

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-535730

(P2023-535730A)

(43)公表日 令和5年8月21日(2023.8.21)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	39/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/00	H	4 C 0 7 6
A 6 1 K	31/7105(2006.01)	A 6 1 K	31/7105		4 C 0 8 4
A 6 1 P	31/14 (2006.01)	A 6 1 P	31/14		4 C 0 8 5
A 6 1 P	31/16 (2006.01)	A 6 1 P	31/16		4 C 0 8 6
A 6 1 P	31/12 (2006.01)	A 6 1 P	31/12		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全280頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2023-504555(P2023-504555)	(71)出願人	503115205		
(86)(22)出願日	令和3年7月26日(2021.7.26)		ザ ボード オブ トラストィーズ オブ		
(85)翻訳文提出日	令和5年3月22日(2023.3.22)		ザ レランド スタンフォード ジュニア		
(86)国際出願番号	PCT/US2021/043213		ユニバーシティー		
(87)国際公開番号	WO2022/020810		アメリカ合衆国 9 4 3 0 5 - 2 0 3 8		
(87)国際公開日	令和4年1月27日(2022.1.27)		カリフォルニア州 スタンフォード メイ		
(31)優先権主張番号	63/056,465		ン クワッド ビルディング 1 7 0 サード		
(32)優先日	令和2年7月24日(2020.7.24)		フロア ビー. オー. ボックス 2 0		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		3 8 6 オフィス オブ ザ ジェネラル		
			カウンスル		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA, RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く	(74)代理人	110001173		
			弁理士法人川口国際特許事務所		
		(72)発明者	レビー, ロナルド		
			アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 4		
			3 0 5 - 2 0 3 8、スタンフォード、メ		
			最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 COVID-19の3成分ワクチン

(57)【要約】

本明細書では、とりわけ、COVID-19のワクチンのための複合体、組成物及び方法が提供される。本明細書で提供される細胞透過性複合体は、pH感受性崩壊ドメインを含むカチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合された核酸を含み得る。本明細書で提供される細胞透過性複合体は、とりわけ、ワクチンに有用であり、ワクチンは、その実施形態を含めて本明細書で提供される、ウイルスタンパク質をコードする配列を含むリボ核酸、核酸アジュバント、及びカチオン性両親媒性ポリマーを含む。

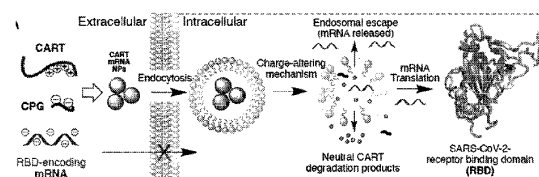


FIG. 17A

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ウイルスタンパク質をコードする配列を含むリボ核酸、核酸アジュバント、及びカチオン性両親媒性ポリマーを含む細胞透過性複合体。

【請求項 2】

リボ核酸が、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合されている、請求項 1 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 3】

ウイルスタンパク質が、呼吸器合胞体ウイルス（RSV）タンパク質、ヒトメタ肺炎ウイルス（hMPV）タンパク質、パラインフルエンザウイルス 3 型（PIV3）タンパク質、インフルエンザ H10N8 ウイルスタンパク質、インフルエンザ H7N9 ウイルスタンパク質、サイトメガロウイルス（CMV）タンパク質、ジカウイルスタンパク質、チクングニア熱ウイルスタンパク質又は重症急性呼吸器症候群（SARS）関連コロナウイルス（CoV）タンパク質である、請求項 1 に記載の細胞透過性複合体。

10

【請求項 4】

ウイルスタンパク質が、SARS-CoV-1 タンパク質又は SARS-CoV-2 タンパク質である、請求項 1 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 5】

ウイルスタンパク質が、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又はその断片である、請求項 1 に記載の細胞透過性複合体。

20

【請求項 6】

ウイルスタンパク質が、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質の可溶性受容体結合ドメイン（RBD）である、請求項 1 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 7】

リボ核酸が、配列番号 3 の配列を含む、請求項 1 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 8】

核酸アジュバントが DNA アジュバントである、請求項 1 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 9】

核酸アジュバントが トール様受容体（TLR）アゴニストである、請求項 1 に記載の細胞透過性複合体。

30

【請求項 10】

核酸アジュバントが、1 つ以上の非メチル化 CpG オリゴヌクレオチドを含む、請求項 1 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 11】

核酸アジュバントが TLR-9 アゴニストである、請求項 1 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 12】

核酸アジュバントが、配列番号 1 又は配列番号 2 の配列を有する、請求項 1 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 13】

カチオン性両親媒性ポリマーが、pH 感受性崩壊ドメイン及び親油性ポリマードメインを含む、請求項 1 に記載の細胞透過性複合体。

40

【請求項 14】

カチオン性両親媒性ポリマーが、式：

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

【式中、

R^1A は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$

50

、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_4\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{ONH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}\text{SO}_2\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{OCCl}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCBr}_3$ 、 $-\text{OCI}_3$ 、 $-\text{OCHCl}_2$ 、 $-\text{OCHBr}_2$ 、 $-\text{OCHI}_2$ 、 $-\text{OCHF}_2$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{I}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{F}$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

R^{2A} は、水素、ハロゲン、 $-\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CBr}_3$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CI}_3$ 、 CHCl_2 、 $-\text{CHBr}_2$ 、 $-\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CHI}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{CH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{CH}_2\text{F}$ 、 $-\text{CH}_2\text{I}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_4\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{ONH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}\text{SO}_2\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{OCCl}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCBr}_3$ 、 $-\text{OCI}_3$ 、 $-\text{OCHCl}_2$ 、 $-\text{OCHBr}_2$ 、 $-\text{OCHI}_2$ 、 $-\text{OCHF}_2$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{I}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{F}$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

L^1 及び L^2 は、独立に、結合、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、

LP^1 及び LP^2 は、独立に、親油性ポリマードメインであり、

IM は、前記 pH 感受性崩壊ドメインであり、

z_5 は、 $1 \sim 10$ の整数であり、

z_1 及び z_3 は、独立に、 $0 \sim 100$ の整数であり、 z_1 又は z_3 の少なくとも1つは0でなく、

z_4 は、 $1 \sim 100$ の整数であり、

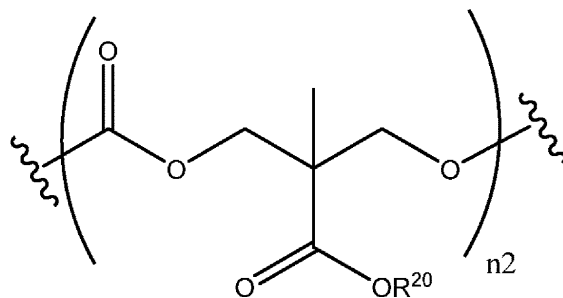
z_2 は、 $2 \sim 100$ の整数である。]

を有する、請求項1に記載の細胞透過性複合体。

【請求項15】

親油性ポリマードメインが、式：

【化1】



【式中、

n_2 は、 $1 \sim 100$ の整数であり

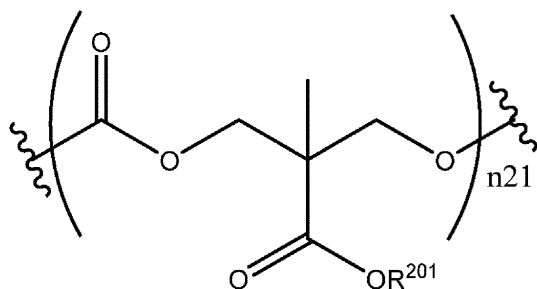
R^{20} は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。]

を有する、請求項 1 4 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 1 6】

LP¹ が、式：

【化 2】



10

【式中、

n₂₁ は、1～100の整数であり、

R²⁰¹ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。]

を有する、請求項 1 4 に記載の細胞透過性複合体。

20

【請求項 1 7】

n₂₁ が 5 であり、R²⁰¹ が非置換の C₁₈ アルケニルである、請求項 1 6 に記載の細胞透過性複合体。

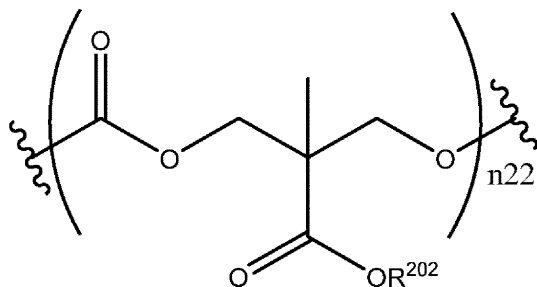
【請求項 1 8】

非置換の C₁₈ アルケニルがオレイルである、請求項 1 7 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 1 9】

LP² が、式：

【化 3】



30

【式中、

n₂₂ は、1～100の整数であり、

R²⁰² は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。]

40

を有する、請求項 1 4 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 2 0】

n₂₂ が 5 であり、R²⁰² が非置換の C₉ アルケニルである、請求項 1 9 に記載の細胞透過性複合体。

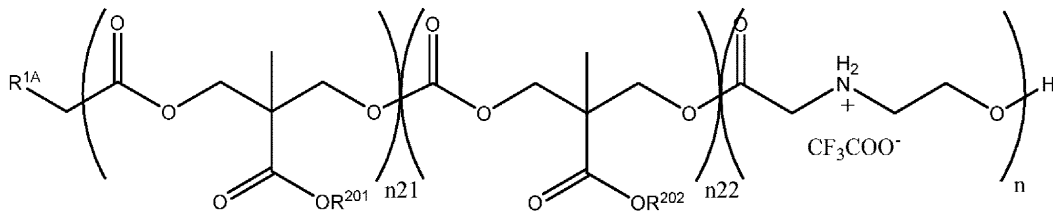
【請求項 2 1】

非置換の C₉ アルケニルがノネニルである、請求項 2 0 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 2 2】

50

カチオン性両親媒性ポリマーが、式：
【化 4】



【式中、

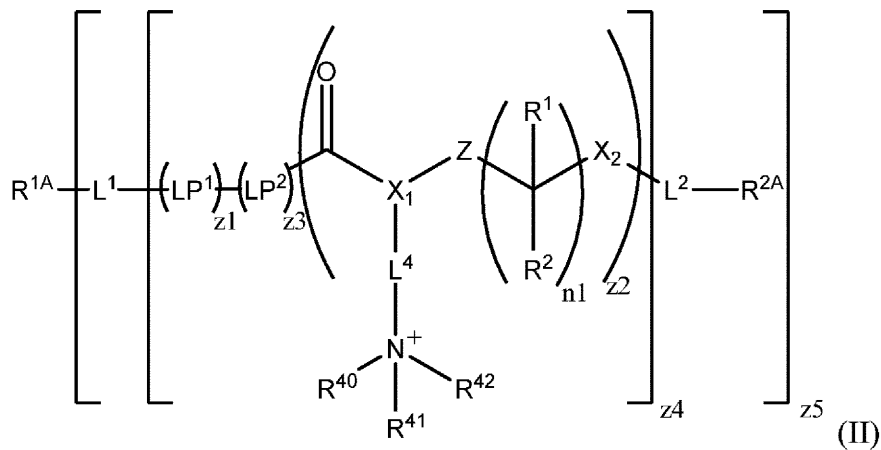
n_{21} は 5 であり、 R^{201} はオレイルであり、 n_{22} は 5 であり、 R^{202} はノネニルであり、 n は 7 である。]

を有する、請求項 14 に記載の細胞透過性複合体。

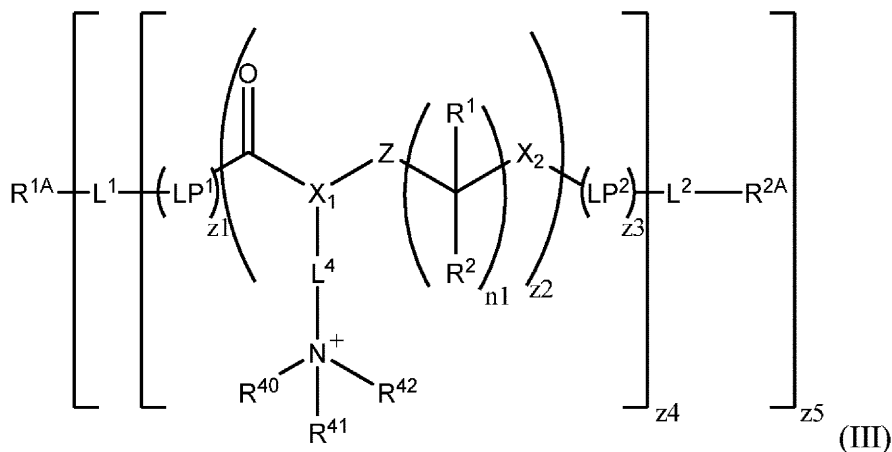
【請求項 23】

カチオン性両親媒性ポリマーが、式：

【化 5】



又は



【式中、

R^{1A} は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI$

3、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

R^{2A} は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、独立に $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、独立に $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

L^1 及び L^2 は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、

LP^1 及び LP^2 は、独立に、親油性ポリマードメインであり、

X^1 は、結合、 $-C(R^5)(R^6)-$ 、 $-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ 、 $-O-C(R^5)(R^6)-$ 又は $-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ であり、

X^2 は、 $-O-$ 又は $-S-$ であり、

R^1 、 R^2 、 R^5 、 R^6 、 R^7 及び R^8 は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

L^4 は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキレンであり、

R^{40} 、 R^{41} 及び R^{42} は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキルであり、

Z は、 $-S-$ 、 $-S^+R^{13}-$ 、 $-NR^{13}-$ 又は $-N^+(R^{13})(H)-$ であり、

R^{13} は、水素、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $=O$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 SO_2NH_2 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

n_1 は、0～50の整数であり、

z_1 及び z_3 は、独立に、0～100の整数であり、 z_1 又は z_3 の少なくとも1つは0でなく、

z_2 は、2～100の整数であり、

z_4 は、1～100の整数であり、

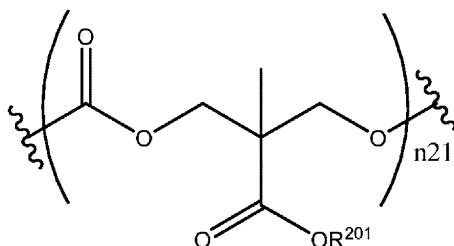
z_5 は、1～10の整数である。]

を有する、請求項1に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 24】

LP¹が、式：

【化6】



10

【式中、

n₂₁は、1～100の整数であり、

R²⁰¹は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。]

を有する、請求項23に記載の細胞透過性複合体。

【請求項25】

n₂₁が10～40である、請求項24に記載の細胞透過性複合体。

20

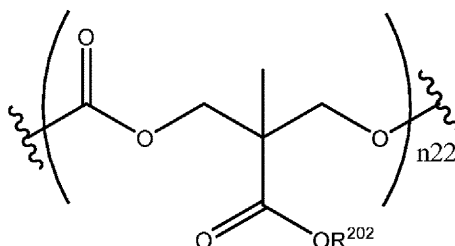
【請求項26】

R²⁰¹が非置換のC₁₂アルキルである、請求項24に記載の細胞透過性複合体。

【請求項27】

LP²が、式：

【化7】



30

【式中、

n₂₂は、1～100の整数であり、

R²⁰²は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。]

を有する、請求項24に記載の細胞透過性複合体。

40

【請求項28】

n₂₂が10～35である、請求項27に記載の細胞透過性複合体。

【請求項29】

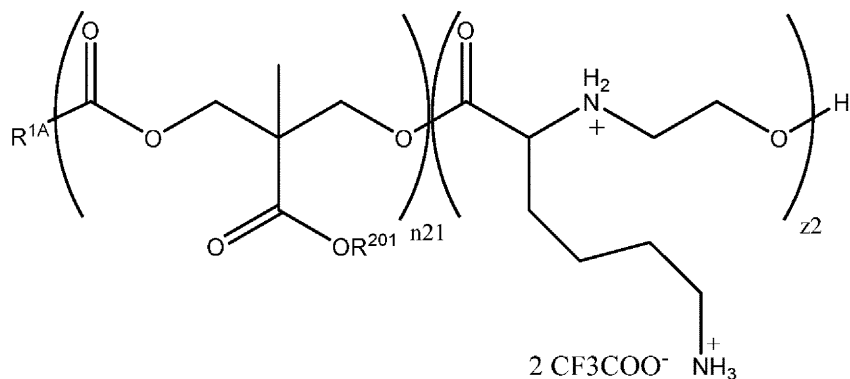
R²⁰²が非置換のC₁₂アルケニルである、請求項27に記載の細胞透過性複合体。

【請求項30】

カチオン性両親媒性ポリマーが、式：

50

【化 8】



10

〔式中、

n 2 1 は、1 0 ～ 2 0 の整数であり、

R 2 0 1 は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

z 2 は、独立に、3 ～ 1 0 の整数である。〕

を有する、請求項 2 3 に記載の細胞透過性複合体。

20

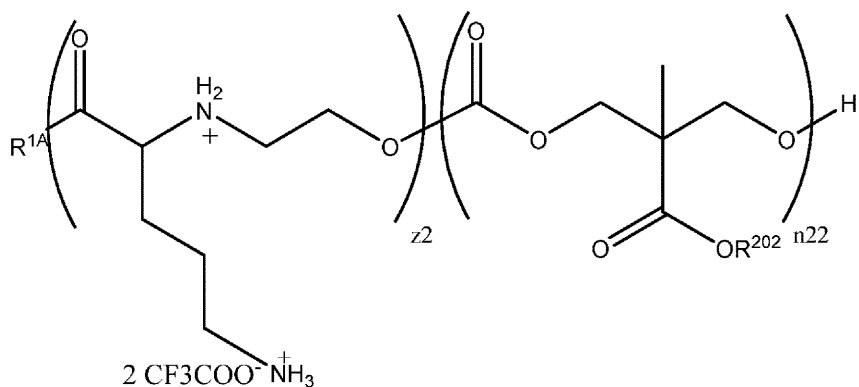
【請求項 3 1】

n 2 1 が 1 4 であり、R 2 0 1 がドデシルであり、z 2 が 8 である、請求項 3 0 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 3 2】

カチオン性両親媒性ポリマーが、式：

【化 9】



30

〔式中、

n 2 2 は、1 0 ～ 3 5 の整数であり、

R 2 0 2 は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

z 2 は、独立に、5 ～ 2 0 の整数である。〕

を有する、請求項 3 1 に記載の細胞透過性複合体。

40

【請求項 3 3】

n 2 2 が 1 4 であり、R 2 0 2 がドデシルであり、z 2 が 7 である、請求項 3 2 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 3 4】

前記カチオン性両親媒性ポリマーと異なる第 2 のカチオン性両親媒性ポリマーをさらに

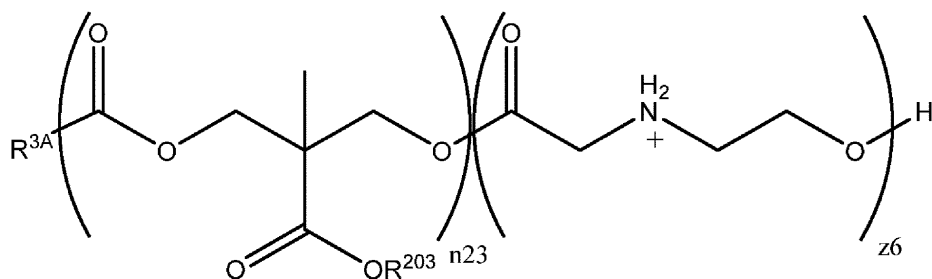
50

含む、請求項 23 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 35】

第 2 のカチオン性両親媒性ポリマーが、式：

【化 10】



10

【式中、

n_{23} は、1～100の整数であり、

z_6 は、5～15の整数であり、

R^{3A} は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

20

R^{203} は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。]

30

を有する、請求項 34 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 36】

n_{23} が 13 であり、 z_6 が 11 であり、 R^{203} がドデシルである、請求項 35 に記載の細胞透過性複合体。

【請求項 37】

請求項 1 に記載の細胞透過性複合体を含むワクチン組成物。

【請求項 38】

請求項 1 に記載の細胞透過性複合体の治療有効量、及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

40

【請求項 39】

ウイルス性疾患の処置又は防止を必要とする対象におけるウイルス性疾患を処置又は防止する方法であって、請求項 1 に記載の細胞透過性複合体の治療又は予防有効量を対象に投与することを含む方法。

【請求項 40】

ウイルス性疾患の処置を必要とする対象におけるウイルス性疾患を処置する方法であって、請求項 1 に記載の細胞透過性複合体の治療有効量及び薬学的担体を対象に投与し、それによって対象におけるウイルス性疾患を処置することを含む方法。

【請求項 41】

ウイルス性疾患に罹患し得る宿主を免疫化するための方法であって、請求項 1 に記載の

50

細胞透過性複合体を、ウイルスタンパク質又はその機能的断片に対する抗体が生成されるような条件下で宿主に投与することを含む方法。

【請求項 4 2】

抗体が I g G 2 抗体である、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 3】

ウイルス性疾患が S A R S である、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 4】

ウイルス性疾患が C O V I D - 1 9 である、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 5】

ウイルス性疾患が M E R S である、請求項 4 0 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、その全体があらゆる目的で参照により本明細書に組み込まれる、2020年7月24日に提出した米国仮出願第63／056,465号の優先権を主張するものである。

【0002】

A S C I I テキストファイルとして提出された配列表、表又はコンピュータプログラム一覧付属物に対する参照

2021年7月22年に8,192バイトでマシンフォーマット I B M - P C、M S W i n d o w s オペレーティングシステムにより作成した 0 4 1 2 4 3 - 5 6 1 0 0 1 W O _ S L _ S T 2 5 . t x t ファイルに書き込まれた配列表が参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0003】

現行では、S A R - C o V - 2 ウイルスによって引き起こされる疾患に対して利用可能な有効な処置又はワクチンは存在しない。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

新規のコロナウイルスである S A R S - C o V - 2 によって引き起こされる C O V I D - 1 9 を予防する安全且つ有効なワクチンを開発する必要がある。本明細書では、これら及び当該技術分野における他の問題に対する解決策を提供する。

【課題を解決するための手段】

【0005】

(発明の要旨)

一態様では、ウイルスタンパク質をコードする配列を含むリボ核酸、核酸アジュバント、及びカチオン性両親媒性ポリマーを含む細胞透過性複合体が提供される。

【0006】

一態様では、実施形態を含めて本明細書に記載される細胞透過性複合体を含むワクチン組成物が提供される。

【0007】

一態様では、実施形態を含めて本明細書に記載される細胞透過性複合体の治療有効量、及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物が提供される。

【0008】

一態様では、ウイルス性疾患の処置又は防止を必要とする対象におけるウイルス性疾患を処置又は防止する方法であって、実施形態を含めて本明細書に記載される細胞透過性複合体の治療又は予防有効量を対象に投与することを含む方法が提供される。

【0009】

一態様では、ウイルス性疾患の処置を必要とする対象におけるウイルス性疾患を処置す

10

20

30

40

50

る方法であって、実施形態を含む本明細書に記載される細胞透過性複合体の治療有効量及び薬学的担体を対象に投与し、それによって対象におけるウイルス性疾患を処置することを含む方法が提供される。

【0010】

一態様では、ウイルス性疾患に罹患し得る宿主を免疫化するための方法であって、実施形態を含めて本明細書に記載される細胞透過性複合体を、ウイルスタンパク質又はその機能的断片に対する抗体が生成されるような条件下で宿主に投与することを含む方法が提供される。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1A】ELISAアッセイの検出ステップの概略図の例を示す(図1A)。抗IgG又はIgM抗体を検出するためのELISAアッセイのプロトコルの例を示す(図1B)。

【図1B】ELISAアッセイの検出ステップの概略図の例を示す(図1A)。抗IgG又はIgM抗体を検出するためのELISAアッセイのプロトコルの例を示す(図1B)。

【図2A】ELISAデータD+4のグラフである。RBD mRNA-CART+CpGをワクチン接種したマウスにおけるRBD特異的抗体反応の早期検出を示す。ワクチンの投与後4日に採取したマウスからの試料を示す。結果は、RBD mRNA-CARTをワクチン接種したマウスについて(図2A)、mRNA-CART+CpGをワクチン接種したマウスについて(図2B)、RBD mRNA-CART+アゴニストCD40mAbをワクチン接種したマウスについて(図2C)、RBD mRNA-CART+アゴニストCD40mAb+CpGをワクチン接種したマウスについて(図2D)、全ての群のマウスからの結果は、比較のためにオーバーレイされる(図2E)。

【図2B】ELISAデータD+4のグラフである。RBD mRNA-CART+CpGをワクチン接種したマウスにおけるRBD特異的抗体反応の早期検出を示す。ワクチンの投与後4日に採取したマウスからの試料を示す。結果は、RBD mRNA-CARTをワクチン接種したマウスについて(図2A)、mRNA-CART+CpGをワクチン接種したマウスについて(図2B)、RBD mRNA-CART+アゴニストCD40mAbをワクチン接種したマウスについて(図2C)、RBD mRNA-CART+アゴニストCD40mAb+CpGをワクチン接種したマウスについて(図2D)、全ての群のマウスからの結果は、比較のためにオーバーレイされる(図2E)。

【図2C】ELISAデータD+4のグラフである。RBD mRNA-CART+CpGをワクチン接種したマウスにおけるRBD特異的抗体反応の早期検出を示す。ワクチンの投与後4日に採取したマウスからの試料を示す。結果は、RBD mRNA-CARTをワクチン接種したマウスについて(図2A)、mRNA-CART+CpGをワクチン接種したマウスについて(図2B)、RBD mRNA-CART+アゴニストCD40mAbをワクチン接種したマウスについて(図2C)、RBD mRNA-CART+アゴニストCD40mAb+CpGをワクチン接種したマウスについて(図2D)、全ての群のマウスからの結果は、比較のためにオーバーレイされる(図2E)。

【図2D】ELISAデータD+4のグラフである。RBD mRNA-CART+CpGをワクチン接種したマウスにおけるRBD特異的抗体反応の早期検出を示す。ワクチンの投与後4日に採取したマウスからの試料を示す。結果は、RBD mRNA-CARTをワクチン接種したマウスについて(図2A)、mRNA-CART+CpGをワクチン接種したマウスについて(図2B)、RBD mRNA-CART+アゴニストCD40mAbをワクチン接種したマウスについて(図2C)、RBD mRNA-CART+アゴニストCD40mAb+CpGをワクチン接種したマウスについて(図2D)、全ての群のマウスからの結果は、比較のためにオーバーレイされる(図2E)。

【図2E】ELISAデータD+4のグラフである。RBD mRNA-CART+CpGをワクチン接種したマウスにおけるRBD特異的抗体反応の早期検出を示す。ワクチンの投与後4日に採取したマウスからの試料を示す。結果は、RBD mRNA-CARTをワクチン接種したマウスについて(図2A)、mRNA-CART+CpGをワクチン

10

20

30

40

50

接種したマウスについて（図 2 B）、R B D mRNA-C A R T+アゴニスト C D 4 0 m A b をワクチン接種したマウスについて（図 2 C）、R B D mRNA-C A R T+アゴニスト C D 4 0 m A b + C p G をワクチン接種したマウスについて（図 2 D）、全ての群のマウスからの結果は、比較のためにオーバーレイされる（図 2 E）。

【図 3】E L I S A データ D + 8 のグラフである。R B D mRNA-C A R T+ C p G をワクチン接種したマウスにおける優位な R B D 特異的抗体応答を示す。ワクチンの投与後 4 日及び 8 日に採取したマウスからの試料。

【図 4 A】特異性試験－ワクチン誘導抗体は R B D 特異的であることを示す。R B D 特異的抗体の検出に使用されるマイクロプレートの代表的な画像（図 4 A）。及び、R R B D 特異的抗体の検出を示すグラフを示すグラフ（図 4 B）。グラフはさらに、A n t i H i s (H i s T a g 対照) 及び A n t i O V A (無関係な対照) の検出結果を示す。

【図 4 B】特異性試験－ワクチン誘導抗体は R B D 特異的であることを示す。R B D 特異的抗体の検出に使用されるマイクロプレートの代表的な画像（図 4 A）。及び、R R B D 特異的抗体の検出を示すグラフを示すグラフ（図 4 B）。グラフはさらに、A n t i H i s (H i s T a g 対照) 及び A n t i O V A (無関係な対照) の検出結果を示す。

【図 5 A】R B D 特異的抗体応答のアイソタイプ特徴付けを示す。R B D mRNA-C A R T+ C p G ワクチンは、堅牢なアイソタイプスイッチングを誘導する。ワクチンの投与後 4 日、8 日及び 1 4 日に採取したマウスからの試料。結果は、I g G 抗体の検出について（図 5 A）、I g G 1 抗体の検出について（図 5 B）、I g G 2 a 抗体の検出について（図 5 C）、I g G 2 b 抗体の検出について（図 5 D）、I g G 3 抗体の検出について（図 5 E）を示す。

【図 5 B】R B D 特異的抗体応答のアイソタイプ特徴付けを示す。R B D mRNA-C A R T+ C p G ワクチンは、堅牢なアイソタイプスイッチングを誘導する。ワクチンの投与後 4 日、8 日及び 1 4 日に採取したマウスからの試料。結果は、I g G 抗体の検出について（図 5 A）、I g G 1 抗体の検出について（図 5 B）、I g G 2 a 抗体の検出について（図 5 C）、I g G 2 b 抗体の検出について（図 5 D）、I g G 3 抗体の検出について（図 5 E）を示す。

【図 5 C】R B D 特異的抗体応答のアイソタイプ特徴付けを示す。R B D mRNA-C A R T+ C p G ワクチンは、堅牢なアイソタイプスイッチングを誘導する。ワクチンの投与後 4 日、8 日及び 1 4 日に採取したマウスからの試料。結果は、I g G 抗体の検出について（図 5 A）、I g G 1 抗体の検出について（図 5 B）、I g G 2 a 抗体の検出について（図 5 C）、I g G 2 b 抗体の検出について（図 5 D）、I g G 3 抗体の検出について（図 5 E）を示す。

【図 5 D】R B D 特異的抗体応答のアイソタイプ特徴付けを示す。R B D mRNA-C A R T+ C p G ワクチンは、堅牢なアイソタイプスイッチングを誘導する。ワクチンの投与後 4 日、8 日及び 1 4 日に採取したマウスからの試料。結果は、I g G 抗体の検出について（図 5 A）、I g G 1 抗体の検出について（図 5 B）、I g G 2 a 抗体の検出について（図 5 C）、I g G 2 b 抗体の検出について（図 5 D）、I g G 3 抗体の検出について（図 5 E）を示す。

【図 5 E】R B D 特異的抗体応答のアイソタイプ特徴付けを示す。R B D mRNA-C A R T+ C p G ワクチンは、堅牢なアイソタイプスイッチングを誘導する。ワクチンの投与後 4 日、8 日及び 1 4 日に採取したマウスからの試料。結果は、I g G 抗体の検出について（図 5 A）、I g G 1 抗体の検出について（図 5 B）、I g G 2 a 抗体の検出について（図 5 C）、I g G 2 b 抗体の検出について（図 5 D）、I g G 3 抗体の検出について（図 5 E）を示す。

【図 6 A】R B D 特異的抗体応答－R B D mRNA-C A R T+ C p G ワクチンのアイソタイプ特徴付けは、長期にわたるアイソタイプスイッチングされた R B D 特異的抗体応答を誘導する（ワクチン接種後 6 0 日超）ことを示す。ワクチンの投与後 4 日、8 日及び 1 4 日に採取したマウスからの試料。結果は、I g G 抗体の検出について（図 6 A）、I g G 3 抗体の検出について（図 6 B）、I g G 2 a 抗体の検出について（図 6 C）、I g

G 1 抗体の検出について（図 6 D）、I g G 2 b 抗体の検出について（図 6 E）示す。

【図 6 B】R B D 特異的抗体応答－R B D m R N A－C A R T＋C p G ワクチンのアイソタイプ特徴付けは、長期にわたるアイソタイプスイッチングされた R B D 特異的抗体応答を誘導する（ワクチン接種後 60 日超）ことを示す。ワクチンの投与後 4 日、8 日及び 14 日に採取したマウスからの試料。結果は、I g G 抗体の検出について（図 6 A）、I g G 3 抗体の検出について（図 6 B）、I g G 2 a 抗体の検出について（図 6 C）、I g G 1 抗体の検出について（図 6 D）、I g G 2 b 抗体の検出について（図 6 E）示す。

【図 6 C】R B D 特異的抗体応答－R B D m R N A－C A R T＋C p G ワクチンのアイソタイプ特徴付けは、長期にわたるアイソタイプスイッチングされた R B D 特異的抗体応答を誘導する（ワクチン接種後 60 日超）ことを示す。ワクチンの投与後 4 日、8 日及び 14 日に採取したマウスからの試料。結果は、I g G 抗体の検出（について図 6 A）、I g G 3 抗体の検出について（図 6 B）、I g G 2 a 抗体の検出について（図 6 C）、I g G 1 抗体の検出について（図 6 D）、I g G 2 b 抗体の検出について（図 6 E）示す。

【図 6 D】R B D 特異的抗体応答－R B D m R N A－C A R T＋C p G ワクチンのアイソタイプ特徴付けは、長期にわたるアイソタイプスイッチングされた R B D 特異的抗体応答を誘導する（ワクチン接種後 60 日超）ことを示す。ワクチンの投与後 4 日、8 日及び 14 日に採取したマウスからの試料。結果は、I g G 抗体の検出について（図 6 A）、I g G 3 抗体の検出について（図 6 B）、I g G 2 a 抗体の検出について（図 6 C）、I g G 1 抗体の検出について（図 6 D）、I g G 2 b 抗体の検出について（図 6 E）示す。

【図 6 E】R B D 特異的抗体応答－R B D m R N A－C A R T＋C p G ワクチンのアイソタイプ特徴付けは、長期にわたるアイソタイプスイッチングされた R B D 特異的抗体応答を誘導する（ワクチン接種後 60 日超）ことを示す。ワクチンの投与後 4 日、8 日及び 14 日に採取したマウスからの試料。結果は、I g G 抗体の検出について（図 6 A）、I g G 3 抗体の検出について（図 6 B）、I g G 2 a 抗体の検出について（図 6 C）、I g G 1 抗体の検出について（図 6 D）、I g G 2 b 抗体の検出について（図 6 E）示す。

【図 7 A】気管支肺胞洗浄（B A L）における B D 特異的抗体応答を示す。検査のために肺から試料を採取するために使用される B A L 手順を示す概略図（図 7 A）。R B D m R N A－C A R T＋C p G ワクチンは、ワクチン接種した動物の肺に検出される R B D 特異的抗体応答を誘導する（図 7 B）。ワクチンの投与後 4 日、8 日及び 14 日に採取したマウスからの試料。

【図 7 B】気管支肺胞洗浄（B A L）における B D 特異的抗体応答を示す。検査のために肺から試料を採取するために使用される B A L 手順を示す概略図（図 7 A）。R B D m R N A－C A R T＋C p G ワクチンは、ワクチン接種した動物の肺に検出される R B D 特異的抗体応答を誘導する（図 7 B）。ワクチンの投与後 4 日、8 日及び 14 日に採取したマウスからの試料。

【図 8】受容体結合阻害アッセイを示す概略図である。

【図 9 A】細胞受容体結合阻害アッセイを示す。R B D m R N A－C A R T＋C p G ワクチンは、S A R S－C o V－2 R B D が A C E－2 受容体に結合するのを遮断する R B D 特異的抗体応答を誘導する（図 9 A）。結果は、ワクチン接種後 12 日目（図 9 B）、及びワクチン接種後 26 日目（図 9 C）に R B D が依然として遮断されていることを示す。

【図 9 B】細胞受容体結合阻害アッセイを示す。R B D m R N A－C A R T＋C p G ワクチンは、S A R S－C o V－2 R B D が A C E－2 受容体に結合するのを遮断する R B D 特異的抗体応答を誘導する（図 9 A）。結果は、ワクチン接種後 12 日目（図 9 B）、及びワクチン接種後 26 日目（図 9 C）に R B D が依然として遮断されていることを示す。

【図 9 C】細胞受容体結合阻害アッセイを示す。R B D m R N A－C A R T＋C p G ワクチンは、S A R S－C o V－2 R B D が A C E－2 受容体に結合するのを遮断する R B D 特異的抗体応答を誘導する（図 9 A）。結果は、ワクチン接種後 12 日目（図 9 B）、及びワクチン接種後 26 日目（図 9 C）に R B D が依然として遮断されていることを示す。

す。

【図10A】ACE2-スパイクRBD相互作用を遮断する抗体についてのアッセイを示す(図10A)。結果は、RBD mRNA-CART+CpGをワクチン接種したマウスの血清が、スパイクRBDがACE2受容体に結合するのを阻害することを示す(図10B)。

【図10B】。ACE2-スパイクRBD相互作用を遮断する抗体についてのアッセイを示す(図10A)。結果は、RBD mRNA-CART+CpGをワクチン接種したマウスの血清が、スパイクRBDがACE2受容体に結合するのを阻害することを示す(図10B)。

【図11A】偽ウイルス中和アッセイを示す。RBD mRNA-CART+CpGワクチンは、偽ウイルスを発現するSARS-CoV-2スパイクタンパク質のACE-2発現細胞への侵入を完全に遮断するRBD特異的抗体応答を誘導する(図11A)。結果は、RBD mRNA-CART+CpGをワクチン接種したマウスの血清が、偽ウイルスがACE-2発現細胞に侵入するのを阻害することを示す(図11B)。

【図11B】偽ウイルス中和アッセイを示す。RBD mRNA-CART+CpGワクチンは、偽ウイルスを発現するSARS-CoV-2スパイクタンパク質のACE-2発現細胞への侵入を完全に遮断するRBD特異的抗体応答を誘導する(図11A)。結果は、RBD mRNA-CART+CpGをワクチン接種したマウスの血清が、偽ウイルスがACE-2発現細胞に侵入するのを阻害することを示す(図11B)。

【図12A】ヒト化マウスにおけるCART-RBD mRNA-CpGワクチンを示す。RBD mRNA-CART+CpGワクチンは、ヒト免疫細胞で再構築されたマウスのRBD特異的抗体応答を誘導する(図12A)、結果は、ヒトPBMCを投与されたマウスのRBD特異的IgGの検出を示す(図12B)。

【図12B】ヒト化マウスにおけるCART-RBD mRNA-CpGワクチンを示す。RBD mRNA-CART+CpGワクチンは、ヒト免疫細胞で再構築されたマウスのRBD特異的抗体応答を誘導する(図12A)、結果は、ヒトPBMCを投与されたマウスのRBD特異的IgGの検出を示す(図12B)。

【図13A】RBD mRNA-CART+CpGワクチンは、TLR9(CpG)供給源及び投与経路とは無関係に、RBD特異的抗体応答を誘導する(例えば、ワクチンは皮下投与経路と筋肉内投与経路の両方で免疫応答を誘導する)ことを示す。結果は、mRNAワクチンがタンパク質ワクチンよりも優れていることを示す。結果はさらに、同じシリンジ内の成分の投与が、別々の注射による成分の投与よりも良いことを示す。RBD特異的抗体の検出は、ワクチン接種後14日目に完了した(図13A)。RBD特異的抗体の検出は、ワクチン接種後21日目に完了した(図13B)。

【図13B】RBD mRNA-CART+CpGワクチンは、TLR9(CpG)供給源及び投与経路とは無関係に、RBD特異的抗体応答を誘導する(例えば、ワクチンは皮下投与経路と筋肉内投与経路の両方で免疫応答を誘導する)ことを示す。結果は、mRNAワクチンがタンパク質ワクチンよりも優れていることを示す。結果はさらに、同じシリンジ内の成分の投与が、別々の注射による成分の投与よりも良いことを示す。RBD特異的抗体の検出は、ワクチン接種後14日目に完了した(図13A)。RBD特異的抗体の検出は、ワクチン接種後21日目に完了した(図13B)。

【図14】全てのCpG群で、D+14で早くもアイソタイプスイッチングが観察されたことを示すグラフである。CpG 1826及びCpG SD101を含むCpGクラスが試験された。

【図15A】部分的な受容体遮断が、D+14で早くも観察されたことを示す。結果は、様々なCpGクラスがD+14で早くもACE-2へのRBDスパイクタンパク質の結合の阻害を誘導することを確認している(図15A)。この結果は、タンパク質ワクチンよりも高いRBD特異的抗体レベルを誘導するmRNAワクチンと一致している。さらに、様々な投与方法(例えば、皮下、静脈内及び筋肉内)は、D+14で受容体遮断を誘導する(図15B)。

10

20

30

40

50

【図 15 B】部分的な受容体遮断が、D + 14 で早くも観察されたことを示す。結果は、様々な CpG クラスが D + 14 で早くも ACE-2 への RBD スパイクタンパク質の結合の阻害を誘導することを確認している（図 15 A）。この結果は、タンパク質ワクチンよりも高い RBD 特異的抗体レベルを誘導する mRNA ワクチンと一致している。さらに、様々な投与方法（例えば、皮下、静脈内及び筋肉内）は、D + 14 で受容体遮断を誘導する（図 15 B）。

【図 16】電荷変更放出性輸送体（CART）は、共製剤化された SARS-CoV-2 RBD mRNA とアジュバントとを効果的に送達することを示す概略図である。プライムブースト免疫化は、マウスにおける堅牢な抗原特異的 B 細胞及び T 細胞応答をもたらす。

【図 17 A】CART 送達プラットフォーム方法は、全身投与と局所投与の両方を介して、mRNA を効果的に複合体化、送達及び放出することを示す。CART 静電製剤、細胞内取り込み、エンドソームエスケープ及び SARS-CoV-2 RBD mRNA の翻訳（図 17 A）。開環重合による CART 合成（DBU = 1, 8-ジアザビシクロ [5.4.0] ウンデカ-7-エン、TU = 1- (3, 5-ビス (トリフルオロメチル) フェニル) -3-シクロヘキシルチオ尿素）（図 17 B）。CART の化学構造、分解生成物及び電荷変化機序（図 17 C）。全身 IV 投与（左、5 µg の fLuc mRNA）及び局所 IM 投与（各側腹部に 2.5 µg の fLuc mRNA）を介したインビボルシフェラーゼレポーター遺伝子発現（図 17 D）。投与後 4 時間のインビボ mRNA 発現の定量化（図 17 E）。

【図 17 B】CART 送達プラットフォーム方法は、全身投与と局所投与の両方を介して、mRNA を効果的に複合体化、送達及び放出することを示す。CART 静電製剤、細胞内取り込み、エンドソームエスケープ及び SARS-CoV-2 RBD mRNA の翻訳（図 17 A）。開環重合による CART 合成（DBU = 1, 8-ジアザビシクロ [5.4.0] ウンデカ-7-エン、TU = 1- (3, 5-ビス (トリフルオロメチル) フェニル) -3-シクロヘキシルチオ尿素）（図 17 B）。CART の化学構造、分解生成物及び電荷変化機序（図 17 C）。全身 IV 投与（左、5 µg の fLuc mRNA）及び局所 IM 投与（各側腹部に 2.5 µg の fLuc mRNA）を介したインビボルシフェラーゼレポーター遺伝子発現（図 17 D）。投与後 4 時間のインビボ mRNA 発現の定量化（図 17 E）。

【図 17 C】CART 送達プラットフォーム方法は、全身投与と局所投与の両方を介して、mRNA を効果的に複合体化、送達及び放出することを示す。CART 静電製剤、細胞内取り込み、エンドソームエスケープ及び SARS-CoV-2 RBD mRNA の翻訳（図 17 A）。開環重合による CART 合成（DBU = 1, 8-ジアザビシクロ [5.4.0] ウンデカ-7-エン、TU = 1- (3, 5-ビス (トリフルオロメチル) フェニル) -3-シクロヘキシルチオ尿素）（図 17 B）。CART の化学構造、分解生成物及び電荷変化機序（図 17 C）。全身 IV 投与（左、5 µg の fLuc mRNA）及び局所 IM 投与（各側腹部に 2.5 µg の fLuc mRNA）を介したインビボルシフェラーゼレポーター遺伝子発現（図 17 D）。投与後 4 時間のインビボ mRNA 発現の定量化（図 17 E）。

【図 17 D】CART 送達プラットフォーム方法は、全身投与と局所投与の両方を介して、mRNA を効果的に複合体化、送達及び放出することを示す。CART 静電製剤、細胞内取り込み、エンドソームエスケープ及び SARS-CoV-2 RBD mRNA の翻訳（図 17 A）。開環重合による CART 合成（DBU = 1, 8-ジアザビシクロ [5.4.0] ウンデカ-7-エン、TU = 1- (3, 5-ビス (トリフルオロメチル) フェニル) -3-シクロヘキシルチオ尿素）（図 17 B）。CART の化学構造、分解生成物及び電荷変化機序（図 17 C）。全身 IV 投与（左、5 µg の fLuc mRNA）及び局所 IM 投与（各側腹部に 2.5 µg の fLuc mRNA）を介したインビボルシフェラーゼレポーター遺伝子発現（図 17 D）。投与後 4 時間のインビボ mRNA 発現の定量化（図 17 E）。

【図17E】CART送達プラットフォーム方法は、全身投与と局所投与の両方を介して、mRNAを効果的に複合体化、送達及び放出することを示す。CART静電製剤、細胞内取り込み、エンドソームエスケープ及びSARS-CoV-2 RBD mRNAの翻訳（図17A）。開環重合によるCART合成（ $DBU=1$ ，8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン、 $TU=1-(3,5-ビス(トリフルオロメチル)フェニル)-3-シクロヘキシルチオ尿素$ ）（図17B）。CARTの化学構造、分解生成物及び電荷変化機序（図17C）。全身IV投与（左、 $5\mu g$ のfLuc mRNA）及び局所IM投与（各側腹部に $2.5\mu g$ のfLuc mRNA）を介したインビボルシフェラーゼレポーター遺伝子発現（図17D）。投与後4時間のインビボmRNA発現の定量化（図17E）。

10

【図18A】RBD mRNA-CARTにCpGを添加すると、より強力な抗RBD免疫グロブリン応答が誘発され、早期のアイソタイプスイッチングにつながることを示す。BALB/cマウスを、 $3\mu g$ のRBD mRNA-CART（ $n=5$ ）、 $3\mu g$ のRBD mRNA-CARTと $3\mu g$ のCpG（ $n=5$ ）、 $3\mu g$ のCpG CART（ $n=5$ ）、又はナイーブ未処置（ $n=5$ ）のいずれかで静脈内免疫化し、プライミング後4日目と8日目にブーストした（図18A）、RBD mRNA-CART（白丸）、RBD mRNA+CpG-CART（四角）、CpG CART（黒丸）、及びナイーブ（ダイヤモンド）マウスからのRBD特異的IgGの血清レベルを、ELISAによるプライミング後60日間の過程にわたってモニターした（図18B）、プライミング後14日目及び60日目に、抗マウスIgG1（丸マーカー）、IgG2a（黒）、IgG2b（四角マーカー）及びIgG3（白）モノクローナル抗体を使用して、RBDに特異的なIgGアイソタイプの分布をELISA法により解析した（図18C）、プライミング後14日目及び60日目に、抗RBD IgGの絶対濃度を評価した。 $*=P<0.05$ Student独立Student t検定（両側）。2つの個々の実験を代表するデータ（図18D）。

20

【図18B】RBD mRNA-CARTにCpGを添加すると、より強力な抗RBD免疫グロブリン応答が誘発され、早期のアイソタイプスイッチングにつながることを示す。BALB/cマウスを、 $3\mu g$ のRBD mRNA-CART（ $n=5$ ）、 $3\mu g$ のRBD mRNA-CARTと $3\mu g$ のCpG（ $n=5$ ）、 $3\mu g$ のCpG CART（ $n=5$ ）、又はナイーブ未処置（ $n=5$ ）のいずれかで静脈内免疫化し、プライミング後4日目と8日目にブーストした（図18A）、RBD mRNA-CART（白丸）、RBD mRNA+CpG-CART（四角）、CpG CART（黒丸）、及びナイーブ（ダイヤモンド）マウスからのRBD特異的IgGの血清レベルを、ELISAによるプライミング後60日間の過程にわたってモニターした（図18B）、プライミング後14日目及び60日目に、抗マウスIgG1（丸マーカー）、IgG2a（黒）、IgG2b（四角マーカー）及びIgG3（白）モノクローナル抗体を使用して、RBDに特異的なIgGアイソタイプの分布をELISA法により解析した（図18C）、プライミング後14日目及び60日目に、抗RBD IgGの絶対濃度を評価した。 $*=P<0.05$ Student独立Student t検定（両側）。2つの個々の実験を代表するデータ（図18D）。

30

【図18C】RBD mRNA-CARTにCpGを添加すると、より強力な抗RBD免疫グロブリン応答が誘発され、早期のアイソタイプスイッチングにつながることを示す。BALB/cマウスを、 $3\mu g$ のRBD mRNA-CART（ $n=5$ ）、 $3\mu g$ のRBD mRNA-CARTと $3\mu g$ のCpG（ $n=5$ ）、 $3\mu g$ のCpG CART（ $n=5$ ）、又はナイーブ未処置（ $n=5$ ）のいずれかで静脈内免疫化し、プライミング後4日目と8日目にブーストした（図18A）、RBD mRNA-CART（白丸）、RBD mRNA+CpG-CART（四角）、CpG CART（黒丸）、及びナイーブ（ダイヤモンド）マウスからのRBD特異的IgGの血清レベルを、ELISAによるプライミング後60日間の過程にわたってモニターした（図18B）、プライミング後14日目及び60日目に、抗マウスIgG1（丸マーカー）、IgG2a（黒）、IgG2b（四角

40

50

マーカー) 及び Ig G 3 (白) モノクローナル抗体を使用して、RBD に特異的な Ig G アイソタイプの分布を ELISA 法により解析した (図 18 C)、プライミング後 14 日目及び 60 日目に、抗 RBD Ig G の絶対濃度を評価した。* = $P < 0.05$ Student 独立 Student t 検定 (両側)。2 つの個々の実験を代表するデータ (図 18 D)。

【図 18 D】RBD mRNA-CART に CpG を添加すると、より強力な抗 RBD 免疫グロブリン応答が誘発され、早期のアイソタイプスイッチングにつながることを示す。BALB/c マウスを、3 μ g の RBD mRNA-CART ($n=5$)、3 μ g の RBD mRNA-CART と 3 μ g の CpG ($n=5$)、3 μ g の CpG CART ($n=5$)、又はナイーブ未処置 ($n=5$) のいずれかで静脈内免疫化し、プライミング後 4 日目と 8 日目にブーストした (図 18 A)、RBD mRNA-CART (白丸)、RBD mRNA+CpG-CART (四角)、CpG CART (黒丸)、及びナイーブ (ダイヤモンド) マウスからの RBD 特異的 Ig G の血清レベルを、ELISA によるプライミング後 60 日間の過程にわたってモニターした (図 18 B)、プライミング後 14 日目及び 60 日目に、抗マウス Ig G 1 (丸マーカー)、Ig G 2 a (黒)、Ig G 2 b (四角マーカー) 及び Ig G 3 (白) モノクローナル抗体を使用して、RBD に特異的な Ig G アイソタイプの分布を ELISA 法により解析した (図 18 C)、プライミング後 14 日目及び 60 日目に、抗 RBD Ig G の絶対濃度を評価した。* = $P < 0.05$ Student 独立 Student t 検定 (両側)。2 つの個々の実験を代表するデータ (図 18 D)。

【図 19 A】RBD mRNA+CpG-CART は、早期に高レベルの RBD 中和抗体を生成することを示す。BALB/c マウス ($n=5$) を、図 18 A に記載されるように免疫化した。RBD mRNA-CART (丸)、RBD mRNA+CpG-CART (四角) 及び CpG CART (ダイヤモンド) で免疫化したマウスの血清を D28 及び D60 で回収し、市販の RBD-ACE-2 阻害アッセイで試験した。同じセットの血清試料を、偽型ウイルス中和アッセイで試験した。z s Green 及びホタルルシフェラーゼベクターを含む RBD 発現偽ウイルス粒子を、滴定濃度の熱不活化マウス血清と同時インキュベートした (図 19 A)。偽ウイルス粒子-血清混合物を、ACE-2 過剰発現 293F 細胞を含むウェルに添加した。ホタルルシフェラーゼ発現は、実験開始後 48 時間及び 72 時間で測定した。D60 において、RBD mRNA-CART (丸)、RBD mRNA+CpG-CART (四角) 及び CpG-CART (ダイヤモンド) 免疫化マウスから BAL を回収した (図 19 B)。RBD 特異的総 Ig G を ELISA 法によりアッセイした (図 19 C)。免疫グロブリンを含有する BAL を、市販の ACE-2 阻害キットを使用して、h ACE-2 への RBD の結合を阻害する能力について試験した (図 19 D)。ナイーブマウス (灰色、 $n=3$) 又は D0 及び D21 で、3 μ g の RBD-mRNA + 3 μ g の CpG (黒、 $n=3$) で IV ワクチン接種したマウスからの肺の単細胞懸濁液を D28 で収集し、培地単独、RBD タンパク質、又は無関係なタンパク質 (CD81-His) [5 μ g/mL] と 48 時間インキュベートし、T 細胞活性化マーカー CD134、CD137 及び CD4⁺T 細胞上の細胞内 TNF α について染色した。データは SD $\pm$ 平均値として示す。1 つの実験を表すデータ。* = $P < 0.05$ 、** = $P < 0.01$ 、*** = $P < 0.001$ 、二元配置分散分析 (テューキー多重比較検定) (図 19 E)。

【図 19 B】RBD mRNA+CpG-CART は、早期に高レベルの RBD 中和抗体を生成することを示す。BALB/c マウス ($n=5$) を、図 18 A に記載されるように免疫化した。RBD mRNA-CART (丸)、RBD mRNA+CpG-CART (四角) 及び CpG CART (ダイヤモンド) で免疫化したマウスの血清を D28 及び D60 で回収し、市販の RBD-ACE-2 阻害アッセイで試験した。同じセットの血清試料を、偽型ウイルス中和アッセイで試験した。z s Green 及びホタルルシフェラーゼベクターを含む RBD 発現偽ウイルス粒子を、滴定濃度の熱不活化マウス血清と同時インキュベートした (図 19 A)。偽ウイルス粒子-血清混合物を、ACE-2 過剰発現 2

10

20

30

40

50

93F細胞を含むウェルに添加した。ホタルルシフェラーゼ発現は、実験開始後48時間及び72時間で測定した。D60において、RBD mRNA-CART（丸）、RBD mRNA+CpG-CART（四角）及びCpG-CART（ダイヤモンド）免疫化マウスからBALを回収した（図19B）。RBD特異的総IgGをELISA法によりアッセイした（図19C）。免疫グロブリンを含有するBALを、市販のACE-2阻害キットを使用して、hACE-2へのRBDの結合を阻害する能力について試験した（図19D）。ナイーブマウス（灰色、 $n=3$ ）又はD0及びD21で、 $3\mu\text{g}$ のRBD-mRNA+ $3\mu\text{g}$ のCpG（黒、 $n=3$ ）でIVワクチン接種したマウスからの肺の単一細胞懸濁液をD28で収集し、培地単独、RBDタンパク質、又は無関係なタンパク質（CD81-His） $[5\mu\text{g}/\text{mL}]$ と48時間インキュベートし、T細胞活性化マーカーCD134、CD137及びCD4⁺T細胞上の細胞内TNF α について染色した。データはSD $\pm$ 平均値として示す。1つの実験を表すデータ。 $*=P<0.05$ 、 $**=P<0.01$ 、 $***=P<0.001$ 、二元配置分散分析（テューキー多重比較検定）（図19E）。

【図19C】RBD mRNA+CpG-CARTは、早期に高レベルのRBD中和抗体を生成することを示す。BALB/cマウス（ $n=5$ ）を、図18Aに記載されるように免疫化した。RBD mRNA-CART（丸）、RBD mRNA+CpG-CART（四角）及びCpG-CART（ダイヤモンド）で免疫化したマウスの血清をD28及びD60で回収し、市販のRBD-ACE-2阻害アッセイで試験した。同じセットの血清試料を、偽型ウイルス中和アッセイで試験した。zsGreen及びホタルルシフェラーゼベクターを含むRBD発現偽ウイルス粒子を、滴定濃度の熱不活化マウス血清と同時インキュベートした（図19A）。偽ウイルス粒子-血清混合物を、ACE-2過剰発現293F細胞を含むウェルに添加した。ホタルルシフェラーゼ発現は、実験開始後48時間及び72時間で測定した。D60において、RBD mRNA-CART（丸）、RBD mRNA+CpG-CART（四角）及びCpG-CART（ダイヤモンド）免疫化マウスからBALを回収した（図19B）。RBD特異的総IgGをELISA法によりアッセイした（図19C）。免疫グロブリンを含有するBALを、市販のACE-2阻害キットを使用して、hACE-2へのRBDの結合を阻害する能力について試験した（図19D）。ナイーブマウス（灰色、 $n=3$ ）又はD0及びD21で、 $3\mu\text{g}$ のRBD-mRNA+ $3\mu\text{g}$ のCpG（黒、 $n=3$ ）でIVワクチン接種したマウスからの肺の単一細胞懸濁液をD28で収集し、培地単独、RBDタンパク質、又は無関係なタンパク質（CD81-His） $[5\mu\text{g}/\text{mL}]$ と48時間インキュベートし、T細胞活性化マーカーCD134、CD137及びCD4⁺T細胞上の細胞内TNF α について染色した。データはSD $\pm$ 平均値として示す。1つの実験を表すデータ。 $*=P<0.05$ 、 $**=P<0.01$ 、 $***=P<0.001$ 、二元配置分散分析（テューキー多重比較検定）（図19E）。

【図19D】RBD mRNA+CpG-CARTは、早期に高レベルのRBD中和抗体を生成することを示す。BALB/cマウス（ $n=5$ ）を、図18Aに記載されるように免疫化した。RBD mRNA-CART（丸）、RBD mRNA+CpG-CART（四角）及びCpG-CART（ダイヤモンド）で免疫化したマウスの血清をD28及びD60で回収し、市販のRBD-ACE-2阻害アッセイで試験した。同じセットの血清試料を、偽型ウイルス中和アッセイで試験した。zsGreen及びホタルルシフェラーゼベクターを含むRBD発現偽ウイルス粒子を、滴定濃度の熱不活化マウス血清と同時インキュベートした（図19A）。偽ウイルス粒子-血清混合物を、ACE-2過剰発現293F細胞を含むウェルに添加した。ホタルルシフェラーゼ発現は、実験開始後48時間及び72時間で測定した。D60において、RBD mRNA-CART（丸）、RBD mRNA+CpG-CART（四角）及びCpG-CART（ダイヤモンド）免疫化マウスからBALを回収した（図19B）。RBD特異的総IgGをELISA法によりアッセイした（図19C）。免疫グロブリンを含有するBALを、市販のACE-2阻害キットを使用して、hACE-2へのRBDの結合を阻害する能力について試験した（図19

D)。ナীবマウス（灰色、 $n=3$ ）又はD0及びD21で、 $3\mu\text{g}$ のRBD-mRNA + $3\mu\text{g}$ のCpG（黒、 $n=3$ ）でIVワクチン接種したマウスからの肺の単細胞懸濁液をD28で収集し、培地単独、RBDタンパク質、又は無関係なタンパク質（CD81-His） [$5\mu\text{g}/\text{mL}$]と48時間インキュベートし、T細胞活性化マーカーCD134、CD137及びCD4⁺T細胞上の細胞内TNF α について染色した。データはSD $\pm$ 平均値として示す。1つの実験を表すデータ。 $*$ = $P < 0.05$ 、 $**$ = $P < 0.01$ 、 $***$ = $P < 0.001$ 、二元配置分散分析（テューキー多重比較検定）（図19E）。

【図19E】RBD mRNA + CpG-CARTは、早期に高レベルのRBD中和抗体を生成することを示す。BALB/cマウス（ $n=5$ ）を、図18Aに記載されるように免疫化した。RBD mRNA-CART（丸）、RBD mRNA + CpG-CART（四角）及びCpG-CART（ダイヤモンド）で免疫化したマウスの血清をD28及びD60で回収し、市販のRBD-ACE-2阻害アッセイで試験した。同じセットの血清試料を、偽型ウイルス中和アッセイで試験した。ZsGreen及びホタルルシフェラーゼベクターを含むRBD発現偽ウイルス粒子を、滴定濃度の熱不活化マウス血清と同時にインキュベートした（図19A）。偽ウイルス粒子-血清混合物を、ACE-2過剰発現293F細胞を含むウェルに添加した。ホタルルシフェラーゼ発現は、実験開始後48時間及び72時間で測定した。D60において、RBD mRNA-CART（丸）、RBD mRNA + CpG-CART（四角）及びCpG-CART（ダイヤモンド）免疫化マウスからBALを回収した（図19B）。RBD特異的総IgGをELISA法によりアッセイした（図19C）。免疫グロブリンを含有するBALを、市販のACE-2阻害キットを使用して、hACE-2へのRBDの結合を阻害する能力について試験した（図19D）。ナীবマウス（灰色、 $n=3$ ）又はD0及びD21で、 $3\mu\text{g}$ のRBD-mRNA + $3\mu\text{g}$ のCpG（黒、 $n=3$ ）でIVワクチン接種したマウスからの肺の単細胞懸濁液をD28で収集し、培地単独、RBDタンパク質、又は無関係なタンパク質（CD81-His） [$5\mu\text{g}/\text{mL}$]と48時間インキュベートし、T細胞活性化マーカーCD134、CD137及びCD4⁺T細胞上の細胞内TNF α について染色した。データはSD $\pm$ 平均値として示す。1つの実験を表すデータ。 $*$ = $P < 0.05$ 、 $**$ = $P < 0.01$ 、 $***$ = $P < 0.001$ 、二元配置分散分析（テューキー多重比較検定）（図19E）。

【図20A】RBD mRNA + CpG-CARTは、IV及びIMワクチン接種後に中和抗RBD免疫グロブリン応答を誘発することを示す。BALB/cマウス（1群につき $n=5$ ）を静脈内（IV）又は筋肉内（IM）により $3\mu\text{g}$ のRBD mRNAと $3\mu\text{g}$ のCpGとで免疫化し、プライミング後21日目にブーストした（図20A）。血清中のRBD特異的免疫グロブリン力価を21日目及び28日目に測定及び定量した。測定値は、A450として（図20B）、抗RBDの ng/mL （図20C）で示される。28日目に、IV及びIMの両方で処置したマウスからBALが回収され、抗RBD免疫グロブリンをELISAによってアッセイした。データは平均 $\pm$ SDとして示す。2つの独立した実験を表すデータ。統計的有意性は、Student t検定（両側、対応のない） $n_s = P > 0.05$ によって評価された（図20D）。

【図20B】RBD mRNA + CpG-CARTは、IV及びIMワクチン接種後に中和抗RBD免疫グロブリン応答を誘発することを示す。BALB/cマウス（1群につき $n=5$ ）を静脈内（IV）又は筋肉内（IM）により $3\mu\text{g}$ のRBD mRNAと $3\mu\text{g}$ のCpGとで免疫化し、プライミング後21日目にブーストした（図20A）。血清中のRBD特異的免疫グロブリン力価を21日目及び28日目に測定及び定量した。測定値は、A450として（図20B）、抗RBDの ng/mL （図20C）で示される。28日目に、IV及びIMの両方で処置したマウスからBALが回収され、抗RBD免疫グロブリンをELISAによってアッセイした。データは平均 $\pm$ SDとして示す。2つの独立した実験を表すデータ。統計的有意性は、Student t検定（両側、対応のない） $n_s = P > 0.05$ によって評価された（図20D）。

【図20C】RBD mRNA + CpG-CARTは、IV及びIMワクチン接種後に中和抗RBD免疫グロブリン応答を誘発することを示す。BALB/cマウス（1群につき $n=5$ ）を静脈内（IV）又は筋肉内（IM）により $3\mu\text{g}$ のRBD mRNAと $3\mu\text{g}$ のCpGとで免疫化し、プライミング後21日目にブーストした（図20A）。血清中のRBD特異的免疫グロブリン力価を21日目及び28日目に測定及び定量した。測定値は、 $A450$ として（図20B）、抗RBDの ng/mL （図20C）で示される。28日目に、IV及びIMの両方で処置したマウスからBALが回収され、抗RBD免疫グロブリンをELISAによってアッセイした。データは平均 $\pm$ SDとして示す。2つの独立した実験を表すデータ。統計的有意性は、Student t検定（両側、対応のない） $n_s = P > 0.05$ によって評価された（図20D）。10

【図20D】RBD mRNA + CpG-CARTは、IV及びIMワクチン接種後に中和抗RBD免疫グロブリン応答を誘発することを示す。BALB/cマウス（1群につき $n=5$ ）を静脈内（IV）又は筋肉内（IM）により $3\mu\text{g}$ のRBD mRNAと $3\mu\text{g}$ のCpGとで免疫化し、プライミング後21日目にブーストした（図20A）。血清中のRBD特異的免疫グロブリン力価を21日目及び28日目に測定及び定量した。測定値は、 $A450$ として（図20B）、抗RBDの ng/mL （図20C）で示される。28日目に、IV及びIMの両方で処置したマウスからBALが回収され、抗RBD免疫グロブリンをELISAによってアッセイした。データは平均 $\pm$ SDとして示す。2つの独立した実験を表すデータ。統計的有意性は、Student t検定（両側、対応のない） $n_s = P > 0.05$ によって評価された（図20D）。20

【図21A】RBD mRNAとCpGワクチン接種は、長期持続する記憶 T_H1 $CD4^+$ 及び $CD8^+$ T細胞応答を誘導することを示す。BALB/cマウス（1群あたり $n=5$ ）を静脈内（IV）又は筋肉内（IM）により $3\mu\text{g}$ のctrl mRNA + $3\mu\text{g}$ のCpG又は $3\mu\text{g}$ のRBD mRNA + $3\mu\text{g}$ のCpGでD1とで免疫化し、プライミング後にD21にブーストした。105日目に、プールされた脾細胞を回収し、 $CD4^+$ 及び $CD8^+$ T細胞について濃縮し、直接エキスピボIFN γ ELISpotアッセイのためのRBDペプチド混合物で16時間別々に刺激した（図21A）。ELISpot分析のために、それぞれの群からの脾細胞を3連で測定した。さらに、個々のマウスの全脾細胞（1群あたり $n=5$ ）を培地又はRBDペプチドプールと18時間インキュベートした（図21B）。インキュベーション後、細胞を回収し、T細胞記憶マーカー $CD44$ 及びIFN γ （図21C）、または $CD44$ 並びに細胞内サイトカインIFN γ 、TNF α 、及びIL-4（図21D）について染色した。各ドットは、個々のマウスの測定値を表す。 $** = P < 0.01$ 、 $*** = P < 0.001$ 一元配置分散分析（テューキー多重比較検定）。30

【図21B】RBD mRNAとCpGワクチン接種は、長期持続する記憶 T_H1 $CD4^+$ 及び $CD8^+$ T細胞応答を誘導することを示す。BALB/cマウス（1群あたり $n=5$ ）を静脈内（IV）又は筋肉内（IM）により $3\mu\text{g}$ のctrl mRNA + $3\mu\text{g}$ のCpG又は $3\mu\text{g}$ のRBD mRNA + $3\mu\text{g}$ のCpGでD1とで免疫化し、プライミング後にD21にブーストした。105日目に、プールされた脾細胞を回収し、 $CD4^+$ 及び $CD8^+$ T細胞について濃縮し、直接エキスピボIFN γ ELISpotアッセイのためのRBDペプチド混合物で16時間別々に刺激した（図21A）。ELISpot分析のために、それぞれの群からの脾細胞を3連で測定した。さらに、個々のマウスの全脾細胞（1群あたり $n=5$ ）を培地又はRBDペプチドプールと18時間インキュベートした（図21B）。インキュベーション後、細胞を回収し、T細胞記憶マーカー $CD44$ 及びIFN γ （図21C）、または $CD44$ 並びに細胞内サイトカインIFN γ 、TNF α 、及びIL-4（図21D）について染色した。各ドットは、個々のマウスの測定値を表す。 $** = P < 0.01$ 、 $*** = P < 0.001$ 一元配置分散分析（テューキー多重比較検定）。40

【図21C】RBD mRNAとCpGワクチン接種は、長期持続する記憶 T_H1 $CD4^+$ 及び $CD8^+$ T細胞応答を誘導することを示す。BALB/cマウス（1群あたり n 50

= 5) を静脈内 (IV) 又は筋肉内 (IM) により $3 \mu\text{g}$ の *ctrl mRNA* + $3 \mu\text{g}$ の *CpG* 又は $3 \mu\text{g}$ の *RBD mRNA* + $3 \mu\text{g}$ の *CpG* で D1 とで免疫化し、プライミング後に D21 にブーストした。105 日目に、プールされた脾細胞を回収し、 $\text{CD}4^+$ 及び $\text{CD}8^+$ T 細胞について濃縮し、直接エクスピボ *IFN γ ELISpot* アッセイのための *RBD* ペプチド混合物で 16 時間別々に刺激した (図 21A)。ELISpot 分析のために、それぞれの群からの脾細胞を 3 連で測定した。さらに、個々のマウスの全脾細胞 (1 群あたり $n=5$) を培地又は *RBD* ペプチドプールと 18 時間インキュベートした (図 21B)。インキュベーション後、細胞を回収し、T 細胞記憶マーカー $\text{CD}44$ 及び *IFN γ* (図 21C)、または $\text{CD}44$ 並びに細胞内サイトカイン *IFN γ* 、*TNF α* 、及び *IL-4* (図 21D) について染色した。各ドットは、個々のマウスの測定値を表す。 $** = P < 0.01$ 、 $*** = P < 0.001$ 一元配置分散分析 (テューキー多重比較検定)。

【図 21D】*RBD mRNA* と *CpG* ワクチン接種とは、長期持続する記憶 $\text{T}_\text{H}1$ $\text{CD}4^+$ 及び $\text{CD}8^+$ T 細胞応答を誘導することを示す *BALB/c* マウス (1 群あたり $n=5$) を静脈内 (IV) 又は筋肉内 (IM) により $3 \mu\text{g}$ の *ctrl mRNA* + $3 \mu\text{g}$ の *CpG* 又は $3 \mu\text{g}$ の *RBD mRNA* + $3 \mu\text{g}$ の *CpG* で D1 とで免疫化し、プライミング後に D21 にブーストした。105 日目に、プールされた脾細胞を回収し、 $\text{CD}4^+$ 及び $\text{CD}8^+$ T 細胞について濃縮し、直接エクスピボ *IFN γ ELISpot* アッセイのための *RBD* ペプチド混合物で 16 時間別々に刺激した (図 21A)。ELISpot 分析のために、それぞれの群からの脾細胞を 3 連で測定した。さらに、個々のマウスの全脾細胞 (1 群あたり $n=5$) を培地又は *RBD* ペプチドプールと 18 時間インキュベートした (図 21B)。インキュベーション後、細胞を回収し、T 細胞記憶マーカー $\text{CD}44$ 及び *IFN γ* (図 21C)、または $\text{CD}44$ 並びに細胞内サイトカイン *IFN γ* 、*TNF α* 、及び *IL-4* (図 21D) について染色した。各ドットは、個々のマウスの測定値を表す。 $** = P < 0.01$ 、 $*** = P < 0.001$ 一元配置分散分析 (テューキー多重比較検定)。

【図 22A】免疫化マウスの中和抗体レベルは、ワクチン接種されたヒトで達成されたものに匹敵することを示す。免疫化マウスから血清 (IM-三角形、IV-四角、 $n=5$) を 28 日目に回収した。*Pfizer/BioNTech* の *mRNA* ワクチンを接種した献血者 ($n=13$) からの血清を、ブースト前 7 日以内 (ブースト前、丸) 又はブースト後 15 ± 4 日以内 (ブースト後、ダイヤモンド) (図 22A) のいずれかに回収され、市販の代理ウイルス中和試験 (図 22B) を使用して、*RBD/ACE-2* 結合を阻害する能力について試験した。 $* = P < 0.05$ 、 $**** = P < 0.0001$ 一元配置分散分析 (テューキー多重比較検定)。

【図 22B】免疫化マウスの中和抗体レベルは、ワクチン接種されたヒトで達成されたものに匹敵することを示す。免疫化マウスから血清 (IM-三角形、IV-四角、 $n=5$) を 28 日目に回収した。*Pfizer/BioNTech* の *mRNA* ワクチンを接種した献血者 ($n=13$) からの血清を、ブースト前 7 日以内 (ブースト前、丸) 又はブースト後 15 ± 4 日以内 (ブースト後、ダイヤモンド) (図 22A) のいずれかに回収され、市販の代理ウイルス中和試験 (図 22B) を使用して、*RBD/ACE-2* 結合を阻害する能力について試験した。 $* = P < 0.05$ 、 $**** = P < 0.0001$ 一元配置分散分析 (テューキー多重比較検定)。

【図 23A】*CART* オリゴマー及び *CART/mRNA NP* の特徴付けを示す。*CART O₆-stat-N₆:A₉* の ^1H NMR スペクトル (CD_3OH 、 500MHz) を示す。 CD_3OD : *BnOH* 末端基 7.35ppm 、 5H (C_5H_5) ; ノネニルセグメント 0.9ppm 、 18H (CH_3) ; オレイルセグメント 0.85ppm 、 18H (CH_3)、アミノエステルセグメント 3.5ppm 、 18H (CH_2) の相対比を示す。平均分子量 (*N-Boc* 保護オリゴマーのゲル浸透クロマトグラフィー対ポリスチレン標準): $M_n = 4.3\text{kDa}$ 、 $D = 1.19$ 。これらの比を比較すると、 $\text{DP}1:6:6:9$ の統計的トリブロック *CART* が示される (図 23A)。*CART* ヌクレオチドナ

ノ粒子製剤及び物理的特徴付け。^a ナノ粒子サイズは、動的光散乱 (DLS) を使用して測定した。各値は、同じ単位で対応する標準偏差を有する独立に調製された製剤を用いた3回の試行の平均である。これらの試料の分析からのナノ粒子サイズの関数としての散乱光の強度のプロットは、粒子サイズの1つの単峰性分布を示す。^b ゼータ電位測定は、電気泳動光散乱 (ELS) を使用して行った。各値は、独立に調製された製剤を使用した3回の試行からの6回の測定値の平均であり (各試行について、2回の測定値が連続して取得された)、同じ単位で対応する標準偏差を有する。^c カプセル化効率は、RNA 特異的 Qubit RNA BR 色素 (Q10210; Invitrogen) の蛍光によって測定した。RBD-mRNA 又は RBD-mRNA + CpG は、合計 840 ng のヌクレオチドカーゴと、正味 10:1 (カチオン:アニオン) 比で十分な CART を使用して、複合体を形成した。これを、5 µL の Qubit 試薬を含む 0.75 mL の RNase フリー脱イオン水に加えた。溶液の蛍光は、励起波長 630 (スリット幅 4 nm) 及び発光波長 680 nm (スリット幅 4 nm) を使用して、直ちに測定した。% カプセル化は、Qubit 色素単独 (ヌクレオチドなし) の蛍光を差し引き、非複合 mRNA を有する Qubit の蛍光に正規化することによって決定された (図 23B)。

10

【図 23B】 CART オリゴマー及び CART/mRNA NP の特徴付けを示す。CART O₆-stat-N₆:A₉ の ¹H NMR スペクトル (CD₃OH、500 MHz) を示す。CD₃OD: BnOH 末端基 7.35 ppm、5H (C₅H₅) ; ノネニルセグメント 0.9 ppm、18H (CH₃) ; オレイルセグメント 0.85 ppm、18H (CH₃)、アミノエステルセグメント 3.5 ppm、18H (CH₂) の相対比を示す。平均分子量 (N-Boc 保護オリゴマーのゲル浸透クロマトグラフィー対ポリスチレン標準): Mn = 4.3 kDa、D = 1.19。これらの比を比較すると、DP 1:6:6:9 の統計的トリブロック CART が示される (図 23A)。CART ヌクレオチドナノ粒子製剤及び物理的特徴付け。^a ナノ粒子サイズは、動的光散乱 (DLS) を使用して測定した。各値は、同じ単位で対応する標準偏差を有する独立に調製された製剤を用いた3回の試行の平均である。これらの試料の分析からのナノ粒子サイズの関数としての散乱光の強度のプロットは、粒子サイズの1つの単峰性分布を示す。^b ゼータ電位測定は、電気泳動光散乱 (ELS) を使用して行った。各値は、独立に調製された製剤を使用した3回の試行からの6回の測定値の平均であり (各試行について、2回の測定値が連続して取得された)、同じ単位で対応する標準偏差を有する。^c カプセル化効率は、RNA 特異的 Qubit RNA BR 色素 (Q10210; Invitrogen) の蛍光によって測定した。RBD-mRNA 又は RBD-mRNA + CpG は、合計 840 ng のヌクレオチドカーゴと、正味 10:1 (カチオン:アニオン) 比で十分な CART を使用して、複合体を形成した。これを、5 µL の Qubit 試薬を含む 0.75 mL の RNase フリー脱イオン水に加えた。溶液の蛍光は、励起波長 630 (スリット幅 4 nm) 及び発光波長 680 nm (スリット幅 4 nm) を使用して、直ちに測定した。% カプセル化は、Qubit 色素単独 (ヌクレオチドなし) の蛍光を差し引き、非複合 mRNA を有する Qubit の蛍光に正規化することによって決定された (図 23B)。

20

30

【図 24A】 293F 細胞に CART-RBD mRNA をトランスフェクトしたことを示す。16 時間後、上清を RBD-His 発現についてウエスタンブロットで分析した。陰性対照は、トランスフェクトされていない細胞からの培地である。100 ng の精製 RBD タンパク質を陽性対照として使用した (図 24A)。示された mRNA を使用して、mRNA-CART 複合体の IV 注射後 24 時間の循環免疫細胞サブセットに対する CD69 アップレギュレーションを示す。非免疫刺激性 mRNA EGFP mRNA (5 moU) (L-7201 Trilink)、免疫刺激性 mRNA: CleanCapTM FLuc mRNA (L-7602 Trilink) (図 24B)。複数の独立した実験からのプールされたデータ。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された: P > 0.05 (ns)、P ≤ 0.001 (***)。

40

【図 24B】 293F 細胞に CART-RBD mRNA をトランスフェクトしたことを示す。16 時間後、上清を RBD-His 発現についてウエスタンブロットで分析した。

50

陰性対照は、トランスフェクトされていない細胞からの培地である。100 ngの精製 RBDタンパク質を陽性対照として使用した（図24A）。示されたmRNAを使用して、mRNA-CART複合体のIV注射後24時間の循環免疫細胞サブセットに対するCD69アップレギュレーションを示す。非免疫刺激性mRNA EGFP mRNA（5 moU）（L-7201 Trilink）、免疫刺激性mRNA：CleanCapTM FLuc mRNA（L-7602 Trilink）（図24B）。複数の独立した実験からのプールされたデータ。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された： $P > 0.05$ （ns）、 $P \leq 0.001$ （***）。

【図25A】RBD mRNA+CpG-CARTは、プライミング後4日に早くも抗RBD免疫グロブリン応答を誘発することを示す。BALB/cマウスを、3 ugのRBD-CART（n=5）、3 ugのRBD-CART mRNAと3 ugのCpG（n=5）、CpG CART（n=5）、又はナイーブ未処置（n=5）のいずれかで静脈内免疫化し、Day+4とDay+8とにブーストした。RBD-CART mRNA（丸）、RBD-CART mRNAとCpG（四角）、CpG CART（ダイヤモンド）、及びナイーブ（三角形）マウスからのRBD特異的IgGの血清レベルを、プライミング後の4日にELISAによって試験した（図25A）。同じ血清試料を、5 ug/mlのGFP-Hisタンパク質でコーティングしたELISAプレートを使用して、無関係なHisタグ付きGFP（GFP-His）タンパク質との交差反応性について試験し、抗His抗体陽性プレート対照（ダイヤモンド）と比較した（図25B）。

【図25B】RBD mRNA+CpG-CARTは、プライミング後4日に早くも抗RBD免疫グロブリン応答を誘発することを示す。BALB/cマウスを、3 ugのRBD-CART（n=5）、3 ugのRBD-CART mRNAと3 ugのCpG（n=5）、CpG CART（n=5）、又はナイーブ未処置（n=5）のいずれかで静脈内免疫化し、Day+4とDay+8とにブーストした。RBD-CART mRNA（丸）、RBD-CART mRNAとCpG（四角）、CpG CART（ダイヤモンド）、及びナイーブ（三角形）マウスからのRBD特異的IgGの血清レベルを、プライミング後の4日にELISAによって試験した（図25A）。同じ血清試料を、5 ug/mlのGFP-Hisタンパク質でコーティングしたELISAプレートを使用して、無関係なHisタグ付きGFP（GFP-His）タンパク質との交差反応性について試験し、抗His抗体陽性プレート対照（ダイヤモンド）と比較した（図25B）。

【図26A】RBD mRNA+CpG-CARTは、早期免疫グロブリンアイソタイプスイッチを誘導し、高レベルのACE-2-RBD中和抗体を生成することを示す。BALB/cマウスを、3 ugのRBD-CART（n=5）、3 ugのRBD-CART mRNAと3 ugのCpG（n=5）、CpG CART（n=5）、又はナイーブ未処置（n=5）のいずれかで静脈内免疫化し、プライミング後D4及びD8にブーストした。RBD-CART mRNA（丸）、RBD-CART mRNAとCpG（四角）、免疫化マウスからの血清を、Day+14日目（図26A）に採取し、及びDay+60日目（図26B）に採取し、RBDに特異的なIgGアイソタイプの分布を、抗マウスIgG1、IgG2a、IgG2b及びIgG3モノクローナル抗体を使用してELISAで分析した。

【図26B】RBD mRNA+CpG-CARTは、早期免疫グロブリンアイソタイプスイッチを誘導し、高レベルのACE-2-RBD中和抗体を生成することを示す。BALB/cマウスを、3 ugのRBD-CART（n=5）、3 ugのRBD-CART mRNAと3 ugのCpG（n=5）、CpG CART（n=5）、又はナイーブ未処置（n=5）のいずれかで静脈内免疫化し、プライミング後D4及びD8にブーストした。RBD-CART mRNA（丸）、RBD-CART mRNAとCpG（四角）、免疫化マウスからの血清を、Day+14日目（図26A）に採取し、及びDay+60日目（図26B）に採取し、RBDに特異的なIgGアイソタイプの分布を、抗マウスIgG1、IgG2a、IgG2b及びIgG3モノクローナル抗体を使用してELISAで分析した。

【図27A】皮下及び筋肉内RBD mRNA + CpG-CARTワクチン投与は、堅牢なアイソタイプスイッチングされた抗RBD免疫グロブリン応答を誘導することを示す。1群あたり5匹のBALB/cマウスを、3ugのRBD-CART mRNAと3ugのCpGで、静脈内(IV)、筋肉内(IM)又は皮下(SC)によって免疫化し、プライミング後にD8にブーストした(図27A)。血清中のRBD特異的免疫グロブリン力価をD14及びD28に測定した(図27B)。RBD特異的IgG1、IgG2a、IgG2b及びIgG3をDay+14に測定した。2つの個々の実験を表すデータ(図27C)。

【図27B】皮下及び筋肉内RBD mRNA + CpG-CARTワクチン投与は、堅牢なアイソタイプスイッチングされた抗RBD免疫グロブリン応答を誘導することを示す。1群あたり5匹のBALB/cマウスを、3ugのRBD-CART mRNAと3ugのCpGで、静脈内(IV)、筋肉内(IM)又は皮下(SC)によって免疫化し、プライミング後にD8にブーストした(図27A)。血清中のRBD特異的免疫グロブリン力価をD14及びD28に測定した(図27B)。RBD特異的IgG1、IgG2a、IgG2b及びIgG3をDay+14に測定した。2つの個々の実験を表すデータ(図27C)。

【図27C】皮下及び筋肉内RBD mRNA + CpG-CARTワクチン投与は、堅牢なアイソタイプスイッチングされた抗RBD免疫グロブリン応答を誘導することを示す。1群あたり5匹のBALB/cマウスを、3ugのRBD-CART mRNAと3ugのCpGで、静脈内(IV)、筋肉内(IM)又は皮下(SC)によって免疫化し、プライミング後にD8にブーストした(図27A)。血清中のRBD特異的免疫グロブリン力価をD14及びD28に測定した(図27B)。RBD特異的IgG1、IgG2a、IgG2b及びIgG3をDay+14に測定した。2つの個々の実験を表すデータ(図27C)。

【図28A】中和抗体の誘導は、CpG供給源とは無関係であることを示す。1群あたり5匹のBALB/cマウスを、3ugのRBD-CART mRNAと3ugのCpGで、CpGの3つの異なる供給源(IMO/2055、SD101又はODN2395)を使用して、静脈内(IV)又は筋肉内(IM)によって免疫化し、プライミング後にD21にブーストした(図28A)。D21及びD28に回収した免疫化マウス由来の血清を、市販のRBD-ACE-2阻害アッセイを使用して、RBD-ACE-2結合を阻害する能力について試験した(図28B)。D21及びD28に回収した免疫化マウス由来の血清を、ELISA法により完全なSpikeタンパク質に結合する能力について試験した(図28C)。

【図28B】中和抗体の誘導は、CpG供給源とは無関係であることを示す。中和抗体の誘導は、CpG供給源とは無関係であることを示す。1群あたり5匹のBALB/cマウスを、3ugのRBD-CART mRNAと3ugのCpGで、CpGの3つの異なる供給源(IMO/2055、SD101又はODN2395)を使用して、静脈内(IV)又は筋肉内(IM)によって免疫化し、プライミング後にD21にブーストした(図28A)。D21及びD28に回収した免疫化マウス由来の血清を、市販のRBD-ACE-2阻害アッセイを使用して、RBD-ACE-2結合を阻害する能力について試験した(図28B)。D21及びD28に回収した免疫化マウス由来の血清を、ELISA法により完全なSpikeタンパク質に結合する能力について試験した(図28C)。

【図28C】中和抗体の誘導は、CpG供給源とは無関係であることを示す。中和抗体の誘導は、CpG供給源とは無関係であることを示す。1群あたり5匹のBALB/cマウスを、3ugのRBD-CART mRNAと3ugのCpGで、CpGの3つの異なる供給源(IMO/2055、SD101又はODN2395)を使用して、静脈内(IV)又は筋肉内(IM)によって免疫化し、プライミング後にD21にブーストした(図28A)。D21及びD28に回収した免疫化マウス由来の血清を、市販のRBD-ACE-2阻害アッセイを使用して、RBD-ACE-2結合を阻害する能力について試験した(図28B)。D21及びD28に回収した免疫化マウス由来の血清を、ELISA法に

10

20

30

40

50

より完全な S p i k e タンパク質に結合する能力について試験した（図 2 8 C）。

【図 2 9 A】マウスを、図 2 8 A ～ 2 8 C に記載されるように免疫化した。血清中の R B D 特異的免疫グロブリン力価を D 2 8（図 2 9 A）及び D 2 1（図 2 9 B）に測定した。D 2 1 の血清中の R B D 特異的抗体の絶対濃度の定量化を示す（図 2 9 C）。

【図 2 9 B】マウスを、図 2 8 A ～ 2 8 C に記載されるように免疫化した。血清中の R B D 特異的免疫グロブリン力価を D 2 8（図 2 9 A）及び D 2 1（図 2 9 B）に測定した。D 2 1 の血清中の R B D 特異的抗体の絶対濃度の定量化を示す（図 2 9 C）。

【図 2 9 C】マウスを、図 2 8 A ～ 2 8 C に記載されるように免疫化した。血清中の R B D 特異的免疫グロブリン力価を D 2 8（図 2 9 A）及び D 2 1（図 2 9 B）に測定した。D 2 1 の血清中の R B D 特異的抗体の絶対濃度の定量化を示す（図 2 9 C）。

【図 3 0】D 1 及び D 2 1 に、3 . i g R B D - m R N A + 3 . i g C p G - C A R T 又は 3 . i g c t r l m R N A + 3 . i g C p G - C A R T を I V 又は I M でワクチン接種したマウスの脾細胞を、ワクチン接種後 D 1 0 5 に回収し、R B D ペプチドプール又は培地で 1 8 時間インキュベートしたことを示すグラフである。刺激後、細胞内サイトカイン染色フローサイトメトリーによって、細胞を I F N、T N F 又は I L - 4 産生について分析した。

【図 3 1 A】R B D m R N A - C p G - C A R T S a r s - C o v - 2 ワクチンの安全性評価を示す。マウス（1 群あたり 6 匹）に、P B S、C A R T で製剤化した 3 u g の G F P m R N A 又は 3 u g の G F P m R N A と C A R T で製剤化した 3 u g の C p G、又は C A R T で製剤化した 3 u g の R B D m R N A と 3 u g の C p G を注射した。治療薬は、0 日目（プライム）及び 2 1 日目（ブースト）に、尾静脈（I V）又は筋肉（I M）に注射した。注射及び安全性測定のスケジュールを表す概略図（図 3 1 A）である。マウスの体重は、0 日目（初回処置前）、1 日目、2 日目、4 日目及び 7 日目に、I M（図 3 1 B）及び、I V（図 3 1 C）処置マウスについて測定した。白血球（W B C）カウントは、1 日目（図 3 1 D）、2 日目（図 3 1 E）、及び 4 日目（図 3 1 F）に評価した。データは対照群に対するパーセンテージを示した。サイトカインの測定のために 1 日目及び 7 日目に血清を回収した。2 2 日目及び 2 6 日目に、1 群あたり 3 匹のマウスを殺し、剖検評価及び全血球数を評価し、サイトカイン及び肝酵素の測定のために血清を採取した。I P 1 0 を 1 日目（D 1 プライム後）（図 3 1 G）、及び 7 日目（プライム後 1 週間）（図 3 1 H）に採取した血清で測定した。I F α を 1 日目（D 1 プライム後）（図 3 1 I）及び、7 日目（プライム後 1 週間）（図 3 1 J）に採取した血清で測定した。血清中のアラニントランスフェラーゼ（A L T）を 2 2 日目（ブースト後の D 1）（図 3 1 K）及び 2 6 日目（D 5 ブースト後）（図 3 1 L）に血清で測定し、及び、アスパラギン酸トランスフェラーゼ（A S T）を 2 2 日目（ブースト後 D 1）（図 3 1 M）及び、2 6 日目（ブースト後 D 5）（図 3 1 N）の血清中に測定した。実験は 1 回行った。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された：P > 0 . 0 5（n s）、P ≤ 0 . 0 5（*）、P ≤ 0 . 0 1（**）、P ≤ 0 . 0 0 1（***）、P ≤ 0 . 0 0 0 1（****）。

【図 3 1 B】R B D m R N A - C p G - C A R T S a r s - C o v - 2 ワクチンの安全性評価を示す。マウス（1 群あたり 6 匹）に、P B S、C A R T で製剤化した 3 u g の G F P m R N A 又は 3 u g の G F P m R N A と C A R T で製剤化した 3 u g の C p G、又は C A R T で製剤化した 3 u g の R B D m R N A と 3 u g の C p G を注射した。治療薬は、0 日目（プライム）及び 2 1 日目（ブースト）に、尾静脈（I V）又は筋肉（I M）に注射した。注射及び安全性測定のスケジュールを表す概略図（図 3 1 A）である。マウスの体重は、0 日目（初回処置前）、1 日目、2 日目、4 日目及び 7 日目に、I M（図 3 1 B）及び、I V（図 3 1 C）処置マウスについて測定した。白血球（W B C）カウントは、1 日目（図 3 1 D）、2 日目（図 3 1 E）、及び 4 日目（図 3 1 F）に評価した。データは対照群に対するパーセンテージを示した。サイトカインの測定のために 1 日目及び 7 日目に血清を回収した。2 2 日目及び 2 6 日目に、1 群あたり 3 匹のマウスを殺し、剖検評価及び全血球数を評価し、サイトカイン及び肝酵素の測定のために血清を採取した。I P 1 0 を 1 日目（D 1 プライム後）（図 3 1 G）、及び 7 日目（プライム後 1 週

10

20

30

40

50

間) (図31H) に採取した血清で測定した。IF α を1日目(D1プライム後) (図31I) 及び、7日目(プライム後1週間) (図31J) に採取した血清で測定した。血清中のアラニントランスフェラーゼ(ALT)を22日目(ブースト後のD1) (図31K) 及び26日目(D5ブースト後) (図31L) に血清で測定し、及び、アスパラギン酸トランスフェラーゼ(AST)を22日目(ブースト後D1) (図31M) 及び、26日目(ブースト後D5) (図31N) の血清中にて測定した。実験は1回行った。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された: $P > 0.05$ (ns)、 $P \leq 0.05$ (*), $P \leq 0.01$ (**), $P \leq 0.001$ (***)、 $P \leq 0.0001$ (****)。

【図31C】RBD mRNA-CpG-CART Sars-Cov-2ワクチンの安全性評価を示す。マウス(1群あたり6匹)に、PBS、CARTで製剤化した3ugの GFP mRNA又は3ugの GFP mRNAとCARTで製剤化した3ugのCpG、又はCARTで製剤化した3ugのRBD mRNAと3ugのCpGを注射した。治療薬は、0日目(プライム)及び21日目(ブースト)に、尾静脈(IV)又は筋肉(IM)に注射した。注射及び安全性測定のスケジュールを表す概略図(図31A)である。マウスの体重は、0日目(初回処置前)、1日目、2日目、4日目及び7日目に、IM(図31B)及び、IV(図31C)処置マウスについて測定した。白血球(WBC)カウントは、1日目(図31D)、2日目(図31E)、及び4日目(図31F)に評価した。データは対照群に対するパーセンテージを示した。サイトカインの測定のために1日目及び7日目に血清を回収した。22日目及び26日目に、1群あたり3匹のマウスを 殺し、剖検評価及び全血球数を評価し、サイトカイン及び肝酵素の測定のために血清を採取した。IP10を1日目(D1プライム後) (図31G)、及び7日目(プライム後1週間) (図31H) に採取した血清で測定した。IF α を1日目(D1プライム後) (図31I) 及び、7日目(プライム後1週間) (図31J) に採取した血清で測定した。血清中のアラニントランスフェラーゼ(ALT)を22日目(ブースト後のD1) (図31K) 及び26日目(D5ブースト後) (図31L) に血清で測定し、及び、アスパラギン酸トランスフェラーゼ(AST)を22日目(ブースト後D1) (図31M) 及び、26日目(ブースト後D5) (図31N) の血清中にて測定した。実験は1回行った。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された: $P > 0.05$ (ns)、 $P \leq 0.05$ (*), $P \leq 0.01$ (**), $P \leq 0.001$ (***)、 $P \leq 0.0001$ (****)。

【図31D】RBD mRNA-CpG-CART Sars-Cov-2ワクチンの安全性評価を示す。マウス(1群あたり6匹)に、PBS、CARTで製剤化した3ugの GFP mRNA又は3ugの GFP mRNAとCARTで製剤化した3ugのCpG、又はCARTで製剤化した3ugのRBD mRNAと3ugのCpGを注射した。治療薬は、0日目(プライム)及び21日目(ブースト)に、尾静脈(IV)又は筋肉(IM)に注射した。注射及び安全性測定のスケジュールを表す概略図(図31A)である。マウスの体重は、0日目(初回処置前)、1日目、2日目、4日目及び7日目に、IM(図31B)及び、IV(図31C)処置マウスについて測定した。白血球(WBC)カウントは、1日目(図31D)、2日目(図31E)、及び4日目(図31F)に評価した。データは対照群に対するパーセンテージを示した。サイトカインの測定のために1日目及び7日目に血清を回収した。22日目及び26日目に、1群あたり3匹のマウスを 殺し、剖検評価及び全血球数を評価し、サイトカイン及び肝酵素の測定のために血清を採取した。IP10を1日目(D1プライム後) (図31G)、及び7日目(プライム後1週間) (図31H) に採取した血清で測定した。IF α を1日目(D1プライム後) (図31I) 及び、7日目(プライム後1週間) (図31J) に採取した血清で測定した。血清中のアラニントランスフェラーゼ(ALT)を22日目(ブースト後のD1) (図31K) 及び26日目(D5ブースト後) (図31L) に血清で測定し、及び、アスパラギン酸トランスフェラーゼ(AST)を22日目(ブースト後D1) (図31M) 及び、26日目(ブースト後D5) (図31N) の血清中にて測定した。実験は1回行った。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された: $P > 0.05$ (ns)、 $P \leq 0.05$ (*), $P \leq 0.01$ (**), $P \leq 0.001$ (***)、 $P \leq 0.0001$ (****)。

【図31E】RBD mRNA-CpG-CART Sars-Cov-2ワクチンの安全性評価を示す。マウス（1群あたり6匹）に、PBS、CARTで製剤化した3ugのGFP mRNA又は3ugのGFP mRNAとCARTで製剤化した3ugのCpG、又はCARTで製剤化した3ugのRBD mRNAと3ugのCpGを注射した。治療薬は、0日目（プライム）及び21日目（ブースト）に、尾静脈（IV）又は筋肉（IM）に注射した。注射及び安全性測定のスケジュールを表す概略図（図31A）である。マウスの体重は、0日目（初回処置前）、1日目、2日目、4日目及び7日目に、IM（図31B）及び、IV（図31C）処置マウスについて測定した。白血球（WBC）カウントは、1日目（図31D）、2日目（図31E）、及び4日目（図31F）に評価した。データは対照群に対するパーセンテージを示した。サイトカインの測定のために1日目及び7日目に血清を回収した。22日目及び26日目に、1群あたり3匹のマウスを殺し、剖検評価及び全血球数を評価し、サイトカイン及び肝酵素の測定のために血清を採取した。IP10を1日目（D1プライム後）（図31G）、及び7日目（プライム後1週間）（図31H）に採取した血清で測定した。IFαを1日目（D1プライム後）（図31I）及び、7日目（プライム後1週間）（図31J）に採取した血清で測定した。血清中のアラニントランスフェラーゼ（ALT）を22日目（ブースト後のD1）（図31K）及び26日目（D5ブースト後）（図31L）に血清で測定し、及び、アスパラギン酸トランスフェラーゼ（AST）を22日目（ブースト後D1）（図31M）及び、26日目（ブースト後D5）（図31N）の血清中にて測定した。実験は1回行った。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された： $P > 0.05$ （ns）、 $P \leq 0.05$ （*）、 $P \leq 0.01$ （**）、 $P \leq 0.001$ （***）、 $P \leq 0.0001$ （****）。

