202325263

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202325263 A

(43)公開日： 中華民國 112 (2023) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：111134756 (22)申請日： 中華民國 111 (2022) 年 09 月 14 日

(51)Int. Cl.： *A61K9/127 (2006.01)* *A61K31/7088 (2006.01)*
A61K31/713 (2006.01) *A61K31/41 (2006.01)*
A61K31/14 (2006.01) *A61K48/00 (2006.01)*

(30)優先權：2021/09/14 美國 63/244,152
2021/12/23 美國 63/293,284
2022/04/28 美國 63/336,018

(71)申請人：美商雷納嘉德醫療管理公司 (美國) RENAGADE THERAPEUTICS MANAGEMENT INC. (US)
美國

(72)發明人：賈亞拉曼 穆瑟薩米 JAYARAMAN, MUTHUSAMY (US)；斯克里 史蒂芬 SCULLY, STEPHEN (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：195 項 圖式數：5 共 680 頁

(54)名稱

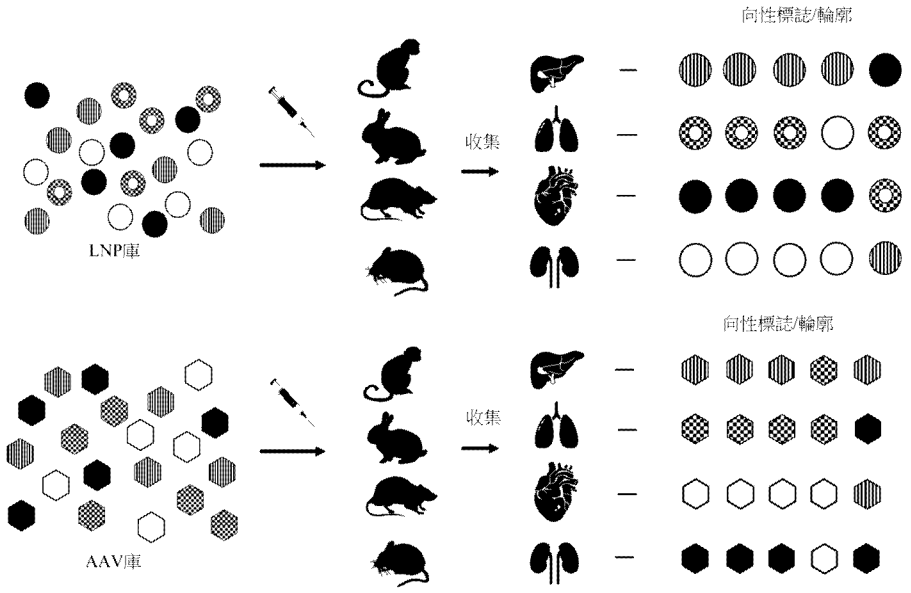
非環狀脂質及其使用方法

(57)摘要

本發明詳述用於遞送核酸序列、多肽或肽以用於針對傳染原進行疫苗接種之各種脂質、組合物及/或最佳化系統及遞送載體的方法。

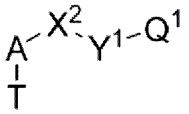
The present disclosure details various lipids, compositions, and/or methods of optimized systems and delivery vehicles for the delivery of nucleic acid sequences, polypeptides or peptides for use in vaccinating against infectious agents.

指定代表圖：



【圖1】

特徵化學式：



(VII-A)

【發明摘要】

【中文發明名稱】

非環狀脂質及其使用方法

【英文發明名稱】

ACYCLIC LIPIDS AND METHODS OF USE THEREOF

【中文】

本發明詳述用於遞送核酸序列、多肽或肽以用於針對傳染原進行疫苗接種之各種脂質、組合物及/或最佳化系統及遞送載體的方法。

【英文】

The present disclosure details various lipids, compositions, and/or methods of optimized systems and delivery vehicles for the delivery of nucleic acid sequences, polypeptides or peptides for use in vaccinating against infectious agents.

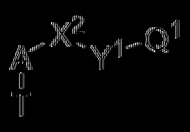
【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



(VII-A)

【發明說明書】

【中文發明名稱】

非環狀脂質及其使用方法

【英文發明名稱】

ACYCLIC LIPIDS AND METHODS OF USE THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係關於用於遞送核酸序列、多肽或肽之最佳化系統及使用此等最佳化系統以治療疾病、病症及/或病狀之方法。

【先前技術】

【0002】 蛋白質一直為療法標準，但在過去幾年中，使用核酸作為針對多種疾病及治療適應症之治療模態已愈來愈突出。多個公司已顯示，當相較於基於蛋白質之療法時，核酸(例如siRNA、mRNA、環狀RNA、DNA、ASO等)可能更有效，但對於核酸及蛋白質療法兩者均需要靶向遞送系統以便確保治療劑定位於所靶向之細胞、組織或器官。

【0003】 目前遞送系統，包括基於脂質之遞送系統，諸如脂質奈米粒子，聚焦於保護所遞送之貨物，但未聚焦於遞送系統正使用之脂質，且通常未聚焦於貨物或遞送系統之定位遞送。此項技術中需要改良的基於脂質之遞送系統。

【發明內容】

【0004】 本發明提供可用於遞送系統之遞送載體中之新脂質及用於篩選及研發靶向系統以用於將核酸及蛋白質治療劑定位遞送例如至免疫細胞之向性探索平台。

【0005】 在本發明之一個態樣中，本文提供一種具有式(VII-A)、

(VII-B)、(VII-C)、(I-A)、(II)、(III-B)、(III-C)、(III-D)、(III-E)、(III-F)、(VIII-B)、(IV)、(VI)及(X)中之任一者之結構之脂質或其醫藥學上可接受之鹽，或表(I)中之任何脂質或其鹽或溶劑合物，參見下文，統稱為「本發明之脂質」且各個別地稱為「本發明之脂質」。

【0006】 在本發明之一個態樣中，本文提供一種醫藥組合物，其包含：

a)編碼至少一種所關注蛋白質之聚核苷酸，及

b)包含至少一種脂質之遞送載體，

其中該組合物引發個體之免疫反應。

【0007】 在一態樣中，聚核苷酸為DNA。

【0008】 在一態樣中，聚核苷酸為RNA。

【0009】 在一態樣中，RNA為短干擾RNA (siRNA)。

【0010】 在一態樣中，siRNA抑制或抑止細胞中所關注目標之表現。

【0011】 在一態樣中，抑制或抑制為約30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%及100%，或至少20-30%、20-40%、20-50%、20-60%、20-70%、20-80%、20-90%、20-95%、20-100%、30-40%、30-50%、30-60%、30-70%、30-80%、30-90%、30-95%、30-100%、40-50%、40-60%、40-70%、40-80%、40-90%、40-95%、40-100%、50-60%、50-70%、50-80%、50-90%、50-95%、50-100%、60-70%、60-80%、60-90%、60-95%、60-100%、70-80%、70-90%、70-95%、70-100%、80-90%、80-95%、80-100%、90-95%、90-100%或95-100%。

【0012】 在一態樣中，聚核苷酸為實質上環狀的。

【0013】 在一態樣中，聚核苷酸包含可操作地連接於有效負載序列區之內部核糖體進入位點(internal ribosome entry site；IRES)序列。

【0014】 在一態樣中，IRES序列包含衍生自微小RNA病毒互補DNA、腦心肌炎病毒(EMCV)互補DNA、脊髓灰白質炎病毒互補DNA或來自黑腹果蠅(Drosophila melanogaster)之觸角足基因之序列。

【0015】 在一態樣中，聚核苷酸包含終止元件，其中終止元件包含至少一個終止密碼子。

【0016】 在一態樣中，聚核苷酸包含調節元件。

【0017】 在一態樣中，聚核苷酸包含至少一個掩蔽劑。

【0018】 在一態樣中，使用活體外轉錄產生實質上環狀聚核苷酸。

【0019】 在一態樣中，有效負載序列區包含非編碼核酸序列。

【0020】 在一態樣中，有效負載序列區包含編碼核酸序列。

【0021】 在一態樣中，編碼核酸序列編碼空腸彎曲桿菌(*Campylobacter jejuni*)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼艱難梭菌(*Clostridium difficile*)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼痢疾內阿米巴(*Entamoeba histolytica*)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼腸毒素B之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼諾沃克病毒(Norwalk virus)或諾羅病毒(norovirus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼幽門螺旋桿菌(*Helicobacter pylori*)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼輪狀病毒(rotavirus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼念珠菌屬酵母(candida yeast)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼冠狀

病毒(coronavirus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼SARS-CoV之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼SARS-CoV-2之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼MERS-CoV之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼腸病毒71之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼埃-巴二氏病毒(Epstein-Barr virus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼革蘭氏陰性細菌之所關注蛋白質。在一態樣中，革蘭氏陰性細菌為博德氏桿菌(Bordetella)。在一態樣中，編碼核酸序列編碼革蘭氏陽性細菌之所關注蛋白質。在一態樣中，革蘭氏陽性細菌為破傷風梭菌(*Clostridium tetani*)。在一態樣中，革蘭氏陽性細菌為土拉熱弗朗西斯氏菌(*Francisella tularensis*)。在一態樣中，革蘭氏陽性細菌為鏈球菌屬(Streptococcus)細菌。在一態樣中，革蘭氏陽性細菌為葡萄球菌屬(Staphylococcus)細菌。在一態樣中，編碼核酸序列編碼肝炎之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼人類巨細胞病毒(Human Cytomegalovirus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼人類免疫缺乏病毒(Human Immunodeficiency Virus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼人類乳頭狀瘤病毒(Human Papilloma Virus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼流感之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼約翰坎甯安病毒(John Cunningham Virus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼分支桿菌(Mycobacterium)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼痘病毒(Poxviruses)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼銅綠假單胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼呼吸道合胞病毒(Respiratory Syncytial Virus)之所關注蛋白

質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼德國麻疹病毒(Rubella virus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼水痘帶狀疱疹病毒(Varicella zoster virus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼屈公病毒(Chikungunya virus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼登革熱病毒(Dengue virus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼狂犬病病毒(Rabies virus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼克氏錐蟲(*Trypanosoma cruzi*)及/或卻格司氏病(Chagas disease)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼伊波拉病毒(Ebola virus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼鐮狀瘧原蟲(*Plasmodium falciparum*)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼馬堡病毒(Marburg virus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼日本腦炎病毒(Japanese encephalitis virus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼聖路易腦炎病毒(St. Louis encephalitis virus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼西尼羅河病毒(West Nile Virus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼黃熱病病毒(Yellow Fever virus)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼炭疽芽孢桿菌(*Bacillus anthracis*)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼肉毒桿菌毒素(Botulinum toxin)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼蓖麻毒素(Ricin)之所關注蛋白質。在一態樣中，編碼核酸序列編碼志賀毒素(Shiga toxin)及/或志賀樣毒素之所關注蛋白質。在一態樣中，聚核苷酸包含至少一個修飾。

【0022】 在一態樣中，至少20%之鹼基經修飾。在一態樣中，至少30%之鹼基經修飾。在一態樣中，至少40%之鹼基經修飾。在一態樣中，

至少50%之鹼基經修飾。在一態樣中，至少60%之鹼基經修飾。在一態樣中，至少70%之鹼基經修飾。在一態樣中，至少80%之鹼基經修飾。在一態樣中，其中至少90%之鹼基經修飾。在一態樣中，至少100%之鹼基經修飾。在一態樣中，特定鹼基包含至少一個修飾。

【0023】 在一態樣中，該鹼基為腺嘌呤。在一態樣中，至少20%之腺嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少30%之腺嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少40%之腺嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少50%之腺嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少60%之腺嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少70%之腺嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少80%之腺嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少90%之腺嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少100%之腺嘌呤鹼基經修飾。

【0024】 在一態樣中，該鹼基為鳥嘌呤。在一態樣中，至少20%之鳥嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少30%之鳥嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少40%之鳥嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少50%之鳥嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少60%之鳥嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少70%之鳥嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少80%之鳥嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少90%之鳥嘌呤鹼基經修飾。在一態樣中，至少100%之鳥嘌呤鹼基經修飾。

【0025】 在一態樣中，該鹼基為胞嘧啶。在一態樣中，至少20%之胞嘧啶鹼基經修飾。在一態樣中，至少30%之胞嘧啶鹼基經修飾。在一態樣中，至少40%之胞嘧啶鹼基經修飾。在一態樣中，至少50%之胞嘧啶鹼基經修飾。在一態樣中，至少60%之胞嘧啶鹼基經修飾。在一態樣中，至少70%之胞嘧啶鹼基經修飾。在一態樣中，至少80%之胞嘧啶鹼基經修

飾。在一態樣中，至少90%之胞嘧啶鹼基經修飾。在一態樣中，至少100%之胞嘧啶鹼基經修飾。

【0026】在一態樣中，該鹼基為尿嘧啶。在一態樣中，至少20%之尿嘧啶鹼基經修飾。在一態樣中，至少30%之尿嘧啶鹼基經修飾。在一態樣中，至少40%之尿嘧啶鹼基經修飾。在一態樣中，至少50%之尿嘧啶鹼基經修飾。在一態樣中，至少60%之尿嘧啶鹼基經修飾。在一態樣中，至少70%之尿嘧啶鹼基經修飾。在一態樣中，至少80%之尿嘧啶鹼基經修飾。在一態樣中，至少90%之尿嘧啶鹼基經修飾。在一態樣中，至少100%之尿嘧啶鹼基經修飾。

【0027】在一態樣中，該至少一個修飾為吡啶-4-酮核糖核苷、5-氮雜-尿苷、2-硫基-5-氮雜-尿苷、2-硫代尿苷、4-硫基-假尿苷、2-硫基-假尿苷、5-羥基尿苷、3-甲基尿苷、5-羧甲基-尿苷、1-羧甲基-假尿苷、5-丙炔基-尿苷、1-丙炔基-假尿苷、5-牛磺酸甲基尿苷、1-牛磺酸甲基-假尿苷、5-牛磺酸甲基-2-硫基-尿苷、1-牛磺酸甲基-4-硫基-尿苷、5-甲基-尿苷、1-甲基-假尿苷、4-硫基-1-甲基-假尿苷、2-硫基-1-甲基-假尿苷、1-甲基-1-去氮-假尿苷、2-硫基-1-甲基-1-去氮-假尿苷、二氫尿苷、二氫假尿苷、2-硫基-二氫尿苷、2-硫基-二氫假尿苷、2-甲氧基尿苷、2-甲氧基-4-硫基-尿苷、4-甲氧基-假尿苷、及4-甲氧基-2-硫基-假尿苷、5-氮雜-胞苷、假異胞苷、3-甲基-胞苷、N4-乙醯基胞苷、5-甲醯基胞苷、N4-甲基胞啶、5-羥甲基胞苷、1-甲基-假異胞苷、吡咯并-胞苷、吡咯并-假異胞苷、2-硫基-胞苷、2-硫基-5-甲基-胞苷、4-硫基-假異胞苷、4-硫基-1-甲基-假異胞苷、4-硫基-1-甲基-1-去氮-假異胞苷、1-甲基-1-去氮-假異胞苷、澤布拉林(zebularine)、5-氮雜-澤布拉林、5-甲基-澤布拉林、5-氮雜

-2-硫基-澤布拉林、2-硫基-澤布拉林、2-甲氧基-胞苷、2-甲氧基-5-甲基-胞苷、4-甲氧基-假異胞苷、及4-甲氧基-1-甲基-假異胞苷、2-胺基嘌呤、2,6-二胺基嘌呤、7-去氮-腺嘌呤、7-去氮-8-氮雜-腺嘌呤、7-去氮-2-胺基嘌呤、7-去氮-8-氮雜-2-胺基嘌呤、7-去氮-2,6-二胺基嘌呤、7-去氮-8-氮雜-2,6-二胺基嘌呤、1-甲基腺苷、N6-甲基腺苷、N6-異戊烯基腺苷、N6-(順式-羥基異戊烯基)腺苷、2-甲硫基-N6-(順式-羥基異戊烯基)腺苷、N6-甘胺醯基胺甲醯基腺苷、N6-蘇胺醯基胺甲醯基腺苷、2-甲硫基-N6-羥丁胺醯基胺甲醯基腺苷、N6,N6-二甲基腺苷、7-甲基腺嘌呤、2-甲硫基-腺嘌呤、及2-甲氧基-腺嘌呤、肌苷、1-甲基-肌苷、懷俄苷(wyosine)、懷俄丁苷(wybutosine)、7-去氮-鳥苷、7-去氮-8-氮雜-鳥苷、6-硫-鳥苷、6-硫-7-去氮-鳥苷、6-硫-7-去氮-8-氮雜-鳥苷、7-甲基-鳥苷、6-硫-7-甲基-鳥苷、7-甲基肌苷、6-甲氧基-鳥苷、1-甲基鳥苷、N2-甲基鳥苷、N2,N2-二甲基鳥苷、8-側氧基-鳥苷、7-甲基-8-側氧基-鳥苷、1-甲基-6-硫-鳥苷、N2-甲基-6-硫-鳥苷或N2,N2-二甲基-6-硫-鳥苷。

【0028】 在一態樣中，醫藥組合物包含至少一種選自由以下組成之群之陽離子脂質：表(I)中的任何脂質；具有式(VII-A)、(VIII-A)、(IX-A)、(VII-B)、(VII-C)、(I-A)、(II)、(III-B)、(III-C)、(III-D)、(III-E)、(III-F)、(VIII-B)、(IV)、(VI)、(X)或(X-A)之結構的任何脂質；及其組合。

【0029】 在一態樣中，醫藥組合物包含額外陽離子脂質。

【0030】 在一態樣中，醫藥組合物包含中性脂質。

【0031】 在一態樣中，醫藥組合物包含陰離子脂質。

【0032】 在一態樣中，醫藥組合物包含輔助脂質。

【0033】 在一態樣中，醫藥組合物包含隱形脂質。

【0034】 在一態樣中，脂質與聚核苷酸之重量比為約100:1至約1:1。

【0035】 在一態樣中，醫藥組合物將貨物或有效負載遞送至有需要之個體之免疫細胞中。免疫細胞可為T細胞，例如CD8+ T細胞、CD4+ T細胞或T調節細胞。免疫細胞亦可為例如巨噬細胞或樹突狀細胞。

【0036】 在一態樣中，疫苗調配物包含醫藥組合物。

【0037】 在一態樣中，本文提供一種針對傳染原對個體疫苗接種之方法，其包含使個體與疫苗調配物或製劑接觸及引發免疫反應。

【0038】 在一態樣中，傳染原為空腸彎曲桿菌、艱難梭菌、痢疾內阿米巴、腸毒素B、諾沃克病毒或諾羅病毒、幽門螺旋桿菌、輪狀病毒、念珠菌屬酵母、冠狀病毒(包括SARS-CoV、SARS-CoV-2及MERS-CoV)、腸病毒71、埃-巴二氏病毒、革蘭氏陰性細菌(包括博德氏桿菌)、革蘭氏陽性細菌(包括破傷風梭菌、土拉熱弗朗西斯氏菌、鏈球菌屬細菌及葡萄球菌屬細菌)、及肝炎、人類巨細胞病毒、人類免疫缺乏病毒、人類乳頭狀瘤病毒、流感、約翰坎甯安病毒、分支桿菌、痘病毒、銅綠假單胞菌、呼吸道合胞病毒、德國麻疹病毒、水痘帶狀疱疹病毒、屈公病毒、登革熱病毒、狂犬病病毒、克氏錐蟲及/或卻格司氏病、伊波拉病毒、鐮狀瘧原蟲、馬堡病毒、日本腦炎病毒、聖路易腦炎病毒、西尼羅河病毒、黃熱病病毒、炭疽芽孢桿菌、肉毒桿菌毒素、蓖麻毒素或志賀毒素及/或志賀樣毒素。

