器ターゲティングを増強する際の他の高度に濃縮されたタンパク質の役割が、軽視されるべきではないことを、本発明者らは認める。肺SORTにおいて高度に濃縮されたクラステリンは、潜在的に、肺ターゲティングを促進するために、単核食細胞系を回避する際に役割を果たすことができる。追加的に、肝臓ターゲティングを駆動する際のApoEの鍵となる役割に基づいて、脾臓SORT LNPおよび肺SORT LNPに対するApoEの結合の低減は、肝外mRNA送達を促進することができ、これは恐らく、脾臓SORT LNPおよび肺SORT LNPのタンパク質コロナに存在するが、肝臓SORTには存在しない、アポリポタンパク質CによるApoEの置換のためである（表１０～１２）。

【０３２８】

本発明者らの提案される機構は、LNPの分子組成を調整することが、ナノ粒子に結合し、そのその後の生物学的運命を支配する内因性リガンドを操作するための、単純かつ有効な方法として働くことを示唆する。本発明者らの研究は、血清タンパク質を介した内因性ターゲティングが、肝臓肝細胞に対する核酸送達に現在利用されているもの以外の他のLNP系に一般化することができるターゲティング機構として作用することを明白にする。臓器ターゲティングのための鍵となるパラメータが特定されて、脾臓SORT LNPおよび肺SORT LNPは、より効果的な組織特異的送達のためにさらに最適化され得る。先に進んで、インビボの肝外ターゲティングに関する高度に濃縮された血清タンパク質の機能を、さらに解明するべきである。追加的に、本原稿内で詳述されるものとは別個の血清タンパク質に結合するSORT分子を特定することは、肝臓、脾臓、および肺以外の他の臓器を標的とする新しいLNPの発見のための価値ある戦略として働き得る。本発明者らは、内因性ターゲティング、すなわち、別個の血清タンパク質との相互作用、およびそれによる組織特異的送達を容易にするようにナノ粒子組成物を操作することを、肝臓蓄積を克服

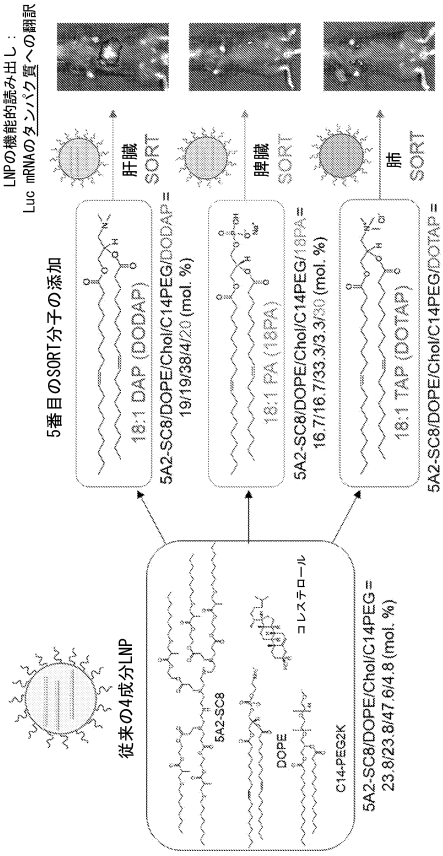
し、肝外臓器を標的とする、様々な材料組成のナノ粒子を設計するための有効かつ広範なパラダイムとして見る。