【図31F】RBD mRNA-CpG-CART Sars-Cov-2ワクチンの安全性評価を示す。マウス（1群あたり6匹）に、PBS、CARTで製剤化した3ugのGFP mRNA又は3ugのGFP mRNAとCARTで製剤化した3ugのCpG、又はCARTで製剤化した3ugのRBD mRNAと3ugのCpGを注射した。治療薬は、0日目（プライム）及び21日目（ブースト）に、尾静脈（IV）又は筋肉（IM）に注射した。注射及び安全性測定のスケジュールを表す概略図（図31A）である。マウスの体重は、0日目（初回処置前）、1日目、2日目、4日目及び7日目に、IM（図31B）及び、IV（図31C）処置マウスについて測定した。白血球（WBC）カウントは、1日目（図31D）、2日目（図31E）、及び4日目（図31F）に評価した。データは対照群に対するパーセンテージを示した。サイトカインの測定のために1日目及び7日目に血清を回収した。22日目及び26日目に、1群あたり3匹のマウスを殺し、剖検評価及び全血球数を評価し、サイトカイン及び肝酵素の測定のために血清を採取した。IP10を1日目（D1プライム後）（図31G）、及び7日目（プライム後1週間）（図31H）に採取した血清で測定した。IFαを1日目（D1プライム後）（図31I）及び、7日目（プライム後1週間）（図31J）に採取した血清で測定した。血清中のアラニントランスフェラーゼ（ALT）を22日目（ブースト後のD1）（図31K）及び26日目（D5ブースト後）（図31L）に血清で測定し、及び、アスパラギン酸トランスフェラーゼ（AST）を22日目（ブースト後D1）（図31M）及び、26日目（ブースト後D5）（図31N）の血清中にて測定した。実験は1回行った。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された： $P > 0.05$ （ns）、 $P \leq 0.05$ （*）、 $P \leq 0.01$ （**）、 $P \leq 0.001$ （***）、 $P \leq 0.0001$ （****）。

【図31G】RBD mRNA-CpG-CART Sars-Cov-2ワクチンの安全性評価を示す。マウス（1群あたり6匹）に、PBS、CARTで製剤化した3ugのGFP mRNA又は3ugのGFP mRNAとCARTで製剤化した3ugのCpG、又はCARTで製剤化した3ugのRBD mRNAと3ugのCpGを注射した。治療薬は、0日目（プライム）及び21日目（ブースト）に、尾静脈（IV）又は筋肉（IM）に注射した。注射及び安全性測定のスケジュールを表す概略図（図31A）である。マウスの体重は、0日目（初回処置前）、1日目、2日目、4日目及び7日目に、IM（図31B）及び、IV（図31C）処置マウスについて測定した。白血球（WBC）カウ

ントは、1日目（図31D）、2日目（図31E）、及び4日目（図31F）に評価した。データは対照群に対するパーセンテージを示した。サイトカインの測定のために1日目及び7日目に血清を回収した。22日目及び26日目に、1群あたり3匹のマウスを殺し、剖検評価及び全血球数を評価し、サイトカイン及び肝酵素の測定のために血清を採取した。IP10を1日目（D1プライム後）（図31G）、及び7日目（プライム後1週間）（図31H）に採取した血清で測定した。IF α を1日目（D1プライム後）（図31I）及び、7日目（プライム後1週間）（図31J）に採取した血清で測定した。血清中のアラニントランスフェラーゼ（ALT）を22日目（ブースト後のD1）（図31K）及び26日目（D5ブースト後）（図31L）に血清で測定し、及び、アスパラギン酸トランスフェラーゼ（AST）を22日目（ブースト後D1）（図31M）及び、26日目（ブースト後D5）（図31N）の血清中にて測定した。実験は1回行った。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された： $P > 0.05$ （ns）、 $P \leq 0.05$ （*）、 $P \leq 0.01$ （**）、 $P \leq 0.001$ （***）、 $P \leq 0.0001$ （****）。

【図31H】RBD mRNA-CpG-CART Sars-Cov-2ワクチンの安全性評価を示す。マウス（1群あたり6匹）に、PBS、CARTで製剤化した3ugのGFP mRNA又は3ugのGFP mRNAとCARTで製剤化した3ugのCpG、又はCARTで製剤化した3ugのRBD mRNAと3ugのCpGを注射した。治療薬は、0日目（プライム）及び21日目（ブースト）に、尾静脈（IV）又は筋肉（IM）に注射した。注射及び安全性測定のスケジュールを表す概略図（図31A）である。マウスの体重は、0日目（初回処置前）、1日目、2日目、4日目及び7日目に、IM（図31B）及び、IV（図31C）処置マウスについて測定した。白血球（WBC）カウントは、1日目（図31D）、2日目（図31E）、及び4日目（図31F）に評価した。データは対照群に対するパーセンテージを示した。サイトカインの測定のために1日目及び7日目に血清を回収した。22日目及び26日目に、1群あたり3匹のマウスを殺し、剖検評価及び全血球数を評価し、サイトカイン及び肝酵素の測定のために血清を採取した。IP10を1日目（D1プライム後）（図31G）、及び7日目（プライム後1週間）（図31H）に採取した血清で測定した。IF α を1日目（D1プライム後）（図31I）及び、7日目（プライム後1週間）（図31J）に採取した血清で測定した。血清中のアラニントランスフェラーゼ（ALT）を22日目（ブースト後のD1）（図31K）及び26日目（D5ブースト後）（図31L）に血清で測定し、及び、アスパラギン酸トランスフェラーゼ（AST）を22日目（ブースト後D1）（図31M）及び、26日目（ブースト後D5）（図31N）の血清中にて測定した。実験は1回行った。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された： $P > 0.05$ （ns）、 $P \leq 0.05$ （*）、 $P \leq 0.01$ （**）、 $P \leq 0.001$ （***）、 $P \leq 0.0001$ （****）。

【図31I】RBD mRNA-CpG-CART Sars-Cov-2ワクチンの安全性評価を示す。マウス（1群あたり6匹）に、PBS、CARTで製剤化した3ugのGFP mRNA又は3ugのGFP mRNAとCARTで製剤化した3ugのCpG、又はCARTで製剤化した3ugのRBD mRNAと3ugのCpGを注射した。治療薬は、0日目（プライム）及び21日目（ブースト）に、尾静脈（IV）又は筋肉（IM）に注射した。注射及び安全性測定のスケジュールを表す概略図（図31A）である。マウスの体重は、0日目（初回処置前）、1日目、2日目、4日目及び7日目に、IM（図31B）及び、IV（図31C）処置マウスについて測定した。白血球（WBC）カウントは、1日目（図31D）、2日目（図31E）、及び4日目（図31F）に評価した。データは対照群に対するパーセンテージを示した。サイトカインの測定のために1日目及び7日目に血清を回収した。22日目及び26日目に、1群あたり3匹のマウスを殺し、剖検評価及び全血球数を評価し、サイトカイン及び肝酵素の測定のために血清を採取した。IP10を1日目（D1プライム後）（図31G）、及び7日目（プライム後1週間）（図31H）に採取した血清で測定した。IF α を1日目（D1プライム後）（図31I）及び、7日目（プライム後1週間）（図31J）に採取した血清で測定した。血清中のアラニントランスフェラーゼ（ALT）を22日目（ブースト後のD1）（図31K

）及び26日目（D5ブースト後）（図31L）に血清で測定し、及び、アスパラギン酸トランスフェラーゼ（AST）を22日目（ブースト後D1）（図31M）及び、26日目（ブースト後D5）（図31N）の血清中にて測定した。実験は1回行った。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された： $P > 0.05$ （ns）、 $P \leq 0.05$ （*）、 $P \leq 0.01$ （**）、 $P \leq 0.001$ （***）、 $P \leq 0.0001$ （****）。

【図31J】RBD mRNA-CpG-CART Sars-Cov-2ワクチンの安全性評価を示す。マウス（1群あたり6匹）に、PBS、CARTで製剤化した3ugのGFP mRNA又は3ugのGFP mRNAとCARTで製剤化した3ugのCpG、又はCARTで製剤化した3ugのRBD mRNAと3ugのCpGを注射した。治療薬は、0日目（プライム）及び21日目（ブースト）に、尾静脈（IV）又は筋肉（IM）に注射した。注射及び安全性測定のスケジュールを表す概略図（図31A）である。マウスの体重は、0日目（初回処置前）、1日目、2日目、4日目及び7日目に、IM（図31B）及び、IV（図31C）処置マウスについて測定した。白血球（WBC）カウントは、1日目（図31D）、2日目（図31E）、及び4日目（図31F）に評価した。データは対照群に対するパーセンテージを示した。サイトカインの測定のために1日目及び7日目に血清を回収した。22日目及び26日目に、1群あたり3匹のマウスを殺し、剖検評価及び全血球数を評価し、サイトカイン及び肝酵素の測定のために血清を採取した。IP10を1日目（D1プライム後）（図31G）、及び7日目（プライム後1週間）（図31H）に採取した血清で測定した。IFαを1日目（D1プライム後）（図31I）及び、7日目（プライム後1週間）（図31J）に採取した血清で測定した。血清中のアラニントランスフェラーゼ（ALT）を22日目（ブースト後のD1）（図31K）及び26日目（D5ブースト後）（図31L）に血清で測定し、及び、アスパラギン酸トランスフェラーゼ（AST）を22日目（ブースト後D1）（図31M）及び、26日目（ブースト後D5）（図31N）の血清中にて測定した。実験は1回行った。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された： $P > 0.05$ （ns）、 $P \leq 0.05$ （*）、 $P \leq 0.01$ （**）、 $P \leq 0.001$ （***）、 $P \leq 0.0001$ （****）。

【図31K】RBD mRNA-CpG-CART Sars-Cov-2ワクチンの安全性評価を示す。マウス（1群あたり6匹）に、PBS、CARTで製剤化した3ugのGFP mRNA又は3ugのGFP mRNAとCARTで製剤化した3ugのCpG、又はCARTで製剤化した3ugのRBD mRNAと3ugのCpGを注射した。治療薬は、0日目（プライム）及び21日目（ブースト）に、尾静脈（IV）又は筋肉（IM）に注射した。注射及び安全性測定のスケジュールを表す概略図（図31A）である。マウスの体重は、0日目（初回処置前）、1日目、2日目、4日目及び7日目に、IM（図31B）及び、IV（図31C）処置マウスについて測定した。白血球（WBC）カウントは、1日目（図31D）、2日目（図31E）、及び4日目（図31F）に評価した。データは対照群に対するパーセンテージを示した。サイトカインの測定のために1日目及び7日目に血清を回収した。22日目及び26日目に、1群あたり3匹のマウスを殺し、剖検評価及び全血球数を評価し、サイトカイン及び肝酵素の測定のために血清を採取した。IP10を1日目（D1プライム後）（図31G）、及び7日目（プライム後1週間）（図31H）に採取した血清で測定した。IFαを1日目（D1プライム後）（図31I）及び、7日目（プライム後1週間）（図31J）に採取した血清で測定した。血清中のアラニントランスフェラーゼ（ALT）を22日目（ブースト後のD1）（図31K）及び26日目（D5ブースト後）（図31L）に血清で測定し、及び、アスパラギン酸トランスフェラーゼ（AST）を22日目（ブースト後D1）（図31M）及び、26日目（ブースト後D5）（図31N）の血清中にて測定した。実験は1回行った。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された： $P > 0.05$ （ns）、 $P \leq 0.05$ （*）、 $P \leq 0.01$ （**）、 $P \leq 0.001$ （***）、 $P \leq 0.0001$ （****）。

【図31L】RBD mRNA-CpG-CART Sars-Cov-2ワクチンの安全性評価を示す。マウス（1群あたり6匹）に、PBS、CARTで製剤化した3ugのGFP mRNA又は3ugのGFP mRNAとCARTで製剤化した3ugのCpG

10

20

30

40

50

、又はCARTで製剤化した3ugのRBD mRNAと3ugのCpGを注射した。治療薬は、0日目（プライム）及び21日目（ブースト）に、尾静脈（IV）又は筋肉（IM）に注射した。注射及び安全性測定のスケジュールを表す概略図（図31A）である。マウスの体重は、0日目（初回処置前）、1日目、2日目、4日目及び7日目に、IM（図31B）及び、IV（図31C）処置マウスについて測定した。白血球（WBC）カウントは、1日目（図31D）、2日目（図31E）、及び4日目（図31F）に評価した。データは対照群に対するパーセンテージを示した。サイトカインの測定のために1日目及び7日目に血清を回収した。22日目及び26日目に、1群あたり3匹のマウスを殺し、剖検評価及び全血球数を評価し、サイトカイン及び肝酵素の測定のために血清を採取した。IP10を1日目（D1プライム後）（図31G）、及び7日目（プライム後1週間）（図31H）に採取した血清で測定した。IF α を1日目（D1プライム後）（図31I）及び、7日目（プライム後1週間）（図31J）に採取した血清で測定した。血清中のアラニントランスフェラーゼ（ALT）を22日目（ブースト後のD1）（図31K）及び26日目（D5ブースト後）（図31L）に血清で測定し、及び、アスパラギン酸トランスフェラーゼ（AST）を22日目（ブースト後D1）（図31M）及び、26日目（ブースト後D5）（図31N）の血清中に測定した。実験は1回行った。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された： $P > 0.05$ （ns）、 $P \leq 0.05$ （*）、 $P \leq 0.01$ （**）、 $P \leq 0.001$ （***）、 $P \leq 0.0001$ （****）。

【図31M】RBD mRNA-CpG-CART Sars-Cov-2ワクチンの安全性評価を示す。マウス（1群あたり6匹）に、PBS、CARTで製剤化した3ugのGFP mRNA又は3ugのGFP mRNAとCARTで製剤化した3ugのCpG、又はCARTで製剤化した3ugのRBD mRNAと3ugのCpGを注射した。治療薬は、0日目（プライム）及び21日目（ブースト）に、尾静脈（IV）又は筋肉（IM）に注射した。注射及び安全性測定のスケジュールを表す概略図（図31A）である。マウスの体重は、0日目（初回処置前）、1日目、2日目、4日目及び7日目に、IM（図31B）及び、IV（図31C）処置マウスについて測定した。白血球（WBC）カウントは、1日目（図31D）、2日目（図31E）、及び4日目（図31F）に評価した。データは対照群に対するパーセンテージを示した。サイトカインの測定のために1日目及び7日目に血清を回収した。22日目及び26日目に、1群あたり3匹のマウスを殺し、剖検評価及び全血球数を評価し、サイトカイン及び肝酵素の測定のために血清を採取した。IP10を1日目（D1プライム後）（図31G）、及び7日目（プライム後1週間）（図31H）に採取した血清で測定した。IF α を1日目（D1プライム後）（図31I）及び、7日目（プライム後1週間）（図31J）に採取した血清で測定した。血清中のアラニントランスフェラーゼ（ALT）を22日目（ブースト後のD1）（図31K）及び26日目（D5ブースト後）（図31L）に血清で測定し、及び、アスパラギン酸トランスフェラーゼ（AST）を22日目（ブースト後D1）（図31M）及び、26日目（ブースト後D5）（図31N）の血清中に測定した。実験は1回行った。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された： $P > 0.05$ （ns）、 $P \leq 0.05$ （*）、 $P \leq 0.01$ （**）、 $P \leq 0.001$ （***）、 $P \leq 0.0001$ （****）。

【図31N】RBD mRNA-CpG-CART Sars-Cov-2ワクチンの安全性評価を示す。マウス（1群あたり6匹）に、PBS、CARTで製剤化した3ugのGFP mRNA又は3ugのGFP mRNAとCARTで製剤化した3ugのCpG、又はCARTで製剤化した3ugのRBD mRNAと3ugのCpGを注射した。治療薬は、0日目（プライム）及び21日目（ブースト）に、尾静脈（IV）又は筋肉（IM）に注射した。注射及び安全性測定のスケジュールを表す概略図（図31A）である。マウスの体重は、0日目（初回処置前）、1日目、2日目、4日目及び7日目に、IM（図31B）及び、IV（図31C）処置マウスについて測定した。白血球（WBC）カウントは、1日目（図31D）、2日目（図31E）、及び4日目（図31F）に評価した。データは対照群に対するパーセンテージを示した。サイトカインの測定のために1日目及び7日目に血清を回収した。22日目及び26日目に、1群あたり3匹のマウスを殺

し、剖検評価及び全血球数を評価し、サイトカイン及び肝酵素の測定のために血清を採取した。IP10を1日目(D1プライム後)(図31G)、及び7日目(プライム後1週間)(図31H)に採取した血清で測定した。IF α を1日目(D1プライム後)(図31I)及び、7日目(プライム後1週間)(図31J)に採取した血清で測定した。血清中のアラニントランスフェラーゼ(ALT)を22日目(ブースト後のD1)(図31K)及び26日目(D5ブースト後)(図31L)に血清で測定し、及び、アスパラギン酸トランスフェラーゼ(AST)を22日目(ブースト後D1)(図31M)及び、26日目(ブースト後D5)(図31N)の血清中にて測定した。実験は1回行った。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された： $P > 0.05$ (ns)、 $P \leq 0.05$ (*)、 $P \leq 0.01$ (**)、 $P \leq 0.001$ (***)、 $P \leq 0.0001$ (****)。

10

【図32】CART保存安定性アッセイを示すグラフである。CARTは、Fluc mRNAを10:1+/-の比で製剤化した。これらの製剤は、RT、4℃又は-20℃のいずれかで保存した。CART製剤を11日間保存した後、試料を解凍し、尾静脈に注射した(マウスあたり50 μ Lの総体積、5 μ gのmRNA)。同時に、CART/Fluc mRNAの新しい製剤を調製し、尾静脈に注射した。ルシフェラーゼ発現のレベルはBLI(単位：p/s)によって決定され、有効性を新たに製剤化したCART/mRNAと比較した。実験は1回行った。統計的有意性は一元配置分散分析によって評価された： $P > 0.05$ (ns)、 $P \leq 0.05$ (*)、 $P \leq 0.01$ (**)、 $P \leq 0.001$ (***)、 $P \leq 0.0001$ (****)。

20

【発明を実施するための形態】

【0012】

本開示の様々な実施形態及び態様が本明細書に示され説明されるが、そのような実施形態及び態様が単なる例として提供されることは当業者に明らかである。当業者は、多数の変形形態、変更及び置換を、開示から逸脱することなく思い浮かべる。本明細書に記載される開示の実施形態に対する様々な代替物が、開示を実施する際に採用することができることを理解されたい。

【0013】

文脈が別段の指示をしない限り、本明細書に記載される開示の様々な特徴を任意の組合せで使用することができるということが具体的に意図される。さらに、本開示はまた、一部の実施形態において、本明細書に記載される任意の特徴又は特徴の組合せを除外又は省略することができることを企図する。説明するために、本明細書で、複合体が成分A、B及びCを有すると述べている場合、それは特にA、B若しくはCのいずれか、又はそれらの組合せを、単独で又は任意の組合せで省略及び否認することができることを意図する。

30

【0014】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」、及び「その(the)」は、文脈が明確に別段の指示をしない限り、複数の指示対象を含むことに留意しなければならない。したがって、例えば、「がん細胞」への言及は、複数のがん細胞を含む。他の例において、「核酸」又は「核酸」への言及は、複数の核酸分子、すなわち核酸を含む。

【0015】

用語「約」は、特定の値を含む値の範囲を意味し、当業者は、特定の値と合理的に類似していると考え。実施形態において、約は、当該技術分野で一般的に許容される測定値を使用した標準偏差内を意味する。実施形態において、約は、特定の値の+/-10%に及ぶ範囲を意味する。実施形態において、約は、特定の値を意味する。

40

【0016】

また本明細書で使用される場合、「及び/又は」は、関連する列挙された項目の1つ以上の任意の及び全ての可能な組合せ、並びに代替(「又は」)で解釈される場合の組合せの欠如を指し、包含する。

【0017】

本明細書で使用される場合、用語「含む(comprising)」は、組成物及び方法

50

が記載された要素を含むことを意味するが、他のものを排除するものではないことを意図する。本明細書で使用される場合、「本質的にからなる (consisting essentially of)」（及び文法的異形）という移行句は、記載された実施形態に記載された材料又はステップ、及び「基本的及び新規な特徴に実質的に影響を及ぼさないもの」を包含するものとして解釈されるべきである。したがって、用語「本質的にからなる」は、本明細書で使用される場合、「含む (comprising)」と同等であると解釈されるべきではない。「からなる (Consisting of)」は、本明細書に開示される組成物を投与するための他の成分及び実質的な方法のステップの微量要素を超えて排除することを意味するものとする。これらの移行用語の各々によって定義される態様は、本開示の範囲内にある。

10

【0018】

本明細書で使用される略語は、化学及び生物学的技術分野のそれらの従来の意味を有する。本明細書に記載される化学構造及び式は、化学で知られている化学原子価の標準的な規則に従って構築される。

【0019】

置換基が左から右に書かれた従来の化学式によって特定される場合、それらは構造を右から左に書くことから生じる化学的に同一の置換基を等しく包含する、例えば、 $-CH_2O-$ は、 $-OCH_2-$ と等価である。

【0020】

本明細書で使用される場合、用語「オリゴマー」及び「ポリマー」は、複数の繰り返しサブユニットを有する化合物（例えば、重合モノマー）を指す。用語「コオリゴマー」又は「コポリマー」は、2つ以上の異なる残基（本明細書で互換的に使用されるモノマー単位又はモノマー）を含むオリゴマー又はポリマーを指す。オリゴマー中のモノマーの数は、一般に、ポリマー中のモノマーの数よりも少ない。したがって、一部の例において、オリゴマーは、1～約10のモノマー、1～約20のモノマー、1～約30のモノマー、1～約40のモノマー、1～約50のモノマー、1～約100のモノマー、1～約150のモノマー、1～約200のモノマー、1～約250のモノマー、1～約300のモノマー、1～約350個のモノマー、1～約400個のモノマー、1～約450個のモノマー又は1～約500個のモノマーの長さを有してもよい。一部の例において、オリゴマーは、約500未満のモノマー、約450未満のモノマー、約400未満のモノマー、約350未満のモノマー、約300未満のモノマー、約250未満のモノマー、約200未満のモノマー、約150未満のモノマー、約100未満のモノマー、約50個未満のモノマー、長さが約40未満のモノマー、約30未満のモノマー、約20未満のモノマー、又は約10個未満のモノマーの長さを有してもよい。ポリマーの文脈では、ポリマー中のモノマーの数は、一般に、オリゴマー中のモノマーの数よりも多い。したがって、一部の例において、ポリマーは、約500～約1000のモノマー、約500～約2000のモノマー、約500～約3000のモノマー、約500～約4000のモノマー、約500～約5000のモノマー、約500～約6000のモノマー、約500～約7000のモノマー、約500～約8000のモノマー、約500～約9000のモノマー、約500～約10000モノマー、又は10000を超えるモノマー長を有してもよい。

20

30

40

【0021】

用語「重合性モノマー」は、ポリマー化学の技術分野のその意味に従って使用され、ポリマーを形成するために他のモノマー分子（同一又は異なる他の重合性モノマーなどの）に化学的に共有結合し得る化合物を指す。

【0022】

用語「ブロックコポリマー」は、その通常の意味に従って使用され、共有結合によって連結された重合モノマーの2つ以上の部分（例えば、ブロック）を指す。実施形態において、ブロックコポリマーは、ポリマーの繰り返しパターンである。実施形態において、ブロックコポリマーは、周期的（例えば、繰り返しパターン）配列中の2種以上のモノマーを含む。例えば、ジブロックコポリマーは、式： $-B-B-B-B-B-B-A-A-A$

50

—A—A—であり、「B」は第1のサブユニットであり、「A」は一緒に共有結合した第2のサブユニットである。したがって、トリブロックコポリマーは、3つの異なるブロックを有するコポリマーであり、そのうちの2つは同一であってもよく（例えば、—A—A—A—A—A—B—B—B—B—B—B—A—A—A—A—A—）又は3つ全てが異なり（例えば、—A—A—A—A—A—B—B—B—B—B—B—C—C—C—C—C—）、「A」は第1のサブユニットであり、「B」は第2のサブユニットであり、一緒に共有結合された第3のサブユニットである。

【0023】

用語「アルキル」は、それ自体又は別の置換基の一部として、特に明記しない限り、直鎖（すなわち、非分枝）若しくは分枝鎖の炭素鎖（又は炭素）、又はそれらの組合せを意味し、完全に飽和していてもよく、一価又は多価不飽和であってもよく、一価、二価及び多価の基を含んでいてもよい。アルキルは、指定された数の炭素を含んでいてもよい（例えば、 $C_1 \sim C_{10}$ は1～10個の炭素を意味する。）。アルキルは環化されていない鎖である。飽和炭化水素基の例としては、限定するものではないが、基、例えばメチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、*t*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、メチル、例えば、*n*-ペンチル、*n*-ヘキシル、*n*-ヘプチル、*n*-オクチルなどの相同体及び異性体などの基が挙げられる。不飽和アルキル基は、1つ以上の二重結合又は三重結合を有するものである。不飽和アルキル基の例としては、限定するものではないが、ビニル、2-プロペニル、クロチル、2-イソペンテニル、2-（ブタジエニル）、2, 4-ペンタジエニル、3-（1, 4-ペンタジエニル）、エチニル、1-及び3-プロピニル、3-ブチニル、並びに高級相同体及び異性体が挙げられる。アルコキシは、酸素リンカー（—O—）を介して分子の残りの部分に結合したアルキルである。アルキル部分は、アルケニル部分であってもよい。アルキル部分は、アルキニル部分であってもよい。アルキル部分は、完全飽和であってもよい。アルケニルは、1つ以上の二重結合に加えて、2つ以上の二重結合及び／又は1つ以上の三重結合を含んでもよい。アルキニルは、1つ以上の三重結合に加えて、2つ以上の三重結合及び／又は1つ以上の二重結合を含んでもよい。

【0024】

用語「アルキレン」は、それ自体又は別の置換基の一部として、特に明記しない限り、アルキル、例示されるが限定されない、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ から生じた二価の基を意味する。典型的には、アルキル（又はアルキレン）基は1～24個の炭素原子を有し、本明細書では10個以下の炭素原子を有する基が好ましい。「低級アルキル」又は「低級アルキレン」は、より短い鎖状のアルキル基又はアルキレン基であり、一般に8個以下の炭素原子を有する。用語「アルケニレン」は、それ自体又は別の置換基の一部として、特に明記しない限り、アルケンから誘導される二価の基を意味する。

【0025】

用語「ヘテロアルキル」は、それ自体又は別の用語と組み合わせて、特に明記しない限り、少なくとも1つの炭素原子及び少なくとも1つのヘテロ原子（例えば、O、N、P、Si、及びS）を含む安定な直鎖若しくは分枝鎖、又はそれらの組合せを意味し、窒素原子及び硫黄原子は、任意選択的に酸化されていてもよく、窒素ヘテロ原子は任意選択的に四級化されていてもよい。ヘテロ原子（例えば、N、S、Si、又はP）は、ヘテロアルキル基の任意の内部位置又はアルキル基が分子の残りの部分に結合している位置に配置されてもよい。ヘテロアルキルは環化されていない鎖である。例として、 $-CH_2-CH_2-O-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3$ 、 $-CH_2-S-CH_2-CH_3$ 、 $-S-CH_2-CH_2-$ 、 $-S(O)-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-S(O)_2-CH_3$ 、 $-CH=CH-O-CH_3$ 、 $-Si(CH_3)_3-$ 、 $-CH_2-CH=N-OCH_3$ 、 $-CH=CH-N(CH_3)-CH_3$ 、 $-O-CH_3$ 、 $-O-CH_2-CH_3$ 、及び $-CN$ が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、 $-CH_2-NH-OCH_3$ 及び $-CH_2-O-Si(CH_3)_3$ のように、最大2個又は3個のヘテロ原子が連続していてもよい。ヘテロアルキル部分は、1つのヘテロ原子（例えば

、O、N、S、Si又はP)を含んでもよい。ヘテロアルキル部分は、2つの任意選択的に異なるヘテロ原子(例えば、O、N、S、Si、又はP)を含んでもよい。ヘテロアルキル部分は、3つの任意の異なるヘテロ原子(例えば、O、N、S、Si、又はP)を含んでもよい。ヘテロアルキル部分は、4つの任意選択的に異なるヘテロ原子(例えば、O、N、S、Si、又はP)を含んでもよい。ヘテロアルキル部分は、5つの任意選択的に異なるヘテロ原子(例えば、O、N、S、Si、又はP)を含んでもよい。ヘテロアルキル部分は、8つまでの任意選択的に異なるヘテロ原子(例えば、O、N、S、Si、又はP)を含んでもよい。用語「ヘテロアルケニル」は、それ自体又は別の用語と組み合わせて、特に明記しない限り、少なくとも1つの二重結合を含むヘテロアルキルを意味する。ヘテロアルケニルは、任意選択的に、1つ以上の二重結合に加えて、2つ以上の二重結合及び／又は1つ以上の三重結合を含んでもよい。用語「ヘテロアルキニル」は、それ自体又は別の用語と組み合わせて、特に明記しない限り、少なくとも1つの三重結合を含むヘテロアルキルを意味する。ヘテロアルキニルは、任意選択的に、1つ以上の三重結合に加えて、2つ以上の三重結合及び／又は1つ以上の二重結合を含んでもよい。

10

【0026】

同様に、用語「ヘテロアルキレン」は、それ自体又は別の置換基の一部として、特に明記しない限り、ヘテロアルキル、例示されるが限定されない、 $-CH_2-CH_2-S-CH_2-CH_2-$ 及び $-CH_2-S-CH_2-CH_2-NH-CH_2-$ から生じた二価の基を意味する。ヘテロアルキレン基について、ヘテロ原子はまた、鎖末端のいずれか又は両方を占めることができる(例えば、アルキレンオキシ、アルキレンジオキシ、アルキレンアミノ、アルキレンジアミノなど)。なおさらに、アルキレン及びヘテロアルキレン連結基について、連結基の式が書かれる方向によって、連結基の配向は暗示されない。例えば、式 $-C(O)_2R'-$ は、 $-C(O)_2R'-$ と $-R'C(O)_2-$ との両方を表す。上述のように、本明細書で使用される場合、ヘテロアルキル基として、ヘテロ原子を介して分子の残りの部分に結合されている基、例えば $-C(O)R'$ 、 $-C(O)NR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-OR'$ 、 $-SR'$ 及び／又は SRO' が挙げられる。「ヘテロアルキル」が記載され、続いて $-NR'R''$ などの特定のヘテロアルキル基が記載される場合、ヘテロアルキル及び $-NR'R''$ という用語は冗長でも相互に排他的でもないことが理解される。むしろ、明瞭さを加えるために特定のヘテロアルキル基が記載される。したがって、用語「ヘテロアルキル」は、本明細書において、 $-NR'R''$ などの特定のヘテロアルキル基を除く除外するものと解釈されるべきではない。

20

30

【0027】

用語「シクロアルキル」及び「ヘテロシクロアルキル」は、それ自体又は他の用語と組み合わせて、特に明記しない限り、それぞれ「アルキル」及び「ヘテロアルキル」の環状バージョンを意味する。シクロアルキル及びヘテロアルキルは芳香族ではない。さらに、ヘテロシクロアルキルについて、ヘテロ原子は、複素環が分子の残りの部分に結合されている位置を占めることができる。シクロアルキルの例として、これらに限定されないが、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、1-シクロヘキセニル、3-シクロヘキセニル、シクロヘプチルなどが挙げられる。ヘテロシクロアルキルの例としては、これらに限定されないが、1-(1, 2, 5, 6-テトラヒドロピリジル)、1-ピペリジニル、2-ピペリジニル、3-ピペリジニル、4-モルホリニル、3-モルホリニル、テトラヒドロフラン-2-イル、テトラヒドロフラン-3-イル、テトラヒドロチエン-2-イル、テトラヒドロチエン-3-イル、1-ピペラジニル、2-ピペラジニルなどが挙げられる。「シクロアルキレン」及び「ヘテロシクロアルキレン」は、単独で又は別の置換基の一部として、それぞれシクロアルキル及びヘテロシクロアルキルから生じた二価の基を意味する。

40

【0028】

用語「ハロ」又は「ハロゲン」は、それ自体又は別の置換基の一部として、特に明記しない限り、フッ素、塩素、臭素又はヨウ素原子を意味する。さらに、「ハロアルキル」などの用語は、モノハロアルキル及びポリハロアルキルを含むことを意味する。例えば、「

50

ハロ（C₁～C₄）アルキル」という用語は、限定するものではないが、フルオロメチル、ジフルオロメチル、トリフルオロメチル、2，2，2-トリフルオロエチル、4-クロロブチル、3-ブロモプロピルなどを含む。

【0029】

用語「アシル」は、特に明記しない限り、Rが置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである-C（O）Rを意味する。

【0030】

用語「アリール」は、特に明記しない限り、多価不飽和、芳香族、炭化水素置換基を意味し、一緒に縮合されている（すなわち、縮合環アリール）又は共有結合されている単環若しくは多環（好ましくは1～3環）であってもよい。縮合環アリールは、一緒に縮合した複数の環を指し、縮合環の少なくとも1つはアリール環である。用語「ヘテロアリール」は、N、O又はSなどの少なくとも1つのヘテロ原子を含むアリール基（又は環）を指し、窒素原子及び硫黄原子は任意選択的に酸化され、窒素原子は任意選択的に四級化される。したがって、用語「ヘテロアリール」は、縮合環ヘテロアリール基を含む（すなわち、一緒に縮合した複数の環を含み、縮合環の少なくとも1つは複素芳香環である。）。5，6-縮合環ヘテロアリーレンは、一緒に縮合した2つの環を指し、1つの環は5員を有し、他の環は6員を有し、少なくとも1つの環はヘテロアリール環である。同様に、6，6-縮合環ヘテロアリーレンは、一緒に縮合した2つの環を指し、1つの環は6員を有し、他の環は6員を有し、少なくとも1つの環はヘテロアリール環である。6，5-縮合環ヘテロアリーレンは、一緒に縮合した2つの環を指し、1つの環は6員を有し、他の環は5員を有し、少なくとも1つの環はヘテロアリール環である。ヘテロアリール基は、炭素原子又はヘテロ原子を通じて分子の残りの部分に結合することができる。アリール基及びヘテロアリール基の非限定的な例として、フェニル、ナフチル、ピロリル、ピラゾリル、ピリダジニル、トリアジニル、ピリミジニル、イミダゾリル、ピラジニル、プリニル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、フリル、チエニル、ピリジル、ピリミジル、ベンゾチアゾリル、ベンゾオキサゾイル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾフラン、イソベンゾフラニル、インドリル、イソインドリル、ベンゾチオフェニル、イソキノリル、キノキサリニル、キノリル、1-ナフチル、2-ナフチル、4-ピフェニル、1-ピロリル、2-ピロリル、3-ピロリル、3-ピラゾリル、2-イミダゾリル、4-イミダゾリル、ピラジニル、2-オキサゾリル、4-オキサゾリル、2-フェニル-4-オキサゾリル、5-オキサゾリル、3-イソオキサゾリル、4-イソオキサゾリル、5-イソオキサゾリル、2-チアゾリル、4-チアゾリル、5-チアゾリル、2-フリル、3-フリル、2-チエニル、3-チエニル、2-ピリジル、3-ピリジル、4-ピリジル、2-ピリミジル、4-ピリミジル、5-ベンゾチアゾリル、プリニル、2-ベンゾイミダゾリル、5-インドリル、1-イソキノリル、5-イソキノリル、2-キノキサリニル、5-キノキサリニル、3-キノリル、及び6-キノリルが挙げられる。上記したアリール及びヘテロアリール環系の各々の置換基は、以下に記載される許容される置換基の群から選択される。「アリーレン」及び「ヘテロアリーレン」は、単独で又は別の置換基の一部として、それぞれアリール及びヘテロアリールから生じた二価の基を意味する。ヘテロアリール基置換基は、環ヘテロ原子窒素に-O-結合していてもよい。

【0031】

簡潔にするために、用語「アリール」は、他の用語と組み合わせて使用される場合（例えば、アリールオキシ、アリールチオキシ、アリールアルキル）、上記で定義したアリール環及びヘテロアリール環の両方を含む。したがって、用語「アリールアルキル」は、アリール基が、炭素原子（例えば、メチレン基）が例えば酸素原子（例えば、フェノキシメチル、2-ピリジルオキシメチル、3-（1-ナフチルオキシ）プロピルなど）によって置き換えられたアルキル基を含むアルキル基に結合されている基（例えば、ベンジル、フェネチル、ピリジルメチルなど）を含むことを意味する。