【0039】 在一態樣中，接觸為經腸(至腸中)、胃腸道、硬膜外(至硬腦膜中)、經口(藉助於口腔)、經皮、腦內(至腦中)、腦室內(至腦室中)、

上表皮(塗覆至皮膚上)、皮內(至皮膚自身中)、皮下(在皮膚下)、經鼻投與(經由鼻)、靜脈內(至靜脈中)、靜脈內推注、靜脈內滴注、動脈內(至動脈中)、肌肉內(至肌肉中)、心內(至心臟中)、骨內輸注(至骨髓中)、鞘內(至脊椎管中)、實質內(至腦組織中)、腹膜內(輸注或注射至腹膜中)、膀胱內輸注、玻璃體內(經由眼睛)、海綿竇內注射(至病理腔中)、腔內(至陰莖基底中)、陰道內投與、子宮內、羊膜外投與、經皮(經由完好皮膚擴散以全身性分散)、經黏膜(經由黏膜擴散)、經陰道、吹入(嗅吸)、舌下、唇下、灌腸、滴眼劑(至結膜上)、滴耳劑、經耳(於耳中或藉助於耳)、經頰(導引朝向頰部)、經結膜、皮膚、牙齒(至一或多個牙齒)、電滲透、子宮頸內、竇道內、氣管內、體外、血液透析、浸潤、間質性、腹部內、羊膜內、關節內、膽管內、支氣管內、囊內、軟骨內(於軟骨內)、尾部內(於馬尾內)、腦池內(在小腦延髓大池內)、角膜內(在角膜內)、牙冠內、冠狀動脈內(在冠狀動脈內)、陰莖海綿體內(在陰莖海綿體之可膨脹空間內)、椎間盤內(在椎間盤內)、管內(在腺管內)、十二指腸內(在十二指腸內)、硬膜內(在硬腦膜內或其下方)、表皮內(至表皮)、食管內(至食道)、胃內(在胃內)、齒齦內(在齒齦內)、回腸內(在小腸之遠端部分內)、病灶內(在定位病灶內或直接引入的至定位病灶)、官腔內(在管腔內)、淋巴內(在淋巴內)、髓內(在骨骼之骨髓腔內)、腦脊膜內(在腦膜內)、心肌內(在心肌內)、眼內(在眼睛內)、卵巢內(在卵巢內)、心包內(在心包膜內)、胸膜內(在胸膜內)、前列腺內(在前列腺腺體內)、肺內(在肺或其支氣管內)、竇內(在鼻竇或眶周竇內)、脊柱內(在脊柱內)、滑膜內(在關節之滑液腔內)、肌腱內(在肌腱內)、睾丸內(在睾丸內)、鞘內(在腦脊髓軸之任何層級處之腦脊髓液內)、胸內(在胸部內)、小管內(在器官之小管內)、瘤內

(在腫瘤內)、鼓室內(在中耳(aurus media)內)、血管內(在一或多個血管內)、室內(在室內)、離子電滲(藉助於電流，其中可溶性鹽之離子遷移至身體組織中)、灌洗(沖刷或沖洗開放的傷口或體腔)、經喉(直接至喉上)、鼻胃管(經由鼻及至胃中)、封閉敷裹技術(局部途徑投與，接著其由封閉區域之敷料覆蓋)、經眼(至眼睛外)、經口咽(直接至口腔及咽)、非經腸、經皮、關節周、硬膜外、神經周、牙周、經直腸、呼吸道(藉由經口或經鼻吸入至呼吸道內以用於局部或全身性作用)、眼球後(腦橋後或眼球後)、軟組織、蛛膜下、結膜下、黏膜下層、局部、經胎盤(經由或跨過胎盤)、經氣管(穿過氣管壁)、經鼓膜(跨過或經過鼓腔)、輸尿管(至輸尿管)、尿道(至尿道)、經陰道、尾部阻滯(caudal block)、診斷、神經阻滯、膽道灌注、心臟灌注、光除去法或經脊椎。

【圖式簡單說明】

【0040】 **圖1**為繪示本發明之向性探索平台之一個實施例之圖。

【0041】 **圖2**為繪示本發明之初始聚核苷酸構築體之圖，其可為線性或環狀。

【0042】 **圖3A**為繪示本發明之一系列基準聚核苷酸構築體之圖，其可包括至少一個條碼區域(barcode region；BC)及/或反向條碼區域(CB)以及有效負載區域(P)。

【0043】 **圖3B**為繪示本發明之一系列基準聚核苷酸構築體之圖，其中條碼區域(BC)或反向條碼區域(CB)可與有效負載區域(P)重疊。

【0044】 **圖3C**為繪示本發明之一系列基準聚核苷酸構築體之圖，其可包括至少一個標籤及/或標記。

【0045】 **圖4A**為繪示本發明之一系列環狀基準聚核苷酸構築體之

圖，其可包括至少一個條碼區域(BC)及/或反向條碼區域(CB)以及有效負載區域(P)。

【0046】 **圖4B**為繪示本發明之一系列環狀基準聚核苷酸構築體之圖，其中條碼區域(BC)或反向條碼區域(CB)可與有效負載區域(P)重疊。

【0047】 **圖4C**為繪示本發明之一系列基準聚核苷酸構築體之圖，其可包括至少一個標籤及/或標記。

【0048】 **圖5**為繪示本發明之一系列遞送載體之圖。

【實施方式】

相關申請案之交互參考

【0049】 本申請案主張2021年9月14日申請之美國臨時專利申請案第63/244,152號、2021年12月23日申請之第63/293,284號及2022年4月28日申請之第63/336,018號之權益及優先權，該等文獻中之各者之內容以全文引用之方式併入本文中。

I. 向性遞送系統之前言

【0050】 相較於傳統療法，鑒於通用性、較低免疫反應及較高效能，核酸療法作為治療各種疾病及治療適應症之主導方法出現。舉例而言，核酸療法包括以下各者之使用：小干擾(siRNA)，用於減少信使RNA(mRNA)之轉譯；mRNA，作為產生所關注目標之方式；環狀RNA(oRNA)，其可提供連續產生多肽或肽或可為與其他RNA分子競爭之海綿狀物；及病毒載體，用於提供連續產生所關注目標。然而，一些核酸不穩定且容易降解，因此其需要經調配以防止降解及輔助核酸之胞內遞送。

【0051】 目前遞送載體，包括基於脂質之遞送載體，諸如脂質奈米粒子及脂質體，聚焦於保護貨物，但未聚焦於定位遞送貨物或遞送載體至

活體內特定區域。

【0052】 本文提供一種用於評估用於定位遞送至特定目標區域、細胞或組織之靶向系統的向性探索平台。如圖1中所示，向性探索平台可用於評估脂質奈米粒子(LNP)庫及/或AAV庫，以便測定庫中靶向系統之向性或標誌概況。可向個體(例如非人類靈長類動物、兔、小鼠、大鼠或另一哺乳動物)投與該庫，且掃描及/或收集該個體之器官及組織並分析以確定庫中LNP或AAV中所含或與其結合之標識符(例如條碼、標記、訊號及/或標籤)的位置。此分析提供庫中各LNP及AAV之向性標誌或概況。

初始構築體架構

【0053】 向性探索平台之靶向系統可包括編碼或包括貨物或有效負載之初始構築體。可為線性或環狀之初始聚核苷酸構築體**100**之實例提供於**圖2**中。初始聚核苷酸構築體**100**可包括至少一個為或編碼所關注有效負載或貨物之有效負載區域**10**。初始聚核苷酸構築體**100**可含有1或2個側接區域**20**，且側接區域**20**可位於有效負載區域**10**之5'或有效負載區域**10**之3'。在一些情況下，初始聚核苷酸構築體**100**不含有側接區域**20**。初始聚核苷酸構築體**100**之側接區域**20**可包括至少一個調節區域**30**。初始聚核苷酸構築體**100**之至少一個側接區域**20**可包括至少一個標識符區域**40**。標識符區域**40**可為但不限於條碼、標記、訊號及/或標籤。另外，標識符區域**40**可位於有效負載區域**10**內或可定位於有效負載區域**10**及至少一個側接區域**20**中。

【0054】 在一些實施例中，初始構築體包含約5至約10,000個殘基。作為一非限制性實例，初始構築體之長度可為5至30、5至50、5至100、5至250、5至500、5至1,000、5至1,500、5至3,000 5至5,000、5至

7,000、5至10,000 30至50、30至100、30至250、30至500、30至1,000、30至1,500、30至3,000、30至5,000、30至7,000、30至10,000、100至250、100至500、100至1,000、100至1,500、100至3,000、100至5,000、100至7,000、100至10,000、500至1,000、500至1,500、500至2,000、500至3,000、500至5,000、500至7,000、500至10,000、1,000至1,500、1,000至2,000、1,000至3,000、1,000至5,000、1,000至7,000、1,000至10,000、1,500至3,000、1,500至5,000、1,500至7,000、1,500至10,000、2,000至3,000、2,000至5,000、2,000至7,000、2,000至10,000、3,000至5,000、3,000至7,000、3,000至10,000、5,000至7,000、5,000至10,000及7,000至10,000。

【0055】在一些實施例中，有效負載區域之長度大於約5個殘基長度，諸如但不限於至少或大於約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、40、45、50、55、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,500、3,000、4,000、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000、10,000或超過10,000個殘基。

【0056】在一些實施例中，側接區域可獨立地在0至10,000個殘基長度範圍內，諸如但不限於至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、40、45、50、55、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、300、350、400、

450、500、600、700、800、900、1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,500、3,000、4,000、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000及10,000。

【0057】在一些實施例中，調節區域之長度可獨立地在0至3,000個殘基範圍內，諸如但不限於至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、40、45、50、55、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,500及3,000。

【0058】在一些實施例中，初始構築體可環化或串聯以產生輔助初始構築體之3'與5'端之間的相互作用的分子。

基準構築體架構

【0059】包括至少一個標識符(例如條碼、標記、訊號及/或標籤)之初始構築體稱為基準構築體。基準聚核苷酸構築體可包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10或更多個標識符，該等標識符在整個基準聚核苷酸構築體中可能相同或不同。

【0060】在一些實施例中，標識符區域之長度可獨立地在1至3,000個殘基範圍內，諸如但不限於至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、40、45、50、55、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1,000、1,100、1,200、1,300、

1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,500及3,000。作為非限制性實例，標識符區域之長度可為1-5個殘基、2-5個殘基、3-5個殘基、2-7個殘基、3-7個殘基、1-10個殘基、2-10個殘基、3-10個殘基、5-10個殘基、7-10個殘基、1-15個殘基、2-15個殘基、3-15個殘基、5-15個殘基、7-15個殘基、10-15個殘基、12-15個殘基、1-20個殘基、2-20個殘基、3-20個殘基、5-20個殘基、7-20個殘基、10-20個殘基、12-20個殘基、15-20個殘基、17-20個殘基、1-25個殘基、2-25個殘基、3-25個殘基、5-25個殘基、7-25個殘基、10-25個殘基、12-25個殘基、15-25個殘基、17-25個殘基、20-25個殘基、1-30個殘基、2-30個殘基、3-30個殘基、5-30個殘基、7-30個殘基、10-30個殘基、12-30個殘基、15-30個殘基、17-30個殘基、20-30個殘基、25-30個殘基、1-35個殘基、2-35個殘基、3-35個殘基、5-35個殘基、7-35個殘基、10-35個殘基、12-35個殘基、15-35個殘基、17-35個殘基、20-35個殘基、25-35個殘基、30-35個殘基、1-35個殘基、2-35個殘基、3-35個殘基、5-35個殘基、7-35個殘基、10-35個殘基、12-35個殘基、15-35個殘基、17-35個殘基、20-35個殘基、25-35個殘基、30-35個殘基、1-40個殘基、2-40個殘基、3-40個殘基、5-40個殘基、7-40個殘基、10-40個殘基、12-40個殘基、15-40個殘基、17-40個殘基、20-40個殘基、25-40個殘基、30-40個殘基、35-40個殘基、1-45個殘基、2-45個殘基、3-45個殘基、5-45個殘基、7-45個殘基、10-45個殘基、12-45個殘基、15-45個殘基、17-45個殘基、20-45個殘基、25-45個殘基、30-45個殘基、35-45個殘基、40-45個殘基、1-50個殘基、2-50個殘基、3-50個殘基、5-50個殘基、7-50個殘基、10-50個殘基、12-50個殘基、15-50個殘基、17-50個殘基、20-50個殘基、25-50個

殘基、30-50個殘基、35-50個殘基、40-50個殘基或45-50個殘基。

【0061】 具有至少一個標識符之可為線性或環狀之基準聚核苷酸構築體之非限制性實例提供於**圖3A**、**圖3B**及**圖3C**中。具有至少一個標識符之環狀基準聚核苷酸構築體之非限制性實例提供於**圖4A**、**圖4B**及**圖4C**中。在**圖3A**、**圖3B**、**圖4A**及**圖4B**中，基準聚核苷酸構築體包括有效負載區域(在圖中稱為「P」)及至少一個標識符區域(在圖中稱為「BC」)及/或反向標識符區域(在圖中稱為「CB」)。在**圖3C**及**圖4C**中，基準聚核苷酸構築體包括有效負載區域(在圖中稱為「P」)及至少一個與基準聚核苷酸構築體結合之標識符部分。

【0062】 在一些實施例中，基準構築體中之標識符區域與有效負載區域重疊。如本文所用，「重疊」意謂標識符區域之至少一個核苷酸延伸至有效負載區域中。在一些態樣中，標識符區域與有效負載區域重疊1個核苷酸、2個核苷酸、3個核苷酸、4個核苷酸、5個核苷酸、6個核苷酸、7個核苷酸、8個核苷酸、9個核苷酸、10個核苷酸、11個核苷酸、12個核苷酸、13個核苷酸、14個核苷酸、15個核苷酸、16個核苷酸、17個核苷酸、18個核苷酸、19個核苷酸、20個核苷酸、21個核苷酸、22個核苷酸、23個核苷酸、24個核苷酸、25個核苷酸、26個核苷酸、27個核苷酸、28個核苷酸、29個核苷酸、30個核苷酸、31個核苷酸、32個核苷酸、33個核苷酸、34個核苷酸、35個核苷酸、36個核苷酸、37個核苷酸、38個核苷酸、39個核苷酸、40個核苷酸41個核苷酸、42個核苷酸、43個核苷酸、44個核苷酸、45個核苷酸、46個核苷酸、47個核苷酸、48個核苷酸、49個核苷酸、50個核苷酸或超過50個核苷酸。在一些態樣中，標識符區域與有效負載區域重疊1-5個核苷酸、2-5個核苷酸、3-5個

核苷酸、2-7個核苷酸、3-7個核苷酸、1-10個核苷酸、2-10個核苷酸、3-10個核苷酸、5-10個核苷酸、7-10個核苷酸、1-15個核苷酸、2-15個核苷酸、3-15個核苷酸、5-15個核苷酸、7-15個核苷酸、10-15個核苷酸、12-15個核苷酸、1-20個核苷酸、2-20個核苷酸、3-20個核苷酸、5-20個核苷酸、7-20個核苷酸、10-20個核苷酸、12-20個核苷酸、15-20個核苷酸、17-20個核苷酸、1-25個核苷酸、2-25個核苷酸、3-25個核苷酸、5-25個核苷酸、7-25個核苷酸、10-25個核苷酸、12-25個核苷酸、15-25個核苷酸、17-25個核苷酸、20-25個核苷酸、1-30個核苷酸、2-30個核苷酸、3-30個核苷酸、5-30個核苷酸、7-30個核苷酸、10-30個核苷酸、12-30個核苷酸、15-30個核苷酸、17-30個核苷酸、20-30個核苷酸、25-30個核苷酸、1-35個核苷酸、2-35個核苷酸、3-35個核苷酸、5-35個核苷酸、7-35個核苷酸、10-35個核苷酸、12-35個核苷酸、15-35個核苷酸、17-35個核苷酸、20-35個核苷酸、25-35個核苷酸、30-35個核苷酸、1-35個核苷酸、2-35個核苷酸、3-35個核苷酸、5-35個核苷酸、7-35個核苷酸、10-35個核苷酸、12-35個核苷酸、15-35個核苷酸、17-35個核苷酸、20-35個核苷酸、25-35個核苷酸、30-35個核苷酸、1-40個核苷酸、2-40個核苷酸、3-40個核苷酸、5-40個核苷酸、7-40個核苷酸、10-40個核苷酸、12-40個核苷酸、15-40個核苷酸、17-40個核苷酸、20-40個核苷酸、25-40個核苷酸、30-40個核苷酸、35-40個核苷酸、1-45個核苷酸、2-45個核苷酸、3-45個核苷酸、5-45個核苷酸、7-45個核苷酸、10-45個核苷酸、12-45個核苷酸、15-45個核苷酸、17-45個核苷酸、20-45個核苷酸、25-45個核苷酸、30-45個核苷酸、35-45個核苷酸、40-45個核苷酸、1-50個核苷酸、2-50個核苷酸、3-50個核苷酸、5-50個核苷酸、7-50個核苷酸、10-

50個核苷酸、12-50個核苷酸、15-50個核苷酸、17-50個核苷酸、20-50個核苷酸、25-50個核苷酸、30-50個核苷酸、35-50個核苷酸、40-50個核苷酸或45-50個核苷酸。

【0063】 在一些實施例中，基準聚核苷酸構築體包含有效負載區域及標識符區域。標識符區域可位於有效負載區域之5'、有效負載區域之3'，或標識符區域可與有效負載區域之5'端或3'端重疊。

【0064】 在一些實施例中，基準聚核苷酸構築體包含有效負載區域及兩個標識符區域。各標識符區域可獨立地位於有效負載區域之5'、有效負載區域之3'，或標識符區域可與有效負載區域之5'端或3'端重疊。

【0065】 作為非限制性實例，第一標識符區域位於有效負載區域之5'，且第二標識符區域位於有效負載區域之3'。作為非限制性實例，第一及第二標識符區域位於有效負載區域之5'。作為非限制性實例，第一及第二標識符區域位於有效負載區域之3'。

【0066】 作為非限制性實例，第一標識符區域為反向的且位於有效負載區域之5'，且第二標識符區域位於有效負載區域之3'。作為非限制性實例，第一標識符區域為反向的且位於有效負載區域之5'，且第二標識符區域為反向的且位於有效負載區域之3'。作為非限制性實例，第一標識符區域位於有效負載區域之5'，且第二標識符區域為反向的且位於有效負載區域之3'。作為非限制性實例，第一及第二標識符區域均為反向的且位於有效負載區域之5'。作為非限制性實例，第一及第二標識符區域位於有效負載區域之5'，且第一標識符區域為反向的。作為非限制性實例，第一及第二標識符區域位於有效負載區域之5'，且第二標識符區域為反向的。作為非限制性實例，第一及第二標識符區域均為反向的且位於有效負載區域

之3'。作為非限制性實例，第一及第二標識符區域位於有效負載區域之3'，且第一標識符區域為反向的。作為非限制性實例，第一及第二標識符區域位於有效負載區域之3'，且第二標識符區域為反向的。

【0067】 作為非限制性實例，第一標識符區域位於有效負載區域之5'且與有效負載區域重疊，且第二標識符區域位於有效負載區域之3'。作為非限制性實例，第一標識符區域位於有效負載區域之5'，且第二標識符區域位於有效負載區域之3'並與有效負載區域重疊。

【0068】 作為非限制性實例，第一及第二標識符區域位於有效負載區域之5'，且第二標識符區域與有效負載區域重疊。作為非限制性實例，第一及第二標識符區域位於有效負載區域之3'，且第一標識符區域與有效負載區域重疊。

【0069】 作為非限制性實例，第一標識符區域為反向的，位於有效負載區域之5'且與有效負載區域重疊，且第二標識符區域位於有效負載區域之3'。作為非限制性實例，第一標識符區域為反向的且位於有效負載區域之5'，且第二標識符區域位於有效負載區域之3'且與有效負載區域重疊。作為非限制性實例，第一標識符區域為反向的，位於有效負載區域之5'，第二標識符區域位於有效負載區域之3'，且第一及第二標識符區域兩者均與有效負載區域重疊。

【0070】 作為非限制性實例，第一標識符區域為反向的，位於有效負載區域之5'且與有效負載區域重疊，且第二標識符區域為反向的且位於有效負載區域之3'。作為非限制性實例，第一標識符區域為反向的且位於有效負載區域之5'，且第二標識符區域為反向的，位於有效負載區域之3'且與有效負載區域重疊。作為非限制性實例，第一標識符區域為反向的且

位於有效負載區域之5'，且第二標識符區域為反向的且位於有效負載區域之3'，且第一及第二標識符區域兩者均與有效負載區域重疊。

【0071】 作為非限制性實例，第一標識符區域位於有效負載區域之5'且與有效負載區域重疊，且第二標識符區域為反向的且位於有效負載區域之3'。作為非限制性實例，第一標識符區域位於有效負載區域之5'，且第二標識符區域為反向的，位於有效負載區域之3'且與有效負載區域重疊。作為非限制性實例，第一標識符區域位於有效負載區域之5'，且第二標識符區域為反向的且位於有效負載區域之3'，且第一及第二標識符區域兩者均與有效負載區域重疊。