【０３２９】

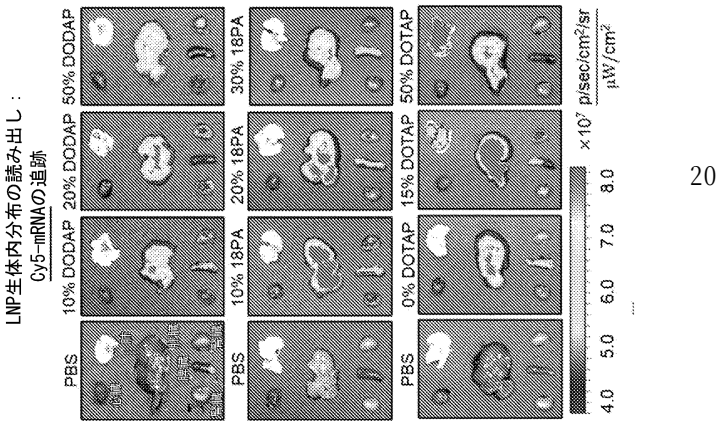
本開示を、前述の明細書を参照して説明してきたが、本明細書における態様の説明および例証は、限定的な意味で解釈されるようには意図されない。多数の変形、変化、および置換が、本発明から逸脱することなく、当業者にすぐに生じるであろう。さらに、本開示のすべての局面は、様々な条件および変数に依存する、本明細書に示される特定の描写、配置、または相対的な割合には限定されないことが、理解されるであろう。本明細書に記載される本開示の態様に対する様々な代替が、本発明を実施する際に使用され得ることが、理解されるべきである。したがって、本開示は、任意のそのような代替、改変、変形、または等価物もまた対象にすることが企図される。添付の特許請求の範囲は、本開示の範囲を定義すること、ならびに、これらの特許請求の範囲内の方法および構造ならびにその等価物が、それによって対象とされることが、意図される。