【0032】

記号「

【0033】

【化1】

~~~~~

」は、分子又は化学式の残りの部分への化学部分の結合点を示す。

【0034】

用語「オキソ」は、本明細書で使用される場合、炭素原子に二重結合されている酸素を意味する。

10

【0035】

用語「アルキルスルホニル」は、本明細書で使用される場合、式  $-S(O_2)-R'$  [式中、 $R'$  は上記で定義されるようなアルキル基である。] を有する部分を意味する。 $R'$  は、特定の数の炭素を有していてもよい（例えば、「 $C_1 \sim C_4$  アルキルスルホニル」）。

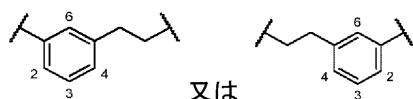
【0036】

用語「アルキルアリーレン」は、アルキレン部分に共有結合したアリーレン部分（本明細書ではアルキレンリンカーともいう。）である。実施形態において、アルキルアリーレン基は、式：

【0037】

20

【化2】



を有する。

【0038】

アルキルアリーレン部分は、アルキレン部分又はアリーレンリンカー（例えば、炭素 2、3、4、又は 6）上で、ハロゲン、オキソ、 $-N_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CN$ 、 $-CHO$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_2CH_3$ 、 $-SO_3H$ 、 $-OSO_3H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、置換若しくは非置換の  $C_1 \sim C_5$  アルキル又は置換若しくは非置換の 2～5 員のヘテロアルキルで、（例えば、置換基で）置換されてもよい。実施形態において、アルキルアリーレンは非置換である。

30

【0039】

上記の用語の各々（例えば、「アルキル」、「ヘテロアルキル」、「シクロアルキル」、「ヘテロシクロアルキル」、「アリアル」、及び「ヘテロアリアル」）は、示された基の置換及び非置換形態の両方を含む。基の種類ごとに好ましい置換基を以下に示す。

【0040】

アルキル及びヘテロアルキル基（アルキレン、アルケニル、ヘテロアルキレン、ヘテロアルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、シクロアルケニル、及びヘテロシクロアルケニルと呼ばれることが多い基を含む。）の置換基は、これらに限定されないが、 $-OR'$ 、 $=O$ 、 $=NR'$ 、 $=N-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、ハロゲン、 $-SiR'R''R'''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'R''$ 、 $-C(=O)CONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR'R''C(O)R'$ 、 $-NR'-C(O)NR'R''$ 、 $-C(O)_2R'$ 、 $-NR-C(NR'R''R''')=NR''''$ 、 $-NR-C(NR'R''R''')$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S_2(O)R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NRS_2$ 、 $-NR'NR''R'''$ 、 $-ONR'R''$ 、 $-NR'C(O)NR''NR'''R''''$ 、 $-NR'SO_2R''$ 、 $-NR'C(O)R''$ 、 $-NR'C(O)-OR''$ 、 $-NR'OR''$ 、ら選択される様々な基の 1 つ以上であってもよく、0 から  $(2m' + 1)$ （ここで  $m'$  はこ

40

50

のような基の炭素原子の総数である。)の範囲の数である。R、R'、R''、R'''、及びR''''は、それぞれ好ましくは独立に、水素、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール(例えば、1～3個のハロゲンで置換されたアリール)、置換若しくは非置換のヘテロアリール、置換若しくは非置換のアルキル、アルコキシ、若しくはチオアルコキシ基又はアリールアルキル基を指す。本明細書に記載される化合物が2つ以上のR基を含む場合、例えば、R基の各々は、それぞれR'、R''、R'''及びR''''、がこれらの基の2つ以上が存在する場合、それぞれR'、R''、R'''及びR''''基であるように独立に選択される。R'とR''が同じ窒素原子に結合している場合、それらは窒素原子と組み合わせて4、5、6又は7員環を形成することができる。例えば、 $-NR'R''$  10は、限定するものではないが、1-ピロリジニル及び4-モルホリニルを含む。置換基に関する上記の考察から、当業者は、用語「アルキル」が、水素基以外の基、例えばハロアルキル(例えば、 $-CF_3$ 及び $-CH_2CF_3$ )及びアシル(例えば、 $-C(O)CH_3$ 、 $-C(O)CF_3$ 、 $-C(O)CH_2OCH_3$ など)に結合された炭素原子を含む基を含むことを意味することを理解する。

#### 【0041】

アルキル基について記載した置換基と同様に、アリール基及びヘテロアリール基の置換基は様々であり、例えば、ゼロから芳香環系上の開原子価の総数までの範囲の数で、 $-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、ハロゲン、 $-SiR'R''R'''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR'R''C(O)20R'$ 、 $-NR'-C(O)NR''R'''$ 、 $-NR' \frac{1}{2} R''(O)NR-C(NR'R''R''') = NR'R''R'''$ 、 $-NR-C(NR'R'') = NR'R''$ 、 $-S(O)R' \frac{1}{2} R''S-(O)(O)_2NR'R''$ 、 $-NR \frac{1}{2} R''$ 、 $-NR'NR''R'''$ 、 $-ONR'R''$ 、 $-NR'C(O)NR'R''NR''R'''R''''$ 、 $-C_2N$ 、 $-RNQ-Nb$ 、 $-CH(Ph)_2$ 、フルオロ( $C_1 \sim C_4$ )アルコキシ、及びフルオロ( $C_1 \sim C_4$ )アルキル、 $-NR'SO_2R'$ 、 $-NR'C(O)R''$ 、 $-NR'C(O)-OR''$ 、 $-NR'OR''$ から選択され、ここでR'、R''、R'''、及びR''''は、好ましくは、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、及び置換若しくは非置換のヘテロアリールから独立に選択される。本明細書に記載される化合物が2つ 30以上のR基を含む場合、例えば、各R基は、それぞれR'、R''、R'''及びR''''基の2つ以上が存在する場合、それぞれR'、R''、R'''及びR''''基であるように独立に選択される。

#### 【0042】

環の置換基(例えば、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキレン、ヘテロシクロアルキレン、アリーレン又はヘテロアリーレン)は、環の特定の原子上ではなく、環上の置換基(一般に浮遊置換基と呼ばれる。)として描写されてもよい。そのような場合、置換基は、(化学的原子価の規則に従う)環原子のいずれかに結合してもよく、縮合環又はスピロ環式環の場合、縮合環又はスピロ環式環の1つの員に関連するものとして描写される置換基(単一環上の浮遊置換基)は、縮合環又はスピロ環式環のいずれかの上の置換基(複数の環上の浮遊置換基)であってもよい。置換基が環に結合しているが、特定の原子(浮遊置換基)ではなく、置換基の添え字が1より大きい整数である場合、複数の置換基は、同じ原子、同じ環、異なる原子、異なる縮合環、異なるスピロ環上であってもよく、各置換基は任意選択的に異なってもよい。分子の残りの部分への環の結合点が単一の原子(浮遊置換基)に限定されない場合、結合点は環の任意の原子であってもよく、縮合環又はスピロ環式環の場合、化学的原子価の規則に従いながら、任意の縮合環又はスピロ環式環の任意の原子である。環、縮合環、又はスピロ環式環が1つ以上の環ヘテロ原子を含み、環、縮合環、又はスピロ環式環が1つを超える浮遊置換基(分子の残りの部分への結合点を含むが、これらに限定されない。)と示される場合、浮遊置換基はヘテロ原子に結合してもよい。環ヘテロ原子が浮遊置換基を有 40 50

する構造又は式において、1つ以上の水素（例えば、環原子に対する2つの結合及び水素に対する3番目の結合を有する環窒素。）に結合していることが示される場合、ヘテロ原子が浮遊置換基に結合している場合、置換基は、化学的原子価の規則に従いながら、水素を置き換えることが理解される。

#### 【0043】

2個以上の置換基は、任意選択的に結合して、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、又はヘテロシクロアルキル基を形成してもよい。このようないわゆる環形成置換基は、典型的には、必ずしもではないが、環状塩基構造に結合して見出される。実施形態において、環形成置換基は、塩基構造の隣接する員に結合されている。例えば、環状塩基構造の隣接する員に結合された2つの環形成置換基は、縮合環構造を作り出す。別の実施形態において、環形成置換基は、塩基構造の単一の員に結合されている。例えば、環状塩基構造の単一の員に結合された2つの環形成置換基は、スピロ環構造を作り出す。さらに別の実施形態において、環形成置換基は、塩基構造の隣接していない員に結合されている。

10

#### 【0044】

アリール環又はヘテロアリール環の隣接する原子上の置換基の2つは、任意選択的に、式  $-T-C(O)-(CRR')_q-U-$  [式中、T及びUは独立に  $-NR-$ 、 $-O-$ 、 $-CRR'-$  又は単結合であり、qは0～3の整数である。] の環を形成してもよい。代替的に、アリール環又はヘテロアリール環の隣接する原子上の置換基の2つは、任意選択的に、式  $A-(CH_2)_r-B-$  [式中、A及びBは独立に  $-CRR'-$ 、 $-O-$ 、 $-NR-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR'-$  又は単結合であり、rは1～4の整数である。] の置換基で置き換えられてもよい。そのように形成された新しい環の単結合の1つは、任意選択的に二重結合で置き換えられてもよい。代替的に、アリール環又はヘテロアリール環の隣接する原子上の置換基の2つは、任意選択的に、式  $-(CRR')_s-X'-(C''R''R''')_d-$  [式中、sとdとは独立に0から3の整数であり、X'は  $-O-$ 、 $-NR'-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$  又は  $-S(O)_2NR'-$  である。] の置換基で置き換えられてもよい。置換基R、R'、R''及びR'''は、好ましくは、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、及び置換若しくは非置換のヘテロアリールから独立に選択される。

20

30

#### 【0045】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロ原子」又は「環ヘテロ原子」は、酸素(O)、窒素(N)、硫黄(S)、リン(P)、及びケイ素(Si)を含むことを意味する。

#### 【0046】

「置換基」は、本明細書で使用される場合、以下の部分から選択される基を意味する：

(A) オキソ、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、 $-N_3$ 、非置換アルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$  アルキル、 $C_1 \sim C_6$  アルキル、又は  $C_1 \sim C_4$  アルキル）、非置換ヘテロアルキル（例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル、又は2～4員のヘテロアルキル）、非置換シクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$  シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$  シクロアルキル、又は  $C_5 \sim C_6$  シクロアルキル）、非置換ヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル、又は5～6員のヘテロシクロアルキル）、非置換アリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  アリール、 $C_{10}$  アリール又はフェニル）、又は非置換ヘテロアリール（例えば、5～10員のヘテロアリール、5～

40

50

9員のヘテロアリール、又は5～6員のヘテロアリール)、及び

(B) アルキル (例えば、 $C_1 \sim C_8$  アルキル、 $C_1 \sim C_6$  アルキル、又は $C_1 \sim C_4$  アルキル)、ヘテロアルキル (例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル、又は2～4員のヘテロアルキル)、シクロアルキル (例えば、 $C_3 \sim C_8$  シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$  シクロアルキル、又は $C_5 \sim C_6$  シクロアルキル)、ヘテロシクロアルキル (例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル、又は5～6員のヘテロシクロアルキル)、アリール (例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  アリール、 $C_{10}$  アリール、又はフェニル)、ヘテロアリール (例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール、又は5～6員のヘテロアリール)、以下から選択される少なくとも1つの置換基で置換され:

(i) オキソ、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、 $-N_3$ 、非置換のアルキル (例えば、 $C_1 \sim C_8$  アルキル、 $C_1 \sim C_6$  アルキル、又は $C_1 \sim C_4$  アルキル)、非置換のヘテロアルキル (例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル、又は2～4員のヘテロアルキル)、非置換のシクロアルキル (例えば、 $C_3 \sim C_8$  シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$  シクロアルキル、又は $C_5 \sim C_6$  シクロアルキル)、非置換のヘテロシクロアルキル (例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル、又は5～6員のヘテロシクロアルキル)、非置換のアリール (例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  アリール、 $C_{10}$  アリール又はフェニル)、又は非置換のヘテロアリール (例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール、又は5～6員のヘテロアリール)、及び

(ii) アルキル (例えば、 $C_1 \sim C_8$  アルキル、 $C_1 \sim C_6$  アルキル、又は $C_1 \sim C_4$  アルキル)、ヘテロアルキル (例、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル、又は2～4員のヘテロアルキル)、シクロアルキル (例えば、 $C_3 \sim C_8$  シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$  シクロアルキル、又は $C_5 \sim C_6$  シクロアルキル)、ヘテロシクロアルキル (例、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル、又は5～6員のヘテロシクロアルキル)、アリール (例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  アリール、 $C_{10}$  アリール、又はフェニル)、ヘテロアリール (例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール、又は5～6員のヘテロアリール)、以下から選択される少なくとも1つの置換基で置換され:

(a) オキソ、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、 $-N_3$ 、非置換のアルキル (例えば、 $C_1 \sim C_8$  アルキル、 $C_1 \sim C_6$  アルキル、又は $C_1 \sim C_4$  アルキル)、非置換のヘテロアルキル (例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル、又は2～4員のヘテロアルキル)、非置換のシクロアルキル (例えば、 $C_3 \sim C_8$  シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$  シクロアルキル、又は $C_5 \sim C_6$  シクロアルキル)、非置換のヘテロシクロアルキル (例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル、又は5～6員のヘテロシクロアルキル)、非置換のアリール (例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  アリール、 $C_{10}$  アリール又はフェニル)、又は非置換のヘテロアリール (例えば、5～10員のヘテロア

10

20

30

40

50

リール、5～9員のヘテロアリール、又は5～6員のヘテロアリール)、及び  
 (b) アルキル (例えば、 $C_1 \sim C_8$  アルキル、 $C_1 \sim C_6$  アルキル、又は $C_1 \sim C_4$  アルキル)、ヘテロアルキル (例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル、又は2～4員のヘテロアルキル)、シクロアルキル (例えば、 $C_3 \sim C_8$  シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$  シクロアルキル、又は $C_5 \sim C_6$  シクロアルキル)、ヘテロシクロアルキル (例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル、又は5～6員のヘテロシクロアルキル)、アリール (例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  アリール、 $C_{10}$  アリール、又はフェニル)、ヘテロアリール (例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール、又は5～6員のヘテロアリール)、以下から選択される少なくとも1つの置換基で置換され:

オキソ、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、 $-N_3$ 、非置換のアルキル (例えば、 $C_1 \sim C_8$  アルキル、 $C_1 \sim C_6$  アルキル、又は $C_1 \sim C_4$  アルキル)、非置換のヘテロアルキル (例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル、又は2～4員のヘテロアルキル)、非置換のシクロアルキル (例えば、 $C_3 \sim C_8$  シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$  シクロアルキル、又は $C_5 \sim C_6$  シクロアルキル)、非置換のヘテロシクロアルキル (例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル、又は5～6員のヘテロシクロアルキル)、非置換のアリール (例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  アリール、 $C_{10}$  アリール、又はフェニル)、又は非置換のヘテロアリール (例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール、又は5～6員のヘテロアリール)。

【0047】

「サイズ限定置換基 (size-limited substituent)」又は「サイズ限定置換基 (size-limited substituent group)」は、本明細書で使用される場合、「置換基」について上述した全ての置換基から選択される基を意味し、各置換若しくは非置換のアルキルは、置換若しくは非置換の $C_1 \sim C_{20}$  アルキルであり、各置換若しくは非置換のヘテロアルキルは置換若しくは非置換の2～20員のヘテロアルキルであり、各置換若しくは非置換のシクロアルキルは、置換若しくは非置換の $C_3 \sim C_8$  シクロアルキルであり、各置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキルは、置換若しくは非置換の3～8員のヘテロシクロアルキルであり、各置換若しくは非置換のアリールは、置換若しくは非置換の $C_6 \sim C_{10}$  アリールであり、各置換若しくは非置換のヘテロアリールは置換若しくは非置換の5～10員のヘテロアリールである。

【0048】

「低級置換基」又は「低級置換基」は、本明細書で使用される場合、「置換基」について上述した全ての置換基から選択される基を意味し、各置換若しくは非置換のアルキルは、置換若しくは非置換の $C_1 \sim C_8$  アルキルであり、各置換若しくは非置換のヘテロアルキルは置換若しくは非置換の2～8員のヘテロアルキルであり、各置換若しくは非置換のシクロアルキルは、置換若しくは非置換の $C_3 \sim C_7$  シクロアルキルであり、各置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキルは、置換若しくは非置換の3～7員のヘテロシクロアルキルであり、各置換若しくは非置換のアリールは、置換若しくは非置換の $C_6 \sim C_{10}$  アリールであり、各置換若しくは非置換のヘテロアリールは置換若しくは非置換の5～9員のヘテロアリールである。

【0049】

一部の実施形態において、本明細書の化合物に記載される各置換基は、少なくとも1つの置換基で置換されている。より詳細には、一部の実施形態において、本明細書の化合物

に記載される各置換アルキル、置換ヘテロアルキル、置換シクロアルキル、置換ヘテロシクロアルキル、置換アリール、置換ヘテロアリール、置換アルキレン、置換ヘテロアルキレン、置換シクロアルキレン、置換ヘテロシクロアルキレン、置換アリーレン、及び／又は置換ヘテロアリーレンは、少なくとも1つの置換基で置換されている。他の実施形態において、これらの基の少なくとも1つ又は全ては、少なくとも1つのサイズ限定置換基で置換されている。他の実施形態において、これらの基の少なくとも1つ又は全ては、少なくとも1つの低級置換基で置換されている。

#### 【0050】

本明細書に記載される化合物の他の実施形態において、各置換若しくは非置換のアルキルは、置換若しくは非置換のC<sub>1</sub>～C<sub>20</sub>アルキルであり、各置換若しくは非置換のヘテロアルキルは置換若しくは非置換の2～20員のヘテロアルキルであり、各置換若しくは非置換のシクロアルキルは、置換若しくは非置換のC<sub>3</sub>～C<sub>8</sub>シクロアルキルであり、各置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキルは、置換若しくは非置換の3～8員のヘテロシクロアルキルであり、各置換若しくは非置換のアリールは、置換若しくは非置換のC<sub>6</sub>～C<sub>10</sub>アリールであり、並びに／又は各置換若しくは非置換のヘテロアリールは置換若しくは非置換の5～10員のヘテロアリールであってもよい。本明細書に記載される化合物の実施形態において、各置換若しくは非置換のアルキレンは、置換若しくは非置換のC<sub>1</sub>～C<sub>20</sub>アルキレンであり、各置換若しくは非置換のヘテロアルキレンは、置換若しくは非置換の2～20員のヘテロアルキレンであり、各置換若しくは非置換のシクロアルキレンは、置換若しくは非置換のC<sub>3</sub>～C<sub>8</sub>シクロアルキレンであり、各置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレンは、置換若しくは非置換の3～8員のヘテロシクロアルキレンであり、各置換若しくは非置換のアリーレンは、置換若しくは非置換のC<sub>6</sub>～C<sub>10</sub>アリーレンであり、並びに／又は各置換若しくは非置換のヘテロアリーレンは置換若しくは非置換の5～10員のヘテロアリーレンである。

#### 【0051】

実施形態において、各置換若しくは非置換のアルキルは、置換若しくは非置換のC<sub>1</sub>～C<sub>8</sub>アルキルであり、各置換若しくは非置換のヘテロアルキルは置換若しくは非置換の2～8員のヘテロアルキルであり、各置換若しくは非置換のシクロアルキルは、置換若しくは非置換のC<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキルであり、各置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキルは、置換若しくは非置換の3～7員のヘテロシクロアルキルであり、各置換若しくは非置換のアリールは、置換若しくは非置換のC<sub>6</sub>～C<sub>10</sub>アリールであり、並びに／又は各置換若しくは非置換のヘテロアリールは置換若しくは非置換の5～9員のヘテロアリールである。実施形態において、各置換若しくは非置換のアルキレンは、置換若しくは非置換のC<sub>1</sub>～C<sub>8</sub>アルキレンであり、各置換若しくは非置換のヘテロアルキレンは、置換若しくは非置換の2～8員のヘテロアルキレンであり、各置換若しくは非置換のシクロアルキレンは、置換若しくは非置換のC<sub>3</sub>～C<sub>7</sub>シクロアルキレンであり、各置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレンは、置換若しくは非置換の3～7員のヘテロシクロアルキレンであり、各置換若しくは非置換のアリーレンは、置換若しくは非置換のC<sub>6</sub>～C<sub>10</sub>アリーレンであり、並びに／又は各置換若しくは非置換のヘテロアリーレンは置換若しくは非置換の5～9員のヘテロアリーレンである。実施形態において、化合物は、本明細書に記載される化学種である。

#### 【0052】

実施形態において、置換又は非置換の部分（例えば、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、置換若しくは非置換のヘテロアリール、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、及び／又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレン）は、非置換である（例えば、それぞれ、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール

、非置換のヘテロアリール、非置換のアルキレン、非置換のヘテロアルキレン、非置換のシクロアルキレン、非置換のヘテロシクロアルキレン、非置換のアリーレン、及び／又は非置換のヘテロアリーレンである。）。実施形態において、置換又は非置換の部分（例えば、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、置換若しくは非置換のヘテロアリール、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、及び／又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレン）は、置換されている（例えば、それぞれ、置換アルキル、置換ヘテロアルキル、置換シクロアルキル、置換ヘテロシクロアルキル、置換アリール、置換ヘテロアリール、置換アルキレン、置換ヘテロアルキレン、置換シクロアルキレン、置換ヘテロシクロアルキレン、置換アリーレン、及び／又は置換ヘテロアリーレンである。）。

10

#### 【0053】

実施形態において、置換部分（例えば、置換アルキル、置換ヘテロアルキル、置換シクロアルキル、置換ヘテロシクロアルキル、置換アリール、置換ヘテロアリール、置換アルキレン、置換ヘテロアルキレン、置換シクロアルキレン、置換ヘテロシクロアルキレン、置換アリーレン、及び／又は置換ヘテロアリーレン）は、少なくとも1つの置換基で置換され、置換部分が複数の置換基で置換されている場合、それぞれの置換基は、任意選択的に異なってもよい。実施形態において、置換部分が複数の置換基で置換されている場合、各置換基は異なる。

20

#### 【0054】

実施形態において、置換部分（例えば、置換アルキル、置換ヘテロアルキル、置換シクロアルキル、置換ヘテロシクロアルキル、置換アリール、置換ヘテロアリール、置換アルキレン、置換ヘテロアルキレン、置換シクロアルキレン、置換ヘテロシクロアルキレン、置換アリーレン、及び／又は置換ヘテロアリーレン）は、少なくとも1つのサイズ限定置換基で置換され、置換部分が複数のサイズ限定置換基で置換されている場合、それぞれのサイズ限定置換基は、任意選択的に異なってもよい。実施形態において、置換部分が複数のサイズ限定置換基で置換されている場合、各サイズ限定置換基は異なる。

#### 【0055】

30

実施形態において、置換部分（例えば、置換アルキル、置換ヘテロアルキル、置換シクロアルキル、置換ヘテロシクロアルキル、置換アリール、置換ヘテロアリール、置換アルキレン、置換ヘテロアルキレン、置換シクロアルキレン、置換ヘテロシクロアルキレン、置換アリーレン、及び／又は置換ヘテロアリーレン）は、少なくとも1つの低級置換基で置換され、置換部分が複数の低級置換基で置換されている場合、それぞれの低級置換基は、任意選択的に異なってもよい。実施形態において、置換部分が複数の低級置換基で置換されている場合、各低級置換基は異なる。

#### 【0056】

実施形態において、置換部分（例えば、置換アルキル、置換ヘテロアルキル、置換シクロアルキル、置換ヘテロシクロアルキル、置換アリール、置換ヘテロアリール、置換アルキレン、置換ヘテロアルキレン、置換シクロアルキレン、置換ヘテロシクロアルキレン、置換アリーレン、及び／又は置換ヘテロアリーレン）は、少なくとも1つの置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換され、置換部分が置換基、サイズ限定置換基及び低級置換基から選択される複数の基で置換されている場合、各置換基、サイズ限定置換基及び又は低級置換基は、任意選択的に異なってもよい。実施形態において、置換部分が置換基、サイズ限定置換基、及び低級置換基から選択される複数の基で置換されている場合、各置換基、サイズ限定置換基、及び／又は低級置換基は異なる。

40

#### 【0057】

本開示のある特定の化合物は、不斉炭素原子（光学中心又はキラル中心）又は二重結合、鏡像異性体、ラセミ体、ジアステレオマー、互変異性体、幾何異性体、絶対立体化学の

50

観点から、アミノ酸については(R)－若しくは(S)－又は(D)－若しくは(L)－として定義されてもよい立体異性形態を有し、個々の異性体は、本開示の範囲内に包含される。本開示の化合物は、当技術分野で、合成及び／又は単離するには不安定すぎるものが知られているものを含まない。本開示は、ラセミ体及び光学的に純粋な形態の化合物を含むことを意味する。光学活性な(R)－及び(S)－、又は(D)－及び(L)－異性体は、キラルシントン又はキラル試薬を使用して調製する又は従来の技術を使用して分割することができる。本明細書に記載される化合物がオレフィン結合又は他の幾何学的不斉中心を含む場合、別段の定めがない限り、化合物はE及びZ幾何異性体の両方を含むことが意図される。

【0058】

10

本明細書で使用される場合、用語「異性体」は、同じ数及び種類の原子を有し、したがって同じ分子量を有するが、原子の構造配置又は配置に関して異なる化合物を指す。

【0059】

用語「互変異性体」は、本明細書で使用される場合、平衡状態で存在し、ある異性体形態から別の異性体形態に容易に変換される2つ以上の構造異性体の1つを指す。

【0060】

本開示のある特定の化合物が互変異性体形態で存在し得ることは当業者に明らかであり、化合物の全てのこのような互変異性形態は本開示の範囲内にある。

【0061】

特に明記しない限り、本明細書に描写される構造は、構造の全ての立体化学的形態、すなわち、各非対称中心のR及びS構成を含むことも意味する。したがって、本発明の化合物の単一の立体化学的異性体並びに鏡像異性体及びジアステレオマー混合物は、開示の範囲内にある。

20

【0062】

特に明記しない限り、本明細書に描写される構造は、1つ以上の同位体富化原子の存在においてのみ異なる化合物を含むことも意味する。例えば、重水素又はトリチウムによる水素の置き換え、又は $^{13}\text{C}$ －若しくは $^{14}\text{C}$ －富化炭素による炭素の置き換えを除いて、本発明の構造を有する化合物は、本開示の範囲内にある。

【0063】

本開示の化合物はまた、そのような化合物を構成する原子の1つ以上において、不自然な割合の原子同位体を含有してもよい。例えば、化合物は、例えばトリチウム( $^3\text{H}$ )、ヨウ素125( $^{125}\text{I}$ )、又は炭素14( $^{14}\text{C}$ )などの放射性同位元素で放射標識されていてもよい。本開示の化合物の全ての同位体変形形態は、放射性であるか否かにかかわらず、本開示の範囲に包含される。

30

【0064】

代替物が、出願全体を通して、例えば、2つ以上の可能なアミノ酸を含む各アミノ酸位置をマーカッシュ群で記載されていることに留意されたい。マーカッシュ群の各メンバーは別々に考慮されるべきであり、それによって別の実施形態を含み、マーカッシュ群は単一の単位として読まれるべきではないことが特に企図される。

【0065】

40

本明細書で使用される場合、用語「バイオコンジュゲート」及び「バイオコンジュゲートリンカー」は、バイオコンジュゲート反応性基又はバイオコンジュゲート反応性部分の原子又は分子間に生じる会合を指す。会合は、直接的又は間接的であってもよい。例えば、本明細書で提供される第1のバイオコンジュゲート反応性基間のコンジュゲート(例えば、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{N}$ －ヒドロキシスクシンイミド、又は－マレイミド)及び第2のバイオコンジュゲート反応性基(例えば、スルフヒドリル、硫黄含有アミノ酸、アミン、アミン側鎖含有アミノ酸、又はカルボキシレート)は、例えば、共有結合又はリンカー(例えば、第2のリンカーの第1のリンカー)によって直接的であってもよく、又は例えば、非共有結合(例えば、静電相互作用(例えば、イオン結合、水素結合、ハロゲン結合)、ファンデルワールス相互作用(例えば、双極子－双極子、双極子－誘起双極子、

50

ロンドン分散)、環スタッキング(パイ効果)、疎水性相互作用など)によって間接的であってもよい。実施形態において、バイオコンジュゲート又はバイオコンジュゲートリンカーは、求核置換(例えば、アミン及びアルコールとハロゲン化アシルとの反応、活性エステルの反応)、求電子置換(例えば、エナミン反応)及び炭素-炭素及び炭素-ヘテロ原子多重結合への付加(例えば、マイケル反応、ディールス-アルダー付加)を含むが、これらに限定されないバイオコンジュゲート化学(すなわち、2つのバイオコンジュゲート反応性基の会合)を使用して形成される。これら及び他の有用な反応は、例えば、3月、ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY、第3版、John Wiley & Sons、New York、1985; Hermanson、BIOCONJUGATE TECHNIQUES、Academic Press、San Diego、1996; 及び Feeneyら、MODIFICATION OF PROTEINS; Advances in Chemistry Series、第198巻、American Chemical Society、Washington, D. C.、1982に検討されている。実施形態において、第1のバイオコンジュゲート反応性基(例えば、マレイミド部分)は、第2のバイオコンジュゲート反応性基(例えば、スルフヒドリル)に共有結合している。実施形態において、第1のバイオコンジュゲート反応性基(例えば、ハロアセチル部分)は、第2のバイオコンジュゲート反応性基(例えば、スルフヒドリル)に共有結合している。実施形態において、第1のバイオコンジュゲート反応性基(例えば、ピリジル部分)は、第2のバイオコンジュゲート反応性基(例えば、スルフヒドリル)に共有結合している。実施形態において、第1のバイオコンジュゲート反応性基(例えば、-N-ヒドロキシスクシンイミド部分)は、第2のバイオコンジュゲート反応性基(例えばアミン)に共有結合している。実施形態において、第1のバイオコンジュゲート反応性基(例えば、マレイミド部分)は、第2のバイオコンジュゲート反応性基(例えば、スルフヒドリル)に共有結合している。実施形態において、第1のバイオコンジュゲート反応性基(例えば、-スルホ-N-ヒドロキシスクシンイミド部分)は、第2のバイオコンジュゲート反応性基(例えば、アミン)に共有結合している。

10

20

【0066】

本明細書のバイオコンジュゲート化学に使用される有用なバイオコンジュゲート反応性部分として、例えば:

(a) 以下に限定されないが、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、N-ヒドロキシベンゾトリアゾールエステル、酸ハロゲン化物、アシルイミダゾール、チオエステル、p-ニトロフェニルエステル、アルキル、アルケニル、アルキニル及び芳香族エステルを含むカルボキシル基及びその種々の誘導体;

30

(b) エステル、エーテル、アルデヒドなどに変換され得るヒドロキシル基;

(c) ハロゲン化物が後に求核性基、例えばアミン、カルボン酸アニオン、チオールアニオン、カルバニオン又はアルコキシドイオンで置換され、それによってハロゲン原子の部位に新しい基の共有結合をもたらすことができるハロアルキル基;

(d) ディールス-アルダー反応に関与することができるジエノフィル基、例えば、マレイミド(maleimido)基又はマレイミド(maleimide)基;

(e) カルボニル誘導体、例えばイミン、ヒドラゾン、セミカルバゾン若しくはオキシムの形成を介して、又はグリニャール付加若しくはアルキルリチウム付加などの機序を介して、その後の誘導体化が可能となるようなアルデヒド基又はケトン基;

40

(f) 例えばスルホンアミドを形成するアミンとのその後の反応のためのハロゲン化スルホニル基;

(g) ジスルフィドに変換され、ハロゲン化アシルと反応する又は金などの金属に結合する又はマレイミドと反応することができるチオール基;

(h) 例えば、アシル化、アルキル化又は酸化することができるアミン又はスルフヒドリル基(例えば、システイン中に存在する。);

(i) 例えば、環化付加、アシル化、マイケル付加などを受けることができるアルケン;

(j) 例えば、アミン及びヒドロキシル化合物と反応することができるエポキシド;

50

- (k) 核酸の合成に有用なホスホロアミダイト及び他の標準的な官能基；
- (l) 金属酸化ケイ素結合；
- (m) 例えば、リン酸ジエステル結合を形成するための反応性リン基（例えば、ホスフィン）への金属結合；
- (n) 銅触媒環化付加クリックケミストリーを使用してアルキンにカップリングされたアジド；及び
- (o) アビジン又はストレパビジンと反応して、アビジン-ビオチン複合体又はストレプトアビジン-ビオチン複合体を形成することができるビオチンコンジュゲートが挙げられる。

## 【0067】

バイオコンジュゲート反応性基は、本明細書に記載されるコンジュゲートの化学的安定性に関与しない、又は干渉しないように選択することができる。代替的に、反応性官能基は、保護基の存在によって架橋反応に関与することから保護することができる。実施形態において、バイオコンジュゲートは、不飽和結合、例えばマレイミド、及びスルフヒドリル基との反応に由来する分子実体を含む。

## 【0068】

「アナログ (analog)」、「アナログ (analogue)」、又は「誘導体」は、化学及び生物学におけるその明白な通常の意味に従って使用され、例えば、ある原子を別の元素の原子で置き換える場合、又は特定の官能基の存在下で、又はある官能基を別の官能基で置き換える場合、又は参照化合物の1つ以上のキラル中心の絶対立体化学において、別の化合物（すなわち、いわゆる「参照」化合物）と構造的に類似しているが、組成が異なる化合物を指す。したがって、アナログは、機能及び外観において類似又は比較可能であるが、構造又は起源において参照化合物ではない化合物である。

## 【0069】

用語「1つの(a)」又は「1つの(an)」は、本明細書で使用される場合、1つ以上を意味する。加えて、「a[n]で置換された」という語句は、本明細書で使用される場合、特定の基が、指名された置換基のいずれか又は全ての1つ以上で置換されていてもよいことを意味する。例えば、アルキル基又はヘテロアリール基などの基が「非置換のC<sub>1</sub>～C<sub>20</sub>アルキル、又は非置換の2～20員のヘテロアルキルで置換されている」場合、基は1つ以上の非置換C<sub>1</sub>～C<sub>20</sub>アルキル、及び／又は1つ以上の非置換2～20員のヘテロアルキルを含んでいてもよい。

## 【0070】

さらに、部分がR置換基で置換されている場合、その基は「R置換」と称されることがある。部分がR置換されている場合、部分は少なくとも1つのR置換基で置換され、各R置換基は任意選択的に異なる。特定のR基が化学属（式(I)など）の記載に存在する場合、その特定のR基の各出現を区別するために、ローマ字のアルファベット記号が使用されてもよい。例えば、複数のR<sup>13</sup>置換基が存在する場合、各R<sup>13</sup>置換基は、R<sup>13A</sup>、R<sup>13B</sup>、R<sup>13C</sup>、R<sup>13D</sup>などと区別されてもよく、R<sup>13A</sup>、R<sup>13B</sup>、R<sup>13C</sup>、R<sup>13D</sup>などの各々は、R<sup>13</sup>の定義の範囲内に、任意選択的に異なって定義される。

## 【0071】

さらに、部分がR置換基で置換されている場合、その基は「R置換」と称されることがある。部分がR置換されている場合、部分は少なくとも1つのR置換基で置換され、各R置換基は任意選択的に異なる。特定のR基が化学属（式(I)など）の記載に存在する場合、その特定のR基の各出現を区別するために、ローマ字のアルファベット記号が使用されてもよい。例えば、複数のR<sup>201</sup>置換基が存在する場合、各R<sup>201</sup>置換基は、R<sup>201A</sup>、R<sup>201B</sup>、R<sup>201C</sup>、R<sup>201D</sup>などと区別されてもよく、R<sup>201A</sup>、R<sup>201B</sup>、R<sup>201C</sup>、R<sup>201D</sup>などの各々は、R<sup>201</sup>の定義の範囲内に、任意選択的に異なって定義される。

## 【0072】

用語「求核性部分」は、1つ以上の電子（例えば、2個）を求電子剤に供与することが

10

20

30

40

50

できる化学種又は官能基を指す。実施形態において、求核性部分は、化学反応において求電子剤に電子を供与して結合を形成することができる化学種又は官能基を指す。

【0073】

用語「求電子部分」は、1つ以上の電子（例えば、2個）を受け取ることができる化学種又は官能基を指す。実施形態において、求電子性部分は、空軌道を有し、したがって化学反応において結合を形成するために電子を受け入れることができる化学種又は官能基を指す。

【0074】

用語「オリゴグリコール部分」は、一般式： $R^{400}-O-(CH_2-CH_2-O)_n$   
 $300-$

【0075】

【化3】

〜

[式中、 $R^{400}$ はH、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $n300$ は1以上の整数である。]を有する化学的実体を指す。一部の例では、 $R^{400}$ はH又はアルキルである。

【0076】

本開示の化合物の説明は、当業者に公知の化学結合の原理によって限定される。したがって、基がいくつかの置換基の1つ以上によって置換され得る場合、そのような置換は、化学結合の原理に従い、本質的に不安定ではない、及び／又は水性、中性、並びにいくつかの既知の生理学的条件などの周囲条件下で不安定である可能性が高いと当業者に知られている化合物を与えるように選択される。例えば、ヘテロシクロアルキル又はヘテロアリールは、当業者に公知の化学結合の原理に従って、環ヘテロ原子を介して、分子の残りの部分に結合され、それによって本質的に不安定な化合物を回避する。

【0077】

用語「薬学的に許容される塩」は、本明細書に記載される化合物上に見出される特定の置換基に応じて、比較的無毒性の酸又は塩基で調製される活性化合物の塩を含むことを意味する。本開示の化合物が比較的酸性の官能基を含む場合、塩基付加塩は、そのような化合物の中性形態を、ニート又は適切な不活性溶媒中で十分な量の所望の塩基と接触させることによって得ることができる。薬学的に許容される塩基付加塩の例として、ナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウム、有機アミノ塩、若しくはマグネシウム塩、又は類似の塩が挙げられる。本開示の化合物が比較的塩基性の官能基を含む場合、酸付加塩は、そのような化合物の中性形態を、ニート又は適切な不活性溶媒中で十分な量の所望の酸と接触させることによって得ることができる。薬学的に許容される酸付加塩の例として、無機酸、例えば塩酸、臭化水素酸、硝酸、炭酸、一水素炭酸、リン酸、一水素リン酸、二水素リン酸、硫酸、一水素硫酸、ヨウ化水素酸、又は亜リン酸などに由来するものが挙げられ、並びに比較的毒性のない有機酸に由来する塩、例えば酢酸、プロピオン酸、イソ酪酸、マレイン酸、マロン酸、安息香酸、コハク酸、スベリン酸、フマル酸、乳酸、マンデル酸、フタル酸、ベンゼンスルホン酸、p-トリルスルホン酸、クエン酸、酒石酸、シュウ酸、メタンスルホン酸などが挙げられる。また、アルギニン酸塩などのアミノ酸の塩、及びグルクロン酸又はガラクトノール酸などの有機酸の塩なども含まれる（例えば、Bergeら、「Pharmaceutical Salts」、Journal of Pharmaceutical Science、1977、66、1～19頁を参照のこと。）。本開示のある特定の化合物は、化合物を塩基性又は酸付加塩のいずれかに変換することを可能にする塩基性及び酸性官能基の両方を含有する。

【0078】

10

20

30

40

50

したがって、本開示の化合物は、薬学的に許容される酸との塩などとして存在してもよい。本開示は、このような塩を含む。このような塩の非限定的な例として、塩酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩、硫酸塩、メタンスルホン酸塩、硝酸塩、マレイン酸塩、酢酸塩、クエン酸塩、フマル酸塩、プロピオン酸塩、酒石酸塩（例えば、（+）-酒石酸塩、（-）-酒石酸塩、又はラセミ混合物を含むそれらの混合物）、コハク酸塩、安息香酸塩、及びアミノ酸との塩、例えばグルタミン酸塩、並びに第四級アンモニウム塩（例えば、ヨウ化メチル、ヨウ化エチルなど）が挙げられる。これらの塩は、当業者に公知の方法により調製することができる。

#### 【0079】

化合物の中性形態は、好ましくは、塩を塩基又は酸と接触させ、従来の様式で親化合物を単離することによって再生される。化合物の親形態は、極性溶媒への溶解性などのある特定の物理的特性において様々な塩形態と異なってもよい。

10

#### 【0080】

塩形態に加えて、本開示は、プロドラッグ形態である化合物を提供する。本明細書に記載される化合物のプロドラッグは、本開示の化合物を提供する生理学的条件下で、容易に化学変化を受ける化合物である。本明細書に記載される化合物のプロドラッグは、投与後にインビボで変換され得る。さらに、プロドラッグは、例えば、適切な酵素又は化学試薬と接触した場合などのエクスピボ環境における化学的又は生化学的方法によって本開示の化合物に変換することができる。

#### 【0081】

本開示のある特定の化合物は、非溶媒和形態及び水和形態を含む溶媒和形態で存在することができる。一般に、溶媒和形態は非溶媒和形態と同等であり、本開示の範囲に包含される。本開示のある特定の化合物は、複数の結晶又は非晶質形態で存在することができる。一般に、全ての物理的形態は、本開示によって企図される使用について等価であり、本開示の範囲内にあることが意図される。

20

#### 【0082】

他に定義されない限り、本明細書で使用される技術用語及び科学用語は、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。例えば、Singletonら、*DICTIONARY OF MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY*、第2版、J. Wiley & Sons (New York, NY 1994) ; Sambrookら、*MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL*、Cold Springs Harbor Press (Cold Springs Harbor, NY 1989) を参照されたい。本明細書に記載されるものと類似又は同等の任意の方法、デバイス及び材料を、本開示の実施に使用することができる。以下の定義は、本明細書で頻繁に使用されるある特定の用語の理解を容易にするために提供され、本開示の範囲を限定することを意図するものではない。

30

#### 【0083】

「核酸」は、一本鎖、二本鎖若しくは多本鎖形態のいずれかのデオキシリボヌクレオチド又はリボヌクレオチド並びにそれらのポリマー、又はそれらの相補体を指す。「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、「オリゴ」などの用語は、通常及び通例の意味で、ヌクレオチドの線状配列を指す。用語「ヌクレオチド」は、通常及び慣習的な意味で、ポリヌクレオチドの単一単位、すなわちモノマーを指す。ヌクレオチドは、リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、又はそれらの修飾バージョンであり得る。本明細書で企図されるポリヌクレオチドの例として、一本鎖及び二本鎖DNA、一本鎖及び二本鎖RNA、並びに一本鎖及び二本鎖DNAとRNAとの混合物を有するハイブリッド分子が挙げられる。核酸の例、例えば本明細書で企図されるポリヌクレオチドとして、任意のタイプのRNA、例えばメッセンジャーRNA (mRNA)、低干渉RNA (siRNA)、ショートヘアピンRNA (shRNA)、マイクロRNA (miRNA)、ガイドRNA (gRNA)、CRISPR RNA (crRNA)、トランス活性化RNA (tracrRNA)、プラスミドDNA (pDNA)、ミニサークルDNA、ゲノムDNA (g

40

50

NDA)、及びそれらの任意の断片が挙げられる。ポリヌクレオチドの文脈における用語「二重鎖」は、通常及び慣習的な意味で、二本鎖性を指す。核酸は直鎖状又は分岐状である可能性がある。例えば、核酸はヌクレオチドの直鎖であり得、又は核酸は分岐することができ、例えば、核酸がヌクレオチドの1つ以上のアーム又は分岐を有するようにする。任意選択的に、分岐核酸は、デンドリマーなどの高次構造を形成するために繰り返し分岐される。

#### 【0084】

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

#### 【0085】

この用語はまた、既知のヌクレオチドアナログ又は修飾された骨格残基若しくは連結を含有する核酸を包含し、それらは合成的、天然に存在する、及び天然に存在せず、参照核酸と同様の結合特性を有し、参照ヌクレオチドと類似の方法で代謝される。このようなアナログの例として、限定するものではないが、例えば、ホスホロアミデート、ホスホロジアミデート、ホスホロチオエート（リン酸塩中の酸素を置き換える二重結合硫黄を有するホスホチオエートとしても知られる）、ホスホロジチオエート、ホスホノカルボン酸、ホスホノカルボン酸、ホスホノ酢酸、ホスホノギ酸、メチルホスホネート、ホスホン酸ハウ素、又はO-メチルホスホロアミダイト結合を含むホスホジエステル誘導体（Eckstein, OLIGONUCLEOTIDES AND ANALOGUES: A PRACTICAL APPROACH, Oxford University Pressを参照のこと。）並びに5-メチルシチジン又はシュドウリジンなどのヌクレオチド塩基への修飾並びにペプチド核酸骨格及び連結が挙げられる。他の類似体核酸として、正の骨格を有するもの、非イオン性骨格、修飾糖、及び非リボース骨格（例えばホスホロジアミデートモルホリノオリゴ又は当該技術分野において公知のロック核酸（LNA））が挙げられ、米国特許第5,235,033号及び第5,034,506号、及び第6章及び第7章、ASC Symposium Series 580、CARBOHYDRATE MODIFICATIONS IN ANTISENSE RESEARCH、Sanghui & Cook編を含む。1つ以上の炭素環糖を含む核酸も、核酸の1つの定義に含まれる。リボースリン酸骨格の修飾は、様々な理由、例えば、生理学的環境における、又はバイオチップ上のプローブとして、そのような分子の安定性及び半減期を増加させるために行われてもよい。天然に存在する核酸及びアナログの混合物を製造することができる。代替的に、異なる核酸アナログの混合物、及び天然に存在する核酸及びアナログの混合物が作製されてもよい。実施形態において、DNAにおけるヌクレオチド間連結は、ホスホジエステル、ホスホジエステル誘導体、又は両方の組合せである。

#### 【0086】

核酸は、非特異的配列を含むことができる。本明細書で使用される場合、「非特異的配列」という用語は、任意の他の核酸配列と相補的であるように設計されていない、又は部分的にのみ相補的である一連の残基を含む核酸配列を指す。例として、非特異的核酸配列は、細胞又は生物と接触したときに阻害核酸として機能しない核酸残基の配列である。「阻害性核酸」とは、標的核酸（例えばタンパク質に翻訳可能なmRNA）に結合し、標的核酸（例えばDNAからのmRNA）の転写を減少させる、又は標的核酸（例えばmRNA）の翻訳を減少させる、又は転写物スプライシング（一本鎖モルホリノオリゴ）を改変することができる核酸（例えばDNA、RNA、ヌクレオチドアナログのポリマー）である。実施形態において、核酸はRNA（例えばmRNA）である。実施形態において、核酸は10～100,000塩基長である。実施形態において、核酸は50及び10,000塩基長である。実施形態において、核酸は50及び5,000塩基長である。実施形態

において、核酸は50～1,000塩基長である。

【0087】

用語「ポリペプチド」、「ペプチド」及び「タンパク質」は、本明細書において、アミノ酸残基のポリマーを指すために互換的に使用され、ポリマーは、アミノ酸から構成されない部分にコンジュゲートされてもよい。この用語は、1つ以上のアミノ酸残基が対応する天然に存在するアミノ酸の人工化学的模倣体であるアミノ酸ポリマー、並びに天然に存在するアミノ酸ポリマー及び天然に存在しないアミノ酸ポリマーに適用される。この用語は、大環状ペプチド、非ペプチド官能基で修飾されたペプチド、ペプチド模倣薬、ポリアミド、及びマクロラクタムに適用される。「融合タンパク質」とは、単一の部分として組換え的に発現される2つ以上の別個のタンパク質配列をコードするキメラタンパク質を指す。

10

【0088】

用語「ペプチジル」及び「ペプチジル部分」は、一価ペプチドを意味する。

【0089】

用語「アミノ酸」は、天然に存在するアミノ酸及び合成アミノ酸、並びに天然に存在するアミノ酸と類似の様式で機能するアミノ酸アナログ及びアミノ酸模倣体を指す。天然に存在するアミノ酸は、遺伝コードによってコードされるもの、並びに後で修飾されるアミノ酸、例えばヒドロキシプロリン、 $\gamma$ -カルボキシグルタミン酸、及び $\alpha$ -ホスホセリンである。アミノ酸アナログは、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的な化学構造、すなわち、水素、カルボキシル基、アミノ基、及びR基に結合した $\alpha$ 炭素、例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウムを有する化合物を指す。このようなアナログは、修飾されたR基（例えば、ノルロイシン）又は修飾されたペプチド骨格を有するが、天然に存在するアミノ酸と同じ基本化学構造を保持する。アミノ酸模倣体は、アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同様の様式で機能する化合物を指す。「天然に存在しないアミノ酸」及び「非天然アミノ酸」という用語は、天然には見られないアミノ酸アナログ、合成アミノ酸及びアミノ酸模倣体を指す。

20

【0090】

アミノ酸は、本明細書において、それらの一般に知られている3文字の記号、又はIUPAC-IUB生化学命名委員会によって推奨される1文字の記号のいずれかによって参照され得る。ヌクレオチドは、同様に、それらの一般的に受け入れられている単一文字コードによって参照され得る。

30

【0091】

「接触する」は、その明白な通常の意味に従って使用され、少なくとも2つの異なる種（例えば、生体分子又は細胞を含む化合物）が反応、相互作用又は物理的に触れるのに十分近位になることを可能にするプロセスを指す。しかしながら、得られた反応生成物は、添加された試薬間の反応から直接、又は反応混合物中に生成され得る1つ以上の添加された試薬からの中間体から製造することができることを理解されたい。実施形態において、接触は、例えば、核酸がエンドヌクレアーゼと相互作用することを可能にするを含む。

40

【0092】

「対照」試料又は値は、試験試料と比較するための参照、通常は既知の参照として機能する試料を指す。例えば、試験試料は、試験条件から、例えば、試験化合物の存在下で採取し、既知の条件からの試料と、例えば、試験化合物（陰性対照）の非存在下、又は既知の化合物（陽性対照）の存在下で、比較することができる。対照は、いくつかの試験又は結果から収集された平均値を表すこともできる。当業者は、対照が任意の数のパラメータの評価のために設計することができることを認識する。例えば、薬理学的データ（例えば、半減期）又は治療的尺度（例えば、副作用の比較）に基づいて治療利益を比較するように対照を考案することができる。当業者は、所与の状況においてどの標準対照が最も適切であるかを理解し、標準対照値との比較に基づいてデータを分析することができる。標

50

準対照は、データの有意性（例えば、統計的有意性）を決定するためにも役立つ。例えば、所与のパラメーターの値が標準対照で大きく異なる場合、試験試料の変動は有意とはみなされない。

【0093】

「標識」又は「検出可能な部分」は、分光的、光化学的、生化学的、免疫化学的、化学的、又は他の物理的手段によって検出可能な組成物である。例えば、有用な標識として、<sup>32</sup>P、蛍光色素、高電子密度の試薬、酵素（例えば、ELISAにおいて一般的に使用されるような）、ビオチン、ジゴキシゲニン、又はハプテン及びタンパク質、又は例えば、標的ペプチドと特異的に反応するペプチド若しくは抗体に放射性標識を組み込むことによって、検出可能にすることができるタンパク質又は他の実体が挙げられる。抗体を標識にコンジュゲートするための当該技術分野で公知の任意の適切な方法は、例えば、Hermanson、Bioconjugate Techniques 1996、Academic Press, Inc.、San Diegoに記載の方法を使用して、用いることができる。

10

【0094】

「生体試料」又は「試料」は、対象又は患者から得られた、又は対象又は患者に由来する材料を指す。生体試料として、生検及び剖検試料などの組織の切片、並びに組織学的目的で採取された凍結切片が挙げられる。そのような試料として、血液及び血液画分又は産物などの体液（例えば、血清、血漿、血小板、赤血球など）、喀痰、組織、培養細胞（例えば、初代培養、外植片、及び形質転換細胞）、便、尿、滑液、関節組織、滑膜組織、滑膜細胞、線維芽細胞様滑膜細胞、マクロファージ様滑膜細胞、免疫細胞、造血細胞、線維芽細胞、マクロファージ、T細胞などが挙げられる。生体試料は、典型的には、チンパンジー又はヒトなどの霊長類などの哺乳動物；牛；犬；猫；げっ歯類、例えば、モルモット、ラット、マウス；ウサギ；又は鳥；爬虫類；又は魚などの真核生物から得られる。

20

【0095】

「細胞」とは、本明細書で使用される場合、そのゲノムDNAを保存又は複製するのに十分な代謝又は他の機能を実行する細胞を指す。細胞は、例えば、無傷の膜の存在、特定の色素による染色、子孫（progeny）を産生する能力、又は配偶子の場合、生存可能な子孫（offspring）を産生するために第2の配偶子と結合する能力を含む、当該技術分野で周知の方法によって同定することができる。細胞は、原核細胞及び真核細胞を含んでもよい。原核細胞として細菌が挙げられるが、これに限定されない。真核細胞として、酵母細胞並びに植物及び動物由来の細胞、例えば哺乳動物、昆虫（例えば、スポドプテラ属（spodoptera））及びヒト細胞を含むが、これらに限定されない。

30

【0096】

「遺伝子」という用語は、タンパク質の産生に関与するDNAのセグメントを意味し、コーディング領域の前後の領域（リーダーとトレーラー）、及び個々のコーディングセグメント（エクソン）間の介在シーケンス（イントロン）が含まれる。リーダー、トレーラー、及びイントロンには、遺伝子の転写及び翻訳中に必要な調節要素が含まれている。さらに、「タンパク質遺伝子産物」とは、特定の遺伝子から発現するタンパク質である。

【0097】

遺伝子に関して「発現」又は「発現される」という言葉は、本明細書で使用される場合、その遺伝子の転写及び／又は翻訳産物を意味する遺伝子を指す。細胞内のDNA分子の発現レベルは、細胞内に存在する対応するmRNAの量、又は細胞によって産生されるそのDNAによってコードされるタンパク質の量のいずれかに基づいて決定され得る（Sambrookら、1989、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、18.1～18.88頁）。

40

【0098】

トランスフェクトされた遺伝子の発現は、細胞内で一過性又は安定に起こり得る。「一過性発現」の間、トランスフェクトされた遺伝子は、細胞分裂中に娘細胞に移されない。その発現はトランスフェクトされた細胞に限定されるため、遺伝子の発現は時間と共に失

50

われる。対照的に、トランスフェクトされた遺伝子の安定した発現は、遺伝子がトランスフェクトされた細胞に選択上の利点を与える別の遺伝子とコトランスフェクトされる場合に起こり得る。そのような選択上の利点は、細胞に提示されるある特定の毒素に対する耐性であり得る。

【0099】

用語「プラスミド」は、遺伝子の発現に必要な遺伝子及び／又は調節エレメントをコードする核酸分子を指す。プラスミドからの遺伝子の発現は、シス又はトランスで起こり得る。遺伝子がシスで発現している場合、遺伝子と調節エレメントは同じプラスミドによってコードされる。トランスにおける発現は、遺伝子及び調節エレメントが別々のプラスミドによってコードされる例を指す。

10

【0100】

「外因性」という用語は、所与の細胞又は生物の外部に由来する分子又は物質（例えば、核酸又はタンパク質）を指す。逆に、「内因性」という用語は、所与の細胞若しくは生物に天然である、又は内部に由来する分子又は物質を指す。

【0101】

「ベクター」は、別の核酸を細胞内に輸送することができる核酸である。ベクターは、適切な環境に存在する場合、ベクターによって担持される1つ以上の遺伝子によってコードされるタンパク質（1つ以上）の発現を方向付けることができる。

【0102】

「コドン最適化」という用語は、種々の宿主の形質転換のための核酸分子の遺伝子又はコード領域を指すように、DNAによってコードされるポリペプチドを改変することなく、宿主生物の典型的なコドン使用を反映するように、核酸分子の遺伝子又はコード領域におけるコドンを改変することを指す。そのような最適化は、少なくとも1つ、又は2つ以上、又は有意な数のコドンを、その生物の遺伝子においてより頻繁に使用される1つ以上のコドンで置き換えることを含む。多種多様な動物、植物、微生物種に利用可能な多数の遺伝子配列を考えると、コドン使用の相対頻度を計算することが可能である。コドン使用表は、例えば、[www.kazusa.or.jp/codon/](http://www.kazusa.or.jp/codon/)で入手可能な「コドン使用データベース」で容易に入手可能である。各生物におけるコドン使用又はコドン選好に関する知識を利用することにより、当業者は、任意の所与のポリペプチド配列に頻度を適用し、ポリペプチドをコードするが、所与の種に最適なコドンを使用するコドン最適化コード領域の核酸断片を作製することができる。コドン最適化コード領域は、当業者に公知の様々な方法によって設計することができる。

20

30

【0103】

「細胞培養」は、生物の外部に存在する細胞のインビトロ集団である。細胞培養は、細胞バンク若しくは動物から単離された初代細胞、又はこれらの供給源の1つに由来し、長期間のインビトロ培養のために不死化された二次細胞から確立することができる。

【0104】

用語「トランスフェクション」、「形質導入」、「トランスフェクトすること」又は「形質導入」は、互換的に使用することができ、核酸分子及び／又はタンパク質を細胞に導入するプロセスとして定義される。核酸は、非ウイルス性又はウイルスベースの方法を使用して細胞に導入することができる。核酸分子は、完全なタンパク質又はその機能的部分をコードする配列であり得る。典型的には、核酸ベクターは、タンパク質発現に必要な要素（例えば、プロモーター、転写開始部位など）を有する。トランスフェクションの非ウイルス方法として、核酸分子を細胞に導入するための送達系としてウイルスDNA又はウイルス粒子を使用しない任意の適切な方法が挙げられる。例示的な非ウイルストランスフェクション法として、リン酸カルシウムトランスフェクション、リポソームトランスフェクション、ヌクレオフェクション、ソノポレーション、熱ショックによるトランスフェクション、磁化及び電気穿孔が挙げられる。ウイルスベースの方法の場合、任意の有用なウイルスベクターを本明細書に記載される方法で使用することができる。ウイルスベクターの例として、レトロウイルス、アデノウイルス、レンチウイルス及びアデノ随伴ウイルス

40

50

ベクターが挙げられるが、これらに限定されない。一部の態様において、核酸分子は、当該技術分野において周知の標準手順に従って、レトロウイルスベクターを使用して細胞に導入される。「トランスフェクション」又は「形質導入」という用語は、外部環境から細胞にタンパク質を導入することも指す。典型的には、タンパク質の形質導入又はトランスフェクションは、目的のタンパク質への細胞膜を横断することができるペプチド又はタンパク質の付着に依存する。例えば、Fordら、(2001) Gene Therapy 8: 1~4頁及びProchiantz (2007) Nat. Methods 4: 119~20を参照されたい。

#### 【0105】

本明細書で使用される場合、「特異的結合」又は「特異的に結合する」という用語は、生理学的条件下で比較的安定である複合体（例えば、ウイルスタンパク質及び前記ウイルスタンパク質に対する受容体）を形成する2つの分子を指す。

#### 【0106】

リガンドが別の種（例えば、タンパク質又は核酸）に結合するかどうか、及び／又はそのようなリガンドー種相互作用の親和性を決定するための方法は、当該技術分野において公知である。例えば、タンパク質へのリガンドの結合は、ウエスタンブロット、ドットブロット、表面プラズモン共鳴法（例えば、BIAcore system; Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N. J.）、等温滴定熱量測定（ITC）、又は酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）などの様々な技術、これらに限定されない、を使用して検出及び／又は定量化することができる。

#### 【0107】

リガンドの免疫特異的結合及び交差反応性を分析するために使用することができるイムノアッセイとして、これらに限定されないが、ウエスタンブロット、RIA、ELISA（酵素結合免疫吸着アッセイ）、「サンドイッチ」イムノアッセイ、免疫沈降アッセイ、免疫拡散アッセイ、凝集アッセイ、補体固定アッセイ、免疫放射測定アッセイ、及び蛍光イムノアッセイなどの技術を使用した競合的及び非競合的アッセイシステムが挙げられる。このようなアッセイは日常的であり、当該技術分野で周知である。

#### 【0108】

「抗体」という用語は、抗原に特異的に結合して認識する免疫グロブリン遺伝子又はその機能的断片によってコードされるポリペプチドを指す。認識される免疫グロブリン遺伝子として、カッパ、ラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、イプシロン、及びミュー定常領域遺伝子、並びに無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子が挙げられる。軽鎖はカッパ又はラムダのいずれかに分類される。重鎖はガンマ、ミュー、アルファ、デルタ、又はイプシロンに分類され、次に、免疫グロブリンクラスであるIgG、IgM、IgA、IgD、及びIgEをそれぞれ定義する。

#### 【0109】

用語「抗原」及び「エピトープ」は、免疫系の構成要素、例えば、抗体、T細胞受容体、又はナチュラルキラー（NK）細胞上の受容体などの他の免疫受容体によって特異的に認識される分子（例えば、ポリペプチド）の部分を変換可能に指す。本明細書で使用される場合、「抗原」という用語は、抗原エピトープ及びその抗原断片を包含する。

#### 【0110】

例示的な免疫グロブリン（抗体）構造単位は、四量体を有することができる。各四量体は、ポリペプチド鎖の2つの同一の対から構成され、各対は、1つの「軽」鎖（約25 kDa）及び1つの「重」鎖（約50~70 kDa）を有する。各鎖のN末端は、主に抗原認識を担う約100~110個以上のアミノ酸の可変領域を規定する。用語「可変重鎖」、「V<sub>H</sub>」、又は「V<sub>H</sub>」は、F<sub>v</sub>、s c F<sub>v</sub>、d s F<sub>v</sub>又はF a bを含む免疫グロブリン重鎖の可変領域を指し、一方、「可変軽鎖」、「V<sub>L</sub>」又は「V<sub>L</sub>」という用語は、F<sub>v</sub>、s c F<sub>v</sub>、d s F<sub>v</sub>又はF a bを含む免疫グロブリン軽鎖の可変領域を指す。

#### 【0111】

抗体機能的断片の例として、限定するものではないが、完全な抗体分子、抗体断片、例えばFv、一本鎖Fv（scFv）、相補性決定領域（CDR）、VL（軽鎖可変領域）、VH（重鎖可変領域）、Fab、F(ab)<sub>2</sub>’及びこれら又は標的抗原に結合することができる免疫グロブリンペプチドの任意の他の機能的部分の任意の組合せが挙げられる（例えば、FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY（Paul編、第4版、2001）を参照のこと。）。当業者によって理解されるように、様々な抗体断片は、様々な方法、例えば、ペプシンなどの酵素による無傷抗体の消化、又はデノボ合成によって得ることができる。抗体断片は、多くの場合、化学的に、又は組換えDNA法のいずれかを使用してデノボで合成される。したがって、本明細書で使用される場合、抗体という用語には、抗体全体の修飾、若しくは組換えDNA法を使用してデノボで合成されたもの（例えば、一本鎖Fv）、又はファージディスプレイライブラリーを使用して同定されたもの（例えば、McCaffertyら、（1990）Nature 348:552頁を参照されたい。）のいずれかによって産生された抗体断片を含む。用語「抗体」はまた、二価又は二重特異性分子、ダイアボディ、トリアボディ、及びテトラボディを含む。二価及び二重特異性分子は、例えば、Kostelnyら（1992）J. Immunol. 148:1547頁、Pack and Pluckthun（1992）Biochemistry 31:1579頁、Hollingerら（1993）、PNAS. USA 90:6444頁、Gruberら（1994）J. Immunol. 152:5368頁、Zhuら（1997）Protein Sci. 6:781頁、Huら（1996）Cancer Res. 56:3055頁、Adamsら（1993）Cancer Res. 53:4026頁、及びMcCartneyら。（1995）Protein Eng. 8:301頁に記載されている。

10

20

#### 【0112】

本明細書で使用される場合、用語「崩壊」、「自己崩壊」、「自己崩壊機序」、「崩壊部分」、「崩壊ドメイン」などは、本明細書において、化学基が分子内反応を受ける能力を指し、それによって化学基の化学転位及びそれが結合された化合物の残りの転位された化学基の放出をもたらす。「pH感受性」崩壊ドメインは、慎重なpH範囲内で崩壊反応を受け、慎重なpH範囲（例えば、pH約1～5、pH約5～7又はpH約7～10）外で実質的に崩壊反応を受けない化学基を指す。実施形態において、慎重なpH範囲は、pH1～3、pH2～4、pH3～5、pH4～6、pH5～7、pH6～8、pH7～9又はpH8～10である。実施形態において、pH感受性崩壊領域は、カチオン性アルファアミノエステル（オリゴ（ $\alpha$ -アミノエステル））を含む。実施形態において、カチオン性アルファアミノエステルのカチオン成分は、正に荷電した窒素原子（例えばカチオン性アミン）である。実施形態において、カチオン性アルファアミノエステルのカチオン成分は、グアニジニウム基ではない。実施形態において、カチオン性アルファアミノエステルのカチオン成分は、ピペリジニウム基ではない。

30

#### 【0113】

「細胞透過性複合体」などの用語は、通常及び慣習的な意味で、細胞（真核細胞又は原核細胞などの生物学的細胞）に浸透することができる化学複合体（例えば、本明細書に開示される複合体又は組成物及びその実施形態）を指す。実施形態において、細胞透過性複合体は、カチオン性両親媒性ポリマーにイオンの結合された核酸を含む。実施形態において、核酸は、カチオン性両親媒性ポリマーの非存在下では細胞に実質的に浸透することができない。したがって、実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、細胞内への核酸の輸送を促進する。本明細書で使用される場合、「カチオン性電荷変更放出性輸送体」、「CART」などの用語は、本明細書に開示される細胞透過性複合体を指す。CART化合物は、カチオン性両親媒性ポリマー成分内のpH感受性崩壊ドメインの作用を通じて、細胞内の核酸成分を放出することができ、細胞内のpHに応答して反応し、それによって細胞内で核酸を放出する。実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、細胞内で急速に分解する（例えば、pH7.4で6時間未満のT1/2）。少なくとも一部の実施形態において、ポリプレックス、複合体、静電複合体、CART/mRNA複合体

40

50

、CART／オリゴヌクレオチド複合体及びナノ粒子は、細胞透過性複合体を指すために交換可能に使用することができる。

【0114】

用語「両親媒性ポリマー」は、本明細書で使用される場合、親水性部分及び疎水性部分の両方を含むポリマーを指す。実施形態において、親水性部分と疎水性部分は、1対1の質量比で存在する。実施形態において、親水性部分と疎水性部分は、1対2の質量比で存在する。実施形態において、親水性部分と疎水性部分は、1対5の質量比で存在する。実施形態において、親水性部分と疎水性部分は、2対1の質量比で存在する。実施形態において、親水性部分と疎水性部分は、5対1の質量比で存在する。両親媒性ポリマーは、ジブロック又はトリブロックコポリマーであってもよい。実施形態において、両親媒性ポリマーは、2つの親水性部分（例えば、ブロック）及び1つの疎水性部分（例えば、ブロック）を含んでもよい。

10

【0115】

「親油性ポリマードメイン」などの用語は、しばしば「脂質ブロック」と呼ばれ、親水性ではない（例えば水のみに不溶である。）カチオン性両親媒性ポリマーの領域を指す。実施形態において、親油性ポリマードメインは、水に対する溶解度が低い。例えば、水への低溶解度とは、水に約0.0005mg/mL～約10mg/mL可溶である親油性ポリマードメインの溶解度を指す。

【0116】

「開始剤」とは、重合反応を開始する目的を有するカチオン性両親媒性ポリマーを合成する反応に関与する化合物を指す。したがって、開始剤は、典型的には、合成されたポリマーの末端に組み込まれる。例えば、1つのタイプ（又は式）のモノマーまた2つ以上のタイプのモノマー（例えば2つの異なるタイプのモノマー）の複数の分子を開始剤と反応させて、カチオン性両親媒性ポリマーを提供することができる。開始剤は、得られたポリマーの少なくとも一方の端に存在することができ、ポリマーに存在する繰り返し（又は重合）単位を構成しない。

20

【0117】

用語「疾患」又は「状態」は、本明細書で提供される化合物、医薬組成物、又は方法で処置することができる対象の状態又は健康状態を指す。この疾患は、自己免疫性、炎症性、がん、感染性、代謝性、発達性、心血管、肝臓、腸、内分泌、神経又は他の疾患であり得る。一部の例において、疾患はがん（例えば乳がん、卵巣がん、肉腫、骨肉腫、肺がん、膀胱がん、子宮頸がん、肝臓がん、腎臓がん、皮膚がん（例えばメルケル細胞癌）、精巣がん、白血病、リンパ腫、頭頸部がん、結腸直腸がん、前立腺がん、膵臓がん、黒色腫、神経芽細胞腫）である。

30

【0118】

用語「感染」又は「感染症」は、細菌、ウイルス、真菌又は他の任意の病原性微生物因子などの生物によって引き起こされ得る疾患又は状態を指す。

【0119】

用語「ウイルス」又は「ウイルス粒子」は、生物学分野におけるそれらの明白な通常の意味に従って使用され、ウイルスゲノム（例えばDNA、RNA、一本鎖、二本鎖）、タンパク質の保護コート（例えばカプシド）及び関連タンパク質を含む粒子を指し、エンベロープウイルス（例えばヘルペスウイルス）の場合、脂質及び任意選択的に宿主細胞膜の成分を含むエンベロープ、及び／又はウイルスタンパク質を指す。

40

【0120】

「ウイルス感染」又は「ウイルス性疾患」という用語は、ウイルスによって引き起こされる疾患又は状態を指す。ウイルス感染の非限定的な例として、肝ウイルス疾患（例えば、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、D型、E型肝炎）、ヘルペスウイルス感染（例、HSV-1、HSV-2、帯状疱疹）、フラビウイルス感染、ジカウイルス感染、サイトメガロウイルス感染、呼吸器ウイルス感染（例えば、アデノウイルス感染、インフルエンザ、重症急性呼吸器症候群、コロナウイルス感染（例、SARS-CoV-1、SARS-C

50

o V-2、MERS-CoV、COVID-19、MERS))、胃腸ウイルス感染(例えば、ノロウイルス感染、ロタウイルス感染、アストロウイルス感染)、発疹性ウイルス感染(例えば、麻疹、带状疱疹、天然痘、風疹)、ウイルス性出血性疾患(例えば、エボラ出血熱、ラッサ熱、デング熱、黄熱病)、神経学的ウイルス感染(例えば、ウエストナイルウイルス感染、ポリオ、ウイルス性髄膜炎、ウイルス性脳炎、日本脳炎、狂犬病)、及びヒトパピローマウイルス感染が挙げられる。

#### 【0121】

用語「感染」又は「感染症」は、細菌、ウイルス、真菌又は他の任意の病原性微生物因子などの生物によって引き起こされ得る疾患又は状態を指す。実施形態において、感染症は、病原性ウイルスによって引き起こされる。病原性ウイルスは、細胞(ヒト細胞など)内で感染して複製し、病気を引き起こす可能性のあるウイルスである。実施形態において、感染症は、ウイルス関連疾患である。ウイルス関連疾患の非限定的な例として、肝ウイルス疾患(例えば、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、D型、E型肝炎)、ヘルペスウイルス感染(例、HSV-1、HSV-2、带状疱疹)、フラビウイルス感染、ジカウイルス感染、サイトメガロウイルス感染、呼吸器ウイルス感染(例えば、アデノウイルス感染、インフルエンザ、重症急性呼吸器症候群、コロナウイルス感染(例、SARS-CoV-1、SARS-CoV-2、MERS-CoV、COVID-19、MERS))、胃腸ウイルス感染(例えば、ノロウイルス感染、ロタウイルス感染、アストロウイルス感染)、発疹性ウイルス感染(例えば、麻疹、带状疱疹、天然痘、風疹)、ウイルス性出血性疾患(例えば、エボラ出血熱、ラッサ熱、デング熱、黄熱病)、神経学的ウイルス感染(例えば、ウエストナイルウイルス感染、ポリオ、ウイルス性髄膜炎、ウイルス性脳炎、日本脳炎、狂犬病)、及びヒトパピローマウイルス感染が挙げられる。

#### 【0122】

本明細書で定義されるように、分子(例えばポリヌクレオチド又はタンパク質)の活性及び／又は機能性に関して「阻害」、「阻害する」、「阻害すること」などの用語は、阻害の非存在下で、タンパク質の活性又は機能に対して分子の活性又は機能に負の影響を与える(例えば、減少又は低減させる。)ことを意味する。したがって、阻害は、少なくとも一部分において、刺激を部分的又は完全に遮断、活性化の減少、防止若しくは遅延、又はシグナル伝達若しくは酵素活性若しくはタンパク質若しくはポリヌクレオチドの量の不活性化、脱感作若しくは下方制御することを含む。同様に「阻害剤」は、標的生体分子(すなわち、核酸、ペプチド、炭水化物、脂質、又は自然界から見出すことができる任意の他の分子)を、例えば、標的生体分子の結合、部分的又は完全な遮断、減少、防止、遅延、不活性化、脱感作、又は下方制御する活性によって阻害する化合物である。疾病防止処置の文脈では、阻害は疾患又は疾患の症状の低減を指す。

#### 【0123】

SARS-CoV-2は、ベータコロナウイルスのファミリーに属し、そのメンバーには、新しい千年紀に重篤な疾患の発生を引き起こした他の2つの人獣伝染病ウイルス：重症急性呼吸器症候群コロナウイルス(SARS-CoV)及び中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)が含まれる。SARS-CoV-2は、2002年～2003年に重症急性呼吸器症候群(SARS)の流行を引き起こしたSARS-CoVとほぼ80%の遺伝的類似性を示している。SARS-CoV-2は、2012年に始まり、現在も続いている中東呼吸器症候群(MERS)の流行の原因であるMERS-CoVとより遠い関係にある。例えば、Yukira、2020、Clin. Immun. 215、108427頁； Chenら2020、J. Med. Virol. 92、418～423頁を参照されたい。「SARS-CoV」という用語は、SARSコロナウイルスを指す。「SARS-CoV」という用語には、SARS-CoV-2、SARS-CoV-1及びMERS-CoVなどの任意のコロノウイルスが含まれる。

#### 【0124】

「COVID-19」とは、SARS-CoV-2によって引き起こされる疾患を指す。COVID-19の潜伏期間は2～14日で、症状として、例えば、発熱、倦怠感、咳

、息切れ（例えば、呼吸困難など）が挙げられる。

【0125】

「MERS-CoV」とは、中東呼吸器症候群関連コロナウイルスを指す。例えば、*C hung r a、Genetic Characterization of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus, South Korea, 2018, Emerging Infectious Diseases, 25 (5): 958~962 頁 (2019)* を参照されたい。

【0126】

「中東呼吸器症候群」又は「MERS」は、MERS-コロナウイルスによって引き起こされる疾患を指す。

【0127】

「処置」、「処置すること」、及び「処置する」は、薬剤を使用して疾患、障害又は状態に作用して、疾患、障害若しくは状態及び／又はその症状の有害又はその他の望ましくない影響を低減又は改善することとして定義される。それを必要とする状態又は対象を「処置すること」又は「処置する」とは、（１）症状の低減などの臨床結果を含む、有益な又は望ましい結果を得るための措置を講じること；（２）疾患を阻害すること、例えば、疾患又はその臨床症状の発症を阻止又は軽減すること；（３）疾患を緩和すること、例えば、疾患又はその臨床症状の退行を引き起こすこと；又は（４）疾患を遅らせることを指す。例えば、有益又は所望の臨床結果として、がん細胞の減少及び／又は排除並びにがん細胞の転移の防止及び／又は減少が含まれるが、これらに限定されない。

【0128】

用語「防止する」、「防止すること」又は「防止」は、疾患の文脈において、疾患の症状をまだ経験していない又は示していない対象において疾患の臨床症状を発症させないことを指す。一部の例において、そのような防止は、疾患の素因があるとみなされ得る対象に適用され得るが、一方、いくつかの他の例において、対象は必ずしも疾患の素因があるとみなされない可能性がある。

【0129】

本明細書で使用される場合、「投与する」とは、当業者に公知の様々な方法及び送達系のいずれかを使用して、対象への組成物の物理的導入を指す。本明細書に記載される組成物の好ましい投与経路として、例えば注射又は注入による、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、脊髄又は他の非経口投与経路が挙げられる。語句「非経口投与」は、本明細書で使用される場合、経腸及び局所投与以外の投与様式を意味し、通常は注射による、限定するものではないが、静脈内、腹腔内、筋肉内、動脈内、くも膜下腔内、リンパ内、病巣内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、経気管、皮下、表皮下、関節内、嚢下、くも膜下、脊髄内、硬膜外及び胸骨内注射及び注入、並びにインビボ電気穿孔が挙げられる。代替的に、本明細書に記載される組成物は、局所、表皮又は粘膜投与経路などの非経口経路、例えば、鼻腔内、経口、膈内、直腸内、舌下又は局所的に投与することもできる。投与はまた、例えば、１回、複数回、及び／又は１回以上の延長期間にわたって行うことができる。

【0130】

疾患に関連する物質又は物質の活性又は機能の文脈における「関連する」又は「に関連する」という用語は、疾患が（全体的又は部分的に）引き起こされ得ること、又は疾患の症状が（全体的又は部分的に）物質又は物質の活性又は機能によって引き起こされ得ることを意味する。この用語が症状の文脈で使用される場合、例えば症状が疾患又は状態に関連している場合、症状は、症状を示す対象に存在する疾患又は状態を示すことができることを意味する。

【0131】

「対象」、「個体」、「宿主」又は「それを必要とする対象」という用語は、疾患若しくは状態に罹患している、又は将来疾患若しくは状態を有する可能性がある生物を指す。用語「患者」は、既に疾患又は状態を有する生物、例えば、疾患又は状態と診断された患者、又は疾患若しくは状態に関連する１つ以上の症状を有する患者を指す。非限定的な例

10

20

30

40

50

として、ヒト、他の哺乳動物、ウシ、ラット、マウス、イヌ、サル、ヤギ、ヒツジ、ウシ、シカ、及び他の非哺乳動物が挙げられる。一部の実施形態において、患者はヒトである。

#### 【0132】

用語「ワクチン」は、特定の疾患又は病原体に対する能動的な獲得免疫及び／又は治療効果（例えば処置）を提供することができる組成物を指す。ワクチンは、典型的には、病原体又は疾患、すなわち標的病原体又は疾患に対する対象において、免疫応答を誘導することができる1種以上の薬剤を含有する。免疫原性薬剤は、身体の免疫系を刺激して、標的病原体又は疾患の存在の脅威又は兆候として薬剤を認識し、それによって免疫学的記憶を誘導して、免疫系がその後の曝露時に、病原体のいずれかをより容易に認識及び破壊することができるようにする。ワクチンは、予防的（例えば、任意の自然若しくは病原体による将来の感染、又は素因のある対象におけるがんの予想される発生の影響を防止又は改善する。）、又は治療的（例えば、がんと診断された対象のがんを処置する。）であり得る。ワクチンの投与はワクチン接種と呼ばれる。一部の例において、ワクチン組成物は、核酸、例えば抗原分子（例えばペプチド）をコードするmRNAを対象に提供することができる。対象においてワクチン組成物を介して送達される核酸は、抗原分子に発現することができる、対象が抗原分子に対する免疫を獲得することを可能にする。感染症に対するワクチン接種との関連において、ワクチン組成物は、ある特定の病原体に関連する抗原分子、例えば病原体内で発現されることが知られている1つ以上のペプチド（例えば病原性細菌又はウイルス）をコードするmRNAを提供することができる。ウイルスワクチンの文脈において、ワクチン組成物は、免疫が求められるウイルスに特徴的なある特定のウイルスペプチド、例えばウイルス表面上で実質的に排他的又は高度に発現されるペプチド（例えば、キャプシド）をコードするmRNAを提供することができる。対象は、ウイルスワクチン組成物によるワクチン接種後、ウイルスペプチドに対する免疫を有して、それを発現する細胞を特異性で死滅させることができる。

10

20

#### 【0133】

「アジュバント」という用語は、免疫学におけるその明白な通常の意味に従って使用され、ワクチンの成分として一般的に使用される物質を指す。アジュバントは、ワクチンの一部として、1つ以上の特異的抗原と共に対象に投与された場合、対象における抗原特異的免疫応答を増加させることができる。実施形態において、アジュバントは、抗原に対する免疫応答を加速する。実施形態において、アジュバントは、抗原に対する免疫応答を延長する。実施形態において、アジュバントは、抗原に対する免疫応答を増強する。

30

#### 【0134】

本明細書で使用される用語「免疫応答」は、限定するものではないが、「獲得免疫応答」としても知られる「適応免疫応答」を包含し、適応免疫は、免疫応答によって標的とされる特定の病原体又は特定のタイプの細胞に対する初期応答の後に免疫学的記憶を誘発し、その後の遭遇時にその標的に対する増強された応答をもたらす。免疫学的記憶の誘導は、ワクチン接種の基礎を提供することができる。

#### 【0135】

「免疫原性」又は「抗原性」という用語は、免疫応答、例えば、細胞傷害性Tリンパ球（CTL）応答、B細胞応答（例えば、エпитープに特異的に結合する抗体の産生）、NK細胞応答、又はそれらの任意の組合せを誘導する化合物又は組成物を、免疫適格対象に投与した場合を指す。したがって、免疫原性又は抗原性組成物は、免疫適格対象において免疫応答を誘発することができる組成物である。例えば、免疫原性又は抗原性組成物は、免疫応答によって標的とされる病原体又は特定のタイプの細胞に関連する1つ以上の免疫原性エпитープを含むことができる。さらに、免疫原性組成物は、エпитープを発現するために使用することができる抗原ポリペプチドの1つ以上の免疫原性エпитープをコードする単離された核酸構築物（DNA又はRNAなど）を含むことができる（したがって、このポリペプチド又は標的病原体又は細胞の種類に関連する関連ポリペプチドに対する免疫応答を誘発するために使用される。）。

40

50

## 【0136】

本明細書に提供される方法によれば、対象に、本明細書で交換可能に使用される、本明細書で提供される1種以上の薬剤、組成物、又は複合体、（例えば細胞透過性複合体又はワクチン組成物）の有効量を投与することができる。用語「有効量」及び「有効投与量」は、互換的に使用される。用語「有効量」は、所望の効果（例えば、細胞への核酸のトランスフェクション及びトランスフェクトされた核酸の意図された結果を示す。）を生じるのに必要な任意の量として定義される。薬剤を投与するための有効量及びスケジュールは、当業者によって経験的に決定することができる。投与のための投与量の範囲は、所望の効果、例えば核酸のトランスフェクション、遺伝子発現の調節、遺伝子編集、幹細胞の誘導、免疫応答の誘導などを生成するのに十分な大きさのものである。投与量は、望ましくない交差反応、アナフィラキシー反応などの実質的な有害な副作用を引き起こすほど大きくするべきではない。一般に、投与量は、年齢、状態、性別、疾患のタイプ、疾患若しくは障害の程度、投与経路、又は他の薬物がレジメンに含まれるかどうかによって変化し得、当業者によって決定することができる。投与量は、任意の禁忌の場合に、個々の医師によって調整することができる。投薬量は様々であり得、1日1回以上の用量投与で、1日又は数日間投与することができる。ガイダンスは、所与のクラスの医薬品に対する適切な投与量に関して、文献に記載されている。例えば、所与のパラメーターについて、有効量は、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、40%、50%、60%、75%、80%、90%、又は少なくとも100%の増加又は減少を示すことができる。有効性は、「倍」の増加又は減少として表すこともできる。例えば、治療有効量は、対照に対して少なくとも1.2倍、1.5倍、2倍、5倍、又はそれ以上の効果を有することができる。正確な用量及び製剤は、処置の目的に依存することができ、公知の技術を使用して、当業者によって確認可能である（例えば、Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms (1~3巻, 1992); Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (1999); Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第20版, Gennaro, Editor (2003) 及び Pickar, Dose Calculation (1999)）。

10

20

## 【0137】

## 細胞透過性複合体－セクション1

式(I)、(II)、(III)及び(IV)の実施形態によれば、すべての置換基が、以下に列挙されるように定義される。

30

## 【0138】

本明細書に開示される細胞透過性複合体及びその実施形態に加えて、実施形態において、上記カチオン性配列に対する対アニオンとしては、酢酸、トリフルオロ酢酸、トリフレート、塩化物、臭化物、硫酸、リン酸、コハク酸、又はクエン酸などの当該技術分野で公知の一般的な対イオンを挙げることができる。実施形態において、対アニオンは、酢酸、トリフルオロ酢酸、トリフレート、塩化物、臭化物、硫酸、リン酸、コハク酸、又はクエン酸である。さらに、以下のセクション2~4に記載される細胞透過性複合体のいずれもがセクション1の下で提供される組成物及び方法に使用できることが注目される。例えば、このセクションに記載される核酸、カチオン性両親媒性ポリマー及びカチオン性両親媒性ポリマーのいずれもが、その実施形態を含めて本明細書に提供される、ウイルスタンパク質をコードする配列を含むリボ核酸、核酸アジュバント、及びカチオン性両親媒性ポリマーを含む細胞透過性複合体の一部を形成し得る。

40

## 【0139】

一態様では、ウイルスタンパク質をコードする配列を含むリボ核酸、核酸アジュバント、及びカチオン性両親媒性ポリマーを含む細胞透過性複合体が提供される。

## 【0140】

実施形態において、リボ核酸は、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合されている

50

。

## 【0141】

実施形態において、ウイルスタンパク質は、呼吸器合胞体ウイルス（RSV）タンパク質、ヒトメタ肺炎ウイルス（hMPV）タンパク質、パラインフルエンザウイルス3型（PIV3）タンパク質、インフルエンザH10N8ウイルスタンパク質、インフルエンザH7N9ウイルスタンパク質、サイトメガロウイルス（CMV）タンパク質、ジカウイルスタンパク質、チクングニア熱ウイルスタンパク質又は重症急性呼吸器症候群（SARS）関連コロナウイルス（CoV）タンパク質である。実施形態において、ウイルスタンパク質は呼吸器合胞体ウイルス（RSV）タンパク質である。実施形態において、ウイルスタンパク質はヒトメタ肺炎ウイルス（hMPV）タンパク質である。実施形態において、ウイルスタンパク質はパラインフルエンザウイルス3型（PIV3）タンパク質である。実施形態において、ウイルスタンパク質はインフルエンザH10N8ウイルスタンパク質である。実施形態において、ウイルスタンパク質はインフルエンザH7N9ウイルスタンパク質である。実施形態において、ウイルスタンパク質はサイトメガロウイルス（CMV）タンパク質である。実施形態において、ウイルスタンパク質はジカウイルスタンパク質である。実施形態において、ウイルスタンパク質はチクングニア熱ウイルスタンパク質である。実施形態において、ウイルスタンパク質は重症急性呼吸器症候群（SARS）関連コロナウイルス（CoV）タンパク質である。

10

## 【0142】

実施形態において、ウイルスタンパク質は、SARS-CoV-1タンパク質又はSARS-CoV-2タンパク質である。実施形態において、ウイルスタンパク質は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質又はその断片である。実施形態において、ウイルスタンパク質は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の可溶性受容体結合ドメイン（RBD）である。

20

## 【0143】

実施形態において、リボ核酸は、配列番号3の配列を含む。実施形態において、リボ核酸は、配列番号3の配列を含む。

## 【0144】

実施形態において、リボ核酸は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の一部又は断片を含む。実施形態において、リボ核酸は、配列番号4の配列の一部又は断片を含む。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが少なくとも100、200、300、400、500、600又は700ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、少なくとも100、200、300、400、500、600又は700の配列番号4の連続ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約100、200、300、400、500、600又は700ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、約100、200、300、400、500、600又は700の配列番号4の連続ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約50～約900ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約100～約900ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約150～約900ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約200～約900ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約250～約900ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約300～約900ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約350～約900ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約400～約900ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約450～約900ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約500～約900ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約550～約900ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約600～約900ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、

30

40

50

一部又は断片は、長さが約 650～約 900ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約 700～約 900ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約 750～約 900ヌクレオチドである。さらなる実施形態において、一部又は断片は、長さが約 800～約 900ヌクレオチドである。本明細書で提供される一部又は断片は、50～約 900の配列番号 4の連続ヌクレオチドを含み得る。

【0145】

実施形態において、核酸アジュバントは DNA アジュバントである。

【0146】

実施形態において、核酸アジュバントは トール様受容体 (TLR) アゴニストである。

10

【0147】

実施形態において、核酸アジュバントは、1つ以上の非メチル化 CpG オリゴヌクレオチドを含む。

【0148】

実施形態において、核酸アジュバントは TLR-9 アゴニストである。

【0149】

実施形態において、核酸アジュバントは、配列番号 1 (t c c a t g a c g t t c c t g a c g t t) 又は配列番号 2 (t c g a a c g t t c g a a c g t t c g a a c g t t c g a a t) の配列を有する。実施形態において、核酸アジュバントは、配列番号 1 の配列を有する。実施形態において、核酸アジュバントは、配列番号 2 の配列を有する。

20

【0150】

実施形態において、核酸アジュバントは、ODN 1826 と称され、配列番号 1 (5' - t c c a t g a c g t t c c t g a c g t t - 3') の配列を有する。核酸アジュバントは完全ホスホロチオエート骨格を含み得る。実施形態において、核酸アジュバントはヌクレアーゼ抵抗性である。

【0151】

実施形態において、核酸アジュバントは、ODN SD-101 と称され、配列番号 2 (5' - t c g a a c g t t c g a a c g t t c g a a c g t t c g a a t - 3') の配列を有する。核酸アジュバントは完全ホスホロチオエート骨格を含み得る。実施形態において、核酸アジュバントはヌクレアーゼ抵抗性である。

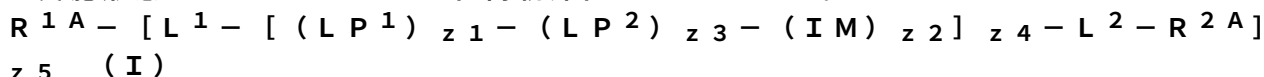
30

【0152】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、pH 感受性崩壊ドメイン及び親油性ポリマードメインを含む。

【0153】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：



〔式中、

$R^1A$  は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

40

$R^2A$  は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$

50

、 $-\text{CHBr}_2$ 、 $-\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CHI}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{CH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{CH}_2\text{F}$ 、 $-\text{CH}_2\text{I}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_4\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{ONH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}\text{SO}_2\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{OCCl}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCBr}_3$ 、 $-\text{OCI}_3$ 、 $-\text{OCHCl}_2$ 、 $-\text{OCHBr}_2$ 、 $-\text{OCHI}_2$ 、 $-\text{OCHF}_2$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{I}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{F}$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

10

$\text{L}^1$  及び  $\text{L}^2$  は、独立に、結合、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、

$\text{LP}^1$  及び  $\text{LP}^2$  は、独立に、親油性ポリマードメインであり、

$\text{IM}$  は pH 感受性崩壊ドメインであり、

$z_5$  は、1～10の整数であり、

$z_1$  及び  $z_3$  は、独立に、0～100の整数であり、 $z_1$  又は  $z_3$  の少なくとも1つは0でなく、

20

$z_4$  は、1～100の整数であり、

$z_2$  は、2～100の整数である。]

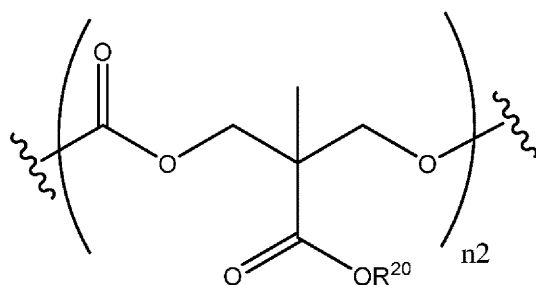
を有する。

【0154】

実施形態において、親油性ポリマードメインは、式：

【0155】

【化4】



30

[式中、 $n_2$  は、1～100の整数であり、 $\text{R}^{20}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。]

40

を有する。

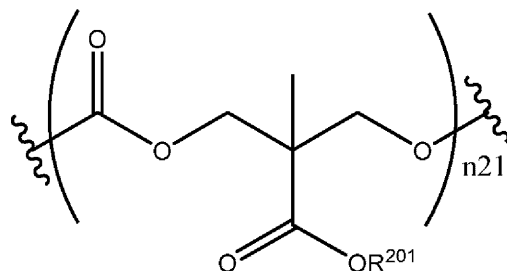
【0156】

実施形態において、 $\text{LP}^1$  は、式：

【0157】

50

【化 5】



10

〔式中、 $n_{21}$ は、1～100の整数であり、 $R^{201}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。〕  
を有する。

【0158】

実施形態において、 $n_{21}$ は5であり、 $R^{201}$ は非置換の $C_{18}$ アルケニルである。  
実施形態において、 $n_{21}$ は6であり、 $R^{201}$ は非置換の $C_{18}$ アルケニルである。

【0159】

実施形態において、非置換の $C_{18}$ アルケニルはオレイルである。

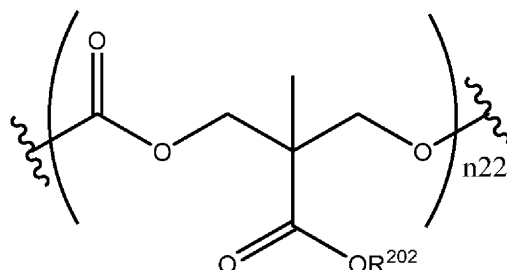
20

【0160】

実施形態において、 $LP^2$ は、式：

【0161】

【化 6】



30

〔式中、 $n_{22}$ は、1～100の整数であり、 $R^{202}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。〕  
を有する。

【0162】

実施形態において、 $n_{22}$ は5であり、 $R^{202}$ は非置換の $C_9$ アルケニルである。実施形態において、 $n_{22}$ は6であり、 $R^{202}$ は非置換の $C_9$ アルケニルである。

40

【0163】

実施形態において、非置換の $C_9$ アルケニルはノネニルである。

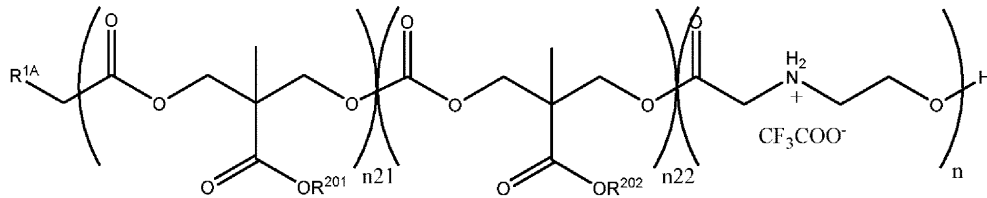
【0164】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0165】

50

【化 7】



【式中、 $n_{21}$ は5であり、 $R^{201}$ はオレイルであり、 $R^{202}$ はノネニルであり、 $n$ は7である。】

10

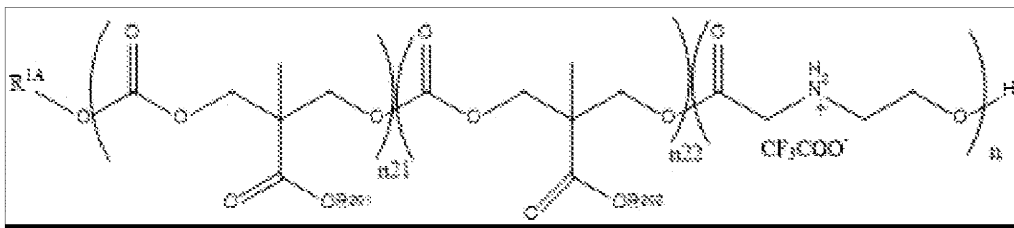
を有する。

【0166】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0167】

【化 8】



20

【式中、 $n_{21}$ は6であり、 $R^{201}$ はオレイルであり、 $n_{22}$ は6であり、 $R^{202}$ はノネニルであり、 $n$ は9である。】

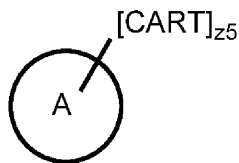
を有する。

【0168】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0169】

【化 9】



30

【式中、

環Aは、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

CARTは、式： $-L^1-[(LP^1)_{z1}-(LP^2)_{z3}-(IM)_{z2}]_{z4}-L^2-R^{2A}$

40

を有し、

$R^{2A}$ は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NHHSO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置

50

換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$L^1$  及び  $L^2$  は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、

$LP^1$  及び  $LP^2$  は、独立に、親油性ポリマードメインであり、

IM は pH 感受性崩壊ドメインであり、

$z_5$  は、1～10の整数であり、

$z_1$  及び  $z_3$  は、独立に、0～100の整数であり、 $z_1$  又は  $z_3$  の少なくとも1つは0でなく、

$z_4$  は、1～100の整数であり、

$z_2$  は、2～100の整数である。]

を有する。

【0170】

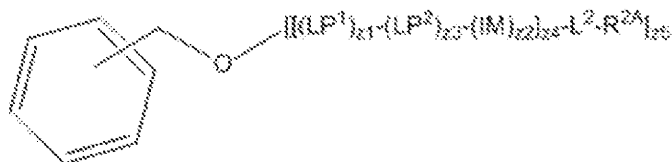
実施形態において、環Aは、置換又は非置換のアリールである。実施形態において、環Aは、置換又は非置換のフェニルである。実施形態において、環Aは、置換又は非置換のフェニル又はナフタレニルである。実施形態において、環Aは、置換又は非置換のナフタレニルである。

【0171】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0172】

【化10】



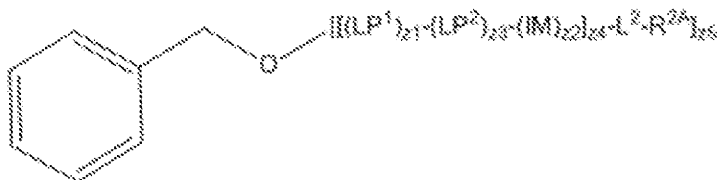
を有する。

【0173】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0174】

【化11】



を有する。

【0175】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、

【0176】

10

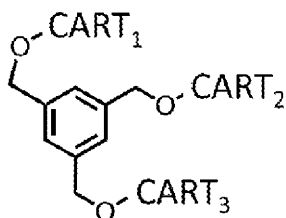
20

30

40

50

【化 1 2】



【式中、 $CART_1$ 、 $CART_2$  及び  $CART_3$  は、独立に、本明細書で定義される  $CART$  である。】

10

を有する。

【0 1 7 7】

実施形態において、 $z_5$  は、1～3の整数である。実施形態において、 $z_5$  は1又は3である。実施形態において、 $z_5$  は1である。実施形態において、 $z_5$  は3である。

【0 1 7 8】

実施形態において、 $R^{2A}$  は水素である。

【0 1 7 9】

実施形態において、 $L^2$  は結合である。

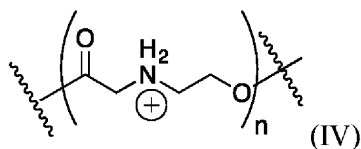
【0 1 8 0】

実施形態において、 $pH$  感受性崩壊ドメインは、式：

20

【0 1 8 1】

【化 1 3】



【式中、 $n$  は2以上の整数である。】

を有する。

【0 1 8 2】

30

実施形態において、 $n$  は、2～50の範囲の整数である。実施形態において、 $n$  は、2～50の整数である。実施形態において、 $n$  は7である。実施形態において、 $n$  は9である。

【0 1 8 3】

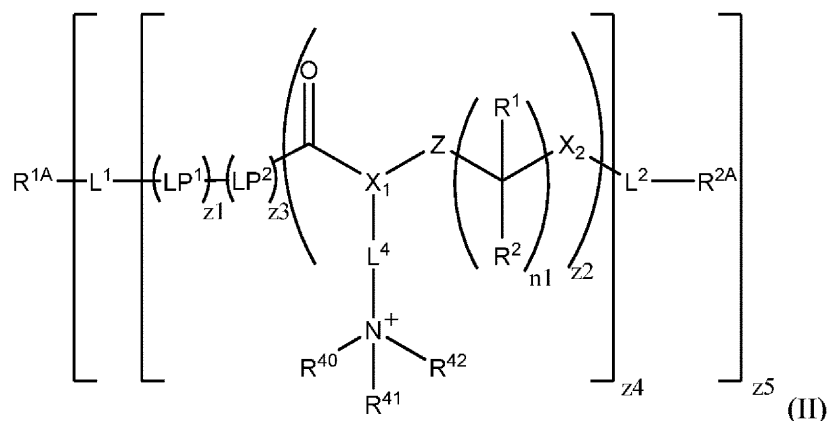
実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0 1 8 4】

40

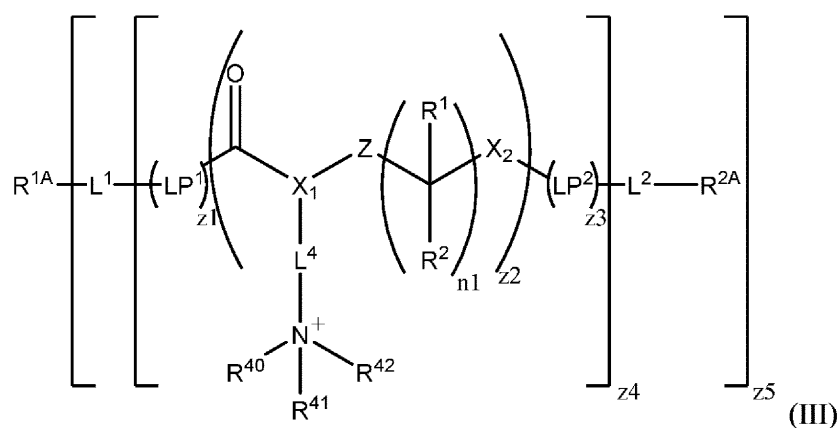
50

## 【化 1 4】



10

又は



20

〔式中、

$R^{1A}$  は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NHSO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

30

$R^{2A}$  は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、独立に、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、独立に、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NHSO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

40

50

$L^1$  及び  $L^2$  は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、

$LP^1$  及び  $LP^2$  は、独立に、親油性ポリマードメインであり、