【0072】 作為非限制性實例，第一及第二標識符區域均為反向的且位於有效負載區域之5'，且第二標識符區域與有效負載區域重疊。作為非限制性實例，第一及第二標識符區域位於有效負載區域之5'，且第一標識符區域為反向的，且第二標識符區域與有效負載區域重疊。作為非限制性實例，第一及第二標識符區域位於有效負載區域之5'，且第二標識符區域為反向的且與有效負載區域重疊。作為非限制性實例，第一及第二標識符區域均為反向的且位於有效負載區域之3'，且第一標識符區域與有效負載區域重疊。作為非限制性實例，第一及第二標識符區域位於有效負載區域3'，且第一標識符區域為反向的且與有效負載區域重疊。作為非限制性實例，第一及第二標識符區域位於有效負載區域之3'，且第二標識符區域為反向的，且第一有效負載區域與有效負載區域重疊。

【0073】 在一些實施例中，至少一個標識符部分可與基準聚核苷酸構築體結合。基準聚核苷酸構築體可具有1、2、3、4、5、6、7、8、9或10或更多個與基準聚核苷酸構築體結合之標識符部分，該等標識符部分可

為與基準聚核苷酸構築體結合之相同部分或不同部分。各標識符部分可獨立地定位於有效負載區域之5'的側接區域上、有效負載區域之3'的側接區域上，或標識符部分之位置可跨越有效負載區域之5'端或3'端以及側接區域。在一些態樣中，標識符部分之位置可包括有效負載區域之一或多個核苷酸，諸如但不限於1個核苷酸、2個核苷酸、3個核苷酸、4個核苷酸、5個核苷酸、6個核苷酸、7個核苷酸、8個核苷酸、9個核苷酸、10個核苷酸、11個核苷酸、12個核苷酸、13個核苷酸、14個核苷酸、15個核苷酸、16個核苷酸、17個核苷酸、18個核苷酸、19個核苷酸、20個核苷酸、21個核苷酸、22個核苷酸、23個核苷酸、24個核苷酸、25個核苷酸、26個核苷酸、27個核苷酸、28個核苷酸、29個核苷酸、30個核苷酸、31個核苷酸、32個核苷酸、33個核苷酸、34個核苷酸、35個核苷酸、36個核苷酸、37個核苷酸、38個核苷酸、39個核苷酸、40個核苷酸41個核苷酸、42個核苷酸、43個核苷酸、44個核苷酸、45個核苷酸、46個核苷酸、47個核苷酸、48個核苷酸、49個核苷酸、50個核苷酸或超過50個核苷酸。在一些態樣中，標識符部分之位置可包括有效負載區域之一或多個核苷酸，諸如但不限於1-5個核苷酸、2-5個核苷酸、3-5個核苷酸、2-7個核苷酸、3-7個核苷酸、1-10個核苷酸、2-10個核苷酸、3-10個核苷酸、5-10個核苷酸、7-10個核苷酸、1-15個核苷酸、2-15個核苷酸、3-15個核苷酸、5-15個核苷酸、7-15個核苷酸、10-15個核苷酸、12-15個核苷酸、1-20個核苷酸、2-20個核苷酸、3-20個核苷酸、5-20個核苷酸、7-20個核苷酸、10-20個核苷酸、12-20個核苷酸、15-20個核苷酸、17-20個核苷酸、1-25個核苷酸、2-25個核苷酸、3-25個核苷酸、5-25個核苷酸、7-25個核苷酸、10-25個核苷酸、12-25個核苷酸、15-25個核苷酸、

17-25個核苷酸、20-25個核苷酸、1-30個核苷酸、2-30個核苷酸、3-30個核苷酸、5-30個核苷酸、7-30個核苷酸、10-30個核苷酸、12-30個核苷酸、15-30個核苷酸、17-30個核苷酸、20-30個核苷酸、25-30個核苷酸、1-35個核苷酸、2-35個核苷酸、3-35個核苷酸、5-35個核苷酸、7-35個核苷酸、10-35個核苷酸、12-35個核苷酸、15-35個核苷酸、17-35個核苷酸、20-35個核苷酸、25-35個核苷酸、30-35個核苷酸、1-35個核苷酸、2-35個核苷酸、3-35個核苷酸、5-35個核苷酸、7-35個核苷酸、10-35個核苷酸、12-35個核苷酸、15-35個核苷酸、17-35個核苷酸、20-35個核苷酸、25-35個核苷酸、30-35個核苷酸、1-40個核苷酸、2-40個核苷酸、3-40個核苷酸、5-40個核苷酸、7-40個核苷酸、10-40個核苷酸、12-40個核苷酸、15-40個核苷酸、17-40個核苷酸、20-40個核苷酸、25-40個核苷酸、30-40個核苷酸、35-40個核苷酸、1-45個核苷酸、2-45個核苷酸、3-45個核苷酸、5-45個核苷酸、7-45個核苷酸、10-45個核苷酸、12-45個核苷酸、15-45個核苷酸、17-45個核苷酸、20-45個核苷酸、25-45個核苷酸、30-45個核苷酸、35-45個核苷酸、40-45個核苷酸、1-50個核苷酸、2-50個核苷酸、3-50個核苷酸、5-50個核苷酸、7-50個核苷酸、10-50個核苷酸、12-50個核苷酸、15-50個核苷酸、17-50個核苷酸、20-50個核苷酸、25-50個核苷酸、30-50個核苷酸、35-50個核苷酸、40-50個核苷酸或45-50個核苷酸。

【0074】 在一些實施例中，一個標識符部分可與基準聚核苷酸構築體結合。作為非限制性實例，標識符部分可與基準聚核苷酸構築體在基準聚核苷酸構築體之5'端上結合。作為非限制性實例，標識符部分可與基準聚核苷酸構築體在5'側接區域上結合。作為非限制性實例，標識符部分可

與基準聚核苷酸構築體在3'側接區域上結合。作為非限制性實例，標識符部分可與基準聚核苷酸構築體在基準聚核苷酸構築體之3'端上結合。作為非限制性實例，標識符部分可與基準聚核苷酸構築體在有效負載區域上結合。作為非限制性實例，基準聚核苷酸構築體包含標識符部分，且標識符部分之位置跨越有效負載區域之5'端及5'側接區域。作為非限制性實例，基準聚核苷酸構築體包含標識符部分，且標識符部分之位置跨越有效負載區域之3'端及3'側接區域。

【0075】 在一些實施例中，兩個標識符部分與基準聚核苷酸構築體結合。作為非限制性實例，第一標識符部分及第二標識符部分位於5'側接區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分及第二標識符部分位於有效負載區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分及第二標識符部分位於3'側接區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分及第二標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之5'端上。作為非限制性實例，第一標識符部分及第二標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之3'端上。

【0076】 作為非限制性實例，第一標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之5'端上，且第二標識符部分位於5'側接區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之5'端上，且第二標識符部分位於有效負載區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之5'端上，且第二標識符部分位於3'側接區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之5'端上，且第二標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域。作為非限制性實例，第一標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之5'端上，且第二標識符部分之位置跨越3'側接區域及有效負載區域。作為非限制性實例，第一標識符部分

位於基準聚核苷酸構築體之5'端上，且第二標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之3'端上。

【0077】 作為非限制性實例，第一標識符部分位於5'側接區域上，且第二標識符部分位於有效負載區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分位於5'側接區域上，且第二標識符部分位於3'側接區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分位於5'側接區域上，且第二標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域。作為非限制性實例，第一標識符部分位於5'側接區域上，且第二標識符部分之位置跨越3'側接區域及有效負載區域。作為非限制性實例，第一標識符部分位於5'側接區域上，且第二標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之5'端上。作為非限制性實例，第一標識符部分位於5'側接區域上，且第二標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之3'端上。

【0078】 作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之5'端上。作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分位於5'側接區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分位於有效負載區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分之位置跨越3'側接區域及有效負載區域。作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分位於3'側接區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之3'端上。

【0079】 作為非限制性實例，第一標識符部分位於有效負載區域上，且第二標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之5'端上。作為非限制性實例，第一標識符部分位於有效負載區域上，且第二標識符部分位於5'側接區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分位於有效負載區域上，且第二標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域。作為非限制性實例，第一標識符部分位於有效負載區域上，且第二標識符部分之位置跨越3'側接區域及有效負載區域。作為非限制性實例，第一標識符部分位於有效負載區域上，且第二標識符部分位於3'側接區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分位於有效負載區域上，且第二標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之3'端上。

【0080】 作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越3'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之5'端上。作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越3'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分位於5'側接區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越3'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域。作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越3'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分位於有效負載區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越3'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分位於3'側接區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越3'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之3'端上。

【0081】 作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越3'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分位於5'側接區域上。作為非限制性

實例，第一標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分位於有效負載區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分之位置跨越3'側接區域及有效負載區域。作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分位於3'側接區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域，且第二標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之3'端上。

【0082】 作為非限制性實例，第一標識符部分位於3'側接區域上，且第二標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之5'端上。作為非限制性實例，第一標識符部分位於3'側接區域上，且第二標識符部分位於5'側接區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分位於3'側接區域上，且第二標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域。作為非限制性實例，第一標識符部分位於3'側接區域上，且第二標識符部分位於有效負載區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分位於3'側接區域上，且第二標識符部分之位置跨越3'側接區域及有效負載區域。作為非限制性實例，第一標識符部分位於3'側接區域上，且第二標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之3'端上。

【0083】 作為非限制性實例，第一標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之3'端上，且第二標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之5'端上。作為非限制性實例，第一標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之3'端上，且第二標識符部分位於5'側接區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之5'端上，且第二標識符部分之位置跨越5'側接區域及有效負載區域。作為非限制性實例，第一標識符部分位於基準聚核

苷酸構築體之3'端上，且第二標識符部分位於有效負載區域上。作為非限制性實例，第一標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之5'端上，且第二標識符部分之位置跨越3'側接區域及有效負載區域。作為非限制性實例，第一標識符部分位於基準聚核苷酸構築體之3'端上，且第二標識符部分位於3'側接區域上。

【0084】 在一些實施例中，三個標識符部分與基準聚核苷酸構築體結合。

【0085】 在一些實施例中，四個標識符部分與基準聚核苷酸構築體結合。

【0086】 在一些實施例中，五個標識符部分與基準聚核苷酸構築體結合。

【0087】 在一些實施例中，六個標識符部分與基準聚核苷酸構築體結合。

【0088】 在一些實施例中，七個標識符部分與基準聚核苷酸構築體結合。

【0089】 在一些實施例中，八個標識符部分與基準聚核苷酸構築體結合。

【0090】 在一些實施例中，九個標識符部分與基準聚核苷酸構築體結合。

【0091】 在一些實施例中，十個標識符部分與基準聚核苷酸構築體結合。

II. 貨物及有效負載

【0092】 本發明之初始構築體及基準構築體可包含、編碼貨物或有

效負載或與其結合。如本文所用，術語「貨物(cargo)」或「有效負載(payload)」可指用於遞送細胞或組織至遞送至細胞或組織中之遞送載體中涵蓋之一或多個分子或結構。貨物之非限制性實例可包括核酸、多肽、肽、蛋白質、脂質體、標記、標籤、小化學分子、大生物分子及其任何組合或片段。在初始構築體及基準構築體中，構築體之包含或編碼貨物或有效負載之區域稱為「貨物區域」或「有效負載區域」。

【0093】 在一些實施例中，貨物或有效負載為或編碼生物活性分子，諸如但不限於治療蛋白。如本文所用，術語「生物學活性」係指任何在生物系統中，且特定言之在生物體中具有活性之藥劑之特性。舉例而言，當向生物體投與時對彼生物體具有生物效應之藥劑視為具有生物學活性。在一些實施例中，貨物或有效負載為或編碼一或多種預防活性或治療活性蛋白質、多肽或其他因子。作為非限制性實例，貨物或有效負載可為或編碼在癌症中增強腫瘤殺死活性之藥劑，諸如但不限於TRAIL或腫瘤壞死因子(TNF)。作為另一非限制性實例，貨物或有效負載可為編碼適合於治療諸如以下之病狀之藥劑：肌肉萎縮症(例如貨物或有效負載為或編碼肌縮蛋白)、心血管疾病(例如貨物或有效負載為或編碼SERCA2a、GATA4、Tbx5、Mef2C、Hand2、Myocd等)、神經退化性疾病(例如貨物或有效負載為或編碼NGF、BDNF、GDNF、NT-3等)、慢性疼痛(例如貨物或有效負載為或編碼GlyRal)、腦啡肽或麩胺酸去羧酶(例如貨物或有效負載為或編碼GAD65、GAD67或另一同功型)、肺病(例如貨物或有效負載為或編碼CFTR)、血友病(例如貨物或有效負載為或編碼因子VIII或因子IX)、贅瘤形成(例如貨物或有效負載為或編碼PTEN、ATM、ATR、EGFR、ERBB2、ERBB3、ERBB4、Notch1、Notch2、Notch3、

Notch4、AKT、AKT2、AKT3、HIF、HI Fla、HIF3a、Met、HRG、Bcl2、PPARα、PPARγ、WT1 (威爾姆氏腫瘤(Wilms Tumor))、FGF受體家族成員(5個成員：1、2、3、4、5)、CDKN2a、APC、RB (視網膜母細胞瘤)、MEN1、VHL、BRCA1、BRCA2、雄性激素受體(Androgen Receptor；AR)、TSG101、IGF、IGF受體、Igfl (4種變體)、Igf2 (3種變體)、Igfl受體、Igf2受體、Bax、Bcl2、凋亡蛋白酶家族(9個成員：1、2、3、4、6、7、8、9、12)、Kras、Ape)、老年性黃斑變性(例如貨物或有效負載為或編碼Aber、Ccl2、Cc2、銅藍蛋白(ceruloplasmin；cp)、Timp3、組織蛋白酶D、Vldlr)、精神分裂症(例如神經調節蛋白(Nrgl)、Erb4 (神經調節蛋白之受體)、複蛋白(Complexin)-l (Cplxl)、Tphl色胺酸羥化酶、Tph2色胺酸羥化酶2、Neurexin 1、GSK3、GSK3a、GSK3b、5-HIT (Slc6a4)、COMT、DRD (Drdla)、SLC6A3、DAOA、DTNBPI、Dao (Daol))、三核苷酸重複病症(例如HTT (亨廷頓氏(Huntington's) Dx)、SBMA/SMAXI/AR (肯尼迪氏(Kennedy's) Dx)、FXN/X25 (弗里德利希氏共濟失調(Friedrich's Ataxia))、ATX3 (馬查多-約瑟夫氏(Machado-Joseph's) Dx)、ATXNI及ATXN2 (脊髓小腦共濟失調)、DMPK (肌緊張性營養障礙)、萎縮蛋白-1及Atnl (DRPLA Dx)、CBP (Creb-BP-全域不穩定性)、VLDLR (阿茲海默氏(Alzheimer's))、Atxn7、Atxn10)、X脆折症候群(例如貨物或有效負載為或編碼FMR2、FXRI、FXR2、mGLUR5)、分泌酶相關病症(例如貨物或有效負載為或編碼APH-1 (α及β)、早老素(Psenl)、尼卡斯特林(nicastrin；Ncstn)、PEN-2)、ALS (例如貨物或有效負載為或編碼SOD1、ALS2、STEX、FUS、TARD BP、VEGF (VEGF-a、VEGF-b、VEGF-c))、自閉症(例如貨物或有效負載為

或編碼Mecp2、BZRAP1、MDGA2、Sema5A、軸突蛋白1)、阿茲海默氏病(例如貨物或有效負載為或編碼El、CHIP、UCH、UBB、Tau、LRP、PICALM、群集素(Clusterin)、PS1、SORL1、CR1、Vldlr、Ubal、Uba3、CHIP28 (Aqpl，水孔蛋白1)、Uchll、Uchl3、APP)、發炎(例如貨物或有效負載為或編碼IL-10、IL-1 (IL-Ia、IL-Ib)、IL-13、IL-17 (IL-17a (CTLA8)、IL-17b、IL-17c、IL-17d、IL-171)、11-23、Cx3crl、ptpn22、TNFa、用於IBD之NOD2/CARD15、IL-6、IL-12 (IL-12a、IL-12b)、CTLA4、Cx3cll)、帕金森氏症(Parkinson's Disease) (例如x-共核蛋白(Synuclein)、DJ-1、LRRK2、帕金蛋白(Parkin)、PINK1)、血液及凝血病症(諸如貧血、裸淋巴球症候群、出血病症、噬血細胞性淋巴組織細胞增生症、A型血友病、B型血友病、出血性病症、白血球缺乏及病症、鐮狀細胞貧血及地中海貧血)(例如貨物或有效負載為或編碼CRAN1、CDA1、RPS19、DBA、PKLR、PK1、NT5C3、UMPH1、PSNI、RHAG、RH50A、NRAMP2、SPTB、ALAS2、ANH1、ASB、ABCB7、ABC7、ASAT、TAPBP、TPSN、TAP2、ABCB3、PSF2、RING11、MHC2TA、C2TA、RFX5、RFXAP、RFX5、TBXA2R、P2RX1、P2X1、HF1、CFH、HUS、MCFD2、FANCA、FAC A、FA1、FA、FA A、FAAP95、FAAP90、FLJ34064、FANCB、FANCC、FACC、BRCA2、FANCDI、FANCD2、FANCD、FACD、FAD、FANCE、FACE、FANCF、XRCC9、FANCG、BR1PI、BACH1、FANCJ、PHF9、FANCL、FANCM、KIAA1596、PRF1、HPLH2、UNC13D、MUNC13-4、HPLH3、HLH3、FHL3、F8、FSC、PI、ATT、F5、ITGB2、CD18、LCAMB、LAD、EIF2B1、EIF2BA、

EIF2B2、EIF2B3、EIF2B5、LVWM、CACH、CLE、EIF2B4、HBB、HBA2、HBB、HBD、LCRB、HBA1)、B細胞非霍奇金淋巴瘤(B-cell non-Hodgkin lymphoma)或白血病(例如貨物或有效負載為或編碼BCL7A、BCL7、ALI、TCL5、SCL、TAL2、FLT3、NBS1、NBS、ZNFN1AI、1KI、LYF1、HOXD4、HOX4B、BCR、CML、PHL、ALL、ARNT、KRAS2、RASK2、GMPS、AFIO、ARHGEF12、LARG、KIAA0382、CALM、CLTH、CEBPA、CEBP、CHIC2、BTL、FLT3、KIT、PBT、LPP、NPMI、NUP214、D9S46E、CAN、CAIN、RUNXI、CBFA2、AML1、WHSC1LI、NSD3、FLT3、AF1Q、NPMI、NUMA1、ZNF145、PLZF、PML、MYL、STAT5B、AF1Q、CALM、CLTH、ARL11、ARLTS1、P2RX7、P2X7、BCR、CML、PHL、ALL、GRAF、NF1、VRNF、WSS、NFNS、PTPNII、PTP2C、SHP2、NS1、BCL2、CCND1、PRAD1、BCL1、TCRA、GATA1、GF1、ERYF1、NFE1、ABLI、NQO1、DIA4、NMOR1、NUP214、D9S46E、CAN、CAIN)、發炎及免疫相關疾病及病症(例如貨物或有效負載為或編碼KIR3DL1、NKAT3、NKB1、AMB11、K1R3DS1、IFNG、CXCL12、TNFRSF6、APT1、FAS、CD95、ALPS1A、IL2RG、SCIDX1、SCIDX、IMD4、CCL5、SCYA5、D17S136E、TCP228、IL10、CSIF、CMKBR2、CCR2、CMKBR5、CCCKR5 (CCR5)、CD3E、CD3G、AICDA、AID、HIGM2、TNFRSF5、CD40、UNG、DGU、HIGM4、TNFSFS、CD40LG、HIGM1、IGM、FOXP3、IPEX、AIID、XPID、PIDX、TNFRSF14B、TACI)、發炎(例如貨物或有效負載為或編碼IL-10、IL-1 (IL-IA、IL-IB)、IL-13、IL-17 (IL-17a (CTLA8)、