【図面】

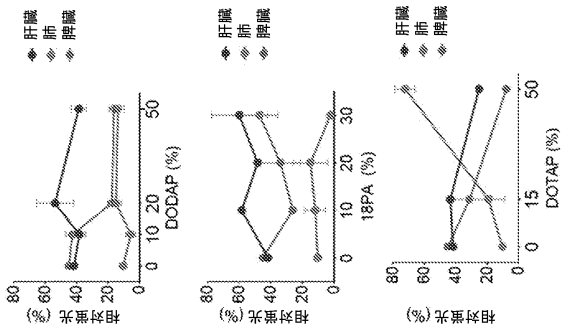
【図１Ａ】



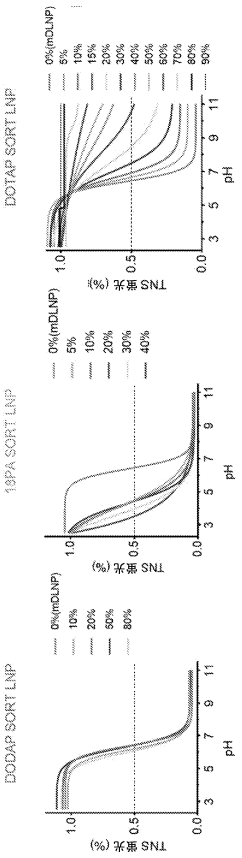
【図１Ｂ】



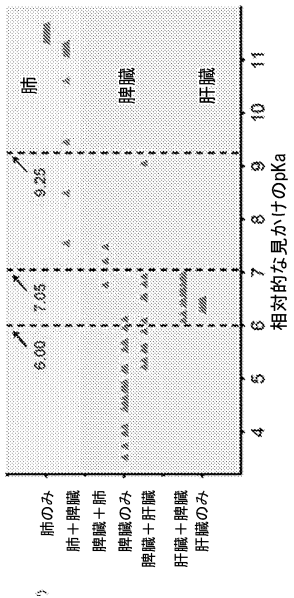
【図１Ｃ】



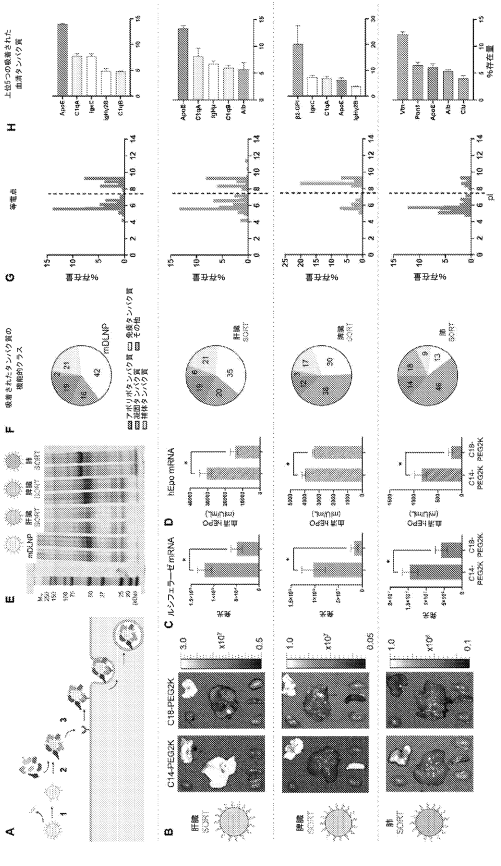
【図１Ｄ】



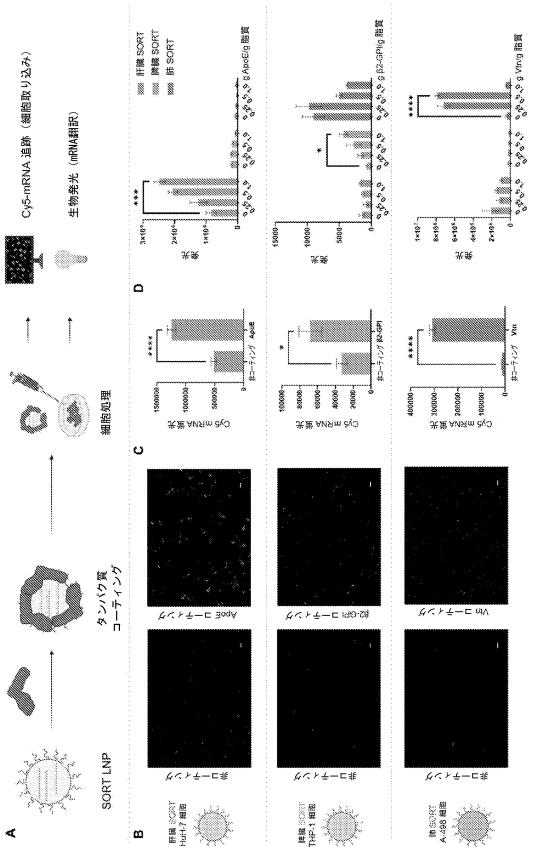
【図１Ｅ】



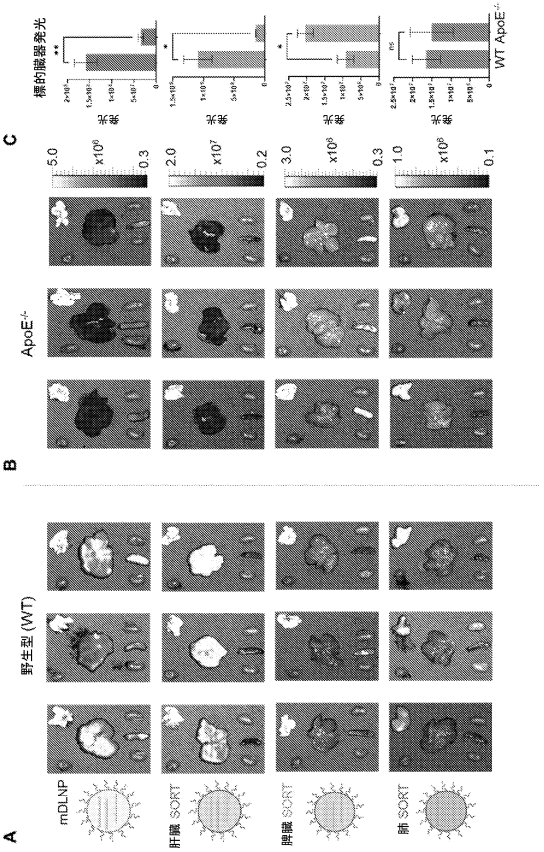
【図２】



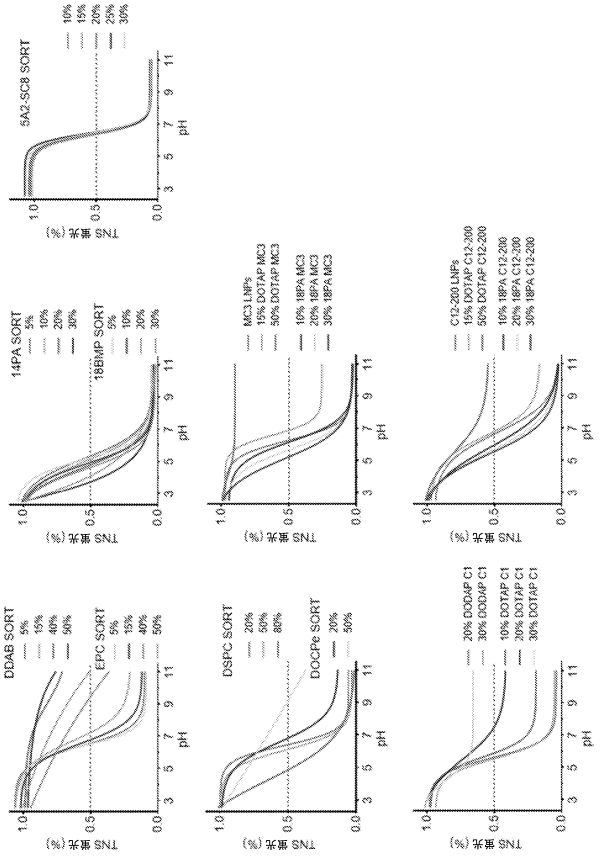
【図３】



【図４】



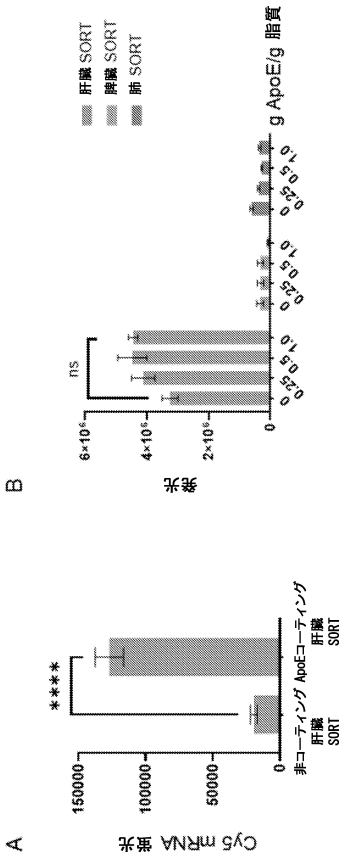
【図５】



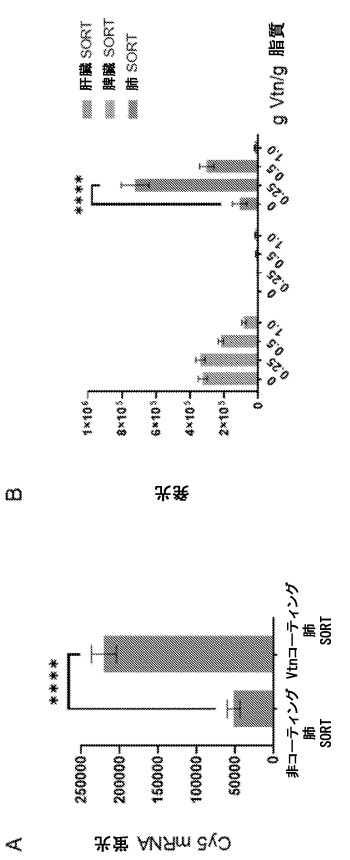
【図６】

mDLNP ベース 0.0 LNP							MC3およびC12-200ベース 0.0 LNP				C1 ベース 0.0 LNP	
名称	pKa	名称	pKa	名称	pKa		名称	pKa	名称	pKa		
mDLNP	6.40	15% DDAB	7.21	10% 14PA	5.15	50% C12-200	6.69	MC3 LNP	6.25	20% DODAP C1	5.61	
5% DOTAP	6.67	40% DDAB	>11.0	20% 14PA	4.76	10% 5A2-SC8	6.34	15% DOT MC3	6.66	30% DODAP C1	5.53	
10% DOTAP	6.62	50% DDAB	>11.0	30% 14PA	3.73	15% 5A2-SC8	6.40	50% DOT MC3	>11	10% DOTAP C1	5.89	
15% DOTAP	7.48	5% EPC	6.51	5% 18BMP	5.22	20% 5A2-SC8	6.44	10% 18PA MC3	6.12	20% DOTAP C1	7.55	
20% DOTAP	8.49	15% EPC	6.76	10% 18BMP	4.03	25% 5A2-SC8	6.49	20% 18PA MC3	5.66	30% DOTAP C1	>11	
30% DOTAP	10.6	40% EPC	9.45	20% 18BMP	4.63	30% 5A2-SC8	6.48	30% 18PA MC3	5.21			
40% DOTAP	>11.0	50% EPC	>11.0	30% 18BMP	4.09	20% DSPC	6.40	C12-200 LNP	6.64	基礎となる4成分LNP		
50% DOTAP	>11.0	5% 18PA	4.53	10% DODAP	6.22	50% DSPC	6.09	15% DOT C12-200	6.77	カチオン性脂質＋LNP		