$X^1$  は、 $-C(R^5)(R^6)-$ 、 $-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ 、 $-O-C(R^5)(R^6)-$ 又は $-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ であり、

$X^2$  は、 $-O-$ 又は $-S-$ であり、

$R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$  及び  $R^8$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$L^4$  は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキレンであり、

$R^{40}$ 、 $R^{41}$  及び  $R^{42}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキルであり、

$Z$  は、 $-S-$ 、 $-S+R^{13}-$ 、 $-NR^{13}-$ 又は $-N^+(R^{13})(H)-$ であり、

$R^{13}$  は、水素、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $=O$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $SO_2NH_2$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$n_1$  は、0～50の整数であり、 $z_1$  及び  $z_3$  は、独立に、0～100の整数であり、 $z_1$  又は  $z_3$  の少なくとも1つは0でなく、 $z_2$  は、2～100の整数であり、 $z_4$  は、1～100の整数であり、 $z_5$  は、1～10の整数である。]

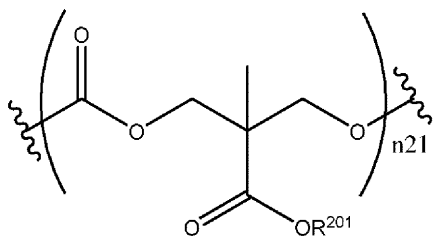
を有する。

【0185】

実施形態において、 $LP^1$  は、式：

【0186】

【化15】



[式中、 $n_{21}$  は、1～100の整数であり、 $R^{201}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。]

を有する。

【0187】

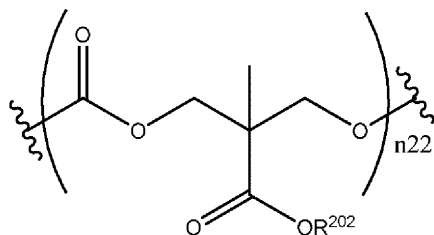
実施形態において、 $n_{21}$  は10～40である。

【0188】

**【 0 1 8 9 】**

**【 0 1 9 0 】**

【化 1 6】



10

を有する。

**【 0 1 9 1 】**

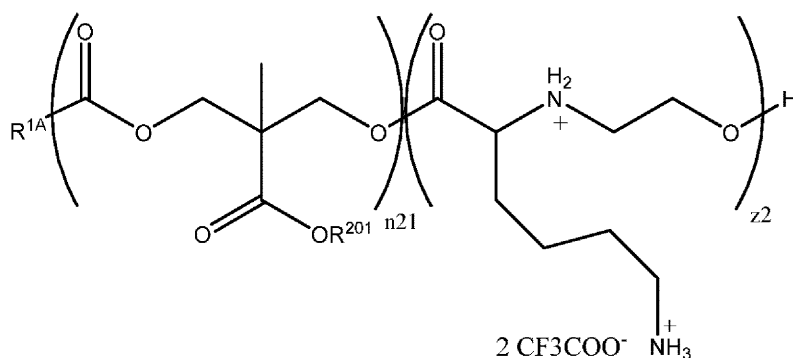
20

**【 0 1 9 2 】**

**【 0 1 9 3 】**

**【 0 1 9 4 】**

【化 1 7】



30

を有する。

**【 0 1 9 5 】**

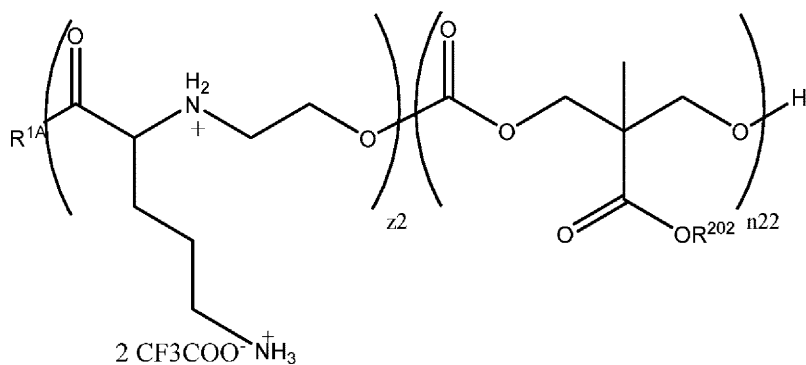
○

**【 0 1 9 6 】**

**【 0 1 9 7 】**

50

## 【化 1 8】



10

〔式中、 $n_{22}$ は、10～35の整数であり、 $R^{202}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $z_2$ は、独立に、5～20の整数である。〕

を有する。

## 【0198】

実施形態において、 $n_{22}$ は14であり、 $R^{202}$ はドデシルであり、 $z_2$ は7である。

20

## 【0199】

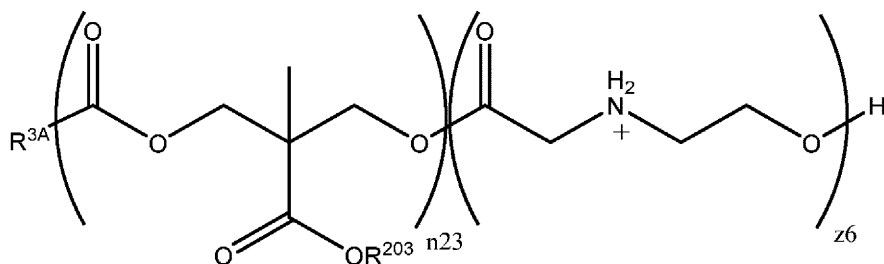
実施形態において、本明細書に記載される細胞透過性複合体は、カチオン性両親媒性ポリマーと異なる第2のカチオン性両親媒性ポリマーをさらに含む。

## 【0200】

実施形態において、第2のカチオン性両親媒性ポリマーは、式：

## 【0201】

## 【化 1 9】



30

〔 $n_{23}$ は、1～100の整数であり、 $z_6$ は、5～15の整数であり、 $R^{3A}$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NHHSO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $R^{203}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール

40

50

ールである。]

を有する。

【0202】

実施形態において、 $n_{23}$ は13であり、 $z_6$ は11であり、 $R^{203}$ はドデシルである。

【0203】

実施形態において、 $X_1$ は $CH_2$ である。

【0204】

実施形態において、 $L^4$ は、独立に、置換又は非置換の $C_2 \sim C_8$ アルキレンである。実施形態において、 $L^4$ は、独立に、非置換の $C_2 \sim C_8$ アルキレンである。実施形態において、 $L^4$ は、独立に、非置換の $C_2$ アルキレン、非置換の $C_3$ アルキレン又は $C_4$ アルキレンである。実施形態において、 $L^4$ は、独立に、非置換の $C_3$ アルキレン又は $C_4$ アルキレンである。実施形態において、 $L^4$ は、独立に、非置換の $C_2$ アルキレンである。実施形態において、 $L^4$ は、独立に、非置換の $C_3$ アルキレンである。実施形態において、 $L^4$ は、独立に、非置換の $C_4$ アルキレンである。

10

【0205】

実施形態において、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$ 及び $R^{42}$ は、独立に、水素又は置換されたヘテロアルキルである。実施形態において、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$ 及び $R^{42}$ は、独立に、水素又は $-C(NH)NH_2$ である。実施形態において、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$ 及び $R^{42}$ のうちの少なくとも2つは水素であり、1つは $-C(NH)NH_2$ である。

20

【0206】

実施形態において、 $Z$ は $-N^+(R^{13})(H)-$ であり、 $R^{13}$ は水素である。

【0207】

実施形態において、 $R^1$ 及び $R^2$ は、独立に、水素、又は置換若しくは非置換のアルキルである。

【0208】

実施形態において、 $n_1$ は2である。

【0209】

実施形態において、 $X_2$ は $-O-$ である。

【0210】

実施形態において、 $z_1$ 又は $z_3$ は、独立に、10～40の整数である。

30

【0211】

実施形態において、 $z_2$ は、独立に、3～20の整数である。

【0212】

細胞透過性複合体—セクション2

式 $(I-A)$ 、 $(II-A)$ 、 $(III-A)$ 、 $(IV)$ 、 $(IV-A)$ 、 $(V-A)$ 、 $(Va-A)$ 、 $(Ia-A)$ 、 $(VI-A)$ 、 $(Ib-A)$ 、 $(Ic-A)$ 、 $(Id-A)$ 、 $(VII-A)$ 、 $(VIII-A)$ 、 $(IX-A)$ 、 $(X-A)$ 及び $(XI-A)$ の実施形態に従って、全ての置換基は以下に列挙されるように定義される。このセクションに記載されている細胞透過性複合体のいずれも、本明細書で提供される組成物及び方法に使用することができる。例えば、このセクションに記載されている核酸、カチオン性両親媒性ポリマー及びカチオン性両親媒性ポリマーのいずれも、その実施形態を含めて本明細書で提供される、ウイルスタンパク質をコードする配列を含むリボ核酸、核酸アジュバント及びカチオン性両親媒性ポリマーを含む細胞透過性複合体の一部を形成し得る。

40

【0213】

本明細書で提供される細胞透過性複合体は、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合された核酸を含み得、当該カチオン性両親媒性ポリマーは、pH感受性崩壊ドメインを含む。実施形態において、1つ以上の対イオン（例えばアニオン）もまた、カチオン性両親媒性ポリマー内の正の電荷に対する逆の電荷として存在し得る。実施形態において、核酸は、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合されている。実施形態において、核酸は、

50

カチオン性両親媒性ポリマーにイオン結合されている。実施形態において、細胞透過性複合体は、複数の任意選択的に異なる核酸（例えば、1～10個の追加の核酸、1～5個の追加の核酸、1～5個の追加の核酸、2個の追加の核酸又は1個の追加の核酸）を含む。実施形態において、核酸はRNAである。実施形態において、核酸はmRNAである。

#### 【0214】

実施形態において、細胞透過性複体内に存在するカチオン性両親媒性ポリマー分子内のカチオンの数と核酸分子上のアニオンの数との間の比率は、約0.5:1、約1:1、約5:1、約10:1、約20:1、約30:1、約40:1、約50:1、約60:1、約70:1、約80:1、約90:1、約 $10^2$ :1、約 $10^3$ :1、約 $10^4$ :1、約 $10^5$ :1、約 $10^6$ :1、約 $10^7$ :1、約 $10^8$ :1、約 $10^9$ :1、約 $10^{10}$ :1若しくはそれ以上又は前記のもの間にある任意の範囲であり得る。他の実施形態において、細胞透過性複体内に存在する核酸分子上のアニオンの数とカチオン性両親媒性ポリマー分子上のカチオンの数との間の比率は、約0.5:1、約1:1、約5:1、約10:1、約20:1、約30:1、約40:1、約50:1、約60:1、約70:1、約80:1、約90:1、約10:1、約 $10^2$ :1、約 $10^3$ :1、約 $10^4$ :1、約 $10^5$ :1、約 $10^6$ :1、約 $10^7$ :1、約 $10^8$ :1、約 $10^9$ :1、約 $10^{10}$ :1若しくはそれ以上又は前記のもの間にある任意の範囲であり得る。一部の好ましい実施形態において、この比率は、核酸上の負の電荷が1であるのに対し、両親媒性ポリマー分子上のカチオン電荷はおよそ10である。他の実施形態は、核酸上の負の電荷が1であるのに対し両親媒性ポリマー分子上のカチオン電荷5を有し得る又は核酸上の負の電荷が1であるのに対し両親媒性ポリマー分子上のカチオン電荷20を有し得る。

10

20

#### 【0215】

実施形態において、細胞透過性複体内に存在する核酸分子の数とカチオン性両親媒性ポリマー分子の数との間の比率は、約0.5:1、約1:1、約10:1、約 $10^2$ :1、約 $10^3$ :1、約 $10^4$ :1、約 $10^5$ :1、約 $10^6$ :1、約 $10^7$ :1、約 $10^8$ :1、約 $10^9$ :1、約 $10^{10}$ :1若しくはそれ以上又は前記のもの間にある任意の範囲であり得る。他の実施形態において、細胞透過性複体内に存在するカチオン性両親媒性ポリマー分子の数と核酸分子の数との間の比率は、約0.5:1、約1:1、約10:1、約 $10^2$ :1、約 $10^3$ :1、約 $10^4$ :1、約 $10^5$ :1、約 $10^6$ :1、約 $10^7$ :1、約 $10^8$ :1、約 $10^9$ :1、約 $10^{10}$ :1若しくはそれ以上又は前記のもの間にある任意の範囲であり得る。

30

#### 【0216】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、カチオン電荷変更性リリース可能トランスポーター（CART）であり得る。実施形態において、CARTは、カチオン性から中性への又はカチオン性からアニオン性へのpH感受性の電荷変化を受け一連のカチオン性配列を有するオリゴマー鎖を含み得る。

#### 【0217】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、pH感受性崩壊ドメイン及び親油性ポリマードメインを有する。実施形態において、親油性ポリマードメインは、細胞膜透過、細胞送達及び／又は細胞膜を通過する輸送を促進し得る。実施形態において、親油性ポリマードメインは、水に実質的に不溶性であり得る（例えば、約0.0005mg/mL未満～約10mg/mLの水溶性）。実施形態において、親油性ポリマードメインは、ナノ粒子へのカチオン性両親媒性ポリマーの凝集を促進し得る。実施形態において、このようなナノ粒子は、約50nm～約500nmの平均最長寸法を有し得る。実施形態において、親油性ポリマードメインは、エンドソームへの侵入及びその中での崩壊の後の、カチオン性両親媒性ポリマーの残り部分のエンドソーム融合を促進し得る。実施形態において、本開示の細胞透過性複合体は、核酸カークの分解を防ぐ。用語「核酸カーク」又はこれに類する用語は、通常の及び慣習的な意味で、本明細書に開示される細胞透過性複合体及びその実施形態による細胞内への輸送に望ましい種を指す。

40

#### 【0218】

50

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式 (I-A) :  $H-L^1-[ (LP^1)_{z1}-(IM)_{z2}-(LP^2)_{z3}]_{z4}-L^2-H (I-A)$  を有し、式中、 $L^1$  及び  $L^2$  は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、 $LP^1$  及び  $LP^2$  は、独立に、結合又は親油性ポリマードメインであり、 $LP^1$  又は  $LP^2$  の少なくとも1つは親油性ポリマードメインであり、 $IM$  は pH 感受性崩壊ドメインであり、 $z1$ 、 $z3$  及び  $z4$  は、独立に、0~100の整数であり、 $z1$  又は  $z3$  の少なくとも1つは0でなく、そして  $z2$  は2~100の整数である。

10

#### 【0219】

実施形態において、 $L^1$  は、置換又は非置換の  $C_1 \sim C_3$  アルキレンである。実施形態において、 $L^1$  は、置換又は非置換のメチレンである。実施形態において、 $L^1$  は、置換若しくは非置換の  $C_1 \sim C_6$  アルキレン、又は置換若しくは非置換の2~6員のヘテロアルキレンである。実施形態において、 $L^1$  は、置換若しくは非置換の  $C_1 \sim C_3$  アルキレン、又は置換若しくは非置換の2~3員のヘテロアルキレンである。

#### 【0220】

実施形態において、 $L^1$  は、置換若しくは非置換のアルキレン（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$  若しくは  $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン（例えば、2~8員、2~6員、4~6員、2~3員若しくは4~5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキレン（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$  若しくは  $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン（例えば、3~8員、3~6員、4~6員、4~5員若しくは5~6員）、置換若しくは非置換のアリーレン（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  若しくはフェニレン）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレン（例えば、5~10員、5~9員若しくは5~6員）である。実施形態において、 $L^1$  は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリーレン、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリーレンである。実施形態において、 $L^1$  は、非置換のアルキレン、非置換のヘテロアルキレン、非置換のシクロアルキレン、非置換のヘテロシクロアルキレン、非置換のアリーレン又は非置換のヘテロアリーレンである。実施形態において、 $L^1$  は、非置換のアルキレン（例えば、 $C_1 \sim C_6$  アルキレン）である。実施形態において、 $L^1$  は結合である。

20

30

#### 【0221】

実施形態において、 $L^2$  は、置換又は非置換の  $C_1 \sim C_3$  アルキレンである。実施形態において、 $L^2$  は、置換又は非置換のメチレンである。実施形態において、 $L^2$  は、置換若しくは非置換の  $C_1 \sim C_6$  アルキレン、又は置換若しくは非置換の2~6員のヘテロアルキレンである。実施形態において、 $L^2$  は、置換若しくは非置換の  $C_1 \sim C_3$  アルキレン、又は置換若しくは非置換の2~3員のヘテロアルキレンである。

40

#### 【0222】

実施形態において、 $L^2$  は、置換若しくは非置換のアルキレン（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$  若しくは  $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン（例えば、2~8員、2~6員、4~6員、2~3員若しくは4~5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキレン（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$  若しくは  $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン（例えば、3~8員、3~6員

50

、4～6員、4～5員若しくは5～6員)、置換若しくは非置換のアリーレン(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニレン)、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレン(例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員)である。実施形態において、 $L^2$ は置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のアルキレン、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のシクロアルキレン、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のアリーレン、又は置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアリーレンである。実施形態において、 $L^2$ は、非置換のアルキレン、非置換のヘテロアルキレン、非置換のシクロアルキレン、非置換のヘテロシクロアルキレン、非置換のアリーレン又は非置換のヘテロアリーレンである。実施形態において、 $L^2$ は、非置換のアルキレン(例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキレン)である。実施形態において、 $L^2$ は結合である。

10

#### 【0223】

実施形態において、 $z_2$ は、2～90(例えば、5～90、10～90若しくは20～90)、2～80(例えば、5～80、10～80若しくは20～80)、2～70(例えば、5～70、10～70若しくは20～70)、2～50(例えば、5～50、10～50若しくは20～50)又は2～25の整数である。実施形態において、 $z_1$ 、 $z_3$ 及び $z_4$ は、独立に、0～90(例えば、5～90、10～90若しくは20～90)、0～80(例えば、5～80、10～80若しくは20～80)、0～70(例えば、5～70、10～70若しくは20～70)、0～50(例えば、5～50、10～50若しくは20～50)又は2～25の整数である。実施形態において、 $z_1$ 、 $z_3$ 及び $z_4$ は、独立に、2～90(例えば、5～90、10～90若しくは20～90)、2～80(例えば、5～80、10～80若しくは20～80)、2～70(例えば、5～70、10～70若しくは20～70)、2～50(例えば、5～50、10～50若しくは20～50)又は2～25の整数である。

20

#### 【0224】

細胞透過性複合体の実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは第1の求核性部分及び第1の求電子部分を含み、第1の求核性部分は、pH範囲内で第1の求電子部分と反応性であり、当該pH範囲外(例えば、pH約1～5、pH約5～7又はpH約7～10)で当該求電子部分と実質的に反応性ではない。実施形態において、第1の求核性部分が第1の求電子部分と最も反応性であるpH範囲は、pH1～3、pH2～4、pH3～5、pH4～6、pH5～7、pH6～8、pH7～9又はpH8～10である。求核性部分は、化学分野におけるその一般的な通常の意味に従って使用され、電子を供与し得る部分(例えば官能基)を指す。

30

#### 【0225】

実施形態において、第1の求核性部分が第1の求電子部分と最も反応性であるpH範囲は、pH1～3である。実施形態において、第1の求核性部分が第1の求電子部分と最も反応性であるpH範囲は、pH2～4である。実施形態において、第1の求核性部分が第1の求電子部分と最も反応性であるpH範囲は、pH3～5である。実施形態において、第1の求核性部分が第1の求電子部分と最も反応性であるpH範囲は、pH4～6である。実施形態において、第1の求核性部分が第1の求電子部分と最も反応性であるpH範囲は、pH5～7である。実施形態において、第1の求核性部分が第1の求電子部分と最も反応性であるpH範囲は、pH6～8である。実施形態において、第1の求核性部分が第1の求電子部分と最も反応性であるpH範囲は、pH7～9である。実施形態において、第1の求核性部分が第1の求電子部分と最も反応性であるpH範囲は、pH8～10である。実施形態において、pHは1である。実施形態において、pHは2である。実施形態において、pHは3である。実施形態において、pHは4である。実施形態において、p

40

50

Hは5である。実施形態において、pHは6である。実施形態において、pHは7である。実施形態において、pHは8である。実施形態において、pHは9である。実施形態において、pHは10である。実施形態において、pHは約1である。実施形態において、pHは約2である。実施形態において、pHは約3である。実施形態において、pHは約4である。実施形態において、pHは約5である。実施形態において、pHは約6である。実施形態において、pHは約7である。実施形態において、pHは約8である。実施形態において、pHは約9である。実施形態において、pHは約10である。

【0226】

実施形態において、第1の求核性部分は、低いpH（例えばpH約1～約5）で実質的にプロトン化している。実施形態において、第1の求核性部分は、pH5～7の範囲で実質的にプロトン化している。実施形態において、第1の求核性部分はカチオン性である。実施形態において、第1の求核性部分はカチオン性の窒素（例えばカチオン性のアミン）を含む。

10

【0227】

実施形態において、第1の求核性部分は、pHに対して不安定な保護基に結合している。用語「pHに対して不安定な保護基」又はそれに類する用語は、通常の及び慣習的な意味で、それが結合している別の官能基を保護し得る化学的部分を指し、当該保護基は、ある特定のpH条件（例えば、pHの低下など）の下で保護基として切断され得る又は別の方法で不活化され得る。一実施形態において、pHに対して不安定な保護基は、酸性条件下（例えば、7未満のpH）で除去される基である $-CO_2-t-Bu$ である。さらなる求核保護基としては、光、熱、求核剤及び塩基によって切断されるものが含まれる。

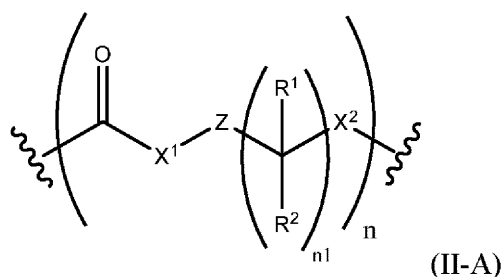
20

【0228】

上記に開示される細胞透過性複合体の実施形態及びその実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは、以下の式（II-A）の構造：

【0229】

【化20】



30

を有し、式中、nは2以上の整数であり、n1は0～50の整数であり、Zは求核性部分であり、X1は結合、 $-C(R^5)(R^6)-$ 、 $-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ 、 $-O-C(R^5)(R^6)-$ 又は $-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ であり、X2は $-O-$ 又は $-S-$ であり、R1、R2、R3、R4、R5、R6、R7及びR8は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、nは、2～100、2～90、2～80、2～70、2～60、2～50、2～40、2～30、2～2又は2～10の範囲内の整数である。実施形態において、n1は、0～25、0～10、0～5の範囲内の整数である。実施形態において、n1は、0、1、2、3、4又は5である。実施形態において、n1は1又は2である。

40

【0230】

実施形態において、R1、R2、R3、R4、R5、R6、R7及びR8は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、C1～C8、C1～C6、C1～C4若しくはC1

50

～C<sub>2</sub>）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、C<sub>3</sub>～C<sub>8</sub>、C<sub>3</sub>～C<sub>6</sub>、C<sub>4</sub>～C<sub>6</sub>若しくはC<sub>5</sub>～C<sub>6</sub>）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、C<sub>6</sub>～C<sub>10</sub>若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>は、独立に、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>は、独立に、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>は、独立に、水素又は非置換のアルキル（例えば、C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>は水素である。

10

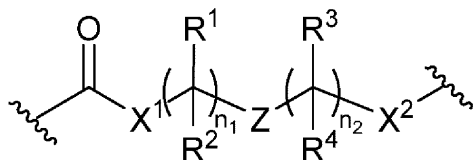
20

【0231】

上記に開示される細胞透過性複合体の実施形態及びその実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは、以下の式の構造：

【0232】

【化21】



30

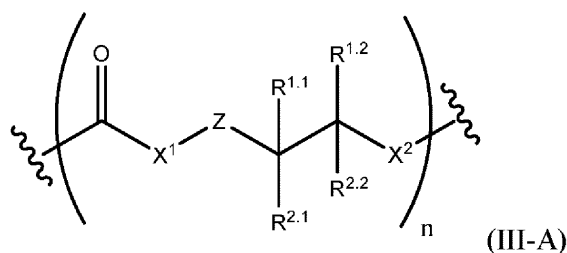
を有し得、式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、X<sup>1</sup>、Z及びX<sup>2</sup>は、本明細書で定義されている通りであり、n<sub>1</sub>及びn<sub>2</sub>は2以上の整数である。

【0233】

本明細書に開示される細胞透過性複合体の実施形態及びその実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは、以下の式（III-A）の構造：

【0234】

【化22】



40

を有し、式中、nは2以上の整数であり、Zは求核性部分であり、X<sup>1</sup>は、結合、-C(R<sup>5</sup>)(R<sup>6</sup>)-、-C(R<sup>5</sup>)(R<sup>6</sup>)-C(R<sup>7</sup>)(R<sup>8</sup>)-、-O-C(R<sup>5</sup>)(R<sup>6</sup>)-又は-O-C(R<sup>5</sup>)(R<sup>6</sup>)-C(R<sup>7</sup>)(R<sup>8</sup>)-であり、X<sup>2</sup>は、-O-又は-S-であり、そしてR<sup>1.1</sup>、R<sup>1.2</sup>、R<sup>2.1</sup>、R<sup>2.2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>

50

、 $R^7$  及び  $R^8$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $n$  は、 $2 \sim 100$ 、 $2 \sim 90$ 、 $2 \sim 80$ 、 $2 \sim 70$ 、 $2 \sim 60$ 、 $2 \sim 50$ 、 $2 \sim 40$ 、 $2 \sim 30$ 、 $2 \sim 2$  又は  $2 \sim 10$  の範囲の整数である。実施形態において、 $n$  は、 $2 \sim 100$  又は  $2 \sim 50$  の範囲の整数である。

#### 【0235】

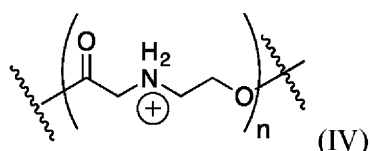
実施形態において、 $R^{1 \cdot 1}$ 、 $R^{1 \cdot 2}$ 、 $R^{2 \cdot 1}$ 、 $R^{2 \cdot 2}$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$  及び  $R^8$  は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$  若しくは  $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、 $2 \sim 8$  員、 $2 \sim 6$  員、 $4 \sim 6$  員、 $2 \sim 3$  員若しくは  $4 \sim 5$  員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$  若しくは  $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、 $3 \sim 8$  員、 $3 \sim 6$  員、 $4 \sim 6$  員、 $4 \sim 5$  員若しくは  $5 \sim 6$  員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、 $5 \sim 10$  員、 $5 \sim 9$  員若しくは  $5 \sim 6$  員）である。実施形態において、 $R^{1 \cdot 1}$ 、 $R^{1 \cdot 2}$ 、 $R^{2 \cdot 1}$ 、 $R^{2 \cdot 2}$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$  及び  $R^8$  は、独立に、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{1 \cdot 1}$ 、 $R^{1 \cdot 2}$ 、 $R^{2 \cdot 1}$ 、 $R^{2 \cdot 2}$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$  及び  $R^8$  は、独立に、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{1 \cdot 1}$ 、 $R^{1 \cdot 2}$ 、 $R^{2 \cdot 1}$ 、 $R^{2 \cdot 2}$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$  及び  $R^8$  は、独立に、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$  アルキル）である。実施形態において、 $R^{1 \cdot 1}$ 、 $R^{1 \cdot 2}$ 、 $R^{2 \cdot 1}$ 、 $R^{2 \cdot 2}$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$  及び  $R^8$  は水素である。

#### 【0236】

本明細書に開示される細胞透過性複合体の実施形態及びその実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは、以下の式（IV）の構造：

#### 【0237】

#### 【化23】



を有し、式中、 $n$  は2以上の整数である。実施形態において、 $n$  は、 $2 \sim 100$ 、 $2 \sim 90$ 、 $2 \sim 80$ 、 $2 \sim 70$ 、 $2 \sim 60$ 、 $2 \sim 50$ 、 $2 \sim 40$ 、 $2 \sim 30$ 、 $2 \sim 2$  又は  $2 \sim 10$  の範囲の整数である。実施形態において、 $n$  は、 $2 \sim 100$  又は  $2 \sim 50$  の範囲の整数である。実施形態において、 $n$  は、 $2 \sim 15$  である。

#### 【0238】

本明細書に開示される細胞透過性複合体の実施形態及びその実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは、以下の式（IV-A）の構造：

#### 【0239】

10

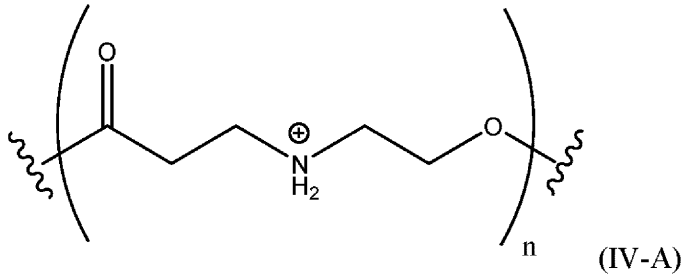
20

30

40

50

## 【化 2 4】



10

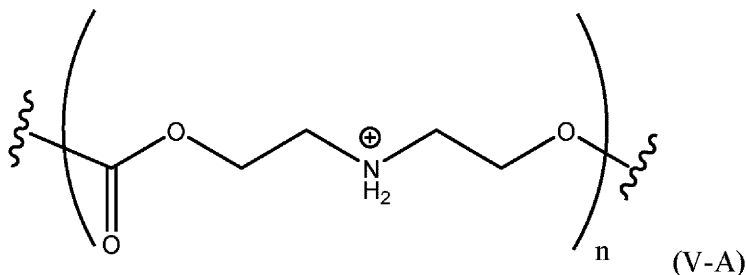
を有し、式中、 $n$ は2以上の整数である。実施形態において、 $n$ は、2～100、2～90、2～80、2～70、2～60、2～50、2～40、2～30、2～2又は2～10の範囲の整数である。実施形態において、 $n$ は、2～100又は2～50の範囲の整数である。

## 【0240】

本明細書に開示される細胞透過性複合体の実施形態及びその実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは、以下の式(V-A)の構造：

## 【0241】

## 【化 2 5】



20

を有し、式中、 $n$ は2以上の整数である。実施形態において、 $n$ は、2～100、2～90、2～80、2～70、2～60、2～50、2～40、2～30、2～2又は2～10の範囲の整数である。実施形態において、 $n$ は、2～100又は2～50の範囲の整数である。

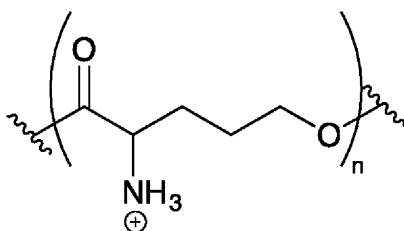
30

## 【0242】

本明細書に開示される細胞透過性複合体の実施形態及びその実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは、以下の式(Va-A)の構造：

## 【0243】

## 【化 2 6】



40

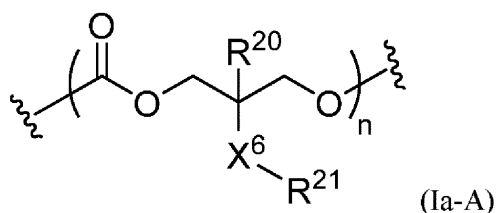
を有し、式中、 $n$ は2以上の整数である。実施形態において、 $n$ は、2～100、2～90、2～80、2～70、2～60、2～50、2～40、2～30、2～2又は2～10の範囲の整数である。実施形態において、 $n$ は、2～100又は2～50の範囲の整数である。

## 【0244】

実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは、以下の構造：

50

【化 2 7】



10

20

30

40

50

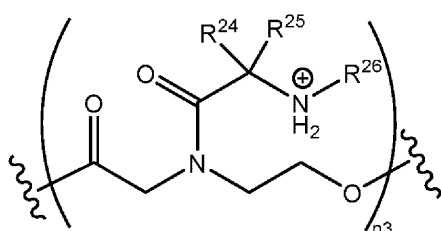
置換された) 若しくは非置換のシクロアルキル、置換 (例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された) 若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換 (例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された) 若しくは非置換のアリール、又は置換 (例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された) 若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{21}$  は、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{21}$  は、水素又は非置換のアルキル (例えば、 $C_1 \sim C_6$  アルキル) である。実施形態において、 $R^{21}$  は水素である。

【0248】

本明細書に開示される細胞透過性複合体の実施形態及びその実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは、以下の構造:

【0249】

【化28】



を有し、式中、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$  及び  $R^{26}$  は、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $n3$  は、0～50の整数である。

【0250】

実施形態において、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$  及び  $R^{26}$  は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル (例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$  若しくは  $C_1 \sim C_2$ )、置換若しくは非置換のヘテロアルキル (例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員)、置換若しくは非置換のシクロアルキル (例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$  若しくは  $C_5 \sim C_6$ )、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル (例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員)、置換若しくは非置換のアリール (例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  若しくはフェニル)、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール (例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員) である。実施形態において、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$  及び  $R^{26}$  は、独立に、置換 (例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された) 若しくは非置換のアルキル、置換 (例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された) 若しくは非置換のヘテロアルキル、置換 (例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された) 若しくは非置換のシクロアルキル、置換 (例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された) 若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換 (例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された) 若しくは非置換のアリール、又は置換 (例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された) 若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$  及び  $R^{26}$  は、独立に、置換 (例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された) 若しくは非置換のアルキル、置換 (例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された) 若しくは非置換のヘテロアルキル、置換 (例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された) 若しくは非置換のシクロアルキル、置換 (例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された) 若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換 (例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された) 若しくは非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$  及び  $R^{26}$  は、独立に、水素又は非置換のアルキル (例えば、 $C_1 \sim C_6$  アルキル) である。実施形態において、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$  及び  $R^{26}$  は、独立に、水素である。

【0251】

本明細書に開示される細胞透過性複合体の実施形態及びその実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは、以下の式 (V I - A) の構造:

10

20

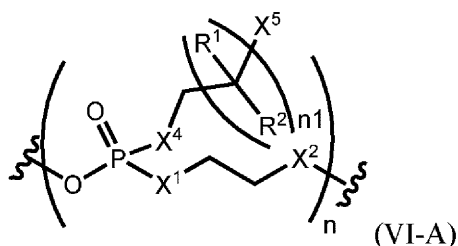
30

40

50

【0252】

【化29】



10

を有し、式中、 $n$ は2以上の整数であり、 $n1$ は0～50の整数であり、 $X^1$ は、結合、 $-O-$ 、 $-NR^5-$ 、 $-C(R^5)(R^6)-$ 又は $-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ であり、 $X^2$ は結合、 $-O-$ 、 $-C(R^9)(R^{10})-$ 又は $-C(R^9)(R^{10})-C(R^{11})(R^{12})-$ であり、 $X^4$ は、結合、 $-NR^{16}-$ 、 $-O-$ 、 $-C(R^{16})(R^{17})-$ 又は $-C(R^{16})(R^{17})-C(R^{18})(R^{19})-$ であり、 $X^5$ は求核性部分であり、そして $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^9$ 、 $R^{10}$ 、 $R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

20

【0253】

実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^9$ 、 $R^{10}$ 、 $R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^9$ 、 $R^{10}$ 、 $R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^9$ 、 $R^{10}$ 、 $R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^9$ 、 $R^{10}$ 、 $R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル）である。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^9$ 、 $R^{10}$ 、 $R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は水素である。

30

40

【0254】

実施形態において、 $Z$ は求核性部分である。実施形態において、 $Z$ は、 $-S-$ 、 $-OR^{13}-$ 、 $-S^+R^{13}-$ 、 $-NR^{13}-$ 又は $-N^+(R^{13})(H)-$ であり、式中、 $R^1$

50

<sup>3</sup> は、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、Zは-S-である。実施形態において、Zは-S<sup>+</sup>R<sup>13</sup>-である。実施形態において、Zは-NR<sup>13</sup>-である。実施形態において、Zは-N<sup>+</sup>(R<sup>13</sup>)(H)-である。実施形態において、Zは-S<sup>+</sup>H-である。実施形態において、Zは-NH-である。実施形態において、Zは-N<sup>+</sup>H<sub>2</sub>-である。実施形態において、Zは-OH-である。

#### 【0255】

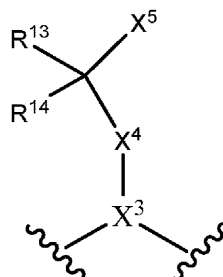
実施形態において、R<sup>13</sup>は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、C<sub>1</sub>～C<sub>8</sub>、C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>、C<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>若しくはC<sub>1</sub>～C<sub>2</sub>）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、C<sub>3</sub>～C<sub>8</sub>、C<sub>3</sub>～C<sub>6</sub>、C<sub>4</sub>～C<sub>6</sub>若しくはC<sub>5</sub>～C<sub>6</sub>）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、C<sub>6</sub>～C<sub>10</sub>若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、R<sup>13</sup>は、独立に、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、R<sup>13</sup>は、独立に、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、R<sup>13</sup>は、独立に、水素又は非置換のアルキル（例えば、C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキル）である。実施形態において、R<sup>13</sup>は水素である。

#### 【0256】

実施形態において、Zは

#### 【0257】

#### 【化30】



であり、式中、X<sup>3</sup>は、-C(R<sup>15</sup>)-又は-N-であり、X<sup>4</sup>は、結合、-C(O)-、-P(O)(OR<sup>16</sup>)<sub>2</sub>-、-S(O)(OR<sup>17</sup>)<sub>2</sub>-、-C(R<sup>16</sup>)(R<sup>17</sup>)-又は-C(R<sup>16</sup>)(R<sup>17</sup>)-C(R<sup>18</sup>)(R<sup>19</sup>)-であり、X<sup>5</sup>は求核性部分であり、そしてR<sup>13</sup>、R<sup>14</sup>、R<sup>15</sup>、R<sup>16</sup>、R<sup>17</sup>、R<sup>18</sup>及びR<sup>19</sup>は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、X<sup>3</sup>は-CHである。

## 【0258】

実施形態において、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル）である。

10

20

## 【0259】

実施形態において、 $X^5$ は $-N^+(R^{13})(H)$ であり、 $R^{13}$ は、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

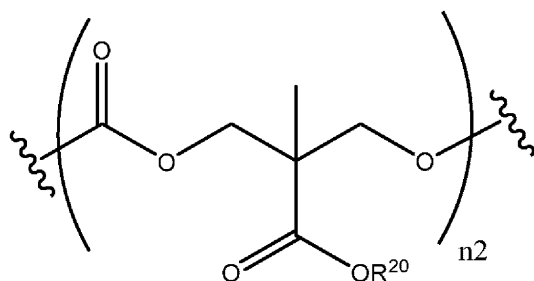
## 【0260】

本明細書に開示される細胞透過性複合体及びその実施形態に加えて、実施形態において、親油性ポリマードメインは、式：

30

## 【0261】

## 【化31】



40

[式中、 $n2$ は、1～100の整数であり、 $R^{20}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。]

を有する。

## 【0262】

実施形態において、 $R^{20}$ は、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（

50

例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員)、置換若しくは非置換のシクロアルキル(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ )、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル(例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員)、置換若しくは非置換のアリール(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル)、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール(例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員)である。実施形態において、 $R^{20}$ は、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のアリール、又は置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{20}$ は、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{20}$ は、水素又は非置換のアルキル(例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル)である。

10

#### 【0263】

実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_1 \sim C_{30}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_1 \sim C_{20}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_8 \sim C_{30}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_8 \sim C_{20}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_9 \sim C_{20}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_9 \sim C_{18}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{18}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{17}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{16}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{15}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{14}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{13}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{12}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{11}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{10}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_9$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_8$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_7$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_6$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_5$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_4$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_3$ アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_2$ アルキルである。

20

30

#### 【0264】

実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_1 \sim C_{30}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_1 \sim C_{20}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_8 \sim C_{30}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_8 \sim C_{20}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_9 \sim C_{20}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_9 \sim C_{18}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{18}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{17}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{16}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{15}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{14}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{13}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{12}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{11}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_{10}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_9$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_8$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_7$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$ は非置換の $C_6$ アルケニル

40

50

である。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_5$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_4$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_3$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_2$  アルケニルである。

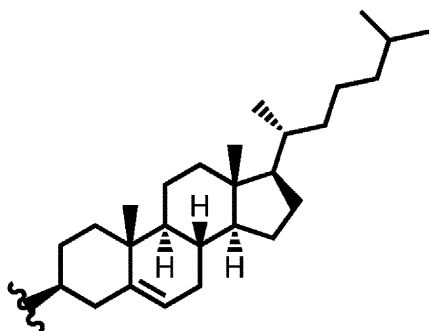
【0265】

実施形態において、 $R^{20}$  は、ステアリル部分（例えば、非置換の  $C_{18}$  アルキル）である。実施形態において、 $R^{20}$  は、オレイル部分（例えば、非置換の  $C_{18}$  アルケニル）である。実施形態において、 $R^{20}$  は、リノレイル部分（例えば、非置換の  $C_{18}$  アルケニル）である。実施形態において、 $R^{20}$  は、ドデシル部分（例えば、非置換の  $C_{12}$  アルキル）である。実施形態において、 $R^{20}$  は、ノネニル部分（例えば、非置換の  $C_9$  アルケニル）である。実施形態において、 $R^{20}$  は、

10

【0266】

【化32】



20

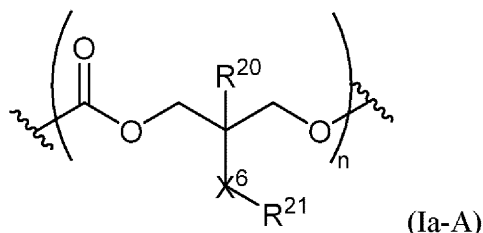
である。

【0267】

実施形態において、親油性ポリマードメインは、以下の式（Ia-A）：

【0268】

【化33】



30

〔式中、 $X^6$  は、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-CO_2-$ 、 $-CONH-$ 、 $-O_2C-$  又は  $-NHCO-$  であり得、 $R^{20}$  は、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $R^{21}$  は、水素、置換又は非置換のアルキルであり、 $n$  は、本明細書で定義されている通りである。〕

40

の化合物である。実施形態において、 $R^{20}$  はオリゴグリコール部分である。

【0269】

実施形態において、 $R^{20}$  は、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$  若しくは  $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$  若しくは  $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員

50

、5～9員若しくは5～6員)である。実施形態において、 $R^{20}$ は、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のアリール、又は置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{20}$ は、水素又は非置換のアルキル(例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル)である。

10

【0270】

実施形態において、 $R^{21}$ は、置換若しくは非置換のアルキル(例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ )、置換若しくは非置換のヘテロアルキル(例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員)、置換若しくは非置換のシクロアルキル(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ )、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル(例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員)、置換若しくは非置換のアリール(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル)、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール(例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員)である。実施形態において、 $R^{21}$ は、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のアリール、又は置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{21}$ は、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{21}$ は、水素又は非置換のアルキル(例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル)である。

20

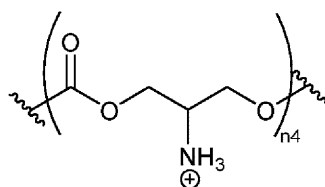
30

【0271】

本明細書に開示される細胞透過性複合体の実施形態及びその実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは、構造：

【0272】

【化34】



40

[式中、 $n_4$ は、0～50の整数である。]

を有する。実施形態において、 $n_4$ は0～10である。実施形態において、 $n_4$ は1～15である。

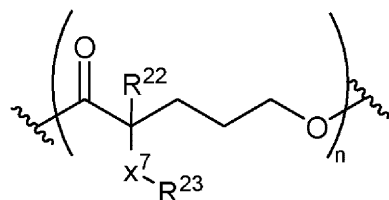
【0273】

本明細書に開示される細胞透過性複合体の実施形態及びその実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは、構造：

【0274】

50

## 【化 3 5】



〔式中、 $X^7$ は、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-CO_2-$ 、 $-CONH-$ 、 $-O_2C-$ 又は $-NHCO-$ であり、 $R^{22}$ は、水素、又は置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $R^{23}$ は、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。〕

を有する。実施形態において、 $R^{22}$ はオリゴグリコール部分である。

## 【0275】

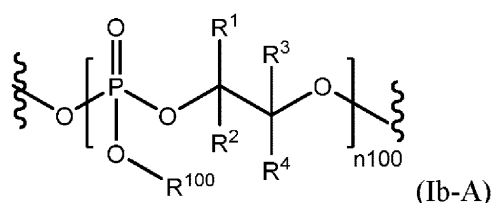
実施形態において、 $R^{22}$ は、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^{22}$ は、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{22}$ は、置換のアルキル、置換のヘテロアルキル、置換のシクロアルキル、置換のヘテロシクロアルキル、置換のアリール又は置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{22}$ は、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル）である。

## 【0276】

実施形態において、親油性ポリマードメインは、以下の式（Ib-A）：

## 【0277】

## 【化 3 6】



〔式中、 $R^{100}$ は、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールで

ある。]

の化合物であり得る。 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ は、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $n100$ は、本明細書に定義されるように2以上の整数である。

【0278】

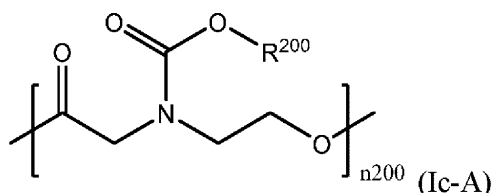
実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ は、独立に、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ は、独立に、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ は、独立に、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル）である。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ は水素である。

【0279】

実施形態において、親油性ポリマードメインは、以下の式（Ic-A）：

【0280】

【化37】



[式中、 $R^{200}$ は、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $n200$ は、2以上の整数である。]

の化合物であり得る。実施形態において、 $R^{200}$ はオリゴグリコール部分である。実施形態において、 $R^{200}$ はアミン末端オリゴグリコール部分である。

【0281】

「オリゴグリコール部分」という用語は、

【0282】

10

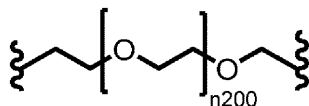
20

30

40

50

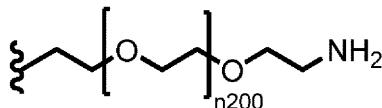
【化 3 8】



を指し、「アミン末端オリゴグリコール部分」は、

【0 2 8 3】

【化 3 9】



10

〔式中、 $n200$  は、2 以上の整数である。〕

を指す。

【0 2 8 4】

実施形態において、 $R^{200}$  は、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$  若しくは  $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$  若しくは  $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^{200}$  は、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{200}$  は、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$  アルキル）である。実施形態において、 $R^{200}$  は水素である。

20

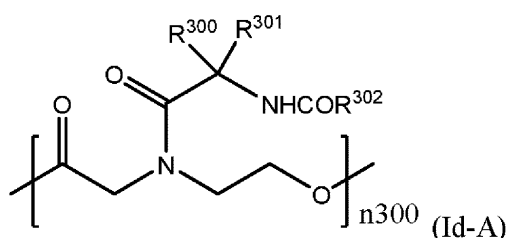
30

【0 2 8 5】

実施形態において、親油性ポリマードメインは、以下の式（Id-A）：

【0 2 8 6】

【化 4 0】



40

〔式中、 $R$  は、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $R^{300}$  及び  $R^{301}$  は、独立に、水素、又は置換若しくは非置換のアルキルであり、 $n300$

50

は、本明細書に定義される通りである。]

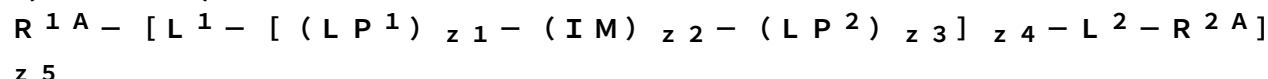
の化合物であり得る。実施形態において、 $R^{302}$ はオリゴグリコール部分である。実施形態において、 $R$ はアミン末端オリゴグリコール部分である。実施形態において、 $R^{300}$ 、 $R^{301}$ 及び $R^{302}$ は水素である。

【0287】

実施形態において、 $R^{300}$ 、 $R^{301}$ 及び $R^{302}$ は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^{300}$ 、 $R^{301}$ 及び $R^{302}$ は、独立に、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{300}$ 、 $R^{301}$ 及び $R^{302}$ は、独立に、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{300}$ 、 $R^{301}$ 及び $R^{302}$ は、独立に、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル）である。

【0288】

カチオン性両親媒性ポリマーは、pH感受性崩壊ドメインを有することができる。一部の実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、pH感受性崩壊ドメイン及び親油性ポリマードメインを有する。一部の実施形態において、細胞透過性複合体は、以下の式（VII-A）：



[式中、

$R^{1A}$ は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$R^{2A}$ は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

O) OH、-NHOH、-OCCl<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-OCBr<sub>3</sub>、-OCI<sub>3</sub>、-OCHCl<sub>2</sub>、-OCHBr<sub>2</sub>、-OCHI<sub>2</sub>、-OCHF<sub>2</sub>、-OCH<sub>2</sub>Cl、-OCH<sub>2</sub>Br、-OCH<sub>2</sub>I、-OCH<sub>2</sub>F、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

L<sup>1</sup>及びL<sup>2</sup>は、独立に、結合、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-S(O)<sub>2</sub>-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、

10

LP<sup>1</sup>及びLP<sup>2</sup>は、独立に、結合又は親油性ポリマードメインであり、LP<sup>1</sup>又はLP<sup>2</sup>の少なくとも1つは親油性ポリマードメインであり、

IMは、pH感受性崩壊ドメインであり、

z<sub>5</sub>は、1～10の整数であり、

z<sub>1</sub>、z<sub>3</sub>及びz<sub>4</sub>は、独立に、0～100であり、z<sub>1</sub>又はz<sub>3</sub>の少なくとも1つは0でなく、z<sub>2</sub>は、2～100の整数である。]

のカチオン性両親媒性ポリマーを有する。

【0289】

実施形態において、R<sup>1A</sup>は、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

20

【0290】

実施形態において、R<sup>1A</sup>は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、C<sub>1</sub>～C<sub>8</sub>、C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>、C<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>若しくはC<sub>1</sub>～C<sub>2</sub>）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、C<sub>3</sub>～C<sub>8</sub>、C<sub>3</sub>～C<sub>6</sub>、C<sub>4</sub>～C<sub>6</sub>若しくはC<sub>5</sub>～C<sub>6</sub>）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、C<sub>6</sub>～C<sub>10</sub>若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、R<sup>1A</sup>は、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、R<sup>1A</sup>は、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。

30

40

【0291】

実施形態において、R<sup>1A</sup>は、水素、置換若しくは非置換のC<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキル、置換若しくは非置換の2～6員のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のC<sub>3</sub>～C<sub>6</sub>シクロアルキル、置換若しくは非置換の3～6員のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のフェニル、又は置換若しくは非置換の5～6員のヘテロアリールである。

【0292】

実施形態において、R<sup>1A</sup>は、置換又は非置換のアルキル（例えば、C<sub>1</sub>～C<sub>8</sub>アルキル、C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキル若しくはC<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>アルキル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>

50

Aは、置換アルキル（例えば、C<sub>1</sub>～C<sub>8</sub>アルキル、C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキル若しくはC<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>アルキル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、非置換のアルキル（例えば、C<sub>1</sub>～C<sub>8</sub>アルキル、C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキル若しくはC<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>アルキル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、置換又は非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル若しくは2～4員のヘテロアルキル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、置換されたヘテロアルキル（例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル若しくは2～4員のヘテロアルキル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル若しくは2～4員のヘテロアルキル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、置換又は非置換のシクロアルキル（例えば、C<sub>3</sub>～C<sub>8</sub>シクロアルキル、C<sub>3</sub>～C<sub>6</sub>シクロアルキル若しくはC<sub>5</sub>～C<sub>6</sub>シクロアルキル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、置換されたシクロアルキル（例えば、C<sub>3</sub>～C<sub>8</sub>シクロアルキル、C<sub>3</sub>～C<sub>6</sub>シクロアルキル若しくはC<sub>5</sub>～C<sub>6</sub>シクロアルキル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、非置換のシクロアルキル（例えば、C<sub>3</sub>～C<sub>8</sub>シクロアルキル、C<sub>3</sub>～C<sub>6</sub>シクロアルキル若しくはC<sub>5</sub>～C<sub>6</sub>シクロアルキル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、置換又は非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル若しくは5～6員のヘテロシクロアルキル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、置換されたヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル若しくは5～6員のヘテロシクロアルキル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル若しくは5～6員のヘテロシクロアルキル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、置換又は非置換のアリール（例えば、C<sub>6</sub>～C<sub>10</sub>アリール、C<sub>10</sub>アリール若しくはフェニル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、置換されたアリール（例えば、C<sub>6</sub>～C<sub>10</sub>アリール、C<sub>10</sub>アリール若しくはフェニル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、非置換のアリール（例えば、C<sub>6</sub>～C<sub>10</sub>アリール、C<sub>10</sub>アリール若しくはフェニル）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、置換又は非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール若しくは5～6員のヘテロアリール）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、置換されたヘテロアリール（例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール若しくは5～6員のヘテロアリール）である。実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール若しくは5～6員のヘテロアリール）である。

10

20

30

【0293】

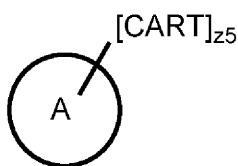
実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、置換又は非置換のアリールである。一部の他の実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、置換又は非置換のフェニルである。さらなる一部の他の実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、置換又は非置換のアリールである。さらなる一部の他の実施形態において、R<sup>1</sup>Aは、置換又は非置換のフェニル又はナフタレニルである。

【0294】

一部の実施形態において、細胞透過性複合体は、以下の式（VIII-A）：

【0295】

【化41】



〔式中、

環Aは、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであ

40

50

り、

CARTは、式： $-L^1 - [(LP^1)_{z1} - (IM)_{z2} - (LP^2)_{z3}]_{z4} - L^2 - R^2A$

を有し得、

$R^2A$ は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $L^1$ 及び $L^2$ は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、 $LP^1$ 及び $LP^2$ は、独立に、結合又は親油性ポリマードメインであり、 $LP^1$ 又は $LP^2$ の少なくとも1つは親油性ポリマードメインであり、 $IM$ は、pH感受性崩壊ドメインであり、 $z_5$ は、1～10の整数であり、 $z_1$ 、 $z_3$ 及び $z_4$ は、独立に、0～100の整数であり、 $z_1$ 又は $z_3$ の少なくとも1つは0でなく、 $z_2$ は、2～100の整数である。]

を有するカチオン性両親媒性ポリマーを有することができる。

【0296】

一部の実施形態において、上記式(VIII-A)において、環Aは、置換又は非置換のアリールである。一部の他の実施形態において、環Aは、置換又は非置換のフェニルである。さらなる一部の他の実施形態において、環Aは、置換又は非置換のアリールである。さらなる一部の他の実施形態において、環Aは、置換又は非置換のフェニル又はナフタレニルである。

【0297】

実施形態において、環Aは、非置換のアリール（すなわちCART部分以外が非置換である。）。実施形態において、環Aは、非置換のフェニルである（すなわちCART部分以外が非置換である。）。実施形態において、環Aは、非置換のフェニル又はナフタレニルである（すなわちCART部分以外が非置換である。）。実施形態において、環Aは、置換されたアリールである（すなわちCART部分以外も置換されている。）。実施形態において、環Aは、置換されたフェニルである（すなわちCART部分以外も置換されている。）。実施形態において、環Aは、置換されたフェニル又はナフタレニルである（すなわちCART部分以外も置換されている。）。

【0298】

実施形態において、細胞透過性複合体は検出可能剤（例えば、フルオロフォア）を有する。

【0299】

実施形態において、 $R^1A$ はメトキシリンカーで置換されたアリールである。実施形態において、 $R^1A$ はリンカー（例えば、 $-CH_2O-$ ）で置換されたアリールである。 $R^1A$ がメトキシリンカーで置換されたアリールである非限定的な例は、式：

【0300】

10

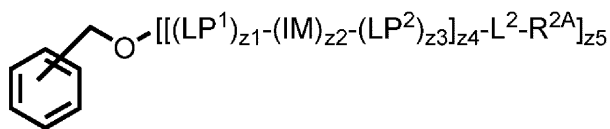
20

30

40

50

【化 4 2】



を有する。

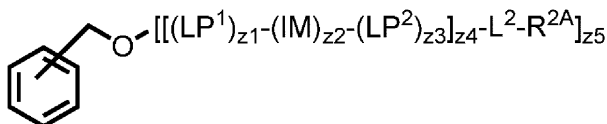
【0301】

一部の実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式（IX-A）：

【0302】

10

【化 4 3】



を有する。

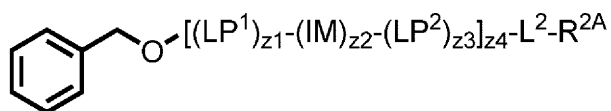
【0303】

一部の実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式（X-A）：

【0304】

20

【化 4 4】



を有する。

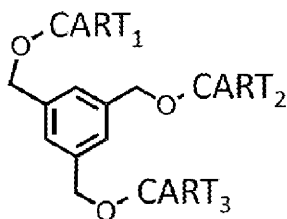
【0305】

一部の実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式（XI-A）：

【0306】

【化 4 5】

30



を有することができ、式中、 $CART_1$ 、 $CART_2$  及び  $CART_3$  は、独立に、式（VII-A）（例えば、 $-L^1-[(LP^1)_{z1}-(IM)_{z2}-(LP^2)_{z3}]_{z4}-L^2-R^{2A}$ ）で定義される CART 部分である。実施形態において、それぞれの CART 部分は任意選択的に異なる。

40

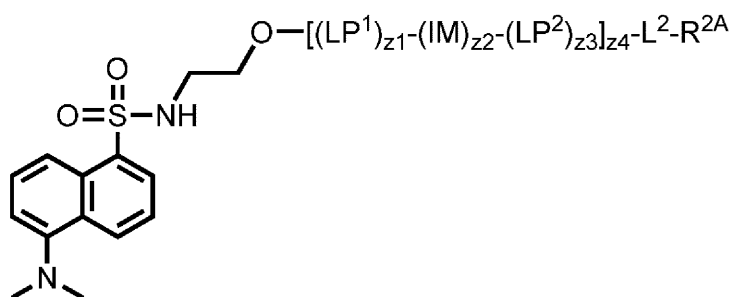
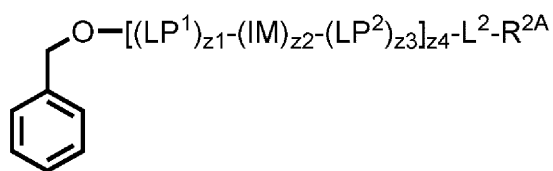
【0307】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

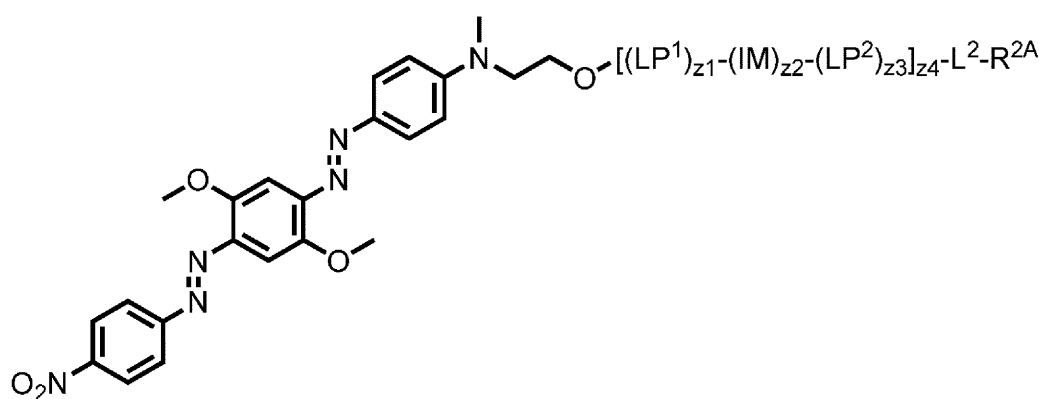
【0308】

50

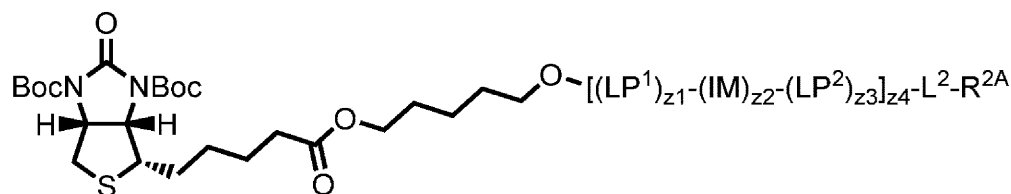
【化 4 6】



10

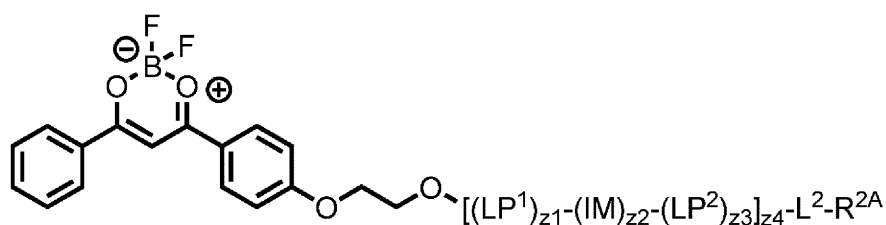


20



30

,又は



40

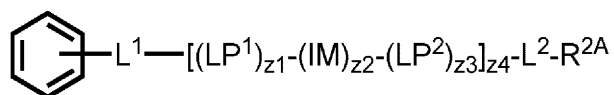
を有する。

【0309】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0310】

【化 4 7】



を有する。

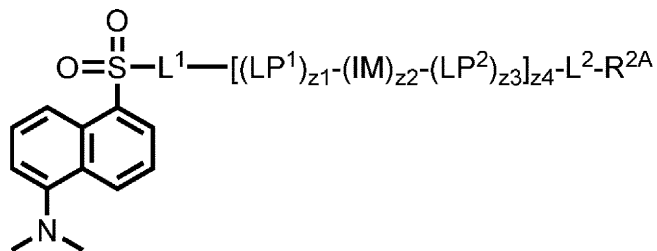
50

【 0 3 1 1 】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【 0 3 1 2 】

【 化 4 8 】



10

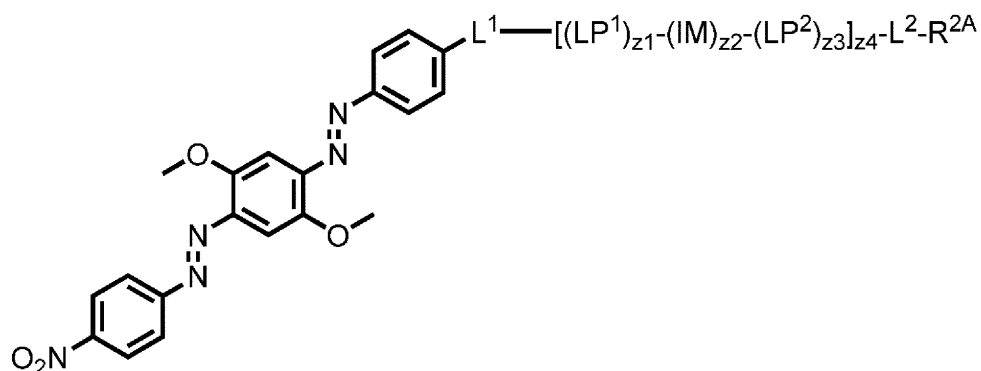
を有する。

【 0 3 1 3 】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【 0 3 1 4 】

【 化 4 9 】



20

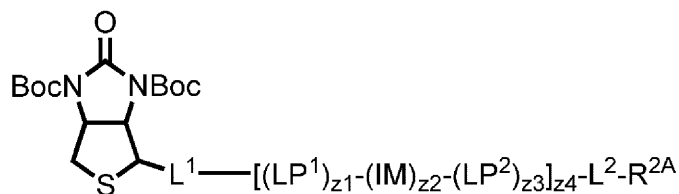
を有する。

【 0 3 1 5 】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【 0 3 1 6 】

【 化 5 0 】



40

を有する。

【 0 3 1 7 】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【 0 3 1 8 】

50

$$\text{C}_6\text{H}_5-\text{C}(=\text{O})-\text{C}(\text{O}^+\text{B}(\text{F})_2\text{O}^-)=\text{C}(\text{O})-\text{C}_6\text{H}_4-\text{L}^1-[(\text{LP}^1)_{z1}-(\text{IM})_{z2}-(\text{LP}^2)_{z3}]_{z4}-\text{L}^2-\text{R}^{2A}$$

10

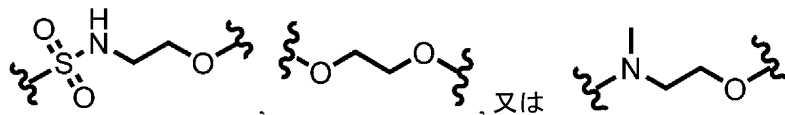
実施形態において、環 R はリンカー（例えば、結合、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレン）を通じて検出可能剤で置換されている。

一部の実施形態において、細胞透過性複合体は、 $L^1$ が $-CH_2-O-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンである前述の式のいずれかを有するカチオン性両親媒性ポリマーを有する。実施形態において、 $L^1$ は $-CH_2-O-$ である。

20

一部の実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、 $L^1$ が $-CH_2-O-$ 、

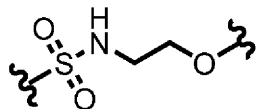
【化 5 2】



30

である前述の式のいずれかを有することができる。実施形態において、 $L^1$ は $-CH_2-O-$ である。実施形態において、 $L^1$ は

【化 5 3】



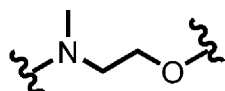
である。実施形態において、 $L^1$ は

40

である。実施形態において、 $L^1$ は

50

【化 5 5】



である。

【0 3 2 6】

一部の実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、 $z_1$ 、 $z_3$  及び  $z_4$  が独立に、 $0 \sim 100$  の整数であり得、 $z_1$  又は  $z_3$  の少なくとも1つは0ではない前述の式のいずれかを有することができる。一部の実施形態において、 $z_1$ 、 $z_3$  及び  $z_4$  は独立に、範囲  $2 \sim 100$ 、 $2 \sim 90$ 、 $2 \sim 80$ 、 $2 \sim 70$ 、 $2 \sim 60$ 、 $2 \sim 50$ 、 $2 \sim 40$ 、 $2 \sim 30$ 、 $2 \sim 20$ 、又は  $2 \sim 10$  の整数であり得、 $z_1$  又は  $z_3$  の少なくとも1つは0ではない。実施形態において、 $z_1$ 、 $z_3$  及び  $z_4$  は独立に、範囲  $2 \sim 100$  又は  $2 \sim 50$  の整数であり得、 $z_1$  又は  $z_3$  の少なくとも1つは0ではない。

10

【0 3 2 7】

実施形態において、 $z_1$  は0である。実施形態において、 $z_1$  は1である。実施形態において、 $z_1$  は2である。実施形態において、 $z_1$  は3である。実施形態において、 $z_1$  は4である。実施形態において、 $z_1$  は5である。実施形態において、 $z_1$  は6である。実施形態において、 $z_1$  は7である。実施形態において、 $z_1$  は8である。実施形態において、 $z_1$  は9である。実施形態において、 $z_1$  は10である。実施形態において、 $z_1$  は11である。実施形態において、 $z_1$  は12である。実施形態において、 $z_1$  は13である。実施形態において、 $z_1$  は14である。実施形態において、 $z_1$  は15である。実施形態において、 $z_1$  は16である。実施形態において、 $z_1$  は17である。実施形態において、 $z_1$  は18である。実施形態において、 $z_1$  は19である。実施形態において、 $z_1$  は20である。実施形態において、 $z_1$  は21である。実施形態において、 $z_1$  は22である。実施形態において、 $z_1$  は23である。実施形態において、 $z_1$  は24である。実施形態において、 $z_1$  は25である。実施形態において、 $z_1$  は26である。実施形態において、 $z_1$  は27である。実施形態において、 $z_1$  は28である。実施形態において、 $z_1$  は29である。実施形態において、 $z_1$  は30である。実施形態において、 $z_1$  は31である。実施形態において、 $z_1$  は32である。実施形態において、 $z_1$  は33である。実施形態において、 $z_1$  は34である。実施形態において、 $z_1$  は35である。実施形態において、 $z_1$  は36である。実施形態において、 $z_1$  は37である。実施形態において、 $z_1$  は38である。実施形態において、 $z_1$  は39である。実施形態において、 $z_1$  は40である。実施形態において、 $z_1$  は41である。実施形態において、 $z_1$  は42である。実施形態において、 $z_1$  は43である。実施形態において、 $z_1$  は44である。実施形態において、 $z_1$  は45である。実施形態において、 $z_1$  は46である。実施形態において、 $z_1$  は47である。実施形態において、 $z_1$  は48である。実施形態において、 $z_1$  は49である。実施形態において、 $z_1$  は50である。実施形態において、 $z_1$  は51である。実施形態において、 $z_1$  は52である。実施形態において、 $z_1$  は53である。実施形態において、 $z_1$  は54である。実施形態において、 $z_1$  は55である。実施形態において、 $z_1$  は56である。実施形態において、 $z_1$  は57である。実施形態において、 $z_1$  は58である。実施形態において、 $z_1$  は59である。実施形態において、 $z_1$  は60である。実施形態において、 $z_1$  は61である。実施形態において、 $z_1$  は62である。実施形態において、 $z_1$  は63である。実施形態において、 $z_1$  は64である。実施形態において、 $z_1$  は65である。実施形態において、 $z_1$  は66である。実施形態において、 $z_1$  は67である。実施形態において、 $z_1$  は68である。実施形態において、 $z_1$  は69である。実施形態において、 $z_1$  は70である。実施形態において、 $z_1$  は71である。実施形態において、 $z_1$  は72である。実施形態において、 $z_1$  は73である。実施形態において、 $z_1$  は74である。実施形態において、 $z_1$  は75である。実施形態において、 $z_1$  は76である。実施形態において、 $z_1$  は77である。実施形態に

20

30

40

50

10

## 20

30

40

50

**【 0 3 2 9 】**

50



20

## 30

50

10

## 20

30

40

50

において、 $z_2$ は71である。実施形態において、 $z_2$ は72である。実施形態において、 $z_2$ は73である。実施形態において、 $z_2$ は74である。実施形態において、 $z_2$ は75である。実施形態において、 $z_2$ は76である。実施形態において、 $z_2$ は77である。実施形態において、 $z_2$ は78である。実施形態において、 $z_2$ は79である。実施形態において、 $z_2$ は80である。実施形態において、 $z_2$ は81である。実施形態において、 $z_2$ は82である。実施形態において、 $z_2$ は83である。実施形態において、 $z_2$ は84である。実施形態において、 $z_2$ は85である。実施形態において、 $z_2$ は86である。実施形態において、 $z_2$ は87である。実施形態において、 $z_2$ は88である。実施形態において、 $z_2$ は89である。実施形態において、 $z_2$ は90である。実施形態において、 $z_2$ は91である。実施形態において、 $z_2$ は92である。実施形態において、 $z_2$ は93である。実施形態において、 $z_2$ は94である。実施形態において、 $z_2$ は95である。実施形態において、 $z_2$ は96である。実施形態において、 $z_2$ は97である。実施形態において、 $z_2$ は98である。実施形態において、 $z_2$ は99である。実施形態において、 $z_2$ は100である。

10

【0334】

実施形態において、 $z_5$ は1である。実施形態において、 $z_5$ は2である。実施形態において、 $z_5$ は3である。実施形態において、 $z_5$ は4である。実施形態において、 $z_5$ は5である。実施形態において、 $z_5$ は6である。実施形態において、 $z_5$ は7である。実施形態において、 $z_5$ は8である。実施形態において、 $z_5$ は9である。実施形態において、 $z_5$ は10である。

20

【0335】

一部の実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、 $z_2$ が2～100の整数である前述の式のいずれかを有することができる。一部の実施形態において、 $z_2$ は、範囲2～100、2～90、2～80、2～70、2～60、2～50、2～40、2～30、2～2、又は2～10の整数であり得る。実施形態において、 $z_2$ は範囲2～100又は2～50の整数であり得る。

【0336】

一部の実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、 $z_5$ が1～3の整数である前述の式のいずれかを有することができる。一部の他の実施形態において、 $z_5$ は1又は3である。さらに一部の他の実施形態において、 $z_5$ は1である。一部のさらに他の実施形態において、 $z_5$ は3である。

30

【0337】

一部の実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、 $R^2$ が水素である前述の式のいずれかを有することができる。

【0338】

一部の実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、 $L^2$ が結合である前述の式のいずれかを有することができる。

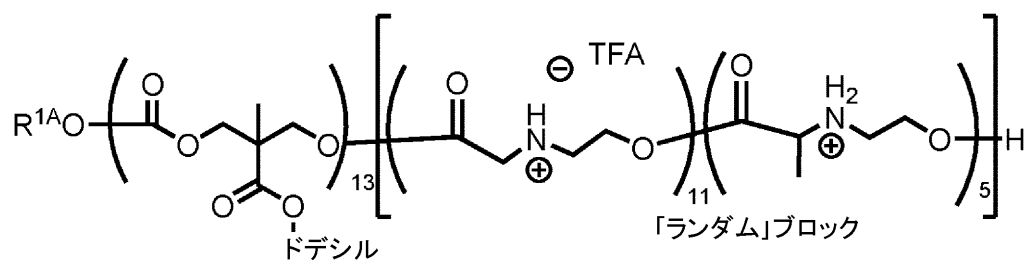
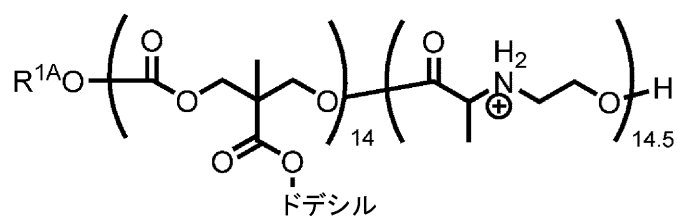
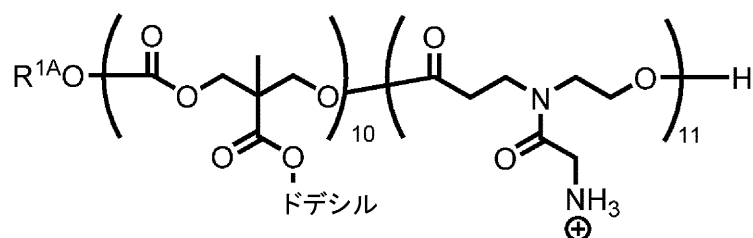
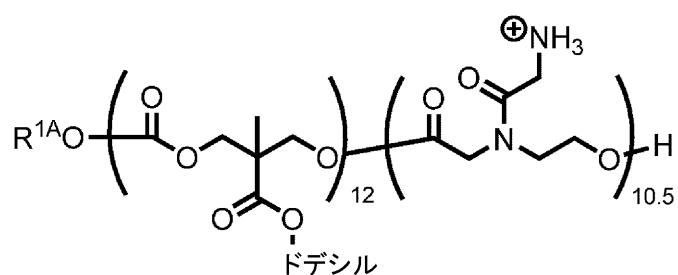
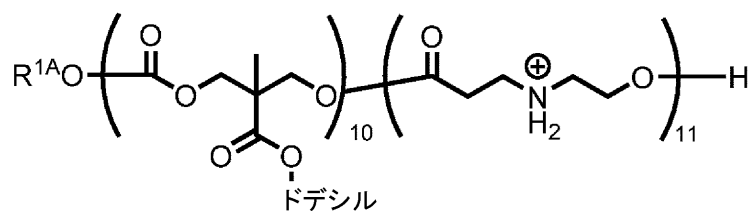
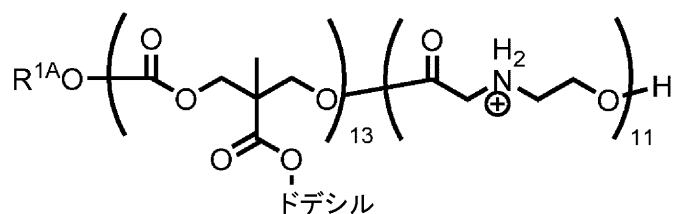
【0339】

実施形態において、CARTは式：

【0340】

40

## 【化 5 6】



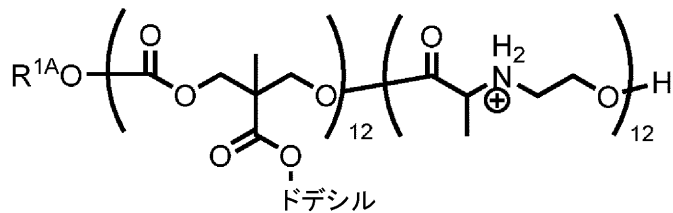
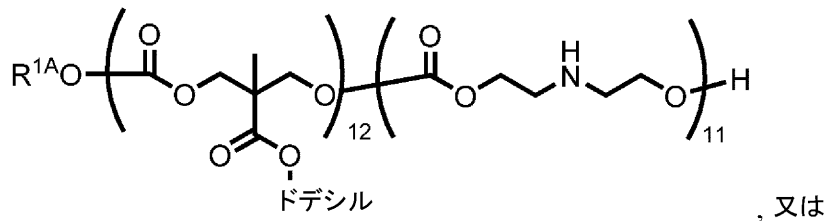
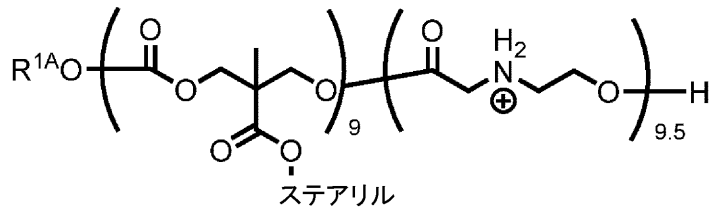
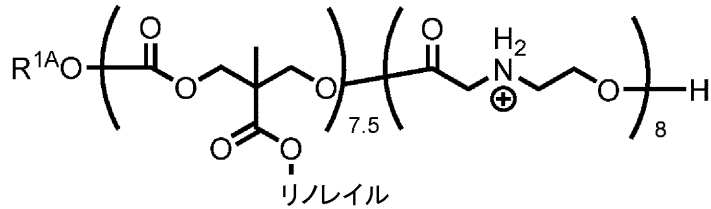
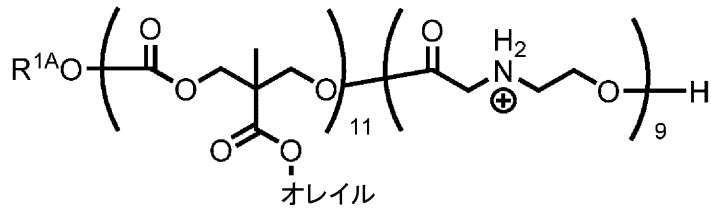
10

20

30

40

50



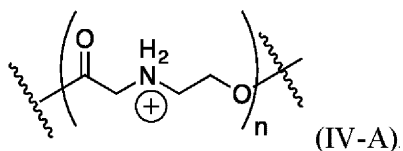
を有する。

【0341】

一部の実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは式：

【0342】

【化57】



を有することができ、式中、 $n$ は2又はそれよりも大きい整数である。一部の実施形態において、 $n$ は、範囲2～100、2～90、2～80、2～70、2～60、2～50、2～40、2～30、2～2、又は2～10の整数である。実施形態において、 $n$ は範囲2～100又は2～50の整数である。

【0343】

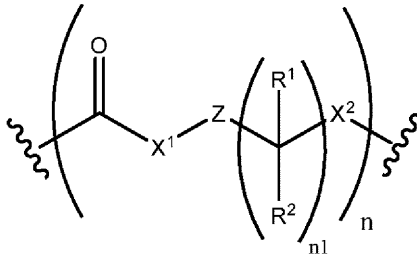
一部の実施形態において、前述の式(IV-A)では、 $n$ は2～50の範囲の整数である。

【0344】

一部の実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは式：

【0345】

【化58】



10

を有することができ、

式中、

$n$  は2又はそれよりも大きい整数であり、

$n_1$  は0～50の整数であり、

$Z$  は求核性部分であり；

$X^1$  は結合、 $-C(R^5)(R^6)-$ 、 $-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ 、 $-O-C(R^5)(R^6)-$ 、又は $-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ であり；

20

$X^2$  は $-O-$ 又は $-S-$ であり；

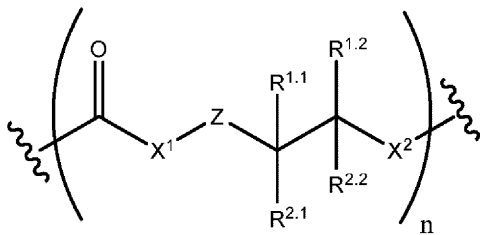
$R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、及び $R^8$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

【0346】

一部の実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは式：

【0347】

【化59】



30

を有することができ、

式中、

$n$  は2又はそれよりも大きい整数であり、

40

$Z$  は求核性部分であり；

$X^1$  は結合、 $-C(R^5)(R^6)-$ 、 $-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ 、 $-O-C(R^5)(R^6)-$ 、又は $-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ であり；

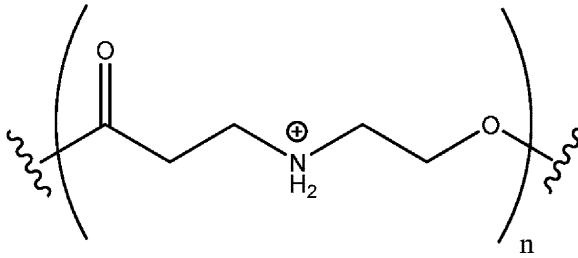
$X^2$  は $-O-$ 又は $-S-$ であり；

$R^{1.1}$ 、 $R^{1.2}$ 、 $R^{2.1}$ 、 $R^{2.2}$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、及び $R^8$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

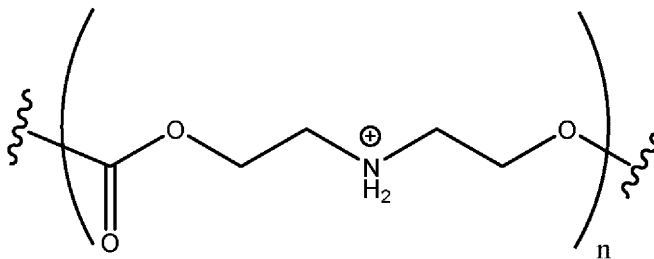
【0348】

50

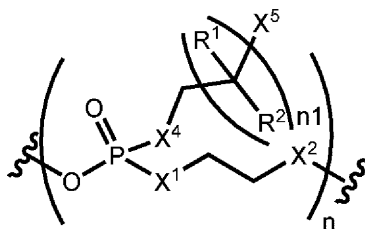
**【化 6 0】**



【化 6 1】



【化 6 2】



50

$C(R^{16})(R^{17})-C(R^{18})(R^{19})-$ であり； $X^5$ は求核性部分であり； $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^9$ 、 $R^{10}$ 、 $R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

【0354】

一部の実施形態において、指定された前述の式のいずれかを有するpH感受性崩壊ドメインでは、 $Z$ は、 $-S-$ 、 $-S^+R^{13}-$ 、 $-NR^{13}-$ 、又は $-N^+(R^{13})(H)-$ であり、式中、 $R^{13}$ は、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

10

【0355】

一部の実施形態において、指定された前述の式のいずれかを有するpH感受性崩壊ドメインでは、 $Z$ は、 $-S-$ 、 $-S^+R^{13}-$ 、 $-NR^{13}-$ 、又は $-N^+(R^{13})(H)-$ であり、式中、 $R^{13}$ は、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

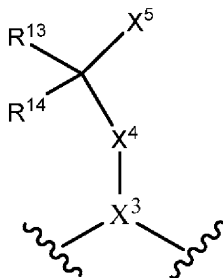
20

【0356】

一部の実施形態において、指定された前述の式のいずれかを有するpH感受性崩壊ドメインでは、 $Z$ は、

【0357】

【化63】



30

であり、

式中、

$X^3$ は $C(R^{15})$ 又は $N$ であり；

$X^4$ は、結合、 $-C(O)-$ 、 $-P(O)(OR^{16})_2-$ 、 $-S(O)(OR^{17})_2-$ 、 $-C(R^{16})(R^{17})-$ 又は $-C(R^{16})(R^{17})-C(R^{18})(R^{19})-$ であり；

40

$X^5$ は求核性部分であり；

$R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

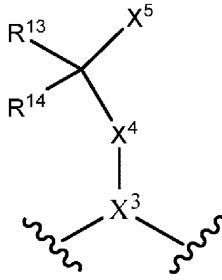
【0358】

一部の実施形態において、指定された前述の式のいずれかを有するpH感受性崩壊ドメインでは、 $Z$ は、

【0359】

50

## 【化 6 4】



10

であり、

式中、

$X^3$  は  $C(R^{15})$  又は  $N$  であり；

$X^4$  は、結合、 $-C(O)-$ 、 $-P(O)(OR^{16})_2-$ 、 $-S(O)(OR^{17})_2-$ 、 $-C(R^{16})(R^{17})-$  又は  $-C(R^{16})(R^{17})-C(R^{18})(R^{19})-$  であり；

$X^5$  は求核性部分であり；

$R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$  及び  $R^{19}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

20

## 【0360】

一部の実施形態において、指定された前述の式のいずれかを有する pH 感受性崩壊ドメインでは、 $X^5$  は  $-N^+(R^{13})(H)-$  であり、式中、 $R^{13}$  は、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

## 【0361】

一部の実施形態において、pH 感受性崩壊ドメインは以下の式のうちの 1 つを有することができる：本明細書で開示される細胞透過性複合体の実施形態及びその実施形態において、pH 感受性崩壊ドメインは以下の式 (IV) の構造を有する：

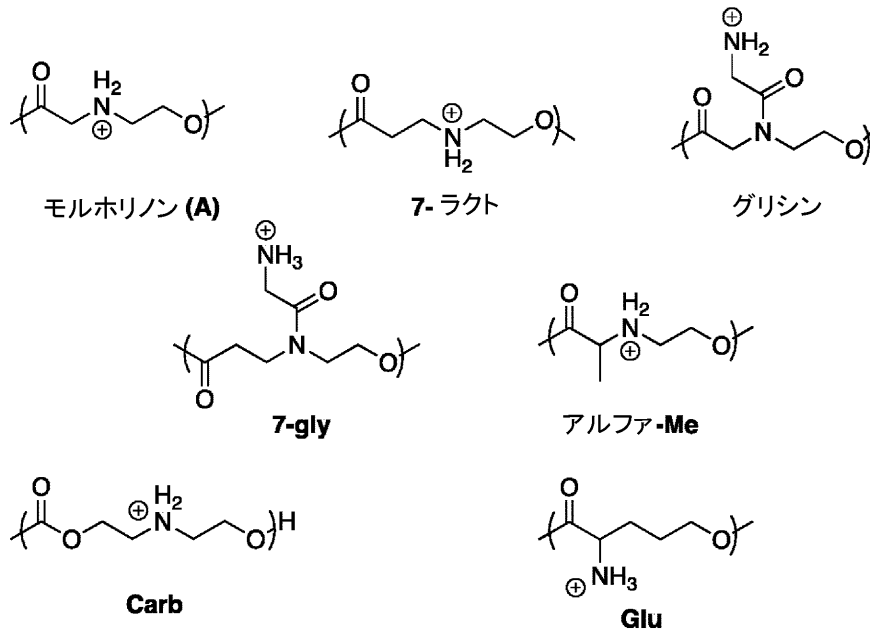
30

## 【0362】

40

50

## 【化 6 5】



10

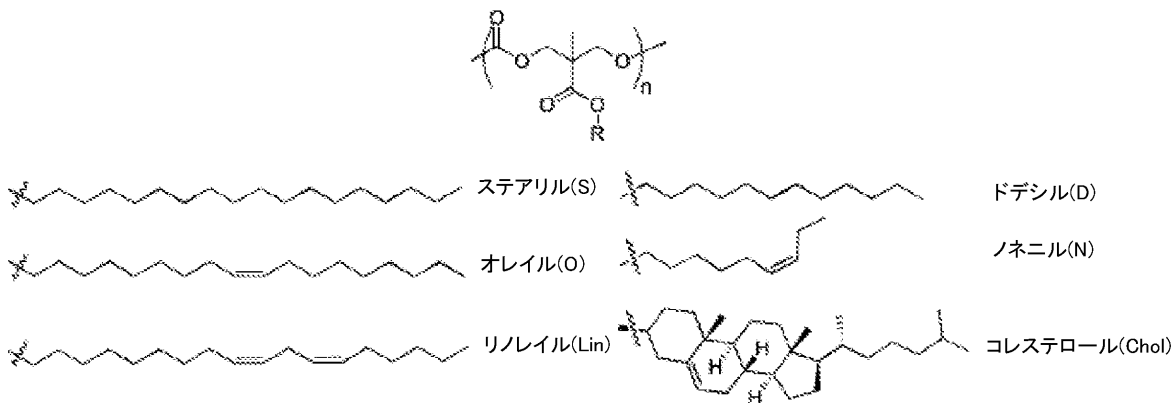
## 【0363】

20

一部の実施形態において、親油性ポリマードメイン、又は互換的に親油性ポリマードメインとも呼ばれるものは以下の R 基の変化：

## 【0364】

## 【化 6 6】



30

のうちの 1 つを有することができる。

## 【0365】

本明細書で開示される細胞透過性複合体及びその実施形態に加えて、実施形態において、核酸は、メッセンジャー RNA (mRNA)、低分子干渉 RNA (siRNA)、低分子ヘアピン型 RNA (shRNA)、マイクロ RNA (miRNA)、ガイド RNA (gRNA)、CRISPR RNA (crRNA)、トランス活性化 RNA (tracrRNA)、プラスミド DNA (pDNA)、ミニサークル DNA、ゲノム DNA (gDNA) などの DNA 又は RNA でもよい。細胞透過性複合体はタンパク質又はペプチドをさらに含んでもよい。

40

## 【0366】

本明細書で開示される細胞透過性複合体及びその実施形態に加えて、実施形態において、細胞透過性複合体は複数の親油性部分をさらに含む。

## 【0367】

本明細書で開示される細胞透過性複合体及びその実施形態に加えて、実施形態において

50

、細胞透過性複合体は複数の崩壊ドメインをさらに含む。

【0368】

本明細書で開示される細胞透過性複合体及びその実施形態に加えて、実施形態において、上記カチオン性配列に対する対アニオンは、例えば、酢酸、トリフルオロ酢酸、トリフレート、塩化物、臭化物、硫酸、リン酸、コハク酸、又はクエン酸などの当該技術分野で公知の一般的対イオンを含むことができる。実施形態において、対アニオンは、酢酸、トリフルオロ酢酸、トリフレート、塩化物、臭化物、硫酸、リン酸、コハク酸、又はクエン酸である。

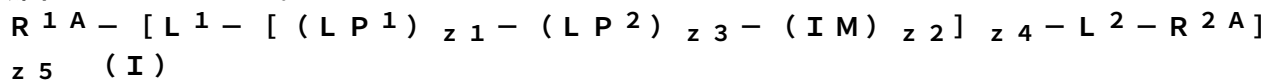
【0369】

細胞透過性複合体－セクション3

式（I）及び（IV）の実施形態によれば、すべての置換基は、以下に列挙されるように定義される。このセクションに記載される細胞透過性複合体のいずれもが本明細書で提供される組成物及び方法に使用できる。例えば、このセクションに記載される核酸、カチオン性両親媒性ポリマー及びカチオン性両親媒性ポリマーのいずれもが、その実施形態を含めて本明細書で提供される、ウイルスタンパク質をコードする配列を含むリボ核酸、核酸アジュバント及びカチオン性両親媒性ポリマーの一部を形成し得る。

【0370】

以上に記載されるように、その実施形態を含めて本明細書で提供されるカチオン性両親媒性ポリマーは、式：



[式中、

$R^1A$  は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NHHSO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$R^2A$  は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NHHSO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$L^1$  及び  $L^2$  は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、

$LP^1$  及び  $LP^2$  は、独立に、親油性ポリマードメインであり、 $IM$  は pH 感受性崩壊ド

10

20

30

40

50

メインであり、 $z_5$ は、1～10の整数であり、 $z_1$ 及び $z_3$ は、独立に、0～100の整数であり、 $z_1$ 又は $z_3$ の少なくとも1つは0でなく、 $z_4$ は、1～100の整数であり、 $z_2$ は、2～100の整数である。]

を有し得る。

【0371】

上記式の置換基は、本出願全体を通じて記載されるように定義される。したがって、本明細書における化合物の他の実施形態において、各々の置換若しくは非置換のアルキルは、置換若しくは非置換の $C_1 \sim C_{20}$ アルキルであり、各々の置換若しくは非置換のヘテロアルキルは、置換若しくは非置換の2～20員のヘテロアルキルであり、各々の置換若しくは非置換のシクロアルキルは、置換若しくは非置換の $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルであり、各々の置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキルは、置換若しくは非置換の3～8員のヘテロシクロアルキルであり、各々の置換若しくは非置換アリールは、置換若しくは非置換の $C_6 \sim C_{10}$ アリールであり、且つ／又は各々の置換若しくは非置換のヘテロアリールは、置換若しくは非置換の5～10員のヘテロアリールである。本明細書における化合物の一部の実施形態において、各々の置換若しくは非置換のアルキレンは、置換若しくは非置換の $C_1 \sim C_{20}$ アルキレンであり、各々の置換若しくは非置換のヘテロアルキレンは、置換若しくは非置換の2～20員のヘテロアルキレンであり、各々の置換若しくは非置換のシクロアルキレンは、置換若しくは非置換の $C_3 \sim C_8$ シクロアルキレンであり、各々の置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレンは、置換若しくは非置換の3～8員のヘテロシクロアルキレンであり、各々の置換若しくは非置換アリーレンは、置換若しくは非置換の $C_6 \sim C_{10}$ アリーレンであり、且つ／又は各々の置換若しくは非置換のヘテロアリーレンは、置換若しくは非置換の5～10員のヘテロアリーレンである。一部の実施形態において、化合物は、以下の実施例のセクション、図又は表に記載される化学種である。

【0372】

一部の実施形態において、各々の置換若しくは非置換のアルキルは、置換若しくは非置換の $C_1 \sim C_8$ アルキルであり、各々の置換若しくは非置換のヘテロアルキルは、置換若しくは非置換の2～8員のヘテロアルキルであり、各々の置換若しくは非置換のシクロアルキルは、置換若しくは非置換の $C_3 \sim C_7$ シクロアルキルであり、各々の置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキルは、置換若しくは非置換の3～7員のヘテロシクロアルキルであり、各々の置換若しくは非置換アリールは、置換若しくは非置換の $C_6 \sim C_{10}$ アリールであり、且つ／又は各々の置換若しくは非置換のヘテロアリールは、置換若しくは非置換の5～9員のヘテロアリールである。一部の実施形態において、各々の置換若しくは非置換のアルキレンは、置換若しくは非置換の $C_1 \sim C_8$ アルキレンであり、各々の置換若しくは非置換のヘテロアルキレンは、置換若しくは非置換の2～8員のヘテロアルキレンであり、各々の置換若しくは非置換のシクロアルキレンは、置換若しくは非置換の $C_3 \sim C_7$ シクロアルキレンであり、各々の置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレンは、置換若しくは非置換の3～7員のヘテロシクロアルキレンであり、各々の置換若しくは非置換アリーレンは、置換若しくは非置換の $C_6 \sim C_{10}$ アリーレンであり、且つ／又は各々の置換若しくは非置換のヘテロアリーレンは、置換若しくは非置換の5～9員のヘテロアリーレンである。一部の実施形態において、化合物は、以下の実施例のセクション、図又は表に記載される化学種である。

【0373】

$R^{1A}$ は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2$

Br、 $-\text{OCH}_2\text{I}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{F}$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

【0374】