IL-17b、IL-17c、IL-17d、IL-171)、11-23、Cx3crl、ptpn22、TNFa、用於IBD之NOD2/CARD15、IL-6、IL-12 (IL-12a、IL-12b)、CTLA4、Cx3cII)、JAK3、JAKL、DCLREIC、ARTEMIS、SCIDA、RAG1、RAG2、ADA、PTPRC、CD45、LCA、IL7R、CD3D、T3D、IL2RG、SCIDXI、SCIDX、IMD4)、代謝、肝臟、腎臟及蛋白質疾病及病症(例如貨物或有效負載為或編碼TTR、PALB、APOA1、APP、AAA、CVAP、ADI、GSN、FGA、LYZ、TTR、PALB、KRT18、KRT8、CIRH1A、NAIC、TEX292、KIAA1988、CFTR、ABCC7、CF、MRP7、SLC2A2、GLUT2、G6PC、G6PT、G6PT1、GAA、LAMP2、LAMPB、AGL、GDE、GBE1、GYS2、PYGL、PFKM、TCF1、HNF1A、MODY3、SCOD1、SCOl、CTNNB1、PDGFRL、PDGRL、PRLTS、AX1NI、AXIN、CTNNB1、TP53、P53、LFS1、IGF2R、MPRI、MET、CASP8、MCH5、UMOD、HNFJ、FJHN、MCKD2、ADMCKD2、PAH、PKU1、QDPR、DHPR、PTS、FCYT、PKHD1、ARPKD、PKD1、PKD2、PKD4、PKDTS、PRKCSH、G19P1、PCLD、SEC63)、肌肉/骨骼疾病及病症(例如貨物或有效負載為或編碼DMD、BMD、MYF6、LMNA、LMN1、EMD2、FPLD、CMDIA、HGPS、LGMDIB、LMNA、LMNI、EMD2、FPLD、CMDIA、FSHMD1A、FSHD1A、FKRP、MDC1C、LGMD2I、LAMA2、LAMM、LARGE、KIAA0609、MDC1D、FCMD、TTID、MYOT、CAPN3、CANP3、DYSF、LGMD2B、SGCG、LGMD2C、DMDA1、SCG3、SGCA、ADL、DAG2、LGMD2D、DMDA2、SGCB、LGMD2E、SGCD、SGD、LGMD2F、CMD1L、TCAP、LGMD2G、

CMD1N、TRIM32、HT2A、LGMD2H、FKRP、MDCIC、LGMD21、TTN、CMD1G、TMD、LGMD2J、POMT1、CAV3、LGMD1C、SEPN1、SELN、RSMD1、PLEC1、PLTN、EBS1、LRP5、BMND1、LRP7、LR3、OPPG、VBCH2、CLCN7、CLC7、OPTA2、OSTMI、GL、TCIRG1、TIRC7、OC116、OPTB1、VAPB、VAPC、ALS8、SMN1、SMA1、SMA2、SMA3、SMA4、BSCL2、SPG17、GARS、SMAD1、CMT2D、HEXB、IGHMBP2、SMUBP2、CATF1、SMARD1)、神經及神經元疾病及病症(例如貨物或有效負載為或編碼SOD1、ALS2、STEX、FUS、TARDBP、VEGF (VEGF-a、VEGF-b、VEGF-c)、APP、AAA、CVAP、ADI、APOE、AD2、PSEN2、AD4、STM2、APBB2、FE65LI、NOS3、PLAU、URK、ACE、DCPI、ACEI、MPO、PAC1PI、PAXIPIL、PTIP、A2M、BLMH、BMH、PSEN1、AD3、Mecp2、BZRAP1、MDGA2、Sema5A、軸突蛋白1、GLO1、MECP2、RTT、PPMX、MRX16、MRX79、NLGN3、NLGN4、KIAA1260、AUTSX2、FMR2、FXR1、FXR2、mGLUR5、HD、IT15、PRNP、PRIP、JPH3、JP3、HDL2、TBP、SCA17、NR4A2、NURR1、NOT、TINUR、SNCAIP、TBP、SCA17、SNCA、NACP、PARK1、PARK4、DJI、PARK7、LRRK2、PARK8、PINK1、PARK6、UCHL1、PARK5、SNCA、NACP、PARK1、PARK4、PRKN、PARK2、PDJ、DBH、NDUFV2、MECP2、RTT、PPMX、MRX16、MRX79、CDKL5、STK9、MECP2、RTT、PPMX、MRX16、MRX79、x-共核蛋白、DJ-1、神經調節蛋白-1 (Nrg1)、Erb4 (神經調節蛋白之受體)、複蛋白-1 (Cplx1)、Tph1色胺酸羥化酶、Tph2、色胺

酸羥化酶2、軸突蛋白1、GSK3、GSK3a、GSK3b、5-HTT (Slc6a4)、CONT、DRD (Drdla)、SLC6A、DAOA、DTNBP1、Dao (Daol)、APH-1 (α及β)、早老素(Psenl)、尼卡斯特林、(Ncstn)、PEN-2、Nosl、Parpl、Natl、Nat2、HTT、SBMA/SMAX1/AR、FXN/X25、ATX3、TXN、ATXN2、DMPK、萎縮蛋白-1、Atnl、CBP、VLDLR、Atxn7及AtxnlO)及眼部疾病及病症(例如Aber、Ccl2、Cc2、銅藍蛋白(cp)、Timp3、組織蛋白酶-D、Vldlr、Ccr2、CRYAA、CRYA1、CRYBB2、CRYB2、PITX3、BFSP2、CP49、CP47、CRYAA、CRYAI、PAX6、AN2、MGDA、CRYBA1、CRYB1、CRYGC、CRYG3、CCL、LIM2、MP19、CRYGD、CRYG4、BFSP2、CP49、CP47、HSF4、CTM、HSF4、CTM、MIP、AQPO、CRYAB、CRYA2、CTPP2、CRYBB1、CRYGD、CRYG4、CRYBB2、CRYB2、CRYGC、CRYG3、CCL、CRYAA、CRYAI、GJA8、CX50、CAE1、GJA3、CX46、CZP3、CAE3、CCM1、CAM、KRIT1、APOA1、TGFBI、CSD2、CDGG1、CSD、BIGH3、CDG2、TACSTD2、TROP2、M1SI、VSX1、RINX、PPCD、PPD、KTCN、COL8A2、FECD、PPCD2、PIP5K3、CFD、KERA、CNA2、MYOC、TIGR、GLCIA、JO AG、GPOA、OPTN、GLC1E、FIP2、HYPL、NRP、CYP1BI、GLC3A、OPA1、NTG、NPG、CYP1BI、GLC3A、CRB1、RP12、CRX、CORD2、CRD、RPGRIPI、LCA6、CORD9、RPE65、RP20、AIPL1、LCA4、GUCY2D、GUC2D、LCA1、CORD6、RDH12、LCA3、ELOVL4、ADMD、STGD2、STGD3、RDS、RP7、PRPH2、PRPH、AVMD、AOFMD及VMD2)。

【0094】 在一些實施例中，貨物或有效負載為或編碼可影響細胞分化之因子。作為非限制性實例，Oct4、Klf4、Sox2、c-Myc、L-Myc、顯性負p53、Nanog、Glisl、Lin28、TFIID、mir-302/367或其他miRNA中之一或多者之表現可使細胞變為誘導性多能幹(induced pluripotent stem；iPS)細胞。

【0095】 在一些實施例中，貨物或有效負載為或編碼用於轉分化(transdifferentiating)細胞之因子。因子之非限制性實例包括：對於心肌細胞，GATA4、Tbx5、Mef2C、Myocd、Hand2、SRF、Mespl、SMARCD3中之一或多者；對於神經細胞，Ascii、Nurrl、LmxlA、Bm2、Mytll、NeuroDl、FoxA2；及對於肝細胞，Hnf4a、Foxal、Foxa2或Foxa3。

多肽、蛋白質及肽

【0096】 本發明之初始構築體及基準構築體可包含、編碼為多肽、蛋白質或肽之貨物或有效負載，或與其結合。如本文所用，術語「多肽」通常係指藉由肽鍵連接之胺基酸聚合物且涵蓋「蛋白質」及「肽」。用於本發明之多肽包括此項技術中已知之所有多肽、蛋白質及/或肽。多肽之非限制性類別包括抗原、抗體、抗體片段、細胞介素、肽、激素、酶、氧化劑、抗氧化劑、合成多肽及嵌合多肽。

【0097】 如本文所用，術語「肽」通常係指約50個胺基酸或更短之較短多肽。僅具有兩個胺基酸之肽可被稱為「二肽」。僅具有三個胺基酸之肽可被稱為「三肽」。多肽一般係指具有約4至約50個胺基酸之多肽。肽可經由熟習此項技術者已知之任何方法獲得。在一些實施例中，肽可在培養物中表現。在一些實施例中，肽可經由化學合成(例如固相肽合成)獲

得。

【0098】 在一些實施例中，本發明之初始構築體及基準構築體可包含、編碼貨物或有效負載或與其結合，該貨物或有效負載為在水解後產生胺基酸且偶爾小碳水化合物之簡單蛋白質。簡單蛋白質之非限制性實例包括白蛋白、類蛋白素、球蛋白、穀蛋白、組蛋白及魚精蛋白。

【0099】 在一些實施例中，本發明之初始構築體及基準構築體可包含、編碼貨物或有效負載或與其結合，該貨物或有效負載為結合蛋白質，其可為與非蛋白質結合之簡單蛋白質。結合蛋白質之非限制性實例包括醣蛋白、血紅蛋白、卵磷脂蛋白、核蛋白及磷蛋白。

【0100】 在一些實施例中，本發明之初始構築體及基準構築體可包含、編碼貨物或有效負載或與其結合，該貨物或有效負載為衍生蛋白質，其為藉由化學或物理手段自簡單或結合蛋白質衍生的蛋白質。衍生蛋白質之非限制性實例包括變性蛋白質及肽。

【0101】 在一些實施例中，多肽、蛋白質或肽可未經修飾。

【0102】 在一些實施例中，多肽、蛋白質或肽可經修飾。修飾之類型包括但不限於磷酸化、醣基化、乙醯化、泛蛋白化/蘇素化、甲基化、軟脂醯化、醌、醯胺化、豆蔻醯化、吡咯啶酮羧酸、羥基化、磷酸泛醯巰基乙胺(Phosphopantetheine)、異戊烯化、GPI錨定、氧化、ADP核糖基化、硫酸化、S-亞硝基化、瓜胺酸化、硝化、γ-羧基麩胺酸、甲醯化、羥腐胺離胺酸、托帕醌(Topaquinone；TPQ)、溴化、離胺酸托帕醌(LTQ)、色胺酸色胺酸醌(Tryptophan tryptophylquinone；TTQ)、碘化及半胱胺酸色胺酸醌(CTQ)。在一些態樣中，多肽、蛋白質或肽可藉由可影響其結構、次細胞定位及/或功能之轉錄後修飾進行修飾。

【0103】 在一些實施例中，多肽、蛋白質或肽可使用磷酸化進行修飾。磷酸化或添加磷酸酯基至絲胺酸、蘇胺酸或酪胺酸殘基為最常見的蛋白質修飾形式之一。蛋白質磷酸化在微調胞內傳訊級聯中之訊號方面發揮重要作用。

【0104】 在一些實施例中，多肽、蛋白質或肽可使用泛蛋白化(其為泛蛋白與目標蛋白之共價連接)進行修飾。泛蛋白化介導之蛋白質轉換已顯示在驅動細胞週期方面以及蛋白質-降解-非依賴性胞內傳訊路徑方面起作用。

【0105】 在一些實施例中，多肽、蛋白質或肽可使用可在調節基因表現方面起作用之乙醯化及甲基化進行修飾。作為非限制性實例，乙醯化及甲基化可介導染色體域(例如真染色質及異染色質)之形成，其可能對於介導基因靜默具有影響。

【0106】 在一些實施例中，多肽、蛋白質或肽可使用醣基化進行修飾。醣基化為連接大量聚醣基團中之一者，且為出現在所有蛋白質之約一半並在生物過程中起作用之修飾，該等生物過程包括但不限於胚胎發育、細胞分裂及蛋白質結構調節。蛋白質醣基化之兩種主要類型為N-醣基化及O-醣基化。對於N-醣基化而言，聚醣與天冬醯胺連接；且對於O-醣基化而言，聚醣與絲胺酸或蘇胺酸連接。

【0107】 在一些實施例中，多肽、蛋白質或肽可使用蘇素化進行修飾。蘇素化為添加SUMO (小泛蛋白樣調節劑)至蛋白質，且為類似於泛蛋白化之轉譯後修飾。

抗體

【0108】 如本文所用，術語「抗體」最廣義而言指代且特定地涵蓋

各種實施例，包括但不限於單株抗體、多株抗體、多特異性抗體(例如由至少兩種完整抗體形成之雙特異性抗體)及抗體片段(例如雙功能抗體)，只要其呈現所需生物活性(例如「功能性」)即可。抗體主要為基於胺基酸之分子，其為單體或多聚多肽，其包含至少一個衍生自已知或親本抗體序列的胺基酸區域及至少一個衍生自非抗體序列的胺基酸區域。抗體可包含一或多個修飾(包括但不限於添加糖部分、螢光部分、化學標籤等)。出於本文之目的，「抗體」可包含重鏈及輕鏈可變域以及Fc區。

【0109】 貨物或有效負載可包含或可編碼形成一或多種功能性抗體之多肽。

【0110】 在一些實施例中，貨物或有效負載可包含或可編碼形成或作為任何抗體之多肽，包括但不限於此項技術中已知的抗體及/或市售的可為治療性、診斷或用於研究目的的抗體。另外，貨物或有效負載可包含或可編碼此類抗體之片段或抗體，諸如但不限於可變域或互補決定區(complementarity determining region；CDR)。

【0111】 如本文所用，術語「原生抗體」係指約150,000道爾頓之一般異四聚醣蛋白，其由兩條相同輕(L)鏈及兩條相同重(H)鏈構成。已知編碼抗體重鏈及輕鏈之基因且已良好表徵及描述其各自構成區段(Matsuda, F.等人, 1998. The Journal of Experimental Medicine. 188(11); 2151-62及Li, A.等人, 2004. Blood. 103(12): 4602-9，各案之內容以全文引用之方式併入本文中)。各輕鏈藉由一個共價二硫鍵與重鏈連接，而在不同免疫球蛋白同型之重鏈當中，二硫鍵之數目不同。各重鏈及輕鏈亦具有有規律地間隔之鏈內二硫橋鍵。各重鏈在一端具有可變域(V_H)，繼之為多個恆定域。各輕鏈在一端(V_L)具有可變域且在其另一端具有恆定域；輕

鏈之恆定域與重鏈之第一恆定域對準，且輕鏈可變域與重鏈之可變域對準。如本文所用，術語「輕鏈」係指歸為兩種明顯不同的類型(基於恆定域之胺基酸序列，稱為κ及λ)中之一種的來自任何脊椎動物物種之抗體之組分。視其重鏈之恆定域之胺基酸序列而定，抗體可歸為不同「類別」。存在五個主要類別之完整抗體：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且此等抗體中之若干者可進一步分成子類(同型)，例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA及IgA2。

【0112】 如本文所用，術語「可變域」係指發現於抗體重鏈及輕鏈兩者上之特定抗體域，其在抗體當中在序列方面廣泛不同且用於各特定抗體對其特定抗原之結合及特異性。可變域包含高變區。如本文所用，術語「高變區」係指可變域內的包含負責抗原結合之胺基酸殘基之區域。高變區內存在之胺基酸決定變成抗體之抗原結合位點之一部分的互補決定區(CDR)之結構。如本文所用，術語「CDR」係指抗體中包含與其目標抗原或抗原決定基互補之結構的區域。可變域中不與抗原相互作用之其他部分稱為構架(FW)區。抗原結合位點(亦稱為抗原組合位點或互補位)包含與特定抗原相互作用所必需的胺基酸殘基。構成抗原結合位點之確切殘基通常藉由與結合抗原之共結晶學闡明，然而，亦可基於與其他抗體之比較而使用計算型評定(Strohl, W.R. Therapeutic Antibody Engineering. Woodhead Publishing, Philadelphia PA. 2012. 第3章, 第47-54頁，其內容以全文引用之方式併入本文中)。測定構成CDR之殘基可包括使用編號方案，包括但不限於由以下教示之編號方案：Kabat [Wu, T.T.等人, 1970, JEM, 132(2):211-50及Johnson, G.等人, 2000, Nucleic Acids Res. 28(1): 214-8，其內容各自以全文引用之方式併入本文中]、Chothia [Chothia及

Lesk, J. Mol. Biol. 196, 901 (1987)，Chothia等人, Nature 342, 877 (1989)及Al-Lazikani, B.等人, 1997, J. Mol. Biol. 273(4):927-48，其內容各自以全文引用之方式併入本文中]、Lefranc (Lefranc, M.P.等人, 2005, Immunome Res. 1:3)及Honegger (Honegger, A.及Pluckthun, A. 2001. J. Mol. Biol. 309(3):657-70，其內容各自以全文引用之方式併入本文中)。

【0113】 V_H及V_L域各自具有三個CDR。按照在沿可變域多肽自N端至C端移動時之出現順序，V_L CDR在本文中被稱為CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3。按照在沿可變域多肽自N端至C端移動時之出現順序，V_H CDR在本文中被稱為CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3。CDR中之各者具有有利的典型結構，除了CDR-H3之外，其包含在抗體之間序列及長度可高度可變的胺基酸序列，從而在抗原結合域中產生多種三維結構。在一些情況下，可在一組相關抗體中分析CDR-H3以評定抗體多樣性。

【0114】 測定CDR序列之各種方法為此項技術中已知的且可應用於已知抗體序列。由Kabat描述之系統，亦稱為「根據Kabat編號」、「Kabat編號」、「Kabat定義」及「Kabat標記」，提供適用於抗體之任何可變域的明確的殘基編號系統，且提供界定各鏈之三個CDR的確切殘基邊界。(Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987)及(1991)，其內容以全文引用之方式併入)。Kabat CDR包含輕鏈可變域中之約殘基24-34 (CDR1)、50-56 (CDR2)及89-97 (CDR3)，以及重鏈可變域中之殘基31-35 (CDR1)、50-65 (CDR2)及95-102 (CDR3)。Chothia及同事發現，Kabat CDR內之某些子部分採用幾乎相同的肽主鏈構形，儘管在胺基酸序列之層級上具有巨大的多樣性。(Chothia等人(1987) J. Mol. Biol. 196:

901-917；及Chothia等人(1989) Nature 342: 877-883，其各自之內容以全文引用之方式併入本文中)。此等CDR可被稱為「Chothia CDR」、「Chothia編號」或「根據Chothia編號」，且包含輕鏈可變域中之約殘基24-34 (CDR1)、50-56 (CDR2)及89-97 (CDR3)以及重鏈可變域中之殘基26-32 (CDR1)、52-56 (CDR2)及95-102 (CDR3)。Mol. Biol. 196:901-917 (1987)。由MacCallum描述之系統，亦稱為「根據MacCallum編號」或「MacCallum編號」，包含輕鏈可變域中之約殘基30-36 (CDR1)、46-55 (CDR2)及89-96 (CDR3)以及重鏈可變域中之殘基30-35 (CDR1)、47-58 (CDR2)及93-101 (CDR3)。(MacCallum等人((1996) J. Mol. Biol. 262(5):732-745)，其內容以全文引用之方式併入本文中)。由AbM描述之系統，亦稱為「根據AbM編號」或「AbM編號」，包含輕鏈可變域中之約殘基24-34 (CDR1)、50-56 (CDR2)及89-97 (CDR3)以及重鏈可變域中之殘基26-35 (CDR1)、50-58 (CDR2)及95-102 (CDR3)。亦可使用可變區之IMGT（國際免疫遺傳學資訊系統(INTERNATIONAL IMMUNOGENETICS INFORMATION SYSTEM))編號，其為根據IIMGT之方法對免疫球蛋白可變重鏈或輕鏈中之殘基編號(Lefranc, M.-P.,「The IMGT unique numbering for immunoglobulins, T cell Receptors and Ig-like domains」, The Immunologist, 7, 132-136 (1999)，且以全文引用之方式併入本文中)。如本文所用，「IMGT序列編號」或「根據IMTG編號」係指根據IMGT對編碼可變區之序列編號。對於重鏈可變域而言，當根據IMGT編號時，高變區對於CDR1而言在胺基酸位置27至38範圍內，對於CDR2而言在胺基酸位置56至65範圍內，且對於CDR3而言在胺基酸位置105至117範圍內。對於輕鏈可變域而言，當根據IMGT編號時，高變

區對於CDR1而言在胺基酸位置27至38範圍內，對於CDR2而言在胺基酸位置56至65範圍內，且對於CDR3而言在胺基酸位置105至117範圍內。

【0115】 在一些實施例中，貨物或有效負載可包含或可編碼已使用此項技術中已知之方法產生之抗體，該等方法諸如但不限於免疫接種及呈現技術(例如噬菌體呈現、酵母呈現及核糖體呈現)、融合瘤技術，選自融合瘤或其他來源之重鏈及輕鏈可變區cDNA序列。