60% DOTAP	>11.0	10% 18PA	4.44	20% DODAP	6.46	80% DSPC	4.84	50% DOT C12-200	>11			
70% DOTAP	>11.0	20% 18PA	4.43	50% DODAP	6.44	20% DOCPe	6.78	10% 18PA C12-200	5.95	アニオン性脂質＋LNP		
80% DOTAP	>11.0	30% 18PA	3.97	80% DODAP	6.09	50% DOCPe	9.05	20% 18PA C12-200	5.69	イオン化可能脂質＋LNP		
90% DOTAP	>11.0	40% 18PA	3.52	10% C12-200	6.58			30% 18PA C12-200	5.55	高性イオン性脂質＋LNP		
5% DDAB	6.55	5% 14PA	5.34	20% C12-200	6.96							

【図７】


A
Cy5 mRNA 発光
150000
100000
50000
0
****
非コーティング
肝臓 SORT
ApoEコーティング
肝臓 SORT
B
発光
6×10⁶
4×10⁶
2×10⁶
0
ns
肝臓 SORT
脾臓 SORT
肺 SORT
g ApoE/g 脂質

【図８】


A
Cy5 mRNA 発光
250000
200000
150000
100000
50000
0
****
非コーティング
肺 SORT
Vtnコーティング
肺 SORT
B
発光
1×10⁶
8×10⁵
6×10⁵
4×10⁵
2×10⁵
0
****
肝臓 SORT
脾臓 SORT
肺 SORT
g Vtn/g 脂質

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/82411

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - INV. A61K 47/54, A61K 47/69, A61K 48/00 (2023.01)
ADD. A61K 9/51 (2023.01)

CPC - INV. A61K 47/54, A61K 47/6929, A61K 47/6907, A61K 48/0041, A61K 48/0033
ADD. A61K 9/5123

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	US 2021/0259980 A1 (The Board of Regents of the University of Texas System) 26 August 2021 (26.08.2021); para [0080]-[0081], [0083], [0085], [0087], [0089], [0309], [0345]; Figs. 16A & 16B	1-9
A	Li et al. "Ionizable lipid-assisted efficient hepatic delivery of gene editing elements for oncotherapy" Bioactive Materials. 25 June 2021 (25.06.2021) vol 9, pg. 590-601; entire document	1-9
A	US 2019/0388562 A1 (Arcturus Therapeutics, Inc.) 26 December 2019 (26.12.2019); entire document	1-9
A	US 2021/0121411 A1 (The Board of Regents of the University of Texas System) 29 April 2021 (29.04.2021); entire document	1-9

☐ 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
10 May 2023 (10.05.2023)	JUN 27 2023
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 Karl Rodriquez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/82411

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.: 10-109, 111-115, 119-123, 127-132, 136-142, 146-151, 155-175
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.:
1-9

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 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/82411

--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 1-9, directed to a composition comprising a therapeutic agent assembled with a lipid composition, which lipid composition comprises: an ionizable cationic lipid; a polymer-conjugated lipid comprising one or more hydrocarbon chains that each comprise about 8 to about 20 carbon atoms; and a selective organ targeting (SORT) lipid separate from said ionizable cationic lipid and said polymer-conjugated lipid.