$\text{R}^{1\text{A}}$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $-\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CBr}_3$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CI}_3$ 、 $\text{CHCl}_2$ 、 $-\text{CHBr}_2$ 、 $-\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CHI}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{CH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{CH}_2\text{F}$ 、 $-\text{CH}_2\text{I}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_4\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{ONH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}\text{SO}_2\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{OCCl}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCBr}_3$ 、 $-\text{OCI}_3$ 、 $-\text{OCHCl}_2$ 、 $-\text{OCHBr}_2$ 、 $-\text{OCHI}_2$ 、 $-\text{OCHF}_2$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Br}$ 、又は $-\text{OCH}_2\text{I}$ 若しくは $-\text{OCH}_2\text{F}$ であり得る。実施形態において、 $\text{R}^{1\text{A}}$ は、独立に、 $\text{R}^{1\text{A}1}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $\text{C}_1\sim\text{C}_{20}$ 若しくは $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ ）アルキル、 $\text{R}^{1\text{A}1}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、2～20員若しくは2～6員の）ヘテロアルキル、 $\text{R}^{1\text{A}1}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $\text{C}_3\sim\text{C}_8$ 若しくは $\text{C}_5\sim\text{C}_7$ ）シクロアルキル、 $\text{R}^{1\text{A}1}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、3～8員若しくは3～6員の）ヘテロシクロアルキル、 $\text{R}^{1\text{A}1}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $\text{C}_5\sim\text{C}_{10}$ 若しくは $\text{C}_5\sim\text{C}_6$ ）アリール、又は $\text{R}^{1\text{A}1}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、5～10員若しくは5～6員の）ヘテロアリールである。

10

20

【0375】

$\text{R}^{1\text{A}1}$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $-\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CBr}_3$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CI}_3$ 、 $\text{CHCl}_2$ 、 $-\text{CHBr}_2$ 、 $-\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CHI}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{CH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{CH}_2\text{F}$ 、 $-\text{CH}_2\text{I}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_4\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{ONH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}\text{SO}_2\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{OCCl}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCBr}_3$ 、 $-\text{OCI}_3$ 、 $-\text{OCHCl}_2$ 、 $-\text{OCHBr}_2$ 、 $-\text{OCHI}_2$ 、 $-\text{OCHF}_2$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{I}$ 、又は $-\text{OCH}_2\text{F}$ であり得る。実施形態において、 $\text{R}^{1\text{A}1}$ は、独立に、 $\text{R}^{1\text{A}2}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $\text{C}_1\sim\text{C}_{20}$ 若しくは $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ ）アルキル、 $\text{R}^{1\text{A}2}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、2～20員若しくは2～6員の）ヘテロアルキル、 $\text{R}^{1\text{A}2}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $\text{C}_3\sim\text{C}_8$ 若しくは $\text{C}_5\sim\text{C}_7$ ）シクロアルキル、 $\text{R}^{1\text{A}2}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、3～8員若しくは3～6員の）ヘテロシクロアルキル、 $\text{R}^{1\text{A}2}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $\text{C}_5\sim\text{C}_{10}$ 若しくは $\text{C}_5\sim\text{C}_6$ ）アリール、又は $\text{R}^{1\text{A}2}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、5～10員若しくは5～6員の）ヘテロアリールである。

30

【0376】

$\text{R}^{1\text{A}2}$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $-\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CBr}_3$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CI}_3$ 、 $\text{CHCl}_2$ 、 $-\text{CHBr}_2$ 、 $-\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CHI}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{CH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{CH}_2\text{F}$ 、 $-\text{CH}_2\text{I}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_4\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{ONH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}\text{SO}_2\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{OCCl}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCBr}_3$ 、 $-\text{OCI}_3$ 、 $-\text{OCHCl}_2$ 、 $-\text{OCHBr}_2$ 、 $-\text{OCHI}_2$ 、 $-\text{OCHF}_2$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{I}$ 、又は $-\text{OCH}_2\text{F}$ であり得る。実施形態において、 $\text{R}^{1\text{A}2}$ は、独立に、 $\text{R}^{1\text{A}3}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $\text{C}_1\sim\text{C}_{20}$ 若しくは $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ ）アルキル、 $\text{R}^{1\text{A}3}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、2～20員若しくは2～6員の）ヘテロアルキル、 $\text{R}^{1\text{A}3}$ で置換された若しくは非置換の（例えば

40

50

、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ )シクロアルキル、 $R^{1A3}$ で置換された若しくは非置換の(例えば、3～8員若しくは3～6員の)ヘテロシクロアルキル、 $R^{1A3}$ で置換された若しくは非置換の(例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ )アリール、又は $R^{1A3}$ で置換された若しくは非置換の(例えば、5～10員若しくは5～6員の)ヘテロアリールである。

#### 【0377】

$R^{1A3}$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、又は $-OCH_2F$ であり得る。実施形態において、 $R^{1A3}$ は、独立に、非置換の(例えば、 $C_1 \sim C_{20}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ )アルキル、非置換の(例えば、2～20員若しくは2～6員の)ヘテロアルキル、非置換の(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ )シクロアルキル、非置換の(例えば、3～8員若しくは3～6員の)ヘテロシクロアルキル、非置換の(例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ )アリール、又は非置換の(例えば、5～10員若しくは5～6員の)ヘテロアリールである。

#### 【0378】

$R^{2A}$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、又は $-OCH_2I$ 、又は $-OCH_2F$ であり得る。実施形態において、 $R^{2A}$ は、独立に、 $R^{2A1}$ で置換された若しくは非置換の(例えば、 $C_1 \sim C_{20}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ )アルキル、 $R^{2A1}$ で置換された若しくは非置換の(例えば、2～20員若しくは2～6員の)ヘテロアルキル、 $R^{2A1}$ で置換された若しくは非置換の(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ )シクロアルキル、 $R^{2A1}$ で置換された若しくは非置換の(例えば、3～8員若しくは3～6員の)ヘテロシクロアルキル、 $R^{2A1}$ で置換された若しくは非置換の(例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ )アリール、又は $R^{2A1}$ で置換された若しくは非置換の(例えば、5～10員若しくは5～6員の)ヘテロアリールである。

#### 【0379】

$R^{2A1}$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、又は $-OCH_2F$ であり得る。実施形態において、 $R^{2A1}$ は、独立に、 $R^{2A2}$ で置換された若しくは非置換の(例えば、 $C_1 \sim C_{20}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ )アルキル、 $R^{2A2}$ で置換された若しくは非置換の(例えば、2～20員若しくは2～6員の)ヘテロアルキル、 $R^{2A2}$ で置換された若しくは非置換の(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ )シクロアルキル、 $R^{2A2}$ で置換された若しくは非置

換の（例えば、3～8員若しくは3～6員の）ヘテロシクロアルキル、 $R^{2A2}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）アリール、又は $R^{2A2}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、5～10員若しくは5～6員の）ヘテロアリールである。

#### 【0380】

$R^{2A2}$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、又は $-OCH_2F$ であり得る。実施形態において、 $R^{2A2}$ は、独立に、 $R^{2A3}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_1 \sim C_{20}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ ）アルキル、 $R^{2A3}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、2～20員若しくは2～6員の）ヘテロアルキル、 $R^{2A3}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ ）シクロアルキル、 $R^{2A3}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、3～8員若しくは3～6員の）ヘテロシクロアルキル、 $R^{2A3}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）アリール、又は $R^{2A3}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、5～10員若しくは5～6員の）ヘテロアリールである。

#### 【0381】

$R^{2A3}$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、又は $-OCH_2F$ であり得る。実施形態において、 $R^{2A3}$ は、独立に、非置換の（例えば、 $C_1 \sim C_{20}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ ）アルキル、非置換の（例えば、2～20員若しくは2～6員の）ヘテロアルキル、非置換の（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ ）シクロアルキル、非置換の（例えば、3～8員若しくは3～6員の）ヘテロシクロアルキル、非置換の（例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）アリール、又は非置換の（例えば、5～10員若しくは5～6員の）ヘテロアリールである。

#### 【0382】

$L^1$ は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンである。実施形態において、 $L^1$ は、非置換の（例えば、 $C_1 \sim C_{20}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ ）アルキレン、非置換の（例えば、2～20員若しくは2～6員の）ヘテロアルキレン、非置換の（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ ）シクロアルキレン、非置換の（例えば、3～8員若しくは3～6員の）ヘテロシクロアルキレン、非置換の（例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）アリーレン、又は非置換の（例えば、5～10員若しくは5～6員の）ヘテロアリーレンである。実施形態において、 $L^1$ は、 $R^{L1}$ で置換された（例えば、 $C_1 \sim C_{20}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ ）アルキレン、 $R^{L1}$ で置換された（例えば、2～20員若しくは2～6員の）ヘテロアルキレン、 $R^{L1}$ で置換された（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C$

$5 \sim C_7$ ) シクロアルキレン、 $R^{L1}$ で置換された(例えば、 $3 \sim 8$ 員若しくは $3 \sim 6$ 員の)ヘテロシクロアルキレン、 $R^{L1}$ で置換された(例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ )アリーレン、又は $R^{L1}$ で置換された(例えば、 $5 \sim 10$ 員若しくは $5 \sim 6$ 員の)ヘテロアリーレンである。 $R^{L1}$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-CCl_3$ 、 $-COOH$ 、 $-CH_2COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-SO_2Cl$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $SO_2NH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC=(O)NHNH_2$ 、非置換の(例えば、 $C_1 \sim C_{20}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ )アルキル、非置換の(例えば、 $2 \sim 20$ 員若しくは $2 \sim 6$ 員)ヘテロアルキル、非置換の(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ )シクロアルキル、非置換の(例えば、 $3 \sim 8$ 員若しくは $3 \sim 6$ 員の)ヘテロシクロアルキル、非置換の(例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ )アリール、又は非置換の(例えば、 $5 \sim 10$ 員若しくは $5 \sim 6$ 員の)ヘテロアリールであり得る。

10

【0383】

$L^2$ は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンである。実施形態において、 $L^2$ は、非置換の(例えば、 $C_1 \sim C_{20}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ )アルキレン、非置換の(例えば、 $2 \sim 20$ 員若しくは $2 \sim 6$ 員の)ヘテロアルキレン、非置換の(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ )シクロアルキレン、非置換の(例えば、 $3 \sim 8$ 員若しくは $3 \sim 6$ 員の)ヘテロシクロアルキレン、非置換の(例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ )アリーレン、又は非置換の(例えば、 $5 \sim 10$ 員若しくは $5 \sim 6$ 員の)ヘテロアリーレンである。実施形態において、 $L^2$ は、 $R^{L2}$ で置換された(例えば、 $C_1 \sim C_{20}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ )アルキレン、 $R^{L2}$ で置換された(例えば、 $2 \sim 20$ 員若しくは $2 \sim 6$ 員の)ヘテロアルキレン、 $R^{L2}$ で置換された(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ )シクロアルキレン、 $R^{L2}$ で置換された(例えば、 $3 \sim 8$ 員若しくは $3 \sim 6$ 員の)ヘテロシクロアルキレン、(例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ )アリーレン、又は $R^{L2}$ で置換された(例えば、 $5 \sim 10$ 員若しくは $5 \sim 6$ 員の)ヘテロアリーレンである。 $R^{L2}$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-CCl_3$ 、 $-COOH$ 、 $-CH_2COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-SO_2Cl$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $SO_2NH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC=(O)NHNH_2$ 、非置換の(例えば、 $C_1 \sim C_{20}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ )アルキル、非置換の(例えば、 $2 \sim 20$ 員若しくは $2 \sim 6$ 員の)ヘテロアルキル、非置換の(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ )シクロアルキル、非置換の(例えば、 $3 \sim 8$ 員若しくは $3 \sim 6$ 員の)ヘテロシクロアルキル、非置換の(例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ )アリール、又は非置換の(例えば、 $5 \sim 10$ 員若しくは $5 \sim 6$ 員の)ヘテロアリールであり得る。

20

30

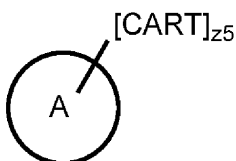
【0384】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

40

【0385】

【化67】



[式中、

環Aは、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロア

50

ルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

CARTは、式： $-L^1-[(LP^1)_{z1}-(LP^2)_{z3}-(IM)_{z2}]_{z4}-L^2-R^2A$

を有し、 $R^2A$ は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $L^1$ 及び $L^2$ は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、 $LP^1$ 及び $LP^2$ は、独立に、親油性ポリマードメインであり、 $IM$ はpH感受性崩壊ドメインであり、 $z5$ は、1～10の整数であり、 $z1$ 及び $z3$ は、独立に、0～100の整数であり、 $z1$ 又は $z3$ の少なくとも1つは0でなく、 $z4$ は、1～100の整数であり、 $z2$ は、2～100の整数である。]

を有する。

【0386】

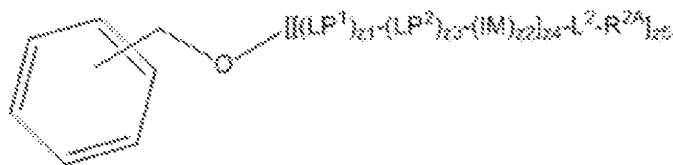
実施形態において、環Aは、置換又は非置換のアリールである。実施形態において、環Aは、置換又は非置換のフェニルである。実施形態において、環Aは、置換又は非置換のアリールである。実施形態において、環Aは、置換又は非置換のフェニル又はナフタレニルである。

【0387】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0388】

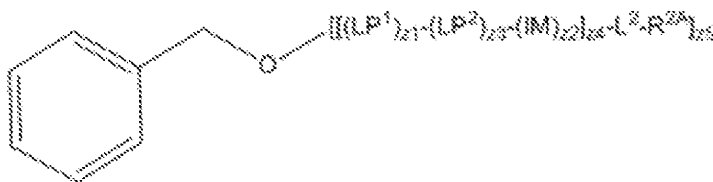
【化68】



を有する。実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0389】

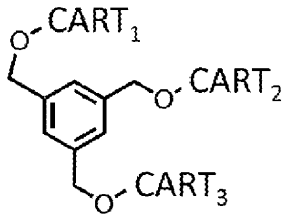
【化69】



を有する。実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0390】

【化 7 0】



【式中、 $CART_1$ 、 $CART_2$  及び  $CART_3$  は、独立に、本明細書で定義される  $CART$  である。】

を有する。

【0391】

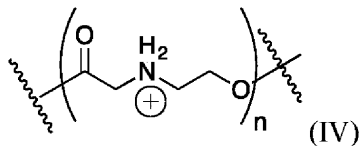
実施形態において、 $z_5$  は、1～3の整数である。実施形態において、 $z_5$  は1又は3である。実施形態において、 $z_5$  は1である。実施形態において、 $z_5$  は3である。実施形態において、 $R^{2A}$  は水素である。実施形態において、 $L^2$  は結合である。

【0392】

実施形態において、 $pH$  感受性崩壊ドメインは、式：

【0393】

【化 7 1】



【式中、 $n$  は2以上の整数である。】

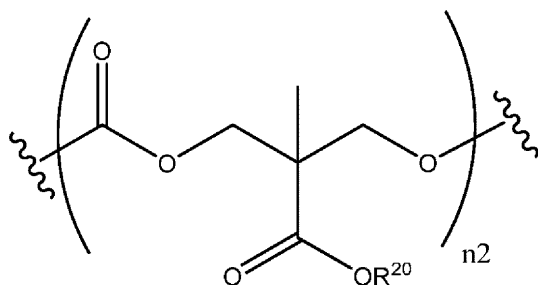
を有する。実施形態において、 $n$  は、2～50の範囲の整数である。実施形態において、 $n$  は7である。実施形態において、 $n$  は9である。

【0394】

実施形態において、親油性ポリマードメインは、式：

【0395】

【化 7 2】



【式中、 $n_2$  は、1～100の整数であり、 $R^{20}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。】

を有する。

【0396】

実施形態において、 $LP^1$  は、式：

【0397】

10

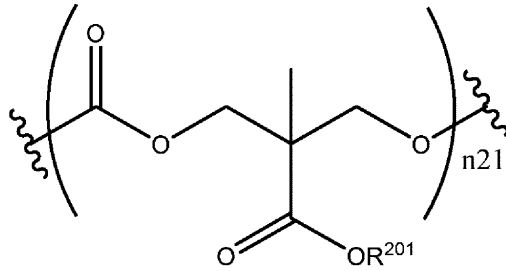
20

30

40

50

## 【化 7 3】



〔式中、 $n_{21}$ は、1～100の整数であり、 $R^{201}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。〕を有する。

## 【0398】

実施形態において、 $R^{201}$ は、独立に、 $R^{201A}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_1 \sim C_{30}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ ）アルキル、 $R^{201A}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、2～20員若しくは2～6員の）ヘテロアルキル、 $R^{201A}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ ）シクロアルキル、 $R^{201A}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、3～8員若しくは3～6員の）ヘテロシクロアルキル、 $R^{201A}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）アリール、又は $R^{201A}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、5～10員若しくは5～6員の）ヘテロアリールである。

## 【0399】

実施形態において、 $R^{201A}$ は、独立に、 $R^{201B}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_1 \sim C_{30}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ ）アルキル、 $R^{201B}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、2～20員若しくは2～6員の）ヘテロアルキル、 $R^{201B}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ ）シクロアルキル、 $R^{201B}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、3～8員若しくは3～6員の）ヘテロシクロアルキル、 $R^{201B}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）アリール、又は $R^{201B}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、5～10員若しくは5～6員の）ヘテロアリールである。

## 【0400】

実施形態において、 $R^{201B}$ は、独立に、非置換の（例えば、 $C_1 \sim C_{30}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ ）アルキル、非置換の（例えば、2～20員若しくは2～6員の）ヘテロアルキル、非置換の（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ ）シクロアルキル、非置換の（例えば、3～8員若しくは3～6員の）ヘテロシクロアルキル、非置換の（例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）アリール、又は非置換の（例えば、5～10員若しくは5～6員の）ヘテロアリールである。

## 【0401】

実施形態において、 $n_{21}$ は5であり、 $R^{201}$ は非置換の $C_{18}$ アルケニルである。実施形態において、 $n_{21}$ は6であり、 $R^{201}$ は非置換の $C_{18}$ アルケニルである。実施形態において、非置換の $C_{18}$ アルケニルはオレイルである。

## 【0402】

実施形態において、 $n_{21}$ は、0～100の整数である。実施形態において、 $n_{21}$ は、0～90の整数である。実施形態において、 $n_{21}$ は、0～80の整数である。実施形態において、 $n_{21}$ は、0～70の整数である。実施形態において、 $n_{21}$ は、0～60の整数である。実施形態において、 $n_{21}$ は、0～50の整数である。実施形態において、 $n_{21}$ は、0～40の整数である。実施形態において、 $n_{21}$ は、0～30の整数であ

50

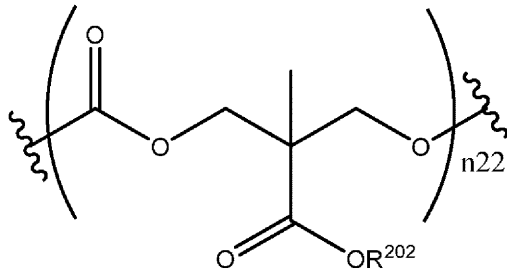
いて、 $n_{21}$ は89である。実施形態において、 $n_{21}$ は90である。実施形態において、 $n_{21}$ は91である。実施形態において、 $n_{21}$ は92である。実施形態において、 $n_{21}$ は93である。実施形態において、 $n_{21}$ は94である。実施形態において、 $n_{21}$ は95である。実施形態において、 $n_{21}$ は96である。実施形態において、 $n_{21}$ は97である。実施形態において、 $n_{21}$ は98である。実施形態において、 $n_{21}$ は99である。実施形態において、 $n_{21}$ は100である。

【0403】

実施形態において、 $LP^2$ は、式：

【0404】

【化74】



〔式中、 $n_{22}$ は、1～100の整数であり、 $R^{202}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。〕

を有する。実施形態において、 $n_{22}$ は5であり、 $R^{202}$ は非置換の $C_9$ アルケニルである。実施形態において、 $n_{22}$ は6であり、 $R^{202}$ は非置換の $C_9$ アルケニルである。実施形態において、非置換の $C_9$ アルケニルはノネニルである。

【0405】

実施形態において、 $R^{202}$ は、独立に、 $R^{202A}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_1 \sim C_{30}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ ）アルキル、 $R^{202A}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、2～20員若しくは2～6員の）ヘテロアルキル、 $R^{202A}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ ）シクロアルキル、 $R^{202A}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、3～8員若しくは3～6員の）ヘテロシクロアルキル、 $R^{202A}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）アリール、又は $R^{202A}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、5～10員若しくは5～6員の）ヘテロアリールである。

【0406】

実施形態において、 $R^{202A}$ は、独立に、 $R^{202B}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_1 \sim C_{30}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ ）アルキル、 $R^{202B}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、2～20員若しくは2～6員の）ヘテロアルキル、 $R^{202B}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ ）シクロアルキル、 $R^{202B}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、3～8員若しくは3～6員の）ヘテロシクロアルキル、 $R^{202B}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）アリール、又は $R^{202B}$ で置換された若しくは非置換の（例えば、5～10員若しくは5～6員の）ヘテロアリールである。

【0407】

実施形態において、 $R^{202B}$ は、独立に、非置換の（例えば、 $C_1 \sim C_{30}$ 若しくは $C_1 \sim C_6$ ）アルキル、非置換の（例えば、2～20員若しくは2～6員の）ヘテロアルキル、非置換の（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 若しくは $C_5 \sim C_7$ ）シクロアルキル、非置換の（例えば、3～8員若しくは3～6員の）ヘテロシクロアルキル、非置換の（例えば、 $C_5 \sim C_{10}$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）アリール、又は非置換の（例えば、5～10員若しくは5～

10

20

30

40

50

**【 0 4 0 8 】**

50

は 74 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 75 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 76 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 77 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 78 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 79 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 80 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 81 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 82 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 83 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 84 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 85 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 86 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 87 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 88 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 89 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 90 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 91 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 92 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 93 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 94 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 95 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 96 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 97 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 98 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 99 である。実施形態において、 $n_{22}$  は 100 である。

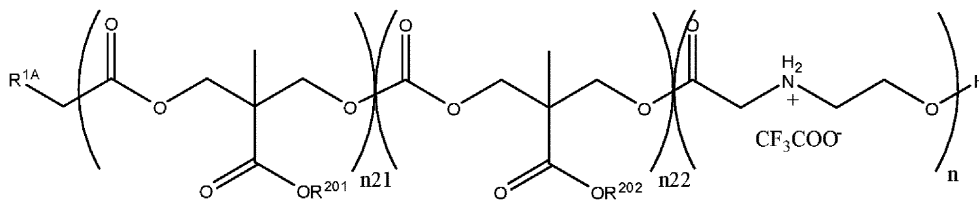
10

【0409】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0410】

【化75】



20

【式中、

$n_{21}$  は 5 であり、 $R^{201}$  はオレイルであり、 $n_{22}$  は 5 であり、 $R^{202}$  はノネニルであり、 $n$  は 7 である。]

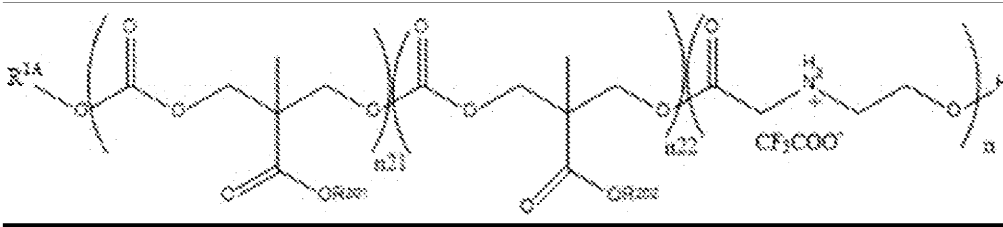
を有する。

【0411】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0412】

【化76】



40

【式中、

$n_{21}$  は 6 であり、 $R^{201}$  はオレイルであり、 $n_{22}$  は 6 であり、 $R^{202}$  はノネニルであり、 $n$  は 9 である。]

を有する。

【0413】

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

50

ドする配列を含む。

【0414】

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

【0415】

一態様では、その実施形態を含めて本明細書で提供される複合体、及び薬学的に許容される単体を含む医薬組成物が提供される。

【0416】

一態様では、核酸を細胞内にトランスフェクトする方法であって、細胞を、その実施形態を含めて本明細書で提供される複合体と接触させることを含む方法が提供される。

10

【0417】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、細胞内で分解され、それによって分解生成物を形成する。実施形態において、分解生成物は、置換又は非置換のジケトピペラジンである。

【0418】

実施形態において、核酸は、メッセンジャーRNA (mRNA) をコードするCARを含む。

【0419】

本明細書で提供されるmRNAは、細胞に発現され得る。実施形態において、細胞は真核細胞である。実施形態において、細胞は、哺乳動物又はヒト細胞である。実施形態において、細胞は、生物の一部を形成する。実施形態において、生物はヒトである。実施形態において、細胞は、リンパ細胞又は骨髄細胞である。実施形態において、細胞はT細胞である。実施形態において、細胞は骨髄細胞である。

20

【0420】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

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

[式中、

$R^1A$  は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

30

$R^2A$  は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

40

50

$L^1$  及び  $L^2$  は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、

$LP^1$  及び  $LP^2$  は、独立に、結合又は親油性ポリマードメインであり、 $LP^1$  又は  $LP^2$  の少なくとも1つは親油性ポリマードメインであり、 $IM$  は pH 感受性崩壊ドメインであり、 $z_5$  は、1～10の整数であり、 $z_1$  及び  $z_3$  は、独立に、0～100の整数であり、 $z_1$  又は  $z_3$  の少なくとも1つは0でなく、 $z_4$  は、1～100の整数であり、 $z_2$  は、2～100の整数である。]

10

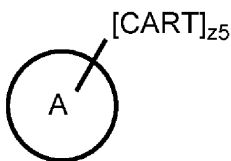
を有する。

【0421】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0422】

【化77】



20

[式中、環Aは、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $CART$  は、式： $-L^1-[(LP^1)_{z_1}-(IM)_{z_2}-(LP^2)_{z_3}]_{z_4}-L^2-R^{2A}$  を有し、

$R^{2A}$  は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_3H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

30

$L^1$  及び  $L^2$  は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、

40

$LP^1$  及び  $LP^2$  は、独立に、結合又は親油性ポリマードメインであり、 $LP^1$  又は  $LP^2$  の少なくとも1つは親油性ポリマードメインであり、

$IM$  は pH 感受性崩壊ドメインであり、 $z_5$  は、1～10の整数であり、 $z_1$  及び  $z_3$  は、独立に、0～100の整数であり、 $z_1$  又は  $z_3$  の少なくとも1つは0でなく、 $z_4$  は、1～100の整数であり、 $z_2$  は、2～100の整数である。]

を有する。

【0423】

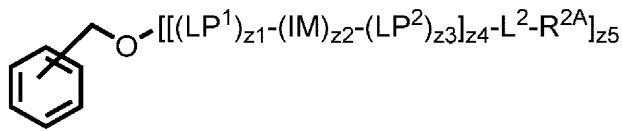
実施形態において、環Aは、置換又は非置換のアリールである。実施形態において、環Aは、置換又は非置換のフェニルである。実施形態において、環Aは、置換又は非置換の

50

アリールである。実施形態において、環 A は、置換又は非置換のフェニル又はナフタレニルである。実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0424】

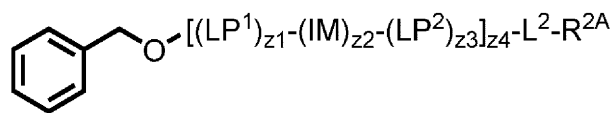
【化78】



を有する。実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0425】

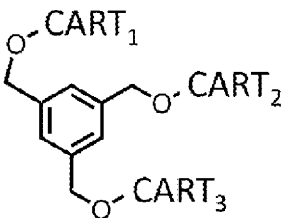
【化79】



を有する。実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0426】

【化80】



〔式中、CART<sub>1</sub>、CART<sub>2</sub>及びCART<sub>3</sub>は、独立に、本明細書で定義されるCARTである。〕

を有する。

【0427】

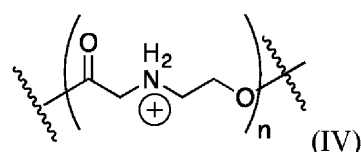
実施形態において、L<sup>1</sup>は、-CH<sub>2</sub>-O-、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンである。

【0428】

実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは、式：

【0429】

【化81】



〔式中、nは2以上の整数である。〕

を有する。

【0430】

細胞透過性複合体－セクション4

式 (Ia-C)、(Ib-C)、(Ic-C)、(Id-C)、(VIII-C)、(IX-C)、(X-C)、(XI-C)、(II)、(III)、(XIV-C)、(XV-C)、(XVI-C)、(XVII-C)、(XVIII-C)、(XIX-C)、

10

20

30

40

50

( $XX-C$ )、( $XXb-C$ )、( $XXI-C$ ) 及び ( $XXIa-C$ ) の実施形態によれば、すべての置換基は、以下に列举されるように定義される。このセクションに記載される細胞透過性複合体のいずれもが本明細書で提供される組成物及び方法に使用できる。例えば、このセクションに記載される核酸、カチオン性両親媒性ポリマー及びカチオン性両親媒性ポリマーのいずれもが、その実施形態を含めて本明細書で提供される、ウイルスタンパク質をコードする配列を含むリボ核酸、核酸アジュバント、及びカチオン性両親媒性ポリマーを含む細胞透過性複合体の一部を形成し得る。

#### 【0431】

その実施形態を含めて本明細書に提供される細胞透過性複合体は、カチオン性両親媒性ポリマー（例えば、式 ( $II$ )、( $III$ )、( $XIV-C$ ) 及び ( $V-C$ ) を有する。）に非共有結合された核酸を含む。その実施形態を含めて本明細書に提供される細胞透過性複合体は、各々のポリマー型が化学的に異なる複数の（1つより多い、例えば、2つの）カチオン性両親媒性ポリマー型（例えば、第1のカチオン性両親媒性ポリマーと第2の両親媒性ポリマーとの混合物）をさらに含んでもよい。

#### 【0432】

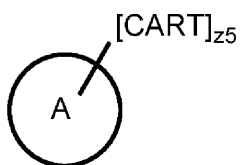
本明細書で提供される細胞透過性複合体は、pH感受性崩壊ドメイン（例えば、式 ( $VVI-C$ )、( $XVII-C$ )、( $XVIII-C$ )、( $XIX-C$ )、( $XX-C$ ) 及び ( $XXI-C$ ) を有する。）を含むカチオン性両親媒性ポリマー（例えば、式 ( $II$ )、( $III$ )、( $XIV-C$ ) 及び ( $V-C$ ) を有する。）に非共有結合された核酸を含んでもよい。実施形態において、1つ以上の対イオン（例えば、アニオン）が、カチオン性両親媒性ポリマーにおける正電荷に対する対電荷として存在してもよい。実施形態において、核酸は、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合されている。実施形態において、核酸は、カチオン性両親媒性ポリマーにイオン結合されている。実施形態において、細胞透過性複合体は、複数の任意選択的に異なる核酸（例えば、1～10個の追加の核酸、1～5個の追加の核酸、1～5個の追加の核酸、2個の追加の核酸又は1個の追加の核酸）を含む。実施形態において、核酸はDNAである。実施形態において、核酸はRNAである。実施形態において、核酸はmRNAである。

#### 【0433】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

#### 【0434】

#### 【化82】



【式中、

環Aは、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

CARTは、式： $-L^1-[(LP^1)_{z1}-(LP^2)_{z3}-(IM)_{z2}]_{z4}-L^2-R^2A$ を有し、

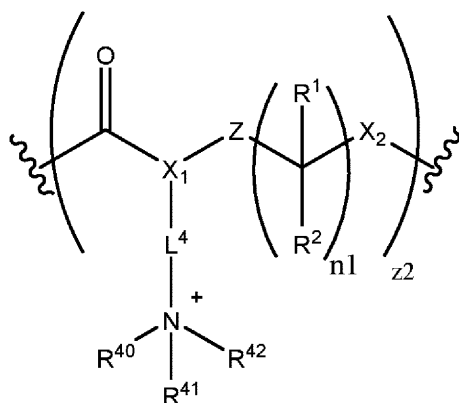
$R^2A$ は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2$

Br、 $-\text{OCH}_2\text{I}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{F}$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $\text{L}^1$ 及び $\text{L}^2$ は、独立に、結合、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、 $\text{LP}^1$ 及び $\text{LP}^2$ は、独立に、親油性ポリマードメインであり、

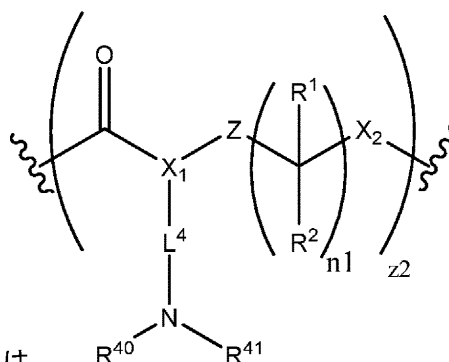
IMは、式：

【0435】

【化83】



(XVII-C)



(XVI-C) 又は

を有し、

$z_5$ は、1～10の整数であり、 $z_1$ 及び $z_3$ は、独立に、0～100の整数であり、 $z_1$ 又は $z_3$ の少なくとも1つは0でなく、 $z_4$ は、1～100の整数であり、 $z_2$ は、2～100の整数である。]

を有する。

【0436】

式(XVI-C)及び(XVII-C)において、 $\text{X}^1$ は、結合、 $-\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)-$ 、 $-\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)-\text{C}(\text{R}^7)(\text{R}^8)-$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)-$ 又は $-\text{O}-\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)-\text{C}(\text{R}^7)(\text{R}^8)-$ であり得る。 $\text{X}^2$ は、 $-\text{O}-$ 又は $-\text{S}-$ である。 $\text{R}^1$ 及び $\text{R}^2$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。 $\text{L}^4$ は、結合、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキレンである。 $\text{R}^{40}$ 、 $\text{R}^{41}$ 及び $\text{R}^{42}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキルである。 $\text{Z}$ は、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}^+\text{R}^{13}-$ 、 $-\text{NR}^{13}-$ 又は $-\text{N}^+(\text{R}^{13})(\text{H})-$ である。 $\text{R}^{13}$ は、水素、 $-\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CBr}_3$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CI}_3$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $=\text{O}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{OCCl}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCBr}_3$ 、 $-\text{OCI}_3$ 、 $-\text{OCHCl}_2$ 、 $-\text{OCHBr}_2$ 、 $-\text{OCHI}_2$ 、 $-\text{OCHF}$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。 $n_1$ は、0～50の整数である。 $z_2$ は2～100の整数であり、 $z_5$ は1～10の整数である。

【0437】

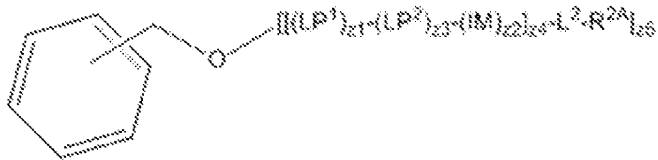
実施形態において、環 A は、置換又は非置換のアリールである。実施形態において、環 A は、置換又は非置換のフェニルである。実施形態において、環 A は、置換又は非置換のアリールである。実施形態において、環 A は、置換又は非置換のフェニル又はナフタレニルである。

【0438】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0439】

【化84】

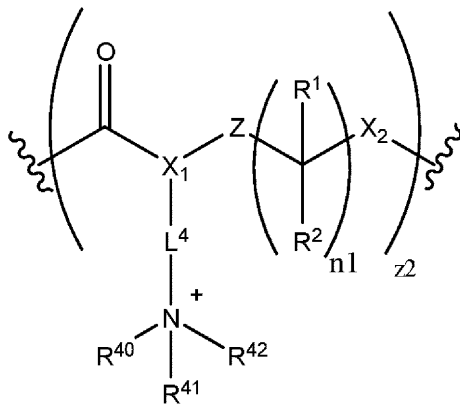


10

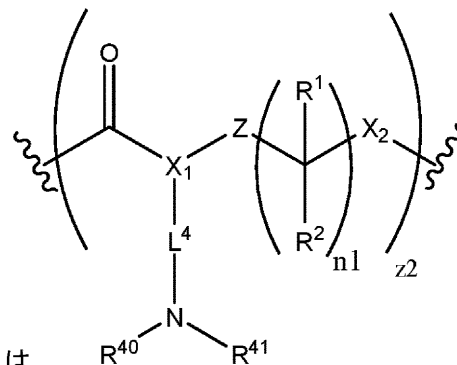
[式中、IMは、式：

【0440】

【化85】



(XVII-C)



(XVI-C) 又は

20

30

を有し、置換基及び変数は、本明細書に記載されるように定義される。]

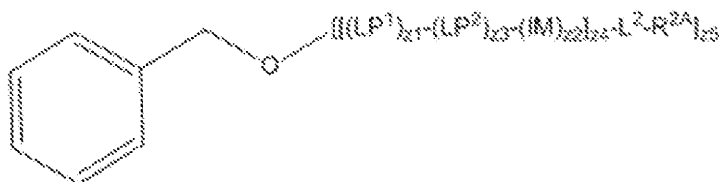
を有する。

【0441】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0442】

【化86】



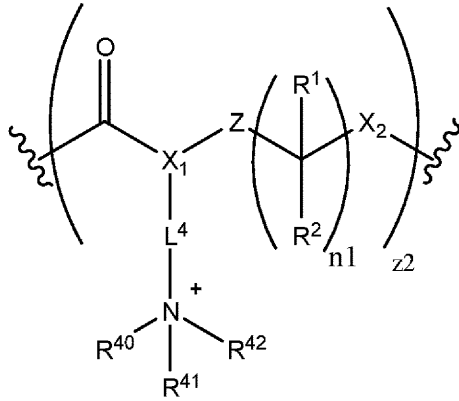
40

[式中、IMは、式：

【0443】

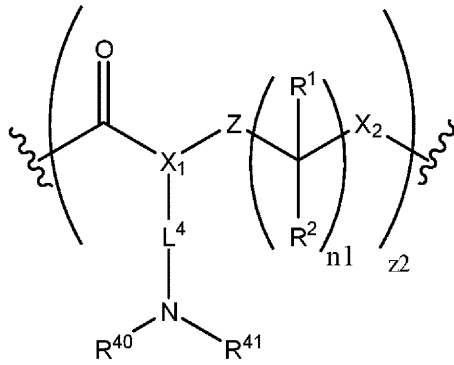
50

【化 8 7】



10

(XVI-C) 又は



20

(XVII-C)

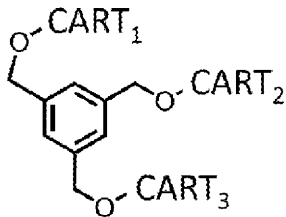
を有し、置換基及び変数は、本明細書に記載されるように定義される。]  
を有する。

【0 4 4 4】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0 4 4 5】

【化 8 8】



30

[式中、 $CART_1$ 、 $CART_2$  及び  $CART_3$  は、独立に、本明細書で定義される  $CART$  である。]

を有する。

【0 4 4 6】

40

実施形態において、 $z5$  は、1～3の整数である。実施形態において、 $z5$  は1又は3である。実施形態において、 $z5$  は1である。実施形態において、 $z5$  は3である。実施形態において、 $R^{2A}$  は水素である。実施形態において、 $L^2$  は結合である。

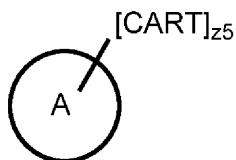
【0 4 4 7】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0 4 4 8】

50

【化 8 9】



〔式中、環 A は、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、CART は、式： $-L^1-[(LP^1)_{z1}-(IM)_{z2}-(LP^2)_{z3}]_{z4}-L^2-R^2A$  を有し、

10

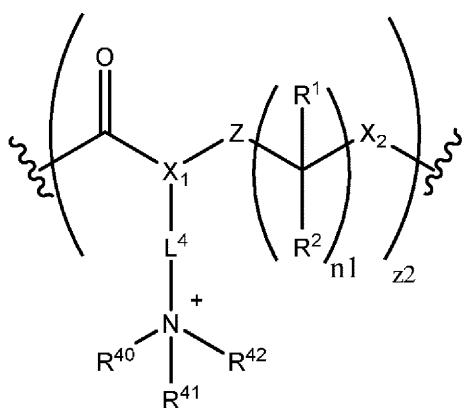
$R^2A$  は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NHSO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $L^1$  及び  $L^2$  は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、 $LP^1$  及び  $LP^2$  は、独立に、結合又は親油性ポリマードメインであり、 $LP^1$  又は  $LP^2$  の少なくとも 1 つは親油性ポリマードメインであり、IM は、式：

20

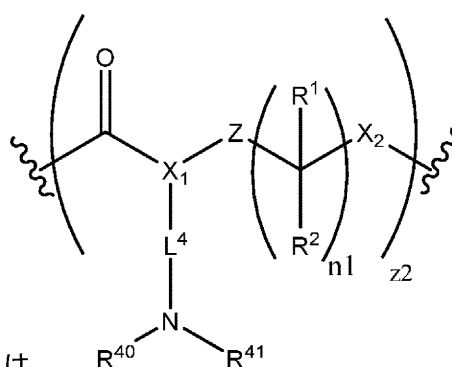
【0 4 4 9】

【化 9 0】

30



(XVII-C)



(XVI-C) 又は

40

を有し、

$z5$  は、1～10の整数であり、 $z1$  及び  $z3$  は、独立に、0～100の整数であり、 $z1$  又は  $z3$  の少なくとも1つは0でなく、 $z4$  は、1～100の整数であり、 $z2$  は、2～100の整数である。]

を有する。

【0 4 5 0】

式 (XVI-C) 及び (XVII-C) において、 $X^1$  は、結合、 $-C(R^5)(R^6)$

50

$-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ 、 $-O-C(R^5)(R^6)-$ 又は  
 $-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ であり得る。 $X^2$ は、 $-O-$ 又は $-S-$   
 である。 $R^1$ 及び $R^2$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは  
 非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換  
 のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘ  
 テロアリールである。 $L^4$ は、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C$   
 $(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)$   
 $NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキレン  
 である。 $R^{40}$ 、 $R^{41}$ 及び $R^{42}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、  
 又は置換若しくは非置換のヘテロアルキルである。 $Z$ は、 $-S-$ 、 $-S^+R^{13}-$ 、 $-N$   
 $R^{13}-$ 又は $-N^+(R^{13})(H)-$ である。 $R^{13}$ は、水素、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$   
 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $=O$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、  
 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-O$   
 $CI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHB_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF$ 、置換若しくは非置  
 換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアル  
 キル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又  
 は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。 $n_1$ は、 $0 \sim 50$ の整数である。 $z_2$ は  
 $2 \sim 100$ の整数であり、 $z_5$ は $1 \sim 10$ の整数である。

10

【0451】

実施形態において、環Aは、置換又は非置換のアリールである。実施形態において、環  
 Aは、置換又は非置換のフェニルである。実施形態において、環Aは、置換又は非置換の  
 アリールである。実施形態において、環Aは、置換又は非置換のフェニル又はナフタレニ  
 ルである。

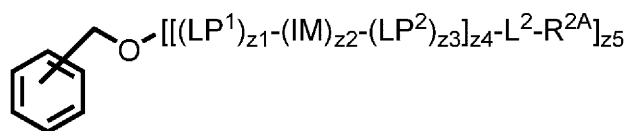
20

【0452】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0453】

【化91】



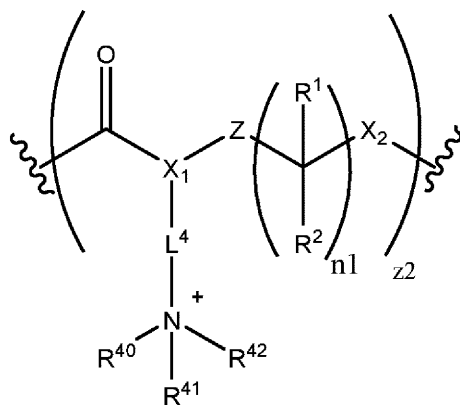
30

を有し、

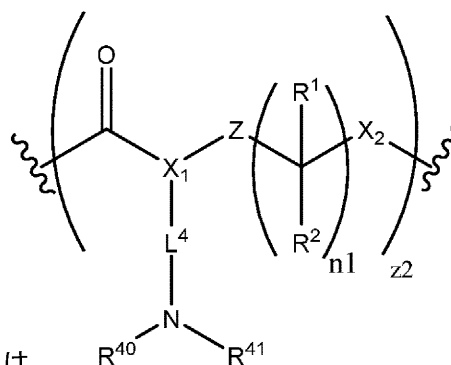
式中、IMは式：

【0454】

【化92】



(XVII-C)



(XVI-C) 又は

40

を有する。

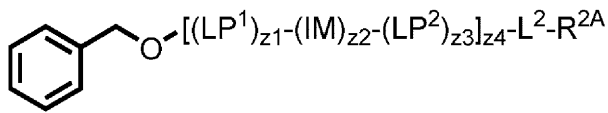
50

【0455】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0456】

【化93】

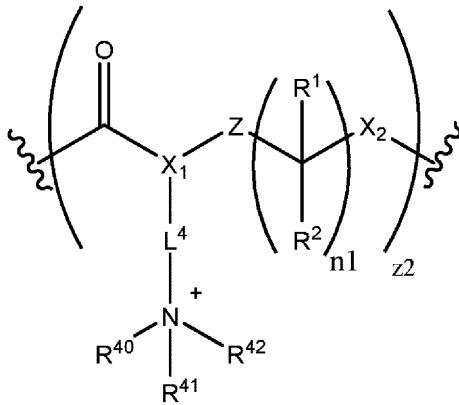


を有し、

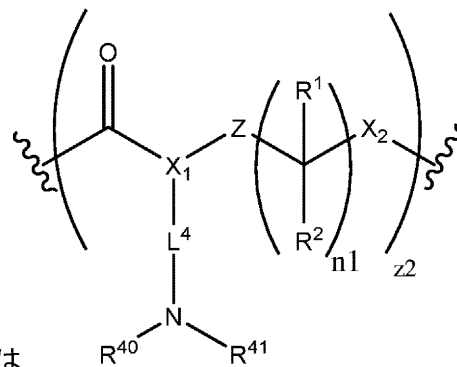
式中、IMは式：

【0457】

【化94】



(XVII-C)

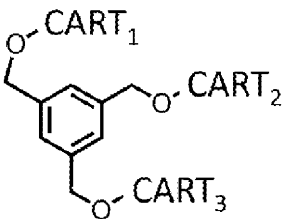


(XVI-C)又は

を有する。実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0458】

【化95】



を有し、

式中、CART₁、CART₂及びCART₃は、独立に、本明細書で定義されるCARTである。

【0459】

実施形態において、環Aは、置換又は非置換のアリールである。一部の他の実施形態において、環Aは、置換又は非置換のフェニルである。さらなる一部の他の実施形態において、環Aは、置換又は非置換のアリールである。さらなる一部の他の実施形態において、環Aは、置換又は非置換のフェニル又はナフタレニルである。

【0460】

実施形態において、環Aは、非置換のアリール（すなわちCART部分以外が非置換である。）。実施形態において、環Aは、非置換のフェニル又はナフタレニルである（すなわちCART部分以外が非置換である。）。実施形態において、環Aは、置換されたアリールである（すなわちCART部分以外も置換されている。）。実施形態において、環Aは、置換されたフェニルである（すなわちCART部分以外も置換されている。）。実施

10

20

30

40

50

形態において、環 A は、置換されたフェニル又はナフタレニルである（すなわち C A R T 部分以外も置換されている。）。

【0461】

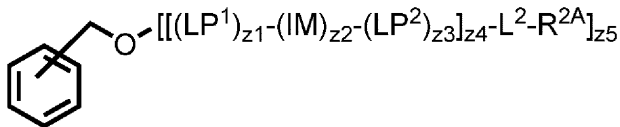
実施形態において、細胞透過性複合体は検出可能剤（例えば、フルオロフォア）を有する。

【0462】

実施形態において、 $R^{1A}$  はメトキシリンカーで置換されたアリールである。実施形態において、 $R^{1A}$  はリンカー（例えば、 $-CH_2-O-$ ）で置換されたアリールである。 $R^{1A}$  がメトキシリンカーで置換されたアリールである非限定的な例は式：

【0463】

【化96】



10

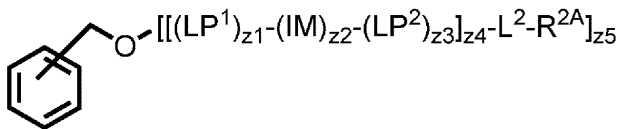
を有し、式中、 $LP^1$ 、 $LP^2$ 、 $IM$ 、 $L^2$ 、 $R^{2A}$ 、 $z1$ 、 $z2$ 、 $z3$ 、 $z4$ 、及び  $z5$  は本明細書に定義される通りである。

【0464】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式（IX-C）：

【0465】

【化97】



20

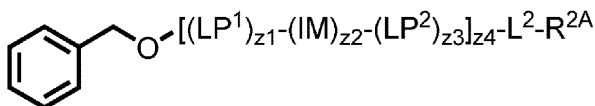
を有し、式中、 $LP^1$ 、 $LP^2$ 、 $IM$ 、 $L^2$ 、 $R^{2A}$ 、 $z1$ 、 $z2$ 、 $z3$ 、 $z4$ 、及び  $z5$  は本明細書に定義される通りである。

【0466】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式（X-C）：

【0467】

【化98】



30

を有し、式中、 $LP^1$ 、 $LP^2$ 、 $IM$ 、 $L^2$ 、 $R^{2A}$ 、 $z1$ 、 $z2$ 、 $z3$ 、 $z4$ 、及び  $z5$  は本明細書に定義される通りである。

【0468】

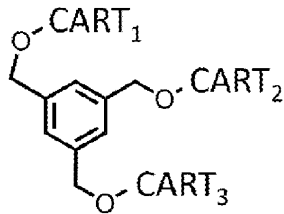
一部の実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式（XI-C）：

【0469】

40

50

【化 9 9】



を有し、式中、 $CART_1$ 、 $CART_2$  及び  $CART_3$  は、独立に、式 (VIIII-C) (例えば、 $-L^1-[(LP^1)_{z1}-(IM)_{z2}-(LP^2)_{z3}]_{z4}-L^2-R^2$  A) で定義される  $CART$  部分である。実施形態において、それぞれの  $CART$  部分は任意選択的に異なる。

10

【0470】

実施形態において、 $L^1$  は、 $-CH_2-O-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンである。

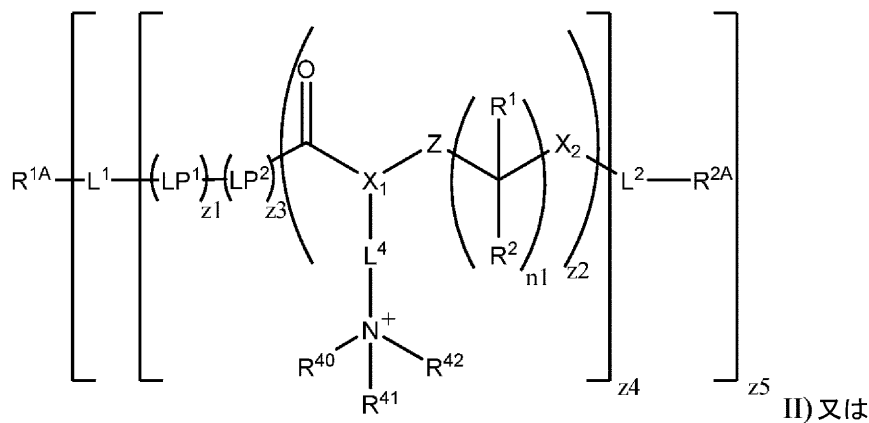
【0471】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

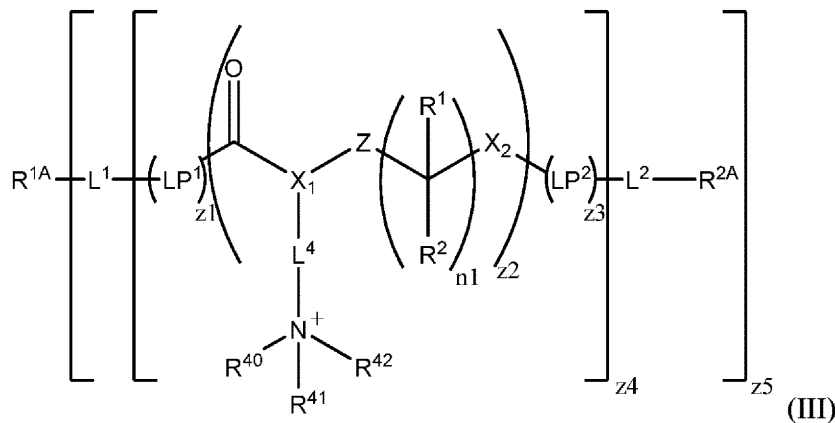
【0472】

20

【化100】



30



40

を有する。

【0473】

式 (II) 及び (III) において、 $R^{1A}$  は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CB r_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COO$

50

H、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_4\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{ONH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}\text{SO}_2\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{OCCl}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCBr}_3$ 、 $-\text{OCI}_3$ 、 $-\text{OCHCl}_2$ 、 $-\text{OCHBr}_2$ 、 $-\text{OCHI}_2$ 、 $-\text{OCHF}_2$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{I}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{F}$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

【0474】

$\text{R}^2\text{A}$ は、水素、ハロゲン、 $-\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CBr}_3$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CI}_3$ 、 $\text{CHCl}_2$ 、 $-\text{CHBr}_2$ 、 $-\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CHI}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{CH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{CH}_2\text{F}$ 、 $-\text{CH}_2\text{I}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_4\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{ONH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}\text{SO}_2\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{OCCl}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCBr}_3$ 、 $-\text{OCI}_3$ 、 $-\text{OCHCl}_2$ 、 $-\text{OCHBr}_2$ 、 $-\text{OCHI}_2$ 、 $-\text{OCHF}_2$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{I}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{F}$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

【0475】

$\text{L}^1$ 及び $\text{L}^2$ は、独立に、結合、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンである。

【0476】

$\text{LP}^1$ 及び $\text{LP}^2$ は、独立に、親油性ポリマードメインである。

【0477】

$\text{X}^1$ は、結合、 $-\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)-$ 、 $-\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)-\text{C}(\text{R}^7)(\text{R}^8)-$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)-$ 、又は $-\text{O}-\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)-\text{C}(\text{R}^7)(\text{R}^8)-$ である。

【0478】

$\text{X}^2$ は、 $-\text{O}-$ 又は $-\text{S}-$ である。

【0479】

$\text{R}^1$ 、 $\text{R}^2$ 、 $\text{R}^5$ 、 $\text{R}^6$ 、 $\text{R}^7$ 、及び $\text{R}^8$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

【0480】

$\text{L}^4$ は、結合、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキレンである。

【0481】

$\text{R}^{40}$ 、 $\text{R}^{41}$ 、及び $\text{R}^{42}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキルである。

【0482】

$\text{Z}$ は、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}^+\text{R}^{13}-$ 、 $-\text{NR}^{13}-$ 、又は $-\text{N}^+(\text{R}^{13})(\text{H})-$ である。

【0483】

$\text{R}^{13}$ は、水素、 $-\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CBr}_3$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CI}_3$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $=$

O、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{OCCl}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCBr}_3$ 、 $-\text{OCI}_3$ 、 $-\text{OCHCl}_2$ 、 $-\text{OCHBr}_2$ 、 $-\text{OCHI}_2$ 、 $-\text{OCHF}$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

【0484】

$n_1$  は、0～50の整数である。

【0485】

$z_1$  及び  $z_3$  は、独立に、0～100の整数であり、 $z_1$  又は  $z_3$  の少なくとも1つは0ではない。

【0486】

$z_4$  は1～100の整数である。

【0487】

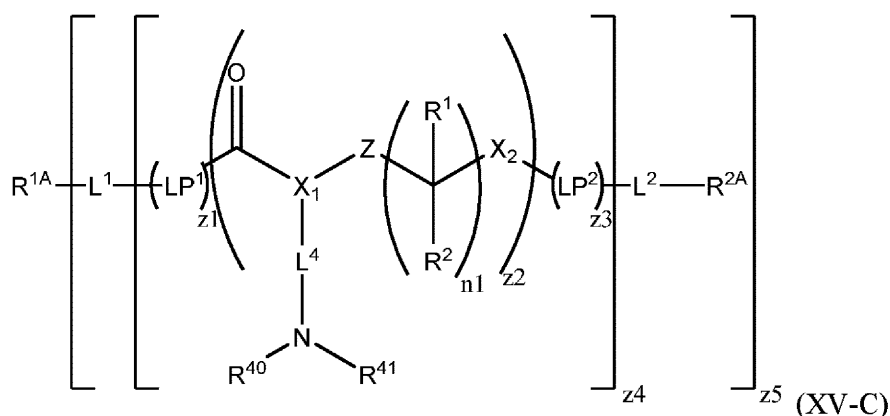
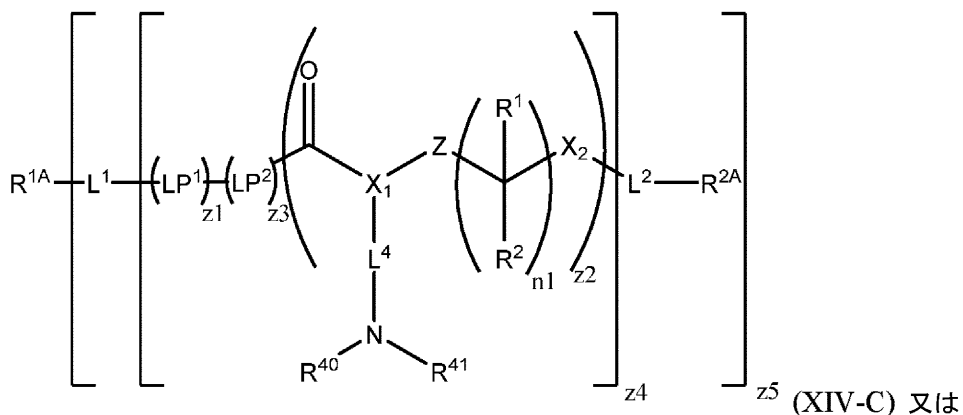
$z_2$  は2～100の整数であり； $z_5$  は0～10の整数である。

【0488】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0489】

【化101】



を有する。

【0490】

式(XIV-C)及び(XV-C)では、 $\text{R}^{1\text{A}}$ は、水素、ハロゲン、 $-\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CBr}_3$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CI}_3$ 、 $-\text{CHCl}_2$ 、 $-\text{CHBr}_2$ 、 $-\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CHI}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{CH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{CH}_2\text{F}$ 、 $-\text{CH}_2\text{I}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_4\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{ONH}_2$ 、 $-\text{NHC(O)NHNH}_2$ 、 $-\text{NHC(O)NH}_2$ 、 $-\text{N}$

$\text{HSO}_2\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{OCCl}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCBr}_3$ 、 $-\text{OCI}_3$ 、 $-\text{OCHCl}_2$ 、 $-\text{OCHBr}_2$ 、 $-\text{OCHI}_2$ 、 $-\text{OCHF}_2$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{I}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{F}$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

【0491】

$\text{R}^2\text{A}$ は、水素、ハロゲン、 $-\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CBr}_3$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CI}_3$ 、 $\text{CHCl}_2$ 、 $-\text{CHBr}_2$ 、 $-\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CHI}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{CH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{CH}_2\text{F}$ 、 $-\text{CH}_2\text{I}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_4\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{ONH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}\text{SO}_2\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{OCCl}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCBr}_3$ 、 $-\text{OCI}_3$ 、 $-\text{OCHCl}_2$ 、 $-\text{OCHBr}_2$ 、 $-\text{OCHI}_2$ 、 $-\text{OCHF}_2$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{I}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{F}$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

10

【0492】

$\text{L}^1$ 及び $\text{L}^2$ は、独立に、結合、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンである。

20

【0493】

$\text{LP}^1$ 及び $\text{LP}^2$ は、独立に、親油性ポリマードメインである。

【0494】

$\text{X}^1$ は、結合、 $-\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)-$ 、 $-\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)-\text{C}(\text{R}^7)(\text{R}^8)-$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)-$ 、又は $-\text{O}-\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)-\text{C}(\text{R}^7)(\text{R}^8)-$ である。

30

【0495】

$\text{X}^2$ は、 $-\text{O}-$ 又は $-\text{S}-$ である。

【0496】

$\text{R}^1$ 、 $\text{R}^2$ 、 $\text{R}^5$ 、 $\text{R}^6$ 、 $\text{R}^7$ 、及び $\text{R}^8$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

【0497】

$\text{L}^4$ は、結合、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキレンである。

40

【0498】

$\text{R}^{40}$ 及び $\text{R}^{41}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキルである。

【0499】

$\text{Z}$ は、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}^+\text{R}^{13}-$ 、 $-\text{NR}^{13}-$ 、又は $-\text{N}^+(\text{R}^{13})(\text{H})-$ である。

【0500】

$\text{R}^{13}$ は、水素、 $-\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CBr}_3$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CI}_3$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $=\text{O}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{OCCl}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCBr}_3$ 、 $-\text{OCI}_3$ 、 $-\text{OCHCl}_2$ 、 $-\text{OCHBr}_2$ 、

50

—OCHI<sub>2</sub>、—OCHF、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

【0501】

n<sub>1</sub>は、0～50の整数である。

【0502】

z<sub>1</sub>及びz<sub>3</sub>は、独立に、0～100の整数であり、z<sub>1</sub>又はz<sub>3</sub>の少なくとも1つは0ではない。z<sub>4</sub>は1～100の整数である。z<sub>2</sub>は2～100の整数であり；z<sub>5</sub>は1～10の整数である。

10

【0503】

実施形態において、L<sup>4</sup>は置換若しくは非置換のC<sub>2</sub>～C<sub>8</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は置換若しくは非置換のC<sub>8</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は置換若しくは非置換のC<sub>7</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は置換若しくは非置換のC<sub>6</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は置換若しくは非置換のC<sub>5</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は置換若しくは非置換のC<sub>4</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は置換若しくは非置換のC<sub>3</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は置換若しくは非置換のC<sub>2</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は非置換のC<sub>2</sub>～C<sub>8</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は非置換のC<sub>8</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は非置換のC<sub>7</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は非置換のC<sub>6</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は非置換のC<sub>5</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は非置換のC<sub>4</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は非置換のC<sub>3</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は非置換のC<sub>2</sub>アルキレンである。実施形態において、L<sup>4</sup>は非置換のC<sub>2</sub>アルキレン、非置換C<sub>3</sub>アルキレン又は非置換のC<sub>4</sub>アルキレンである。

20

【0504】

実施形態において、L<sup>4</sup>は、置換（例えば、少なくとも1つの置換基、サイズ限定置換基、又は低級置換基で置換された）又は非置換のC<sub>2</sub>～C<sub>8</sub>アルキレン（例えば、C<sub>2</sub>～C<sub>8</sub>、C<sub>2</sub>～C<sub>6</sub>、C<sub>2</sub>～C<sub>4</sub>、又はC<sub>2</sub>）である。実施形態において、L<sup>4</sup>は、非置換C<sub>2</sub>～C<sub>8</sub>アルキレン（例えば、C<sub>2</sub>～C<sub>8</sub>、C<sub>2</sub>～C<sub>6</sub>、C<sub>2</sub>～C<sub>4</sub>、又はC<sub>2</sub>）である。実施形態において、L<sup>4</sup>は、非置換C<sub>2</sub>アルキレン、非置換C<sub>3</sub>アルキレン又は非置換のC<sub>4</sub>アルキレンである。

30

【0505】

実施形態において、置換L<sup>4</sup>（例えば、置換アルキレン、置換ヘテロアルキレン、置換シクロアルキレン、置換ヘテロシクロアルキレン、置換アリール、及び／又は置換ヘテロアリール）は、少なくとも1つの置換基、サイズ限定置換基、又は低級置換基で置換され、置換L<sup>4</sup>が、置換基、サイズ限定置換基、及び低級置換基から選択される複数の基で置換されている場合、それぞれの置換基、サイズ限定置換基及び／又は低級置換基は任意選択的に異なってもよい。実施形態において、L<sup>4</sup>が置換されている場合、L<sup>4</sup>は少なくとも1つの置換基で置換されている。実施形態において、L<sup>4</sup>が置換されている場合、L<sup>4</sup>は少なくとも1つのサイズ限定置換基で置換されている。実施形態において、L<sup>4</sup>が置換されている場合、L<sup>4</sup>は少なくとも1つの低級置換基で置換されている。

40

【0506】

実施形態において、R<sup>40</sup>は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル又は置換若しくは非置換のヘテロアルキルである。実施形態において、R<sup>40</sup>は、独立に、水素、置換（例えば、少なくとも1つの置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル（例えば、C<sub>1</sub>～C<sub>8</sub>、C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>、C<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>又はC<sub>1</sub>～C<sub>2</sub>）、又は置換（例えば、少なくとも1つの置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員、又は4～5員）である。

50

## 【0507】

実施形態において、置換  $R^{40}$ （例えば、置換アルキル、置換ヘテロアルキル、置換シクロアルキル、置換ヘテロシクロアルキル、置換アリール及び／又は置換ヘテロアリール）は、少なくとも1つの置換基、サイズ限定置換基、又は低級置換基で置換され、置換  $R^{40}$  が、置換基、サイズ限定置換基、及び低級置換基から選択される複数の基で置換されている場合、それぞれの置換基、サイズ限定置換基及び／又は低級置換基は任意選択的に異なっている。実施形態において、 $R^{40}$  が置換されている場合、 $R^{40}$  は少なくとも1つの置換基で置換されている。実施形態において、 $R^{40}$  が置換されている場合、 $R^{40}$  は少なくとも1つのサイズ限定置換基で置換されている。実施形態において、 $R^{40}$  が置換されている場合、 $R^{40}$  は少なくとも1つの低級置換基で置換されている。

10

## 【0508】

実施形態において、 $R^{41}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル又は置換若しくは非置換のヘテロアルキルである。実施形態において、 $R^{41}$  は、独立に、水素、置換（例えば、少なくとも1つの置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$  又は  $C_1 \sim C_2$ ）又は置換（例えば、少なくとも1つの置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員、又は4～5員）である。

## 【0509】

実施形態において、置換  $R^{41}$ （例えば、置換アルキル、置換ヘテロアルキル、置換シクロアルキル、置換ヘテロシクロアルキル、置換アリール及び／又は置換ヘテロアリール）は、少なくとも1つの置換基、サイズ限定置換基、又は低級置換基で置換され、置換  $R^{41}$  が、置換基、サイズ限定置換基、及び低級置換基から選択される複数の基で置換されている場合、それぞれの置換基、サイズ限定置換基及び／又は低級置換基は任意選択的に異なっている。実施形態において、 $R^{41}$  が置換されている場合、 $R^{41}$  は少なくとも1つの置換基で置換されている。実施形態において、 $R^{41}$  が置換されている場合、 $R^{41}$  は少なくとも1つのサイズ限定置換基で置換されている。実施形態において、 $R^{41}$  が置換されている場合、 $R^{41}$  は少なくとも1つの低級置換基で置換されている。

20

## 【0510】

実施形態において、 $R^{42}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル又は置換若しくは非置換のヘテロアルキルである。実施形態において、 $R^{42}$  は、独立に、水素、置換（例えば、少なくとも1つの置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$  又は  $C_1 \sim C_2$ ）又は置換（例えば、少なくとも1つの置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員、又は4～5員）である。

30

## 【0511】

実施形態において、置換  $R^{42}$ （例えば、置換アルキル、置換ヘテロアルキル、置換シクロアルキル、置換ヘテロシクロアルキル、置換アリール及び／又は置換ヘテロアリール）は、少なくとも1つの置換基、サイズ限定置換基、又は低級置換基で置換され、置換  $R^{42}$  が、置換基、サイズ限定置換基、及び低級置換基から選択される複数の基で置換されている場合、それぞれの置換基、サイズ限定置換基及び／又は低級置換基は任意選択的に異なっている。実施形態において、 $R^{42}$  が置換されている場合、 $R^{42}$  は少なくとも1つの置換基で置換されている。実施形態において、 $R^{42}$  が置換されている場合、 $R^{42}$  は少なくとも1つのサイズ限定置換基で置換されている。実施形態において、 $R^{42}$  が置換されている場合、 $R^{42}$  は少なくとも1つの低級置換基で置換されている。

40

## 【0512】

実施形態において、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$  及び  $R^{42}$  は、独立に、水素又は置換ヘテロアルキルである。実施形態において、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$  及び  $R^{42}$  は、独立に、水素又は  $-C(NH)NH_2$  である。実施形態において、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$  及び  $R^{42}$  の少なくとも2つは水

50

素であり、1つは $-C(NH)NH_2$ である。

【0513】

実施形態において、 $R^{1A}$ は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^{1A}$ は、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{1A}$ は、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。

10

20

【0514】

実施形態において、 $R^{1A}$ は、水素、置換若しくは非置換の $C_1 \sim C_6$ アルキル、置換若しくは非置換の2～6員のヘテロアルキル、置換若しくは非置換の $C_3 \sim C_6$ シクロアルキル、置換若しくは非置換の3～6員のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のフェニル、又は置換若しくは非置換の5～6員のヘテロアリールである。

【0515】

実施形態において、 $R^{1A}$ は、置換又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル若しくは $C_1 \sim C_4$ アルキル）である。実施形態において、 $R^{1A}$ は、置換アルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル若しくは $C_1 \sim C_4$ アルキル）である。実施形態において、 $R^{1A}$ は、非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル若しくは $C_1 \sim C_4$ アルキル）である。実施形態において、 $R^{1A}$ は、置換又は非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル若しくは2～4員のヘテロアルキル）である。実施形態において、 $R^{1A}$ は、置換されたヘテロアルキル（例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル若しくは2～4員のヘテロアルキル）である。実施形態において、 $R^{1A}$ は、非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル若しくは2～4員のヘテロアルキル）である。実施形態において、 $R^{1A}$ は、置換又は非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$ シクロアルキル若しくは $C_5 \sim C_6$ シクロアルキル）である。実施形態において、 $R^{1A}$ は、置換されたシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$ シクロアルキル若しくは $C_5 \sim C_6$ シクロアルキル）である。実施形態において、 $R^{1A}$ は、非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$ シクロアルキル若しくは $C_5 \sim C_6$ シクロアルキル）である。実施形態において、 $R^{1A}$ は、置換又は非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル若しくは5～6員のヘテロシクロアルキル）である。実施形態において、 $R^{1A}$ は、置換されたヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル若しくは5～6員のヘテロシクロアルキル）である。実施形態において、 $R^{1A}$ は、非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル若しくは5～6員のヘテロシクロアルキル）である。実施形態において、 $R^{1A}$ は、置換又は非置換のアリール（例えば、 $C_6$

30

40

50

～C<sub>10</sub>アリール、C<sub>10</sub>アリール若しくはフェニル)である。実施形態において、R<sup>1A</sup>は、置換されたアリール(例えば、C<sub>6</sub>～C<sub>10</sub>アリール、C<sub>10</sub>アリール若しくはフェニル)である。実施形態において、R<sup>1A</sup>は、非置換のアリール(例えば、C<sub>6</sub>～C<sub>10</sub>アリール、C<sub>10</sub>アリール若しくはフェニル)である。実施形態において、R<sup>1A</sup>は、置換又は非置換のヘテロアリール(例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール若しくは5～6員のヘテロアリール)である。実施形態において、R<sup>1A</sup>は、置換されたヘテロアリール(例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール若しくは5～6員のヘテロアリール)である。実施形態において、R<sup>1A</sup>は、非置換のヘテロアリール(例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール若しくは5～6員のヘテロアリール)である。

10

【0516】

実施形態において、R<sup>1A</sup>は、置換又は非置換のアリールである。一部の他の実施形態において、R<sup>1A</sup>は、置換又は非置換のフェニルである。さらなる一部の他の実施形態において、R<sup>1A</sup>は、置換又は非置換のアリールである。さらなる一部の他の実施形態において、R<sup>1A</sup>は、置換又は非置換のフェニル又はナフタレニルである。

【0517】

実施形態において、R<sup>2A</sup>は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル(例えば、C<sub>1</sub>～C<sub>8</sub>、C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>、C<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>若しくはC<sub>1</sub>～C<sub>2</sub>)、置換若しくは非置換のヘテロアルキル(例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員)、置換若しくは非置換のシクロアルキル(例えば、C<sub>3</sub>～C<sub>8</sub>、C<sub>3</sub>～C<sub>6</sub>、C<sub>4</sub>～C<sub>6</sub>若しくはC<sub>5</sub>～C<sub>6</sub>)、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル(例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員)、置換若しくは非置換のアリール(例えば、C<sub>6</sub>～C<sub>10</sub>若しくはフェニル)、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール(例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員)である。実施形態において、R<sup>2A</sup>は、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のアリール、又は置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、R<sup>2A</sup>は、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。

20

30

【0518】

実施形態において、R<sup>2A</sup>は、水素、置換若しくは非置換のC<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキル、置換若しくは非置換の2～6員のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のC<sub>3</sub>～C<sub>6</sub>シクロアルキル、置換若しくは非置換の3～6員のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のフェニル、又は置換若しくは非置換の5～6員のヘテロアリールである。

【0519】

実施形態において、R<sup>2A</sup>は、置換又は非置換のアルキル(例えば、C<sub>1</sub>～C<sub>8</sub>アルキル、C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキル若しくはC<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>アルキル)である。実施形態において、R<sup>2A</sup>は、置換アルキル(例えば、C<sub>1</sub>～C<sub>8</sub>アルキル、C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキル若しくはC<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>アルキル)である。実施形態において、R<sup>2A</sup>は、非置換のアルキル(例えば、C<sub>1</sub>～C<sub>8</sub>アルキル、C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキル若しくはC<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>アルキル)である。実施形態において、R<sup>2A</sup>は、置換又は非置換のヘテロアルキル(例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル若しくは2～4員のヘテロアルキル)である。実施形態において、R<sup>2A</sup>は、置換されたヘテロアルキル(例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル若しくは2～4員のヘテロアルキル)である。実施形態において、R<sup>2A</sup>は、非置換のヘテロアルキル(例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員の

40

50

ヘテロアルキル若しくは2～4員のヘテロアルキル)である。実施形態において、 $R^2A$ は、置換又は非置換のシクロアルキル(例えば、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$ シクロアルキル若しくは $C_5 \sim C_6$ シクロアルキル)である。実施形態において、 $R^2A$ は、置換されたシクロアルキル(例えば、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$ シクロアルキル若しくは $C_5 \sim C_6$ シクロアルキル)である。実施形態において、 $R^2A$ は、非置換のシクロアルキル(例えば、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$ シクロアルキル若しくは $C_5 \sim C_6$ シクロアルキル)である。実施形態において、 $R^2A$ は、置換又は非置換のヘテロシクロアルキル(例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル若しくは5～6員のヘテロシクロアルキル)である。実施形態において、 $R^2A$ は、置換されたヘテロシクロアルキル(例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル若しくは5～6員のヘテロシクロアルキル)である。実施形態において、 $R^2A$ は、非置換のヘテロシクロアルキル(例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル若しくは5～6員のヘテロシクロアルキル)である。実施形態において、 $R^2A$ は、置換又は非置換のアリール(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、 $C_{10}$ アリール若しくはフェニル)である。実施形態において、 $R^2A$ は、置換されたアリール(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、 $C_{10}$ アリール若しくはフェニル)である。実施形態において、 $R^2A$ は、非置換のアリール(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、 $C_{10}$ アリール若しくはフェニル)である。実施形態において、 $R^2A$ は、置換又は非置換のヘテロアリール(例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール若しくは5～6員のヘテロアリール)である。実施形態において、 $R^2A$ は、置換されたヘテロアリール(例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール若しくは5～6員のヘテロアリール)である。実施形態において、 $R^2A$ は、非置換のヘテロアリール(例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール若しくは5～6員のヘテロアリール)である。

【0520】

実施形態において、 $R^3A$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^3A$ は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル(例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ )、置換若しくは非置換のヘテロアルキル(例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員)、置換若しくは非置換のシクロアルキル(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ )、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル(例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員)、置換若しくは非置換のアリール(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル)、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール(例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員)である。実施形態において、 $R^3A$ は、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のアリール、又は置換(例えば、置換基

、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^3A$ は、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。

【0521】

実施形態において、 $R^3A$ は、水素、置換若しくは非置換の $C_1 \sim C_6$ アルキル、置換若しくは非置換の2～6員のヘテロアルキル、置換若しくは非置換の $C_3 \sim C_6$ シクロアルキル、置換若しくは非置換の3～6員のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のフェニル、又は置換若しくは非置換の5～6員のヘテロアリールである。

【0522】

実施形態において、 $R^3A$ は、置換又は非置換のアリールである。一部の他の実施形態において、 $R^3A$ は、置換又は非置換のフェニルである。さらなる一部の他の実施形態において、 $R^3A$ は、置換又は非置換のアリールである。さらなる一部の他の実施形態において、 $R^3A$ は、置換又は非置換のフェニル又はナフタレニルである。

【0523】

実施形態において、 $R^3A$ は、置換又は非置換のアルキル(例えば、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル若しくは $C_1 \sim C_4$ アルキル)である。実施形態において、 $R^3A$ は、置換アルキル(例えば、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル若しくは $C_1 \sim C_4$ アルキル)である。実施形態において、 $R^3A$ は、非置換のアルキル(例えば、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル若しくは $C_1 \sim C_4$ アルキル)である。実施形態において、 $R^3A$ は、置換又は非置換のヘテロアルキル(例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル若しくは2～4員のヘテロアルキル)である。実施形態において、 $R^3A$ は、置換されたヘテロアルキル(例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル若しくは2～4員のヘテロアルキル)である。実施形態において、 $R^3A$ は、非置換のヘテロアルキル(例えば、2～8員のヘテロアルキル、2～6員のヘテロアルキル若しくは2～4員のヘテロアルキル)である。実施形態において、 $R^3A$ は、置換又は非置換のシクロアルキル(例えば、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$ シクロアルキル若しくは $C_5 \sim C_6$ シクロアルキル)である。実施形態において、 $R^3A$ は、置換されたシクロアルキル(例えば、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$ シクロアルキル若しくは $C_5 \sim C_6$ シクロアルキル)である。実施形態において、 $R^3A$ は、非置換のシクロアルキル(例えば、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_3 \sim C_6$ シクロアルキル若しくは $C_5 \sim C_6$ シクロアルキル)である。実施形態において、 $R^3A$ は、置換又は非置換のヘテロシクロアルキル(例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル若しくは5～6員のヘテロシクロアルキル)である。実施形態において、 $R^3A$ は、置換されたヘテロシクロアルキル(例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル若しくは5～6員のヘテロシクロアルキル)である。実施形態において、 $R^3A$ は、非置換のヘテロシクロアルキル(例えば、3～8員のヘテロシクロアルキル、3～6員のヘテロシクロアルキル若しくは5～6員のヘテロシクロアルキル)である。実施形態において、 $R^3A$ は、置換又は非置換のアリール(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、 $C_{10}$ アリール若しくはフェニル)である。実施形態において、 $R^3A$ は、置換されたアリール(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、 $C_{10}$ アリール若しくはフェニル)である。実施形態において、 $R^3A$ は、非置換のアリール(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、 $C_{10}$ アリール若しくはフェニル)である。実施形態において、 $R^3A$ は、置換又は非置換のヘテロアリール(例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール若しくは5～6員のヘテロアリール)である。実施形態において、 $R^3A$ は、置換されたヘテロアリール(例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール若しくは5～6員のヘテロアリール)である。実施形態において、 $R^3A$ は、非置換のヘテロアリール(例えば、5～10員のヘテロアリール、5～9員のヘテロアリール若しくは5～6員のヘテロアリール)である。