【0116】 在一些實施例中，貨物或有效負載可包含或可編碼使用任何天然存在或合成抗原研發之抗體。如本文所用，「抗原」為其誘導或誘發生物體中之免疫反應之實體。免疫反應之特徵在於生物體之細胞、組織及/或器官針對存在外來實體之反應。此類免疫反應通常引起生物體產生針對外來實體(例如抗原或抗原之一部分)之一或多種抗體。如本文所用，「抗原」亦係指特異性抗體之結合搭配物或呈現庫中之結合劑。

【0117】 如本文所用，術語「單株抗體」係指自實質上均質細胞(或殖株)群體獲得之抗體，亦即，除在產生單株抗體期間可能產生之可能的變體(此類變體通常以少量存在)以外，構成該群體之個別抗體為相同的且/或結合相同抗原決定基。與通常包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體的多株抗體製劑相反，各單株抗體針對抗原上之單一決定子。

【0118】 修飾語「單株」指示抗體之特徵為自實質上均質之抗體群體獲得，且不應解釋為需要藉由任何特定方法產生該抗體。單株抗體在本文中包括「嵌合」抗體(免疫球蛋白)，其中重鏈及/或輕鏈之一部分與衍生自特定物種或屬於特定抗體類別或子類別之抗體中之對應序列一致或與其同源，而該鏈之其餘部分與衍生自另一物種或屬於另一抗體類別或子類別之抗體中之對應序列一致或與其同源，以及此類抗體的片段。

【0119】 如本文所用，術語「人源化抗體」係指一種嵌合抗體，其包含來自一或多種非人類(例如鼠類)抗體來源之最小部分且其餘部分係衍生自一或多種人類免疫球蛋白來源。在極大程度上，人源化抗體為人類免疫球蛋白(受體抗體)，其中來自受體之抗體的高變區之殘基經來自非人類物種(諸如小鼠、大鼠、兔或非人類靈長類動物)之具有所需特異性、親和力及/或能力之抗體(供體抗體)的高變區之殘基置換。

【0120】 在一些實施例中，貨物或有效負載可包含或可編碼抗體模擬物。如本文所用，術語「抗體模擬物」係指模擬抗體之功能或作用且特異性並以高親和力與其分子目標結合之任何分子。在一些實施例中，抗體模擬物可為單功能抗體，其設計成併入纖維結合蛋白III型域(Fn3)作為蛋白質骨架。在一些實施例中，抗體模擬物可為此項技術中已知之彼等者，包括但不限於親和抗體分子、阿非林(affilin)、阿非汀(affitin)、抗運載蛋白(anticalin)、高親合性多聚體、辛替恩(Centyrin)、DARPINS™、非諾莫(fynomer)、昆尼茲域(Kunitz domain)及域肽。在其他實施例中，抗體模擬物可包括一或多種非肽區域。

抗體片段及變體

【0121】 在一些實施例中，貨物或有效負載可包含或可編碼抗體片段，其包含來自全長抗體之抗原結合區。抗體片段之非限制性實例包括Fab、Fab'、$F(ab')_2$、及Fv片段、雙功能抗體、線性抗體、單鏈抗體分子及由抗體片段形成之多特異性抗體。抗體之木瓜酶消化產生兩個相同的抗原結合片段，稱為「Fab」片段，各自具有單一抗原結合位點。亦產生殘餘「Fc」片段，其名稱反映其易於結晶之能力。胃蛋白酶處理產生$F(ab')_2$片段，其具有兩個抗原結合位點且仍能夠交聯抗原。本發明之化合物及/

或組合物可包含此等片段中之一或多者。

【0122】 在一些實施例中，Fc區可為經修飾之Fc區，其中相較於野生型Fc區之對應序列，該Fc區可具有單一胺基酸取代，其中該單一胺基酸取代產生具有野生型Fc區之彼等者的較佳特性的Fc區。可由單一胺基酸取代改變之Fc特性之非限制性實例包括結合特性或對pH條件之反應。

【0123】 如本文所用，術語「Fv」係指包含抗體上之形成完整抗原結合位點所需之最小片段的抗體片段。此等區域由緊密、非共價結合之一個重鏈及一個輕鏈可變域之二聚體組成。Fv片段可藉由蛋白水解裂解產生，但大部分不穩定。用於產生穩定Fv片段之重組方法為此項技術中已知的，通常經由在輕鏈可變域與重鏈可變域之間插入可撓性連接子以形成單鏈Fv (scFv)，或經由在重鏈及輕鏈可變域之間引入二硫橋鍵。

【0124】 如本文所用，術語「單鏈Fv」或「scFv」係指V_H及V_L抗體域之融合蛋白，其中此等域藉由可撓性肽連接子連接在一起成為單一多肽鏈。在一些實施例中，Fv多肽連接子使得scFv能夠形成所需結構以用於抗原結合。在一些實施例中，scFv係與噬菌體呈現、酵母呈現或其他呈現方法結合使用，其中其可與表面成員(例如噬菌體外殼蛋白)結合表現且用於鑑別既定抗原之高親和力肽。

【0125】 如本文所用，術語「抗體變體」係指在結構及/或功能上與原生或起始抗體類似之經修飾之抗體(相對於原生或起始抗體)或生物分子(例如抗體模擬物)。與原生抗體相比，抗體變體可能在其胺基酸序列、組成或結構方面不同。抗體變體可包括但不限於具有改變之同型之抗體(例如IgA、IgD、IgE、IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4或IgM)、人源化變體、最佳化變體、多特異性抗體變體(例如雙特異性變體)及抗體片段。

多特異性抗體

【0126】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼結合超過一個抗原決定基之抗體。如本文所用，術語「多功能抗體」或「多特異性抗體」係指其中兩個或更多個可變區與不同抗原決定基結合之抗體。抗原決定基可在相同或不同的目標上。在某些實施例中，多特異性抗體為「雙特異性抗體」，其識別相同或不同抗原上之兩種不同的抗原決定基。

【0127】 在一些實施例中，可藉由BIOATLA®所使用及國際專利公開案WO201109726中所描述之方法製備多特異性抗體，其內容以全文引用之方式併入本文中。首先，藉由此項技術中已知之任何方法產生同源、天然存在之抗體之庫(亦即，哺乳動物細胞表面呈現)，接著藉由FACSAria或另一種篩選方法針對與兩種或更多種目標抗原特異性結合之多特異性抗體進行篩選。在一些實施例中，藉由此項技術中已知之任何方法使所鑑別之多特異性抗體進一步演化，以產生一組經修飾之多特異性抗體。針對與目標抗原之結合來篩選此等經修飾之多特異性抗體。在一些實施例中，可藉由針對最佳化或所需特徵來篩選經演化之經修飾之多特異性抗體來進一步最佳化多特異性抗體。

【0128】 在一些實施例中，可藉由BIOATLA®所使用及美國公開案第US20150252119號中所描述之方法製備多特異性抗體，其內容以全文引用之方式併入本文中。在一種方法中，使用此項技術中已知之任何方法，使兩種親本抗體(其中親本抗體為單株抗體)之可變域以使得單一輕鏈在功能上與兩種不同的親本抗體之重鏈互補之方式演化。另一種方法需要使單一親本抗體之重鏈演化以識別第二目標抗原。第三種方法涉及使親本抗體之輕鏈演化以識別第二目標抗原。用於多肽演化之方法描述於國際公

開案WO2012009026中，其內容以全文引用之方式併入本文中，且作為非限制性實例，包括綜合位置演化(CPE)、組合蛋白質合成(CPS)、綜合位置插入(CPI)、綜合位置缺失(CPD)或其任何組合。可使用杵-臼方法(knob-in-hole approach)或任何其他使得Fc域能夠形成雜二聚體之方法產生美國公開案第US20150252119號中所描述之多特異性抗體之Fc區。可使所得多特異性抗體進一步演化以獲得經改良之特徵或特性，諸如對目標抗原之結合親和力。

雙特異性抗體

【0129】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼雙特異性抗體。如本文所用，術語「雙特異性抗體」係指能夠結合兩種不同抗原之抗體。此類抗體通常包含來自至少兩種不同抗體之區域。此類抗體通常包含來自至少兩種不同抗體之抗原結合區。舉例而言，雙特異性單株抗體(BsMAb、BsAb)為由兩種不同單株抗體之片段構成之人工蛋白質，因此使得BsAb能夠與兩種不同類型之抗原結合。

【0130】 在一些情況下，貨物或有效負載可為或可編碼包含來自兩種不同抗tau抗體之抗原結合區的雙特異性抗體。舉例而言，此類雙特異性抗體可包含來自兩種不同抗體之結合區。

【0131】 雙特異性抗體構架可包括以下中描述之彼等者中之任一者：Riethmuller, G., 2012. *Cancer Immunity*. 12:12-18；Marvin, J.S.等人, 2005. *Acta Pharmacologica Sinica*. 26(6):649-58；及Schaefer, W.等人, 2011. *PNAS*. 108(27):11187-92，其各自之內容以全文引用之方式併入本文中。

【0132】 已研發出新的BsMAb代，稱為「三功能雙特異性」抗體。

此等抗體由兩條重鏈及兩條輕鏈組成，各自來自兩種不同抗體，其中兩個Fab區域(臂)針對兩種抗原，且Fc區(腳)包含兩條重鏈且形成第三結合位點。

【0133】 在形成雙特異性抗體之可變域之頂部的兩個互補位中，一個可針對目標抗原且另一個針對T淋巴球抗原，如CD3。在三功能抗體之情況下，Fc區可另外與表現Fc受體之細胞結合，如巨噬細胞、自然殺手(NK)細胞或樹突狀細胞。總而言之，所靶向之細胞與免疫系統中之一或兩個細胞連接，該一或兩個細胞隨後破壞所靶向之細胞。

【0134】 已設計其他類型之雙特異性抗體以克服某些問題，諸如短半衰期、免疫原性及由細胞介素釋放引起之副作用。其包括以化學方式連接之Fab (僅由Fab區域組成)，及各種類型之二價及三價單鏈可變片段(scFv)、模擬兩種抗體之可變域之融合蛋白。最新研發的此等較新形式為雙特異性T細胞接合分子(BiTE)及mAb2，經工程改造以含有替代Fc恆定區之Fcab抗原結合片段之抗體。

【0135】 使用分子遺傳學，兩個scFv可經串聯工程改造成為單一多肽，由連接子域分隔，稱為「串聯scFv」(tascFv)。已發現TascFv之可溶性較差且在細菌中產生時需要再摺疊，或其可在哺乳動物細胞培養物系統中製造，從而避免再摺疊需求，但可能引起不良產率。具有兩種不同scFv之基因之tascFv的構築產生「雙特異性單鏈可變片段」(雙scFv)。商業公司僅在臨床上研發出兩種tascFv；兩者均為由Micromet在早期階段積極研發之針對腫瘤適應症的雙特異性藥劑，且描述為「雙特異性T細胞接合分子(BiTE)」。博納吐單抗(Blinatumomab)為抗CD19/抗CD3雙特異性tascFv，其加強對2期B細胞非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma)

之T細胞反應。MT110為抗EP-CAM/抗CD3雙特異性tascFv，其加強對1期實體腫瘤之T細胞反應。Affimed亦正在研究雙特異性四價「TandAb」。

【0136】在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼包含單一抗原結合域之抗體。此等分子為極小型的，其分子量大致為全尺寸mAb之所觀測之分子量之十分之一。其他抗體可包括衍生自在駱駝及駱馬中發現之重鏈抗體之抗原結合可變重鏈區(V_{HH})之「奈米抗體」，其不具有輕鏈。

【0137】Memorial Sloan-Kettering Cancer Center之PCT公開案WO2014144573 (其內容以全文引用之方式併入本文中)揭示及主張用於製備具有相對於不具有二聚能力之多特異性結合劑之改良的特性的二聚多特異性結合劑(例如包含抗體組分之融合蛋白)的多聚合技術。

【0138】在一些情況下，貨物或有效負載可為或可編碼四價雙特異性抗體(如PCT公開案WO2014144357中所揭示及主張之TetBiAb，其內容以全文併入本文中)。TetBiAb之特徵在於與抗體之C端連接的具有第二抗原特異性之第二對Fab片段，因此提供對兩種抗原特異性中之各者呈二價之分子。藉由使抗體重鏈與Fab輕鏈(其與其同源、共表現之Fab重鏈結合)共價連接，藉由基因工程改造方法產生四價抗體。

【0139】在一些態樣中，貨物或有效負載可為或可編碼如美國專利第5,091,513號(其內容以全文引用之方式併入本文中)中所描述之生物合成抗體。此類抗體可包括構成充當生物合成抗體結合位點(BABS)之區域之胺基酸之一或多個序列。位點包含1)非共價結合或二硫鍵鍵結之合成V_H及V_L二聚體，2) V_H-V_L或V_L-V_H單鏈，其中V_H及V_L係由多肽連接子連

接，或3)個別V_H或V_L域。結合域包含連接之CDR及FR區域，其可衍生自單獨的免疫球蛋白。生物合成抗體亦可包括其他多肽序列，其充當例如酶、毒素、結合位點或與固定培養基或放射性原子之連接位點。揭示用於製備生物合成抗體、用於設計具有可由抗體之活體內產生引發之任何特異性之BABS及用於製備其類似物之方法。

【0140】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼具有美國專利第8,399,625號中教示之抗體受體構架之抗體。此類抗體受體構架可尤其適用於接受來自所關注之抗體之CDR。在一些情況下，可使用來自此項技術中已知或根據本文中呈現之方法研發之抗tau抗體之CDR。

小型化抗體

【0141】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼「小型化」抗體。mAb小型化之最佳實例包括來自Trubion Pharmaceuticals之小型模組免疫藥物(SMIP)。此等分子(其可為單價或二價)為含有一個V_L、一個V_H抗原結合域及一或兩個恆定「效應子」域(所有均由連接子域連接)之重組單鏈分子。可能的是，此類分子可提供由片段主張之提高之組織或腫瘤滲透，同時保留由恆定域賦予之免疫效應功能之優點。至少三種「小型化」SMIP已進入臨床研發。TRU-015，一種與Wyeth合作研發之抗CD20 SMIP，為最先進的項目，針對類風濕性關節炎(RA)已發展至2期。更早的在全身性紅斑狼瘡(SLE)及B細胞淋巴瘤中之嘗試最終中斷。Trubion及Facet Biotechnology合作研發用於治療CLL及其他淋巴贅瘤之TRU-016，一種抗CD37 SMIP，其為已達到2期之項目。Wyeth已核准抗CD20 SMIP SBI-087用於治療自體免疫疾病，包括RA、SLE及可能的多發性硬化，但此等計劃仍處於臨床測試之最早階段。

雙功能抗體

【0142】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼雙功能抗體。如本文所用，術語「雙功能抗體」係指具有兩個抗原結合位點之小抗體片段。雙功能抗體包含重鏈可變域V_H，其與相同多肽鏈中之輕鏈可變域V_L連接。藉由使用過短以使得同一鏈上之兩個域之間不能配對的連接子，迫使該等域與另一條鏈之互補域配對，且產生兩個抗原結合位點。

【0143】 雙功能抗體為功能性雙特異性單鏈抗體(bscAb)。此等二價抗原結合分子由scFv之非共價二聚體構成，且可使用重組方法在哺乳動物細胞中產生。(參見例如Mack等人, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 92: 7021-7025, 1995)。幾乎沒有雙功能抗體進入臨床研發。在由Beckman Research Institute of the City of Hope贊助之研究(Clinicaltrials.gov NCT00647153)中，已評估抗CEA嵌合抗體cT84.66之經碘123標記之雙功能抗體型式用於大腸直腸癌之手術前免疫閃爍掃描偵測。

單抗體

【0144】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼「單抗體(unibody)」，其中鉸鏈區已自IgG4分子移除。儘管IgG4分子不穩定且可彼此交換輕鏈-重鏈異二聚體，但鉸鏈區之缺失可完全阻止重鏈-重鏈配對，留下高特異性單價輕鏈/重鏈異二聚體，同時保留Fc區以確保穩定性及活體內半衰期。此組態可使免疫活化或致癌性生長之風險降至最低，因為IgG4與FcR之相互作用不佳且單價單抗體無法促進胞內傳訊複合物形成。然而，此等觀點主要由實驗室而非臨床證據支持。其他抗體可為「小型化」抗體，其為壓實的100 kDa抗體。

胞內抗體

【0145】在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼胞內抗體。術語「胞內抗體(intrabody)」係指一種抗體形式，其不由產生其之細胞分泌，而替代地靶向一或多種胞內蛋白質。胞內抗體可用於影響多個細胞過程，包括但不限於細胞內遷移、轉錄、轉譯、代謝過程、增殖傳訊及細胞分裂。在一些實施例中，本發明之方法可包括基於胞內抗體之療法。在一些此類實施例中，可將本文揭示之可變域序列及/或CDR序列併入一或多種構築體中以用於基於胞內抗體之療法。舉例而言，胞內抗體可靶向一或多種糖化的胞內蛋白質或可調節一或多種糖化的胞內蛋白質與替代性蛋白質之間的相互相用。

【0146】在超過二十年以前，首先描述針對胞內目標之胞內抗體(Biocca, Neuberger and Cattaneo *EMBO J*. 9: 101-108, 1990，其內容以全文引用之方式併入本文中)。哺乳動物細胞之不同隔室中胞內抗體之胞內表現允許阻斷或調節內源性分子之功能(Biocca等人, *EMBO J*. 9: 101-108, 1990；Colby等人, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 17616-21, 2004，其內容以全文引用之方式併入本文中)。胞內抗體可改變蛋白質摺疊、蛋白質-蛋白質、蛋白質-DNA、蛋白質-RNA相互作用及蛋白質修飾。其可誘導表型基因剔除及藉由直接結合於目標抗原、藉由使其細胞內遷移轉向或藉由抑制其與結合搭配物之結合而起到中和劑之作用。其主要用作研究工具且作為用於治療人類疾病(諸如病毒性病變、癌症及錯誤摺疊疾病)之治療性分子出現。關於其在療法中之用途，重組抗體之快速增長的生物市場提供具有增強之結合特異性、穩定性及溶解性以及較低免疫原性之胞內抗體。

【0147】在一些實施例中，胞內抗體相對於干擾RNA (iRNA)具有

優勢；舉例而言，已顯示iRNA發揮多種非特異性作用，而已顯示胞內抗體對目標抗原具有高特異性及親和力。此外，作為蛋白質，胞內抗體與iRNA相比具有長得多的活性半衰期。因此，當胞內目標分子之活性半衰期較長時，經由iRNA進行之基因靜默產生作用之過程可能較慢，而胞內抗體表現之作用可為幾乎瞬時的。最終，有可能設計胞內抗體以阻斷特定目標分子之某些結合相互作用，同時保留其他作用。

【0148】胞內抗體通常為由重組核酸分子表現之單鏈可變片段(scFv)且經工程改造以在細胞內留存(例如留存於細胞質、內質網或胞外質中)。舉例而言，胞內抗體可用於消除與胞內抗體結合之蛋白質之功能。亦可經由在包含胞內抗體之核酸表現載體中使用誘導性啟動子來調節胞內抗體之表現。可使用此項技術中已知之方法產生用於本發明之病毒基因體之胞內抗體，諸如以下中揭示及綜述之方法：Marasco等人, 1993 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 7889-7893；Chen等人, 1994, *Hum. Gene Ther.* 5:595-601；Chen等人, 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 5932-5936；Maciejewski等人, 1995, *Nature Med.*, 1: 667-673；Marasco, 1995, *Immunotech*, 1: 1-19；Mhashilkar,等人, 1995, *EMBO J.* 14: 1542-51；Chen等人, 1996, *Hum. Gene Therap.*, 7: 1515-1525；Marasco, *Gene Ther.* 4:11-15, 1997；Rondon及Marasco, 1997, *Annu. Rev. Microbiol.* 51:257-283；Cohen,等人, 1998, *Oncogene* 17:2445-56；Proba等人, 1998, *J. Mol. Biol.* 275:245-253；Cohen等人, 1998, *Oncogene* 17:2445-2456；Hassanzadeh,等人, 1998, *FEBS Lett.* 437:81-6；Richardson等人, 1998, *Gene Ther.* 5:635-44；Ohage及Steipe, 1999, *J. Mol. Biol.* 291:1119-1128；Ohage等人, 1999, *J. Mol. Biol.* 291:1129-1134；Wirtz及Steipe,