Group II: Claims 110, 116-118, 124-126, 133-135, 143-145 and 152-154, directed to a method for targeted delivery of a therapeutic agent to an organ or a cell therein in a subject in need thereof.

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 II includes the technical feature of a method for targeted delivery of a therapeutic agent to an organ or a cell therein in a subject in need thereof, 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 composition comprising a therapeutic agent assembled with a lipid composition, which lipid composition comprises: an ionizable cationic lipid; a polymer-conjugated lipid comprising one or more hydrocarbon chains that each comprise about 8 to about 20 carbon atoms; and a selective organ targeting (SORT) lipid separate from said ionizable cationic lipid and said polymer-conjugated lipid.

These shared technical features, however, do not provide a contribution over the prior art, as being anticipated by US 2021/0259980 A1 to The Board of Regents of the University of Texas System (hereinafter Texas). Texas discloses a composition (para [0080]; Figs. 16A & 16B: 2nd row) comprising a therapeutic agent (para [0080]) assembled with a lipid composition (para [0080]), which lipid composition comprises: an ionizable cationic lipid (para [0081]; Figs. 16A & 16B: 2nd row - C12-200); a polymer-conjugated lipid comprising one or more hydrocarbon chains that each comprise about 8 to about 20 carbon atoms (para [0085]: a PEG lipid; Figs. 16A & 16B: 2nd row - DMG-PEG); and a selective organ targeting (SORT) lipid separate from said ionizable cationic lipid and said polymer-conjugated lipid (para [0083]; Figs. 16A & 16B: 2nd row - DOTAP) (as evidenced by instant specification, para [00196]: DOTAP).

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 and II thus lack unity under PCT Rule 13.

Item 4 continued: Claims 10-109, 111-115, 119-123, 127-132, 136-142, 146-151, 155-175 have been found to be unsearchable because they are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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	*37/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/00	
Ａ６１Ｋ	*47/18*	*(2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/18	
Ａ６１Ｋ	*47/24*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/24	
Ａ６１Ｋ	*48/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	48/00	
Ａ６１Ｋ	*45/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00	
Ａ６１Ｋ	*9/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	9/12	

,MC,ME,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,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,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,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁理士　山口 裕孝
(74)代理人　100119507
弁理士　刑部 俊
(74)代理人　100142929
弁理士　井上 隆一
(74)代理人　100148699
弁理士　佐藤 利光
(74)代理人　100188433
弁理士　梅村 幸輔
(74)代理人　100128048
弁理士　新見 浩一
(74)代理人　100129506
弁理士　小林 智彦
(74)代理人　100114340
弁理士　大関 雅人
(74)代理人　100214396
弁理士　塩田 真紀
(74)代理人　100121072
弁理士　川本 和弥
(74)代理人　100221741
弁理士　酒井 直子
(74)代理人　100114926
弁理士　枝松 義恵
(72)発明者　ジークワート ダニエル ジェイ.
アメリカ合衆国 ７５３９０ テキサス州 ダラス ハリー ハインズ ブールバード ５３２３ ユーティー サウスウエスタン メディカル センター内
(72)発明者　チェン チャン
アメリカ合衆国 ７５３９０ テキサス州 ダラス ハリー ハインズ ブールバード ５３２３ ユーティー サウスウエスタン メディカル センター内
(72)発明者　ディリアード ショーン
アメリカ合衆国 ７５３９０ テキサス州 ダラス ハリー ハインズ ブールバード ５３２３ ユーティー サウスウエスタン メディカル センター内

Ｆターム（参考）　4C076　AA19 AA24 AA95 BB13 CC07 CC15 CC16 DD49 EE23 FF68
4C084　AA13 AA17 MA13 MA24 MA66 NA13 ZA591 ZA592 ZA751 ZA752 ZB051 ZB052