【0524】

本明細書で提供される式 I I、I I I、X I V - C、及び X V - C、並びにその実施形態では、 $L^1$  は置換又は非置換の  $C_1 \sim C_3$  アルキレンでもよい。実施形態において、 $L^1$  は置換又は非置換のメチレンである。実施形態において、 $L^1$  は置換若しくは非置換の  $C_1 \sim C_6$  アルキレン、又は置換若しくは非置換の 2 ～ 6 員のヘテロアルキレンである。実施形態において、 $L^1$  は置換若しくは非置換の  $C_1 \sim C_3$  アルキレン、又は置換若しくは非置換の 2 ～ 3 員のヘテロアルキレンである。

【0525】

実施形態において、 $L^1$  は、置換若しくは非置換のアルキレン（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$  若しくは  $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン（例えば、2 ～ 8 員、2 ～ 6 員、4 ～ 6 員、2 ～ 3 員若しくは 4 ～ 5 員）、置換若しくは非置換のシクロアルキレン（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$  若しくは  $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン（例えば、3 ～ 8 員、3 ～ 6 員、4 ～ 6 員、4 ～ 5 員若しくは 5 ～ 6 員）、置換若しくは非置換のアリーレン（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  若しくはフェニレン）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレン（例えば、5 ～ 10 員、5 ～ 9 員若しくは 5 ～ 6 員）である。実施形態において、 $L^1$  は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリーレン、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリーレンである。実施形態において、 $L^1$  は、非置換のアルキレン、非置換のヘテロアルキレン、非置換のシクロアルキレン、非置換のヘテロシクロアルキレン、非置換のアリーレン又は非置換のヘテロアリーレンである。実施形態において、 $L^1$  は、非置換のアルキレン（例えば、 $C_1 \sim C_6$  アルキレン）である。実施形態において、 $L^1$  は結合である。

【0526】

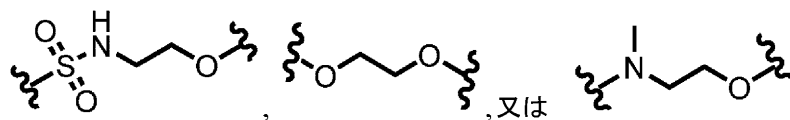
実施形態において、 $L^1$  は、 $-CH_2-O-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンである。実施形態において、 $L^1$  は  $-CH_2-O-$  である。

【0527】

実施形態において、 $L^1$  は、 $-CH_2-O-$ 、

【0528】

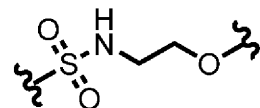
【化102】



である。実施形態において、 $L^1$  は  $-CH_2-O-$  である。実施形態において、 $L^1$  は

【0529】

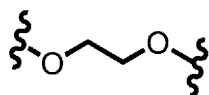
【化103】



である。実施形態において、 $L^1$  は

【0530】

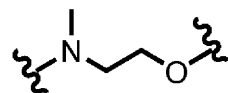
【化104】



である。実施形態において、 $L^1$ は

【0531】

【化105】



10

である。

【0532】

本明細書で提供される式 (I I)、(I I I)、(X I V - C) 及び (X V - C) 並びにその実施形態では、 $L^2$ は置換又は非置換の $C_1 \sim C_3$ アルキレンでもよい。実施形態において、 $L^2$ は置換又は非置換のメチレンである。実施形態において、 $L^2$ は置換若しくは非置換の $C_1 \sim C_6$ アルキレン、又は置換若しくは非置換の2～6員のヘテロアルキレンである。実施形態において、 $L^2$ は置換若しくは非置換の $C_1 \sim C_3$ アルキレン、又は置換若しくは非置換の2～3員のヘテロアルキレンである。

20

【0533】

実施形態において、 $L^2$ は、置換若しくは非置換のアルキレン（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキレン（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリーレン（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニレン）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレン（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $L^2$ は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリーレン又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリーレンである。実施形態において、 $L^2$ は、非置換のアルキレン、非置換のヘテロアルキレン、非置換のシクロアルキレン、非置換のヘテロシクロアルキレン、非置換のアリーレン又は非置換のヘテロアリーレンである。実施形態において、 $L^2$ は、非置換のアルキレン（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキレン）である。実施形態において、 $L^2$ は結合である。

30

40

【0534】

本明細書で提供される式 (I I)、(I I I)、(X I V - C) 及び (X V - C) 並びにその実施形態では、 $L^4$ は置換又は非置換の $C_1 \sim C_3$ アルキレンでもよい。実施形態において、 $L^4$ は置換又は非置換のメチレンである。実施形態において、 $L^4$ は置換若しくは非置換の $C_1 \sim C_6$ アルキレン、又は置換若しくは非置換の2～6員のヘテロアルキレンである。実施形態において、 $L^4$ は置換若しくは非置換の $C_1 \sim C_3$ アルキレン、又は置換若しくは非置換の2～3員のヘテロアルキレンである。

【0535】

50

本明細書で提供される  $L^4$  は、脂肪族リンカー、ペプチドリナー又はペグ化リンカーでもよい。実施形態において、 $L^4$  は、置換若しくは非置換のアルキレン（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$  若しくは  $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキレン（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$  若しくは  $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリーレン（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  若しくはフェニレン）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレン（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $L^4$  は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリーレン、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリーレンである。実施形態において、 $L^4$  は、非置換のアルキレン、非置換のヘテロアルキレン、非置換のシクロアルキレン、非置換のヘテロシクロアルキレン、非置換のアリーレン又は非置換のヘテロアリーレンである。実施形態において、 $L^4$  は、非置換のアルキレン（例えば、 $C_1 \sim C_6$  アルキレン）である。実施形態において、 $L^4$  は結合である。

10

20

【0536】

本明細書で提供される式 (II)、(III)、(XIV-C) 及び (XV-C) 並びにその実施形態では、 $z_2$  は、2～90（例えば、5～90、10～90又は20～90）、2～80（例えば、5～80、10～80又は20～80）、2～70（例えば、5～70、10～70又は20～70）、2～50（例えば、5～50、10～50又は20～50）又は2～25の整数でもよい。実施形態において、 $z_1$  及び  $z_3$  は、独立に、0～90（例えば、5～90、10～90又は20～90）、0～80（例えば、5～80、10～80又は20～80）、0～70（例えば、5～70、10～70又は20～70）、0～50（例えば、5～50、10～50又は20～50）又は2～25の整数である。実施形態において、 $z_1$  及び  $z_3$  は、独立に、2～90（例えば、5～90、10～90又は20～90）、2～80（例えば、5～80、10～80又は20～80）、2～70（例えば、5～70、10～70又は20～70）、2～50（例えば、5～50、10～50又は20～50）又は2～25の整数である。実施形態において、 $z_4$  は、独立に、1～90（例えば、5～90、10～90又は20～90）、1～80（例えば、5～80、10～80又は20～80）、1～70（例えば、5～70、10～70又は20～70）、1～50（例えば、5～50、10～50又は20～50）又は2～25の整数である。実施形態において、 $z_4$  は、独立に、2～90（例えば、5～90、10～90又は20～90）、2～80（例えば、5～80、10～80又は20～80）、2～70（例えば、5～70、10～70又は20～70）、2～50（例えば、5～50、10～50又は20～50）又は2～25の整数である。

30

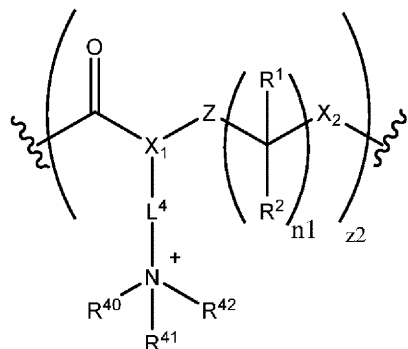
40

【0537】

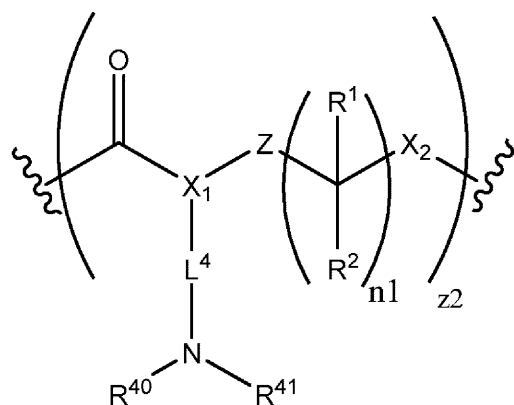
実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは式：

【0538】

## 【化 1 0 6】



(XVI-C)又は



(XVII-C)

の構造を有する。

## 【0539】

式 (XVI-C) 又は (XVII-C) において、 $X^1$  は、結合、 $-C(R^5)(R^6)-$ 、 $-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ 、 $-O-C(R^5)(R^6)-$ 、又は  $-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$  である。 $X^2$  は  $-O-$  又は  $-S-$  であり； $R^1$  及び  $R^2$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり； $L^4$  は、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキレンである。 $R^{40}$ 、 $R^{41}$  及び  $R^{42}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル又は置換若しくは非置換のヘテロアルキルであり； $Z$  は、 $-S-$ 、 $-S^+R^{13}-$ 、 $-NR^{13}-$ 、又は  $-N^+(R^{13})(H)-$  であり； $R^{13}$  は、水素、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $=O$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり； $n1$  は 0～50 の整数であり； $z2$  は 2～100 の整数であり； $z5$  は 1～10 の整数である。

## 【0540】

式 (II)、(III)、(XIV-C)、(XV-C)、(XVI-C) 及び (XVII-C) では、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$  及び  $R^8$  は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$  又は  $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員、又は

4～5員)、置換若しくは非置換のシクロアルキル(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 又は $C_5 \sim C_6$ )、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル(例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員、又は5～6員)、置換若しくは非置換のアリール(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 又はフェニル)又は置換若しくは非置換のヘテロアリール(例えば、5～10員、5～9員、又は5～6員)でもよい。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 及び $R^8$ は、独立に、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された)若しくは非置換のアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された)若しくは非置換のシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された)若しくは非置換のアリール、又は置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 及び $R^8$ は、独立に、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール、又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 及び $R^8$ は、独立に、水素又は非置換のアルキル(例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル)である。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 及び $R^8$ は水素である。

10

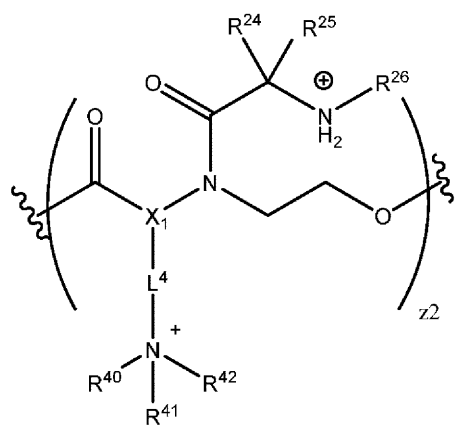
【0541】

実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは式：

20

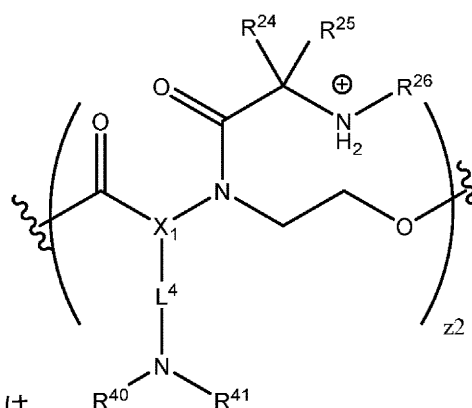
【0542】

【化107】



(XIX-C)

(XVIII-C) 又は



30

を有し、式中、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$ 及び $R^{26}$ は、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり； $z_2$ は1～50の整数である。

40

【0543】

実施形態において、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$ 及び $R^{26}$ は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル(例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ )、置換若しくは非置換のヘテロアルキル(例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員)、置換若しくは非置換のシクロアルキル(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ )、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル(例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員)、置換若しくは非置換のアリール(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル)、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール(例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員)である。実施形態において、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$ 及び $R^{26}$ は、独立に、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しく

50

は低級置換基で置換された)若しくは非置換のアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のアリール、又は置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{1 \cdot 1}$ 、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$ 及び $R^{26}$ は、独立に、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$ 及び $R^{26}$ は、独立に、水素又は非置換のアルキル(例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル)である。実施形態において、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$ 及び $R^{26}$ は、独立に、水素である。

10

#### 【0544】

本明細書で提供される式(II)、(III)、(XIV-C)、(XV-C)、(XVI-C)、(XVII-C)、(XVIII-C)及び(XIX-C)、並びにその実施形態では、 $R^1$ 、 $R^{1A}$ 、 $R^{2A}$ 、 $R^{3A}$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 、 $R^{19}$ 、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$ 、 $R^{26}$ 、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$ 、 $R^{42}$ 、 $R^{201}$ 、 $R^{202}$ 及び $R^{203}$ は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル(例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 又は $C_1 \sim C_2$ )、置換若しくは非置換のヘテロアルキル(例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員、又は4～5員)、置換若しくは非置換のシクロアルキル(例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 又は $C_5 \sim C_6$ )、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル(例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員、又は5～6員)、置換若しくは非置換のアリール(例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 又はフェニル)、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール(例えば、5～10員、5～9員、又は5～6員)でもよい。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^{1A}$ 、 $R^{2A}$ 、 $R^{3A}$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 、 $R^{19}$ 、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$ 、 $R^{26}$ 、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$ 、 $R^{42}$ 、 $R^{201}$ 、 $R^{202}$ 及び $R^{203}$ は、独立に、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された)若しくは非置換のアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された)若しくは非置換のシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された)若しくは非置換のアリール、又は置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^{1A}$ 、 $R^{2A}$ 、 $R^{3A}$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 、 $R^{19}$ 、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$ 、 $R^{26}$ 、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$ 、 $R^{42}$ 、 $R^{201}$ 、 $R^{202}$ 及び $R^{203}$ は、独立に、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール、又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^{1A}$ 、 $R^{2A}$ 、 $R^{3A}$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 、 $R^{19}$ 、 $R^{24}$ 、 $R^{25}$ 、 $R^{26}$ 、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$ 、 $R^{42}$ 、 $R^{201}$ 、 $R^{202}$ 及び $R^{203}$ は、独立に、水素又は非置換のアルキル(例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル)である。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^{1A}$ 、 $R^{2A}$ 、 $R^{3A}$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 、 $R^{19}$ 、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$ 、 $R^{42}$ 、 $R^{201}$ 、 $R^{202}$ 及び $R^{203}$ は水素である。

20

30

40

#### 【0545】

本明細書で提供される式(II)、(III)、(XIV-C)、(XV-C)、(XVI-C)、(XVII-C)、(XVIII-C)及び(XIX-C)、並びにその実施形態では、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$ 及び $R^{42}$ は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル(例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 又は $C_1 \sim C_2$ )、又は置換若しくは非置換の

50

ヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員、又は4～5員）でもよい。実施形態において、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$ 及び $R^{42}$ は、独立に、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基又は低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキルである。実施形態において、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$ 及び $R^{42}$ は、独立に、非置換アルキル又は非置換のヘテロアルキルである。実施形態において、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$ 及び $R^{42}$ は、独立に、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル）である。実施形態において、 $R^{40}$ 、 $R^{41}$ 及び $R^{42}$ は水素である。

#### 【0546】

実施形態において、Zは求核性部分である。実施形態において、Zは、 $-S-$ 、 $-OR^{13}-$ 、 $-S^+R^{13}-$ 、 $-NR^{13}-$ 、又は $-N^+(R^{13})(H)-$ であり、式中、 $R^{13}$ は、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、Zは $-S-$ である。実施形態において、Zは $-S^+R^{13}-$ である。実施形態において、Zは $-NR^{13}-$ である。実施形態において、Zは $-N^+(R^{13})(H)-$ である。実施形態において、Zは $-S^+H-$ である。実施形態において、Zは $-NH-$ である。実施形態において、Zは $-N^+H_2-$ である。実施形態において、Zは $-OH-$ である。実施形態において、Zは $-N^+(R^{13})(H)-$ であり $R^{13}$ は水素である。

#### 【0547】

実施形態において、 $R^{13}$ は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^{13}$ は、独立に、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{13}$ は、独立に、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{13}$ は、独立に、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル）である。実施形態において、 $R^{13}$ は水素である。実施形態において、 $R^{13}$ は $-NH_3^+$ である。実施形態において、 $R^{13}$ は $-NH_2$ である。

#### 【0548】

実施形態において、 $R^{13A}$ は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^{13A}$ は、独立

に、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{13A}$ は、独立に、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{1A3}$ は、独立に、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル）である。実施形態において、 $R^{13A}$ は水素である。実施形態において、 $R^{13A}$ は $-NH_3^+$ である。実施形態において、 $R^{13A}$ は $-NH_2$ である。

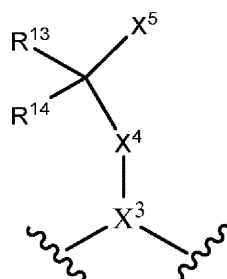
10

【0549】

実施形態において、Zは、

【0550】

【化108】



20

であり、式中、 $X^3$ は、 $-C(R^{15})-$ 又は $-N-$ であり； $X^4$ は、結合、 $-C(O)-$ 、 $-P(O)(OR^{16})_2-$ 、 $-S(O)(OR^{17})_2-$ 、 $-C(R^{16})(R^{17})-$ 又は $-C(R^{16})(R^{17})-C(R^{18})(R^{19})-$ であり； $X^5$ は求核性部分であり、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $X^3$ は $-CH$ である。

30

【0551】

実施形態において、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基

40

50

で置換された)若しくは非置換のアリール、又は置換(例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された)若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{13}$ 、 $R^{14}$ 、 $R^{15}$ 、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 及び $R^{19}$ は、独立に、水素又は非置換のアルキル(例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル)である。

【0552】

実施形態において、 $X^5$ は $-N^+(R^{13})(H)-$ であり、式中、 $R^{13}$ は、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

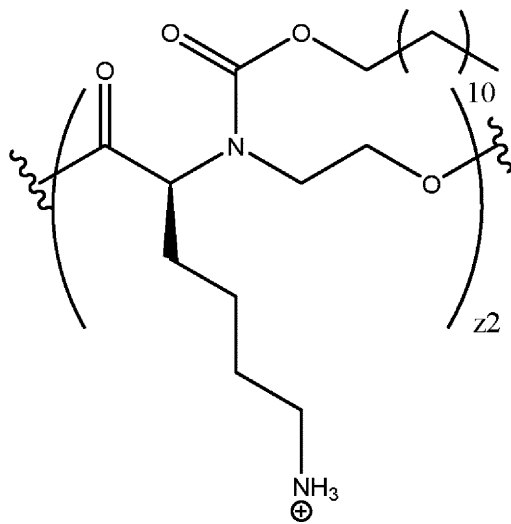
10

【0553】

実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは式( $XX-C$ ):

【0554】

【化109】



(XX-C)

20

30

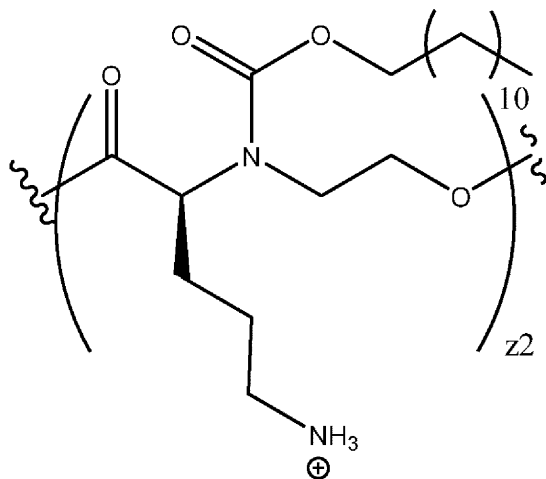
を有し、式中、 $z_2$ は本明細書で定義される通りである。

【0555】

実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは式( $XXb-C$ ):

【0556】

【化110】



(XXb-C)

40

50

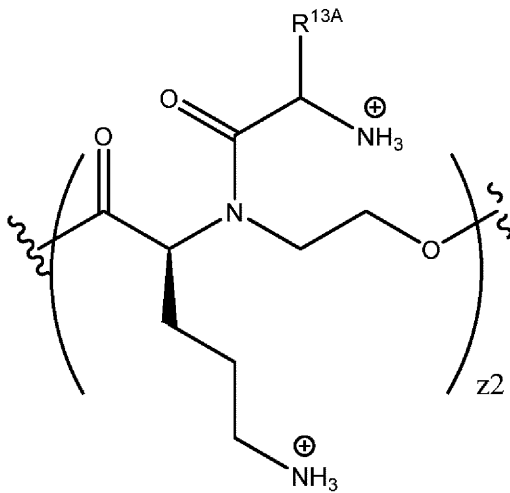
を有し、式中、 $z2$  は本明細書で定義される通りである。

【0557】

実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは式（XXI-C）：

【0558】

【化111】



(XXI)-C

10

を有し、式中、 $z2$  及び  $R^{13A}$  は本明細書で定義される通りである。

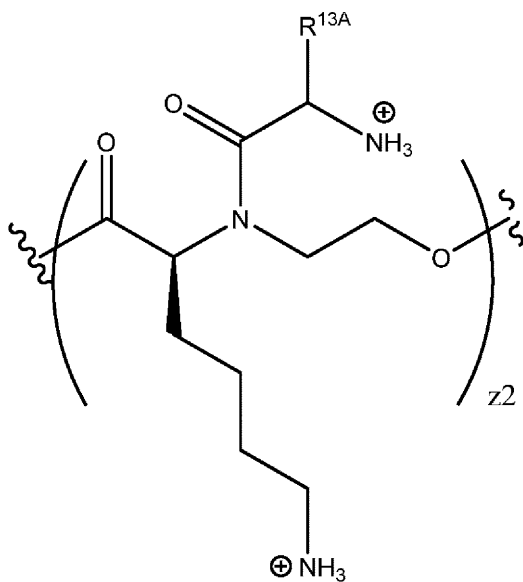
20

【0559】

実施形態において、pH感受性崩壊ドメインは式（XXIa-C）：

【0560】

【化112】



(XXIa-C)

30

40

を有し、式中、 $z2$  及び  $R^{13A}$  は本明細書で定義される通りである。

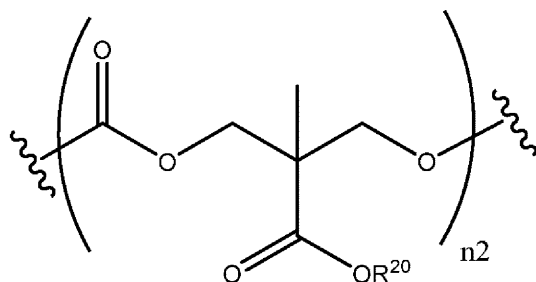
【0561】

実施形態において、親油性ポリマードメイン（ $LP^1$  又は  $LP^2$ ）は式：

【0562】

50

## 【化 1 1 3】



10

を有し、式中、 $n2$  は 1 ～ 100 の整数であり； $R^{20}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

## 【0563】

実施形態において、 $R^{20}$  は、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$  若しくは  $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2 ～ 8 員、2 ～ 6 員、4 ～ 6 員、2 ～ 3 員若しくは 4 ～ 5 員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$  若しくは  $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3 ～ 8 員、3 ～ 6 員、4 ～ 6 員、4 ～ 5 員若しくは 5 ～ 6 員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5 ～ 10 員、5 ～ 9 員若しくは 5 ～ 6 員）である。実施形態において、 $R^{20}$  は、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{20}$  は、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{20}$  は、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$  アルキル）である。

20

30

## 【0564】

実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_1 \sim C_{30}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_1 \sim C_{20}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_8 \sim C_{30}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_8 \sim C_{20}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_9 \sim C_{20}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_9 \sim C_{18}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{18}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{17}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{16}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{15}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{14}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{13}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{12}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{11}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{10}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_9$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_8$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_7$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_6$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_5$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_4$  アルキルである。実施

40

50

形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_3$  アルキルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_2$  アルキルである。

【0565】

実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_1 \sim C_{30}$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_1 \sim C_{20}$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_8 \sim C_{30}$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_8 \sim C_{20}$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_9 \sim C_{20}$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_9 \sim C_{18}$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{18}$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{17}$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{16}$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{15}$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{14}$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{13}$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{12}$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{11}$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_{10}$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_9$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_8$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_7$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_6$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_5$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_4$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_3$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{20}$  は非置換の  $C_2$  アルケニルである。

10

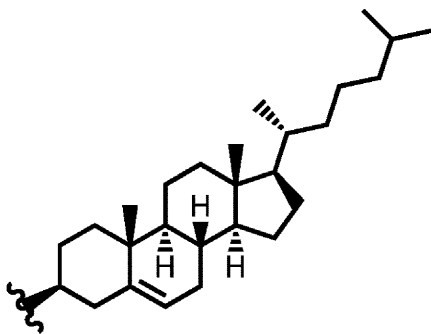
20

【0566】

実施形態において、 $R^{20}$  はステアリル部分（例えば、非置換  $C_{18}$  アルキル）である。実施形態において、 $R^{20}$  はオレイル部分（例えば、非置換  $C_{18}$  アルケニル）である。実施形態において、 $R^{20}$  はリノレイル部分（例えば、非置換  $C_{18}$  アルケニル）である。実施形態において、 $R^{20}$  はドデシル部分（例えば、非置換  $C_{12}$  アルキル）である。実施形態において、 $R^{20}$  はノネニル部分（例えば、非置換  $C_9$  アルケニル）である。実施形態において、 $R^{20}$  は、

【0567】

【化114】



30

である。

40

【0568】

実施形態において、 $R^1$  及び  $R^2$  は、独立に、水素又は置換若しくは非置換のアルキルである。

【0569】

実施形態において、 $n_1$  は2である。

【0570】

実施形態において、 $X_2$  は  $-O-$  である。

【0571】

実施形態において、 $z_1$  又は  $z_3$  は独立に  $10 \sim 40$  の整数である。

【0572】

50

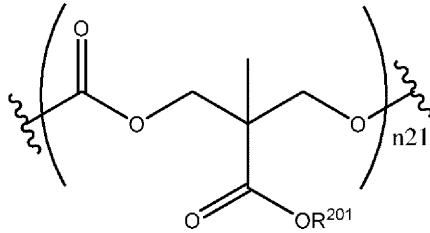
実施形態において、 $z_2$  は独立に 3 ～ 20 の整数である。

【0573】

実施形態において、 $LP^1$  は式：

【0574】

【化115】



10

を有し、式中、 $n_{21}$  は 1 ～ 100 の整数である。

【0575】

$R^{201}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $n_{21}$  は 10 ～ 40 である。実施形態において、 $R^{201}$  は非置換の  $C_{12}$  アルキルである。

20

【0576】

実施形態において、 $R^{201}$  は、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$  若しくは  $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2 ～ 8 員、2 ～ 6 員、4 ～ 6 員、2 ～ 3 員若しくは 4 ～ 5 員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$  若しくは  $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3 ～ 8 員、3 ～ 6 員、4 ～ 6 員、4 ～ 5 員若しくは 5 ～ 6 員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5 ～ 10 員、5 ～ 9 員若しくは 5 ～ 6 員）である。実施形態において、 $R^{201}$  は、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{201}$  は、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{201}$  は、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$  アルキル）である。

30

40

【0577】

実施形態において、 $R^{201}$  は非置換の  $C_1 \sim C_{30}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$  は非置換の  $C_1 \sim C_{20}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$  は非置換の  $C_8 \sim C_{30}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$  は非置換の  $C_8 \sim C_{20}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$  は非置換の  $C_9 \sim C_{20}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$  は非置換の  $C_9 \sim C_{18}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$  は非置換の  $C_{18}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$  は非置換の  $C_{17}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$  は非置換の  $C_{16}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$  は非置換の  $C_{15}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$  は非置換の  $C_{14}$  アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$  は非置換の  $C_{13}$  アルキルで

50

ある。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_{12}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_{11}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_{10}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_9$ アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_8$ アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_7$ アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_6$ アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_5$ アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_4$ アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_3$ アルキルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_2$ アルキルである。

#### 【0578】

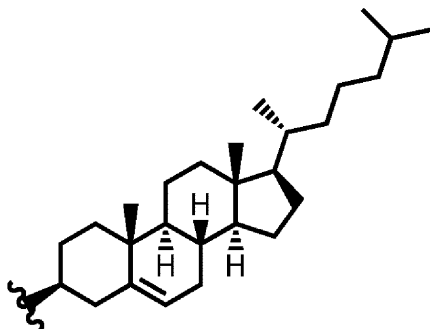
実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_1 \sim C_{30}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_1 \sim C_{20}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_8 \sim C_{30}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_8 \sim C_{20}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_9 \sim C_{20}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_9 \sim C_{18}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_{18}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_{17}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_{16}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_{15}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_{14}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_{13}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_{12}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_{11}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_{10}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_9$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_8$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_7$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_6$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_5$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_4$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_3$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{201}$ は非置換の $C_2$ アルケニルである。

#### 【0579】

実施形態において、 $R^{201}$ はステアリル部分（例えば、非置換 $C_{18}$ アルキル）である。実施形態において、 $R^{201}$ はオレイル部分（例えば、非置換 $C_{18}$ アルケニル）である。実施形態において、 $R^{201}$ はリノレイル部分（例えば、非置換 $C_{18}$ アルケニル）である。実施形態において、 $R^{201}$ はドデシル部分（例えば、非置換 $C_{12}$ アルキル）である。実施形態において、 $R^{201}$ はノネニル部分（例えば、非置換 $C_9$ アルケニル）である。実施形態において、 $R^{201}$ は、

#### 【0580】

#### 【化116】



である。

#### 【0581】

実施形態において、 $n_{21}$ は5であり $R^{201}$ は非置換の $C_{18}$ アルケニルである。実施形態において、 $n_{21}$ は6であり $R^{201}$ は非置換の $C_{18}$ アルケニルである。実施形

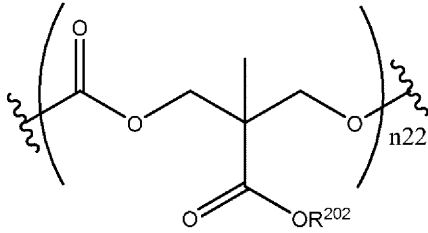
態において、非置換  $C_{18}$  アルケニルはオレイルである。

【0582】

実施形態において、 $LP^2$  は式：

【0583】

【化117】



10

を有する。 $n_{22}$ は1～100の整数である。 $R^{202}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

【0584】

実施形態において、 $R^{202}$ は、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^{202}$ は、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{202}$ は、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{202}$ は、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル）である。

20

30

【0585】

実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_1 \sim C_{30}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_1 \sim C_{20}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_8 \sim C_{30}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_8 \sim C_{20}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_9 \sim C_{20}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_9 \sim C_{18}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{18}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{17}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{16}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{15}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{14}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{13}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{12}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{11}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{10}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_9$ アルキルである。実施形

40

50

態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_8$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_7$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_6$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_5$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_4$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_3$ アルキルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_2$ アルキルである。

【0586】

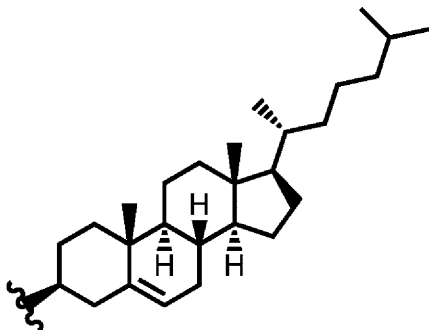
実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_1 \sim C_{30}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_1 \sim C_{20}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_8 \sim C_{30}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_8 \sim C_{20}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_9 \sim C_{20}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_9 \sim C_{18}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{18}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{17}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{16}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{15}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{14}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{13}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{12}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{11}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{10}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_9$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_8$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_7$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_6$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_5$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_4$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_3$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_2$ アルケニルである。

【0587】

実施形態において、 $R^{202}$ はステアリル部分（例えば、非置換 $C_{18}$ アルキル）である。実施形態において、 $R^{202}$ はオレイル部分（例えば、非置換 $C_{18}$ アルケニル）である。実施形態において、 $R^{202}$ はリノレイル部分（例えば、非置換 $C_{18}$ アルケニル）である。実施形態において、 $R^{202}$ はドデシル部分（例えば、非置換 $C_{12}$ アルキル）である。実施形態において、 $R^{202}$ はノネニル部分（例えば、非置換 $C_9$ アルケニル）である。実施形態において、 $R^{202}$ は、

【0588】

【化118】



である。

【0589】

実施形態において、 $n_{22}$ は10～35である。実施形態において、 $R^{202}$ は非置換の $C_{12}$ アルケニルである。

【0590】

実施形態において、 $n_{22}$ は5であり、 $R^{202}$ は非置換の $C_9$ アルケニルである。実施形態において、 $n_{22}$ は6であり、 $R^{202}$ は非置換の $C_9$ アルケニルである。実施形

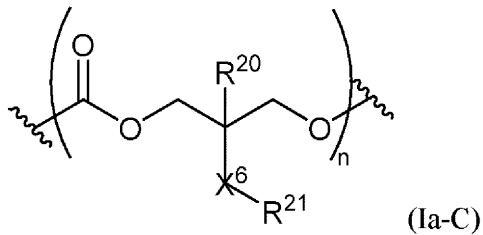
態において、非置換  $C_9$  アルケニルはノネニルである。

【0591】

実施形態において、親油性ポリマードメインは、以下の式 (Ia-C) :

【0592】

【化119】



10

の化合物であり、式中、 $X^6$  は、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-CO_2-$ 、 $-CONH-$ 、 $-O_2C-$ 、又は  $-NHCO-$  でもよく、 $R^{20}$  は、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $R^{21}$  は、水素、置換若しくは非置換のアルキルであり、 $n$  は 1 ~ 100 の整数である。実施形態において、 $R^{20}$  はオリゴグリコール部分である。

20

【0593】

実施形態において、 $R^{20}$  は、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$  若しくは  $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2 ~ 8 員、2 ~ 6 員、4 ~ 6 員、2 ~ 3 員若しくは 4 ~ 5 員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$  若しくは  $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3 ~ 8 員、3 ~ 6 員、4 ~ 6 員、4 ~ 5 員若しくは 5 ~ 6 員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5 ~ 10 員、5 ~ 9 員若しくは 5 ~ 6 員）である。実施形態において、 $R^{20}$  は、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{20}$  は、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$  アルキル）である。

30

40

【0594】

実施形態において、 $R^{21}$  は、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$  若しくは  $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2 ~ 8 員、2 ~ 6 員、4 ~ 6 員、2 ~ 3 員若しくは 4 ~ 5 員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$  若しくは  $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3 ~ 8 員、3 ~ 6 員、4 ~ 6 員、4 ~ 5 員若しくは 5 ~ 6 員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$  若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5 ~ 10 員、5 ~ 9 員若しくは 5 ~ 6 員）である。実施形態において、 $R^{21}$  は、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、

50

置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{21}$ は、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{21}$ は、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル）である。

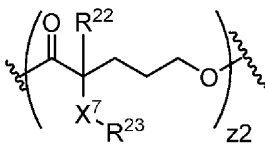
10

【0595】

実施形態において、親油性ポリマーは構造：

【0596】

【化120】



を有し、式中、 $X^7$ は、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-CO_2-$ 、 $-CONH-$ 、 $-O_2C-$ 、又は $-NHCO-$ であり、 $R^{22}$ は、水素又は置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $R^{23}$ は、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{22}$ はオリゴグリコール部分である。

20

【0597】

実施形態において、 $R^{22}$ は、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^{22}$ は、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{22}$ は、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{22}$ は、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル）である。

30

40

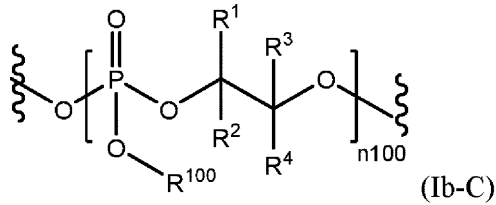
【0598】

実施形態において、親油性ポリマードメイン（例えば、 $LP^1$ 、 $LP^2$ ）は式：

【0599】

50

## 【化 1 2 1】



を有し、式中、 $R^{100}$ は、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ は、水素、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $n100$ は、2又は本明細書で定義される通りのそれよりも大きい整数である。

## 【0600】

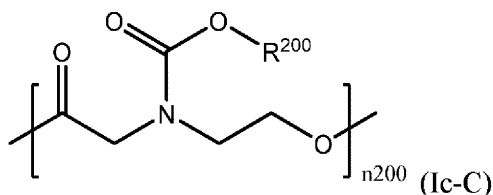
実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ は、独立に、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ は、独立に、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ は、独立に、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル）である。実施形態において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ は水素である。

## 【0601】

実施形態において、親油性ポリマードメインは式（Ic-C）：

## 【0602】

## 【化 1 2 2】

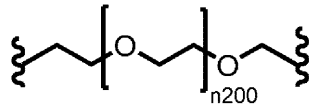


を有し、式中、 $R^{200}$ は、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールで

あり、 $n_{200}$ は2又はそれよりも大きい整数である。実施形態において、 $R^{200}$ はオリゴグリコール部分である。実施形態において、 $R^{200}$ はアミン末端オリゴグリコール部分である。用語「オリゴグリコール部分」とは、

【0603】

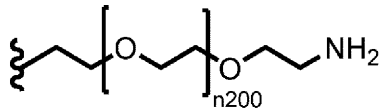
【化123】



のことであり、「アミン末端オリゴグリコール部分」とは、

【0604】

【化124】



のことであり、式中、 $n_{200}$ は2又はそれよりも大きい整数である。

【0605】

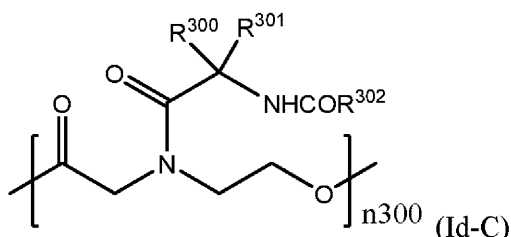
実施形態において、 $R^{200}$ は、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^{200}$ は、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{200}$ は、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{200}$ は、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル）である。実施形態において、 $R^{200}$ は水素である。

【0606】

実施形態において、親油性ポリマードメインは式：

【0607】

【化125】



10

20

30

40

50

を有し、式中、Rは、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、 $R^{300}$ 及び $R^{301}$ は、独立に、水素又は置換若しくは非置換のアルキルであり、 $n^{300}$ は本明細書に定義されている通りである。実施形態において、 $R^{302}$ はオリゴグリコール部分である。実施形態において、Rはアミン末端オリゴグリコール部分である。実施形態において、 $R^{300}$ 、 $R^{301}$ 及び $R^{302}$ は水素である。

#### 【0608】

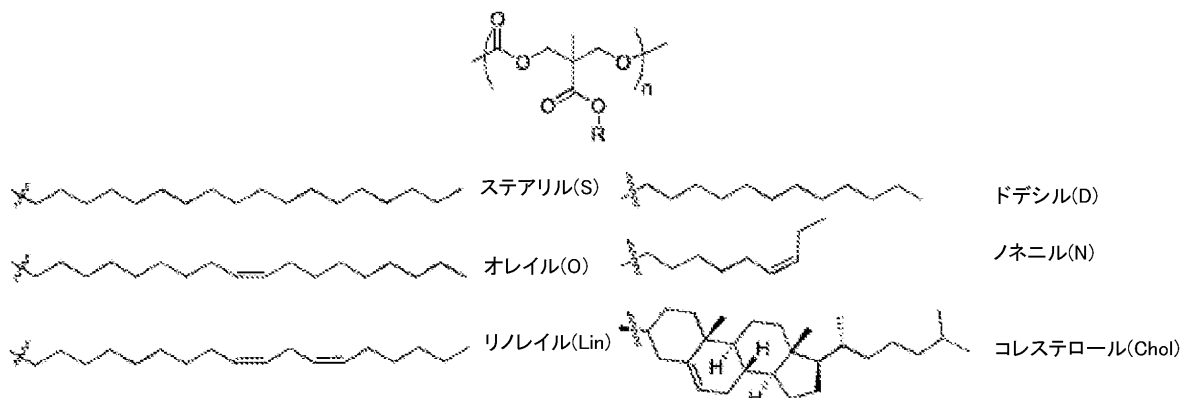
実施形態において、 $R^{300}$ 、 $R^{301}$ 及び $R^{302}$ は、独立に、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^{300}$ 、 $R^{301}$ 及び $R^{302}$ は、独立に、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{300}$ 、 $R^{301}$ 及び $R^{302}$ は、独立に、非置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{300}$ 、 $R^{301}$ 及び $R^{302}$ は、独立に、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル）である。

#### 【0609】

実施形態において、親油性ポリマードメインは下の式を有し、式中、Rは、ステアリル、オレイル、リノレイル、ドデシル、ノネイル及びコレステロール：

#### 【0610】

#### 【化126】



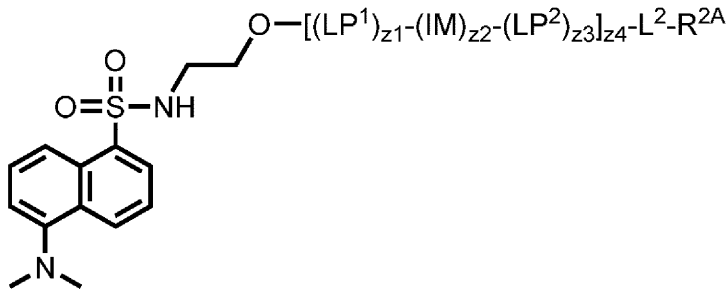
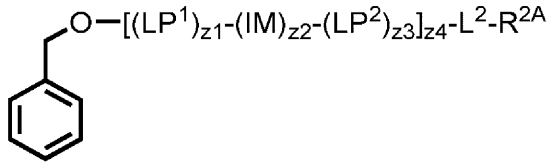
としてそこに定義される。

#### 【0611】

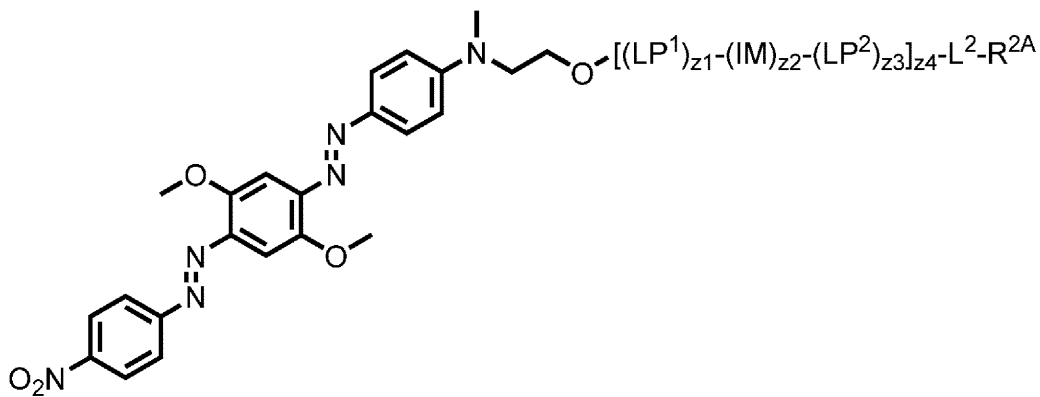
実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

#### 【0612】

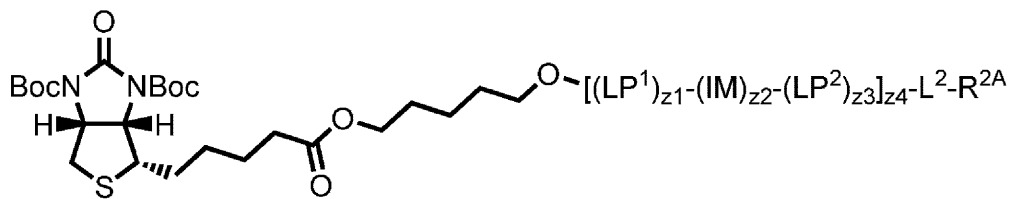
【化 1 2 7】



10

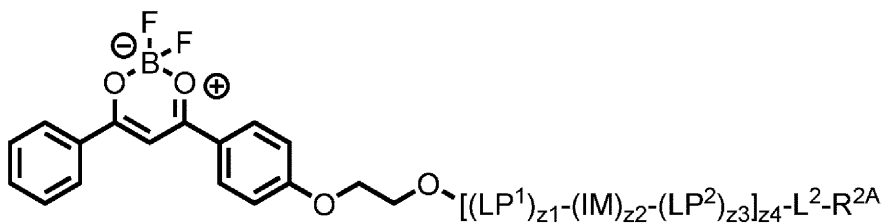


20



30

, 又は



を有し、式中、 $LP^1$ 、 $LP^2$ 、 $IM$ 、 $L^2$ 、 $R^{2A}$ 、 $z_1$ 、 $z_2$ 、 $z_3$  及び  $z_4$  は本明細書に定義される通りである。

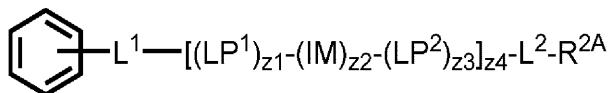
40

【0 6 1 3】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0 6 1 4】

【化 1 2 8】



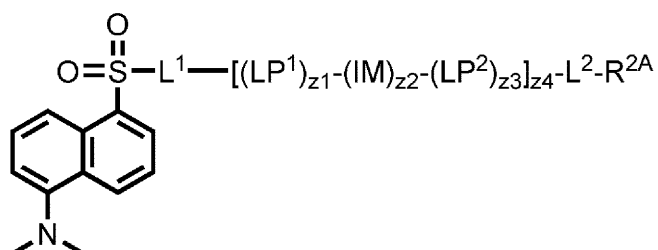
を有し、式中、 $LP^1$ 、 $LP^2$ 、 $IM$ 、 $L^1$ 、 $L^2$ 、 $R^{2A}$ 、 $z_1$ 、 $z_2$ 、 $z_3$  及び  $z_4$  は本明細書に定義される通りである。実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは

50

式：

【 0 6 1 5 】

【 化 1 2 9 】

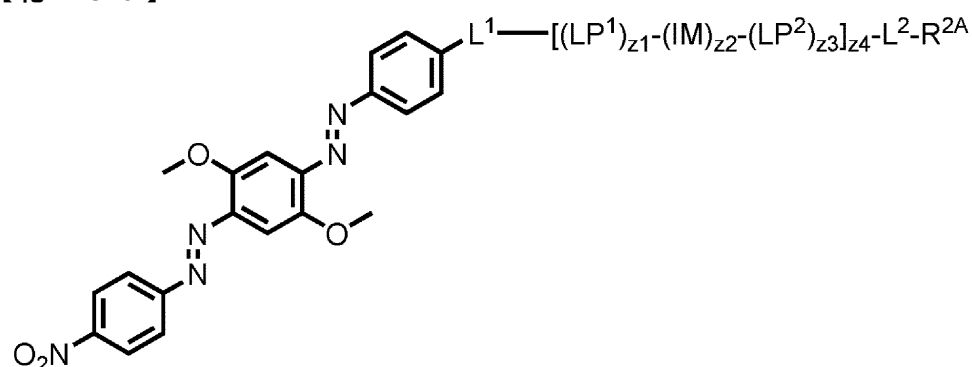


10

を有し、式中、 $LP^1$ 、 $LP^2$ 、 $IM$ 、 $L^1$ 、 $L^2$ 、 $R^{2A}$ 、 $z_1$ 、 $z_2$ 、 $z_3$  及び  $z_4$  は本明細書に定義される通りである。実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【 0 6 1 6 】

【 化 1 3 0 】

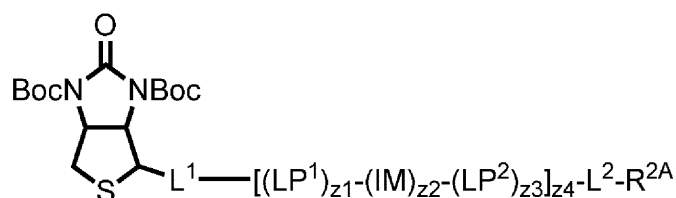


20

を有し、式中、 $LP^1$ 、 $LP^2$ 、 $IM$ 、 $L^1$ 、 $L^2$ 、 $R^{2A}$ 、 $z_1$ 、 $z_2$ 、 $z_3$  及び  $z_4$  は本明細書に定義される通りである。実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【 0 6 1 7 】

【 化 1 3 1 】

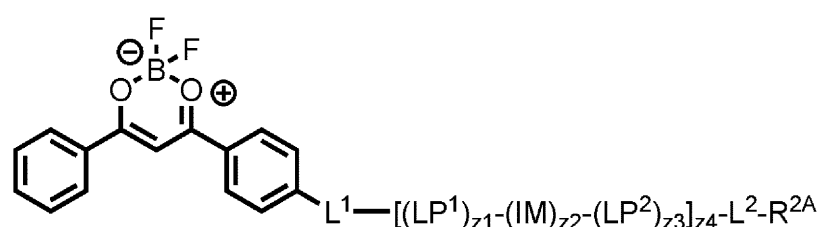


30

を有し、式中、 $LP^1$ 、 $LP^2$ 、 $IM$ 、 $L^1$ 、 $L^2$ 、 $R^{2A}$ 、 $z_1$ 、 $z_2$ 、 $z_3$  及び  $z_4$  は本明細書に定義される通りである。実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【 0 6 1 8 】

【 化 1 3 2 】



40

50

【 0 6 1 9 】

**【 0 6 2 0 】**

50

**【 0 6 2 1 】**

50

**【 0 6 2 2 】**

【 0 6 2 3 】

実施形態において、 $n$  は 2 である。実施形態において、 $n$  は 3 である。実施形態におい

50







ある。実施形態において、 $z_2$ は87である。実施形態において、 $z_2$ は88である。実施形態において、 $z_2$ は89である。実施形態において、 $z_2$ は90である。実施形態において、 $z_2$ は91である。実施形態において、 $z_2$ は92である。実施形態において、 $z_2$ は93である。実施形態において、 $z_2$ は94である。実施形態において、 $z_2$ は95である。実施形態において、 $z_2$ は96である。実施形態において、 $z_2$ は97である。実施形態において、 $z_2$ は98である。実施形態において、 $z_2$ は99である。実施形態において、 $z_2$ は100である。

【0627】

実施形態において、 $z_5$ は1である。実施形態において、 $z_5$ は2である。実施形態において、 $z_5$ は3である。実施形態において、 $z_5$ は4である。実施形態において、 $z_5$ は5である。実施形態において、 $z_5$ は6である。実施形態において、 $z_5$ は7である。実施形態において、 $z_5$ は8である。実施形態において、 $z_5$ は9である。実施形態において、 $z_5$ は10である。

【0628】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、 $z_2$ が2～100の整数である前述の式のいずれかを有する。実施形態において、 $z_2$ は、範囲2～100、2～90、2～80、2～70、2～60、2～50、2～40、2～30、2～2又は2～10の整数であり得る。実施形態において、 $z_2$ は2～100又は2～50の整数である。

【0629】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、 $z_5$ が1～3の整数である前述の式のいずれかを有する。他の実施形態において、 $z_5$ は1又は3である。さらに一部の他の実施形態において、 $z_5$ は1である。一部の他の実施形態において、 $z_5$ は3である。

【0630】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、 $R^2$ が水素である前述の式のいずれかを有する。

【0631】

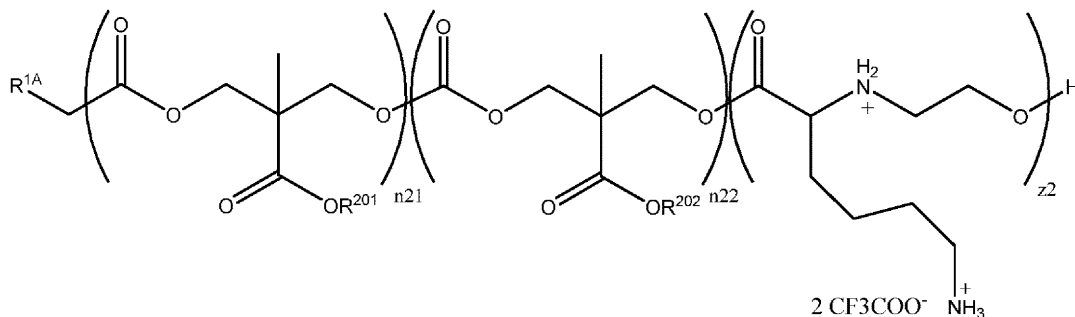
実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、 $L^2$ が結合である前述の式のいずれかを有する。

【0632】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0633】

【化133】



を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $R^{201}$ はオレイルであり、 $n_{22}$ は5であり、 $R^{202}$ はノネニルであり、 $z_2$ は7である。

【0634】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0635】

10

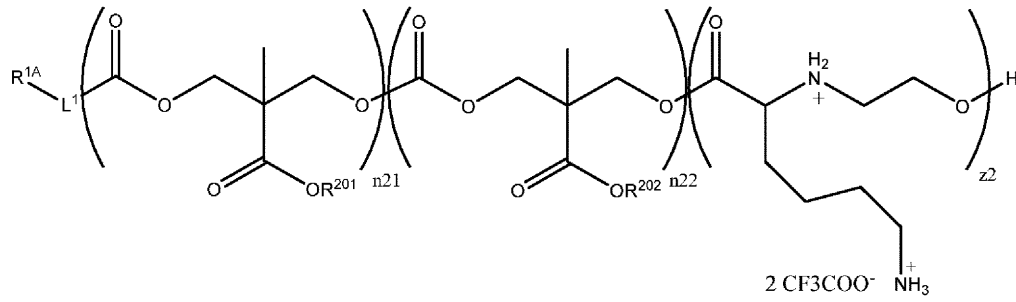
20

30

40

50

## 【化 1 3 4】



10

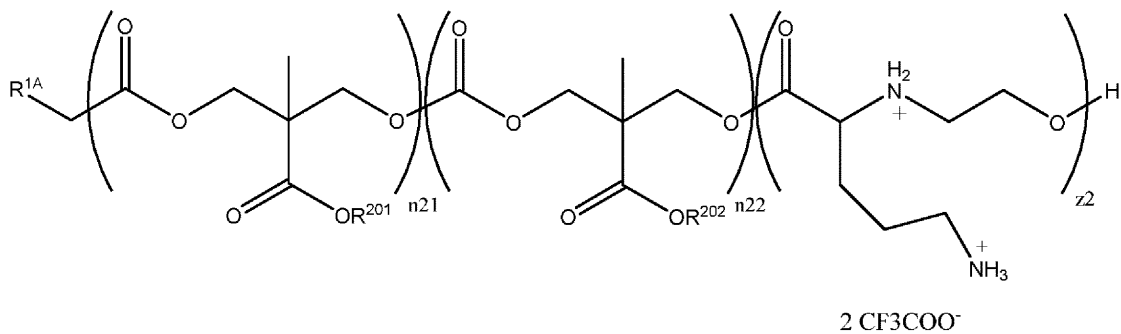
を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $R^{201}$ はオレイルであり、 $L^1$ は $-O-$ であり、 $n_{22}$ は5であり、 $R^{202}$ はノネニルであり、 $z_2$ は7である。

## 【0 6 3 6】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 3 7】

## 【化 1 3 5】



20

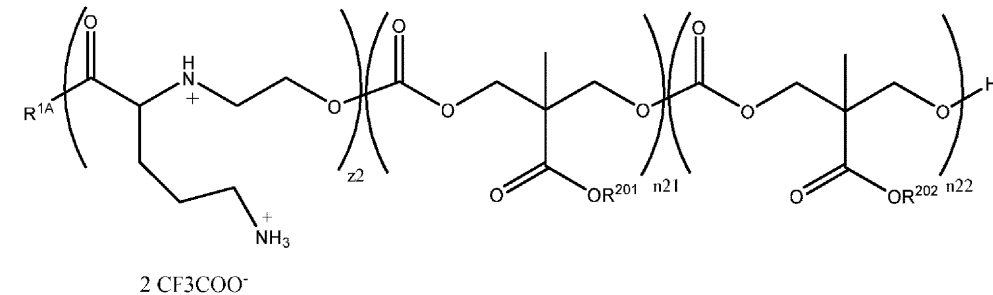
を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $R^{201}$ はオレイルであり、 $n_{22}$ は5であり、 $R^{202}$ はノネニルであり、 $z_2$ は7である。

## 【0 6 3 8】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 3 9】

## 【化 1 3 6】



40

を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $R^{201}$ はオレイルであり、 $n_{22}$ は5であり、 $R^{202}$ はノネニルであり、 $z_2$ は7である。

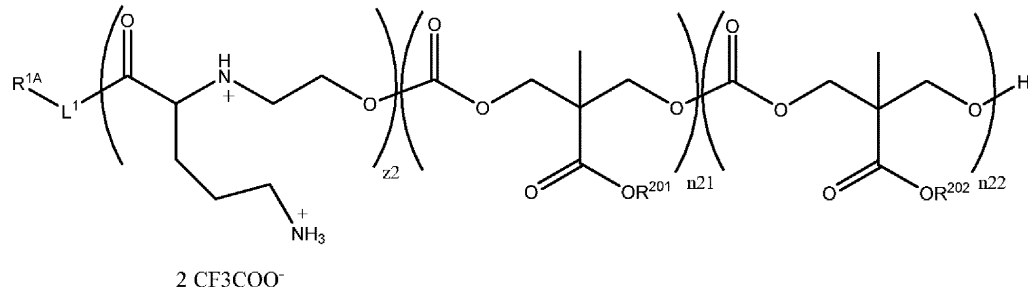
## 【0 6 4 0】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 4 1】

50

## 【化 1 3 7】



10

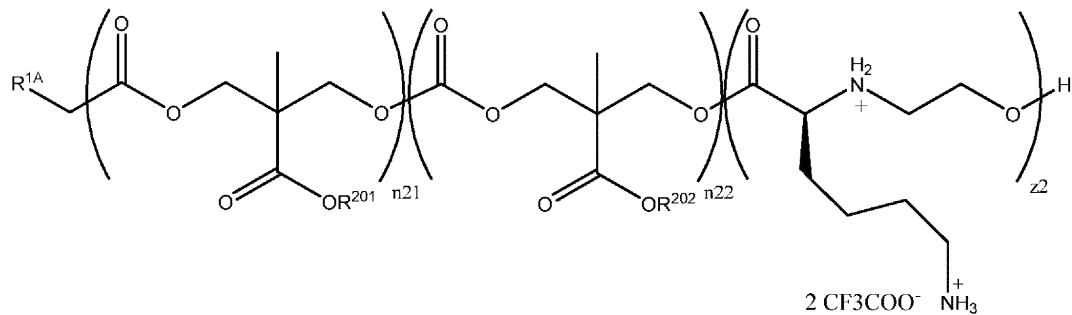
を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $R^{201}$ はオレイルであり、 $L^1$ は—O—であり、 $n_{22}$ は5であり、 $R^{202}$ はノネニルであり、 $z_2$ は7である。

## 【0 6 4 2】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 4 3】

## 【化 1 3 8】



20

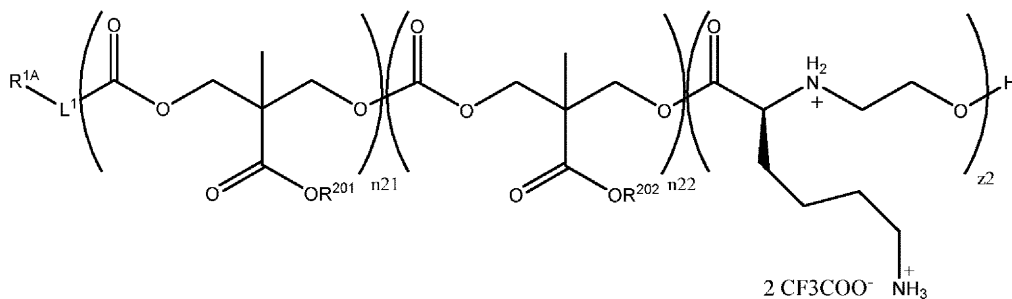
を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $R^{201}$ はオレイルであり、 $n_{22}$ は5であり、 $R^{202}$ はノネニルであり、 $z_2$ は7である。

## 【0 6 4 4】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 4 5】

## 【化 1 3 9】



40

を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $R^{201}$ はオレイルであり、 $L^1$ は—O—であり、 $n_{22}$ は5であり、 $R^{202}$ はノネニルであり、 $z_2$ は7である。

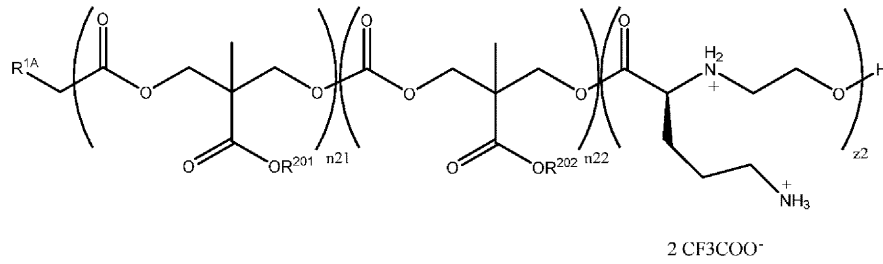
## 【0 6 4 6】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 4 7】

50

## 【化 1 4 0】



10

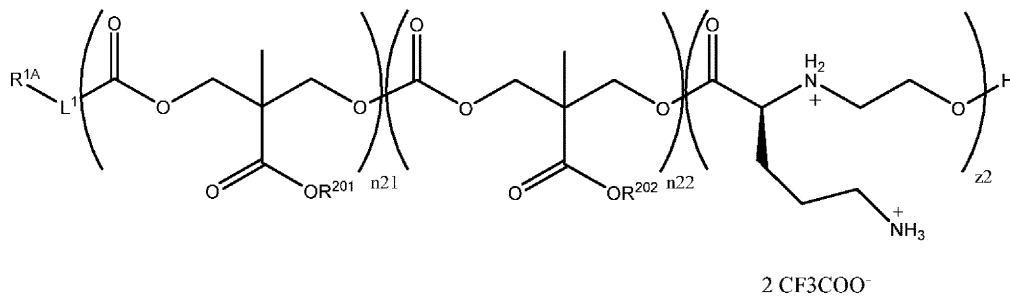
を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $R^{201}$ はオレイルであり、 $n_{22}$ は5であり、 $R^{202}$ はノネニルであり、 $z_2$ は7である。

## 【0 6 4 8】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 4 9】

## 【化 1 4 1】



20

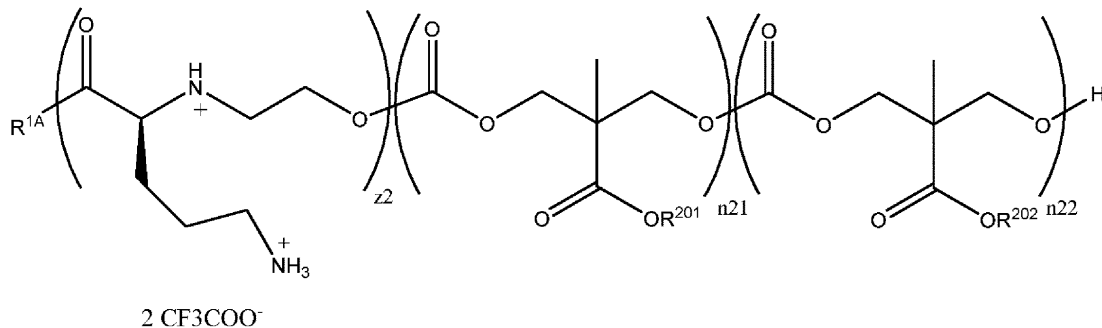
を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $R^{201}$ はオレイルであり、 $L^1$ は-O-であり、 $n_{22}$ は5であり、 $R^{202}$ はノネニルであり、 $z_2$ は7である。

## 【0 6 5 0】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 5 1】

## 【化 1 4 2】



40

を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $R^{201}$ はオレイルであり、 $n_{22}$ は5であり、 $R^{202}$ はノネニルであり、 $z_2$ は7である。

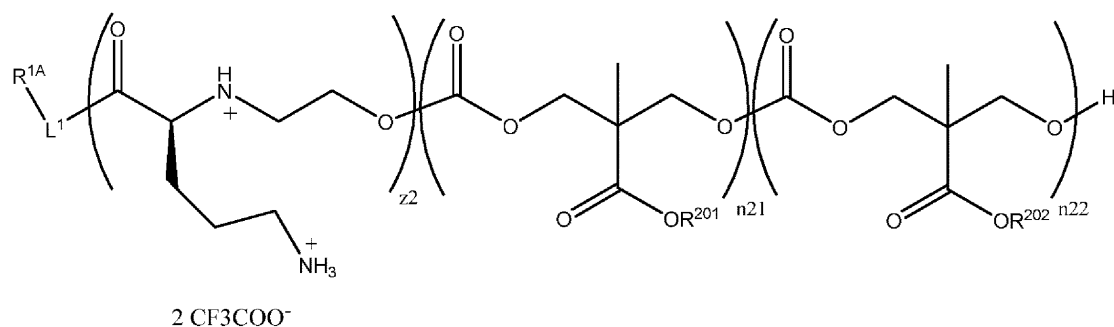
## 【0 6 5 2】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 5 3】

50

【化 1 4 3】



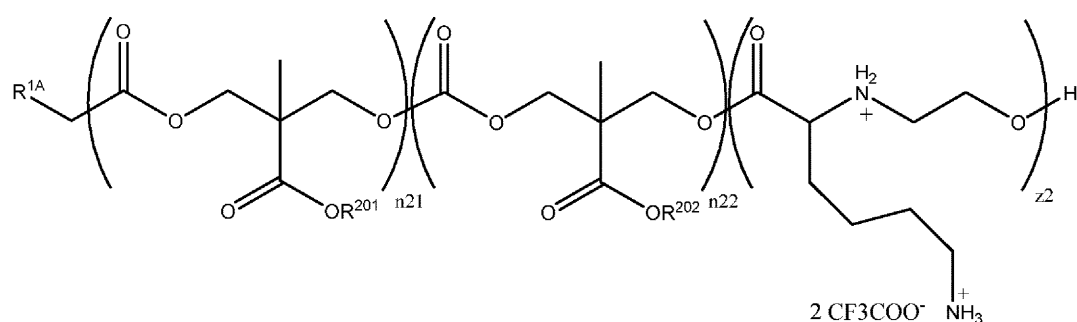
を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $R^{201}$ はオレイルであり、 $L^1$ は $-O-$ であり、 $n_{22}$ は5であり、 $R^{202}$ はノネニルであり、 $z_2$ は7である。

**【 0 6 5 4 】**

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

**【 0 6 5 5 】**

【化 1 4 4】



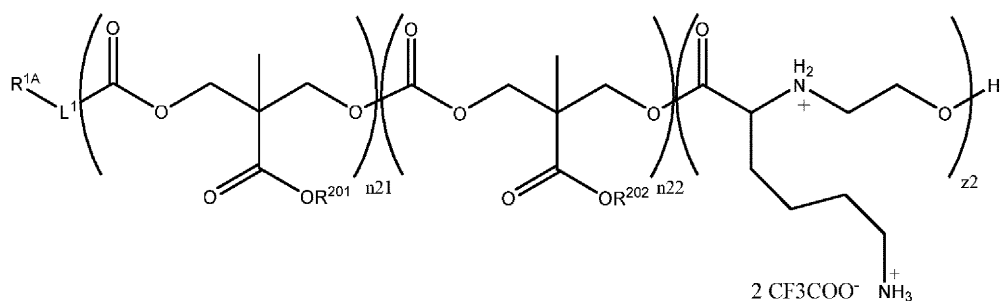
を有し、式中、 $n_{21}$ は4であり、 $n_{22}$ は4であり、 $z_2$ は8である。

**【 0 6 5 6 】**

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

**【 0 6 5 7 】**

【化 1 4 5】



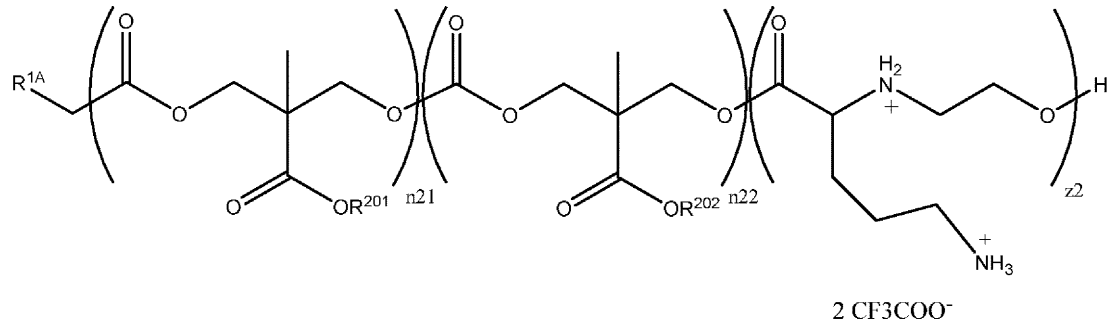
を有し、式中、 $n_{21}$  は 4 であり、 $n_{22}$  は 4 であり、 $z_2$  は 8 である。

**【 0 6 5 8 】**

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

**【 0 6 5 9 】**

## 【化 1 4 6】



10

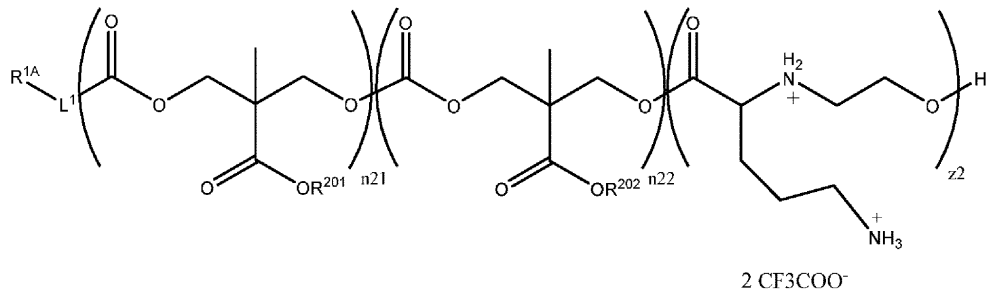
を有し、式中、 $n_{21}$ は4であり、 $n_{22}$ は4であり、 $z_2$ は8である。

## 【0 6 6 0】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 6 1】

## 【化 1 4 7】



20

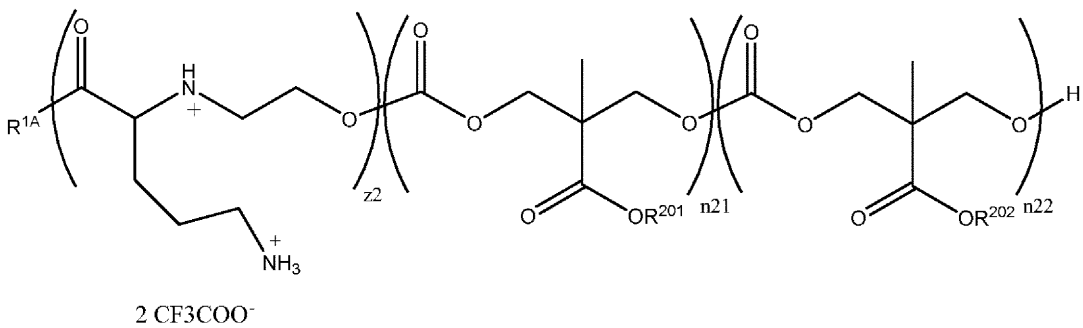
を有し、式中、 $n_{21}$ は4であり、 $L^1$ は-O-であり、 $n_{22}$ は4であり、 $z_2$ は8である。

## 【0 6 6 2】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 6 3】

## 【化 1 4 8】



40

を有し、式中、 $n_{21}$ は4であり、 $n_{22}$ は4であり、 $z_2$ は8である。

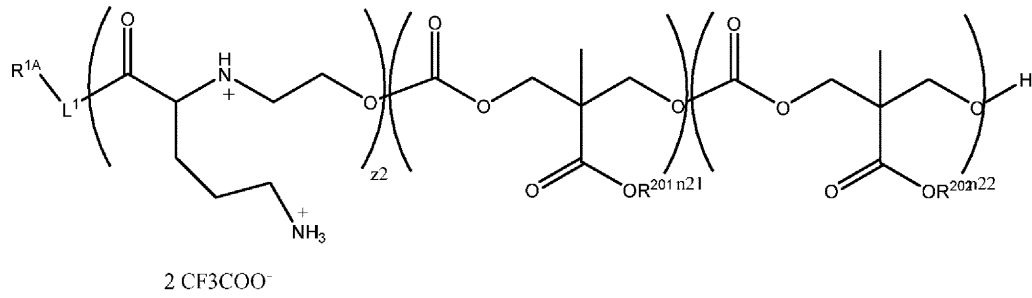
## 【0 6 6 4】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 6 5】

50

## 【化 1 4 9】



10

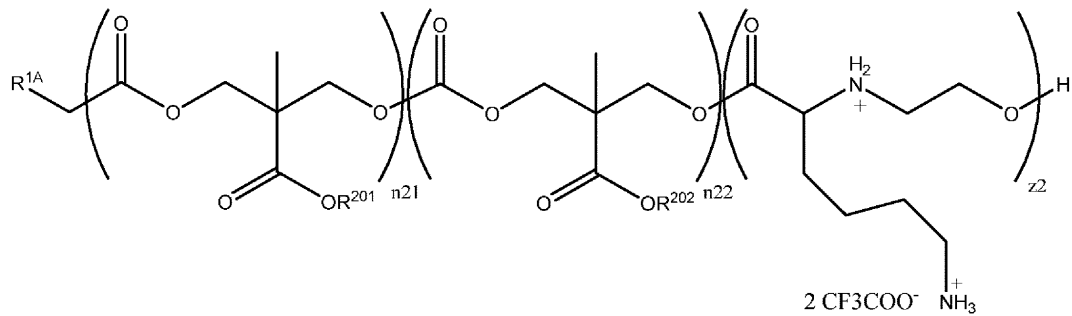
を有し、式中、 $n_{21}$ は4であり、 $L^1$ は $-\text{O}-$ であり、 $n_{22}$ は4であり、 $z_2$ は8である。

## 【0 6 6 6】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 6 7】

## 【化 1 5 0】



20

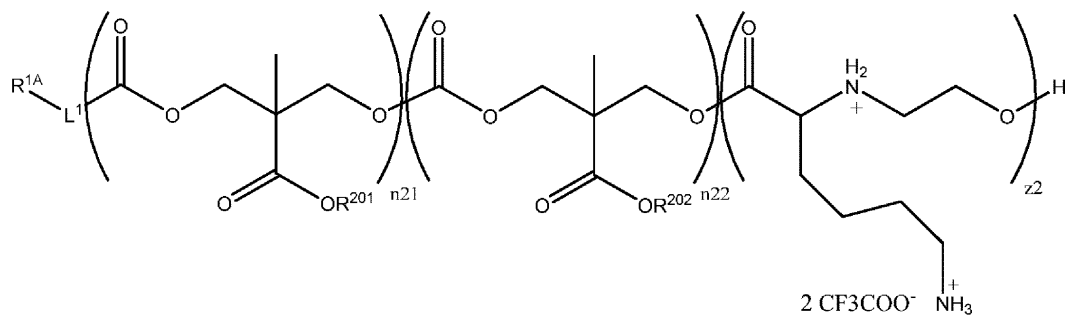
を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $n_{22}$ は6であり、 $z_2$ は10である。

## 【0 6 6 8】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 6 9】

## 【化 1 5 1】



40

を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $L^1$ は $-\text{O}-$ であり、 $n_{22}$ は6であり、 $z_2$ は10である。

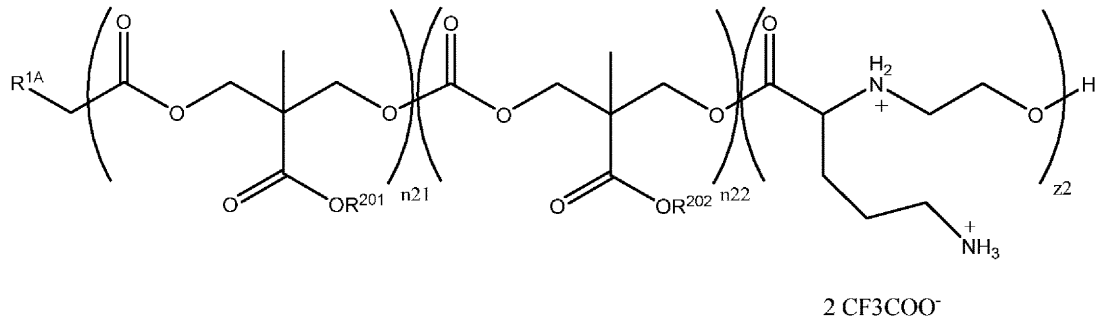
## 【0 6 7 0】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 7 1】

50

## 【化 1 5 2】



10

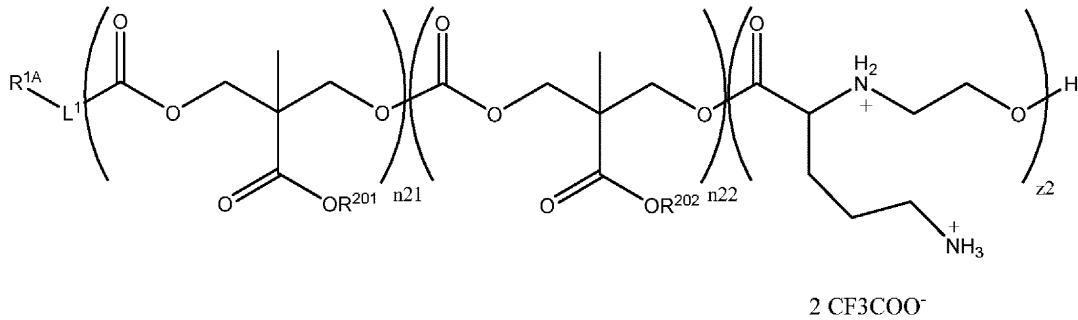
を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $n_{22}$ は6であり、 $z_2$ は10である。

## 【0 6 7 2】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 7 3】

## 【化 1 5 3】



20

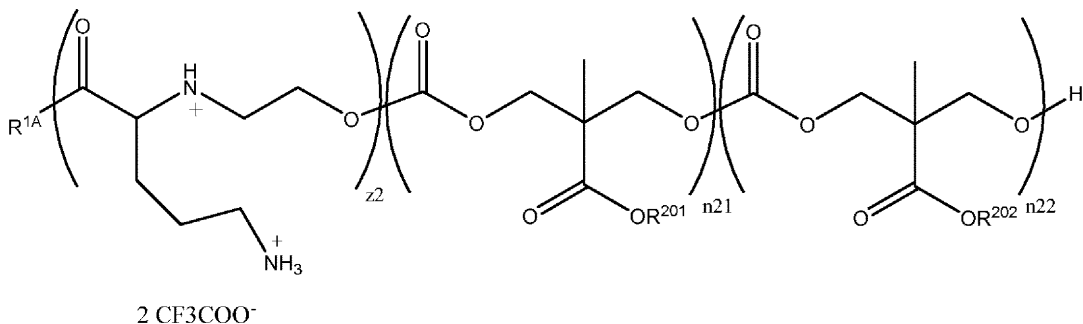
を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $L^1$ は $-O-$ であり、 $n_{22}$ は6であり、 $z_2$ は10である。

## 【0 6 7 4】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 7 5】

## 【化 1 5 4】



40

を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $n_{22}$ は6であり、 $z_2$ は10である。

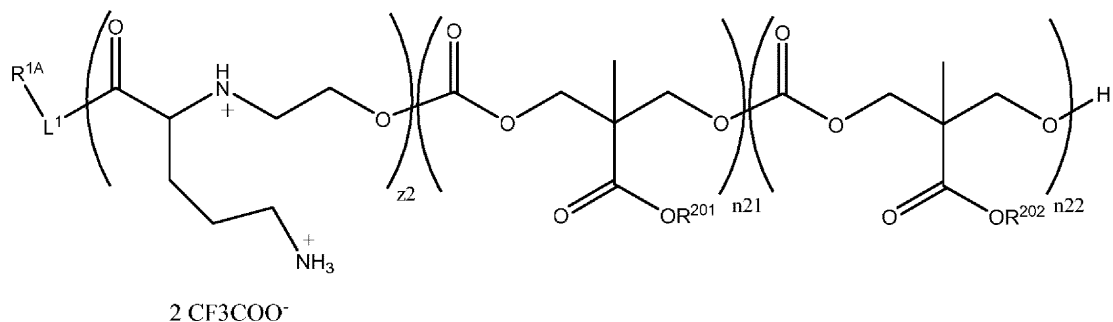
## 【0 6 7 6】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 7 7】

50

## 【化 1 5 5】



10

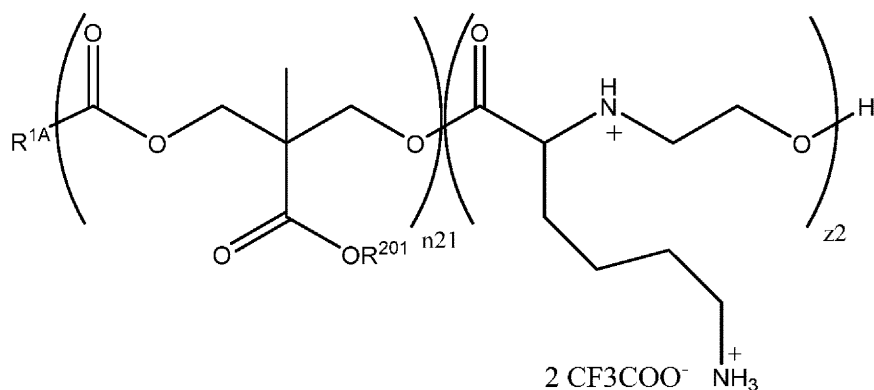
を有し、式中、 $n_{21}$ は5であり、 $L^1$ は $-O-$ であり、 $n_{22}$ は6であり、 $z_2$ は10である。

## 【0 6 7 8】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 7 9】

## 【化 1 5 6】



20

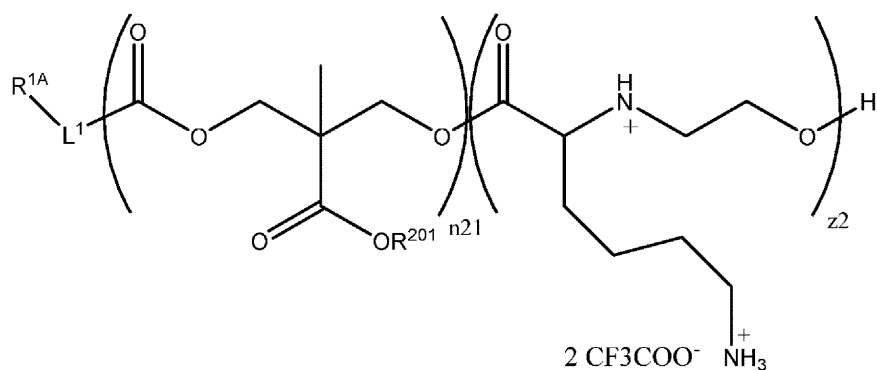
を有し、式中、 $n_{21}$ は14であり、 $R^{201}$ はドデシルであり、 $z_2$ は8である。

## 【0 6 8 0】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 8 1】

## 【化 1 5 7】



40

を有し、式中、 $n_{21}$ は14であり、 $L^1$ は $-O-$ であり、 $R^{201}$ はドデシルであり、 $z_2$ は8である。

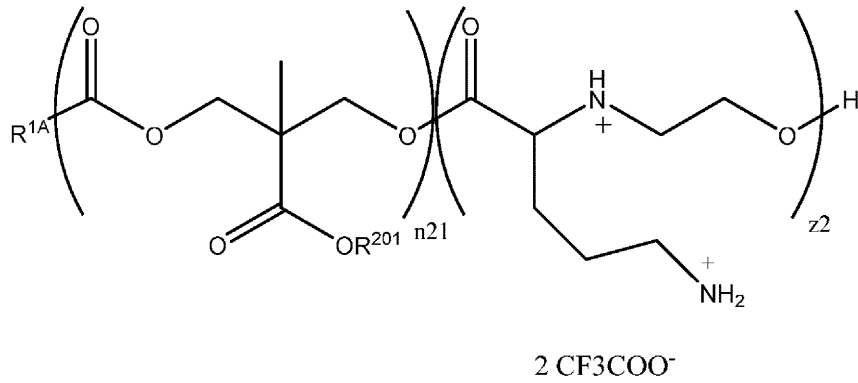
## 【0 6 8 2】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 6 8 3】

50

【化 1 5 8】



10

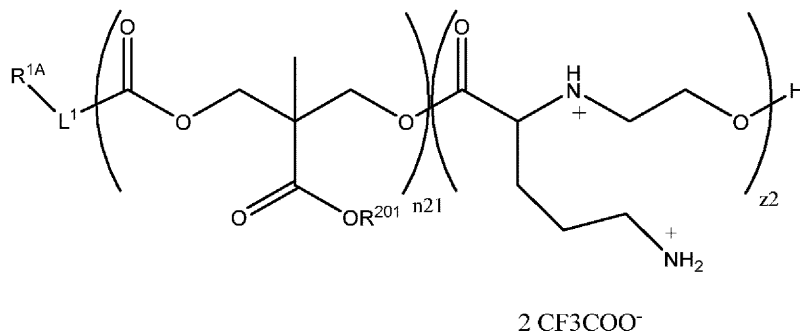
を有し、式中、 $n_{21}$ は14であり、 $R^{201}$ はドデシルであり、 $z_2$ は8である。

【0 6 8 4】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0 6 8 5】

【化 1 5 9】



20

を有し、式中、 $n_{21}$ は14であり、 $L^1$ は $-O-$ であり、 $R^{201}$ はドデシルであり、 $z_2$ は8である。

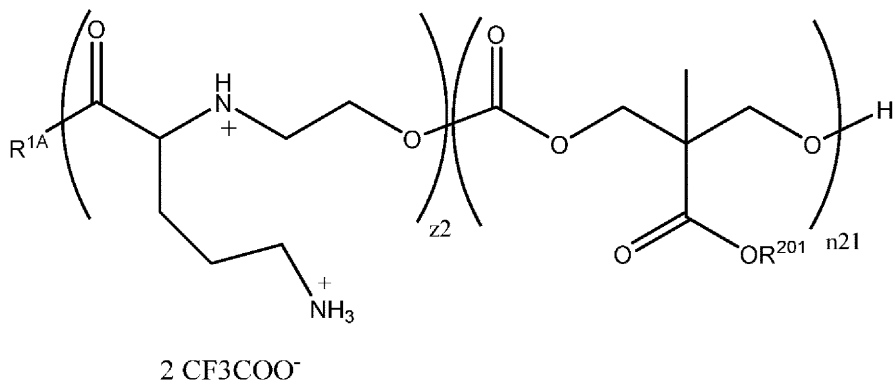
【0 6 8 6】

30

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0 6 8 7】

【化 1 6 0】



40

を有し、式中、 $n_{21}$ は14であり、 $R^{201}$ はドデシルであり、 $z_2$ は8である。

【0 6 8 8】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0 6 8 9】

50

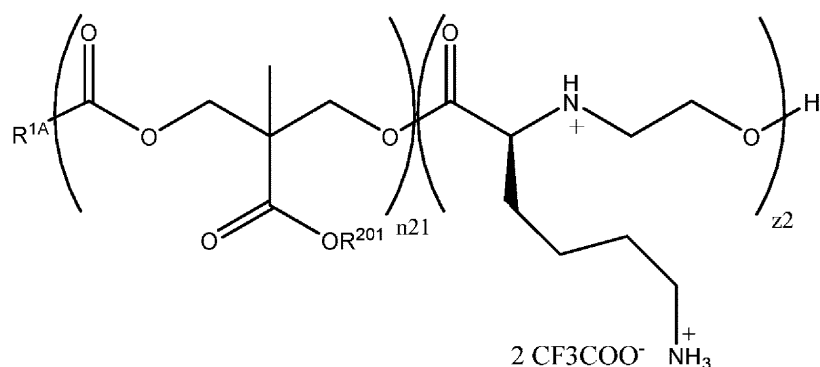
$$\begin{array}{c} \text{R}^{1\text{A}} \\ | \\ \text{L}' - \text{C}(=\text{O}) - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}^+ - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{O} - \left( \text{C}(=\text{O}) - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}(\text{CH}_3)_2 - \text{CH}_2 - \text{O} \right)_{n2} - \text{H} \\ | \\ \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_3^+ \\ \\ 2 \text{ CF}_3\text{COO}^- \end{array}$$

10

**【 0 6 9 0 】**

**【 0 6 9 1 】**

【化 1 6 2】



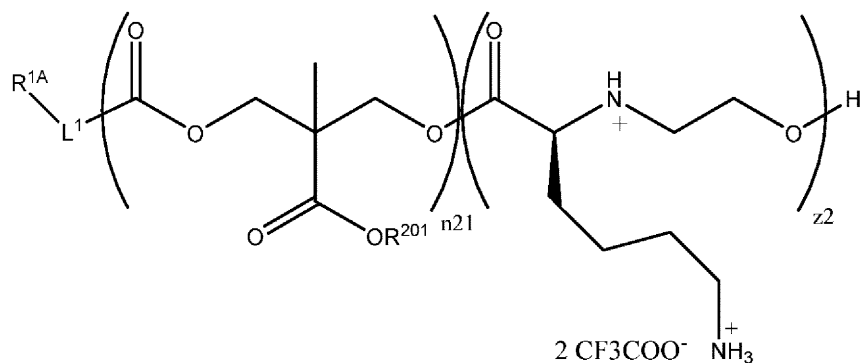
20

**【 0 6 9 2 】**

**【 0 6 9 3 】**

【化 1 6 3】

1



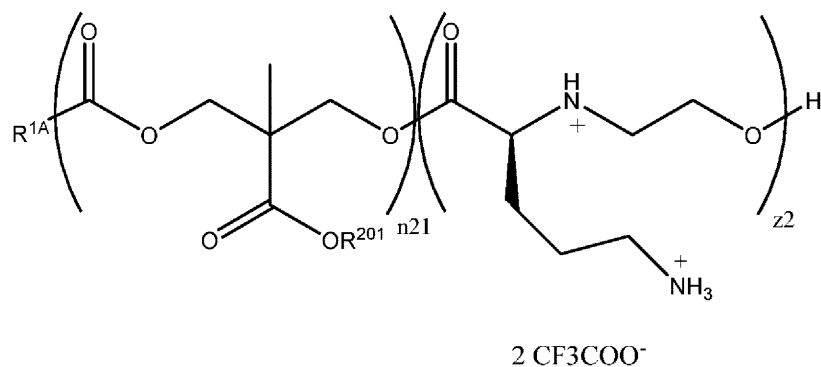
40

**【 0 6 9 4 】**

**【 0 6 9 5 】**

50

【化 1 6 4】



10

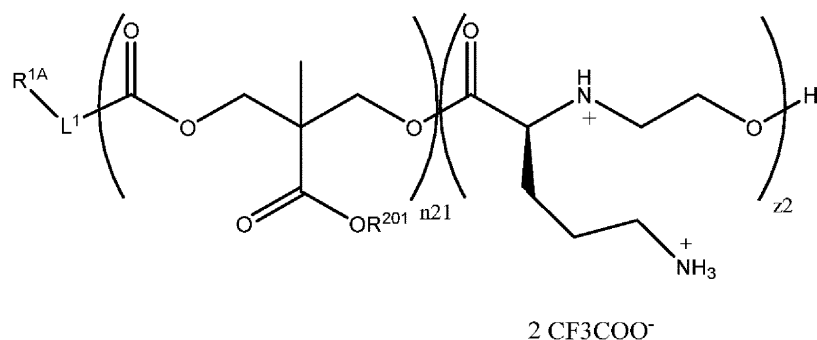
を有し、式中、 $n_{21}$ は14であり、 $R^{201}$ はドデシルであり、 $z_2$ は8である。

【0 6 9 6】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0 6 9 7】

【化 1 6 5】



20

を有し、式中、 $n_{21}$ は14であり、 $L^1$ は $-O-$ であり、 $R^{201}$ はドデシルであり、 $z_2$ は8である。

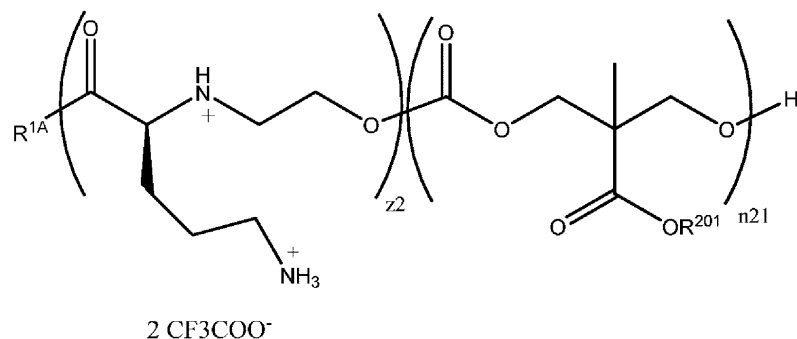
【0 6 9 8】

30

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0 6 9 9】

【化 1 6 6】



40

を有し、式中、 $n_{21}$ は14であり、 $R^{201}$ はドデシルであり、 $z_2$ は8である。

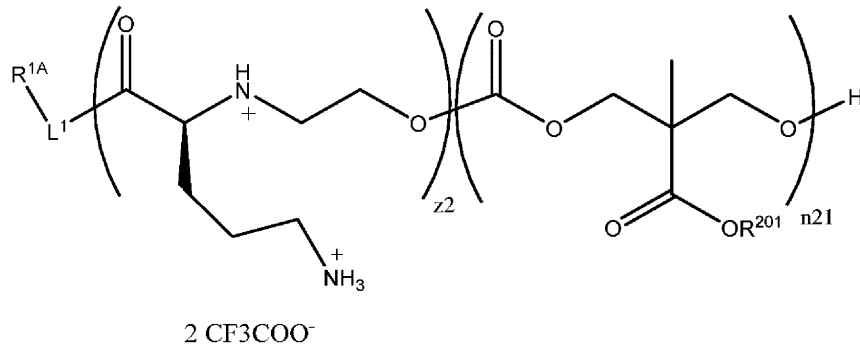
【0 7 0 0】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0 7 0 1】

50

【化 1 6 7】



10

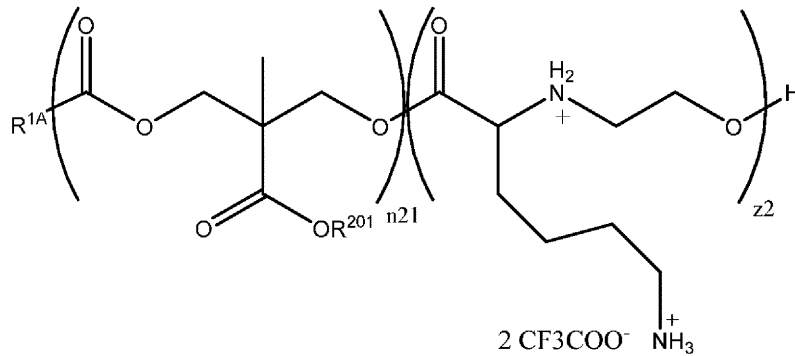
を有し、式中、 $n_{21}$ は14であり、 $L^1$ は $-O-$ であり、 $R^{201}$ はドデシルであり、 $z_2$ は8である。

【0702】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0703】

【化 1 6 8】



20

を有し、式中、 $n_{21}$ は10～20の整数であり；

30

$R^{201}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり；

$z_2$ は、独立に、3～10の整数である。

【0704】

実施形態において、 $n_{21}$ は14であり、 $R^{201}$ はドデシルであり、 $z_2$ は8である。

。

【0705】

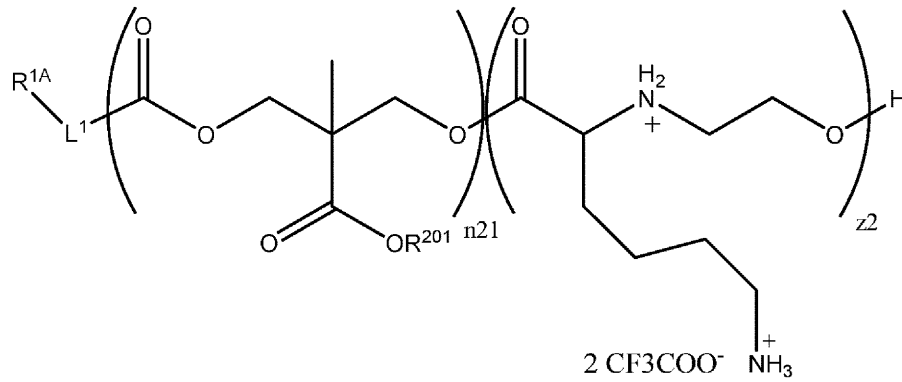
実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

40

【0706】

50

## 【化 1 6 9】



10

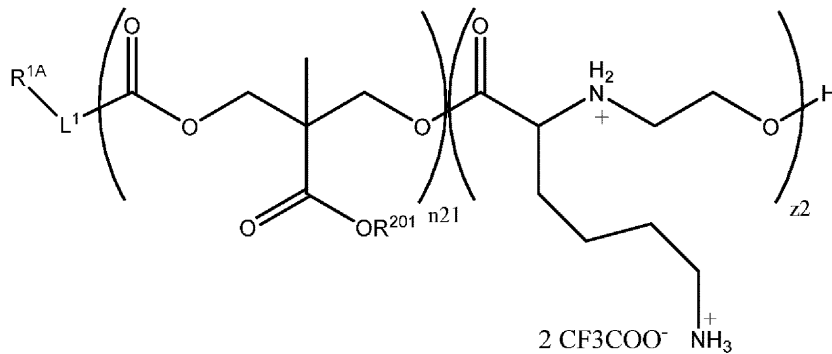
を有し、式中、 $\text{R}^{1\text{A}}$  は本明細書に記載される通りであり、 $n_{21}$  は 10 ～ 20 の整数であり、 $\text{L}^1$  は本明細書に記載される通りである。

## 【0 7 0 7】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 7 0 8】

## 【化 1 7 0】



20

を有し、式中、 $\text{R}^{1\text{A}}$  は本明細書に記載される通りであり、 $n_{21}$  は 14 であり； $\text{L}^1$  は  $-\text{O}-$  であり、 $\text{R}^{201}$  は  $\text{C}_{12}\text{H}_{25}$  であり、 $z_2$  は 8 である。

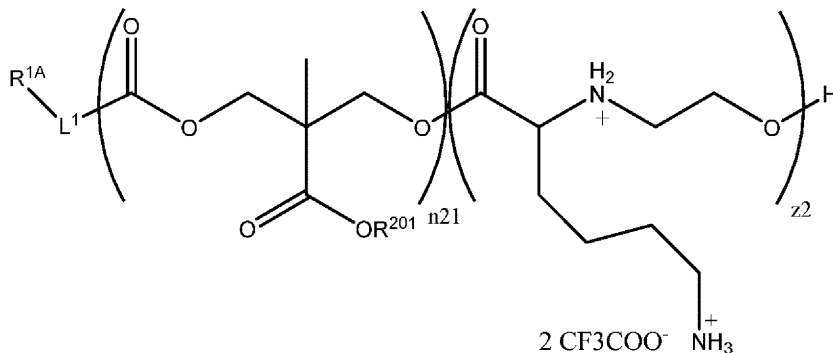
30

## 【0 7 0 9】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 7 1 0】

## 【化 1 7 1】



40

を有し、式中、 $\text{R}^{1\text{A}}$  は本明細書に記載される通りであり、 $n_{21}$  は 12 であり； $\text{L}^1$  は  $-\text{O}-$  であり、 $\text{R}^{201}$  は  $\text{C}_{12}\text{H}_{25}$  であり、 $z_2$  は 6 である。

## 【0 7 1 1】

$\text{R}^{201}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘ

50

テロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり；

$z_2$  は独立に、3～10の整数である。

【0712】

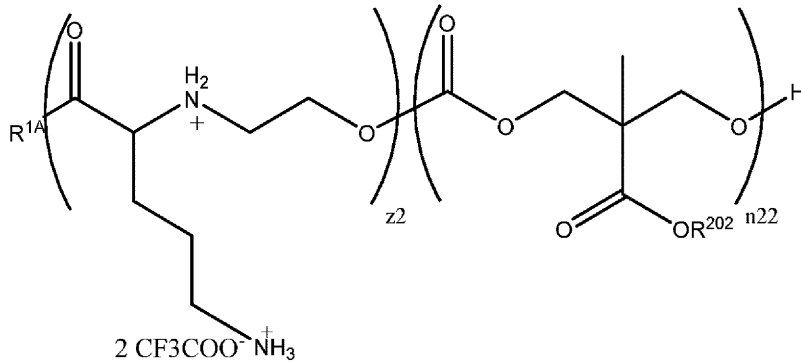
実施形態において、 $n_{21}$  は14であり、 $R^{201}$  はドデシルであり、 $z_2$  は8である。

【0713】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0714】

【化172】



を有し、式中、 $n_{22}$  は10～35の整数であり；

$R^{202}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり；

$z_2$  は、独立に、5～20の整数である。

【0715】

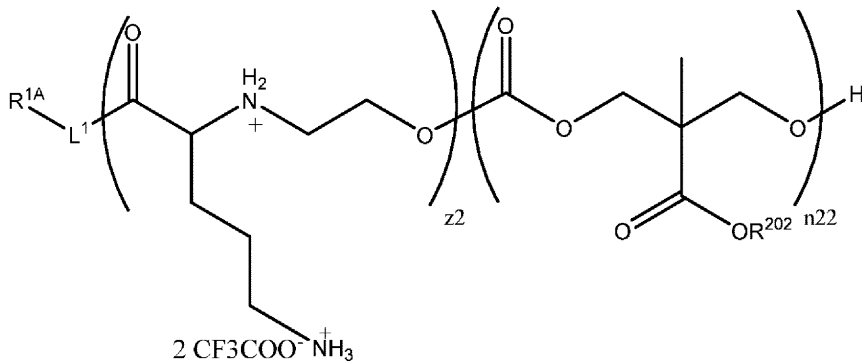
実施形態において、 $n_{22}$  は14であり、 $R^{202}$  はドデシルであり、 $z_2$  は7である。

【0716】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0717】

【化173】



を有し、式中、 $n_{22}$  は10～35の整数であり； $L^1$  は本明細書の通りに定義され；

$R^{202}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール

であり；

$z_2$  は独立に、5～20の整数である。

【0718】

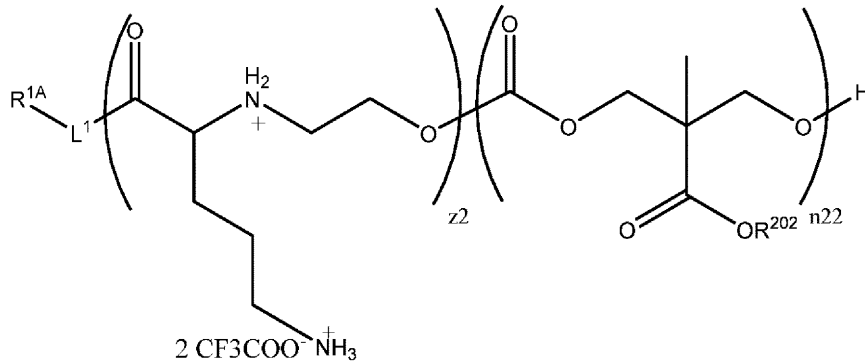
実施形態において、 $n_{22}$  は14であり、 $R^{202}$  はドデシルであり、 $z_2$  は7である。

【0719】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0720】

【化174】



10

20

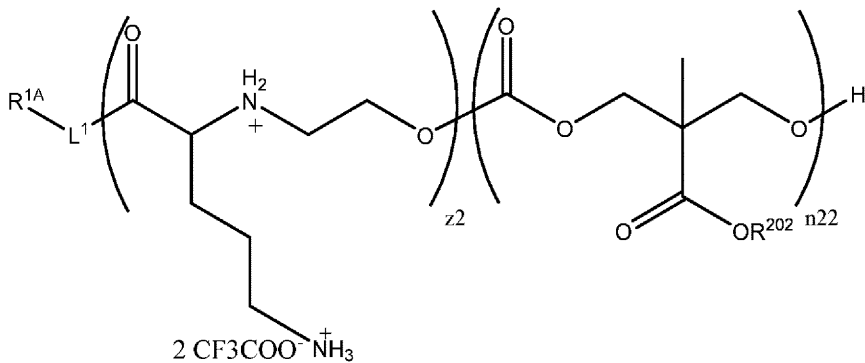
を有し、式中、 $R^{1A}$  は本明細書に記載される通りであり、 $n_{22}$  は31であり； $L^1$  は—O—であり、 $R^{202}$  は $C_{12}H_{25}$ であり、 $z_2$  は10である。

【0721】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0722】

【化175】



30

を有し、式中、 $R^{1A}$  は本明細書に記載される通りであり、 $n_{22}$  は15であり； $L^1$  は—O—であり、 $R^{202}$  は $C_{12}H_{25}$ であり、 $z_2$  は5である。

【0723】

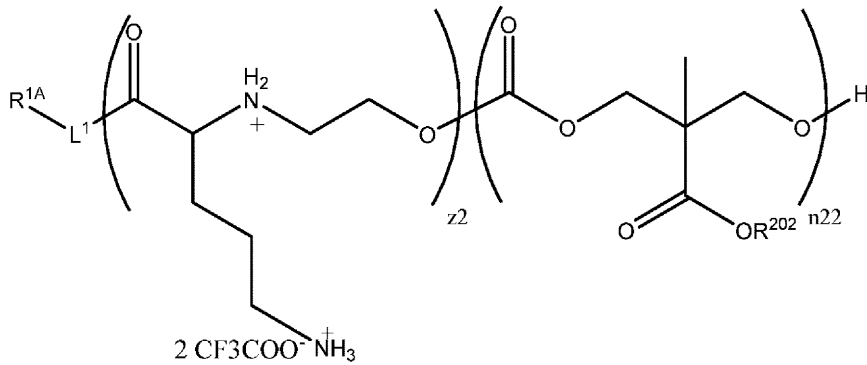
実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0724】

40

50

## 【化 1 7 6】



10

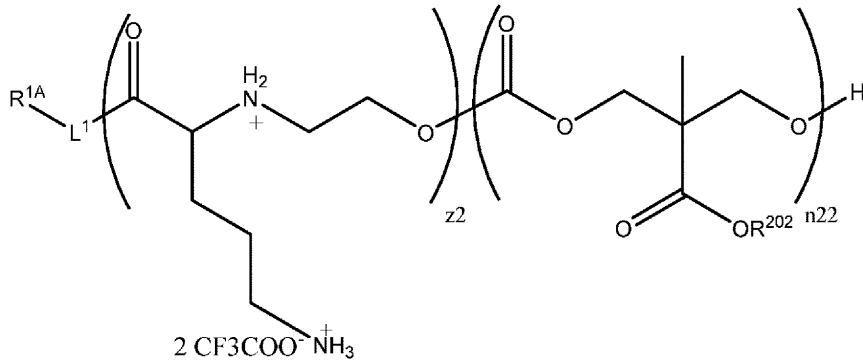
を有し、式中、 $R^{1A}$  は本明細書に記載される通りであり、 $n_{22}$  は 14 であり； $L^1$  は  $-O-$  であり、 $R^{202}$  は  $C_{12}H_{25}$  であり、 $z_2$  は 7 である。

## 【0 7 2 5】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 7 2 6】

## 【化 1 7 7】



20

を有し、式中、 $R^{1A}$  は本明細書に記載される通りであり、 $n_{22}$  は 16 であり； $L^1$  は  $-O-$  であり、 $R^{202}$  は  $C_{12}H_{25}$  であり、 $z_2$  は 15 である。

30

## 【0 7 2 7】

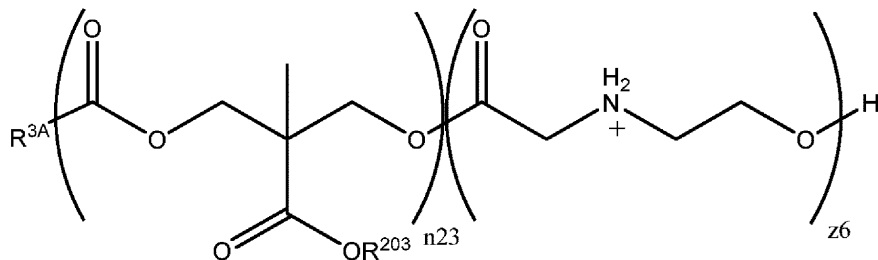
実施形態において、細胞透過性複合体は第 2 のカチオン性両親媒性ポリマーをさらに含み、第 2 のカチオン性両親媒性ポリマーはカチオン性両親媒性ポリマーとは異なる。

## 【0 7 2 8】

実施形態において、第 2 のカチオン性両親媒性ポリマーは式：

## 【0 7 2 9】

## 【化 1 7 8】



40

を有し、

$n_{23}$  は 1 ~ 100 の整数であり；

$z_6$  は 5 ~ 15 の整数であり；

$R^{3A}$  は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、

50

CHCl<sub>2</sub>、-CHBr<sub>2</sub>、-CHF<sub>2</sub>、-CHI<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>Cl、-CH<sub>2</sub>Br、-CH<sub>2</sub>F、-CH<sub>2</sub>I、-CN、-OH、-NH<sub>2</sub>、-COOH、-CONH<sub>2</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SH、-SO<sub>3</sub>H、-SO<sub>4</sub>H、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-NHNH<sub>2</sub>、-ONH<sub>2</sub>、-NHC(O)NHNH<sub>2</sub>、-NHC(O)NH<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>H、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-OCCl<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-OCBr<sub>3</sub>、-OCI<sub>3</sub>、-OCHCl<sub>2</sub>、-OCHBr<sub>2</sub>、-OCHI<sub>2</sub>、-OCHF<sub>2</sub>、-OCH<sub>2</sub>Cl、-OCH<sub>2</sub>Br、-OCH<sub>2</sub>I、-OCH<sub>2</sub>F、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり；

10

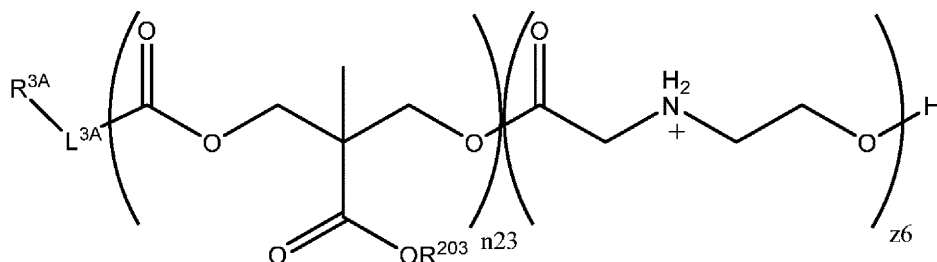
R<sup>203</sup>は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

【0730】

実施形態において、第2のカチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0731】

【化179】



20

を有し、

n<sub>23</sub>は1～100の整数であり；

z<sub>6</sub>は5～15の整数であり；

L<sup>3A</sup>は、結合、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-S(O)<sub>2</sub>-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり；

30

R<sup>3A</sup>は、独立に、水素、ハロゲン、-CCl<sub>3</sub>、-CBr<sub>3</sub>、-CF<sub>3</sub>、-CI<sub>3</sub>、CHCl<sub>2</sub>、-CHBr<sub>2</sub>、-CHF<sub>2</sub>、-CHI<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>Cl、-CH<sub>2</sub>Br、-CH<sub>2</sub>F、-CH<sub>2</sub>I、-CN、-OH、-NH<sub>2</sub>、-COOH、-CONH<sub>2</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SH、-SO<sub>3</sub>H、-SO<sub>4</sub>H、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-NHNH<sub>2</sub>、-ONH<sub>2</sub>、-NHC(O)NHNH<sub>2</sub>、-NHC(O)NH<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>H、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-OCCl<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-OCBr<sub>3</sub>、-OCI<sub>3</sub>、-OCHCl<sub>2</sub>、-OCHBr<sub>2</sub>、-OCHI<sub>2</sub>、-OCHF<sub>2</sub>、-OCH<sub>2</sub>Cl、-OCH<sub>2</sub>Br、-OCH<sub>2</sub>I、-OCH<sub>2</sub>F、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり；

40

R<sup>203</sup>は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。

【0732】

50

実施形態において、 $R^{203}$ は、置換若しくは非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_8$ 、 $C_1 \sim C_6$ 、 $C_1 \sim C_4$ 若しくは $C_1 \sim C_2$ ）、置換若しくは非置換のヘテロアルキル（例えば、2～8員、2～6員、4～6員、2～3員若しくは4～5員）、置換若しくは非置換のシクロアルキル（例えば、 $C_3 \sim C_8$ 、 $C_3 \sim C_6$ 、 $C_4 \sim C_6$ 若しくは $C_5 \sim C_6$ ）、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル（例えば、3～8員、3～6員、4～6員、4～5員若しくは5～6員）、置換若しくは非置換のアリール（例えば、 $C_6 \sim C_{10}$ 若しくはフェニル）、又は置換若しくは非置換のヘテロアリール（例えば、5～10員、5～9員若しくは5～6員）である。実施形態において、 $R^{203}$ は、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のアリール、又は置換（例えば、置換基、サイズ限定置換基若しくは低級置換基で置換された）若しくは非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{203}$ は、置換のアルキル、非置換のヘテロアルキル、非置換のシクロアルキル、非置換のヘテロシクロアルキル、非置換のアリール又は非置換のヘテロアリールである。実施形態において、 $R^{203}$ は、水素又は非置換のアルキル（例えば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル）である。

#### 【0733】

実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_1 \sim C_{30}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_1 \sim C_{20}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_8 \sim C_{30}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_8 \sim C_{20}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_9 \sim C_{20}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_9 \sim C_{18}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{18}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{17}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{16}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{15}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{14}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{13}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{12}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{11}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{10}$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_9$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_8$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_7$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_6$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_5$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_4$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_3$ アルキルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_2$ アルキルである。

#### 【0734】

実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_1 \sim C_{30}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_1 \sim C_{20}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_8 \sim C_{30}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_8 \sim C_{20}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_9 \sim C_{20}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_9 \sim C_{18}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{18}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{17}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{16}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{15}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{14}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{13}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{12}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{11}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換の $C_{10}$ アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$ は非置換

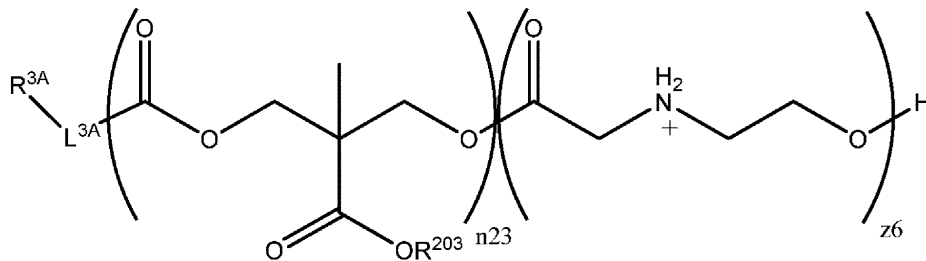