1999, *Protein Sci.* 8:2245-2250；Zhu等人, 1999, *J. Immunol. Methods* 231:207-222；Arafat等人, 2000, *Cancer Gene Ther.* 7:1250-6；der Maur等人, 2002, *J. Biol. Chem.* 277:45075-85；Mhashilkar等人, 2002, *Gene Ther.* 9:307-19；及Wheeler等人, 2003, *FASEB J.* 17: 1733-5；及其中引用的參考文獻)。特別地，已由Steinberger等人, 2000, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:805-810產生CCR5胞內抗體。一般參見Marasco, WA, 1998,「Intrabodies: Basic Research and Clinical Gene Therapy Applications」Springer: New York；及關於scFv之綜述，參見Pluckthun,「The Pharmacology of Monoclonal Antibodies」, 1994, 第113卷, Rosenburg and Moore編, Springer-Verlag, New York, 第269-315頁；其各自之內容各自以全文引用之方式併入。

【0149】來自供體抗體之序列可用於產生胞內抗體。胞內抗體通常在細胞內以重組方式表現為單域片段(諸如經分離之V_H及V_L域)或單鏈可變片段(scFv)抗體。舉例而言，胞內抗體通常表現為單一多肽以形成包含藉由可撓性連接子多肽接合的重鏈及輕鏈之可變域的單鏈抗體。胞內抗體通常缺乏二硫鍵且能夠經由其特異性結合活性調節目標基因之表現或活性。單鏈抗體亦可表現為接合至輕鏈恆定區之單鏈可變區片段。

【0150】如此項技術中已知，胞內抗體可經工程改造成為重組聚核苷酸載體以在其N或C端編碼子細胞遷移訊號，以允許在目標蛋白質所位於之子細胞隔室中以高濃度表現。舉例而言，靶向內質網(ER)之胞內抗體經工程改造以併入前導肽及視情況C端ER留存訊號。意欲在核中發揮活性的胞內抗體經工程改造以包括核定位訊號。脂質部分接合至胞內抗體以將胞內抗體繫栓至質膜之胞質側。胞內抗體亦可以在胞質液中發揮功能為目

標。舉例而言，使用胞質胞內抗體螯合胞質液內之因子，藉此防止其運輸至其天然細胞目的地。

【0151】 存在關於胞內抗體表現之某些技術性挑戰。特別地，細胞內新近合成之胞內抗體之蛋白質構形摺疊及結構穩定性受胞內環境之還原條件影響。

【0152】 本發明之胞內抗體由於其幾乎無限的特異性識別蛋白質之不同構形(包括病理學同功型)之能力及因為其可靶向潛在聚集位點(細胞內及細胞外位點兩者)而可為用於治療錯誤摺疊疾病(包括Tau蛋白病、普里昂蛋白疾病、阿茲海默氏症(Alzheimer's)、帕金森氏症(Parkinson's)及亨廷頓氏症(Huntington's))之有前景的治療劑。此等分子可藉由防止類澱粉生成蛋白質聚集而充當針對類澱粉生成蛋白質之中和劑，及/或藉由使蛋白質自其潛在聚集位點重新選擇路徑而充當細胞內交通之分子調度器。

最大抗體

【0153】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼最大抗體(maxibody) (與IgG之Fc (CH2-CH3域)之胺基端融合之二價scFV)。

嵌合抗原受體(CAR)

【0154】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼嵌合抗原受體(CAR)，當轉導至免疫細胞(例如T細胞及NK細胞)中時，其可重新導引免疫細胞針對表現由CAR之胞外目標部分識別之分子的目標(例如腫瘤細胞)。

【0155】 如本文所用，術語「嵌合抗原受體(CAR)」係指模擬T細胞表面上之TCR的合成受體。一般而言，CAR由胞外靶向域、跨膜域/區域及胞內傳訊/活化域構成。在標準CAR受體中，組分：胞外靶向域、跨

膜域及胞內傳訊/活化域線性地構築為單一融合蛋白。胞外區包含識別特定腫瘤抗原或其他腫瘤細胞表面分子之靶向域/部分(例如scFv)。胞內區域可含有TCR複合物之傳訊域(例如CD3ζ之訊號區)及/或一或多個共刺激傳訊域，諸如來自CD28、4-1BB (CD137)及OX-40 (CD134)之彼等者。舉例而言，「第一代CAR」僅具有CD3ζ傳訊域，而為了增加T細胞持久性及增殖，添加共刺激胞內域，從而產生具有CD3ζ訊號域加一個共刺激傳訊域的第二代CAR，及具有CD3ζ訊號域加兩個或更多個共刺激傳訊域的第三代CAR。當由T細胞表現時，CAR賦予T細胞具有藉由CAR之胞外靶向部分決定的抗原特異性。在一些態樣中，可添加一或多個元件，諸如歸位(homing)及自殺基因以產生更勝任且更安全的CAR架構(所謂的第四代CAR)。

【0156】 在一些實施例中，胞外靶向域經由鉸鏈(亦稱為間隔域或間隔子)及跨膜區與胞內傳訊域接合。鉸鏈將胞外靶向域與跨膜域連接，該跨膜域穿過細胞膜且連接至胞內傳訊域。歸因於靶向部分結合的目標蛋白之大小以及靶向域自身之大小及親和力，可能需要改變鉸鏈以最佳化CAR轉化細胞對於癌細胞之效能。在靶向部分識別及結合目標細胞後，胞內傳訊域產生至CAR T細胞之活化訊號，該活化訊號由一或多個胞內共刺激域之「第二訊號」進一步擴大。一旦活化，CAR T細胞可破壞目標細胞。

【0157】 在一些實施例中，CAR可分成兩個部分，各部分連接二聚域，以使得觸發二聚之輸入促進完整功能性受體之組裝。Wu及Lim報導拆分CAR (split CAR)，其中胞外CD19結合域及胞內傳訊元件分隔開且與在雷帕黴素(rapamycin)類似物AP21967存在下異二聚之FKBP域及FRB*(FKBP-雷帕黴素結合之T2089L突變體)域連接。拆分受體(split receptor)

在AP21967存在下組裝，且連同特異性抗原結合一起活化T細胞(Wu等人, Science, 2015, 625(6258): aab4077，其內容以全文引用之方式併入本文中)。

【0158】在一些實施例中，CAR可設計為已併入Tet-On誘導性系統至CD19 CAR構築體之誘導性CAR。CD19 CAR僅在多西環素(doxycycline；Dox)存在下活化。Sakemura報導，相較於習知CD19CAR T細胞，在Dox存在下之Tet-CD19CAR T細胞針對CD19+細胞株為等效細胞毒性的，且在CD19刺激後具有等效細胞介素產生及增殖((Sakemura等人, Cancer Immuno. Res., 2016年6月21日,電子版；其內容以全文引用之方式併入本文中)。雙重系統對於在經轉導T細胞中開啟及關閉CAR表現提供更多的可撓性。

【0159】在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼第一代CAR、或第二代CAR、或第三代CAR或第四代CAR。在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼由胞外域、鉸鏈及跨膜域以及胞內傳訊區域構成之完整CAR構築體。在其他實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼完整CAR構築體之組分，包括胞外靶向部分、鉸鏈區、跨膜域、胞內傳訊域、一或多個共刺激域，及改良CAR架構及官能性之其他額外元件，包括但不限於前導序列、歸位元件及安全開關，或此類組分之組合。

【0160】在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼可調諧CAR。可逆的開-關切換機制允許管理由過度的CAR-T細胞擴增引起之急性毒性。配體賦予之CAR調節可能有效抵消由抗原缺失誘導之腫瘤逃逸，從而避免由歸因於長期抗原暴露所致之強直性傳訊引起的功能耗竭及改良活體內CAR表現細胞之持久性。可調諧CAR可用於下調CAR表現以限制

由腫瘤溶解症候群引起之組織毒性的目標。在抗腫瘤功效後下調CAR表現可預防(1)由正常組織中之抗原表現引起之腫瘤毒性脫靶；(2)活體內抗原非依賴性活化。

胞外靶向域/部分

【0161】 在一些實施例中，CAR之胞外目標部分可為識別且以高特異性及親和力結合既定目標分子(例如腫瘤細胞上之新抗原)的任何藥劑。目標部分可為：與腫瘤細胞上之目標分子特異性結合的抗體及其變體；或基於其與腫瘤細胞上之目標分子結合之能力自隨機序列池選擇的適體；或可與腫瘤細胞上之目標分子結合的其變體或片段；或來自原生T細胞受體(TCR)的抗原識別域(例如識別感染HIV之細胞之CD4胞外域)；或外來識別組分，諸如引起識別攜帶細胞介素受體或受體之天然配體之目標細胞的連接的細胞介素。

【0162】 在一些實施例中，CAR之靶向域可為Ig NAR、Fab片段、Fab'片段、F(ab)'2片段、F(ab)'3片段、Fv、單鏈可變片段(scFv)、雙scFv、(scFv)2、微型抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、二硫鍵穩定的Fv蛋白(dsFv)、單抗體、奈米抗體或衍生自特異性識別目標分子(例如腫瘤特異性抗原(TSA))之抗體的抗原結合區。在一實施例中，靶向部分為scFv抗體。當其在CAR T細胞表面上表現且隨後與癌細胞上之目標蛋白結合時，scFv域能夠維持CAR T細胞接近癌細胞且觸發T細胞活化。scFv可使用常規重組DNA技術技術產生且在本發明中論述。

【0163】 在一些實施例中，CAR構築體之靶向部分可為與所關注之目標分子特異性結合之適體，諸如肽適體。肽適體可基於其與所關注之目標分子結合之能力選自隨機序列池。

【0164】在一些實施例中，CAR構築體之靶向部分可為目標分子之天然配體或能夠結合目標分子之其變體及/或片段。在一些態樣中，CAR之靶向部分可為目標分子之受體，舉例而言，全長人類CD27，作為CD70受體，可與CD3ζ之傳訊域同框融合，從而形成作為CD70陽性惡性病之免疫治療劑的CD27嵌合受體。

【0165】在一些實施例中，CAR之靶向部分可識別腫瘤特異性抗原(tumor specific antigen；TSA)，例如在腫瘤細胞上有限表現之癌症新抗原。

【0166】作為非限制性實例，本發明之CAR可包含能夠與選自以下之腫瘤特異性抗原結合之胞外靶向域：5T4、707-AP、A33、AFP (α-胎蛋白)、AKAP-4 (A激酶錨定蛋白4)、ALK、α5β1-整合素、雄性激素受體、磷脂結合蛋白II、α-輔肌動蛋白-4、ART-4、B1、B7H3、B7H4、BAGE (B黑色素瘤抗原)、BCMA、BCR-ABL融合蛋白、β-連環蛋白、BKT-抗原、BTAA、CA-I (碳酸酐酶I)、CA50 (癌症抗原50)、CA125、CA15-3、CA195、CA242、鈣視網膜蛋白、CAIX (碳酸酐酶)、細胞毒性T淋巴球識別之黑色素瘤上抗原(cytotoxic T-lymphocyte recognized antigen on melanoma；CAMEL)、CAM43、CAP-1、凋亡蛋白酶-8/m、CD4、CD5、CD7、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27/m、CD28、CD30、CD33、CD34、CD36、CD38、CD40/CD154、CD41、CD44v6、CD44v7/8、CD45,CD49f、CD56、CD68\KP1、CD74、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD133、CD138、CD171、cdc27/m、CDK4 (週期素依賴性激酶4)、CDKN2A、CDS、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen；CEA)、CEACAM5、CEACAM6、染色顆粒

素、c-Met、c-Myc、coa-1、CSAp、CT7、CT10、親環蛋白B、週期素B1、細胞質酪胺酸激酶、細胞角蛋白、DAM-10、DAM-6、dek-can融合蛋白、肌間線蛋白(desmin)、含有1之DEP域(DEP domain containing 1；DEPDC1)、E2A-PRL、EBNA、表皮生長因子受體(epidermal growth factor receptor；EGF-R)、上皮細胞醣蛋白-1 (epithelial glycoprotein -1；EGP-1) (TROP-2)、EGP-2、EGP-40、表皮生長因子受體(epidermal growth factor receptor；EGFR)、EGFRvIII、EF-2、ELF2M、EMMPRIN、上皮細胞細胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule；EpCAM)、EphA2、埃-巴二氏病毒抗原、Erb (ErbB1；ErbB3；ErbB4)、上皮細胞腫瘤抗原(epithelial tumor antigen；ETA)、ETV6-AML1融合蛋白、纖維母細胞活化蛋白(fibroblast activation protein；FAP)、葉酸結合蛋白(folate-binding protein；FBP)、FGF-5、葉酸受體、FOS相關抗原1、岩藻糖基GM1、G250、GAGE (GAGE-1；GAGE-2)、半乳糖凝集素、GD2 (神經節苷脂)、GD3、膠質原纖維酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein；GFAP)、GM2 (癌胚抗原-免疫原性-1；OFA-I-1)、GnT-V、Gp100、H4-RET、HAGE (解螺旋酶抗原)、HER-2/neu、低氧誘導因子(hypoxia inducible factor；HIF)、HIF-1、HIF-2、HLA-A2、HLA-A*0201-R170I、HLA-Al 1、HMWMAA、Hom/Mel-40、HSP70-2M (熱休克蛋白70)、HST-2、HTgp-175、hTERT (或hTRT)、人類乳頭狀瘤病毒-E6/人類乳頭狀瘤病毒-E7及E6、iCE (免疫捕獲EIA)、IGF-1R、IGH-IGK、IL-2R、IL-5、整合素連接的激酶(integrin-linked kinase；ILK)、IMP3 (似胰島素生長因子II mRNA-結合蛋白3)、干擾素調節因子4 (interferon regulatory factor 4；IRF4)、KDR (激酶插入域受體)、

KIAA0205、KRAB-鋅指蛋白(KID)-3；KID31、KSA (17-1A)、K-ras、LAGE、LCK、LDLR/FUT (LDLR-岩藻糖基轉移酶AS融合蛋白)、LeY (Lewis Y)、MAD-CT-1、MAGE (酪胺酸酶、黑色素瘤相關抗原) (MAGE-1；MAGE-3)、黑色素-A腫瘤抗原(MART)、MART-2/Ski、MC1R (黑皮質素1受體)、MDM2、間皮素、MPHOSPH1、肌肉特異性肌動蛋白(muscle-specific actin；MSA)、雷帕黴素之哺乳動物目標(mammalian targets of rapamycin；mTOR)、MUC-1、MUC-2、MUM-1 (黑色素瘤相關抗原(突變型) 1)、MUM-2、MUM-3、肌凝蛋白/m、MYL-RAR、NA88-A、N-乙醯胺基葡萄糖轉移酶、neo-PAP、NF-KB (核因子-κB)、神經絲、神經元特異性烯醇酶(neuron-specific enolase；NSE)、Notch受體、NuMa、N-Ras、NY-BR-1、NY- CO-1、NY-ESO-1、抑瘤素M、OS-9、OY-TES1、p53突變體、p190微小bcr-abl、pl5(58)、pl85erbB2、pl80erbB-3、PAGE (前列腺相關基因)、前列腺酸磷酸酶(prostatic acid phosphatase；PAP)、PAX3、PAX5、血小板衍生生長因子受體(platelet derived growth factor receptor；PDGFR)、參與哌啶及吡咯啶使用(PIPA)之細胞色素P450、Pml-RARα融合蛋白、PR-3 (蛋白酶3)、前列腺特異性抗原(prostate specific antigen；PSA)、PSM、前列腺幹細胞抗原(Prostate stem cell antigen；PSMA)、PRAME (優先表現之黑色素瘤之抗原)、PTPRK、RAGE (腎腫瘤抗原)、Raf (A-Raf、B-Raf及C-Raf)、Ras、受體酪胺酸激酶、RCAS1、RGSS、ROR1 (受體酪胺酸激酶樣孤兒受體1)、RU1、RU2、SAGE、SART-1、SART-3、SCP-1、SDCCAG16、SP-17 (精子蛋白17)、src家族、SSX (滑膜肉瘤X斷點)-1、SSX-2(HOM-MEL-40)、SSX-3、SSX-4、SSX-5、STAT-3、STAT-5、

STAT-6、STEAD、STn、存活素、syk-ZAP70、TA-90 (Mac-2結合蛋白\親環蛋白C-相關蛋白質)、TAAL6、TACSTD1 (腫瘤相關鈣訊號轉導子1)、TACSTD2、TAG-72-4、TAGE、TARP (T細胞受體γ替代讀框蛋白)、TEL/AML1融合蛋白、TEM1、TEM8 (內皮唾酸蛋白或CD248)、TGFβ、TIE2、TLP、TMPRSS2 ETS融合基因、TNF-受體(TNF-α受體、TNF-β受體；或TNF-γ受體)、運鐵蛋白受體、TPS、酪胺酸相關蛋白1 (tyrosine related protein 1；TRP-1)、TRP-2、TRP-2/INT2、TSP-180、VEGF受體、WNT、WT-1 (威爾姆氏腫瘤(Wilm's tumor)抗原)及XAGE。

【0167】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼具有能夠與標記之抗原結合之靶向部分的包含通用免疫受體的CAR。

【0168】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼包含能夠與病原體抗原結合之靶向部分的CAR。

【0169】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼包含能夠與非蛋白質分子(諸如腫瘤相關糖脂及碳水化合物)結合之靶向部分的CAR。

【0170】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼包含能夠與腫瘤微環境內之組分結合之靶向部分的CAR，該組分包括各種腫瘤基質細胞中表現之蛋白質，該等細胞包括腫瘤相關巨噬細胞(TAM)、不成熟單核球、不成熟樹突狀細胞、免疫抑制性CD4+CD25+調節T細胞(Treg)及MDSC。

【0171】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼包含能夠與以下結合之靶向部分的CAR：細胞表面黏附分子、自體免疫疾病中出現之發炎細胞之表面分子或引起自體免疫的TCR。作為非限制性實例，本發

明之靶向部分可為識別腫瘤特異性抗原(TSA)之scFv抗體，例如特異性識別且結合人類間皮素之抗體SS、SS1及HN1的scFv、GD2之抗體的scFv、CD19抗原結合域、NKG2D配體結合域、人類抗間皮素scFv、抗CS1結合劑、抗BCMA結合域、抗CD19 scFv抗體、GFRα4抗原結合片段、抗-CLL-1 (C型凝集素樣分子1)結合域、CD33結合域、GPC3 (磷脂肌醇蛋白聚醣-3)結合域、GFRα4 (糖基-磷脂酸肌醇(GPI)-連接的GDNF家族α-受體4細胞表面受體)結合域、CD123結合域、抗ROR1抗體或其片段、對GPC-3具有特異性之scFv、針對CSPG4之scFv及針對葉酸受體α之scFv。

胞內傳訊域

【0172】 在與其目標分子結合之後，CAR融合多肽之胞內域傳遞訊號至免疫效應細胞，從而活化免疫效應細胞之正常效應功能中之至少一者，包括溶胞活性(例如細胞介素分泌)或輔助活性。因此，胞內域包含T細胞受體(TCR)之「胞內傳訊域」。

【0173】 在一些態樣中，可採用完整胞內傳訊域。在其他態樣中，可使用胞內傳訊域之截短部分替代完整鏈，只要其轉導效應功能訊號即可。

【0174】 在一些實施例中，胞內傳訊域可含有被稱為基於免疫受體酪胺酸之活化基序(ITAM)之傳訊基序。含有ITAM之細胞質傳訊序列之實例包括衍生自TCR CD3ξ、FcRγ、FcRβ、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD5、CD22、CD79a、CD79b及CD66d之彼等者。在一個實例中，胞內傳訊域為CD3ζ (CD3 zeta)傳訊域。

【0175】 在一些實施例中，胞內區域進一步包含一或多個提供額外訊號至免疫效應細胞之共刺激傳訊域。此等共刺激傳訊域結合傳訊域，可

進一步改善經CAR工程改造之免疫細胞(例如CAR T細胞)之擴增、活化、記憶、持久性及腫瘤根除效率。在一些情況下，共刺激傳訊區域含有1、2、3或4個具有一或多個胞內傳訊及/或共刺激分子之細胞質域。共刺激傳訊域可為共刺激分子之胞內/細胞質域，包括但不限於CD2、CD7、CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40 (CD134)、CD30、CD40、ICOS (CD278)、GITR (糖皮質素誘導之腫瘤壞死因子受體)、LFA-1 (淋巴球功能相關抗原-1)、LIGHT、NKG2C、B7-H3。在一個實例中，共刺激傳訊域衍生自CD28之細胞質域。在另一實例中，共刺激傳訊域衍生自4-1BB (CD137)之細胞質域。在另一實例中，共刺激傳訊域可為如中美國專利第9,175,308號中教示之GITR之胞內域；其內容以全文引用之方式併入本文中。