の  $C_9$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$  は非置換の  $C_8$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$  は非置換の  $C_7$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$  は非置換の  $C_6$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$  は非置換の  $C_5$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$  は非置換の  $C_4$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$  は非置換の  $C_3$  アルケニルである。実施形態において、 $R^{203}$  は非置換の  $C_2$  アルケニルである。

【0735】

実施形態において、第2のカチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0736】

【化180】



10

を有し、式中、 $R^{3A}$  は本明細書に記載される通りであり、 $L^{3A}$  は  $-O-$  であり、 $z_6$  は16であり、 $R^{203}$  は  $C_{12}H_{25}$  であり、 $n_{23}$  は15である。

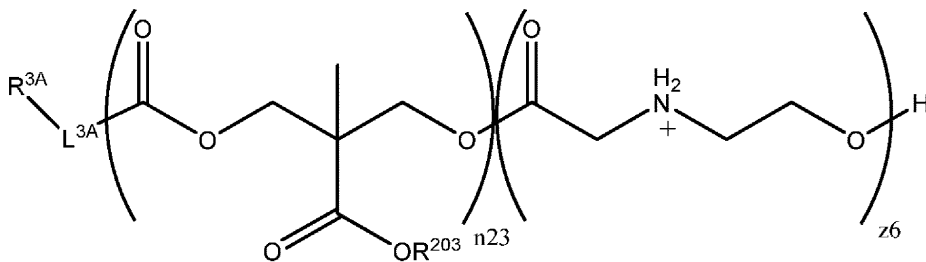
20

【0737】

実施形態において、第2のカチオン性両親媒性ポリマーは式：

【0738】

【化181】



30

を有し、式中、 $R^{3A}$  は本明細書に記載される通りであり、 $L^{3A}$  は  $-O-$  であり、 $z_6$  は11であり、 $R^{203}$  は  $C_{12}H_{25}$  であり、 $n_{23}$  は13である。

【0739】

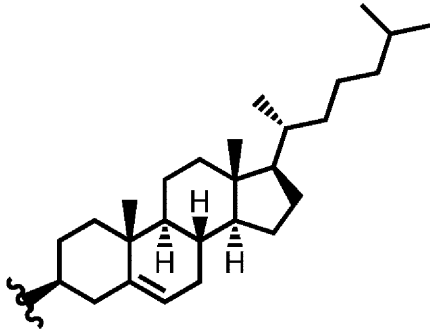
実施形態において、 $R^{203}$  はステアリル部分（例えば、非置換  $C_{18}$  アルキル）である。実施形態において、 $R^{203}$  はオレイル部分（例えば、非置換  $C_{18}$  アルケニル）である。実施形態において、 $R^{203}$  はリノレイル部分（例えば、非置換  $C_{18}$  アルケニル）である。実施形態において、 $R^{203}$  はドデシル部分（例えば、非置換  $C_{12}$  アルキル）である。実施形態において、 $R^{203}$  はノネニル部分（例えば、非置換  $C_9$  アルケニル）である。実施形態において、 $R^{203}$  は、

40

【0740】

50

【化 1 8 2】



10

である。

【 0 7 4 1】

実施形態において、 $n_{23}$ は13であり、 $z_6$ は11であり、 $R^{203}$ はドデシルである。

【 0 7 4 2】

実施形態において、 $CART$ は式：

【 0 7 4 3】

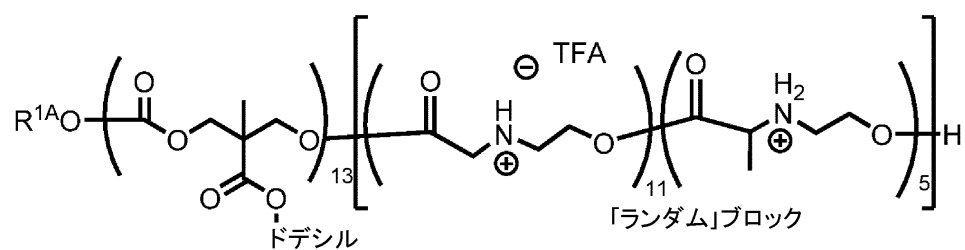
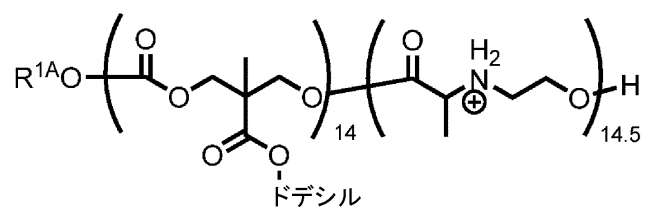
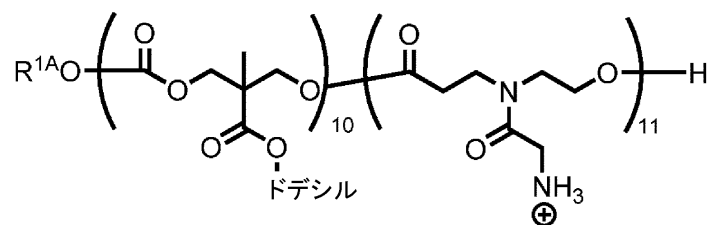
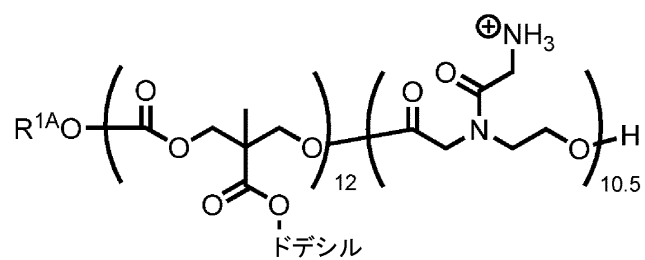
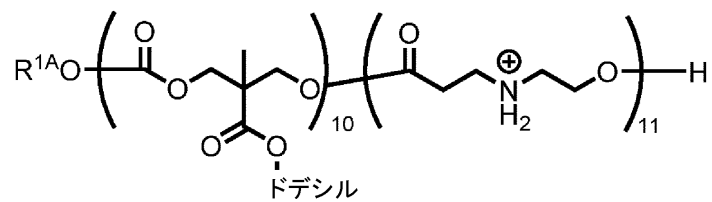
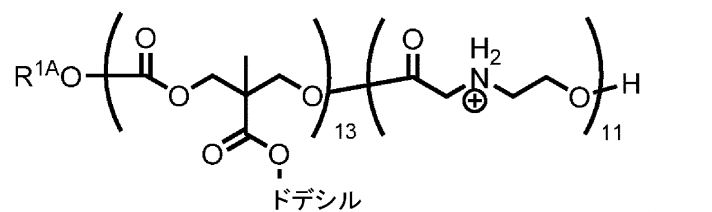
20

30

40

50

## 【化 1 8 3】



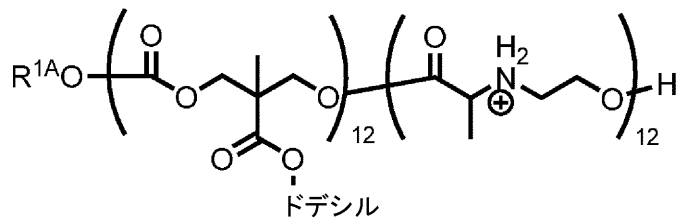
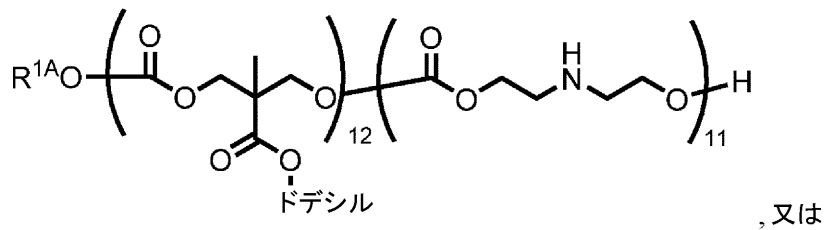
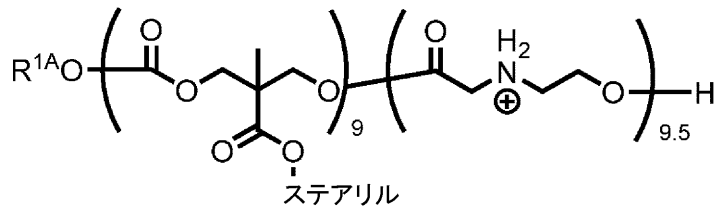
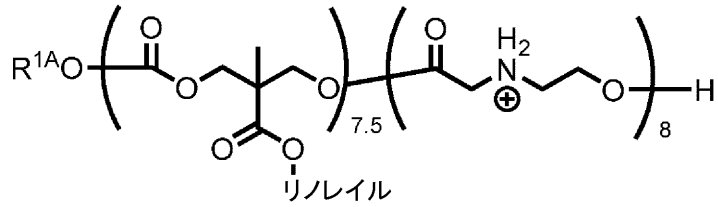
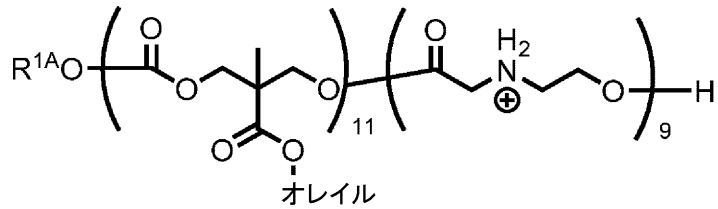
10

20

30

40

50



を有する。

【 0 7 4 4 】

核酸（例えば、ウイルスタンパク質をコードする配列を含むリボ核酸）は、第 1 のカチオン性両親媒性ポリマー及び第 2 の両親媒性ポリマーに非共有結合され得、

第 1 のカチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【 0 7 4 5 】

10

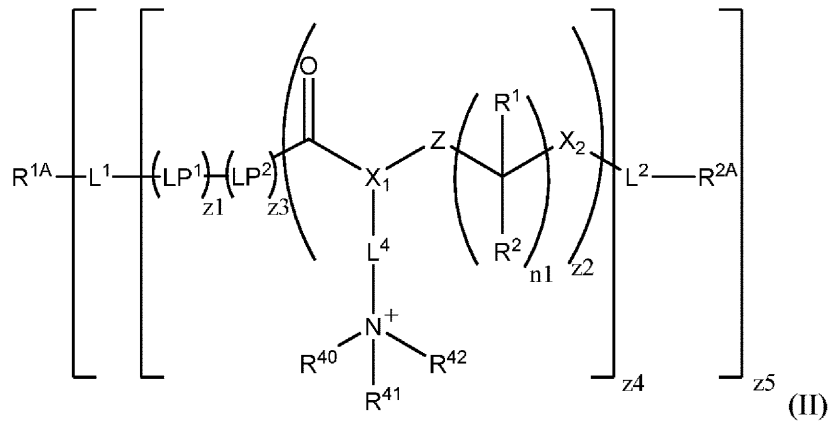
20

30

40

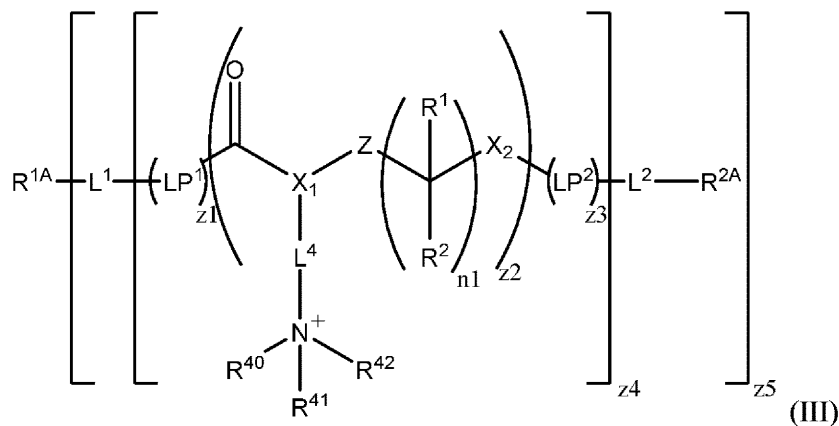
50

## 【化 1 8 4】



10

又は



20

〔式中、

$R^{1A}$  は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NHSO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

30

$R^{2A}$  は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、独立に、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、独立に、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NHSO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

40

50

$L^1$  及び  $L^2$  は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、

$LP^1$  及び  $LP^2$  は、独立に、親油性ポリマードメインであり、

$X^1$  は、結合、 $-C(R^5)(R^6)-$ 、 $-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ 、 $-O-C(R^5)(R^6)-$ 又は $-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ であり、

$X^2$  は、 $-O-$ 又は $-S-$ であり、

$R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$  及び  $R^8$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$L^4$  は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキレンであり、

$R^{40}$ 、 $R^{41}$  及び  $R^{42}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキルであり、

$Z$  は、 $-S-$ 、 $-S^+R^{13}-$ 、 $-NR^{13}-$ 又は $-N^+(R^{13})(H)-$ であり、

$R^{13}$  は、水素、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $=O$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $SO_2NH_2$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$n_1$  は、 $0 \sim 50$  の整数であり、

$z_1$  及び  $z_3$  は、独立に、 $0 \sim 100$  の整数であり、 $z_1$  又は  $z_3$  の少なくとも1つは0でなく、

$z_2$  は、 $2 \sim 100$  の整数であり、

$z_4$  は、 $1 \sim 100$  の整数であり、

$z_5$  は、 $1 \sim 10$  の整数であり、第1のカチオン性両親媒性ポリマーと第2の両親媒性ポリマーは異なっている。]

を有する。

【0746】

第1のカチオン性両親媒性ポリマーは、その実施形態を含めて本明細書で提供されるカチオン性両親媒性ポリマーのいずれかであってもよい。第2のカチオン性両親媒性ポリマーは、その実施形態を含めて本明細書で提供されるカチオン性両親媒性ポリマーのいずれかであってもよいし、本明細書で提供される複合体に有用な任意の他のカチオン性両親媒性ポリマーであってもよい。実施形態において、第2のカチオン性両親媒性ポリマーは、その全体があらゆる目的で参照により本明細書に組み込まれる、国際公開第2018/022930号として出願されたPCT出願番号第PCT/US17/44238号に記載されるカチオン性両親媒性ポリマーのいずれかである。

【0747】

実施形態において、第1のカチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0748】

10

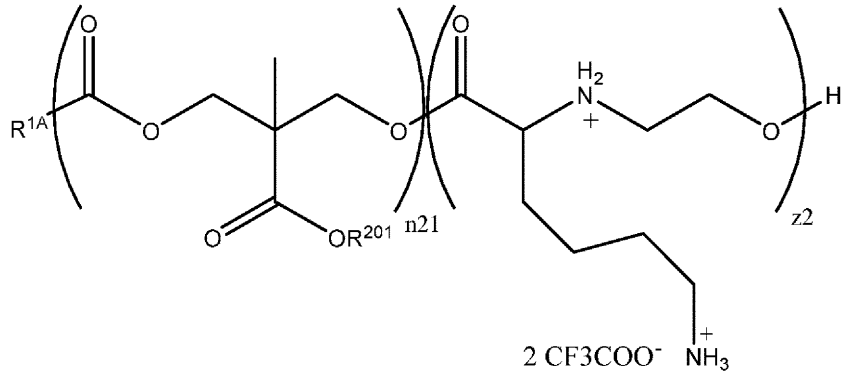
20

30

40

50

## 【化 1 8 5】



10

〔式中、 $n_{21}$ は、10～20の整数であり、

$R^{201}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$z_2$ は、独立に、3～10の整数である。〕  
を有する。

20

## 【0 7 4 9】

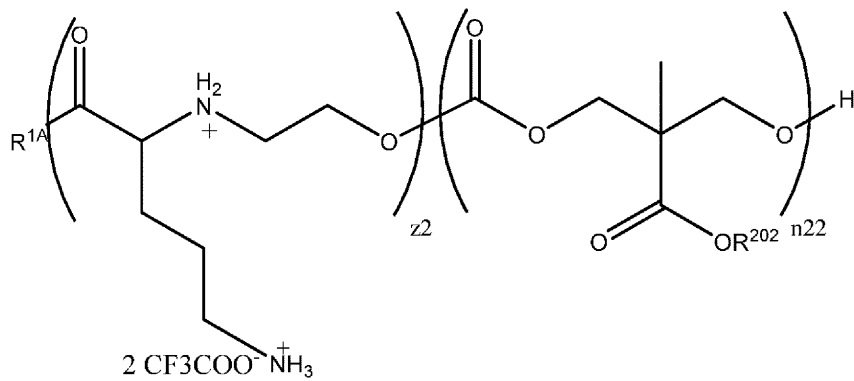
実施形態において、 $n_{21}$ は14であり、 $R^{201}$ はドデシルであり、 $z_2$ は8である。

## 【0 7 5 0】

実施形態において、第1のカチオン性両親媒性ポリマーは、式：

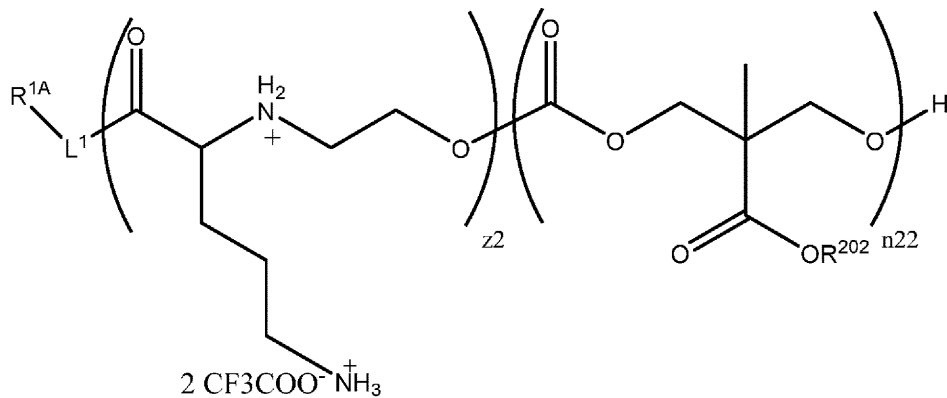
## 【0 7 5 1】

## 【化 1 8 6】



30

, 又は



40

〔式中、 $n_{22}$ は、10～35の整数であり、

50

$R^{202}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$z2$ は、独立に、5～20の整数である。]

を有する。

【0752】

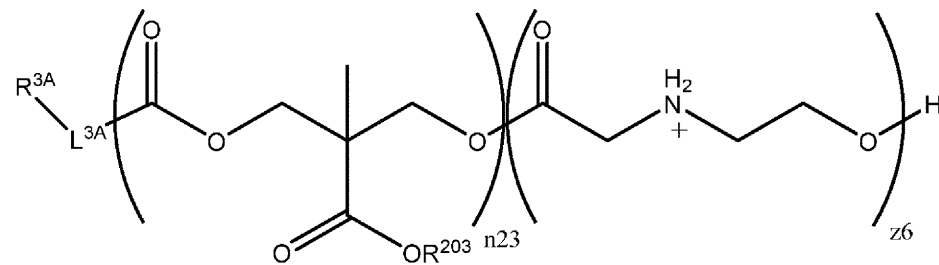
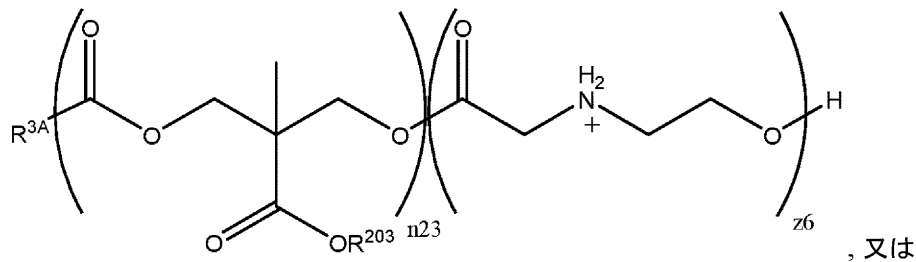
実施形態において、 $n22$ は14であり、 $R^{202}$ はドデシルであり、 $z2$ は7である。

【0753】

実施形態において、第2のカチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0754】

【化187】



【式中、 $n23$ は、1～100の整数であり、

$z6$ は、5～15の整数であり、

$R^{3A}$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$L^{3A}$ は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、

$R^{203}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシク

ロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。]

を有する。

【0755】

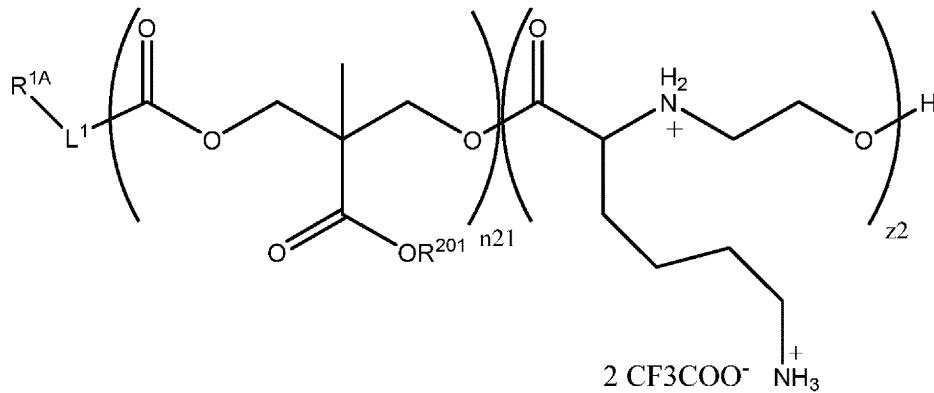
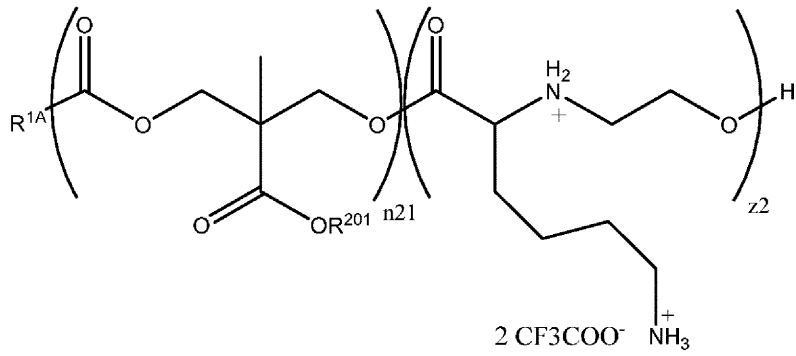
実施形態において、 $n_{23}$ は13であり、 $z_6$ は11であり、 $R^{203}$ はドデシルである。

【0756】

実施形態において、第1のカチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0757】

【化188】



[式中、 $n_{21}$ は14であり、 $R^{201}$ はドデシルであり、 $z_2$ は8である。]

を有し、第2のカチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0758】

10

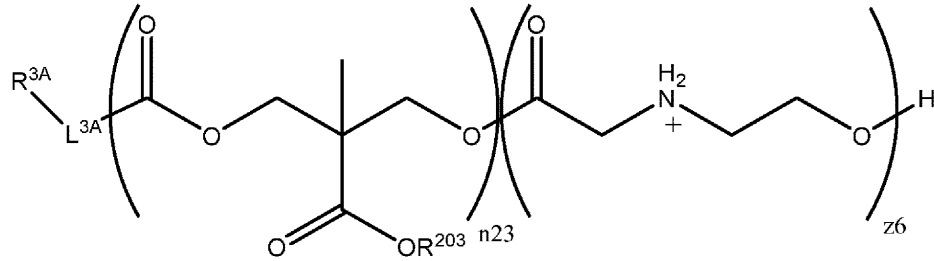
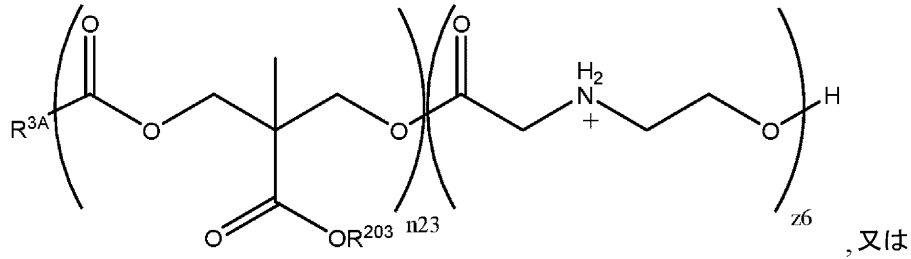
20

30

40

50

【化 1 8 9】



10

[式中、 $n_{23}$ は13であり、 $R^{203}$ はドデシルであり、 $z_6$ は11である。]

を有する。

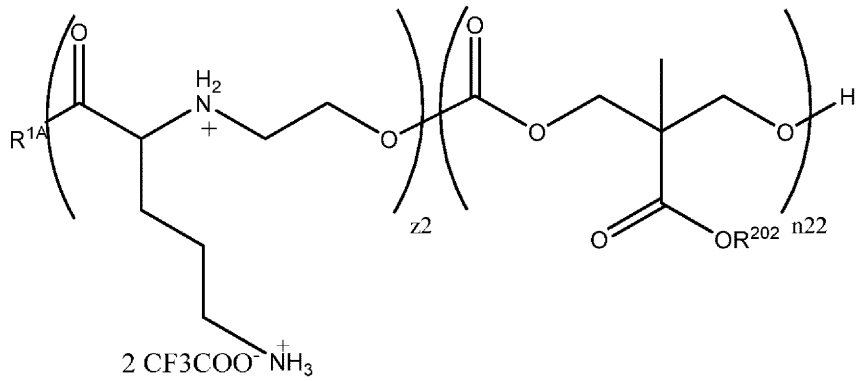
20

【0 7 5 9】

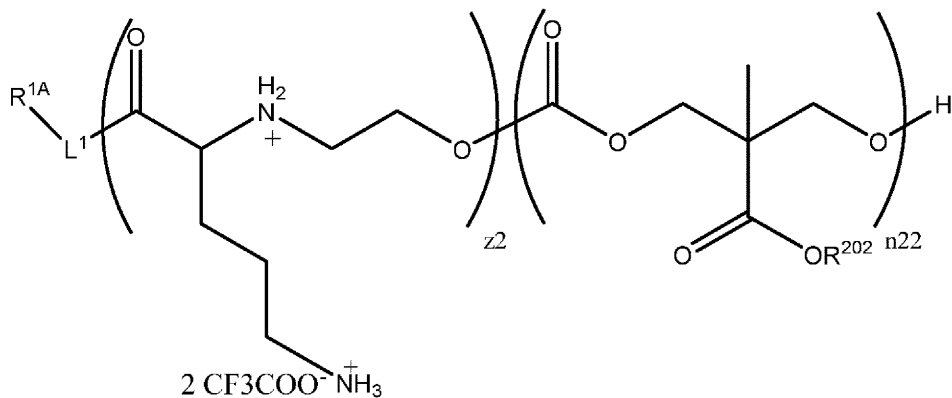
実施形態において、第1のカチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0 7 6 0】

【化 1 9 0】



30



40

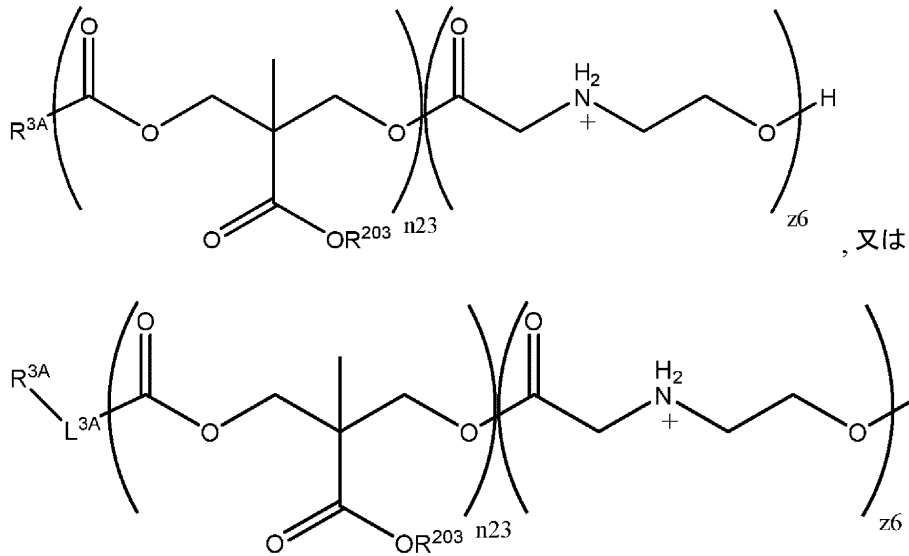
[式中、 $n_{22}$ は、10～35の整数であり、 $R^{202}$ はドデシルであり、 $z_2$ は3～15である。]

を有し、第2のカチオン性両親媒性ポリマーは、式：

【0 7 6 1】

50

## 【化 1 9 1】



10

[式中、 $n_{23}$ は13であり、 $R^{203}$ はドデシルであり、 $z_6$ は11である。]  
を有する。

20

## 【0762】

一態様では、実施形態を含めて本明細書に記載される複数の細胞透過性複合体を含むナノ粒子組成物が提供される。

## 【0763】

一態様では、実施形態を含めて本明細書に記載される細胞透過性複合体、及び薬学的賦形剤を含む医薬組成物が提供される。

## 【0764】

実施形態において、核酸は、DNA又はRNA、例えば、メッセンジャーRNA (mRNA) (例えば、ウイルスタンパク質をコードする配列を含むリボ核酸)、低分子干渉RNA (siRNA)、ショートヘアピンRNA (shRNA)、マイクロRNA (miRNA)、ガイドRNA (gRNA)、CRISPR RNA (crRNA)、トランス活性化RNA (tracrRNA)、プラスミドDNA (pDNA)、ミニサークルDNA、ゲノムDNA (gDNA)である。細胞透過性複合体は、タンパク質又はペプチドをさらに含んでもよい。

30

## 【0765】

本明細書に開示される細胞透過性複合体及びその実施形態は、複数の親油性部分を含んでもよい。

## 【0766】

本明細書に開示される細胞透過性複合体及びその実施形態は、複数の崩壊ドメインを含んでもよい。

## 【0767】

本明細書に開示される細胞透過性複合体及びその実施形態に加えて、実施形態において、上記カチオン性配列に対する対アニオンとしては、酢酸、トリフルオロ酢酸、トリフレート、塩化物、臭化物、硫酸、リン酸、コハク酸、又はクエン酸などの当該技術分野で公知の一般的な対イオンを挙げることができる。実施形態において、対アニオンは、酢酸、トリフルオロ酢酸、トリフレート、塩化物、臭化物、硫酸、リン酸、コハク酸、又はクエン酸である。

40

## 【0768】

別の態様では、核酸を細胞内にトランスフェクトする方法であって、細胞を、本明細書に開示される細胞透過性複合体、又はその実施形態と接触させることを含む方法が提供される。

50

## 【0769】

実施形態において、方法は、カチオン性両親媒性ポリマーを細胞内で分解させ、それによって分解生成物を形成することをさらに含む。実施形態において、分解生成物は、置換又は非置換のジケトピペラジンである。

## 【0770】

核酸を細胞内にトランスフェクトする方法の任意の実施形態に加えて、実施形態において、核酸はmRNAである。実施形態において、方法は、mRNAを細胞に発現させることをさらに含む。実施形態において、細胞は、生物の一部を形成する。実施形態において、生物はヒトである。

## 【0771】

とりわけ、インビトロとインビボの両方での、オリゴヌクレオチド及びポリアニオン性カーゴ、例えば、メッセンジャーRNA (mRNA) の複合体形成、保護、標的細胞、組織及び器官中への送達及び放出を可能にする又は増強する新規の材料及び戦略が本明細書で提供される。

## 【0772】

例えば、mRNA送達のために本明細書で開示される1つの戦略は、mRNAなどのポリアニオンを静電的に組み合わせ、mRNAカーゴを保護し容易に細胞に進入しオリゴヌクレオチドカーゴを独自に放出する非共有結合的巨分子粒子を作製することが発見された生分解性ポリ(カーボネート- $\alpha$ -アミノエステル)オリゴマー及びその変種を使用して達成される。次に、細胞中で放出されたmRNAは、細胞プロセスによりペプチド及びタンパク質に変換され、その配列及びしたがって活性がmRNA配列により決定される。

## 【0773】

したがって、例えば、核酸それ自体及び既知の遺伝子送達ベクターの使用よりも大幅に増加した改良された細胞トランスフェクション効率が提供される。mRNAの送達のために使用される材料及び戦略を使用すれば、siRNA、pDNA、shRNA及びgDNAなどの他のオリゴヌクレオチドも送達できる。mRNAの送達のために使用される材料及び戦略を利用すれば、ヘパリン、無機ポリリン酸塩及びイノシトールポリリン酸塩などの他のアニオン性生体分子をさらに送達できる(例えば、IP3、IP7、IP8)。この送達は、様々なヒト及び非ヒト細胞系を用いて、並びに筋肉内、静脈内、腹腔内、眼球内、鼻腔内、皮下、頬側及び局所を含むがこれらに限定されないインビボでの複数の投与様式を通じて達成することができる。本明細書で開示されるポリ(カーボネート- $\alpha$ -アミノエステル)は、例えば、生医学的治療、イメージング及び装置での応用のためのカスタマイズ可能な、生分解性、生体適合性材料として利用することができる。バレロラクトン、カプロラクトン、ラクチド及び環状カーボネートなどの生分解性、非毒性化合物材料と共重合すれば、カーゴ放出速度、疎水性、ターゲティングリガンドの取込み、体内分布及び毒性を含む物理的生物学特性を調整することができる。

## 【0774】

したがって、一部の実施形態において、本明細書で提供される薬剤は、環状アミノエステル及び環状メチルトリメチレンカーボネート(MTC)モノマーに由来してもよいオリゴマー、ポリマー、コオリゴマー及びコポリマーを含む。環状アミノエステルは、モルホリン-2-オン及びその相同体の基本構造を有し、考えられる複数の置換パターンは以下を含む。

(1) 様々な疎水性基(例えば、R=アルキル、アルケニル、アリール、ステロイド、ヘテロ環を含むポリ環)、カチオン基(例えば、グリシン、リシン、オルニチン、アルギニンなどのアミノ酸でのアシル化を含む、アンモニウム、ホスホニウム、スルホニウム、グアニジウム)、アニオン基(例えば、カルボン酸、硫酸、リン酸)又は親水性(例えば、PEG)カルバメートでのN-アシル化。N-Boc又はN-Cbz基でのモルホリン窒素の保護、続いて有機触媒開環オリゴマー化又は重合は、脱保護カチオン性ポリマー又はオリゴマー骨格を与えることができる。

10

20

30

40

50

(2) カーゴ複合体形成及びそれに続く生分解によるカーゴ放出を可能にするように選択される前述の考えられる官能基でのエステルカルボニルの隣のアルファアルキル化又は官能化

(3) 前述の官能基でのモルホリン窒素の近位のアルキル化

(4) 上記変更の組合せ

【0775】

さらに、コポリマー又はコオリゴマー（ブロック又は統計的な）は、2種以上のモルホリン-2-オンモノマーを混合することにより、又は本明細書に記載される1つ若しくは複数のモルホリン-2-オンモノマーと1つ若しくは複数の環状カーボネートモノマーの共重合（又はコオリゴマー化）により作製できる。これらのカーボネートモノマーは、類似する多様な側鎖官能基、とりわけ、親油基又はカチオン基を取り込んで、オリゴヌクレオチド安定性、送達及び放出特性を調節することができる。さらに、親油性官能基を取り込むために、ラクチド、グリコリド、バレロラクトン及び／又はカプロラクトンを含むがこれらに限定されない様々な他の市販の環状エステルモノマーを使用することができる。

【0776】

ポリアミノエステル及びポリ（カーボネート- $\alpha$ -アミノエステル）の合成は、モルホリン-2-オン及び環状カーボネートモノマーの開環重合及び／又は共重合によって達成される。N-Boc保護モルホリノン（MBoc）は、有機触媒系を使用して、高変換率（ $>85\%$ ）、調整可能な $M_n$ （ $1\text{ kDa} \sim 20\text{ kDa}$ ）、及び低分子量分布（ $M_w/M_n - 1.1 \sim 1.3$ ）に重合する。Boc基の重合後の脱保護により、カチオン性（ニプロトン性、第二級アミン）水溶性ポリマーが得られる（D20で $\sim 0.5\text{ M}$ 、 $>3$ 日間安定）。さらに、MBocとMTC-ドデシルカーボネートモノマーとの共重合とそれに続く脱保護は、狭い多分散性（ $<1.4\text{ PDI}$ ）及び調整可能なブロック長を有する高収率（ $>60\%$ ）で適度に荷電したカチオン性物質を生じさせる。ブロック長は、モノマーに対する開始剤の比によって制御される。

【0777】

ポリアミノエステル及びポリ（カーボネート- $\alpha$ -アミノエステル）は、生体適合性及び生分解性である。カチオン性ポリアミノエステルは、新規なpH及び緩衝液依存性崩壊機序を通じて、急速に分解し、一実施形態において、ビス-N-ヒドロキシエチル-2,5-ピペリジンジオンビス-N-ヒドロキシエチルグリシンを生成する。この予期せぬ分解は、処理濃度で無毒の生成物を生成し、単量体形態（さらなる加水分解の予想される生成物）は、メイラード反応におけるリン脂質修飾の天然バイオマーカーである。アミノエステル／カーボネートコポリマーのカーボネートセグメントは、加水分解及び脱炭酸によって分解し、その副生成物は以前に無毒であることが示されている。新しいポリ-及びオリゴ（カーボネート- $\alpha$ -アミノエステル）は、その独自の分解機序により、遺伝子送達剤として予想外の性能を示す。これらの新材料は、中程度の理論電荷比（例えば、約10:1）で、mRNAを非共有結合的に複合、保護、送達、及び放出し、並外れたトランスフェクション効率（場合によっては $>99\%$ ）とインビトロ及びインビボでの遺伝子発現の堅牢な誘導をもたらす。この戦略は、異なる長さのmRNA分子の送達に有効である（1000ヌクレオチド及び2000ヌクレオチド転写物を試験）。一実施形態において、遺伝子送達は、カチオン性ポリ（カーボネート- $\alpha$ -アミノエステル）をアニオン性カーゴと製剤化して、サイズが200～400nmの自己組織化粒子を形成することによって達成される。これらの粒子は、細胞内遺伝子送達に必要な時間スケールで安定しており、細胞内でオリゴヌクレオチドカーゴを1回放出する。特定の理論に束縛されないが、これらの物質は、ビス-N-ヒドロキシエチル-2,5-ピペリジンジオン生成物ビス-N-ヒドロキシエチルグリシンに分解する。mRNA／両親媒性物質複合体による様々なヒト及び非ヒト細胞株（HeLa、HaCat、J774、HEK293など）の処理により、タンパク質発現（例えば、GFP、ルシフェラーゼ）がインビトロ及びインビボで複数の投与様式（筋肉内及び静脈内で試験された。）を通じて誘導される。

【0778】

タンパク質発現は、フローサイトメトリー及び蛍光顕微鏡（GFP）、並びに生物発光（ホタルルシフェラーゼ）によって蛍光レポーター遺伝子をコードするmRNAを使用して測定されている。ポリ（カーボネート- $\alpha$ -アミノエステル）は、市販の標準であるLipofectamine 2000、及びsiRNA送達について前述した他の多くのリード化合物よりも効率的なトランスフェクション剤であることが示されている。

【0779】

実施形態において、遺伝子送達は、得られた複合体の安定性及びサイズを調整し、細胞取り込みを増加させ、複合体からのmRNA放出の速度を調整し、カーゴmRNAの発現を増強するために選択された第3の成分の存在下で、mRNAカーゴを有する混合両親媒性オリゴマーの製剤化によって達成される。第3の成分として、 $Zn^{+2}$ 、 $Mg^{+2}$ 、 $Ca^{+2}$ などの配位金属、炭水化物などの動的非共有結合架橋リンカー、 $Cl^{-}$ 、 $AcO^{-}$ 、コハク酸塩、及びクエン酸塩などの対イオン、並びに脂質及びPEGなどの溶解調節剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【0780】

この技術の適用には、次のものが含まれる。臨床適用：（1a）核酸トランスフェクションベクター：DNAとRNAの利用は、長年にわたって遺伝病の処置に提案されてきたが、遺伝子治療の臨床使用に対する最大の障害は、依然として、オリゴヌクレオチドカーゴの効果的な送達である。（1b）感染症を防止するためのRNAワクチン接種：mRNAベースのワクチンは、DNAワクチンよりも高い安全性の利点を示すが、臨床的には現在、細胞へのmRNA送達によって制限されている。この適用は現在臨床的に研究されているが、最先端の技術では、電気穿孔によるインビトロトランスフェクションのために、患者から初代細胞を除去し、その後、形質転換細胞を患者に再導入する必要がある。この方法は、インビボでmRNA発現を直接誘導する本発明者らの送達技術を使用して大幅に改善することができる。（1c）幹細胞誘導：4つの既知の転写イオン因子の発現を誘導する本発明者らの技術を使用することにより、未分化幹細胞において多能性を誘導することができる。ポリ（カーボネート- $\alpha$ -アミノエステル）送達ビヒクルのモジュール性により、4つの必要なmRNA転写物全てを同時に簡単に送達することができる。（1）培養細胞のインビトロトランスフェクション、CRISPR/Cas9を使用した遺伝子編集、遺伝子発現（mRNA翻訳）及び遺伝子ノックダウン（RNAi）の組合せを使用した経路の検証など、基礎研究適用が含まれるが、これらに限定されない。がん免疫療法、アレルギー耐性、タンパク質補充療法、遺伝子編集、診断、

本開示の複合体、組成物及び方法の利点として、例えば、以下を含み得る：

（1）Lipofectamine 2000などの市販のトランスフェクション剤よりもインビトロでのmRNAトランスフェクション効率が高く、J774マクロファージなどのトランスフェクションが困難な細胞株においても、それによって忍容性を高めながら有効性を改善させる。

【0781】

（2）インビボ（BALB/cマウス）での堅牢な遺伝子発現により、この技術の臨床的適用性を実証し、それによってリポフェクタミンなどのカチオン性担体の毒性を回避し、遺伝子送達及び発現のエクスピボ方法の臨床的代替手段を提供する。

【0782】

（3）差示的なインビボ遺伝子発現は、静脈内注射時に肝臓と脾臓の発現が優勢であり、局所発現は、筋肉内（例えば）送達で、投与部位で持続する、異なる投与経路を使用して達成することができる。経鼻送達は、粘膜及び／又は肺の取り込みへの経路を提供する。

【0783】

（4）効率的な遺伝子発現を可能にする既知の代謝物（ビス-ヒドロキシエチルグリシン）への迅速な分解。

【0784】

（5）低pH環境（皮膚や腸管など）では安定性を示すが、より高いpH環境では分

10

20

30

40

50

解するオリゴヌクレオチド含有粒子など、pH依存的にmRNAを放出する。

【0785】

(6) 金属フリー合成により材料に容易にアクセスし、目標の分子量を有し、分散度を高度に制御するオリゴマー、ポリマー、ブロック／統計的コポリマー又はコオリゴマーを作製する。

【0786】

(7) 材料は、形成された粒子の表面に、葉酸やビオチンなどのターゲティングリガンドを添加すること、又はモノクローナル抗体に付着させることによって、標的化に適している。

【0787】

(8) カチオン性ポリアミノエステルドメインの単離可能な中性小分子への特異的な崩壊機序は、ヒドロキシエチルグリシンの環状二量体である生体適合性／生分解性生成物であるビス-N-ヒドロキシエチル-2, 5-ピペリジンジオンの形成をもたらす。

【0788】

複合体、組成物及び方法の特徴として、以下のものが挙げられる。実施形態において、ポリ(カーボネート-co-アミノエステル)ポリ(アミノエステル)及びそれに由来するカチオン性物質は、以下の特性及び機能の少なくとも1つを示すことができる：

(1) 生体適合性／生分解性ヒドロキシエチルグリシン二量体をもたらすカチオン性ポリアミノエステルの特異的なpH応答性崩壊機序；オリゴヌクレオチドカーゴの放出をもたらすこれらの材料のドメインは、カチオン性アンモニウムの不可逆的な中和をもたらして、アニオン性カーゴの放出を迅速に引き起こす予期せぬ分子内結合形成事象を介して生じるという点で、他の応答性生体材料の中でも固有である。

【0789】

(2) ビス-N-ヒドロキシエチル-2, 5-ピペリクラ-7-イネジオンなどの分子内分解の単離可能な生成物で、さらにヒドロキシエチルグリシンに分解される。

【0790】

(3) アニオン性カーゴが送達のために静電的に粒子に包装され、細胞内在化に続いて急速に放出されるように、活動の時間的ウィンドウを提供する。

【0791】

(4) 巨大分子構造の制御で複数のラクトンモノマーの共重合が可能である。官能化モノマーは、ブロック又は統計的構造で重合することができ、これにより、環状カーボネート又はリン酸塩などの複数のモノマータイプの組合せがさらに可能になる。

【0792】

(5) インビボでのこれらの物質の使用は、局所的又は全身的に投与された場合でも、急性毒性なしに起こり得、治療応答に必要な濃度で高い忍容性を示す。

【0793】

(6) 遺伝子送達ビヒクルとして使用すると、ポリ(カーボネート-co-アミノエステル)はメッセンジャーRNAを含むオリゴヌクレオチドの効率的な送達及び放出を可能にする。MTC-ドデシルカーボネートとN-Bocモルホリン-2-オンモノマーとの両親媒性ブロックコオリゴマーは、mRNAなどの大きなアニオン性カーゴと製剤化されて、安定した400nm未満の粒子を形成することができる。これらの得られた粒子は、細胞によって効果的に取り込まれ、それらのmRNAカーゴを放出し、堅牢な遺伝子発現をもたらすことができる。この概念は、複数の細胞株でインビトロに実証されているだけでなく、マウス研究でもインビボで実証されている。これらの材料の有効性は、中性小分子ビス-N-ヒドロキシエチル-2, 5-ピペリジンジオンビス-N-ヒドロキシエチルグリシンを形成するカチオン性アミノエステルブロックのpH応答性転位によることが示されている。他のカチオン性遺伝子送達ビヒクルは、以前から報告されているが、これらのオリゴ(カーボネート-co-アミノエステル)は、細胞の取り込みに適した時間スケールで、mRNA(又は他のオリゴヌクレオチド)カーゴを放出する独自の能力とその忍容性により、固有であり、トップパーformerの1つである。

10

20

30

40

50

## 【0794】

(7) mRNA送達の実験的に決定された最適長は、MTCコードデシルカーボネート及びN-Bocモルホリン-2-オンドメインの両方について、平均DP12のジブロックが最適に機能するという点で、我々の先行技術から離れて教示している。この長さは、PEIなどの市販のカチオン性ポリアミンベクターよりもはるかに短く、また、本発明者の以前に発見されたsiRNA送達ベクター(WO2013036532A1号及びPNAS 2012、109(33)、13171~13176頁を参照されたい。)よりも長い。

## 【0795】

一態様において、核酸を細胞(例えば、肺細胞)にトランスフェクトする方法が本明細書によって提供される。この方法は、細胞を本明細書に記載される細胞透過性複合体と接触させることを含み、その実施形態を含む。実施形態において、方法は、細胞内で遺伝子編集を引き起こす。実施形態において、遺伝子編集は、単離又は操作されたヌクレアーゼ系を使用して、DNAが生物のゲノム中に挿入される、欠失される又は置き換えられる遺伝子工学の一種であるゲノム編集(genome-editing)又はゲノム編集(genome editing)を包含することができる。ある特定の実施形態において、本明細書で開示される方法は、トランスフェクトされた細胞において遺伝子編集を引き起こすことができる遺伝的ツール又はシステムを送達するために使用することができる。遺伝子編集のための遺伝的ツール又はシステムのいくつかの非限定的な例として、CRISPR-Casシステム及びトランスポゾンシステムが含まれる。

## 【0796】

一態様において、一部の実施形態によるトランスフェクション方法によってトランスフェクトされた核酸(すなわちカーゴ核酸)は、細胞のゲノム中の標的配列とハイブリダイズするCRISPR-CasシステムガイドRNAをコードする第1のヌクレオチド配列及びCas9タンパク質をコードする第2のヌクレオチド配列とを有する1つ以上のベクターを有することができる。ある特定の実施形態において、第1及び第2のヌクレオチド配列は、同じ又は異なるベクター上に位置することができる。

## 【0797】

一般に、CRISPR/Cas9を採用したシステムは、遺伝子編集のための高度な忠実度と比較的単純な構造を提供する。システムは、その特異性について、標的配列及びプロトスペーサー隣接モチーフ(PAM)の2つの要因に依存する可能性がある。標的配列は、例えばcrRNAアレイ中の各CRISPR遺伝子座の一部として20塩基長であり得る。crRNAアレイは、複数の固有の標的配列を有することができる。Cas9タンパク質は、宿主DNA上の塩基対と結合する配列を利用することにより、宿主のゲノム上の正しい位置を選択することができる。宿主ゲノム上のPAM配列は、Cas9によって認識することができる。エレメントが、例えば1つ以上のプラスミドに組み立てられ、細胞にトランスフェクトされると、crRNAの助けを借りて、Cas9タンパク質は宿主細胞のDNAの正しい配列を見つけることができ、Cas9バリエーションに応じて、DNAに一本鎖又は二本鎖の切断を作製する。宿主DNAの適切な間隔の切断は、相同性指向修復を引き起こすことができる。DNA修復鋳型を提供することで、ゲノム内の意図された位置に特定のDNA配列を挿入することができる。組み込まれると、新しい配列は、細胞の遺伝物質の一部になり、その娘細胞に渡すことができる。有効なsgRNA配列の設計を支援するために、多くのオンラインツールが当該技術分野で利用可能である。一部の実施形態によれば、本明細書のある特定の実施形態による方法及び組成物は、CRISPR-CasシステムガイドRNAをコードするヌクレオチド配列及びCas9タンパク質をコードするヌクレオチド配列を送達又はトランスフェクトして、トランスフェクトされた細胞に遺伝子編集を誘導することができる。

## 【0798】

一部の実施形態において、ある特定の実施形態によるトランスフェクション方法によってトランスフェクトされたカーゴ核酸は、CRISPR RNA(crRNA)を有する

ことができる。一部の実施形態において、この *crRNA* は、*CRISPR-Cas* システムガイドRNAをコードする第1のヌクレオチド配列の同じベクター中にあることができる。

【0799】

一部の実施形態において、ある特定の実施形態によるトランスフェクション方法によってトランスフェクトされたカーゴ核酸は、トランス活性化RNA (*tracrRNA*) を有することができる。一部の実施形態において、この *tracrRNA* は、*Cas9* タンパク質をコードする第2のヌクレオチド配列の同じベクター中にあることができる。

【0800】

一部の実施形態において、一部の実施形態によるトランスフェクション方法に利用される *Cas9* タンパク質は、トランスフェクトされた細胞における発現のために最適化されたコドンであり得る。

【0801】

別の態様において、一部の実施形態によるトランスフェクション方法によってトランスフェクトされた核酸（すなわちカーゴ核酸）は、トランスポサゼをコードする第1のヌクレオチド配列及びトランスポサゼ認識部位によって挟まれた目的の遺伝子の核酸配列を有する第2のヌクレオチド配列を有する1つ以上のベクターを有することができる。一部の実施形態において、第1及び第2のヌクレオチド配列は、同じ又は異なるベクター上に位置することができる。

【0802】

転位性要素（又はトランスポゾン）は、一般に、ゲノム内の位置を変えることができるDNA配列を指し、時には突然変異を作製又は逆転させ、細胞の遺伝的構成及びゲノムサイズを変更する。トランスポサゼは一般に、トランスポゾンに結合し、例えばカットアンドペースト機序又は複製転位機序によってトランスポゾンのゲノムの別の部分への移動を触媒することができる酵素を指す。トランスポサゼ及びトランスポサゼ認識部位に挟まれた目的の遺伝子を細胞内に導入すると、目的の遺伝子の細胞ゲノムへの挿入を誘導することができる。一部の実施形態によれば、本明細書のある特定の実施形態による方法及び組成物は、トランスフェクトされた細胞において遺伝子編集を誘導するために、トランスポサゼ及び目的の遺伝子をコードする核酸を送達又はトランスフェクトすることができる。

【0803】

実施形態において、一部の実施形態によるトランスフェクション方法において使用されるトランスポサゼは、ゲノム配列を認識して切り出すことができる。他の一部の実施形態において、トランスフェクション方法を介してトランスフェクトされる目的の遺伝子の核酸配列を、トランスフェクトされた細胞のゲノムに組み込むことができる。

【0804】

実施形態において、一部の実施形態によるトランスフェクション方法を介して行われる遺伝子編集は、以下：DNA欠失、遺伝子破壊、DNA挿入、DNA反転、点突然変異、DNA置き換え、ノックイン、及びノックダウンの1つ以上を引き起こすことができる。

【0805】

一態様において、核酸を細胞にトランスフェクトする方法が提供される。この方法は、細胞を、その実施形態を含めて本明細書に提供される細胞透過性複合体と接触させることを含む。実施形態において、細胞は肺細胞である。

【0806】

ワクチン組成物及びウイルス性疾患の処置方法

ある態様において、実施形態を含めて本明細書に記載される細胞透過性複合体を含むワクチン組成物が提供される。本明細書に提供される細胞透過性複合体は、ワクチンに特に有用であり、ワクチンは、その実施形態を含めて本明細書に提供される、ウイルスタンパク質をコードする配列を含むリボ核酸、核酸アジュバント及びカチオン性両親媒性ポリマーを含む。

10

20

30

40

50

## 【0807】

ある態様において、そのような処置又は防止を必要とする対象におけるウイルス性疾患を処置又は防止する方法が提供され、方法は、実施形態を含めて本明細書に記載される細胞透過性複合体の治療的又は予防有効量を、対象に投与することを含む。

## 【0808】

ある態様において、それを必要とする対象におけるウイルス性疾患を処置する方法であって、実施形態を含めて本明細書に記載される細胞透過性複合体の治療有効量及び薬学的担体を対象に投与し、それによって対象におけるウイルス性疾患を処置することを含む方法が提供される。

## 【0809】

本明細書に提供される細胞透過性複合体は、ワクチンに特に有用であり、ワクチンは、その実施形態を含めて本明細書に提供される、ウイルスタンパク質をコードする配列を含むリボ核酸、核酸アジュバント及びカチオン性両親媒性ポリマーを含む。したがって、ある態様において、ウイルス性疾患に罹患し得る宿主を免疫化するための方法であって、ウイルスタンパク質又はその機能的断片に対する抗体が産生されるような条件下で、実施形態を含めて本明細書に記載される細胞透過性複合体を宿主に投与することを含む方法が提供される。ワクチンに使用されるアジュバントとカチオン性両親媒性ポリマーの組合せに基づいて、特定のクラスのIgGアイソタイプが、ワクチンを投与されている対象に産生される。実施形態において、核酸アジュバントは、配列番号1 (t c c a t g a c g t t c c t g a c g t t) の配列を有し、産生される抗体は、マウスIgG2抗体 (例えば、IgG2a及びIgG2b) である。実施形態において、核酸アジュバントは配列番号1の配列 (t c c a t g a c g t t c c t g a c g t t) を有し、産生される抗体は、ヒトIgG1抗体である。さらなる実施形態において、細胞透過性複合体は静脈内投与される。

## 【0810】

実施形態において、核酸アジュバントは、配列番号2 (t c g a a c g t t c g a a c g t t c g a a c g t t c g a a t) の配列を有し、産生される抗体は、IgG1、IgG2a、IgG2b及びIgG3抗体であり、IgG1抗体の量は、IgG2a及びIgG2b抗体の量より少ない。さらなる実施形態において、細胞透過性複合体は静脈内投与される。

## 【0811】

実施形態において、抗体はIgG2抗体である。

## 【0812】

実施形態において、ウイルス性疾患はSARSである。実施形態において、ウイルス性疾患はCOVID-19である。実施形態において、ウイルス性疾患はMERSである。

## 【0813】

## 医薬組成物

ある態様において、実施形態を含めて本明細書に記載される細胞透過性複合体の治療有効量及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物が提供される。

## 【0814】

実施形態において、本明細書に提供される組成物は、治療目的で使用される。一部の実施形態において、治療目的は、予防目的 (疾患又は状態の発症を防止する目的) 及び処置目的 (既存の疾患又は状態を処置する目的) を包含する。組成物がカチオン性両親媒性ポリマーを有するがカーゴ核酸を有しない場合、治療効果を発揮することができるカーゴ核酸は、対象への投与前に、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合で結合することができる。

## 【0815】

一部の実施形態において、組成物は、ワクチン又はその組成物、すなわちワクチン及び任意選択的に薬学的に許容される担体を含有する組成物であり得る。ワクチン又はワクチン組成物は、感染症 (例えば、COVID-19) 若しくは状態、又は疾患若しくは状態に

10

20

30

40

50

関連する病原体を防止及び／又は処置するために使用することができる。一部の実施形態において、ワクチン又はワクチン組成物は、カチオン性両親媒性ポリマー及びカーゴ核酸を有する細胞透過性複合体を含有する。一部の実施形態において、細胞透過性複合体は、対象に投与された場合、免疫応答、すなわち免疫原性を誘導することができる。この免疫原性は、少なくとも部分的に、カーゴ核酸によってコードされる1つ以上の抗原ペプチドがトランスフェクトされた細胞において発現されるときに誘導され得る。

#### 【0816】

一態様において、本明細書に開示されるカチオン性両親媒性ポリマー又は細胞透過性複合体は、医薬組成物に製剤化することができる。カチオン性両親媒性ポリマーは、pH感受性の崩壊ドメインを有することができる。一実施形態において、医薬組成物は、薬学的に許容される賦形剤及び／又は薬学的に許容される担体をさらに含有することができる。

10

#### 【0817】

一部の実施形態において、医薬組成物は、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合した核酸を、有効成分として有する細胞透過性複合体及び核酸アジュバントを有することができ、投与経路に応じて薬学的に許容される賦形剤又は添加剤をさらに含有する。このような賦形剤又は添加剤として、水、薬学的に許容される有機溶媒、コラーゲン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリルナトリウム、アルギン酸ナトリウム、水溶性デキストラン、カルボキシメチルデンプンナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、エチルセルロース、キサンタンガム、アラビアゴム、カゼイン、ゼラチン、寒天、ジグリセリン、グリセリン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ワセリン、パラフィン、ステアリルアルコール、ステアリン酸、ヒト血清アルブミン(HSA)、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、薬学的に許容される界面活性剤などが挙げられる。使用される添加剤は、限定するものではないが、本開示の剤形に応じて、適宜、上記又はそれらの組合せから選択することができる。

20

#### 【0818】

一部の実施形態において、薬学的に許容される担体は、核酸アジュバントである。一部の例において、核酸アジュバントとして、限定するものではないが、トール様受容体(TLR)のアゴニスト、STING経路のアゴニスト、CD40、OX40、CTLA4、PD1、又はPD1-Lに対するアゴニスト抗体、フロイントアジュバント、CD40、OX40、CD137、PD1、CTLA4に対するプリオスタチン及びリガンド並びにそれらの任意の組合せを含むことができる。一部の実施形態において、核酸アジュバントは、細胞透過性複合体を対象に同時投与する場合に誘導される免疫原性を増大することができる。一部の実施形態において、核酸アジュバントは、対象に、複合体と同時投与した場合に、抗体クラススイッチングを誘導することができる。

30

#### 【0819】

本開示の医薬組成物の製剤は、選択された投与経路(例えば、溶液、エマルジョン)に応じて変化し得る。投与経路は、例えば、筋肉内、皮下、静脈内、リンパ内、皮下、筋肉内、眼内、局所皮膚、局所結膜、経口、膀胱内(膀胱)、肛門内及び腔内であり得る。

#### 【0820】

一部の実施形態において、組成物は、凍結保護剤を含むことができる。凍結保護剤の非限定的な例として、グリコール(例えば、エチレングリコール、プロピレングリコール、及びグリセロール)、ジメチルスルホキシド(DMSO)、ホルムアミド、スクロース、トレハロース、デキストロース、及びそれらの任意の組合せが含まれる。

40

#### 【0821】

一部の実施形態において、製剤は、制御放出製剤である。用語「制御放出製剤」は、徐放性及び時間放出製剤を含む。制御放出製剤は、当該技術分野において周知である。これらには、組成物の持続的、周期的、パルスの、又は遅延放出を可能にする賦形剤が含まれる。制御放出製剤として、限定するものではないが、マトリックスへの組成物の埋め込み、腸溶性コーティング、マイクロカプセル化、ゲル及びヒドロゲル、インプラント並びに

50

組成物の制御放出を可能にする任意の他の製剤が挙げられる。

【0822】

一態様において、細胞透過性複合体又はその組成物を有する部品のキットが提供される。別の態様において、核酸又はその組成物に結合していないカチオン性両親媒性ポリマーを有する部分のキットが提供される。キットは、カチオン性両親媒性ポリマー及びカーゴ核酸を使用して、細胞透過性複合体を作製するためのプロトコルを記述する文書又は説明書をさらに含むことができる。キットの文書又は使用説明書には、それを必要とする対象に組成物を投与するためのプロトコルも記載することができる。

【0823】

本明細書に記載される治療用製剤は、有効成分、すなわち所望の程度の純度を有する免疫原性物質を、任意選択の生理学的に許容される担体、賦形剤又は安定剤と混合することによって、保存のために調製することができる。許容される担体、賦形剤又は安定剤は、用いられる投与量及び濃度でレシピエントに対して無毒であり得、リン酸、クエン酸、及び他の有機酸などの緩衝剤を含み得；アスコルビン酸及びメチオニンを含む抗酸化剤；保存剤（例えばオクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；ヘキサメトニウムクロリド；ベンザルコニウムクロリド、ベンゼトニウムクロリド；フェノール、ブチル又はベンジルアルコール；メチル又はプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；及びm-クレゾール）；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、又はリシンなどのアミノ酸；単糖類、二糖類、及びグルコース、マンノース、又はデキストリンを含む他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトールなどの糖類。ナトリウムなどの塩を形成する対イオン；金属錯体（例えば、Znタンパク質複合体）；並びに／又はTWEEN（登録商標）、PLURONICS（登録商標）、若しくはポリエチレングリコール（PEG）などの非イオン性界面活性剤であってもよい。

【0824】

本明細書の製剤はまた、2つ以上の活性化合物（例えば、細胞透過性複合体を有する免疫原性薬剤に加えて第2の活性剤）を含有してもよく、これらは互いに悪影響を及ぼさない相補的な活性のために選択され得る。そのような分子は、意図する目的に有効となり得る量で適宜組み合わせ存在することができる。

【0825】

免疫応答を誘導する方法

別の態様において、対象において免疫応答を誘導する方法が本明細書に提供される。一部の実施形態において、方法は、細胞透過性複合体を使用して、疾患又は状態を処置及び／又は防止することができる。方法は一般に、治療有効量の細胞透過性複合体又は本明細書に記載される細胞透過性複合体を有する医薬組成物を、単独で（例えば、単独療法において）又は1つ以上の追加の成分、例えば薬学的に許容される賦形剤及び／又は追加の治療剤と組み合わせ（例えば、併用療法で）それを必要とする対象に投与することを含む。

【0826】

一部の実施形態において、細胞透過性複合体又は細胞透過性複合体を有するその医薬組成物は、細胞透過性複合体又はその医薬組成物で、投与された対象の免疫応答を誘導し得るワクチンとして使用することができる。

【0827】

一部の実施形態において、ワクチンは、ワクチンが対象における疾患又は状態の発生の可能性を防止又は低減することができるように、予防活性を有することができる。実施形態において、ワクチンが予防目的で使用される場合、対象は、疾患又は状態を有していない動物、例えば、疾患若しくは状態と診断されなかった、又は疾患若しくは状態に関連する顕著な症状を有しないヒトであり得る。いくつかの他の実施形態において、ワクチンは

10

20

30

40

50

、ワクチンが疾患又は状態（例えば、ウイルス性疾患）を処置するために使用され得るような治療効果を有する。治療用ワクチンのいくつかの例として、ウイルス性疾患（COVID-19など）を発症している、又は発症するリスクがある患者に投与することができるウイルスワクチンが挙げられるが、これらに限定されない。ウイルスワクチンは、1つ以上の抗ウイルス活性、例えばウイルス粒子数の減少、ウイルス複製及び感染力の減少及び／又は阻害を示すことができる。一部の他の実施形態において、ウイルスワクチンは、予防目的のために、特に感染の素因があると考えられるが、現在ウイルス性疾患を有していない対象に使用される。予防ワクチンは、素因のある対象に投与し、対象におけるウイルス性疾患の発生の可能性を防止又は低減することができる。

#### 【0828】

10

一態様において、本明細書の開示は、それを必要とする対象において疾患に対する免疫応答を誘導する方法を提供する。この方法は、有効量の細胞透過性複合体を対象に投与することを含むことができる。

#### 【0829】

一部の実施形態において、細胞透過性複合体を、複合体を投与された対象に免疫応答を誘導することができるワクチンとして使用することができる。複合体は、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合で結合した核酸を含むことができ、カチオン性両親媒性ポリマーは、pH感受性の崩壊ドメインを有することができる。

#### 【0830】

実施形態において、ワクチン又はその組成物に含まれる核酸は、ウイルスタンパク質又はその断片をコードする核酸配列であり得る。例えば、感染症が懸念される場合、ワクチンに含まれる核酸は、感染症の病原体（例えば病原性ウイルス）に発現することが知られている1つ以上のペプチドをコードすることができ、対象に投与された場合、免疫応答を誘導することができる。実施形態において、ウイルスタンパク質は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の可溶性受容体結合ドメイン（RBD）である。ウイルスタンパク質をコードする核酸が対象に投与され、対象のある特定の細胞に送達（すなわちトランスフェクト）されると、トランスフェクトされた核酸は、最終的に翻訳され、抗原ペプチドに発現することができる。発現されたペプチドは抗原性又は免疫原性であるため、発現されたペプチドに対する免疫応答を対象に誘導することができる。対象は、このワクチン接種を介して獲得免疫応答を有することができ、適応免疫は、免疫応答によって標的とされる免疫原性ペプチドに対する初期応答の後に、免疫学的記憶を誘発することができ、その後の遭遇時にその標的に対する応答の増強をもたらし、予防効果を示す。

20

30

#### 【0831】

一部の実施形態において、ワクチン接種は、単一のワクチン組成物中に核酸の2つの別個のタイプ（又は配列）を送達することによって、治療効果及び予防効果の二重活性を提供することができる。2つの別個の核酸は、2つの異なる免疫原性ペプチドをコードすることができる。したがって、一部の実施形態において、ワクチン組成物は、（1）既存の疾患又は状態に対して、より即時の処置効果を誘導することができる第1の免疫原性ペプチドをコードする第1の核酸、及び（2）異なる疾患又は状態の将来の発生のために、対象に適応免疫を誘導することを目的とした異なる第2の免疫原性ペプチドをコードする第2の核酸をトランスフェクトすることができる。一部の実施形態において、ワクチンは、2つ以上の異なる核酸を対象に送達することができ、各核酸はそれぞれ独立に治療効果又は予防効果を示す。

40

#### 【0832】

実施形態において、ワクチン組成物は、2つ以上の異なるタイプ（又は異なる式）のカチオン性両親媒性ポリマーを有することができる。代替的に、ワクチン組成物は、カチオン性両親媒性ポリマーの単一タイプ（又は単一の式）のみを有することができる。一部の実施形態において、単一のタイプのカチオン性両親媒性ポリマーは、1つのタイプの核酸（配列）に非共有結合することができる。代替的に、単一のタイプのカチオン性両親媒性ポリマーは、2つ以上のタイプの核酸（配列）に非共有結合することができる。したがっ

50

て実施形態において、各々が異なる配列の核酸に結合している異なるタイプのカチオン性両親媒性ポリマーの混合物を、2つ以上の配列（又はタイプ）の核酸を送達するために対象と一緒に投与することができる。代替的に、複数のタイプ（又は配列）の核酸に結合された単一のタイプ（又は式）のカチオン性両親媒性ポリマーを、2つ以上の配列（又はタイプ）の核酸を送達するために、対象に投与することができる。さらに代替的に、核酸の単一の配列（又はタイプ）に結合されたカチオン性両親媒性ポリマーの単一タイプ（又は式）を対象に投与することができる。

#### 【0833】

一部の実施形態において、ワクチン又はその組成物に含有される核酸は、mRNAであり得る。一部の実施形態において、核酸は、ワクチン接種を介して、対象内の1つ以上の細胞にトランスフェクトされる。一部の実施形態において、1つ又は2つ以上の核酸配列を、ワクチン組成物を介してトランスフェクトすることができる。したがって、一部の実施形態において、ワクチン組成物は、それぞれ、そのそれぞれが異なる抗原ペプチドをコードする2つの異なる核酸を含有する。したがって、ワクチン接種を必要とする対象にワクチンを投与すると、2種類以上の抗原エピトープを発現し、対象に免疫応答を誘導することができる。代替の実施形態において、1つのタイプの核酸をワクチン接種を介してトランスフェクトすることができ、1つのタイプのエピトープを発現し、対象に免疫応答を誘導することができる。

#### 【0834】

##### 投与

態様において、細胞又は対象に所望の活性を与えるように、その実施形態を含めて本明細書に提供される組成物を細胞又は対象に送達する方法が提供される。一部の実施形態において、組成物は、カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合しているカーゴ核酸を有する細胞透過性複合体を含有する。カーゴ核酸は、細胞にトランスフェクトされる、又は対象に投与された場合、核酸配列の性質に応じて、様々な意図された効果を提供することができる。意図された効果のいくつかの非限定的な例として、遺伝子発現に対する調節、細胞経路の調節、ゲノム編集及び免疫応答の誘導が挙げられる。一部の実施形態において、組成物は、対象に意図された効果の少なくとも一部を達成するのに十分な有効量で、対象に投与することができる。

#### 【0835】

「投与」、「投与すること」などは、組成物に関連して使用される場合、インビトロで細胞に投与、インビボで細胞に投与、医療専門家による対象への投与、若しくは対象による自己投与である、直接投与、及び／又は開示の組成物を処方する行為であってもよい、間接投与の両方を指す。細胞に関して本明細書で使用される場合、組成物を細胞に導入することを指す。典型的には、有効量が投与され、その量は当業者によって決定することができる。任意の投与方法が使用されてもよい。化合物（例えば、薬物及び抗体）は、例えば、化合物を細胞培養培地に添加する又はインビボでの注射によって、細胞に投与することができる。対象への投与は、例えば、血管内注射、直接腫瘍内送達などによって達成することができる。

#### 【0836】

投与は、経口投与、坐剤としての投与、局所接触、静脈内、腹腔内、筋肉内、病変内、くも膜下腔内、鼻腔内若しくは皮下投与、又は徐放性デバイス、例えばミニ浸透圧ポンプの対象への埋め込みを意味してもよい。投与は、非経口及び経粘膜（例えば、頬側、舌下、口蓋、歯肉、鼻、膣、直腸、又は経皮）を含む任意の経路による。非経口投与として、例えば、静脈内、筋肉内、細動脈内、皮内、皮下、腹腔内、脳室内、及び頭蓋内が挙げられる。他の送達様式として、限定するものではないが、リポソーム製剤の使用、静脈内注入、経皮パッチなどが挙げられる。「同時投与する」とは、本明細書に記載される組成物が、1つ以上の追加の療法、例えば化学療法、ホルモン療法、放射線療法、又は免疫療法などのがん療法の投与と同時に、直前に、又は直後に投与されることを意味する。本開示の化合物は、単独で投与することができる又は患者に同時投与することができる。同時投

与は、化合物（２種以上の化合物）の個々又は組合せでの同時又は逐次投与を含むことを意味する。

【０８３７】

対象に投与される投与量及び頻度（単回又は複数回投与）は、様々な要因、例えば、対象が別の疾患に罹患しているかどうか、その投与経路、レシピエントのサイズ、年齢、性別、健康状態、体重、肥満度指数、及び食事；処置中の疾患の症状の性質と程度、同時処置の種類、処置中の疾患による合併症、又はその他の健康関連の問題に応じて変化し得る。他の治療レジメン又は薬剤は、その実施形態を含めて本明細書に記載される方法及び組成物と併せて使用することができる。確立された投与量（例えば、頻度及び持続時間）の調整及び操作は、十分に当業者の能力の範囲内である。

10

【０８３８】

本明細書に提供される教示を利用して、実質的な毒性を引き起こさず、しかも特定の患者によって実証される臨床症状を処置するのに有効である有効な予防的又は治療的処置レジメンを計画することができる。この計画には、化合物の効力、相対的バイオアベイラビリティ、患者の体重、有害な副作用の存在と重症度、好ましい投与様式、及び選択した薬剤の毒性プロファイルなどの要因を考慮することによって、活性化合物を慎重に選択することを伴うべきである。

【０８３９】

一部の実施形態において、対象は、哺乳動物、例えばヒト、非ヒト霊長類、マウス（すなわち、マウス及びラット）、イヌ、ネコ、又はウマである。一実施形態において、対象はヒトである。

20

【０８４０】

一部の実施形態において、組成物は、対象の体重の約  $1 \text{ ng} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $10 \text{ ng} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $50 \text{ ng} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $100 \text{ ng} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $500 \text{ ng} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $1 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $10 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $50 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $100 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $150 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $200 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $250 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $300 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $350 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $375 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $400 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $450 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $500 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $550 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $600 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $650 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $700 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $750 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $800 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $850 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $900 \text{ ug} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $1 \text{ mg} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $10 \text{ mg} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $50 \text{ mg} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $100 \text{ mg} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $500 \text{ mg} / \text{kg}$ 、対象の体重の約  $1 \text{ g} / \text{kg}$  以上、又は前述のいずれかの介入範囲の用量（又は量）で投与することができる。一部の実施形態において、組成物は、約  $0.5 \text{ ug}$ 、約  $1.0 \text{ ug}$ 、約  $1.5 \text{ ug}$ 、約  $2.0 \text{ ug}$ 、約  $2.5 \text{ ug}$ 、約  $3.0 \text{ ug}$ 、約  $3.5 \text{ ug}$ 、約  $4.0 \text{ ug}$ 、約  $4.5 \text{ ug}$ 、約  $5.0 \text{ ug}$ 、約  $5.5 \text{ ug}$ 、約  $6.0 \text{ ug}$ 、約  $6.5 \text{ ug}$ 、約  $7.0 \text{ ug}$ 、約  $7.5 \text{ ug}$ 、約  $8.0 \text{ ug}$ 、約  $8.5 \text{ ug}$ 、約  $9.0 \text{ ug}$ 、約  $9.5 \text{ ug}$ 、約  $1.0 \text{ mg}$ 、約  $1.5 \text{ mg}$ 、約  $2.0 \text{ mg}$ 、約  $2.5 \text{ mg}$ 、約  $3.0 \text{ mg}$ 、約  $3.5 \text{ mg}$ 、約  $4.0 \text{ mg}$ 、約  $4.5 \text{ mg}$ 、約  $5.0 \text{ mg}$ 、約  $5.5 \text{ mg}$ 、約  $6.0 \text{ mg}$ 、約  $6.5 \text{ mg}$ 、約  $7.0 \text{ mg}$ 、約  $7.5 \text{ mg}$ 、約  $8.0 \text{ mg}$ 、約  $8.5 \text{ mg}$ 、約  $9.0 \text{ mg}$ 、約  $9.5 \text{ mg}$ 、約  $1 \text{ g}$  以上、又は前述の任意の介入範囲の用量（又は量）で投与することができる。一部の実施形態において、組成物は、対象体重の約  $7.5 \text{ ug}$  又は約  $0.375 \text{ mg} / \text{kg}$  の用量（又は量）で投与することができる。投与は、所望の期間にわたって繰り返すことができ、例えば、約１日～約５日の期間にわたって、又は数日毎に１回、例えば、約５日、約１ヶ月にわたって、約２ヶ月にわたってなど繰り返すことができる。本明細書における重量は、細胞透過性複合体の重量又は組成物又はその医薬製剤の重量であり得る。一部の実施形態において、

30

40

【０８４１】

50

一実施形態において、組成物は、所望の利益を引き出す又は他の方法で治療効果を提供するために、6時間、12時間、毎日又は隔日、又は毎週又は毎月の間隔で、全身的又は局所的に（例えば腫瘍内注射、静脈内注射）投与することができる。

【0842】

一実施形態において、組成物、特にがんワクチンに対する奏効率は、ベースライン基準又は対照基準と比較して低減する可能性がある。用語「奏効率」は、処置後にがんの退縮に応答する患者のパーセンテージを示すために、本明細書においてその慣習的な意味で使用される。奏効率には、例えば、部分的又は完全な退縮が含まれる。部分奏効は、がん細胞の約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、約97%、約98%、又は約99%の退縮を含む。一部の実施形態において、対照基準は、健常対象、がん対象（例えば、処置を受けているがん対象又は別のがん対象）、又はそれらの任意の集団から取得される。

10

【0843】

本明細書に記載される実施例及び実施形態は、例示のみを目的としており、それに照らして様々な修正又は変更が当業者に示唆され、本出願の精神及び範囲並びに添付の特許請求の範囲に含まれることが理解される。本明細書で引用される全ての刊行物、特許、及び特許出願は、全ての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0844】

実施形態において、カチオン性両親媒性ポリマーは、細胞内で分解され、それにより分解生成物を形成する。実施形態において、分解生成物は、置換又は非置換のジケトピペラジンである。

20

【0845】

実施形態において、方法は、mRNAが細胞内で発現されることを可能にすることをさらに含む。実施形態において、細胞は真核細胞である。実施形態において、細胞は、哺乳動物又はヒト細胞である。実施形態において、細胞は生物の一部を形成する。実施形態において、生物はヒトである。実施形態において、細胞は、リンパ球系細胞又は骨髄性細胞である。実施形態において、細胞はT細胞である。実施形態において、細胞は骨髄性細胞である。

【0846】

提供される態様において、それを必要とする対象に免疫応答を誘導する方法が提供され、方法は、その実施形態を含めて本明細書に提供される複合体の有効量を投与することを含む。

30

【0847】

P実施形態

P実施形態1. ウイルスタンパク質をコードする配列を含むリボ核酸、核酸アジュバント、及びカチオン性両親媒性ポリマーを含む細胞透過性複合体。

【0848】

P実施形態2. 前記リボ核酸が、前記カチオン性両親媒性ポリマーに非共有結合されている、P実施形態1の細胞透過性複合体。

40

【0849】

P実施形態3. 前記ウイルスタンパク質が、呼吸器合胞体ウイルス（RSV）タンパク質、ヒトメタ肺炎ウイルス（hMPV）タンパク質、パラインフルエンザウイルス3型（PIV3）タンパク質、インフルエンザH10N8ウイルスタンパク質、インフルエンザH7N9ウイルスタンパク質、サイトメガロウイルス（CMV）タンパク質、ジカウイルスタンパク質、チクングニア熱ウイルスタンパク質又は重症急性呼吸器症候群（SARS）関連コロナウイルス（CoV）タンパク質である、P実施形態1又は2の細胞透過性複合体。

【0850】

P実施形態4. 前記ウイルスタンパク質が、SARS-CoV-1タンパク質又はSA

50

R S - C o V - 2 タンパク質である、P 実施形態 1 ～ 3 のいずれか 1 つの細胞透過性複合体。

【 0 8 5 1 】

P 実施形態 5 . 前記ウイルスタンパク質が、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質又はその断片である、P 実施形態 1 ～ 3 のいずれか 1 つの細胞透過性複合体。

【 0 8 5 2 】

P 実施形態 6 . 前記ウイルスタンパク質が、S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質の可溶性受容体結合ドメイン ( R B D ) である、P 実施形態 1 ～ 3 のいずれか 1 つの細胞透過性複合体。

【 0 8 5 3 】

P 実施形態 7 . 前記リボ核酸が、配列番号 3 の配列を含む、P 実施形態 1 ～ 6 のいずれか 1 つの細胞透過性複合体。

【 0 8 5 4 】

P 実施形態 8 . 前記核酸アジュバントが D N A アジュバントである、P 実施形態 1 ～ 7 のいずれか 1 つの細胞透過性複合体。

【 0 8 5 5 】

P 実施形態 9 . 前記核酸アジュバントがトール様受容体 ( T L R ) アゴニストである、P 実施形態 1 ～ 7 のいずれか 1 つの細胞透過性複合体。

【 0 8 5 6 】

P 実施形態 1 0 . 前記核酸アジュバントが、1 つ以上の非メチル化 C p G オリゴヌクレオチドを含む、P 実施形態 1 ～ 7 のいずれか 1 つの細胞透過性複合体。

【 0 8 5 7 】

P 実施形態 1 1 . 前記核酸アジュバントが T L R - 9 アゴニストである、P 実施形態 1 ～ 7 のいずれか 1 つの細胞透過性複合体。

【 0 8 5 8 】

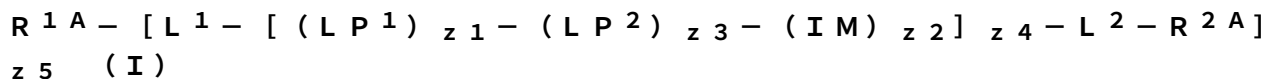
P 実施形態 1 2 . 前記核酸アジュバントが、配列番号 1 又は配列番号 2 の配列を有する、P 実施形態 1 ～ 7 のいずれか 1 つの細胞透過性複合体。

【 0 8 5 9 】

P 実施形態 1 3 . 前記カチオン性両親媒性ポリマーが、p H 感受性崩壊ドメイン及び親油性ポリマードメインを含む、P 実施形態 1 ～ 1 2 のいずれか 1 つの細胞透過性複合体。

【 0 8 6 0 】

P 実施形態 1 4 . 前記カチオン性両親媒性ポリマーが、式：



[式中、

$R^1A$  は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$R^2A$  は、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)$

10

20

30

40

50

)  $\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}\text{SO}_2\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{OCCl}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCBr}_3$ 、 $-\text{OCI}_3$ 、 $-\text{OCHCl}_2$ 、 $-\text{OCHBr}_2$ 、 $-\text{OCHI}_2$ 、 $-\text{OCHF}_2$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{I}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{F}$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$\text{L}^1$  及び  $\text{L}^2$  は、独立に、結合、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、

$\text{LP}^1$  及び  $\text{LP}^2$  は、独立に、親油性ポリマードメインであり、

$\text{IM}$  は、前記 pH 感受性崩壊ドメインであり、

$z_5$  は、1～10の整数であり、

$z_1$  及び  $z_3$  は、独立に、0～100の整数であり、 $z_1$  又は  $z_3$  の少なくとも1つは0でなく、

$z_4$  は、1～100の整数であり、

$z_2$  は、2～100の整数である。]

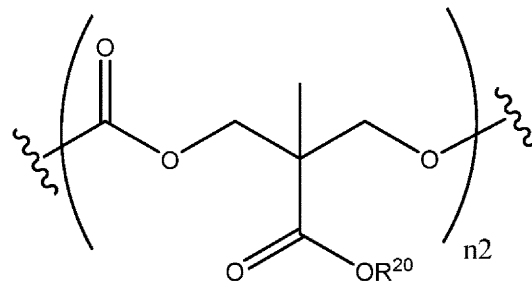
を有する、P実施形態1～12のいずれか1つの細胞透過性複合体。

【0861】

P実施形態15．前記親油性ポリマードメインが、式：

【0862】

【化192】



[式中、

$n_2$  は、1～100の整数であり

$\text{R}^{20}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。]

を有する、P実施形態14の細胞透過性複合体。

【0863】

P実施形態16． $\text{LP}^1$  が、式：

【0864】

10

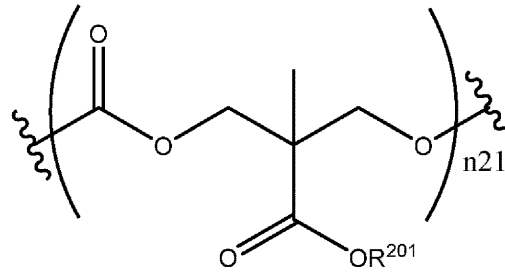
20

30

40

50

【化 1 9 3】



10

〔式中、

n 2 1 は、1 ～ 1 0 0 の整数であり、

R<sup>201</sup> は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。〕

を有する、P 実施形態 1 4 の細胞透過性複合体。

【0 8 6 5】

P 実施形態 1 7 . n 2 1 が 5 であり、R<sup>201</sup> が非置換の C<sub>18</sub> アルケニルである、P 実施形態 1 6 の細胞透過性複合体。

20

【0 8 6 6】

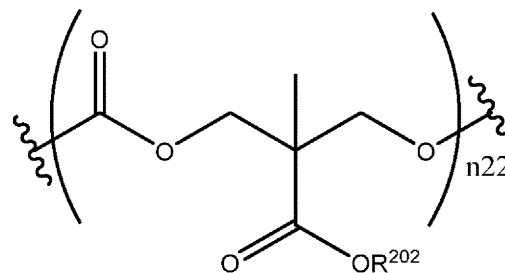
P 実施形態 1 8 . 前記非置換の C<sub>18</sub> アルケニルがオレイルである、P 実施形態 1 7 の細胞透過性複合体。

【0 8 6 7】

P 実施形態 1 9 . L P<sup>2</sup> が、式：

【0 8 6 8】

【化 1 9 4】



30

〔式中、

n 2 2 は、1 ～ 1 0 0 の整数であり、

R<sup>202</sup> は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。〕

40

を有する、P 実施形態 1 4 の細胞透過性複合体。

【0 8 6 9】

P 実施形態 2 0 . n 2 2 が 5 であり、R<sup>202</sup> が非置換の C<sub>9</sub> アルケニルである、P 実施形態 1 9 の細胞透過性複合体。

【0 8 7 0】

P 実施形態 2 1 . 前記非置換の C<sub>9</sub> アルケニルがノネニルである、P 実施形態 2 0 の細胞透過性複合体。

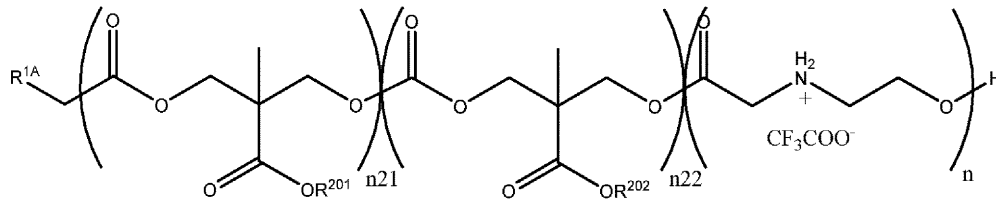
【0 8 7 1】

50

P実施形態22. 前記カチオン性両親媒性ポリマーが、式：

【0872】

【化195】



10

〔式中、

$n_{21}$ は5であり、 $R^{201}$ はオレイルであり、 $n_{22}$ は5であり、 $R^{202}$ はノネニルであり、 $n$ は7である。〕

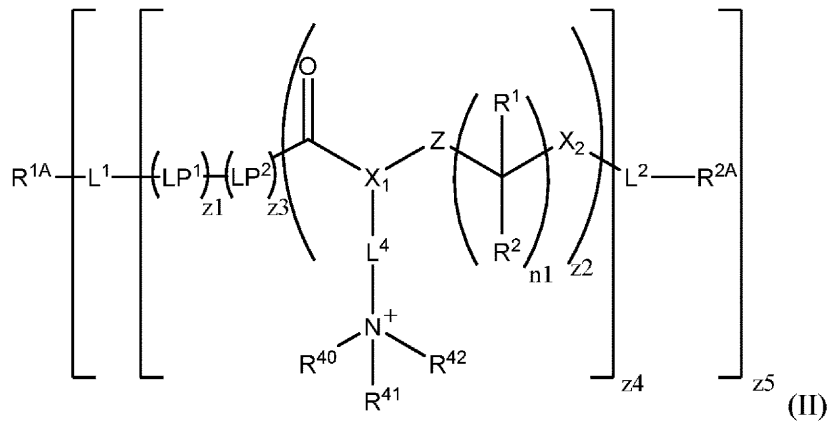
を有する、P実施形態14の細胞透過性複合体。

【0873】

P実施形態23. 前記カチオン性両親媒性ポリマーが、式：

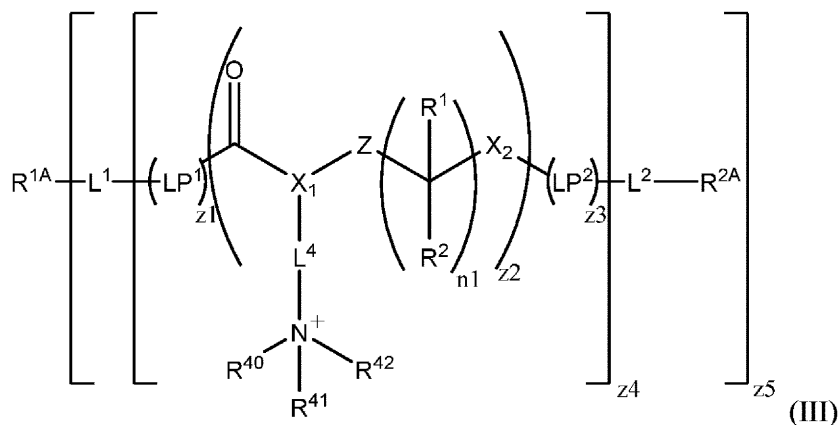
【0874】

【化196】



20

又は



30

40

〔式中、

$R^{1A}$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$

50

、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$R^{2A}$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、独立に $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、独立に $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$L^1$ 及び $L^2$ は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロアルキレン、置換若しくは非置換のシクロアルキレン、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキレン、置換若しくは非置換のアリーレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアリーレンであり、

$LP^1$ 及び $LP^2$ は、独立に、親油性ポリマードメインであり、

$X^1$ は、結合、 $-C(R^5)(R^6)-$ 、 $-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ 、 $-O-C(R^5)(R^6)-$ 又は $-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$ であり、

$X^2$ は、 $-O-$ 又は $-S-$ であり、

$R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 及び $R^8$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$L^4$ は、独立に、結合、 $-C(O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NH-$ 、 $-NHC(O)NH-$ 、置換若しくは非置換のアルキレン、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキレンであり、

$R^{40}$ 、 $R^{41}$ 及び $R^{42}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、又は置換若しくは非置換のヘテロアルキルであり、

$Z$ は、 $-S-$ 、 $-S^+R^{13}-$ 、 $-NR^{13}-$ 又は $-N^+(R^{13})(H)-$ であり、

$R^{13}$ は、水素、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $=O$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $SO_2NH_2$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

$n_1$ は、0～50の整数であり、

$z_1$ 及び $z_3$ は、独立に、0～100の整数であり、 $z_1$ 又は $z_3$ の少なくとも1つは0でなく、

$z_2$ は、2～100の整数であり、

$z_4$ は、1～100の整数であり、

$z_5$ は、1～10の整数である。]

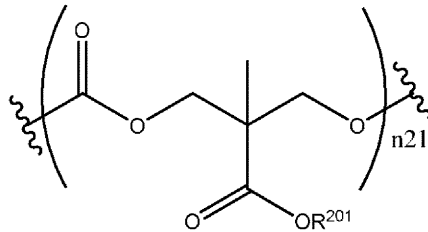
を有する、P実施形態1～12のいずれか1つの細胞透過性複合体。

【 0 8 7 5 】

P 実施形態 2 4 . L P <sup>1</sup> が、式：

【 0 8 7 6 】

【 化 1 9 7 】



10

〔式中、

n 2 1 は、1 ～ 1 0 0 の整数であり、

R <sup>2 0 1</sup> は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。〕

を有する、P 実施形態 2 3 の細胞透過性複合体。

【 0 8 7 7 】

P 実施形態 2 5 . n 2 1 が 1 0 ～ 4 0 である、P 実施形態 2 4 の細胞透過性複合体。

【 0 8 7 8 】

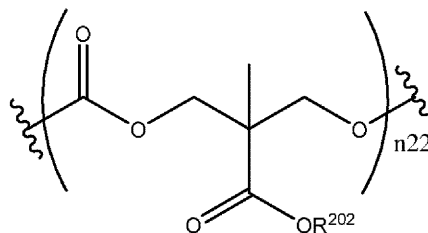
P 実施形態 2 6 . R <sup>2 0 1</sup> が非置換の C <sub>1 2</sub> アルキルである、P 実施形態 2 4 の細胞透過性複合体。

【 0 8 7 9 】

P 実施形態 2 7 . L P <sup>2</sup> が、式：

【 0 8 8 0 】

【 化 1 9 8 】



30

〔式中、

n 2 2 は、1 ～ 1 0 0 の整数であり、

R <sup>2 0 2</sup> は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。〕

を有する、P 実施形態 2 4 の細胞透過性複合体。

【 0 8 8 1 】

P 実施形態 2 8 . n 2 2 が 1 0 ～ 3 5 である、P 実施形態 2 7 の細胞透過性複合体。

【 0 8 8 2 】

P 実施形態 2 9 . R <sup>2 0 2</sup> が非置換の C <sub>1 2</sub> アルケニルである、P 実施形態 2 7 の細胞透過性複合体。

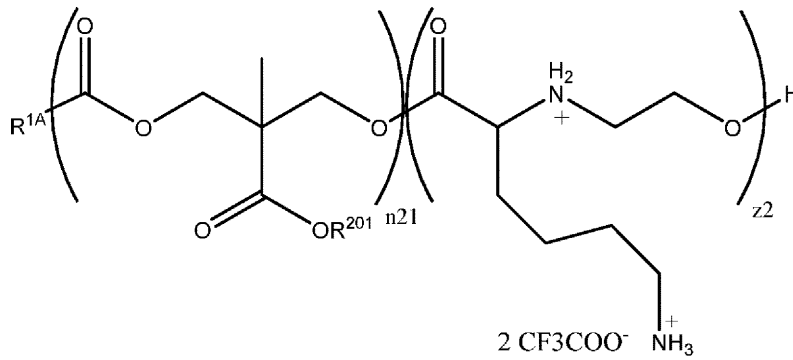
【 0 8 8 3 】

P 実施形態 3 0 . 前記カチオン性両親媒性ポリマーが、式：

50

【 0 8 8 4 】

【 化 1 9 9 】



10

〔式中、

 $n_{21}$  は、10～20の整数であり、

$R^{201}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

 $z_2$  は、独立に、3～10の整数である。〕

20

を有する、P実施形態23～29のいずれか1つの細胞透過性複合体。

【 0 8 8 5 】

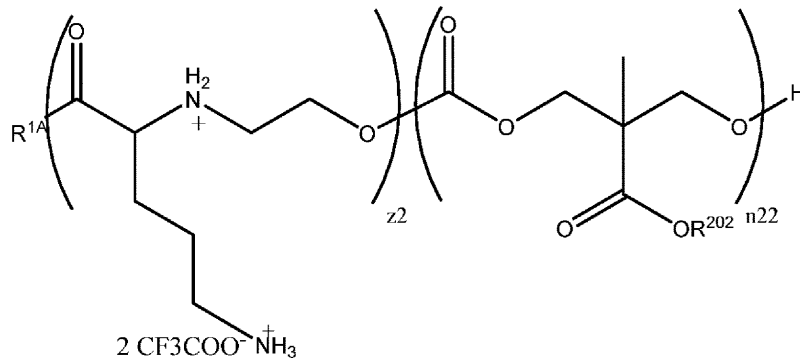
P実施形態31.  $n_{21}$  が14であり、 $R^{201}$  がドデシルであり、 $z_2$  が8である、P実施形態30の細胞透過性複合体。

【 0 8 8 6 】

P実施形態32. 前記カチオン性両親媒性ポリマーが、式：

【 0 8 8 7 】

【 化 2 0 0 】



30

〔式中、

 $n_{22}$  は、10～35の整数であり、

$R^{202}$  は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

 $z_2$  は、独立に、5～20の整数である。〕

40

を有する、P実施形態31の細胞透過性複合体。

【 0 8 8 8 】

P実施形態33.  $n_{22}$  が14であり、 $R^{202}$  がドデシルであり、 $z_2$  が7である、P実施形態32の細胞透過性複合体。

50

【0889】

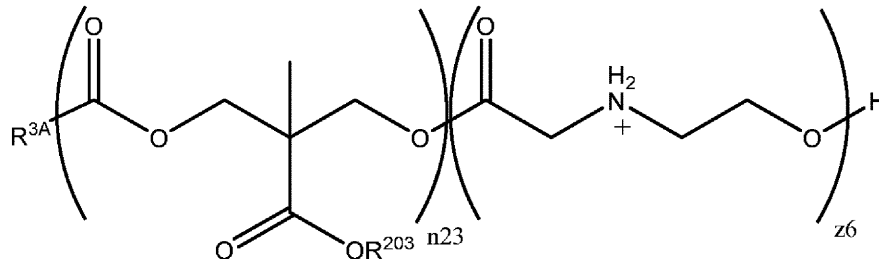
P実施形態34．前記カチオン性両親媒性ポリマーと異なる前記第2のカチオン性両親媒性ポリマーをさらに含む、P実施形態23の細胞透過性複合体。

【0890】

P実施形態35．前記第2のカチオン性両親媒性ポリマーが、式：

【0891】

【化201】



10

〔式中、

$n_{23}$ は、1～100の整数であり、

$z_6$ は、5～15の整数であり、

$R^{3A}$ は、独立に、水素、ハロゲン、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CHCl_2$ 、 $-CHBr_2$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CHI_2$ 、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2Br$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、 $-NHC(O)NH_2$ 、 $-NH_2SO_2H$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-NHC(O)OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCCl_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCBr_3$ 、 $-OCI_3$ 、 $-OCHCl_2$ 、 $-OCHBr_2$ 、 $-OCHI_2$ 、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2Cl$ 、 $-OCH_2Br$ 、 $-OCH_2I$ 、 $-OCH_2F$ 、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールであり、

20

$R^{203}$ は、独立に、水素、置換若しくは非置換のアルキル、置換若しくは非置換のヘテロアルキル、置換若しくは非置換のシクロアルキル、置換若しくは非置換のヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換のアリール、又は置換若しくは非置換のヘテロアリールである。]

30

を有する、P実施形態34の細胞透過性複合体。

【0892】

P実施形態36． $n_{23}$ が13であり、 $z_6$ が11であり、 $R^{203}$ がドデシルである、P実施形態35の細胞透過性複合体。

【0893】

P実施形態37．P実施形態1～36のいずれか1つの細胞透過性複合体を含むワクチン組成物。

40

【0894】

P実施形態38．P実施形態1～36のいずれか1つの細胞透過性複合体の治療有効量、及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

【0895】

P実施形態39．ウイルス性疾患の処置又は防止を必要とする対象におけるウイルス性疾患を処置又は防止する方法であって、P実施形態1～36のいずれか1つの細胞透過性複合体の治療又は予防有効量を前記対象に投与することを含む方法。

【0896】

P実施形態40．ウイルス性疾患の処置を必要とする対象におけるウイルス性疾患を処置する方法であって、P実施形態1～36のいずれか1つの細胞透過性複合体の治療有効

50

量及び薬学的担体を対象に投与し、それによって前記対象におけるウイルス性疾患を処置することを含む方法。

【0897】

P実施形態41．ウイルス性疾患に罹患し得る宿主を免疫化するための方法であって、P実施形態1～36のいずれか1つの細胞透過性複合体を、前記ウイルスタンパク質又はその機能的断片に対する抗体が生成されるような条件下で宿主に投与することを含む方法。

【0898】

P実施形態42．前記抗体がIgG2抗体である、P実施形態41の方法。

【0899】

P実施形態43．ウイルス性疾患がSARSである、P実施形態40～42のいずれか1つの方法。

【0900】

P実施形態44．ウイルス性疾患がCOVID-19である、P実施形態40～42のいずれか1つの方法。

【0901】

P実施形態45．ウイルス性疾患がMERSである、P実施形態40～42のいずれか1つの方法。

【実施例】

【0902】

実施例1：mRNAワクチン

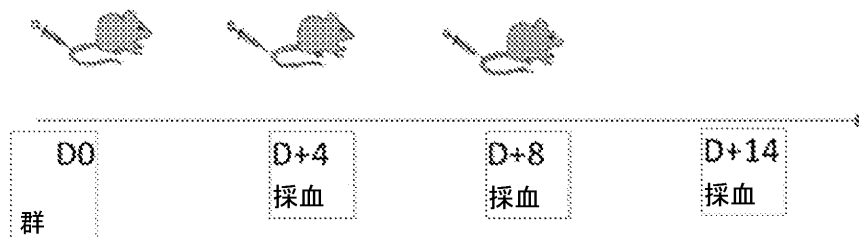
SARS-CoV-2スパイクタンパク質の可溶性受容体結合ドメインをコードするmRNAを使用した。免疫応答は、細胞の侵入と感染力とに必要なSARS-CoV-2スパイクタンパク質の重要な部分に焦点を当てている。以前のコロナ流行SARS-CoV-1及び中東呼吸器症候群(MERS)において全スパイクワクチンで観察された抗体媒介性の「疾患増強」は、ウイルスタンパク質の断片及び特異的ドメイン(例えばRBD)を使用することによって防止される。TLR9アゴニストは、アジュバントとして使用してもよい。TLR9アゴニストは、mRNAをコードするRBDを受けたのと同じ細胞への効果的な共送達のために、共製剤化されてもよい。TLR9アゴニストは、自然免疫応答を活性化し、それが次に適応免疫応答を助け、誘発する場合がある。さらに、抗体アイソタイプのスイッチングと成熟B細胞応答とを支援することが以前に示されている。TLR9アゴニストは、T細胞応答をさらに増強し得る。本明細書に提供される組成物は、生きている動物の免疫細胞への核酸の非常に効率的な送達のために使用されてもよく、望ましい毒性及び免疫原性プロファイルを有する。

【0903】

CART RBD-mRNAの最初の実験-アジュバントテスト、RBD特異的抗体を検出するELISA、T細胞アッセイ、受容体結合阻害/競合及び偽ウイルス中和アッセイ:

【0904】

【化202】



【0905】

群1：3ugのRBD mRNA-CART I.V.

- ・群 2：3 u g の R B D m R N A - C A R T + 3 u g の C p G（共製剤化）I . V .
  - ・群 3：3 u g の R B D m R N A - C A R T + 3 0 u g のアゴニスト C D 4 0 m A b（共製剤化）I . V .
  - ・群 4：3 u g の R B D m R N A - C A R T + 3 0 u g のアゴニスト C D 4 0 m A b + 3 u g の C p G（共製剤化）I . V .
  - ・群 5：3 u g の C p G - C A R T + 3 0 u g のアゴニスト C D 4 0 m A b（共製剤化）I V C T R 群
  - ・群 6：ナイーブマウス C T R . 群
- 【0906】

生きている動物の循環器と肺の両方で検出されるアイソタイプスイッチングされた中和抗体応答を誘導する3成分のmRNAワクチンを開発した。3つの成分は、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の受容体結合ドメイン（RBD）の可溶性バージョンをコードするmRNA、CpGなどのDNAベースのオリゴヌクレオチドの形態のTLR9アゴニスト、及び電荷変更放出性輸送体（CART）である。CARTは、mRNAとTLR9アゴニストとを製剤化し、TLR9アゴニストとRBD mRNAとを生きた動物の細胞に効率的に送達するナノ粒子を作製する。

【0907】

近交系マウス系統とヒト化マウスの両方で機能するワクチンを開発した。CART技術は、げっ歯類モデルにおける安全性について評価されている。ワクチンは、前臨床モデルで望ましい反応を示す。

【0908】

実施例 2：TLR-9アゴニストを有する電荷変更放出性輸送体を用いたmRNA SARS-CoV-2ワクチンは、中和抗体とT細胞メモリーとを誘導する

SARS-CoV-2のパンデミックにより、予防ワクチンの急速な開発が必要になった。2つのmRNAワクチンがFDAによって緊急使用が承認されており、並外れた有効性が実証されている。これらのmRNAワクチンの成功は、mRNAの開発速度及び治療の可能性を確立する。これらの認可されたワクチンは、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の完全長バージョンをコードする。それらは、固有の免疫刺激特性を有する脂質ナノ粒子（LNP）送達ビヒクルと製剤化される。将来の世代のSARS-CoV-2ワクチンの柔軟性及び一般的なmRNAワクチンの開発を確保するために、異なるワクチン接種戦略及び代替mRNA送達ビヒクルが望ましい。

【0909】

ここでは、電荷変更放出性輸送体（CART）と呼ばれる送達ビヒクルを使用した代替のmRNAワクチンアプローチの開発について報告する。これらの本質的に非免疫原性ビヒクルを使用して、本発明者らは、CpGモチーフを有するオリゴデオキシヌクレオチド（CpG-ODN）などの共製剤アジュバントを含めることにより、ワクチンの免疫原性を調整することができる。我々のmRNA-CARTワクチンを接種したマウスは、循環器及び肺気管支液の両方で治療上関連するレベルのRBD特異的中和抗体を発達させた（図16）。さらに、本発明者らのワクチンは、CD4<sup>+</sup>及びCD8<sup>+</sup>T細胞メモリーを含む強力な長期的なRBD特異的T<sub>H</sub>1 T細胞応答を誘発した。

【0910】

導入

コロナウイルスのパンデミックは、10年以上にわたって懸念が高まっており、SARS-CoV-1及び中東呼吸器症候群（MERS）に対するワクチンを開発するためのいくつかの試みがなされてきた<sup>1</sup>。SARS-CoV-2ウイルスの世界的な蔓延は、コロナウイルスワクチンからの以前の洞察を活用して、COVID-19パンデミックを緩和するための安全で効果的でスケーラブルなワクチンを開発する世界的な取り組みを刺激した。世界中で様々なワクチン候補及びアプローチが調査されているが<sup>2</sup>、mRNAワクチン<sup>3~6</sup>の開発と実施の並外れたペースは、この最先端技術の可能性を示している。SARS-CoV-2に対してFDAから緊急使用許可を付与されたmRNAワクチンは、こ

10

20

30

40

50

これらの進歩により、これまでのワクチンの概念から臨床試験への最も迅速な臨床解釈が可能になったため、基礎科学と応用科学の勝利を表している<sup>5、6</sup>。mRNAは一過性に発現し、ゲノムに統合されず、体内の自然な分解メカニズムによって排除される。mRNAワクチンは、柔軟で迅速な設計を提供し、次世代の製品が新しいウイルスバリエーションの出現に対処することを可能にする。

#### 【0911】

現在承認されているインビトロの転写によって生成されるmRNAワクチン<sup>5、6</sup>は、脂質ナノ粒子（LNP）に製剤化され、筋肉内投与される、通常2つの構造エピトープ突然変異を含む、完全なウイルススパイクタンパク質をコードするmRNAに組み込まれた化学修飾ヌクレオチドを使用する。それらの並外れた成功にもかかわらず、COVID-19に対する最も効果的で安全でスケラブルなワクチンに貢献する基礎となる科学は進化し続けている。mRNA及び送達ビヒクルの特定の成分の修飾及び配列の最適化は、免疫学的応答に影響を与える可能性がある<sup>7</sup>。SARS-CoV及びMERSの以前の研究では、疾患の抗体依存性感染増強（ADE）から潜在的な合併症を回避するために、コードされた抗原の適切な選択が重要である<sup>8</sup>ことが示されている<sup>9</sup>。LNPの成分であるイオン化可能な脂質はアジュバントとして作用するが、有害事象を誘発する可能性があるため、送達ビヒクルの化学的性質も重要であり<sup>10</sup>、LNP製剤にポリエチレングリコール（PEG）を使用すると、アレルギー反応を引き起こす可能性がある<sup>11、12</sup>。

#### 【0912】

これらの継続的な課題と、COVID-19パンデミックの世界規模が既存のLNP技術のサプライチェーンに負担をかけている程度は、現在及び将来のパンデミックに直面した世界的な対応の回復力を高め、最も効果的で耐久性のある免疫学的応答につながる可能性のある代替アプローチを試験し、新たなウイルスバリエーション<sup>13</sup>の出現に迅速に対応できるようにするために、代替アプローチを開発する必要性を浮き彫りにしている。

#### 【0913】

本研究では、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の受容体結合ドメイン（RBD）をコードするmRNAを利用した代替の3成分のmRNAワクチンを提示し、電荷変更改出性輸送体（CART）<sup>14～16</sup>と呼ばれる高効率で非毒性のPEGフリーmRNA送達プラットフォーム及び共製剤化されたアジュバント<sup>16、17</sup>としてのTLR9アゴニスト（CpG）を製剤化した（図17A）。先行研究では、RBDが有望な抗原標的であることが示されており<sup>18～20</sup>、これはこの標的に対して誘発された抗体はしばしば強く中和されるためである。CARTは、有望な新しい遺伝子送達プラットフォームを提供し、前臨床マウス研究においてmRNAワクチンの効果的な送達者であることが証明されている<sup>16、21</sup>。CARTは、脂質モノマーの配列及びカチオン性モノマーの配列を含む単一成分両親媒性ジブロックオリゴマーである（図17B、23A～23B）。それらは、2段階の有機触媒オリゴマー化で大規模に容易に製造される。CARTは、mRNA（又はCpGのような他の共製剤されたヌクレオチド）を静電的にカプセル化し、遺伝子カーゴを細胞に送達する。CARTの固有の特徴は、電荷変化転位を受けて中性ジケトピペラジン小分子（DKP）を生成する能力である。この形質転換は、mRNAの放出を促進し（図17C）、持続性カチオンに関連するあらゆる毒性の問題を排除する<sup>22</sup>。以前の観察では、静脈注射時に、ヒドロキシエチルグリシン繰り返しカチオンユニットを含むCARTが、mRNAを選択的に脾臓に送達することを示していたが<sup>14～16</sup>、これらの同じ産物の筋肉内（IM）注射は、筋肉内で局所的にmRNA翻訳をもたらす（図17D）。fLuc mRNAを用いた生物発光研究は、インビボタンパク質発現がIM注射後の筋肉内よりもIV注射後の脾臓内で大きいことを示している。いずれの部位において、発現は4～6時間後にピークに達し（図17E）、3～4日の期間にわたって減少する。さらに、不飽和脂質ブロックを含むCARTは、抗原提示細胞のトランスフェクションが強化されたことを示し<sup>15</sup>、COVID-19ワクチンにこのようなCARTを選択する動機となる。CART送達ビヒクルは、それ自体では非特異的免疫刺激を誘導しない<sup>16、21</sup>。この特性により、TLR9アゴニストCpG-ODNなどのオリゴ

10

20

30

40

50

デオキシヌクレオチドアジュバントの共製剤化が可能になり、誘導された免疫応答を調整することができる。

【0914】

ここで本発明者らは、CARTとSARS-CoV-2 RBDをコードするmRNAとTLR9アゴニストCpG (RBD mRNA + CpG-CART)の共製剤化が、マウスにおいて堅牢な中和抗体とRBD特異的T細胞応答を誘導することを示している。さらに、ワクチン接種動物の脾臓と肺でこれらの抗体とメモリーT細胞の有意なレベルを検出する。

【0915】

結果

RBD mRNA + CpG-CARTワクチン接種は、免疫化後4日目に抗RBD特異的抗体を誘発する。

【0916】

SARS-CoV-2の受容体結合ドメイン(RBD)23をコードするmRNAは、ウイルスの公開された配列に基づいて、インビトロ転写によって作成された。品質管理ステップとして翻訳されたmRNA産物のタンパク質検出を可能にするために、Hisタグが含まれていた。得られたmRNAは、最適なCAP-1構造を含んでいた；ウリジンは修飾N1-メチル-シュードウリジンに置き換えられ、シチジンは5-メチルシチジンに置き換えられて、mRNAの安定性及び翻訳を最大にした。タンパク質発現は、トランスフェクトされた293F及びHeLa細胞におけるウエスタンブロットによって検証された(図24A)。mRNA-CART複合体の投与が、最適に改変されたmRNAで製剤化された場合、非特異的な免疫刺激効果をもたらさないことを実証するために<sup>24</sup>、マウスにmRNA-CARTを静脈内注射し(IV)、自然免疫細胞の活性化をモニターした。本発明者らが最も感度の高いとみなしている試験である。mRNA-CART複合体は、修飾されたmRNAで製剤化された場合、そのような非特異的免疫刺激効果を伴わないことがわかった。しかし、未修飾mRNAで製剤化された場合、自然免疫細胞サブセットの非特異的活性化が観察され、非特異的免疫刺激の特性がCARTではなく、カーゴに依存することが実証された(図24B)。その後、mRNA-CART複合体を抗原提示細胞のエンドソームTLR9受容体を誘発するCpGオリゴヌクレオチドと共製剤化することにより、本発明者らの候補ワクチンの免疫応答を指示することができた。これらのCpG実体は、安全で効果的なワクチンアジュバントであることが知られている<sup>17</sup>。

【0917】

アジュバントとしてCpGを添加した場合と添加しない場合のRBD mRNA-CARTワクチン接種の効果を評価した。CARTのIV注射は、脾臓のB細胞、マクロファージ、及び樹状細胞などの抗原提示細胞(APC)にカーゴを効果的に送達する<sup>15</sup>、<sup>16</sup>(図17D)。mRNA-CARTワクチン接種のこの投与経路は、がん治療ワクチン接種の先行研究で有効であることが証明されている<sup>16</sup>。この知見に基づき、まずIV投与によるワクチンの評価を行った。マウスを0日目にプライミングし、4日目と8日目に3gのRBD mRNA-CARTを3gのCpGのある場合とない場合で製剤化し、2回のブーストを受けた(図18A)。対照として、mRNAを含まないCpG-CARTを単独で3g投与した群と、リン酸緩衝食塩水(PBS)で処置した対照群が含まれた。RBD mRNA-CARTとCpGを接種したマウスは、ワクチン接種後4日という早い時期に、検出可能なレベルの抗RBD IgG及びIgMを発現した(図25A)。経時的に、本発明者らは、対照と比較して、両方のmRNA処置群の血清中の抗RBD抗体のレベルの増加を観察した(図18B)。重要なことに、本発明者らのワクチンによって誘導された抗体は、RBDに特異的であり、無関係なHisタグ付きタンパク質(GFP-His)に交差反応しなかった(図25B)。注目すべきことに、CpGを含む製剤を接種したマウスにおけるRBD特異的抗体応答は、CpGなしで処置した群で観察されたものを一貫して上回っていた(図18B、18D)。

【0918】

C p G の添加により、R B D 特異的抗体応答の早期のアイソタイプスイッチングがもたらされる。

#### 【0919】

14日目までに、C p G 共製剤化ワクチンが、I g G 1 から I g G 2 a、I g G 2 b 及び I g G 3 へのアイソタイプのスイッチングを受けた R B D 特異的 I g 応答を誘導することを観察した。対照的に、共製剤化された C p G なしでワクチン製剤を投与されたマウスは、主にスイッチのない I g G 1 を産生した（図 18 C、26 A 及び 26 B）。60日目までに、これらの違いはそれほど明白ではなかったが、C p G 含有ワクチンを接種したマウスの血清中に、全てのクラスの R B D 特異的抗体のより高いレベルを検出した（図 18 C、26 B）。

10

#### 【0920】

R B D m R N A + C p G - C A R T ワクチン接種によって誘導された抗体は、R B D - A C E 2 結合を阻害し、偽型ウイルスの侵入を中和する。

#### 【0921】

誘導された抗血清を、R B D - A C E 2 相互作用を阻害するそれらの能力について次に試験し（図 19 A）、A C E 2 発現標的細胞への偽型ウイルスの侵入を遮断した（図 19 B）。機能的 R B D - A C E 2 受容体の遮断は、フローサイトメトリーによる A C E 2 発現標的細胞への R B D タンパク質の結合（データ示さず。）と、A C E 2 タンパク質でコーティングされた固相への結合との両方に対してアッセイされた。28日目に、アジュバントを含まないワクチンを接種した群と比較して、C p G を含むワクチンを接種した群間で中和抗体のレベルに顕著な違いが観察された。R B D m R N A + C p G - C A R T ワクチン接種マウス由来の抗血清は、それぞれ 1 : 500 及び 1 : 18,000 の I C 50 で、高度の受容体遮断及び偽型ウイルス中和を示したが、R B D m R N A - C A R T をワクチン接種したマウス由来の抗血清は、バックグラウンドより上でかるうじて陽性であった（図 19 A、19 B）。しかし、R B D m R N A - C A R T を接種したマウスの抗血清は 60日目までに、R B D m R N A + C p G - C A R T を接種したマウスの抗血清よりも程度は低いものの、R B D - A C E 2 受容体の結合を遮断し、偽型のウイルス侵入を中和することができた（図 19 A、19 B）。受容体相互作用遮断アッセイと偽ウイルス中和アッセイとの結果は、よく相関していた。

20

#### 【0922】

ワクチン接種マウスの気管支肺胞洗浄における R B D 特異的抗体。

30

#### 【0923】

ワクチン接種マウスの肺における R B D 特異的免疫グロブリンの存在を評価するために、処置後 D 60 で気管支肺胞洗浄（B A L）を採取した。R B D 特異的 I g は、E L I S A 法により R B D m R N A + C p G - C A R T 及び R B D m R N A - C A R T ワクチン接種マウスの両方から B A L において検出された（図 19 C）。特に、B A L は 2 m L の滅菌 P B S で肺を洗い流すことによって収集されるため、I g 力価は、高度に希釈された試料を表す。重要なことに、希釈されているものの、両方のワクチン接種群の B A L 由来のこれらの免疫グロブリンは、D 60 で R B D - A C E 2 結合を遮断した（図 19 D）。

40

#### 【0924】

ワクチン接種マウスの肺における R B D 特異的 C D 4 + T 細胞。

#### 【0925】

マウスでは、I g クラスのスイッチングは、T H 1 T 細胞応答に関連する<sup>25、26</sup>。ワクチン誘発 T 細胞応答を評価するために、D 28 で I V ワクチン接種マウスの肺から単一細胞懸濁液を調製し、培地単独又は可溶性 R B D - H i s タンパク質若しくは制御タンパク質（h C D 8 1 - H i s）の存在下で、細胞を 48 時間培養した。次に、細胞を回収し、メモリー及び活性化特異的表面タンパク質並びに細胞内サイトカインに対する蛍光色素結合モノクローナル抗体を使用して、T 細胞活性化のためのフローサイトメトリーによってアッセイした。驚くべきことに、R B D タンパク質の再刺激により、R B D m R

50

NA + CpG - CART をワクチン接種したマウスの肺細胞懸濁液において、規定の RBD 特異的 CD4<sup>+</sup> / CD44<sup>high</sup> / CD134<sup>+</sup> 及び CD4<sup>+</sup> / CD44<sup>high</sup> / TNFα<sup>+</sup> 活性化 T 細胞サブセットを同定することができたが、細胞を培地単独又は制御タンパク質の存在下で培養した場合には検出できなかった (図 19E)。CD4<sup>+</sup> T 細胞による TNFα 分泌は、TH1 分極と関連している。

【0926】

RBD mRNA + CpG - CART ワクチンは、静脈内、筋肉内、及び皮下の投与経路によって堅牢な抗 RBD Ig 応答を誘発する。

【0927】

投与経路 (ROA) に関連して本発明者らのワクチンの有効性を試験するために、IV、IM、又は SC 投与された免疫化によって誘発される RBD 特異的 Ig 応答を比較した。マウスは、0 日目に CART で製剤化された 3 μg の RBD mRNA 及び 3 μg の CpG でプライミングされ、8 日目にブーストを受けた (図 27A)。全ての投与経路は、分析された時点 D14 及び D28 において、検出可能な中和抗体価をもたらし、IM 投与と SC 投与との間に有意差はなかった (図 27B)。IV ワクチン接種マウスでは力価が高くなる傾向があった。アイソタイプのスイッチングは、投与経路とは無関係に生じた (図 27C)。

【0928】

RBD mRNA + CpG - CART ワクチンは、臨床的に関連するプライム-ブーストレジメンにおいて堅牢な RBD 特異的 Ig 応答を誘導し、CpG 源とは無関係である。

【0929】

現在承認されている SARS-CoV-2 ワクチンによって選択された免疫化レジメンに導かれて<sup>27</sup>、マウスは D0 にワクチンでプライミングされ、D21 にブーストされた。マウスを 3 μg の RBD mRNA + CpG - CART で IV 又は IM のいずれかで免疫化された (図 20A)。以前の観察を確認すると、両方の群で堅牢な応答が観察された。IV 免疫化マウスは、D21 及び D28 の両方に、血清及び BAL において、より高い統計学的に有意ではない抗 RBD 抗体価を示した (図 20B ~ 20D)。両群の抗血清は、D21 に、RBD-ACE2 結合を効果的に阻害し (図 28B)、D28 に、実質的により効果的であったが、2つの群間で総 RBD 特異的 IgG に観察された差を反映している (図 20C)。さらに、完全なスパイクタンパク質に対する堅牢な抗体応答は、静脈内投与群でより高かったものの、両群で観察された (図 28C)。したがって、ワクチン誘発性抗 RBD 応答は、主に完全なスパイクタンパク質に曝露された RBD エピトープに向けられる。重要なことに、CpG は堅牢なアイソタイプスイッチングされた抗 RBD 免疫グロブリンに必要とされるが、その応答は CpG の供給源とは無関係である。CpG の 4 つの異なる供給源、CpG の C サブクラスの 3 つ (CpG-C) 及び B サブクラスの 1 つ (CpG-B) を試験した。異なる CpG-C 間で有意差は認められず (図 28A ~ 28C 及び 29A ~ 29C)、一方、B サブクラス CpG は、CpG-C と比較して下回った (データ示さず。 )。

【0930】

RBD mRNA + CpG - CART ワクチンは、TH1 CD4<sup>+</sup> 及び CD8<sup>+</sup> T 細胞メモリーを長期間誘導した。

【0931】

D1 及び D21 のいずれかに、3 μg の RBD-mRNA + 3 μg の CpG - CART 又は 3 μg の Ctrl mRNA + 3 μg の CpG - CART を、IV 又は IM で投与されたマウスの脾細胞を、ワクチン接種後 105 日目に採取し、IFNγ 酵素結合免疫吸着スポットアッセイ (ELISpot) によって T 細胞応答を特徴付けた。このアッセイでは、プールされた脾細胞を CD4<sup>+</sup> 又は CD8<sup>+</sup> T 細胞のいずれかに富ませ、SARS-CoV-2 RBD ペプチドプール又は培地単独で一晩培養した。CD4<sup>+</sup> 及び CD8<sup>+</sup> T 細胞における有意な IFNγ 応答は、IV 及び IM ワクチン接種の両方によって検出された。IV ワクチン接種マウスの投与経路は脾臓を標的としているため、脾臓 T 細胞がよ

10

20

30

40

50

り強い応答を与えることが期待される。一方、ワクチン接種後105日目に応答T細胞を検出することは顕著である（図21A及び21B）。

#### 【0932】

ワクチン誘導性T細胞の機能性と分極をさらに評価するために、RBDペプチドプール又は培地単独の存在下で、同実験の個々のマウスの脾細胞をインキュベートした。18時間のインキュベーション後、CD4<sup>+</sup>及びCD8<sup>+</sup>T細胞を、メモリーマーカーCD44の発現及び細胞内サイトカインIFN $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 、及びIL-4について、フローサイトメトリーによって別々にアッセイした。ワクチン接種後のこの遅い時点でも、RBD-mRNA及びCpG-CART IVワクチン接種群では、RBD特異的IFN $\gamma$ 産生CD4<sup>+</sup>及びCD8<sup>+</sup>T細胞並びにTNF $\alpha$ 産生CD8<sup>+</sup>T細胞の有意な集団を特定することができた。IL-4産生CD4<sup>+</sup>T細胞の増加はなく、T細胞メモリーが主にT<sub>H</sub>1であったことを示している（図21C、21D及び30）。IFN $\gamma$  ELISpotの結果とは対照的に、IMワクチン接種マウスでは、フローサイトメトリーによってこれらの低頻度の集団（それぞれ、CD4<sup>+</sup>及びCD8<sup>+</sup>富化条件の5×10<sup>5</sup>個細胞あたり、平均28個及び55個のIFN $\gamma$ スポット）を特定することはできなかった。

10

#### 【0933】

免疫化マウスの中和抗体レベルは、ワクチン接種されたヒトで達成されたものに匹敵する。

#### 【0934】

臨床試験の結果は、Pfizer/BioNTechのmRNAワクチン及びModernaのワクチンの両方が、2回目のブースターワクチン投与前に、症候性感染からの保護を与えることができることを示している<sup>28</sup>、<sup>29</sup>。これは、その初期のプレブースト時点におけるヒトの抗体レベルが疾患防御を与えるのに十分であることを示唆している。したがって、本発明者らのワクチン接種マウスにおいて達成された中和抗体のレベルを、ブースターの前後に免疫化されたヒトの中和抗体のレベルと比較した。BALB/cマウスに3 $\mu$ gのRBD mRNA+3 $\mu$ gのCpG-CARTを、IM又はIVのいずれかでD1及びD21にワクチン接種し、血清をD28に採取した。次に、これらのマウスの血清を、プライミングワクチン接種の15~21日後に採取し、次いでブースターワクチン接種の15±4日後に採取された、個別のPfizer/BioNTechのmRNA-LNPワクチン接種したヒトの13個の血清と比較した。本発明者らのIM及びIVワクチン接種マウスのブースト後の血清で達成されたRBD-ACE2阻害のレベルは、ヒトのブースト前血清のレベルと同等又はそれより高かった。IVワクチン接種を受けたマウスにおける阻害抗体レベルは、ブースト後のヒトにおける抗体レベルと同等であった（図22A及び22B）。

20

30

#### 【0935】

RBD mRNA+CpG-CARTワクチン接種は、良好な安全性プロファイルを示す。

#### 【0936】

ワクチンの安全性プロファイルを評価するために、マウスをD0及びD21に、PBS、3 $\mu$ gのGFP mRNA-CART、3 $\mu$ gのGFP mRNA+3 $\mu$ gのCpG-CART、又は3 $\mu$ gのRBD mRNA+3 $\mu$ gのCpG-CARTのいずれかで処置した（図31A）。処置後に体重に差は認められなかった（図31B及び31C）。CpG含有製剤のIV投与は、処置後24時間で白血球（WBC）数の一時的な減少を誘導し、D2までに回復した。これはCpGによって駆動され、CpGを含まないmRNA-CARTの注射は、WBC数を変化させなかった（図31D~31F）。処置後1日及び1週間で測定されたTNF $\alpha$ 及びIL-6の血清レベルは、ワクチン接種の影響を受けなかった。IM及びIVワクチン接種は、プライムの1日後に血清IP10及びIFN $\alpha$ レベルの一時的な増加をもたらした。血清サイトカインレベルは、プライム後7日の第2の分析時点で、正常範囲内であった。ここでも、過渡効果はCpGによって媒介され、CpGを含まないmRNA-CARTで処置したマウスは、未処置のマウスと比較して、処置後

40

50

に変化していないサイトカインプロファイルを示した（図 3 1 G ~ 3 1 J）。W B C 数とサイトカインプロファイルの両方について、同様の動態がブースト処置後に観察された（データ示さず。）。処置は、アラニントランスフェラーゼ（A L T）、アスパラギン酸トランスフェラーゼ（A S T）（図 3 1 K - 3 1 N）、及びアルカリホスファターゼ（A P）（データ示さず。）の血清肝酵素レベルによって評価されるように、肝毒性を誘導しなかった。さらに、ブースター処置後 1 日目と 5 日目に行った肉眼病理組織学では、主要臓器の肉眼的評価に病理所見を認めなかった。

【 0 9 3 7 】

検討

【 0 9 3 8 】

初めて、m R N A ベースの治療薬が F D A によって承認され、両方の m R N A ベースの S A R S - C o V - 2 ワクチンの成功は注目に値し、相互に検証されている。しかし、S A R S - C o V - 2 ワクチンの製造、展開及び入手可能性における課題は残っている。m R N A ベースの治療薬全般の継続的な成功と改良のための重要な態様の 1 つは、化学的及び生物学的特性を変化させながら、安全な送達ビヒクルの多様な選択肢へのアクセスを作成することである。ここでは、本発明者らは臨床的に使用されている脂質ナノ粒子への代替 m R N A 送達プラットフォームを使用して、S A R S - C o V - 2 の臨床的に関連する R B D 抗原に対する効果的な m R N A ワクチン接種戦略を示す。本発明者らは、T L R 9 アゴニスト C p G をアジュバントとして含めることによって増強された、効果的な S A R S - C o V - 2 特異的免疫応答を観察した。さらに、得られた抗 R B D 血清が A C E 2 発現細胞への偽ウイルス侵入を中和することができることを示した。S A R S - C o V - 2 ウイルスの A C E 2 受容体結合ドメインに着目し、免疫化された動物の血清と肺の両方においてアイソタイプスイッチングされた R B D 特異的中和抗体を大量に作製することができた。さらに、承認された P f i z e r / B i o N T e c h の m R N A - L N P ワクチンを接種したヒトの血清からの中和抗体の血清レベルを、m R N A - C A R T をワクチン接種したマウスの血清レベルと比較した。完全に免疫化されたマウスの中和抗体のレベルは、P f i z e r / B i o N T e c h の m R N A ワクチンを接種したヒトのブースト前の血液試料で測定された中和抗体のレベルと同等（I M）又はそれ以上（I V）だった。この承認された m R N A ワクチンは、プライム後 1 2 日目に早くも防御を与えることが示されているため、これは、本発明者らのワクチンによって誘導される中和抗体レベルが防御を付与するのに十分であることを示している<sup>2 8</sup>。もちろん、これらの結果をさらに検証するために、非ヒト霊長類などのより大型の動物におけるワクチン接種研究が必要とされる。最後に、R B D m R N A + C p G - C A R T ワクチンは、T<sub>H</sub>1 分極の長期にわたる T 細胞記憶の誘導により、R B D 特異的 C D 4<sup>+</sup> 及び C D 8<sup>+</sup> T 細胞応答を誘導した。さらに、I g G 2 a 及び I g G 2 b が優勢な I g G アイソタイププロファイルは、T<sub>H</sub>1 分極された T 細胞応答を確認する。

【 0 9 3 9 】

L N P と比較すると、C A R T は固有の生体分布を持ち、単純に C A R T 構造の変化によって、リガンドを標的にする必要がなく、m R N A を選択的に脾臓又は他の臓器に送達する。C A R T は、任意の望ましいヌクレオチドの組合せで、複数の m R N A で容易に調製及び製剤化することができ<sup>2 1</sup>、m R N A と混合される単一の構造成分のみを必要とし、その製造に特別なマイクロフルイディクス装置を必要としない。これにより、代替薬物適用戦略が可能になる。予備実験は、m R N A と製剤化された C A R T が - 2 0 ° C で 1 1 日間安定であることを示している（図 3 2）。しかしながら、製剤は特定の設備を必要としないため、ワクチンの混合シュート投与を使用することができる。本発明者らの最初の実験は、D M S O 中の製剤化されていない C A R T が - 2 0 ° C で 1 2 ヶ月を超えて安定であることを示している。したがって、C A R T と m R N A は、2 チャンバーシリンジの 2 つの別々のチャンバーに分割することができ、投与時点での混合と m R N A - C A R T 形成とを可能にし、事前に製剤化された複合体の熱安定性の問題を回避することができる。L N P とは対照的に、C A R T は、非特異的な免疫刺激効果がないため、ワクチン設計と

10

20

30

40

50

選択の柔軟性が高まり、LNPの固有の免疫特性に依存するというより、mRNAと同時に送達された場合、オリゴデオキシヌクレオチドアジュバントの量を変化させることができる。CARTをIMに注射すると、遺伝子発現は注射部位にのみ局在し、他の臓器には広がらない。LNPのIM注射を使用したSARS-CoV-2ワクチン研究では、肝臓が最高レベルのレポーター遺伝子及び抗原発現を示した<sup>19</sup>。さらに、CARTのIV注射は、mRNA発現を脾臓にのみ付与し、IMと比較してIVワクチン接種のより高い効力を説明することができた。ワクチンのIV投与は、より強い抗体及びT細胞応答を誘導したが、両方の投与経路を介して有意な応答を誘導することができた。興味深いことに、結核に対するBCGワクチンによるIVワクチン接種は、確立された皮内投与又はエアロゾル投与と比較して、血液、脾臓、BAL、及び肺リンパ節における抗原応答性CD4<sup>+</sup>及びCD8<sup>+</sup>T細胞の増加により、非ヒト霊長類の保護転帰を大きく変化させることが最近示されている<sup>30</sup>。さらに、IV投与されたmRNA脂質ナノ粒子は、前臨床マウスモデル及び治療用がんワクチン接種の臨床第I相試験で効力を示している<sup>31、32</sup>。

10

20

30

40

50

#### 【0940】

我々は、スパイクタンパク質配列全体ではなく、RBDに対して特異的に本発明者らのワクチンを向けることを選択した。強力な体液性及び細胞性免疫応答は、SARS-CoV-2全長スパイクタンパク質とRBDとの両方を使用した臨床試験で観察されている<sup>6</sup>。さらに、RBD mRNA指向性ワクチンは、米国とドイツで試験された第1/2相臨床試験で安全であることが証明された<sup>27、33</sup>。さらに、RBDは、体液性及び細胞性免疫応答に不可欠な標的能力を提供する。Piccoliらは、曝露された患者由来の血清の中和活性の90%が、RBDを標的としていることを示した<sup>34</sup>。RBDは、SARS-CoV-2 Sタンパク質に対するT細胞応答のエピトープでもある<sup>35</sup>。RBD(N501Y)に突然変異を有する急速に広がる変異体が、英国で同定されており(B.1.1.7)、現在のmRNAベースのワクチンの適用範囲について懸念が生じている<sup>6</sup>。このN501Y突然変異は、元々のRBD配列に対してワクチン接種されたマウスが、特異的な突然変異を含むSARS-CoV-2バリエーションをクリアにすることができたため、RBDワクチン接種の有効性に影響を与えないようである<sup>36</sup>。しかし、最近のデータは、他の臨床的に関連するRBD及び非RBD変異がワクチン誘発性体液性免疫からの脱出を媒介する可能性があることを示しており<sup>13、37</sup>、柔軟で迅速な適応可能なワクチンプラットフォームの緊急の必要性を強調している。

#### 【0941】

mRNA+CpG-CARTワクチン接種の安全性データは良好であるように思われる。検出された白血球数及びサイトカインプロファイルの変化は、CpGによって媒介された。しかし、CpGは、他のワクチンの臨床試験でよく知られている安全性の記録を有する。CpGのようなTLR活性化分子を本発明者らのワクチンに製剤化する能力は、免疫系の能力が低く、重度のCOVID-19の症状のリスクが高い集団において、防御免疫応答を誘導するのに役立つと考えている。CpGはpDCとB細胞とを直接活性化し、自然免疫応答と適応免疫応答との両方の誘導に貢献する。CpGによって開始される一連の事象は、ナチュラルキラー細胞、T細胞、及び単球/マクロファージの成熟、分化、及び増殖を間接的に支持する<sup>38~41</sup>。CpGによって活性化されたB細胞は、Fc受容体(FcR)及びMHCクラスII、CD40、CD80、及びCD86を含む共刺激分子の発現をアップレギュレートする<sup>42~44</sup>。その後、CpG刺激B細胞は増殖し、形質細胞とメモリーB細胞に分化する<sup>45</sup>。CpGのアジュバント効果は、本発明者らの研究によって裏付けられており、CpGの添加は、より迅速な免疫応答、血清及び気管支肺胞洗浄におけるより高い抗RBD力価、より効果的なACE2-RBD阻害及び偽型ウイルスの中和、T細胞応答の増加、並びにより顕著なアイソタイプスイッチングをもたらした。

#### 【0942】

結論として、本発明者らの研究は、臨床的に関連するSARS-CoV-2 RBD抗原に対するこのmRNA-CARTワクチンプラットフォームの効力と柔軟性を示している。異なる投与経路を介したB細胞とT細胞の両方の応答の堅牢な誘導は、感染症に対する

mRNAベースの治療薬の一般的な開発において、臨床的に承認された脂質ナノ粒子の代替として、さらなる探索とその使用を保証する。

【0943】

材料と方法

組換えタンパク質。

【0944】

Wuhan-Hu-1ゲノム配列 (GenBank MN9089473) の残基1-1213である、可溶性RBD-His、残基319-541及びスパイク-HisをコードするpCAGGSプラスミドは、Florian Krammer教授 (Icahn School of Medicine at Mount Sinai) からの贈り物だった<sup>23</sup>。可溶性ACE2-hIgA FC融合タンパク質をコードするpCDNA3プラスミドは、addgene (ID 145154) から購入した。プラスミドは、One Shot TOP10 Chemically Competent Escherichia coli (ThermoFisher Scientific) 及びZymoPURE II Plasmid Maxiprepキット (Zymo Research) を使用して増殖させた。組換えタンパク質は、Expi293F細胞 (ThermoFisher Scientific) を使用して、ExpiFectamine 293トランスフェクションキット (ThermoFisher Scientific) を使用して、精製DNAで200×106個のこれらの細胞をトランスフェクションすることにより製造した。トランスフェクトされた細胞からの上清を、トランスフェクションの3日後に300gで10分間遠心分離し、22µmのフィルターで濾過することにより採取した。RBD-His及びSpike-His含有上清は、HisPur Ni-NTA樹脂 (ThermoFisher Scientific) を使用してバッチ精製した。上清を6mLの樹脂とともに室温 (RT) で1時間インキュベートした。その後、遠心分離 (700gで2分間) により樹脂を回収し、洗浄し、最終的に製造者の推奨に従って溶出した。溶出画分をSDS-PAGE及びウエスタンブロットで分析して、RBD-His又はSpike-His精製を確認し、陽性画分をプールした。

【0945】

インビトロ転写。

【0946】

RBD-6hisをpCAGGS発現プラスミドから、T7プロモーター及びmRNA合成に必要なポリA配列を含むLF-pLMCTプラスミドにクローニングした。LF-pLMCTプラスミドは、Kris Thielemans博士 (Free University of Belgium) からの贈り物だった。RBD-6hisコード配列は、フォワードプライマーとして、PHUSIONポリメラーゼ (NEB) 及びTAAACCTTAAGACAACCATGGTCGTGTTTCTGGTG (配列番号5)、リバースプライマーとして、GGGGATCCcGTCTTCTCGAGTTATCAATGGTGATGGTGA (配列番号6) を使用したPCRによって増幅された。次いで、PCR産物をNcoI及びXhoIによってpLMCTに挿入した。RBDをコードするmRNAは、Hiscribe T7 (NEB) と共転写CleanCap AG (Trilink)、N1-メチル-シュードウリジン (Trilink)、及び5-メチル-シチジン (Trilink) を使用して、製造者の推奨に従って合成した。インビトロ転写の鑄型は、PHUSIONハイフィデリティDNAポリメラーゼ (NEB) とTGTGGGAATTGTGAGCGGATA (配列番号7) をフォワードプライマーとして及びCTTCACTATTGTGACAAAAA (配列番号8) をリバースプライマーとして使用して、産生されたpLMCT-RBD-6HisからのPCRアンプリコンであった。

【0947】

CARTの調整及び特徴付け。

【0948】

CART O6-stat-N<sub>6</sub>:A<sub>9</sub>は、オレイルとノネニル置換カーボネートモノマーの1:1の統計的混合物の最初のブロックと、続いてα-アミノエステルモノマーのブロックからなり、既報のとおり調製された<sup>14</sup>、<sup>15</sup>。端的には、トルエン(150 μL)中のノネニル(29 mg、1 mmol)とオレイルカーボネート(40.5 mg、1 mmol)の混合物に、50 μLのトルエン中のTU、DBU及びBnOH(5 mol%のTU/DBU、0.2 mmolのBnOH)を添加した。反応物を1.5時間攪拌し、次いで、モルホリノンモノマー(33.4 mg、0.16 mmol)を固体として添加し、次いで、さらに2.5時間攪拌した。反応物をAcOHでクエンチし、次いでDCM/MeOH(3.5 kDaのM<sub>w</sub>、カットオフ)で一晩透析した。透析後の濃縮により、85 mgの透明な残渣が得られ、乾燥DCM(8.5 mL)中のTFA(0.85 mL)で一晩脱保護された。脱保護ポリマーの末端基分析は、6個のノネニル及び6個のオレイルカーボネート単位並びに9個のカチオン性アミノエステル単位のブロック長を示した。

10

【0949】

CARTオリゴヌクレオチド製剤。

【0950】

CARTワクチンを調製するために、CARTの完全なプロトン化とオリゴヌクレオチドの完全な脱プロトン化(CpGとmRNAヌクレオチドの質量比1:1)を想定して、CARTは、CpGとRBD mRNAの混合物を10:1のカチオン:アニオン比で製剤化した。製剤は、試薬を酸性PBS(0.1 MのHClの添加により5.5に調整されたpH)に20秒間、総体積50~100 μLで混合し、続いて卓上遠心分離機で短時間スピニングすることによって調製した。製剤は、インビトロ又はインビボ実験のために5分以内に使用された。

20

【0951】

マウスのワクチン接種。

【0952】

雌のBALB/cマウス(8~12週齢)をJackson Laboratoryから購入し、Stanford University Medical CenterのLaboratory Animal Facilityに収容した。全ての実験は、Stanford Administrative Panel on Laboratory Animal Careによって承認され、Stanford University Animal Facility及びNIHガイドラインに従って実施された。RBD-mRNA及びCpGは、上記のように、pH 5.5のPBS中のCARTポリマーと製剤化した。マウスに、2.6 μLのCART(5 mM)と製剤化された3 μgのRBD-mRNA又は2.6 μLのCART(5 mM)と製剤化された3 μgのCpG又は5.2 μLのCART(5 mM)と製剤化された3 μgのRBD-mRNAと3 μgのCpGを注射した。マウスをIV、IM、又はSC注射によってワクチン接種し、実験に記載されるようにブーストした。CARTは、指示された濃度のmRNAで、50~100 μLの総体積で製剤化される。IV投与の場合、100 μLの製剤化されたCARTを尾静脈注射により投与した。IM注射の場合、50 μLの製剤化されたCARTを大腿筋に注射した。SC注射は、マウスの尾部近くの背中に投与した。指示された時点で、マウスを採血し、血清を採取した。

30

40

【0953】

HeLa及び293Fトランスフェクション。

【0954】

HeLa細胞及び293F細胞を、Opti-MEM培地(ThermoFisher Scientific)中の12ウェルプレートに、1ウェルあたり10<sup>6</sup>個の細胞でプレATINGした。2 μgのRBD-his mRNA又はGFP mRNA(Trilink)を6.6 μLのPBS pH 5.5に、1.37 μLの5 mMのCARTと製剤

50

化し、細胞に添加した。トランスフェクションの4時間後、Opti-MEM培地を10%のFCS及びペニシリン-ストレプトマイシン1000U/mLを含むRPMI培地に交換した。トランスフェクションの12時間後、RBD及びGFP発現を、それぞれウエスタンブロット及び蛍光顕微鏡法によってモニターした。

【0955】

ウエスタンブロット。

【0956】

HeLa又は293Fトランスフェクト細胞由来の培地の15μLを、4×試料充填緩衝液(Invitrogen)と混合し、4~12%のNuPAGEゲル(Invitrogen)に充填した。電気泳動は、MES緩衝液中で200Vで35分間行った。タンパク質をiBLOTシステム(Invitrogen)を使用してセルロース膜に転写した。膜をPonceau redで染色して、タンパク質転写を確認し、次いで、5%の脱脂粉乳を含む0.1%のTween(登録商標)20(TBST)を含むTBS緩衝液で膜を1時間ブロッキングした。膜をTBST中で3回洗浄し、5%の脱脂粉乳及び1:1000のマウス抗His(Biolegend)を含むTBST中で一晩インキュベートした。TBST中で3回洗浄した後、膜を5%の脱脂粉乳を含むTBST中の1:10000抗マウスIg(Southern Biotech)で1時間インキュベートした。TBST中で3回洗浄した後、ECプライムウエスタンブロットティングシステム(Sigma)を使用してブロットを明らかにした。膜は、BioRadのChemidoc MPイメージングシステムを使用してイメージングされた。

【0957】

血清調製。

【0958】

ヒト試料については、採血前に対象からインフォームドコンセントが得られた。血液をエプENDORF管に採取し、室温で60分間凝固させた。1000gで10分間遠心分離を行った後、上清を回収した。血清を56℃で30分間熱失活させた。

【0959】

ELISA。

【0960】

Nunc-Immuno MicroWell 96ウェルELISAプレート(MilliporeSigma)を、pH9の炭酸緩衝液中に、2μg/mLのRBD-His又はSpike-Hisタンパク質を1ウェルあたり50μLで一晩コーティングした。ELISA洗浄緩衝液(0.1%のTween(登録商標)20を含むPBS)で3回洗浄した後、0.1%のTween(登録商標)20(TBST)を含むTBS緩衝液に希釈された100μLの5%の脱脂粉乳を使用して、室温で1時間、プレートをブロッキングした。血清、BAL及び抗体希釈液を、1%の脱脂粉乳を含むTBSTで調製した。ブロッキング溶液を除去し、各段階希釈液の50μLを室温で1時間プレートに添加した。プレートを3回洗浄し、HRPコンジュゲートされた抗ヒトIg(1:5000、BioSource)、抗マウスIg(1:5000、Cell Signaling)、抗マウスIgG2a(1:5000、Southern Biotech)、抗マウスIgG2b(1:5000、Southern Biotech)、抗マウスIgG1(1:5000、Southern Biotech)、抗マウスIgG3(1:5000、Southern Biotech)、抗マウスIgA(1:5000、Invitrogen)又は抗マウスIgM(1:5000、Southern Biotech)とインキュベートした。プレートを3回洗浄し、100μLのTMB ELISA基質(Abcam)を各ウェルに添加した。ELISAを10分間発色させた後、TMB基質用停止溶液(ThermoFisher Scientific)の50μLを各ウェルに添加することによって反応を停止した。一部のアッセイでは、既知の抗体濃度のヒト抗RBD(Invivogene)を標準として使用した。450nmでの光学密度(OD450)は、SpectraMax Paradigmマイクロプレートリーダー(分子デバイス)

を使用して測定した。

【0961】

RBD-ACE2相互作用遮断アッセイELISA。

【0962】

RBD-ACE2相互作用遮断アッセイは、Genescriptの市販キット、自社開発のELISA及びフローサイトメトリーの3つの方法を使用して評価された。

【0963】

市販のキットに関して、製造者の使用説明書に従って、SARS-CoV-2サロゲートウイルス中和テスト(sVNT)キット(Genescript)を使用した。端的には、試料及び対照を希釈緩衝液で指示された比で希釈し、HRP-RBDと1:1の比で、37℃で30分間ブレインキュベートした。次いで、試料をhACE2でプレコートしたウェル中の捕捉プレートに添加した。37℃で15時間インキュベートした後、ウェルを洗浄緩衝液で4回洗浄した。TMB溶液を添加し、暗所で室温で15時間インキュベートした。15時間後、停止溶液をウェルに添加し、速やかに分析した。450nmでの光学密度(OD450)は、SpectraMax Paradigmマイクロプレートリーダー(分子デバイス)を使用して測定した。

【0964】

自社開発のELISAでは、Nunc-Immunoマイクロウェル96ウェルELISAプレート(Millipore)を、炭酸緩衝液pH9中に、2µg/mLのRBD-His又はSpike-Hisタンパク質を1ウェルあたり50µLで一晩コーティングした。ELISA洗浄緩衝液(0.1%のTween(登録商標)20を含むPBS)中で3回洗浄した後、0.1%のTween(登録商標)20(TBST)を含むTBST緩衝液に希釈された100µLの5%の脱脂粉乳を使用して、室温で1時間、プレートをブロッキングした。血清、BAL及び抗体希釈液を、1%の脱脂粉乳を含むTBST中で調製した。ブロッキング溶液を除去し、各段階希釈液の50µLを室温で1時間プレートに添加した。プレートを3回洗浄し、50µLの2回希釈したACE2-hIgA上清を各ウェルに1時間加えた。3回の洗浄後、プレートをHRPコンジュゲートされた抗ヒトIgA(1:1000、Thermo Scientific)と1%の脱脂粉乳を有するTBST中で1時間インキュベートした。プレートを3回洗浄し、100µLのTMB ELISA基質(Abcam)を各ウェルに添加した。ELISAを10分間発色させた後、TMB基質用停止溶液(ThermoFisher Scientific)の50µLを各ウェルに添加することによって反応を停止した。一部のアッセイでは、既知の抗体濃度のヒト抗RBD(Invivogen)を標準として使用した。450nmでの光学密度(OD450)は、SpectraMax Paradigmマイクロプレートリーダー(分子デバイス)を使用して測定した。

【0965】

フローサイトメトリーアッセイでは、RBD-His 2µg/mLを血清と1時間インキュベートした。次に、 $4 \times 10^5$ 個のACE2発現HEK293T細胞をRBD-His/血清ミックスに添加し、室温で30分間インキュベートした。次いで、細胞を1%のBSAを含むPBS中で2回洗浄した。次に、Alexa Fluor 488コンジュゲートされた抗His抗体(クローンJ099B1、Biolegend)を使用してRBDを検出した。細胞をフローサイトメトリー(BD)により分析した。

【0966】

偽ウイルスアッセイ。

【0967】

Sars-CoV-2スパイクタンパク質及びルシフェラーゼを発現する偽型レンチウイルスは、前述のようにHEK293T細胞で産生された<sup>46、47</sup>。トランスフェクションの1日前に、 $6 \times 10^6$ 個のHEK293T細胞を、10%のFCS、2mMのL-グルタミン、ストレプトマイシン及びペニシリンを含むRPMIの10cm培養プレートに播種した。次に、TransIT(Mirus)を使用して、10µgのレンチウイル

10

20

30

40

50

スパッケージングベクター (pHAGE\_\_Luc2\_\_IRES\_\_ZsGreen)、3.4  $\mu$ gのSARS-CoV-2スパイク及びレンチウイルスヘルパープラスミド (2.2  $\mu$ gのHDM-Hgpm2、2.2  $\mu$ gのHDM-Tat1b及び2.2  $\mu$ gのpRC-CMV\_\_Rev1b)を細胞にトランスフェクトした。スパイクベクターには、SARS-CoV-2のWuhan-Hu-1株 (GenBank NC\_\_045512)からの完全長野生型スパイク配列が含まれていた。これらの5つのプラスミドは、Jesse Bloom博士 (Fred Hutch Seattle, University of Washington)から親切に提供された。トランスフェクションの72時間後、ウイルス含有上清を採取し、300gで5分間遠心分離し、0.45  $\mu$ mのフィルターで濾過し、分注し、-80℃で凍結した。

10

【0968】

ウイルス中和アッセイでは、ACE2発現HEK293T<sup>47</sup>細胞を、感染の1日前に12,500細胞/ウェルでポリ-L-リシンコーティングされた白壁の透明底96ウェルプレートに播種した。マウス血清を2000gで15分間遠心分離し、56℃で30分間熱失活させ、D10培地 (10%のFCSを補充したDMEM培地)で希釈した。ウイルスをD10培地で希釈し、ポリブレン (5  $\mu$ g/mL)を補充した後、血清希釈液を添加した。ウイルス/血清混合物を37℃で1時間プレインキュベートした後、細胞に加え、37℃で約48時間インキュベートした。BriteLiteアッセイ読み出し溶液 (PerkinElmer)を添加することによって細胞を溶解し、発光値をSpectraMax Paradigmマイクロプレートリーダー (分子デバイス)で測定した。陽性対照として、中和ヒト抗SARS-CoV-2 IgG1抗体を使用した (Acro)。

20

【0969】

気管支肺胞洗浄。

【0970】

マウスを 殺し、前述の手順に従って1mLのPBSで肺を2回膨らませた<sup>8</sup>。洗浄画分をプールし、1200rpmで5分間遠心分離した。上清を回収し、ELISA法により抗RBD抗体をアッセイした。

【0971】

肺におけるT細胞応答アッセイ。

【0972】

マウスの肺は、ワクチン接種後の指示された日に採取された。肺単一細胞懸濁液を調製するために、肺を小片に切断し、コラゲナーゼD (2mg/mL、Sigma)及びDNase (50  $\mu$ g/mL、Sigma)を含むRPMI中で37℃で30分間インキュベートした。次いで、消化ミックスを5倍に希釈し、肺調製物を70  $\mu$ mの細胞ストレーナーで処理した。脾臓又は肺単一細胞懸濁液中に存在する赤血球を、ACK緩衝液 (ThermoFisher Scientific)を使用して溶解した。単一細胞懸濁液は、T細胞応答アッセイのためのさらなる処理まで氷上に保持された。細胞を96ウェルプレート (Corning、V底)で1×10<sup>6</sup>細胞/ウェルで培養し、抗マウスCD28抗体 [0.5g/mL] (Southern Biotech)の存在下で、5  $\mu$ g/mLのRBD-His又はhCD81-His又は培地単独 (RPMI+5%のFCS)で48時間刺激した。陽性対照として、細胞を抗マウスCD3 [0.05g/mL] (Southern Biotech)で刺激した。細胞内染色のために、細胞を染色前にGolgiStop (BD Biosciences)で5時間処理した。刺激後、細胞を洗浄し、PBS中のAqua生/死生存率色素 (ThermoFisher)で染色し、さらに2回洗浄し、モノクローナル抗体とFcブロック: CD16/32、CD4 BV605 RM4-5、CD8 FITC 53-6.7、CD44 APC IM7、CD69 PE-Cy7 H1.2F3、CD134 BV786 OX-86、CD137 PE 1AH2及びCD45R/B220 Per-CP 5.5 RA3-6B2 (全てBD Bioscience)のカクテルで染色した。細胞を固定し、製造者のプロトコール (BD Biosciences)に従って透過処理し、aTNF $\alpha$  BV650

30

40

50

MP6-XT22 (BD Bioscience) で染色した。細胞を洗浄し、2%のホルムアルデヒドで固定し、BD LSR II で取得し、Cytobank V7.3.0 を使用して分析した。

【0973】

脾臓におけるT細胞応答アッセイ。

【0974】

ワクチン接種後D105にマウスの脾臓を採取し、次いで、70mの細胞ストレーナー (BD Biosciences) で処理することによって、単一細胞懸濁液を調製した。次に、細胞を管あたり  $6 \times 10^5$  個の細胞のFACS管でインキュベートし、2g/mLのRBDペプチドミックス [PepMix SARS-CoV-2 (S-RBD) タンパク質ID: P0DTC2 PM-WCPV-S-RBD-1、JPT] 又は培地単独で18時間刺激した。陽性対照として、細胞を抗マウスCD3 [0.05g/mL] (Southern Biotech) 及び抗マウスCD28抗体 [0.5g/mL] (Southern Biotech) で刺激した。GolgiStop (BD Biosciences) をアッセイの最後の10時間にわたって添加した。刺激後、細胞を洗浄し、PBS中のAqua生/死生存率色素 (Thermo Fisher) で染色し、さらに2回洗浄し、モノクローナル抗体とFcブロック: CD16/32、CD4 Ax700 RM4-5、CD8 APC-H7 53-6.7及びCD44 APC IM7 (全てBD Biosciences) とのカクテルで染色した。細胞を固定し、製造者のプロトコール (BD Biosciences) に従って透過処理し、IFN $\gamma$  PE-Cy7 XMG1.2、TNF $\alpha$  BV650 MP6-XT22及びIL-4 BV786 11B11 (BD Bioscience) で細胞内サイトカインについて染色した。細胞を洗浄し、2%のホルムアルデヒドで固定し、Cytek Aurora (Northern Lights) で取得し、Cytobank V7.3.0を使用して分析した。

【0975】

IFN $\gamma$  ELISpot。

【0976】

アッセイは、製造者の使用説明書に従って実施した (R&D systems、マウスIFN $\gamma$ キットcat. EL485)。端的には、IFN $\gamma$  ELISpot分析は、MACSソート (製造者の指示に従ってMiltenyi CD4<sup>+</sup>又はCD8<sup>+</sup>マイクロビーズ) によって、CD4<sup>+</sup>が枯渇しCD8<sup>+</sup>T細胞に富化された、又はCD8<sup>+</sup>が枯渇しCD4<sup>+</sup>T細胞が富化された、PBMCを使用して、エクスピボで (増殖のためのさらなるインビトロ培養なしで) 実施された。試験は3連で、陽性対照 [抗CD3モノクローナル抗体 (0.05g/mL; Southern Biotech)] で実施された。IFN $\gamma$  特異的抗体でプレコートされたPVDf裏打ちマイクロプレート (R&D systems、マウスIFN $\gamma$ キットcat. EL485) をPBSで洗浄し、5%のFCSを含むRPMI培地 (Corning) で室温で20分間ブロッキングした。ウェルあたり、 $5 \times 10^5$  個のエフェクター細胞を2g/mLのRBDペプチドミックス [PepMix SARS-CoV-2 (S-RBD) タンパク質ID: P0DTC2 PM-WCPV-S-RBD-1、JPT] で16時間刺激した。刺激後、ウェルを洗浄し、ビオチン化抗IFN $\gamma$ 抗体 (R&D systems、マウスIFN $\gamma$ キットcat. EL485) を4℃で一晩インキュベートした。翌日、ウェルを洗浄し、ストレプトアビジン-AP (R&D systems、マウスIFN $\gamma$ キットcat. EL485) で室温で2時間インキュベートした。洗浄後、ウェルを5-ブロモ-4-クロロ-3'-インドリルホスフェート (BCIP) / ニトロブルーテトラゾリウム (NBT) 基質 (R&D systems、マウスIFN $\gamma$ キットcat. EL485) でインキュベートした。プレートをスキャンし、ImmunoSpotマイクロアナライザーを使用して分析した。

【0977】

インビボ生物発光イメージング。

【0978】

生物発光評価のために、マウスは注射及びイメージング手順中に、イソフルランガス（酸素中2%のイソフルラン、1 L / 分）で麻酔された。D-ルシフェリン（Biosynth AG）の腹腔内注射は、150 mg / kgの用量で行われ、Fuc酵素の飽和基質濃度を提供した（ルシフェリンは血液脳関門を通過する。）。マウスを、冷却された電荷結合素子カメラを搭載したインビボ光学イメージングシステム（AMI HT; Spectral Instruments imaging）使用して遮光チャンバーでイメージングした。画像記録中、マウスはノーズコーンを介して送達されたイソフルランを吸入し、カメラシステムの暗箱内で体温を37℃に維持した。生物発光画像は、ルシフェリン投与後10～20分の間に取得された。マウスは通常、イメージングから2分以内に麻酔から回復した。

10

【0979】

白血球数。

【0980】

5 Lの血液を採取し、45 Lの3%の酢酸とメチレンブルー（Stemcell）と混合し、血球計数器を使用して核をカウントした。

【0981】

サイトカイン分析。

【0982】

IP10、IFN $\alpha$ 、TNF $\alpha$ 及びIL6は、製造者のプロトコールに従って、BiolegendからのLEGENDplexビーズベースのイムノアッセイを使用して、血清試料で測定された。アッセイはBD FACSCalibur装置で分析した。

20

【0983】

全血球計算。

【0984】

全血球計算（CBC）分析は、スタンフォードの動物診断ラボによって実施された。Sysmex XN-1000V分析装置システムで自動血液検査を実施した。血液塗抹標本は全てのCBC試料について作成され、臨床検査技師によってレビューされた。手動鑑別は、種及び自動分析によって示されるように実行された。

【0985】

肝酵素分析。

【0986】

肝酵素は、スタンフォードの動物診断ラボによって分析された。化学分析は、Siemens Dimension EXL200/LOC I分析装置で実行された。臨床検査技師は、示されているように希釈及び反復検査を含む全ての検査を実施し、全てのデータをレビューした。

30

【0987】

安全に関する記載。

【0988】

全マウス実験で、予期せぬ又は異常に高い安全上の問題は発生しなかった。

【0989】

40

## 【表 1】

## 実施例2の参考文献

- (1) Padron-Regalado, E. Vaccines for SARS-CoV-2: Lessons from Other Coronavirus Strains. *Infect Dis Ther* 2020, 9, 255–274.
- (2) Zhao, J.; Zhao, S.; Ou, J.; Zhang, J.; Lan, W.; Guan, W.; *et al.* COVID-19: Coronavirus Vaccine Development Updates. *Front. Immunol.* 2020, 11, 602256.
- (3) Alberer, M.; Gnad-Vogt, U.; Hong, H. S.; Mehr, K. T.; Backert, L.; Finak, G.; *et al.* Safety and immunogenicity of a mRNA rabies vaccine in healthy adults: an open-label, non-randomised, prospective, first-in-human phase 1 clinical trial. *Lancet* 2017, 390, 1511–1520. 10
- (4) Feldman, R. A.; Fuhr, R.; Smolenov, I.; Mick Ribeiro, A.; Panther, L.; Watson, M.; *et al.* mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses of pandemic potential 20

30

40

50

are immunogenic and well tolerated in healthy adults in phase 1 randomized clinical trials. *Vaccine* 2019, 37, 3326–3334.

(5) Anderson, E. J.; Roupheal, N. G.; Widge, A. T.; Jackson, L. A.; Roberts, P. C.; Makhene, M.; *et al.* Safety and Immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 Vaccine in Older Adults. *N. Engl. J. Med.* 2020, 383, 2427–2438.

(6) Walsh, E. E.; Frenck, R. W.; Falsey, A. R.; Kitchin, N.; Absalon, J.; Gurtman, A.; *et al.* Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates. *N. Engl. J. Med.* 2020, 383, 2439–2450. 10

(7) Ura, T.; Yamashita, A.; Mizuki, N.; Okuda, K.; Shimada, M. New vaccine production platforms used in developing SARS-CoV-2 vaccine candidates. *Vaccine* 2021, 39, 197–201.

(8) Dai, L.; Gao, G. F. Viral targets for vaccines against COVID-19. *Nat. Rev. Immunol.* 2021, 21, 73–82. 20

(9) Lee, W. S.; Wheatley, A. K.; Kent, S. J.; DeKosky, B. J. Antibody-dependent enhancement and SARS-CoV-2 vaccines and therapies. *Nat. Microbiol* 2020, 5, 1185–1191.

(10) Liang, F.; Lindgren, G.; Lin, A.; Thompson, E. A.; Ols, S.; Röhss, J.; *et al.* Efficient Targeting and Activation of Antigen-Presenting Cells In Vivo after Modified mRNA Vaccine Administration in Rhesus Macaques. *Mol. Ther.* 2017, 25, 2635–2647.

(11) Zhu, Z.; Gao, P.; Hu, Y.; Wang, J.; Wang, H.; Yang, J.; *et al.* PEGylated versus non-PEGylated drugs: A cross-sectional analysis of adverse events in the FDA Adverse Event Reporting System (FAERS) Database. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 2020, 58, 332–342. 30

(12) Castells, M. C.; Phillips, E. J. Maintaining Safety with SARS-CoV-2 Vaccines. *N. Engl. J. Med.* 2021, 384, 643–649.

(13) Chen, R. E.; Zhang, X.; Case, J. B.; Winkler, E. S.; Liu, Y.; VanBlargan, L. A.; *et al.* Resistance of SARS-CoV-2 variants to neutralization by monoclonal and serum-derived polyclonal antibodies. *Nat. Med.* 2021, 27, 717–726. 40

(14) McKinlay, C. J.; Vargas, J. R.; Blake, T. R.; Hardy, J. W.; Kanada, M.; Contag, C. H.; *et al.* Charge-altering releasable transporters (CARTs) for the delivery and release of mRNA in living animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2017, 114, E448–E456.

(15) McKinlay, C. J.; Benner, N. L.; Haabeth, O. A.; Waymouth, R. M.; Wender, P. A. Enhanced mRNA delivery into lymphocytes enabled by lipid-varied libraries of charge-altering releasable trans-porters. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2018, 115, E5859–E5866.

(16) Haabeth, O. A. W.; Blake, T. R.; McKinlay, C. J.; Waymouth, R. M.; Wender, P. A.; Levy, R. mRNA vaccination with charge-altering releasable transporters elicits human T cell responses and cures established tumors in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2018, 115, E9153–E9161.

(17) Bode, C.; Zhao, G.; Steinhagen, F.; Kinjo, T.; Klinman, D. M. CpG DNA as a vaccine adjuvant. *Expert Rev. Vaccines* 2011, 10, 499–511.

(18) Amanat, F.; Krammer, F. SARS-CoV-2 Vaccines: Status Report. *Immunity* 2020, 52, 583–589.

(19) Zhang, N.-N.; Li, X.-F.; Deng, Y.-Q.; Zhao, H.; Huang, Y.-J.; Yang, G.; *et al.* A Thermostable mRNA Vaccine against COVID-19. *Cell* 2020, 182, 1271–1283.

(20) Huang, Q.; Ji, K.; Tian, S.; Wang, F.; Huang, B.; Tong, Z.; *et al.* A single-dose mRNA vaccine provides a long-term protection for hACE2 transgenic mice from SARS-CoV-2. *Nat. Commun.* 2021, 12, 12.

(21) Haabeth, O. A. W.; Blake, T. R.; McKinlay, C. J.; Tveita, A. A.; Sallets, A.; Waymouth, R. M.; *et al.* Local Delivery of Ox40l, Cd80, and Cd86 mRNA Kindles Global Anticancer Immunity. *Cancer Res.* 2019, 79, 1624–1634.

(22) Xue, H. Y.; Liu, S.; Wong, H. L. Nanotoxicity: a key obstacle to clinical translation of siRNA-based nanomedicine. *Nanomedicine (London, U. K.)* 2014, 9, 295–312.

(23) Amanat, F.; Stadlbauer, D.; Strohmeier, S.; Nguyen, T. H. O.; Chromikova, V.; McMahon, M.; *et al.* A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *Nat. Med.* 2020, 26, 1033–1036.

10

20

30

40

50

(24) Vaidyanathan, S.; Azizian, K. T.; Haque, A. K. M. A.; Henderson, J. M.; Hendel, A.; Shore, S.; *et al.* Uridine Depletion and Chemical Modification Increase Cas9 mRNA Activity and Reduce Immunogenicity without HPLC Purification. *Mol. Ther.–Nucleic Acids* 2018, 12, 530–542.

(25) Toellner, K.-M.; Luther, S. A.; Sze, DM-Y; Choy, RK-W; Taylor, D. R.; MacLennan, I. C. M.; *et al.* T Helper 1 (Th1) and Th2 Characteristics Start to Develop During T Cell Priming and Are Associated with an Immediate Ability to Induce Immunoglobulin Class Switching. *J. Exp. Med.* 1998, 187, 1193–1204. 10

(26) Reinhardt, R. L.; Liang, H.-E.; Locksley, R. M. Cytokine-secreting follicular T cells shape the antibody repertoire. *Nat. Immunol.* 2009, 10, 385–393.

(27) Mulligan, M. J.; Lyke, K. E.; Kitchin, N.; Absalon, J.; Gurtman, A.; Lockhart, S.; *et al.* Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Nature* 2020, 586, 589–593.

(28) Polack, F. P.; Thomas, S. J.; Kitchin, N.; Absalon, J.; Gurtman, A.; Lockhart, S.; *et al.* Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N. Engl. J. Med.* 2020, 383, 2603–2615. 20

(29) Baden, L. R.; El Sahly, H. M.; Essink, B.; Kotloff, K.; Frey, S.; Novak, R.; *et al.* Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N. Engl. J. Med.* 2021, 384, 403–416.

(30) Darrah, P. A.; Zeppa, J. J.; Maiello, P.; Hackney, J. A.; Wadsworth, M. H.; Hughes, T. K.; *et al.* Prevention of tuberculosis in macaques after intravenous BCG immunization. *Nature* 2020, 577, 95–102. 30

(31) Grunwitz, C.; Salomon, N.; Vascotto, F.; Selmi, A.; Bukur, T.; Diken, M.; *et al.* HPV16 RNA-LPX vaccine mediates complete regression of aggressively growing HPV-positive mouse tumors and establishes protective T cell memory. *Oncoimmunology* 2019, 8, e1629259.

(32) Sahin, U.; Oehm, P.; Derhovanessian, E.; Jabulowsky, R. A.; Vormehr, M.; Gold, M.; *et al.* An RNA vaccine drives immunity in checkpoint-inhibitor-treated melanoma. *Nature* 2020, 585, 107–112. 40

(33) Sahin, U.; Muik, A.; Derhovanessian, E.; Vogler, I.; Kranz, L. M.; Vormehr, M.; *et al.* COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. *Nature* 2020, 586, 594–599.

(34) Piccoli, L.; Park, Y.-J.; Tortorici, M. A.; Czudnochowski, N.; Walls, A. C.; Beltramello, M.; *et al.* Mapping Neutralizing and Immunodominant Sites on the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain by Structure-Guided High-Resolution Serology. *Cell* 2020, 183, 1024–1042.

10

(35) Smith, T. R. F.; Patel, A.; Ramos, S.; Elwood, D.; Zhu, X.; Yan, J.; *et al.* Immunogenicity of a DNA vaccine candidate for COVID-19. *Nat. Commun.* 2020, 11, 2601.

(36) Gu, H.; Chen, Q.; Yang, G.; He, L.; Fan, H.; Deng, Y.-Q.; *et al.* Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy. *Science* 2020, 369, 1603–1607.

(37) Garcia-Beltran, W. F.; Lam, E. C.; St. Denis, K.; Nitido, A. D.; Garcia, Z. H.; Hauser, B. M.; *et al.* Multiple SARS-CoV-2 variants escape neutralization by vaccine-induced humoral immunity. *Cell* 2021, 184, 2372.

20

(38) Ballas, Z. K.; Rasmussen, W. L.; Krieg, A. M. Induction of NK activity in murine and human cells by CpG motifs in oligodeoxynucleotides and bacterial DNA. *J. Immunol* 1996, 157 (5), 1840–1845.

(39) Klinman, D. M.; Yi, A. K.; Beaucage, S. L.; Conover, J.; Krieg, A. M. CpG motifs present in bacteria DNA rapidly induce lymphocytes to secrete interleukin 6, interleukin 12, and interferon gamma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1996, 93, 2879–2883.

30

(40) Sun, S.; Zhang, X.; Tough, D. F.; Sprent, J. Type I interferon-mediated stimulation of T cells by CpG DNA. *J. Exp. Med.* 1998, 188, 2335–2342.

(41) Stacey, K. J.; Sweet, M. J.; Hume, D. A. Macrophages ingest and are activated by bacterial DNA. *J. Immunol* 1996, 157 (5), 2116–2122.

(42) Krieg, A. M.; Yi, A. K.; Matson, S.; Waldschmidt, T. J.; Bishop, G. A.; Teasdale, R.; *et al.* CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation. *Nature* 1995, 374, 546–549.

40

(43) Davis, H. L.; Weeratna, R.; Waldschmidt, T. J.; Tygrett, L.; Schorr, J.; Krieg, A. M.; *et al.* CpG DNA is a potent enhancer of specific immunity in mice immunized with recombinant hepatitis B surface antigen. *J. Immunol* 1998, 160 (2), 870–876.

(44) Kobayashi, H.; Horner, A. A.; Takabayashi, K.; Nguyen, M. D.; Huang, E.; Cinman, N.; *et al.* Immunostimulatory DNA pre-priming: a novel approach for prolonged Th1-biased immunity. *Cell. Immunol.* 1999, 198, 69–75. 10

(45) Jung, J.; Yi, A.-K.; Zhang, X.; Choe, J.; Li, L.; Choi, Y. S. Distinct response of human B cell subpopulations in recognition of an innate immune signal, CpG DNA. *J. Immunol.* 2002, 169, 2368–2373.

(46) Crawford, K. H. D.; Eguia, R.; Dingens, A. S.; Loes, A. N.; Malone, K. D.; Wolf, C. R.; *et al.* Protocol and Reagents for Pseudotyping Lentiviral Particles with SARS-CoV-2 Spike Protein for Neutralization Assays. *Viruses* 2020, 12, 513. 20

(47) Rogers, T. F.; Zhao, F.; Huang, D.; Beutler, N.; Burns, A.; He, W.; *et al.* Isolation of potent SARS-CoV-2 neutralizing antibodies and protection from disease in a small animal model. *Science* 2020, 369, 956–963.

(48) Sun, F.; Xiao, G.; Qu, Z. Murine Bronchoalveolar Lavage. *Bio Protoc* 2017, 7, 7.

#### 【 0 9 9 0 】

非公式の配列表 30

配列番号 1 ( O D N 1 8 2 6 ) : t c c a t g a c g t t c c t g a c g t t

#### 【 0 9 9 1 】

配列番号 2 ( O D N S D - 1 0 1 ) : t c g a a c g t t c g a a c g t t c g a a c g t t c g a a t

#### 【 0 9 9 2 】

配列番号 3 (スパイクタンパク質の S A R S - C o V - 2 R B D をコードする m R N A ) :

#### 【 0 9 9 3 】

## 【化 2 0 3】

(atggTCGTGTTTCTGGTGCTGCTGCCTCTGGTGTCCAGCCAGCGGGTGCAGCCCAC  
CGAATCCATCGTGCGGTTCCCCAATATCACCAATCTGTGCCCCTTCGGCGAGGTG  
TTCAATGCCACCAGATTTCGCCTCTGTGTACGCCTGGAACCGGAAGCGGATCAGCA  
ATTGCGTGGCCGACTACTCCGTGCTGTACAACCTCCGCCAGCTTCAGCACCTTCAA  
GTGCTACGGCGTGTCCCCTACCAAGCTGAACGACCTGTGCTTCACAAACGTGTAC  
GCCGACAGCTTCGTGATCCGGGGAGATGAAGTGCGGCAGATTGCCCCTGGACAG  
ACAGGCAAGATCGCCGACTACAACCTACAAGCTGCCCCGACGACTTCACCGGCTGT  
GTGATTGCCTGGAACAGCAACAACCTGGACTCCAAAGTCGGCGGCAACTACAAT  
TACCTGTACCGGCTGTTCCGGAAGTCCAATCTGAAGCCCTTCGAGCGGGACATCT  
CCACCGAGATCTATCAGGCCGGCAGCACCCCTTGTAACGGCGTGGAAGGCTTCA  
ACTGCTACTTCCCCTGAGTCCTACGGCTTTCAGCCCACAAATGGCGTGGGCTA  
TCAGCCCTACAGAGTGGTGGTGCTGAGCTTCGAACTGCTGCATGCCCTGCCACA  
GTGTGCGGCCCTAAGAAAAGCACCAATCTCGTGAAGAACAAATGCGTGAACTTC  
caccatcaccatcaccatTGATAA)

10

20

## 【0 9 9 4】

配列番号 4 (SARS-CoV-2 スパイクタンパク質をコードする mRNA) :

## 【0 9 9 5】

30

40

50

## 【化 2 0 4】

atggTCGTGTTTCTGGTGCTGCTGCCTCTGGTGTCCAGCCAGTGTGTGAACCTGACC  
ACAAGAACCCAGCTGCCTCCAGCCTACACCAACAGCTTTACCAGAGGCGTGTAC  
TACCCCGACAAGGTGTTTCAGATCCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTGTTCC  
TGCCTTTCTTCAGCAACGTGACCTGGTTCCACGCCATCCACGTGTCCGGCACCAA  
TGGCACCAAGAGATTTCGACAACCCCGTGCTGCCCTTCAACGACGGGGTGTACTTT  
GCCAGCACCGAGAAGTCCAACATCATCAGAGGCTGGATCTTCGGCACCACTG  
GACAGCAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTGAACAACGCCACCAACGTGGTCATC  
AAAGTGTGCGAGTTCCAGTTCTGCAACGACCCCTTCCTGGGCGTCTACTATCACA  
AGAACAACAAGAGCTGGATGGAAAGCGAGTTCCGGGTGTACAGCAGCGCCAAC  
AACTGCACCTTCGAGTACGTGTCCCAGCCTTTCCTGATGGACCTGGAAGGCAAGC  
AGGGCAACTTCAAGAACCTGCGCGAGTTCGTGTTCAAGAACATCGACGGCTACT  
TCAAGATCTACAGCAAGCACACCCCTATCAACCTCGTGCGGGATCTGCCTCAGGG  
CTTCTCTGCTCTGGAACCCCTGGTGGATCTGCCCATCGGCATCAACATCACCCGG  
TTTCAGACACTGCTGGCCCTGCACAGAAGCTACCTGACACCTGGCGATAGCAGC  
AGCGGATGGACAGCTGGTGCCGCCGCTTACTATGTGGGCTACCTGCAGCCTAGA  
ACCTTTCTGCTGAAGTACAACGAGAACGGCACCATCACCGACGCCGTGGATTGT  
GCTCTGGATCCTCTGAGCGAGACAAAGTGCACCCTGAAGTCCTTCACCGTGGAA  
AAGGGCATCTACCAGACCAGCAACTTCCGGGTGCAGCCCACCGAATCCATCGTG  
CGGTTCCCCAATATCACCAATCTGTGCCCTTCGGCGAGGTGTTCAATGCCACCA  
GATTCGCCTCTGTGTACGCCTGGAACCGGAAGCGGATCAGCAATTGCGTGGCCG  
ACTACTCCGTGCTGTACAACCTCCGCCAGCTTCAGCACCTTCAAGTGCTACGGCGT  
GTCCCCTACCAAGCTGAACGACCTGTGCTTCACAAACGTGTACGCCGACAGCTTC  
GTGATCCGGGGAGATGAAGTGCGGCAGATTGCCCTGGACAGACAGGCAAGATC  
GCCGACTACAACCTACAAGCTGCCCGACGACTTCACCGGCTGTGTGATTGCCTGGA  
ACAGCAACAACCTGGACTCCAAAGTCGGCGGCAACTACAATTACCTGTACCGGC  
TGTTCCGGAAGTCCAATCTGAAGCCCTTCGAGCGGGACATCTCCACCGAGATCTA  
TCAGGCCGGCAGCACCCCTTGTAACGGCGTGGAAGGCTTCAACTGCTACTTCCCA

10

20

30

40

50

CTGCAGTCCTACGGCTTTCAGCCCACAAATGGCGTGGGCTATCAGCCCTACAGAG  
TGGTGGTGTCTGAGCTTCGAACTGCTGCATGCCCCTGCCACAGTGTGCGGCCCTAA  
GAAAAGCACCAATCTCGTGAAGAACAAATGCGTGAACCTCAACTTCAACGGCCT  
GACCGGCACCGGCGTGTCTGACAGAGAGCAACAAGAAGTTCCTGCCATTCCAGCA  
GTTTGGCCGGGATATCGCCGATACCACAGACGCCGTTAGAGATCCCCAGACACT  
GGAAATCCTGGACATCACCCCTTGCAGCTTCGGCGGAGTGTCTGTGATCACCCCT  
GGCACCAACACCAGCAATCAGGTGGCAGTGTCTGTACCAGGACGTGAACTGTACC  
GAAGTGCCCGTGGCCATTACGCCGATCAGCTGACACCTACATGGCGGGTGTACT  
CCACCGGCAGCAATGTGTTTCAGACCAGAGCCGGCTGTCTGATCGGAGCCGAGC  
ACGTGAACAATAGCTACGAGTGCGACATCCCCATCGGCGCTGGCATCTGTGCCA  
GCTACCAGACACAGACAAACAGCCCCGCCTCTGTGGCCAGCCAGAGCATCATTG  
CCTACACAATGTCTCTGGGCGCCGAGAACAGCGTGGCCTACTCCAACAACCTCTAT  
CGCTATCCCCACCAACTTCACCATCAGCGTGACCACAGAGATCCTGCCTGTGTCC  
ATGACCAAGACCAGCGTGGACTGCACCATGTACATCTGCGGCGATTCCACCGAG  
TGCTCCAACCTGCTGCTGCAGTACGGCAGCTTCTGCACCCAGCTGAATAGAGCCC  
TGACAGGGATCGCCGTGGAACAGGACAAGAACACCCAAGAGGTGTTCCGCCAAG  
TGAAGCAGATCTACAAGACCCCTCCTATCAAGGACTTCGGCGGCTTCAATTTTCAG  
CCAGATTCTGCCCGATCCTAGCAAGCCCAGCAAGCGGAGCTTCATCGAGGACCT  
GCTGTTCAACAAAGTGACACTGGCCGACGCCGGCTTCATCAAGCAGTATGGCGA  
TTGTCTGGGCGACATTGCCGCCAGGGATCTGATTTGCGCCCAGAAGTTTAACGGA  
CTGACAGTGTCTGCCTCCTCTGCTGACCGATGAGATGATCGCCCAGTACACATCTG  
CCCTGCTGGCCGGCACAATCACAAAGCGGCTGGACATTTGGAGCTGGCGCCGCTCT  
GCAGATCCCCCTTTGCTATGCAGATGGCCTACCGGTTCAACGGCATCGGAGTGACC  
CAGAATGTGCTGTACGAGAACCAGAAGCTGATCGCCAACCAGTTCAACAGCGCC  
ATCGGCAAGATCCAGGACAGCCTGAGCAGCACAGCAAGCGCCCTGGGAAAGCTG  
CAGGACGTGGTCAACCAGAATGCCCAGGCACTGAACACCCTGGTCAAGCAGCTG  
TCCTCCAACCTTCGGCGCCATCAGCTCTGTGCTGAACGATATCCTGAGCAGACTGG  
ACcctcctGAAGCCGAGGTGCAGATCGACAGACTGATCACCGGAAGGCTGCAGTCC  
CTGCAGACCTACGTTACCCAGCAGCTGATCAGAGCCGCCGAGATTAGAGCCTCT  
GCCAATCTGGCCGCCACCAAGATGTCTGAGTGTGTGCTGGGCCAGAGCAAGAGA  
GTGGACTTTTGGCGCAAGGGCTACCACCTGATGAGCTTCCCTCAGTCTGCCCCTC  
ACGGCGTGGTGTCTTCTGCACGTGACATACGTGCCCGCTCAAGAGAAGAATTTAC  
CACCGCTCCAGCCATCTGCCACGACGGCAAAGCCCACCTTTCCTAGAGAAGGCGT

10

20

30

40

50

GTTCGTGTCCAACGGCACCCATTGGTTCGTGACCCAGCGGAAC TTCTACGAGCCC  
CAGATCATCACCACCGACAACACCTTCGTGTCTGGCAACTGCGACGTCGTGATCG  
GCATTGTGAACAATAACCGTGTACGACCCTCTGCAGCCCGAGCTGGACAGCTTCAA  
AGAGGAACTGGATAAGTACTTTAAGAACCACACAAGCCCCGACGTGGACCTGGG  
CGATATCAGCGGAATCAATGCCAGCGTCGTGAACATCCAGAAAGAGATCGACCG  
GCTGAACGAGGTGGCCAAGAATCTGAACGAGAGCCTGATCGACCTGCAAGA ACT  
GGGGAAGTACGAGCAGTACATCAAGTGGCCAGCGGCCGCTTGGTCCACGTGG  
CTCACCCGGATCTGGATACATCCCGGAGGCCCTAGGGACGGTCAAGCTTACGT  
GAGAAAGGACGGCGAATGGGTTCTGCTGTCGACCTTCTTGGGACATCATCATCAT  
CATCACTAATGA

10

【0996】

配列番号5 (BD-6hisコード配列のフォワードプライマー)

TAAACTTAAGACAACCATGGTCTGTGTTTCTGGTG C

【0997】

配列番号6 (BD-6hisコード配列のリバースプライマー)

GGGGATCCcGTCTTCCTCGAGTTATCAATGGTGATGGTGA

【0998】

配列番号7 (pLMCT-RBD-6His由来のアンプリコンについてのフォワード  
プライマー)

TGTGGAATTGTGAGCGGATA

【0999】

配列番号8 (pLMCT-RBD-6His由来のアンプリコンについてのリバースプ  
ライマー)

【1000】

【化205】

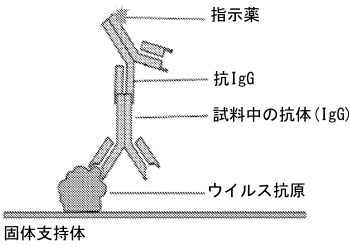
30

CTTCACTATTGTCGACAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

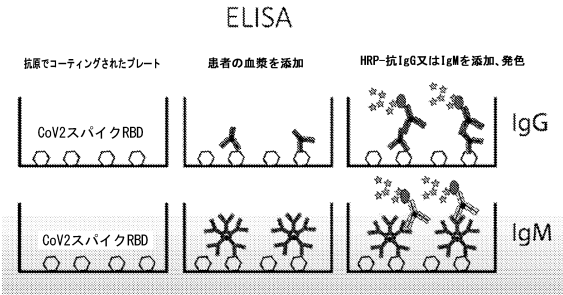
40

50

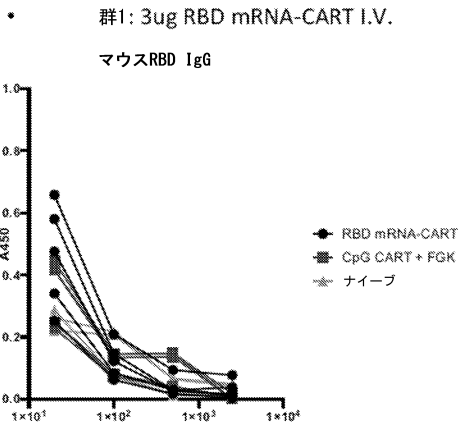
【図面】  
【図 1 A】  
FIG. 1A



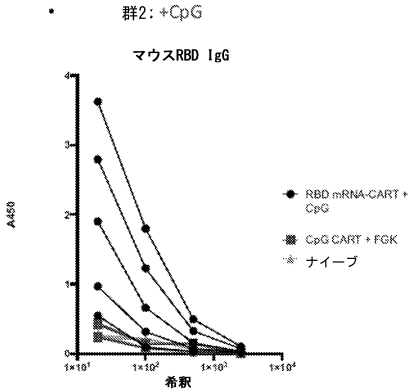
【図 1 B】  
FIG. 1B



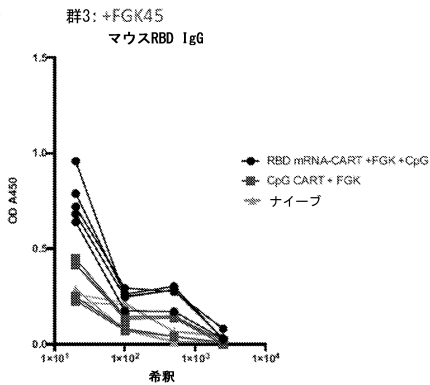
【図 2 A】  
FIG. 2A



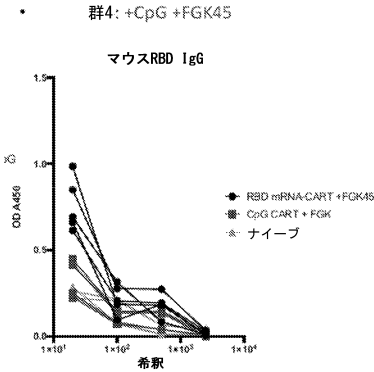
【図 2 B】  
FIG. 2B



【図 2 C】  
FIG. 2C



【図 2 D】  
FIG. 2D



10

20

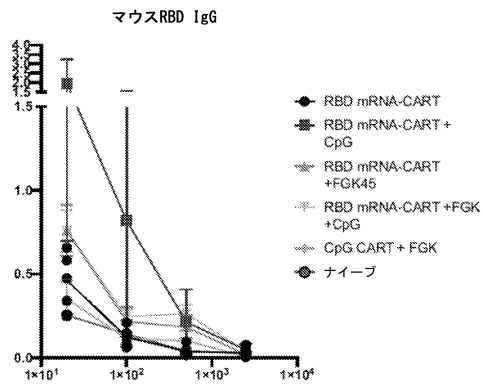
30

40

50

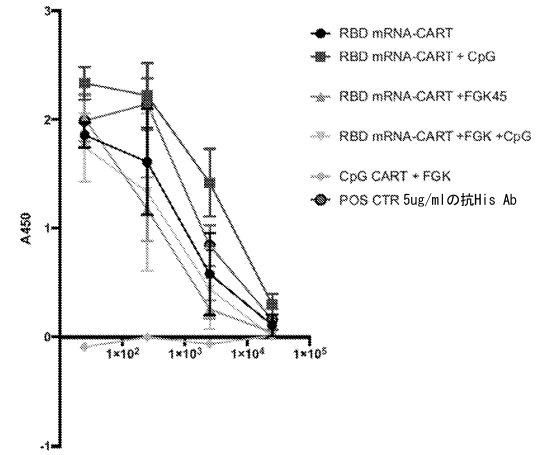
【図 2 E】

FIG. 2E



【図 3】

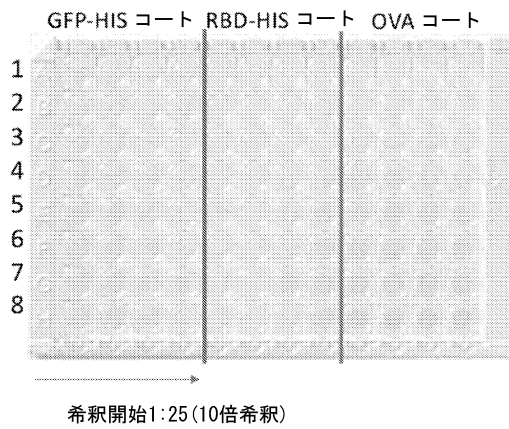
FIG. 3



10

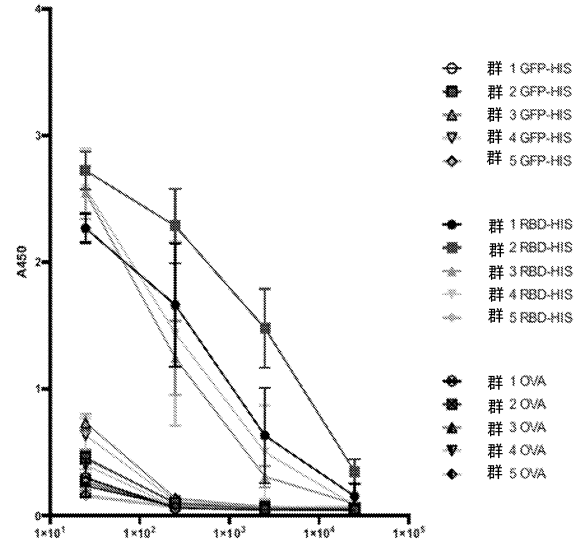
【図 4 A】

FIG. 4A



【図 4 B】

FIG. 4B



20

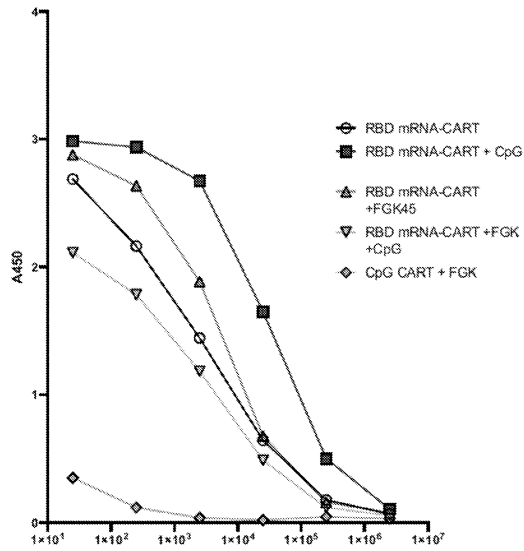
30

40

50

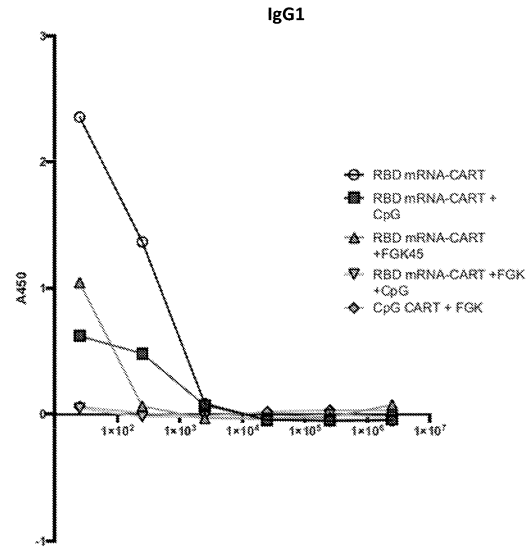
【図 5 A】

FIG. 5A



【図 5 B】

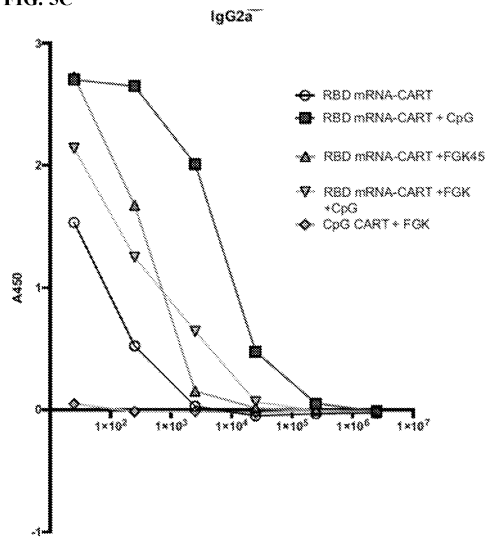
FIG. 5B



10

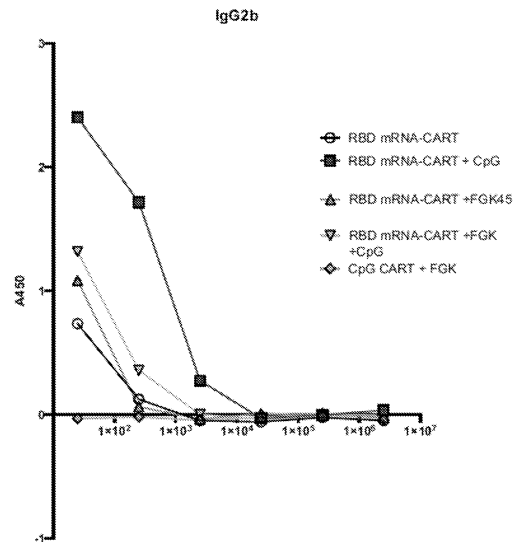
【図 5 C】

FIG. 5C



【図 5 D】

FIG. 5D



20

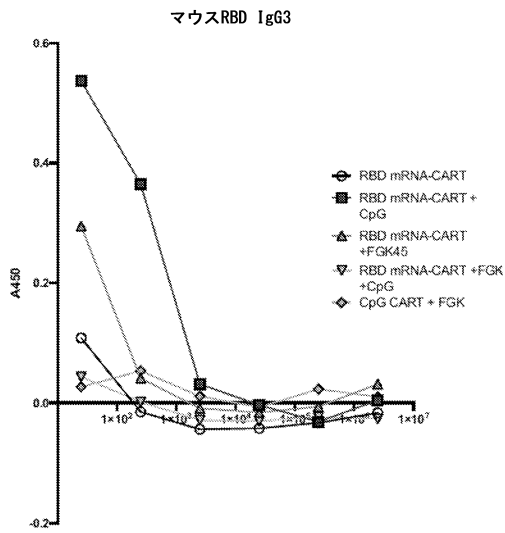
30

40

50

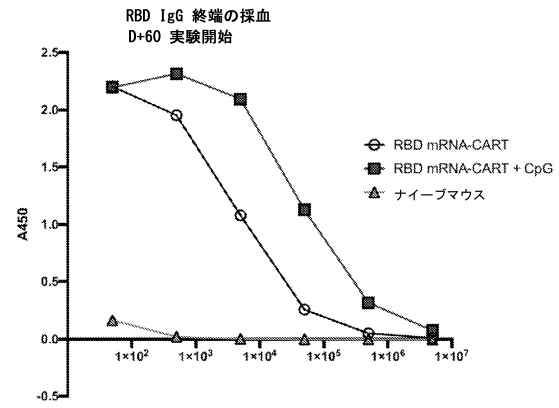
## 【図 5 E】

FIG. 5E



## 【図 6 A】

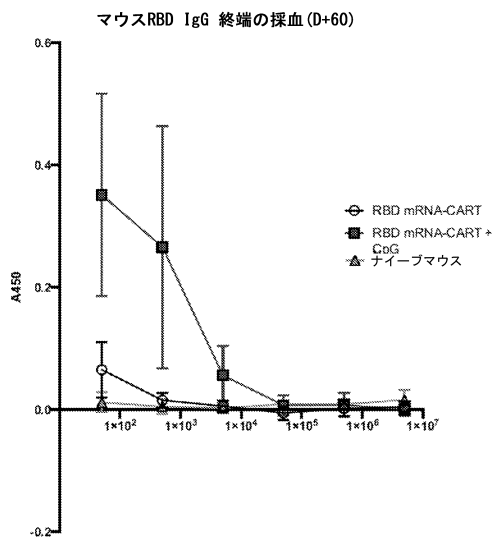
FIG. 6A



10

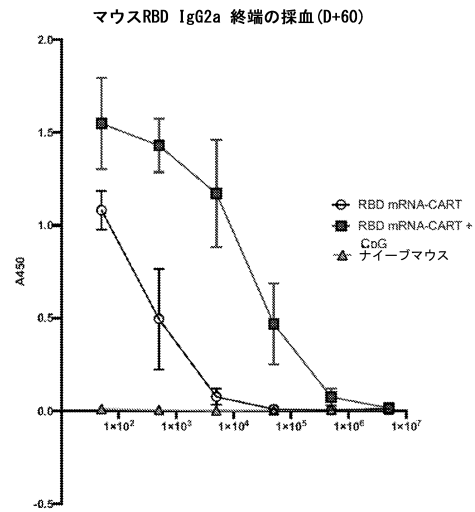
## 【図 6 B】

FIG. 6B



## 【図 6 C】

FIG. 6C



20

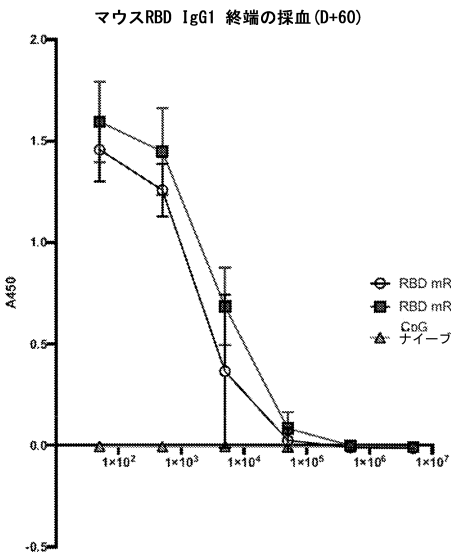
30

40

50

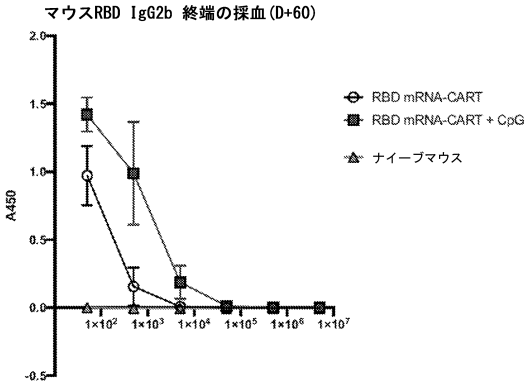
【図 6 D】

FIG. 6D



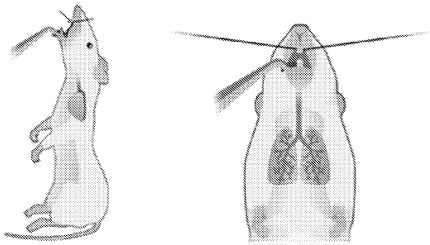
【図 6 E】

FIG. 6E



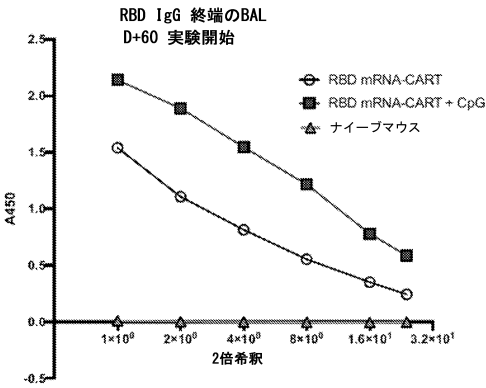
【図 7 A】

FIG. 7A



【図 7 B】

FIG. 7B



10

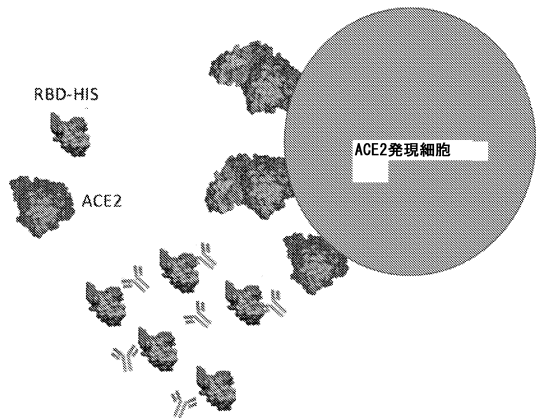
20

30

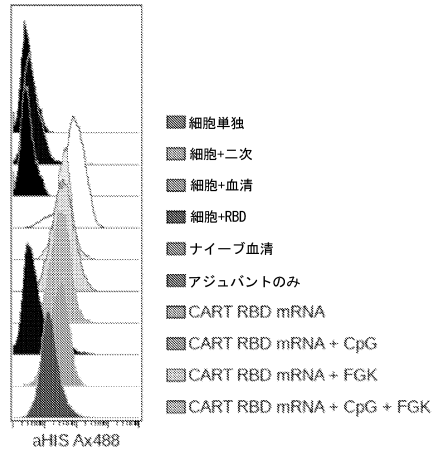
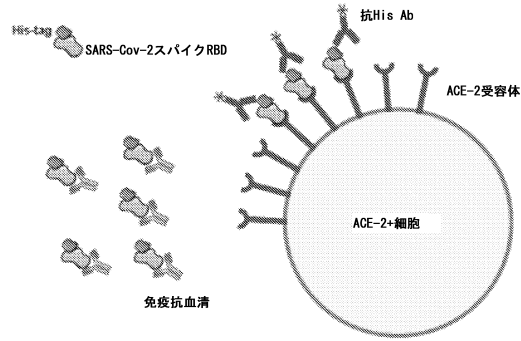
40

50

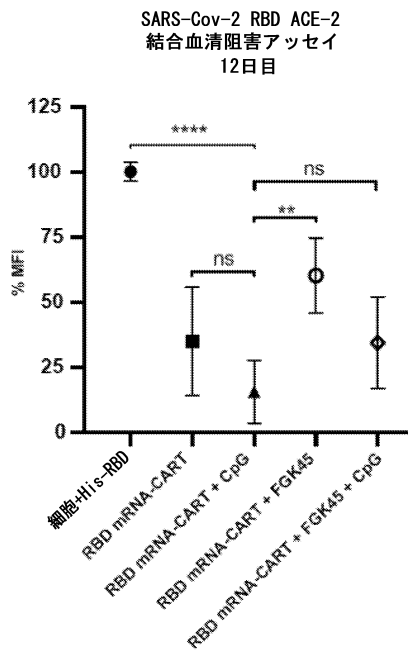
【図 8】  
FIG. 8



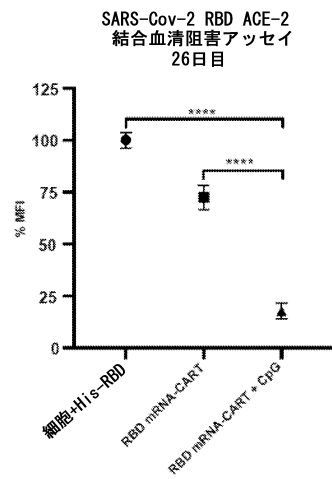
【図 9 A】  
FIG. 9A



【図 9 B】  
FIG. 9B



【図 9 C】  
FIG. 9C



10

20

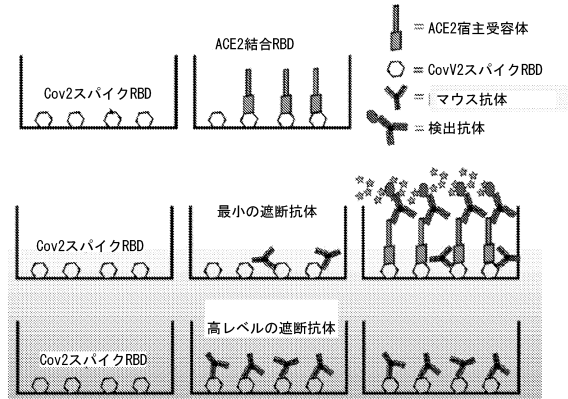
30

40

50

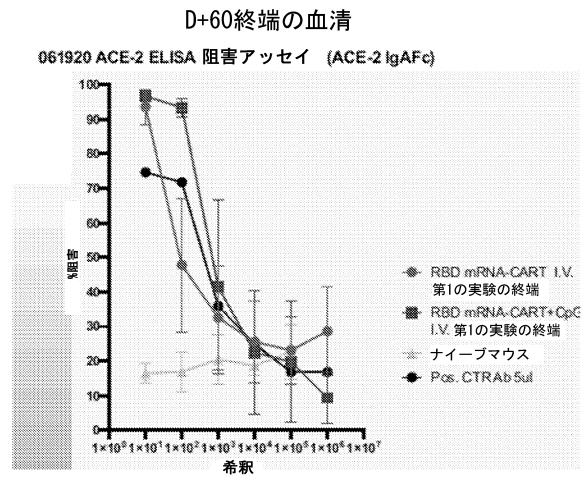
【図 10 A】

FIG. 10A



【図 10 B】

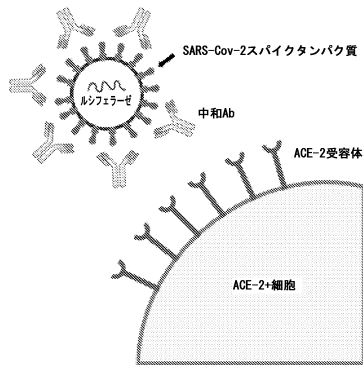
FIG. 10B



10

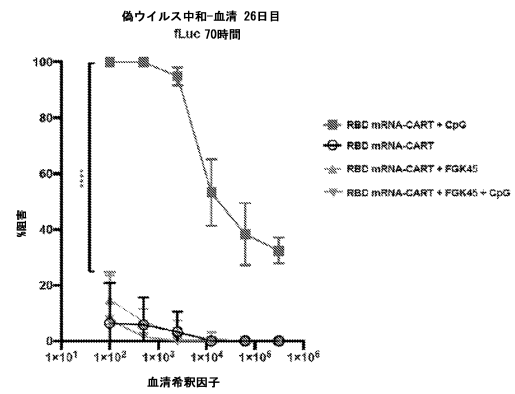
【図 11 A】

FIG. 11A



【図 11 B】

FIG. 11B



20

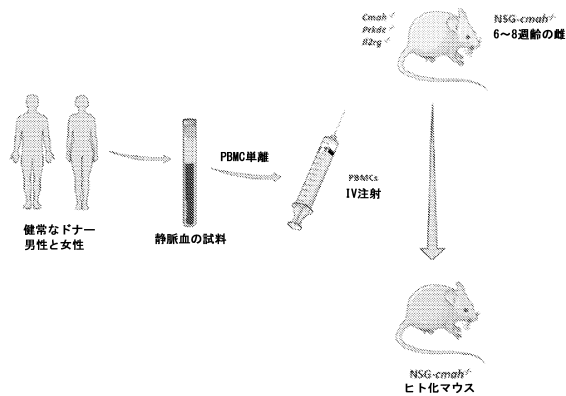
30

40

50

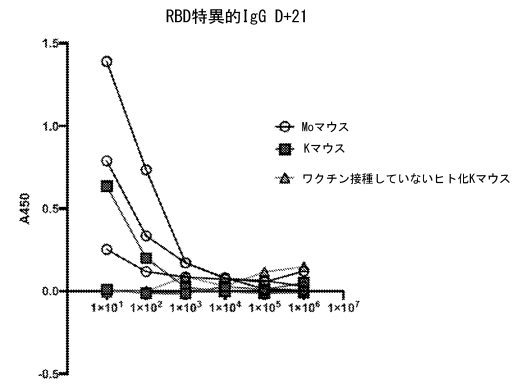
【図 12 A】

FIG. 12A



【図 12 B】

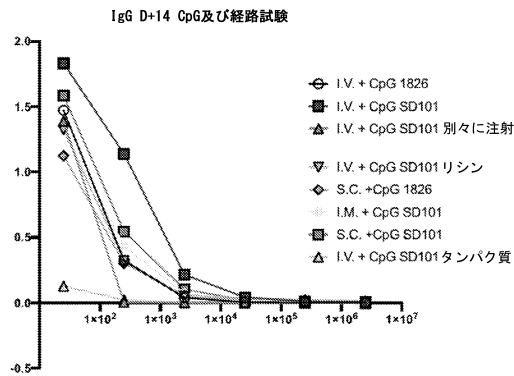
FIG. 12B



10

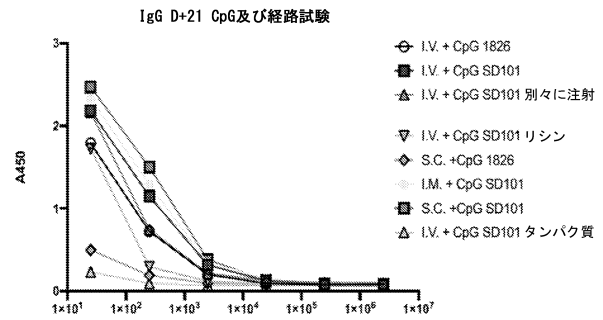
【図 13 A】

FIG. 13A



【図 13 B】

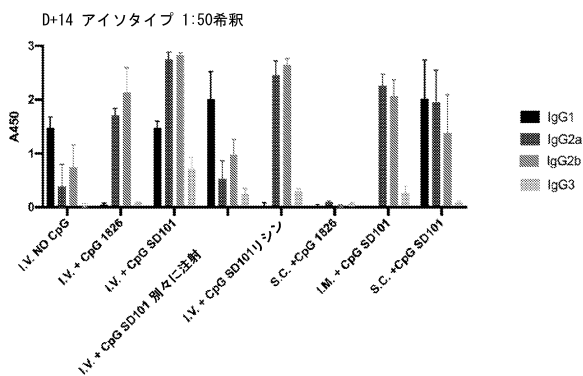
FIG. 13B



20

【図 14】

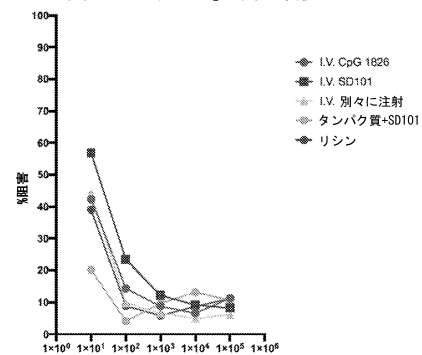
FIG. 14



【図 15 A】

FIG. 15A

061920 ACE2 ELISA阻害アッセイ(ACE-2 IgAFc)第2の実験 D+14



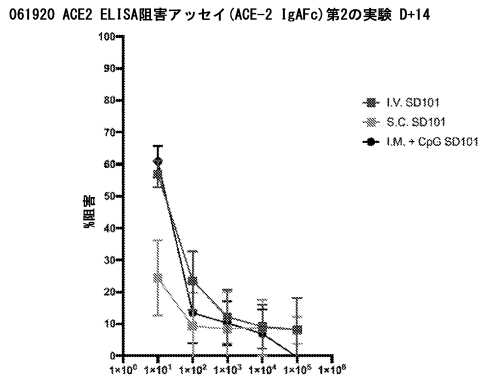
30

40

50

【図 15 B】

FIG. 15B



【図 16】

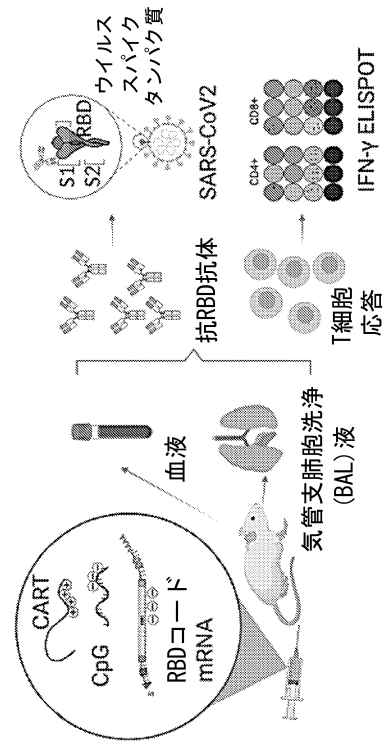


FIG. 16

10

20

【図 17 A】

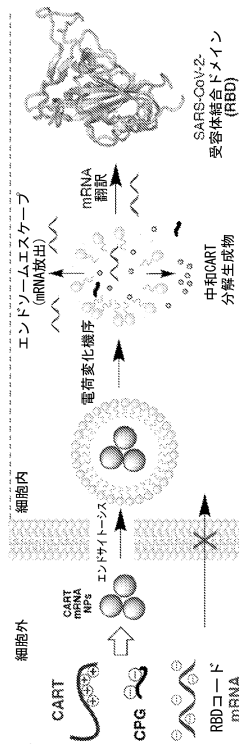


FIG. 17A

【図 17 B】

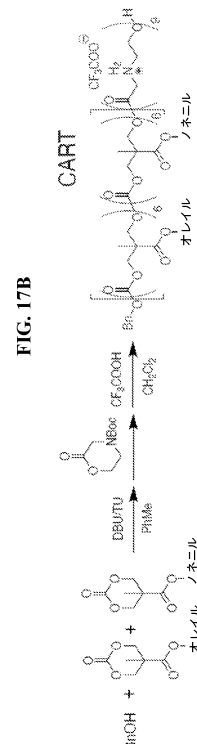


FIG. 17B

30

40

50



【図 18 B】

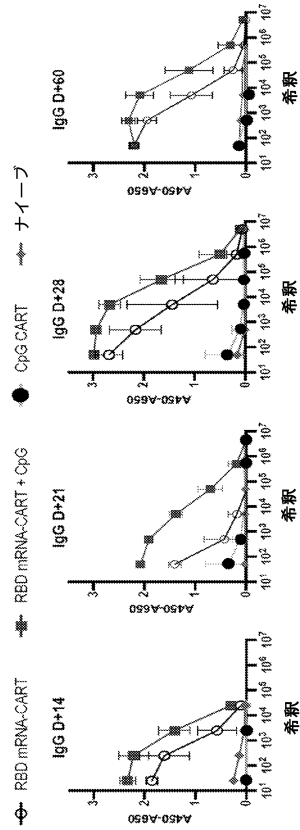


FIG. 18B

【図 18 C】

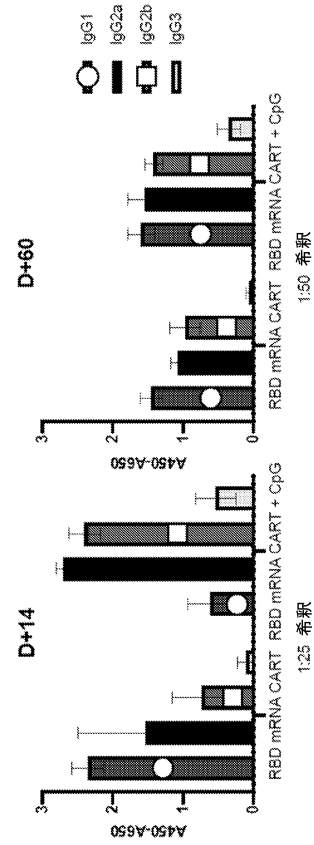
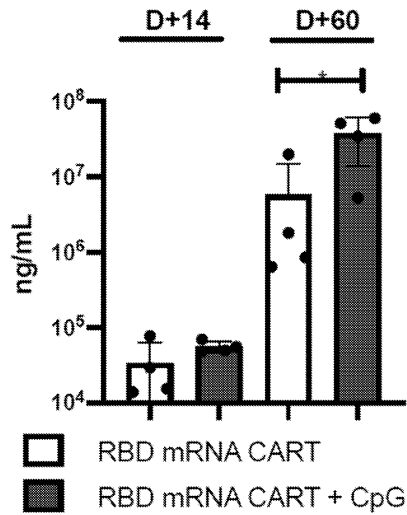


FIG. 18C

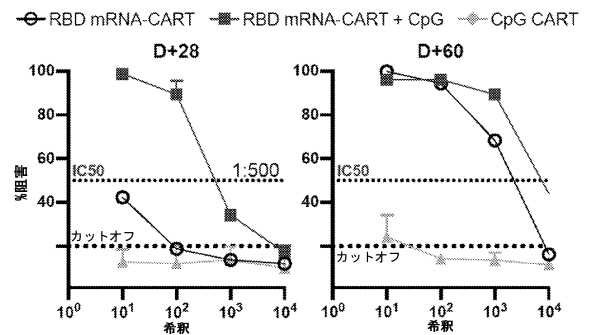
【図 18 D】

FIG. 18D



【図 19 A】

FIG. 19A



10

20

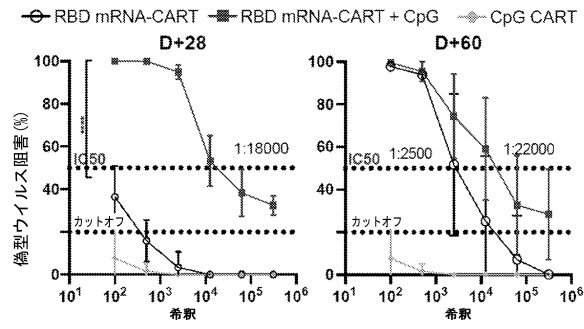
30

40

50

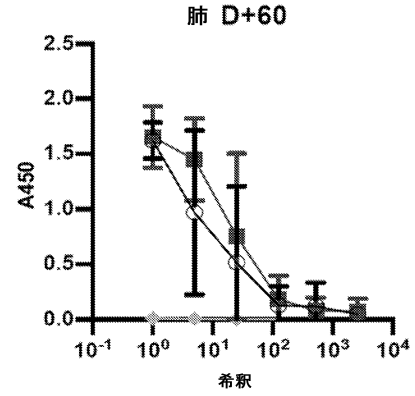
【図 19 B】

FIG. 19B



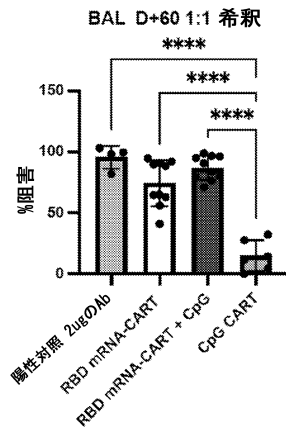
【図 19 C】

FIG. 19C



【図 19 D】

FIG. 19D



【図 19 E】

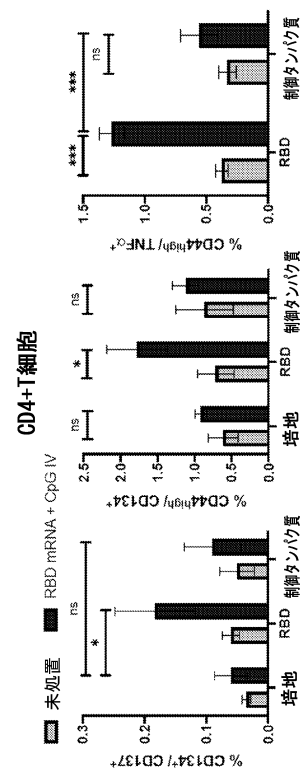


FIG. 19E

10

20

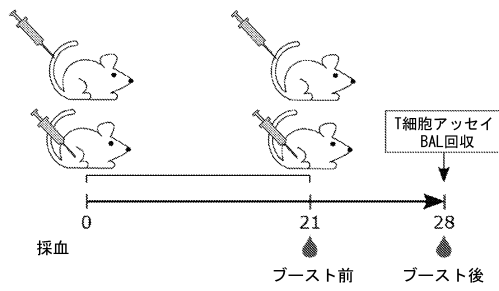
30

40

50

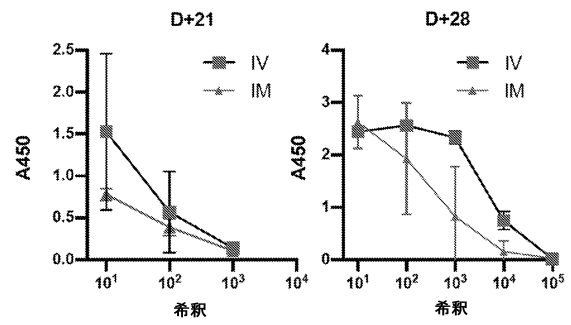
【図 20 A】

FIG. 20A



【図 20 B】

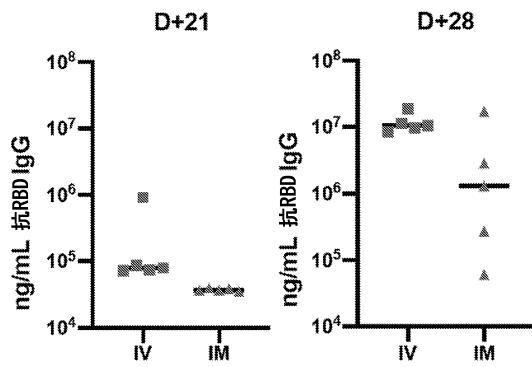
FIG. 20B



10

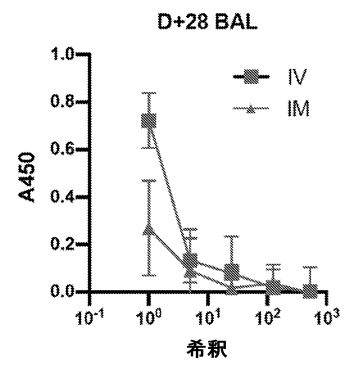
【図 20 C】

FIG. 20C



【図 20 D】

FIG. 20D



20

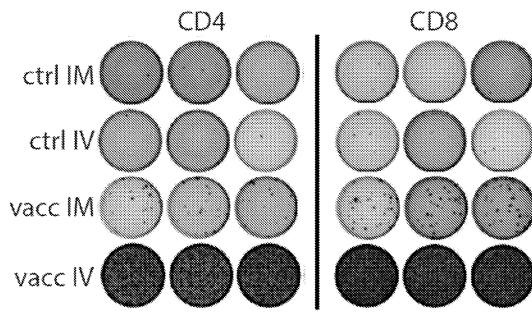
30

40

50

【図 2 1 A】

FIG. 21A



【図 2 1 B】

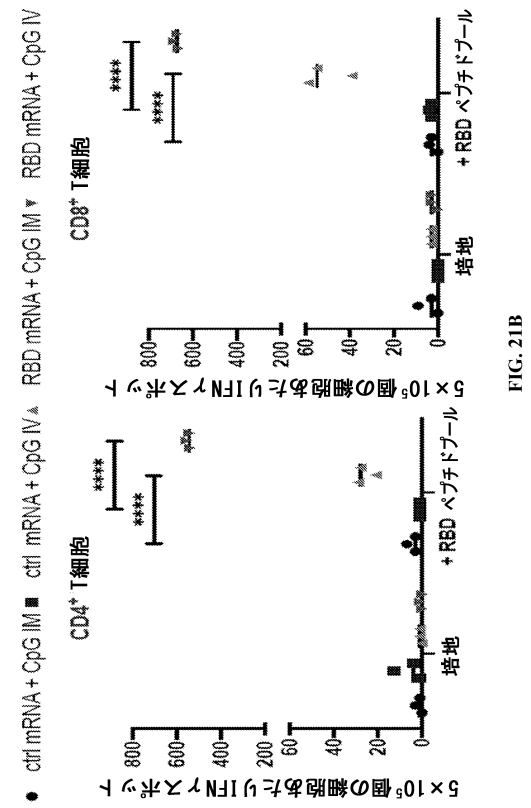
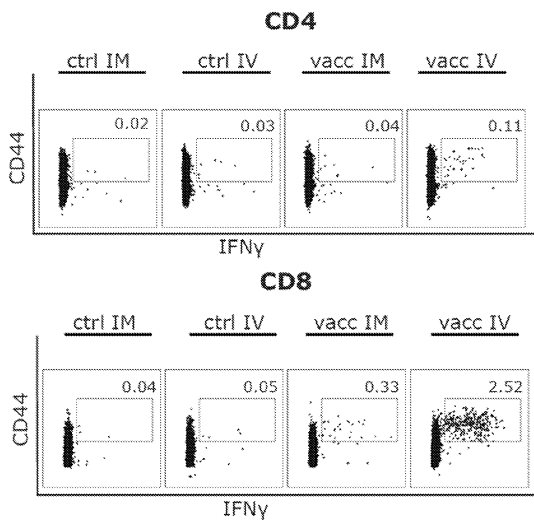


FIG. 21B

【図 2 1 C】

FIG. 21C



【図 2 1 D】

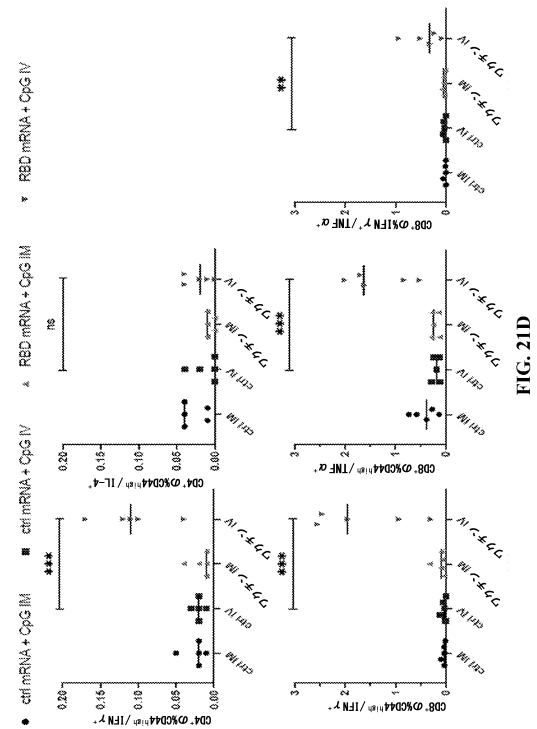


FIG. 21D

10

20

30

40

50

【図 2 2 A】

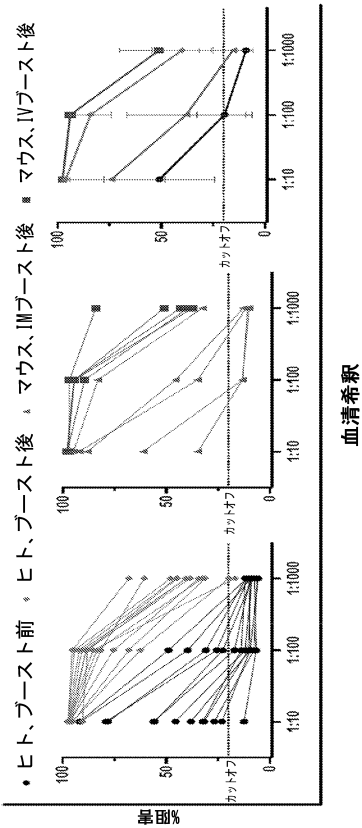


FIG. 22A

【図 2 2 B】

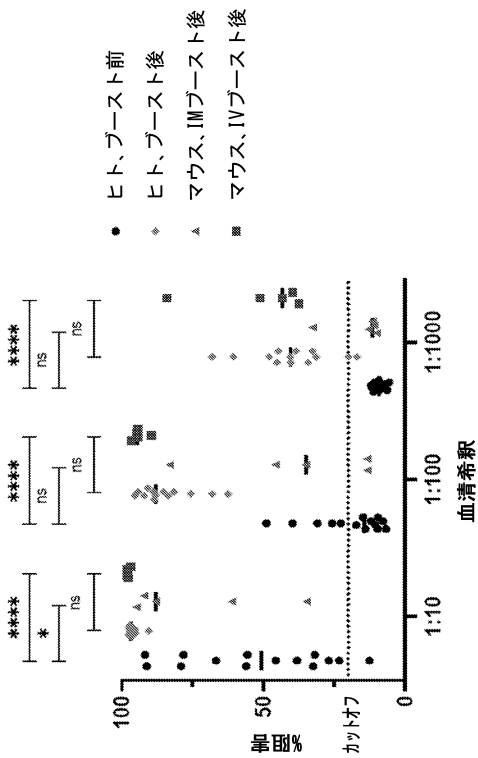
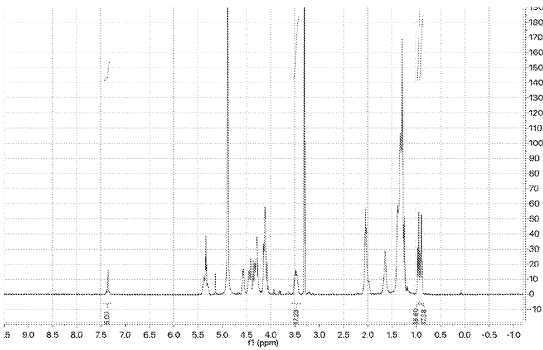


FIG. 22B

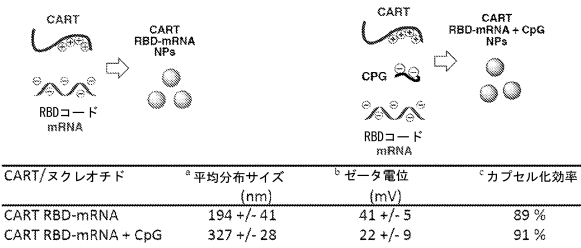
【図 2 3 A】

FIG. 23A



【図 2 3 B】

FIG. 23B



10

20

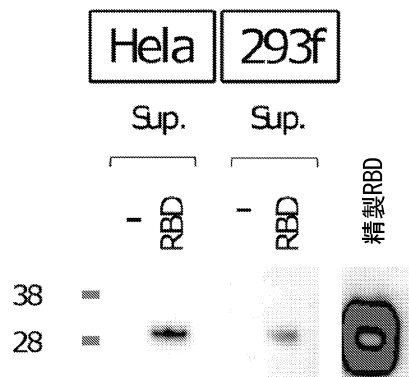
30

40

50

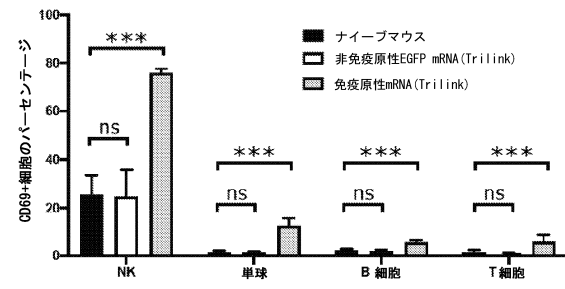
【図 2 4 A】

FIG. 24A



【図 2 4 B】

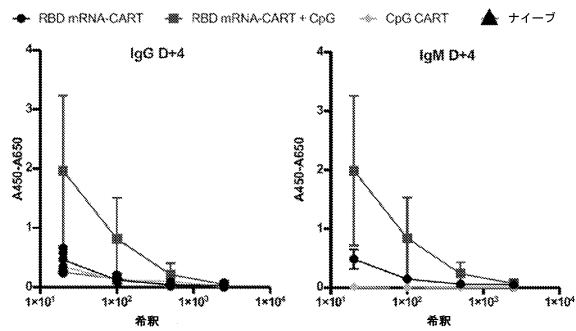
FIG. 24B



10

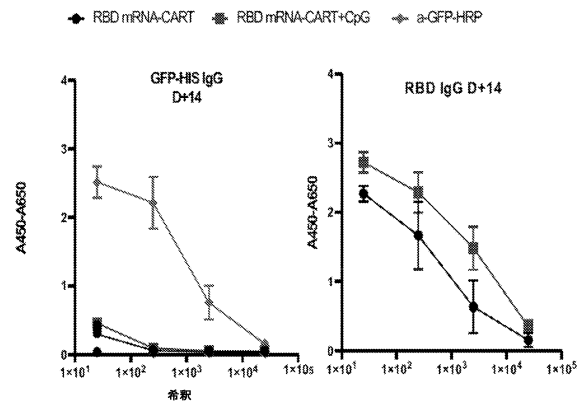
【図 2 5 A】

FIG. 25A



【図 2 5 B】

FIG. 25B



20

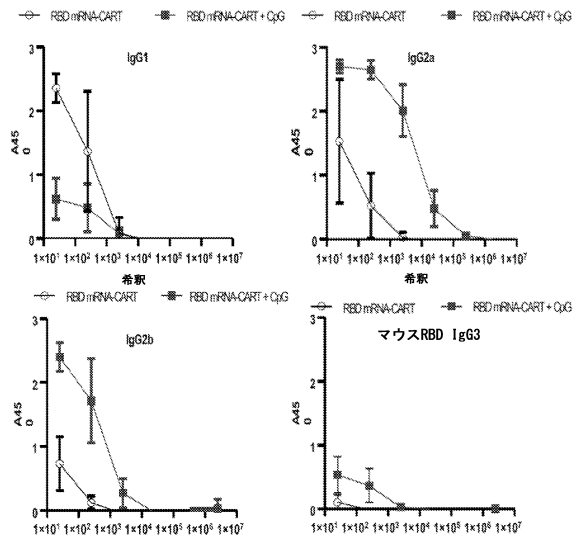
30

40

50

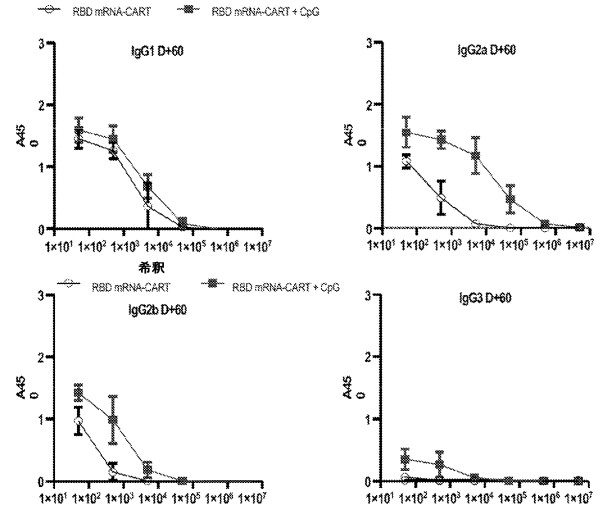
## 【図 26 A】

FIG. 26A



## 【図 26 B】

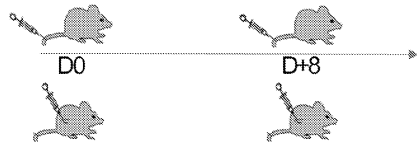
FIG. 26B



10

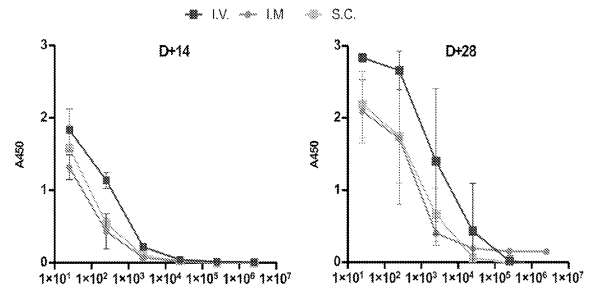
## 【図 27 A】

FIG. 27A



## 【図 27 B】

FIG. 27B



20

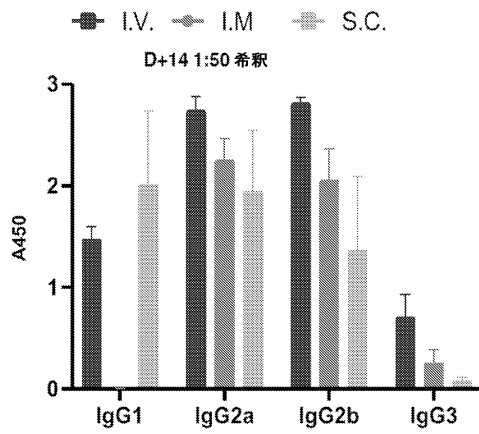
30

40

50

【図 27 C】

FIG. 27C



【図 28 A】

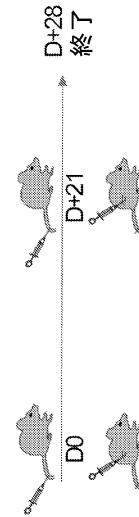


FIG. 28A

【図 28 B】

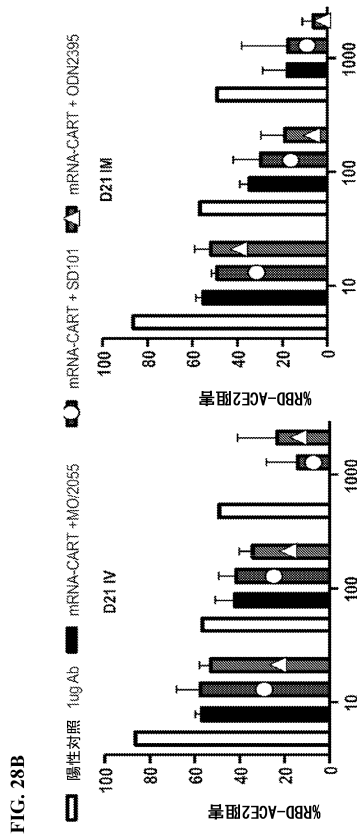
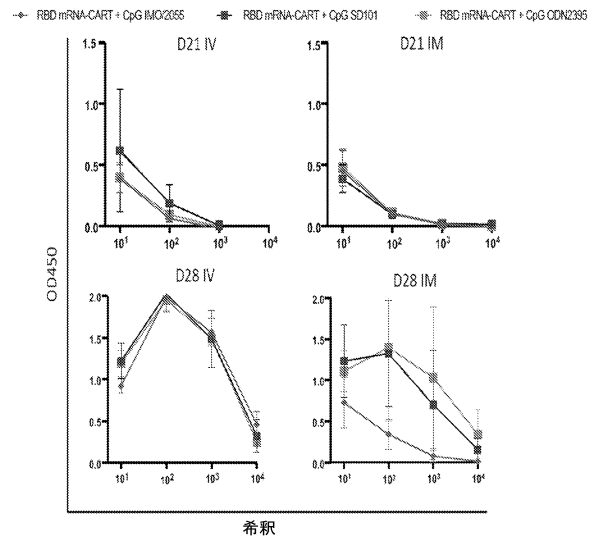


FIG. 28B

【図 28 C】

FIG. 28C



10

20

30

40

50

【図 29 A】

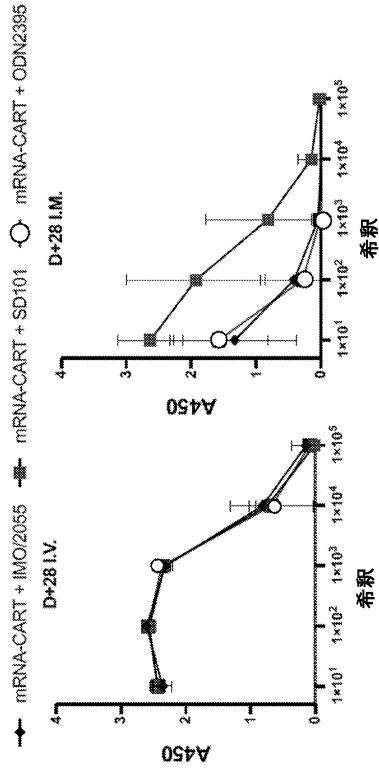


FIG. 29A

【図 29 B】

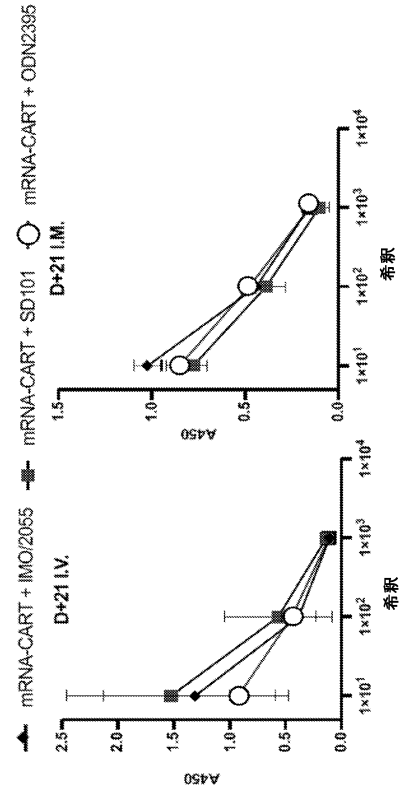


FIG. 29B

【図 29 C】

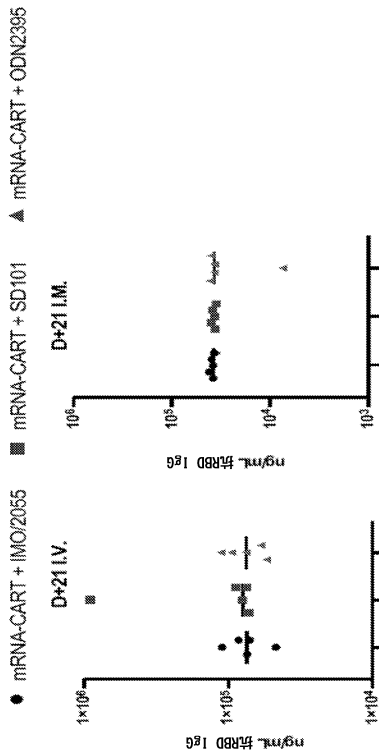
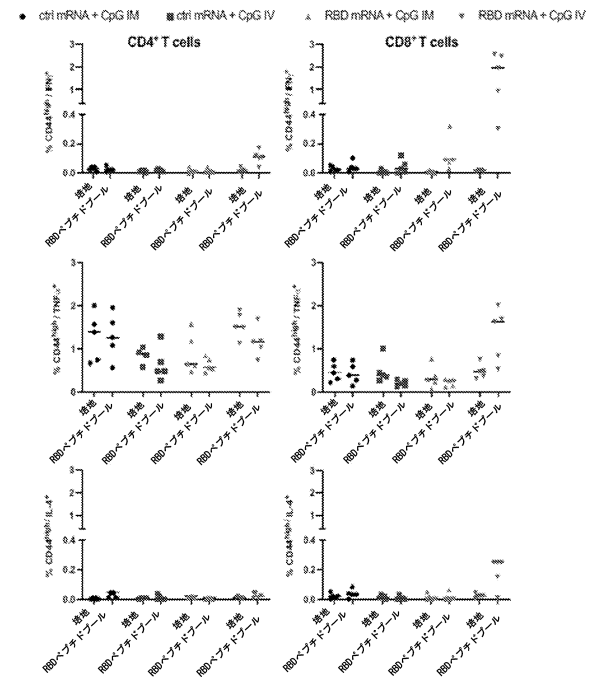


FIG. 29C

【図 30】

FIG. 30



10

20

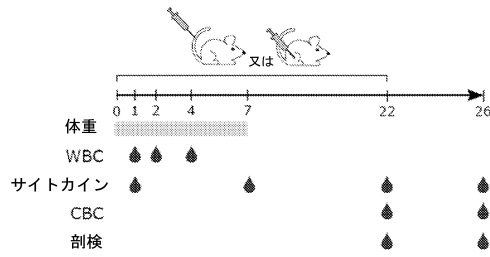
30

40

50

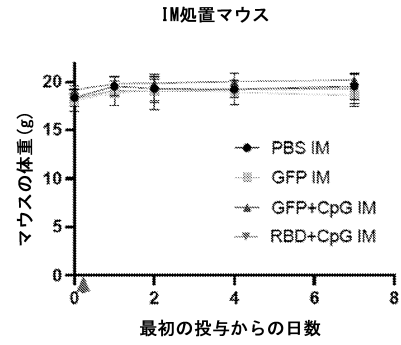
【図 3 1 A】

FIG. 31A



【図 3 1 B】

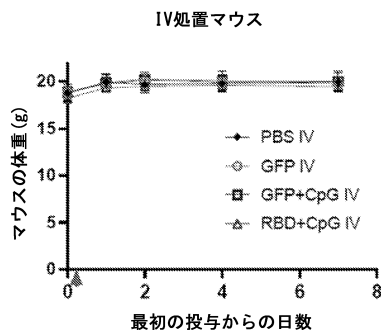
FIG. 31B



10

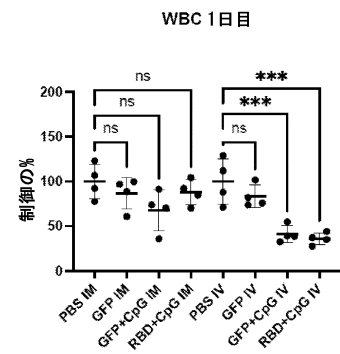
【図 3 1 C】

FIG. 31C



【図 3 1 D】

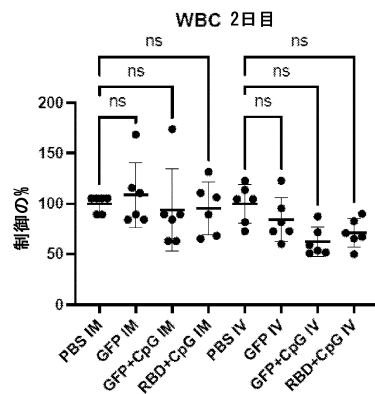
FIG. 31D



20

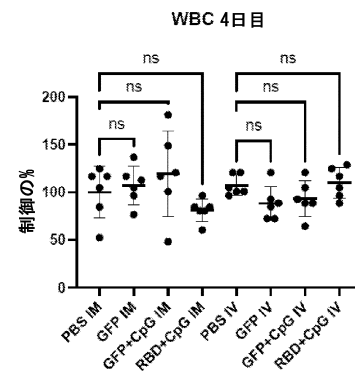
【図 3 1 E】

FIG. 31E



【図 3 1 F】

FIG. 31F

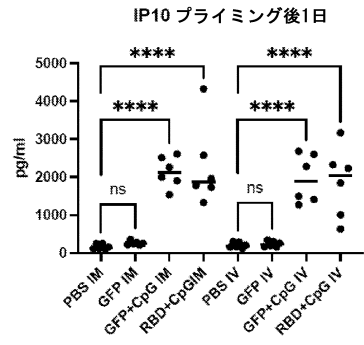


30

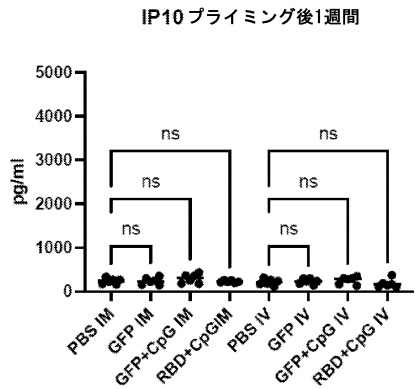
40

50

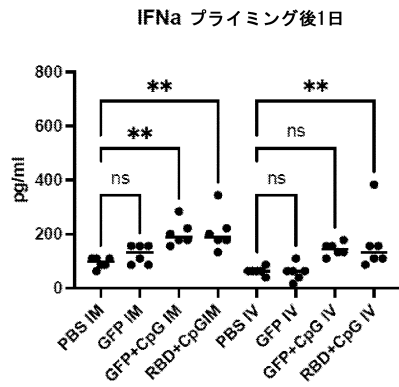
【図 3 1 G】  
FIG. 31G



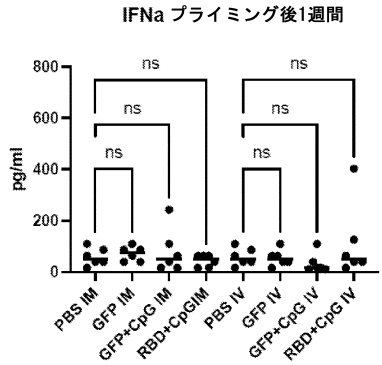
【図 3 1 H】  
FIG. 31H



【図 3 1 I】  
FIG. 31I



【図 3 1 J】  
FIG. 31J



10

20

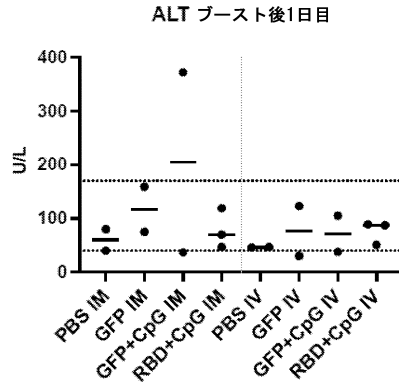
30

40

50

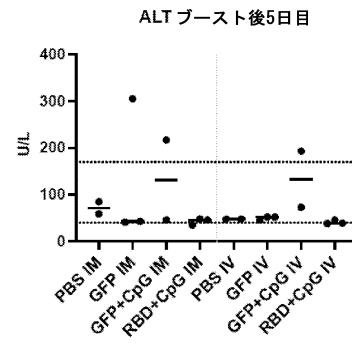
【図 3 1 K】

FIG. 31K



【図 3 1 L】

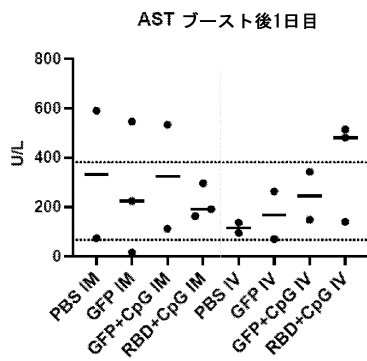
FIG. 31L



10

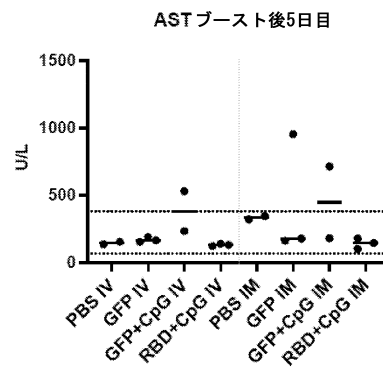
【図 3 1 M】

FIG. 31M



【図 3 1 N】

FIG. 31N



20

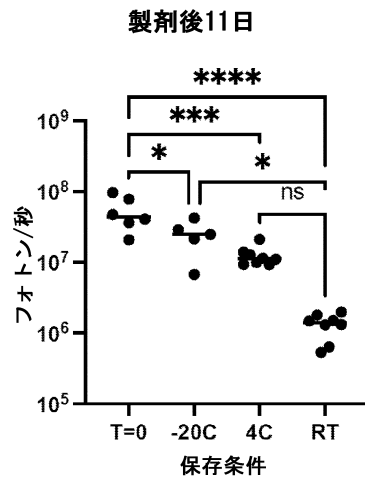
30

40

50

## 【図 3 2】

FIG. 32



10

## 【配列表】

2023535730000001.app

20

30

40

50

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2021/043213

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A61K 47/69; C12N 15/115; C12N 15/85 (2021.01)  
CPC - A61K 47/69; C12N 15/115; C12N 15/85 (2021.08)

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.     |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| A         | US 2018/0028688 A1 (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY) 01 February 2018 (01.02.2018) entire document | 1-3, 8, 12, 14, 22, 37-42 |
| A         | WO 1999/52549 A1 (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS SA) 21 October 1999 (21.10.1999) entire document                                 | 1-3, 8, 12, 14, 22, 37-42 |
| A         | WO 2020/097614 A2 (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY et al) 14 May 2020 (14.05.2020) entire document | 1-3, 8, 12, 14, 22, 37-42 |
| P, X      | WO 2020/160511 A1 (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY) 06 August 2020 (06.08.2020) entire document    | 1-3, 8, 12, 14, 22, 37-42 |

☐ 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

30 November 2021

Date of mailing of the international search report

DEC 23 2021

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450  
Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Harry Kim

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2021/043213

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

- a. ☒ forming part of the international application as filed:
- ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- ☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2021/043213

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:  
See extra sheet(s).

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.:  
1-3, 8, 12, 14, 22, 37-42

**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.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2021/043213

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

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 examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I+: claims 1-45 are drawn to cell penetrating complexes.

The first invention of Group I+ is restricted to a cell-penetrating complex comprising a ribonucleic acid comprising a sequence encoding a viral protein, a nucleic acid adjuvant and a cationic amphipathic polymer, where the viral protein is selected to be a respiratory syncytial (RSV) viral protein, a nucleic acid adjuvant is selected to be a SEQ ID NO:1, and the cationic amphipathic polymer is selected to be the formula (I) as shown in instant claim 22, where R1A is hydrogen, n21 is 5, R201 is oleyl, n22 is 5, R\*202 is noenyl and n is 2. It is believed that claims 1-3, 8, 12, 14, 22, and 37-42 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on the RSV viral protein, SEQ ID NO:1, and be the formula as shown in instant claim 22, where R1A is hydrogen, n21 is 5, R201 is oleyl, n22 is 5, R202 is noenyl and n is 2.

Applicant is invited to elect additional encoded viral proteins, nucleic acid adjuvants, and cationic amphipathic polymers, each with their respective, corresponding, SEQ ID NO and chemical formulae to be searched in a specific combination by paying additional fee for each set of election. An exemplary election would be a cell-penetrating complex comprising a ribonucleic acid comprising a sequence encoding a viral protein, a nucleic acid adjuvant and a cationic amphipathic polymer, where the viral protein is selected to be a human metapneumovirus (hMPV) protein, a nucleic acid adjuvant is selected to be a SEQ ID NO:2, and the cationic amphipathic polymer is selected to be the formula (II), where R1A is hydrogen, R2A is hydrogen, L1 is a bond, L2 is a bond, LP1 is a lipophilic polymer domain as shown in claim 24 where n21 is 1, and R201 is hydrogen, LP2 is a lipophilic polymer domain as shown in instant claim 27 where n22 is 1, and R202 is hydrogen, X1 is a bond, X2 is -O-, R1, R2, R5, R6, R7, and R8 are each hydrogen, L4 is a bond, R40, R41, and R42 are each hydrogen, Z is -S-, R13 is hydrogen, N1 is 0, Z1 is 0, z3 is 1, z2 is 2, z4 is 1, and z5 is 1. Additional encoded viral proteins, nucleic acid adjuvants, and cationic amphipathic polymers, each with their respective, corresponding, SEQ ID NO and chemical formulae will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ 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:

The Groups I+ formulas do not share a significant structural element responsible for cell penetration requiring the selection of alternative viral proteins where "The cell-penetrating complex of claim 1, wherein said viral protein is a respiratory syncytial virus (RSV) protein, human metapneumovirus (hMPV) protein, parainfluenza virus type 3 (PIV3) protein, influenza H10N8 virus protein, influenza H7N9 virus protein, cytomegalovirus (CMV) protein, Zika virus protein, chikungunya virus protein, or a severe acute respiratory syndrome (SARS) associated coronavirus (CoV) protein," nucleic acid adjuvants where "The cell-penetrating complex of claim 1, wherein said nucleic acid adjuvant is a DNA adjuvant," and "the cell-penetrating complex of claim 1, wherein said nucleic acid adjuvant is a toll-like receptor (TLR) agonist," and "The cell-penetrating complex of claim 1, wherein said nucleic acid adjuvant comprises one or more unmethylated CpG oligonucleotides," "The cell-penetrating complex of claim 1, wherein said nucleic acid adjuvant is a TLR-9 agonist," and "The cell-penetrating complex of claim 1, wherein said nucleic acid adjuvant has the sequence of SEQ ID NO: 1 or SEQ ID NO:2," and cationic amphipathic polymers where "The cell-penetrating complex of claim 1, wherein said cationic amphipathic polymer has the formula: R1A-[L1-((LP1)z1-(LP2)z3)-z2 z4-L2-R2A]z5 (I) wherein R1A is hydrogen, halogen, -CCl3, -CBr3, -CF3, -C13, CHCl2, -CHBr2, -CHF2, -CH12, -CH2C1, -CH2Br, -CH2F, -CH2I, -CN, -OH, -NH2, -COOH, -CONH2, -NO2, -SH, -SO3H, -SO4H, -SO2NH2, -NHNH2, -ONH2, -NHC(O)NH2, -NHC(O)NH2, -NHSO2H, -NHC(O)H, -NHC(O)OH, -NHCH, -OCCl3, -OCF3, -OCBr3, -OC13, -OCHCl2, -OCHBr2, -OCH2, -OCHF2, -OCH2C1, -OCH2Br, -OCH2I, -OCH2F, substituted or unsubstituted alkyl, substituted or unsubstituted heteroalkyl, substituted or unsubstituted cycloalkyl, substituted or unsubstituted heterocycloalkyl, substituted or unsubstituted aryl, or substituted or unsubstituted heteroaryl; R2A is hydrogen, halogen, -CCl3, -CBr3, -CF3, -C13, CHCl2, -CHBr2, -CIF2, -CH12, -CH2C1, -CH2Br, -CH2F, -CH2I, -CN, -OH, -NH2, -COOH, -CONH2, -NO2, -SH, -SO3H, -SO4H, -SO2NH2, -NHNH2, -ONH2, -NHC(O)NH2, -NHSO2H, -NHC(O)H, -NHC(O)OH, -NHCH, -OCCl3, -OCF3, -OCBr3, -OC13, -OCHCl2, -OCHBr2, -OCH2I, -OCH2F, substituted or unsubstituted alkyl, substituted or unsubstituted heteroalkyl, substituted or unsubstituted cycloalkyl, substituted or unsubstituted heterocycloalkyl, substituted or unsubstituted aryl, or substituted or unsubstituted heteroaryl; L1 and L2 are independently a bond, -C(O)O-, -O-, -S-, -NH-, -C(O)NH-, -NHC(O)-, -S(O)2-, -S(O)NH-, -NHC(O)NH-, substituted or unsubstituted alkylene, substituted or unsubstituted heteroalkylene, substituted or unsubstituted cycloalkylene, substituted or unsubstituted heterocycloalkylene, substituted or unsubstituted arylene, or substituted or unsubstituted heteroarylene; LP1 and LP2 are independently a lipophilic polymer domain; IM is said pH-sensitive immolation domain; z5 is an integer from 1 to 10; z1 and z3 are independently integers from 0 to 100, wherein at least one of z1 or z3 is not 0; z4 is an integer from 1 to 100; and z2 is an integer from 2 to 100."

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features of a cell-penetrating complex comprising a ribonucleic acid comprising a sequence encoding a viral protein, a nucleic acid adjuvant and a cationic amphipathic polymer, R1A-[L1-((LP1)z1-(LP2)z3)-z2 z4-L2-R2A]z5 (I), and formula (II) or formula (III) (see instant claim 23). However, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

Specifically, US 2018/0028688 A1 to The Board Of Trustees Of The Leland Stanford Junior University discloses a cell-penetrating complex (a cell-penetrating complex, Para. [0005]) comprising a ribonucleic acid comprising a sequence encoding a viral protein, a nucleic acid adjuvant and a cationic amphipathic polymer (a cell-penetrating complex including a nucleic acid non-covalently bound to a cationic amphipathic polymer, Para. [0005]; mRNA encoding antigenic molecules that are associated with a certain pathogen, e.g. one or more peptides that are known to be expressed in the pathogen (e.g. pathogenic bacterium or virus), Para. [0126]; immunological adjuvant can include, but is not limited to, agonists of Toll-like Receptors (TLRs), Para. [0334]). R1A-[L1-((LP1)z1-(LP2)z3)-z2 z4-L2-R2A]z5 (I) (the cationic amphipathic polymer has the formula (I); H-L1-((LP1)z1-(IM)z2-(LP2)z3)4-[L2-H (I), wherein L1 and L2 are independently a bond, -C(O)-, -O-, -S-, -NH-, -C(O)NH-, -NHC(O)-, -S(O)2-, -S(O)NH-, -NHC(O)NH-, substituted or unsubstituted alkylene, substituted or unsubstituted heteroalkylene, substituted or unsubstituted cycloalkylene, substituted or unsubstituted heterocycloalkylene, substituted or unsubstituted arylene, or substituted or unsubstituted heteroarylene, LP1 and LP2 are independently

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2021/043213

a bond or a lipophilic polymer domain, wherein at least one of LP1 or LP2 is a lipophilic polymer domain, IM is the pH-sensitive immolation domain: z1, z3 and z4 are independently integers from 0 to 100, wherein at least one of z1, or z3 is not 0; and z2 is an integer from 2 to 100, and formula (II) (see instant claim 23, where R1A is H, R2A is H, L1 and L2 are each bonds, LP1 and LP2 are independently a lipophilic polymer domains, X1 is a bond, X2 is -O-, R1, R2, R6, R7, and R8 are hydrogen, R5 is substituted alkyl, L4 is a bond, R40, R41, and R42 are each hydrogen, Z is S, R13 is hydrogen, N1 is 0, Z1 is 0, Z3 is 1, Z2 is 2, Z4 is 1, and z5 is 1) (the cell-penetrating complex disclosed herein and embodiments thereof, the pH-sensitive immolation domain has the structure of formula (II) (see structure formula (II), w herein n is an integer of 2 or more; n1 is an integer from 0 to 50; Z is a nucleophilic moiety; X1 is a bond, -C(R5)(R6)-, -C(R5)(R6)-C(R7)(R8)-, -O-C(R5)(R6)-, or -O-C(R5)(R6)-C(R7)(R8)-; X2 is -O- or -S-, and R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, and R8 are independently hydrogen, substituted or unsubstituted alkyl, substituted or unsubstituted heteroalkyl, substituted or unsubstituted cycloalkyl, substituted or unsubstituted heterocycloalkyl, substituted or unsubstituted aryl or substituted or unsubstituted heteroaryl. In embodiments, n is an integer in the range 2-100, 2-90, 2-80, 2-70, 2-60, 2-50, 2-40, 2-30, 2-2, or 2-10. In embodiments, n1 is an integer in the range 0-25, 0-10, 0-5. In embodiments, n1 is 0, 1, 2, 3, 4 or 5. In embodiments, n1 is 1 or 2, Para. [0146]).

The inventions listed in Groups I+ therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical features.

## フロントページの続き

| (51)国際特許分類 |                  | F I     | テーマコード (参考) |       |
|------------|------------------|---------|-------------|-------|
| A 6 1 K    | 45/00 (2006.01)  | A 6 1 K | 45/00       |       |
| A 6 1 P    | 43/00 (2006.01)  | A 6 1 P | 43/00       | 1 2 1 |
| A 6 1 K    | 47/59 (2017.01)  | A 6 1 K | 47/59       |       |
| A 6 1 K    | 48/00 (2006.01)  | A 6 1 K | 48/00       |       |
| A 6 1 P    | 37/04 (2006.01)  | A 6 1 P | 37/04       |       |
| C 1 2 N    | 15/50 (2006.01)  | C 1 2 N | 15/50       | Z N A |
| C 1 2 N    | 15/117 (2010.01) | C 1 2 N | 15/117      | Z     |
| C 1 2 N    | 15/88 (2006.01)  | C 1 2 N | 15/88       | Z     |

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,N  
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,  
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K  
E,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,N  
G,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

イン・クワッド、ビルディング・1 7 0、サード・フロア、ピー・オー・ボックス・2 0 3 8 6、  
オフィス・オブ・ザ・ジェネラル・カウンセル気付

- (72)発明者 ハーベス、オレ・アウドウン・ワーナー  
アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 4 3 0 5－2 0 3 8、スタンフォード、メイン・クワッド、  
ビルディング・1 7 0、サード・フロア、ピー・オー・ボックス・2 0 3 8 6、オフィス・オブ・  
ザ・ジェネラル・カウンセル気付
- (72)発明者 サレッツ、アドリエンヌ  
アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 4 3 0 5－2 0 3 8、スタンフォード、メイン・クワッド、  
ビルディング・1 7 0、サード・フロア、ピー・オー・ボックス・2 0 3 8 6、オフィス・オブ・  
ザ・ジェネラル・カウンセル気付
- (72)発明者 ブレイク、ティモシー・アール  
アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 4 3 0 5－2 0 3 8、スタンフォード、メイン・クワッド、  
ビルディング・1 7 0、サード・フロア、ピー・オー・ボックス・2 0 3 8 6、オフィス・オブ・  
ザ・ジェネラル・カウンセル気付
- (72)発明者 ウェンダー、ポール  
アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 4 3 0 5－2 0 3 8、スタンフォード、メイン・クワッド、  
ビルディング・1 7 0、サード・フロア、ピー・オー・ボックス・2 0 3 8 6、オフィス・オブ・  
ザ・ジェネラル・カウンセル気付
- (72)発明者 ウエイマス、ロバート・エム  
アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 4 3 0 5－2 0 3 8、スタンフォード、メイン・クワッド、  
ビルディング・1 7 0、サード・フロア、ピー・オー・ボックス・2 0 3 8 6、オフィス・オブ・  
ザ・ジェネラル・カウンセル気付
- (72)発明者 チェルウィンスキ、デブラ  
アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 4 3 0 5－2 0 3 8、スタンフォード、メイン・クワッド、  
ビルディング・1 7 0、サード・フロア、ピー・オー・ボックス・2 0 3 8 6、オフィス・オブ・  
ザ・ジェネラル・カウンセル気付
- (72)発明者 サギフーバルフィ、イディット  
アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 4 3 0 5－2 0 3 8、スタンフォード、メイン・クワッド、  
ビルディング・1 7 0、サード・フロア、ピー・オー・ボックス・2 0 3 8 6、オフィス・オブ・  
ザ・ジェネラル・カウンセル気付
- (72)発明者 ローマイア、ジュリアン・ヨハンネス  
アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 4 3 0 5－2 0 3 8、スタンフォード、メイン・クワッド、  
ビルディング・1 7 0、サード・フロア、ピー・オー・ボックス・2 0 3 8 6、オフィス・オブ・  
ザ・ジェネラル・カウンセル気付

F ターム (参考) 4C076 AA95 CC06 CC07 CC35 CC41 EE17N EE59 FF34

---

|            |       |                                                           |
|------------|-------|-----------------------------------------------------------|
| F ターム (参考) | 4C084 | AA13 AA19 MA02 NA05 NA13 NA14 ZB09 ZB33 ZC75              |
|            | 4C085 | AA03 DD86 EE03 EE06                                       |
|            | 4C086 | AA01 AA02 EA16 MA02 MA04 NA05 NA13 NA14 ZB09 ZB33<br>ZC75 |