【0176】 在一些實施例中，胞內區域可包含來自選自由以下組成之群之蛋白質的功能傳訊域：I類MHC分子、TNF受體蛋白、免疫球蛋白樣蛋白、細胞介素受體、整合素、傳訊淋巴球性活化蛋白(SLAM)，諸如CD48、CD229、2B4、CD84、NTB-A、CRACC、BLAME、CD2F-10、SLAMF6、SLAMF7、活化NK細胞受體、BTLA、Toll配體受體、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、4-1BB (CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS (CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、IL-15Ra、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、

CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、NKD2C SLP76、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、CD270 (HVEM)、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、與CD83特異性結合之配體、DAP 10、TRIM、ZAP70、殺手免疫球蛋白受體(Killer immunoglobulin receptor；KIR)，諸如KIR2DL1、KIR2DL2/L3、KIR2DL4、KIR2DL5A、KIR2DL5B、KIR2DS1、KIR2DS2、KIR2DS3、KIR2DS4、KIR2DS5、KIR3DL1/S1、KIR3DL2、KIR3DL3及KIR2DP1；凝集素相關NK細胞受體，諸如Ly49、Ly49A及Ly49C。

【0177】 在一些實施例中，本發明之胞內傳訊域可含有衍生自JAK-STAT之傳訊域。在其他實施例中，本發明之胞內傳訊域可含有衍生自DAP-12 (死亡相關蛋白12)之傳訊域(Topfer等人, Immunol., 2015, 194: 3201-3212；及Wang等人, Cancer Immunol., 2015, 3: 815-826)。DAP-12為NK細胞中之關鍵訊號轉導受體。由DAP-12介導之活化訊號在觸發針對某些腫瘤細胞及病毒感染細胞之NK細胞細胞毒性反應方面起重要作用。DAP12之細胞質域含有基於免疫受體酪胺酸之活化基序(ITAM)。因此，含有DAP12源性傳訊域之CAR可用於授受性轉移NK細胞。

跨膜域

【0178】 在一些實施例中，CAR可包含跨膜域。如本文所用，術語

「跨膜域(TM)」廣泛地係指跨越質膜之長度為約15個殘基的胺基酸序列。跨膜域可包括至少20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44或45個胺基酸殘基，且跨越質膜。在一些實施例中，跨膜域可以衍生自天然或合成來源。CAR之跨膜域可衍生自任何天然膜結合蛋白或跨膜蛋白。舉例而言，跨膜區可衍生自(亦即至少包含其之跨膜區)以下之α、β或ζ鏈：T細胞受體、CD3ε、CD4、CD5、CD8、CD8α、CD9、CD16、CD22、CD33、CD28、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152或CD154。

【0179】 或者，本發明之跨膜域可為合成的。在一些態樣中，合成序列可主要包含疏水性殘基，諸如白胺酸及纈胺酸。

【0180】 在一些實施例中，跨膜域可選自由以下組成之群：CD8α跨膜域、CD4跨膜域、CD28跨膜域、CTLA-4跨膜域、PD-1跨膜域及人類IgG4 Fc區。

【0181】 在一些實施例中，CAR可包含視情況選用之鉸鏈區(亦稱為間隔子)。鉸鏈序列為促進將目標結合域移動遠離效應細胞表面以使得能夠進行適當細胞/細胞接觸、目標結合及效應細胞活化之胞外靶向域之可撓性的短胺基酸序列。鉸鏈序列可位於靶向部分與跨膜域之間。鉸鏈序列可為衍生自或獲自任何適合分子的任何適合序列。鉸鏈序列可衍生自免疫球蛋白(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)鉸鏈區之全部或一部分，亦即序列落入免疫球蛋白之CH1與CH2域之間，例如IgG4 Fc鉸鏈，1型膜蛋白(諸如CD8α CD4、CD28及CD7)之胞外區域，其可為野生型序列或衍生序列。一些鉸鏈區包括免疫球蛋白CH3域或CH3域與CH2域兩者。在某些實

施例中，鉸鏈區可相對於IgG1、IgG2、IgG3或IgG4經修飾，其包括經不同於未經修飾鉸鏈中存在之胺基酸殘基的胺基酸殘基取代的一或多個胺基酸殘基，例如1、2、3、4或5個殘基。

【0182】 在一些實施例中，CAR在CAR之任一域之間可包含一或多個連接子。連接子之長度可為1-30個胺基酸。就此而言，連接子之長度可為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30個胺基酸。在其他實施例中，連接子可為可撓性的。

【0183】 在一些實施例中，可在單一融合多肽中構築包括靶向部分、跨膜域及胞內傳訊域之組分。融合多肽可為本發明之效應子模組之有效負載。

【0184】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼靶向不同B細胞惡性病的CD19特異性CAR以及靶向肉瘤、神經膠母細胞瘤及晚期Her2陽性惡性肺病的HER2特異性CAR。

串聯CAR (TanCAR)

【0185】 在一些實施例中，CAR可為能夠靶向兩種、三種、四種或更多種腫瘤特異性抗原之串聯嵌合抗原受體(TanCAR)。在一些態樣中，CAR為包括兩個識別腫瘤細胞上之兩種不同TSA之靶向域的雙特異性TanCAR。雙特異性TanCAR可進一步定義為包含含有對第一腫瘤抗原具有特異性之靶向域(例如抗原識別域)及對第二腫瘤抗原具有特異性之靶向域(例如抗原識別域)的胞外區。在其他態樣中，CAR為包括三個或更多個以串聯排列組態之三個或更多個靶向域的多特異性TanCAR。TanCAR中之靶向域之間的空間之長度可為約5至約30個胺基酸，例如6、7、8、9、

10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29及30個胺基酸。

拆分CAR

【0186】在一些實施例中，包括靶向部分、跨膜域及胞內傳訊域之CAR組分可拆分成兩個或更多個部分，以使得其依賴於促進完整功能性受體之組裝的多個輸入。作為非限制性實例，拆分CAR由以小分子依賴性方式組裝之兩個部分組成；受體之一個部分的特徵在於胞外抗原結合域(例如scFv)，且另一部分具有胞內傳訊域，諸如CD3ζ胞內域。

【0187】在其他態樣中，CAR系統之拆分部分可進一步經修飾以增加訊號。作為非限制性實例，細胞質片段之第二部分可藉由併入跨膜域(例如CD8α跨膜域)至構築體而錨定至質膜。亦可添加額外胞外域至CAR系統之第二部分，例如介導同源二聚之胞外域。此等修飾可增加受體輸出活性，亦即T細胞活化。

【0188】在一些實施例中，拆分CAR系統之兩個部分含有在結合異二聚小分子後條件性地相互作用之異二聚化域。因此，受體組分在小分子存在下組裝，形成接著可由抗原接合活化之完整系統。可將任何已知的異二聚組分併入拆分CAR系統中。亦可使用其他小分子依賴性異二聚化域，包括但不限於赤黴素誘導之二聚化系統(GID1-GAI)、曲美普林(trimethoprim)-SLF誘導之ecDHFR及FKBP二聚化以及ABA (脫落酸)誘導之PP2C及PYL域之二聚化。使用拆分CAR系統之誘導性組裝(例如配體依賴性二聚化)及降解(例如使域去穩定化誘導之CAR降解)之雙重調節可提供更多可撓性來控制CAR修飾之T細胞的活性。

可切換CAR

【0189】在一些實施例中，CAR可為呈可回應於刺激(例如小分子)而暫時接通為可控制CAR的可切換CAR。在此CAR設計中，將系統直接整合於將scFv域與CAR中之細胞膜域分隔開之鉸鏈結構域中。此類系統有可能拆分或組合CAR之不同關鍵功能，諸如受體複合物之不同鏈內之活化及共刺激，從而模擬TCR原生架構之複雜性。此整合系統可在由不存在/存在刺激控制之開/關狀態之間切換scFv及抗原相互作用。

可逆CAR

【0190】在一些實施例中，CAR可為可逆CAR系統。在此CAR架構中，將LID (配體誘導之降解)域併入CAR系統中。CAR可藉由添加LID域之配體暫時下調。

抑制性CAR (iCAR)

【0191】在一些實施例中，CAR可為抑制性CAR。抑制性CAR (iCAR)係指其中負訊號用於增強腫瘤特異性及限制正常組織毒性之雙特異性CAR設計。此設計併入具有表面抗原識別域以及抑制訊號域之第二CAR，以限制T細胞反應性，即使同時接合活化受體。此抗原識別域針對正常組織特異性抗原，以使得T細胞可在第一目標蛋白存在下活化，但若存在與iCAR結合之第二蛋白質，則抑制T細胞活化。

【0192】作為非限制性實例，基於CTLA4及PD1抑制性域之針對前列腺特異性膜抗原(PMSA)之iCAR展現選擇性地限制由T細胞活化誘導之細胞介素分泌、細胞毒性及增殖的能力。

嵌合開關受體

【0193】在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼可切換負訊號為正訊號之嵌合開關受體。如本文所用，術語「嵌合開關受體」係指

包含第一胞外域及第二跨膜及胞內域之融合蛋白，其中第一域包括負訊號區，且第二域包括正胞內傳訊區。在一些態樣中，融合蛋白為含有與共刺激受體之跨膜及細胞質域融合之T細胞上之抑制性受體之胞外域的嵌合開關受體。此嵌合開關受體可將T細胞抑制訊號轉化為T細胞刺激訊號。

【0194】 作為非限制性實例，嵌合開關受體可包含與CD28之跨膜及細胞質域融合之PD-1之胞外域。在一些態樣中，其他抑制受體之胞外域，諸如CTLA-4、LAG-3、TIM-3、KIR及BTLA，亦可與衍生自共刺激受體(諸如CD28、4-1BB、CD27、OX40、CD40、GTIR及ICOS)之跨膜及細胞質域融合。

【0195】 在一些實施例中，嵌合開關受體可包括包含以下之重組受體：與刺激性細胞介素受體(諸如IL-2R (IL-2Rα、IL-2Rβ及IL-2Rγ)及IL-7Rα)之胞內傳訊域融合之抑制性細胞介素受體(例如IL-13受體α (IL-13Rα1)、IL-10R及IL-4Rα)的胞外細胞介素結合域。此類嵌合細胞介素受體之一個實例為含有與IL-7Rα之胞內傳訊域連接之IL-4Rα之細胞介素結合胞外域的重組受體。

【0196】 在一些實施例中，嵌合開關受體可為嵌合TGFβ受體。嵌合TGFβ受體可包含：衍生自TGFβ受體之胞外域，諸如TGFβ受體1、TGFβ受體2、TGFβ受體3或任何其他TGFβ受體或其變體；及非TGFβ受體胞內域。非TGFβ受體胞內域可為衍生自以下之胞內域或其片段：TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、CD28、4-1BB (CD137)、OX40 (CD134)、CD3zeta、CD40、CD27或其組合。

活化條件性CAR

【0197】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼活化條件性嵌合抗原受體，其僅在活化的免疫細胞中表現。CAR之表現可與指代一或多個在其控制下誘導序列(例如CAR)之轉錄及/或表現之核酸序列的活化條件性控制區域偶聯。此類活化條件性控制區域可為基因之啟動子，其在免疫效應細胞活化期間上調，例如IL2啟動子或NFAT結合位點。

靶向具有特定蛋白聚醣標記之腫瘤細胞之CAR

【0198】 在一些實施例中，貨物或有效負載可為或可編碼靶向特定類型之癌細胞之CAR。人類癌症細胞及癌轉移可表現獨特且另外異常的蛋白聚醣，諸如多醣鏈(例如硫酸軟骨素(chondroitin sulfate；CS)、硫酸皮膚素(dermatan sulfate；DS或CSB)、硫酸乙醯肝素(heparan sulfate；HS)及肝素)。因此，CAR可與識別癌症相關蛋白聚醣之結合部分融合。在一個實例中，CAR可與以高親和力與特定類型之連接於蛋白聚醣之硫酸軟骨素A (CSA)結合的VAR2CSA多肽融合(VAR2-CAR)。CAR之胞外ScFv部分可經至少包含最小CSA結合域之VAR2CSA變體取代，從而產生對硫酸軟骨素A (CSA)修飾具有特異性之CAR。或者，CAR可與拆分蛋白質結合系統融合，以產生spy-CAR，其中CAR之scFv部分經拆分蛋白質結合系統之一個部分(諸如SpyTag及Spy捕獲器)取代，且癌症識別分子(例如scFv及/或VAR2-CSA)經由拆分蛋白質結合系統與CAR連接。

核酸

【0199】 本發明之初始構築體及基準構築體可包含有效負載區域(其亦可稱為貨物區域)，其為核酸。術語「核酸」就其最廣義而言包括包含可被稱為聚核苷酸之核苷酸聚合物的任何化合物及/或物質。例示性核酸或聚核苷酸包括但不限於核糖核酸(RNA)、去氧核糖核酸(DNA)、蘇糖核

酸(TNA)、二醇核酸(GNA)、肽核酸(PNA)、鎖核酸(LNA)或其混合物。

【0200】 在一些實施例中，有效負載區域包含編碼超過一種貨物或有效負載之核酸序列。

【0201】 在一些實施例中，有效負載區域可為或編碼編碼核酸序列。

【0202】 在一些實施例中，有效負載區域可為或編碼非編碼核酸序列。

【0203】 在一些實施例中，有效負載區域可為或編碼編碼及非編碼核酸序列兩者。

DNA

【0204】 去氧核糖核酸(DNA)為攜帶所有活物之遺傳資訊且由圍繞彼此纏繞以形成稱為雙螺旋之形狀之兩股組成的分子。各股具有由交替的糖(去氧核糖)及磷酸酯基團構成之主鏈。各糖與以下四種鹼基中之一者連接：腺嘌呤(A)、胞嘧啶(C)、鳥嘌呤(G)及胸腺嘧啶(T)。兩股藉由腺嘌呤與胸腺嘧啶之間或胞嘧啶與鳥嘌呤之間的鍵結合在一起。沿著主鏈之鹼基之序列充當用於組裝蛋白質及RNA分子之指令。

【0205】 在一些實施例中，有效負載區域可為或編碼編碼DNA。

【0206】 在一些實施例中，有效負載區域可為或編碼非編碼DNA。

【0207】 在一些實施例中，有效負載區域可為或編碼編碼及非編碼DNA兩者。

【0208】 在一些實施例中，DNA可經修飾。修飾之類型包括但不限於甲基化、乙醯化、磷酸化、泛蛋白化及蘇素化。

載體

【0209】 在一些實施例中，本文所描述之初始構築體及/或基準構築體可為載體(諸如質體或病毒載體)或由其編碼。在一些實施例中，初始構築體及/或基準構築體為病毒載體或由其編碼。病毒載體可為但不限於疱疹病毒(HSV)載體、反轉錄病毒載體、腺病毒載體、腺相關病毒(AAV)載體、慢病毒載體及其類似者。在一些實施例中，病毒載體為AAV載體。在一些實施例中，病毒載體為慢病毒載體。在一些實施例中，病毒載體為反轉錄病毒載體。在一些實施例中，病毒載體為腺病毒載體。

腺相關病毒(AAV)載體

【0210】 細小病毒科(Parvoviridae family)之病毒為特徵在於單股DNA基因體的無包膜二十面體小殼體病毒。細小病毒科病毒由兩種亞科組成：感染脊椎動物之細小病毒亞科(Parvovirinae)，及感染無脊椎動物之濃核病毒亞科(Densovirinae)。歸因於其結構相對簡單、使用標準分子生物學技術操縱容易，因此此病毒科適用作生物學工具。病毒之基因體可經修飾以含有用於組裝功能性重組病毒或病毒粒子的最少組分，該等組分負載有所需有效負載或經工程改造以表現或遞送所需有效負載，該有效負載可被遞送至目標細胞、組織、器官或生物體。

【0211】 細小病毒科包含依賴病毒屬(Dependovirus genus)，該依賴病毒屬包括能夠在脊椎動物宿主中複製之腺相關病毒(AAV)，該等脊椎動物宿主包括但不限於人類、靈長類動物、牛、犬、馬及綿羊物種。

【0212】 AAV載體基因體為長度為約5,000個核苷酸(nt)之線性、單股DNA (ssDNA)分子。AAV載體基因體可包含有效負載區域及至少一個反向末端重複(ITR)或ITR區域。ITR傳統上側接非結構蛋白(由Rep基因編碼)及結構蛋白(由殼體基因或Cap基因編碼)之編碼核苷酸序列。雖然不

希望受理論束縛，但AAV載體基因體通常包含兩個ITR序列。AAV載體基因體包含特徵性T形髮夾結構，該T形髮夾結構由ssDNA之5'端及3'端的自互補末端145個核苷酸限定，其形成能量上穩定的雙股區。雙股髮夾結構包含多種功能，包括但不限於藉由充當宿主病毒複製細胞之內源性DNA聚合酶複合物之引子來充當DNA複製之起點。

【0213】 除所編碼之異源有效負載以外，AAV載體基因體可包含任何天然存在及/或重組AAV血清型核苷酸序列或變體之全部或部分。AAV變體在核酸(基因體或殼體)及胺基酸水準(殼體)下可具有顯著的同源序列，以產生在實體及功能上大體等效的構築體，該等構築體藉由類似機制複製且藉由類似機制組裝。Chiorini等人, J. Vir. 71: 6823-33(1997)；Srivastava等人, J. Vir. 45:555-64 (1983)；Chiorini等人, J. Vir. 73:1309-1319 (1999)；Rutledge等人, J. Vir. 72:309-319 (1998)；及Wu等人, J. Vir. 74: 8635-47 (2000)，其各自之內容以全文引用之方式併入本文中。

【0214】 在一些實施例中，AAV載體基因體包含至少一個提供其中編碼之編碼序列之複製、轉錄及轉譯的控制元件。並非所有控制元件都需要始終存在，只要編碼序列能夠在適合的宿主細胞中進行複製、轉錄及/或轉譯即可。表現控制元件之非限制性實例包括用於轉錄起始及/或終止之序列、啟動子及/或強化子序列、有效RNA加工訊號(諸如剪接及聚腺苷酸化訊號)、使細胞質mRNA穩定之序列、增強轉譯功效之序列(例如Kozak共通序列)、增強蛋白質穩定性之序列及/或增強蛋白質加工及/或分泌的序列。

【0215】 本發明之AAV載體基因體可以重組方式產生，且可基於腺相關病毒(AAV)親本或參考序列。如本文所用，「載體基因體」為傳輸、

轉導或以其他方式充當諸如本文所描述之核酸的異源分子之載體的任何分子或部分。

【0216】 除單股AAV載體基因體(例如ssAAV)以外，本發明亦提供自身互補AAV (scAAV)載體基因體。scAAV載體基因體含有黏著(anneal)在一起以形成雙股DNA的DNA股。藉由跳過第二股合成，scAAV在細胞中實現快速表現。

【0217】 在一些實施例中，AAV載體基因體為scAAV。

【0218】 在一些實施例中，AAV載體基因體為ssAAV。

【0219】 在一些實施例中，AAV載體基因體可為AAV粒子之部分，其中殼體之血清型可為但不限於AAV1、AAV2、AAV2G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84、AAV9.9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV16.3、AAV24.1、AAV27.3、AAV42.12、AAV42-1b、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42-6b、AAV42-8、AAV42-10、AAV42-11、AAV42-12、AAV42-13、AAV42-15、AAV42-aa、AAV43-1、AAV43-12、AAV43-20、AAV43-21、AAV43-23、AAV43-25、AAV43-5、AAV44.1、AAV44.2、AAV44.5、AAV223.1、AAV223.2、AAV223.4、AAV223.5、AAV223.6、AAV223.7、AAV1-7/rh.48、AAV1-8/rh.49、AAV2-15/rh.62、AAV2-3/rh.61、AAV2-4/rh.50、AAV2-5/rh.51、AAV3.1/hu.6、AAV3.1/hu.9、AAV3-9/rh.52、AAV3-

11/rh.53、AAV4-8/r11.64、AAV4-9/rh.54、AAV4-19/rh.55、AAV5-3/rh.57、AAV5-22/rh.58、AAV7.3/hu.7、AAV16.8/hu.10、AAV16.12/hu.11、AAV29.3/bb.1、AAV29.5/bb.2、AAV106.1/hu.37、AAV114.3/hu.40、AAV127.2/hu.41、AAV127.5/hu.42、AAV128.3/hu.44、AAV130.4/hu.48、AAV145.1/hu.53、AAV145.5/hu.54、AAV145.6/hu.55、AAV161.10/hu.60、AAV161.6/hu.61、AAV33.12/hu.17、AAV33.4/hu.15、AAV33.8/hu.16、AAV52/hu.19、AAV52.1/hu.20、AAV58.2/hu.25、AAVA3.3、AAVA3.4、AAVA3.5、AAVA3.7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAVF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh.72、AAVhu.8、AAVrh.68、AAVrh.70、AAVpi.1、AAVpi.3、AAVpi.2、AAVrh.60、AAVrh.44、AAVrh.65、AAVrh.55、AAVrh.47、AAVrh.69、AAVrh.45、AAVrh.59、AAVhu.12、AAVH6、AAVLK03、AAVH-1/hu.1、AAVH-5/hu.3、AAVLG-10/rh.40、AAVLG-4/rh.38、AAVLG-9/hu.39、AAVN721-8/rh.43、AAVCh.5、AAVCh.5R1、AAVcy.2、AAVcy.3、AAVcy.4、AAVcy.5、AAVCy.5R1、AAVCy.5R2、AAVCy.5R3、AAVCy.5R4、AAVcy.6、AAVhu.1、AAVhu.2、AAVhu.3、AAVhu.4、AAVhu.5、AAVhu.6、AAVhu.7、AAVhu.9、AAVhu.10、AAVhu.11、AAVhu.13、AAVhu.15、AAVhu.16、AAVhu.17、AAVhu.18、AAVhu.20、AAVhu.21、AAVhu.22、AAVhu.23.2、AAVhu.24、AAVhu.25、AAVhu.27、AAVhu.28、AAVhu.29、AAVhu.29R、AAVhu.31、AAVhu.32、AAVhu.34、AAVhu.35、AAVhu.37、AAVhu.39、

AAVhu.40、AAVhu.41、AAVhu.42、AAVhu.43、AAVhu.44、AAVhu.44R1、AAVhu.44R2、AAVhu.44R3、AAVhu.45、AAVhu.46、AAVhu.47、AAVhu.48、AAVhu.48R1、AAVhu.48R2、AAVhu.48R3、AAVhu.49、AAVhu.51、AAVhu.52、AAVhu.54、AAVhu.55、AAVhu.56、AAVhu.57、AAVhu.58、AAVhu.60、AAVhu.61、AAVhu.63、AAVhu.64、AAVhu.66、AAVhu.67、AAVhu.14/9、AAVhu.t 19、AAVrh.2、AAVrh.2R、AAVrh.8、AAVrh.8R、AAVrh.10、AAVrh.12、AAVrh.13、AAVrh.13R、AAVrh.14、AAVrh.17、AAVrh.18、AAVrh.19、AAVrh.20、AAVrh.21、AAVrh.22、AAVrh.23、AAVrh.24、AAVrh.25、AAVrh.31、AAVrh.32、AAVrh.33、AAVrh.34、AAVrh.35、AAVrh.36、AAVrh.37、AAVrh.37R2、AAVrh.38、AAVrh.39、AAVrh.40、AAVrh.46、AAVrh.48、AAVrh.48.1、AAVrh.48.1.2、AAVrh.48.2、AAVrh.49、AAVrh.51、AAVrh.52、AAVrh.53、AAVrh.54、AAVrh.56、AAVrh.57、AAVrh.58、AAVrh.61、AAVrh.64、AAVrh.64R1、AAVrh.64R2、AAVrh.67、AAVrh.73、AAVrh.74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突變體、AAVrh8R R533A突變體、AAAV、BAAV、山羊AAV、牛AAV、AAVhE1.1、AAVhEr1.5、AAVhER1.14、AAVhEr1.8、AAVhEr1.16、AAVhEr1.18、AAVhEr1.35、AAVhEr1.7、AAVhEr1.36、AAVhEr2.29、AAVhEr2.4、AAVhEr2.16、AAVhEr2.30、AAVhEr2.31、AAVhEr2.36、AAVhER1.23、AAVhEr3.1、AAV2.5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、

AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC12、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAV混編(Shuffle) 100-1、AAV混編100-3、AAV混編100-7、AAV混編10-2、AAV混編10-6、AAV混編10-8、AAV混編100-2、AAV SM 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 100-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh.50、AAVrh.43、AAVrh.62、AAVrh.48、AAVhu.19、AAVhu.11、AAVhu.53、AAV4-8/rh.64、AAVLG-9/hu.39、AAV54.5/hu.23、AAV54.2/hu.22、AAV54.7/hu.24、AAV54.1/hu.21、AAV54.4R/hu.27、AAV46.2/hu.28、AAV46.6/hu.29、AAV128.1/hu.43、真型AAV (ttAAV)、UPENN AAV 10、日本AAV 10血清型、AAV CBr-7.1、AAV CBr-7.10、AAV CBr-7.2、AAV CBr-7.3、AAV CBr-7.4、AAV CBr-7.5、AAV CBr-7.7、AAV CBr-7.8、AAV CBr-B7.3、AAV CBr-B7.4、AAV CBr-E1、AAV CBr-E2、AAV CBr-E3、AAV CBr-E4、AAV CBr-E5、AAV CBr-e5、AAV CBr-E6、AAV CBr-E7、AAV CBr-E8、AAV CHt-1、AAV CHt-2、AAV CHt-3、AAV CHt-6.1、AAV CHt-6.10、AAV CHt-6.5、AAV CHt-6.6、AAV CHt-6.7、AAV CHt-6.8、AAV CHt-P1、AAV CHt-P2、AAV CHt-P5、AAV CHt-P6、AAV CHt-P8、AAV CHt-P9、AAV CKd-1、AAV CKd-10、AAV CKd-2、AAV CKd-3、AAV CKd-4、AAV CKd-6、AAV

CKd-7、AAV CKd-8、AAV CKd-B1、AAV CKd-B2、AAV CKd-B3、AAV CKd-B4、AAV CKd-B5、AAV CKd-B6、AAV CKd-B7、AAV CKd-B8、AAV CKd-H1、AAV CKd-H2、AAV CKd-H3、AAV CKd-H4、AAV CKd-H5、AAV CKd-H6、AAV CKd-N3、AAV CKd-N4、AAV CKd-N9、AAV CLg-F1、AAV CLg-F2、AAV CLg-F3、AAV CLg-F4、AAV CLg-F5、AAV CLg-F6、AAV CLg-F7、AAV CLg-F8、AAV CLv-1、AAV CLv1-1、AAV Clv1-10、AAV CLv1-2、AAV CLv-12、AAV CLv1-3、AAV CLv-13、AAV CLv1-4、AAV Clv1-7、AAV Clv1-8、AAV Clv1-9、AAV CLv-2、AAV CLv-3、AAV CLv-4、AAV CLv-6、AAV CLv-8、AAV CLv-D1、AAV CLv-D2、AAV CLv-D3、AAV CLv-D4、AAV CLv-D5、AAV CLv-D6、AAV CLv-D7、AAV CLv-D8、AAV CLv-E1、AAV CLv-K1、AAV CLv-K3、AAV CLv-K6、AAV CLv-L4、AAV CLv-L5、AAV CLv-L6、AAV CLv-M1、AAV CLv-M11、AAV CLv-M2、AAV CLv-M5、AAV CLv-M6、AAV CLv-M7、AAV CLv-M8、AAV CLv-M9、AAV CLv-R1、AAV CLv-R2、AAV CLv-R3、AAV CLv-R4、AAV CLv-R5、AAV CLv-R6、AAV CLv-R7、AAV CLv-R8、AAV CLv-R9、AAV CSp-1、AAV CSp-10、AAV CSp-11、AAV CSp-2、AAV CSp-3、AAV CSp-4、AAV CSp-6、AAV CSp-7、AAV CSp-8、AAV CSp-8.10、AAV CSp-8.2、AAV CSp-8.4、AAV CSp-8.5、AAV CSp-8.6、AAV CSp-8.7、AAV CSp-8.8、AAV CSp-8.9、AAV CSp-9、AAV.hu.48R3、AAV.VR-355、AAV3B、AAV4、AAV5、AAVF1/HSC1、AAVF11/HSC11、AAVF12/HSC12、AAVF13/HSC13、AAVF14/HSC14、AAVF15/HSC15、

AAVF16/HSC16、AAVF17/HSC17、AAVF2/HSC2、AAVF3/HSC3、AAVF4/HSC4、AAVF5/HSC5、AAVF6/HSC6、AAVF7/HSC7、AAVF8/HSC8、AAVF9/HSC9、PHP.B、PHP.A、G2B-26、G2B-13、TH1.1-32及/或TH1.1-35及其變體。

反向末端重複(ITR)

【0220】 在一些實施例中，AAV載體基因體可包含至少一個ITR區域及有效負載區域。在一些實施例中，載體基因體具有兩個ITR。此兩個ITR在5'端及3'端處側接有效負載區域。ITR充當複製起點，包含用於複製之識別位點。ITR包含可以互補且對稱地佈置的序列區域。併入本發明之載體基因體中的ITR可由天然存在之聚核苷酸序列或以重組方式衍生之聚核苷酸序列構成。

【0221】 ITR可衍生自與殼體相同的血清型或其衍生物。ITR可具有與殼體不同之血清型。在一些實施例中，AAV粒子具有超過一個ITR。在一非限制性實例中，AAV粒子具有包含兩個ITR的載體基因體。在一些實施例中，ITR具有彼此相同之血清型。在另一實施例中，ITR具有不同血清型。非限制性實例包括零個、一個或兩個具有與殼體相同之血清型的ITR中。在一些實施例中，AAV粒子之載體基因體之兩個ITR均為AAV2 ITR。

【0222】 獨立地，各ITR之長度可為約100至約150個核苷酸。ITR之長度可為約100-105個核苷酸、長度為106-110個核苷酸、長度為111-115個核苷酸、長度為116-120個核苷酸、長度為121-125個核苷酸、長度為126-130個核苷酸、長度為131-135個核苷酸、長度為136-140個核苷酸、長度為141-145個核苷酸或長度為146-150個核苷酸。在一些實施例

中，ITR之長度為140-142個核苷酸。ITR長度之非限制實例為長度為102、140、141、142、145個核苷酸，及與其具有至少95%一致性之彼等者。

啟動子

【0223】在一些實施例中，載體基因體之有效負載區域包含至少一個增強轉殖基因目標特異性及表現之元件(參見例如Powell等人Viral Expression Cassette Elements to Enhance Transgene Target Specificity and Expression in Gene Therapy, 2015；其內容以全文引用之方式併入本文中)。增強轉殖基因目標特異性及表現之元件的非限制性實例包括啟動子、內源性miRNA、轉錄後調節元件(PRE)、聚腺苷酸化(PolyA)訊號序列及上游強化子(USE)、CMV強化子及內含子。

【0224】在一些實施例中，當啟動子驅動在AAV粒子之載體基因體之有效負載區域中編碼之多肽之表現時，認為其係有效的。

【0225】在一些實施例中，當啟動子驅動所靶向之細胞中之表現時，認為其係有效的。

【0226】在一些實施例中，啟動子驅動有效負載在所靶向組織中表現一段時間。由啟動子驅動之表現可持續1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、11小時、12小時、13小時、14小時、15小時、16小時、17小時、18小時、19小時、20小時、21小時、22小時、23小時、1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、8天、9天、10天、11天、12天、13天、2週、15天、16天、17天、18天、19天、20天、3週、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、29天、30天、31天、1個月、2個月、3個月、4個月、5個月、6個

月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月、1年、13個月、14個月、15個月、16個月、17個月、18個月、19個月、20個月、21個月、22個月、23個月、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年或超過10年之時段。表現可持續1至5小時、1至12小時、1至2天、1至5天、1至2週、1至3週、1至4週、1至2個月、1至4個月、1至6個月、2至6個月、3至6個月、3至9個月、4至8個月、6至12個月、1至2年、1至5年、2至5年、3至6年、3至8年、4至8年或5至10年。

【0227】 在一些實施例中，啟動子驅動有效負載之表現持續至少1個月、2個月、3個月、4個月、5個月、6個月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月、1年、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年、11年、12年、13年、14年、15年、16年、17年、18年、19年、20年、21年、22年、23年、24年、25年、26年、27年、28年、29年、30年、31年、32年、33年、34年、35年、36年、37年、38年、39年、40年、41年、42年、43年、44年、45年、46年、47年、48年、49年、50年、55年、60年、65年或超過65年。

【0228】 啟動子可為天然存在或非天然存在的。啟動子之非限制性實例包括病毒啟動子、植物啟動子及哺乳動物啟動子。在一些實施例中，啟動子可為人類啟動子。在一些實施例中，啟動子可為截短的。

【0229】 驅動或促進大部分組織中之表現的啟動子包括但不限於人類延長因子1α-次單元(EF1α)、巨細胞病毒(CMV)即刻早期強化子及/或啟動子、雞β-肌動蛋白(CBA)及其衍生物CAG、β葡萄糖醛酸苷酶(GUSB)或泛蛋白C (UBC)。組織特異性表現元件可用於限制某些細胞類型的表現，諸如但不限於肌肉特異性啟動子、B細胞啟動子、單核球啟動子、白細胞

啟動子、巨噬細胞啟動子、胰臟腺泡細胞啟動子、內皮細胞啟動子、肺組織啟動子、星形膠質細胞啟動子，或可用於限制神經元、星形膠質細胞或寡樹突神經膠質細胞表現的神經系統啟動子。

【0230】 肌肉特異性啟動子之非限制性實例包括哺乳動物肌肉肌酸激酶(MCK)啟動子、哺乳動物肌間線蛋白(DES)啟動子、哺乳動物肌鈣蛋白I (TNNI2)啟動子及哺乳動物骨骼α-肌動蛋白(ASKA)啟動子(參見例如美國專利公開案US20110212529，其內容以全文引用之方式併入本文中)。

【0231】 神經元之組織特異性表現元件之非限制性實例包括神經元特異性烯醇酶(NSE)、血小板衍生生長因子(PDGF)、血小板衍生生長因子B鏈(PDGF-β)、突觸蛋白(Syn)、甲基-CpG結合蛋白2 (MeCP2)、Ca^{2+}/鈣調蛋白依賴性蛋白激酶II (CaMKII)、代謝型麩胺酸受體2 (mGluR2)、神經絲輕鏈(NFL)或重鏈(NFH)、β-血球蛋白小型基因nβ2、前腦啡肽原(PPE)、腦啡肽(Enk)及興奮性胺基酸運輸蛋白2 (EAAT2)啟動子。星形膠質細胞之組織特異性表現元件之非限制性實例包括膠質原纖維酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein；GFAP)及EAAT2啟動子。用於寡樹突神經膠質細胞之組織特異性表現元件的非限制性實例包括髓磷脂鹼性蛋白(MBP)啟動子。

【0232】 在一些實施例中，啟動子可小於1 kb。啟動子之長度可為200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、

680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800或超過800個核苷酸。啟動子之長度可在200-300、200-400、200-500、200-600、200-700、200-800、300-400、300-500、300-600、300-700、300-800、400-500、400-600、400-700、400-800、500-600、500-700、500-800、600-700、600-800或700-800之間。

【0233】在一些實施例中，啟動子可為相同或不同起始或親本啟動子(諸如但不限於CMV及CBA)之兩個或更多個組件之組合。各組分之長度可為200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、381、382、383、384、385、386、387、388、389、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800或超過800。各組件之長度可在200-300、200-400、200-500、200-600、200-700、200-800、300-400、300-500、300-600、300-700、300-800、400-500、400-600、400-700、400-800、500-600、500-700、500-800、600-700、600-800或700-800之間。在一些實施例中，啟動子為382核苷酸CMV-強化子序列及260核苷酸CBA-啟動子序列之組合。

【0234】在一些實施例中，載體基因體包含普遍存在的啟動子。普遍存在的啟動子之非限制性實例包括CMV、CBA (包括衍生物CAG、CBh等)、EF-1α、PGK、UBC、GUSB (hGBp)及UCOE (HNRPA2B1-CBX3之啟動子)。

【0235】在一些實施例中，啟動子不為細胞特異性的。

【0236】 在一些實施例中，載體基因體包含經工程改造之啟動子。

【0237】 在一些實施例中，載體基因體包含來自天然表現之蛋白質之啟動子。

非轉譯區(UTR)

【0238】 根據定義，轉錄基因之野生型非轉譯區(UTR)，但不轉譯。通常，5' UTR起始於轉錄起始位點且結束於起始密碼子，且3' UTR緊隨終止密碼子之後起始且持續直至轉錄終止訊號為止。

【0239】 通常發現於特定目標器官之充分表現之基因中的特徵可經工程改造至UTR中以增強穩定性及蛋白質產生。作為非限制性實例，來自通常表現於肝臟中之mRNA（例如白蛋白、血清澱粉狀蛋白A、脂蛋白元A/B/E、運鐵蛋白、α胎蛋白、紅血球生成素或因子VIII)的5' UTR可用於本發明之AAV粒子之載體基因體中，以增強肝細胞株或肝臟中之表現。

【0240】 雖然不希望受理論束縛，但野生型5'非轉譯區(UTR)包括在轉譯起始中起作用的特徵。通常已知Kozak序列參與核糖體用於起始多個基因之轉譯之過程的Kozak序列通常包括於5' UTR中。Kozak序列具有共同CCR(A/G)CCAUGG，其中R為起始密碼子(ATG)上游三個鹼基處之嘌呤(腺嘌呤或鳥嘌呤)，繼之為另一個『G』。

【0241】 在一些實施例中，載體基因體中之5'UTR包括Kozak序列。

【0242】 在一些實施例中，載體基因體中之5'UTR不包括Kozak序列。

【0243】 雖然不希望受理論束縛，但已知野生型3'UTR中嵌有腺苷及尿苷之延伸部分。此等富AU標誌在具有高周轉率之基因中尤其普遍。

基於其序列特點及功能特性，富AU元件(ARE)可分成三類(Chen等人，1995，其內容以全文引用之方式併入本文中)：I類ARE，諸如但不限於c-Myc及MyoD，在富U區內含有AUUUA基序之數個分散複本。II類ARE，諸如但不限於GM-CSF及TNF-a，具有兩個或更多個重疊的UUAUUUA(U/A)(U/A)九聚體。III類ARE，諸如但不限於c-Jun及成肌素，定義不太明確。此等富U區不含AUUUA基序。已知結合於ARE之大部分蛋白質使信使不穩定，而已記錄到ELAV家族成員(最顯著地，HuR)增加mRNA之穩定性。HuR與所有三種類別之ARE結合。將HuR特異性結合位點工程改造至核酸分子之3' UTR中將引起HuR結合，且因此引起活體內訊息穩定。

【0244】 3' UTR富AU元件(ARE)之引入、移除或修飾可用於調節聚核苷酸之穩定性。在對特定聚核苷酸(例如載體基因體之有效負載區域)進行工程改造時，可引入一或多個ARE複本以降低聚核苷酸穩定性，且藉此減少所得蛋白質之轉譯且減少其產量。同樣，可鑑別出ARE且將其移除或使其突變以增加胞內穩定性，且因此增加所得蛋白質之轉譯及產量。

【0245】 在一些實施例中，載體基因體之3' UTR可包括用於模板化添加聚A尾之寡聚(dT)序列。

【0246】 在一些實施例中，載體基因體可包括至少一個miRNA種子、結合位點或全序列。微小RNA (或miRNA或miR)為19-25個核苷酸非編碼RNA，其與核酸目標之位點結合且藉由降低核酸分子穩定性或藉由抑制轉譯來下調基因表現。微小RNA序列包含「種子」區域，亦即成熟微小RNA之位置2-8之區域中之序列，該序列與核酸之miRNA目標序列具有完美的沃森-克里克互補性(Watson-Crick complementarity)。

【0247】 在一些實施例中，載體基因體可經工程改造以包括、改變或移除至少一個miRNA結合位點、序列或種子區域。

【0248】 可將來自此項技術中已知之任何基因的任何UTR併入AAV粒子之載體基因體中。此等UTR或其部分可以與基因中相同的取向置放，其中該等UTR係選自該基因，或其取向或位置可變化。在一些實施例中，用於AAV粒子之載體基因體中之UTR可經倒置、縮短、拉長或製成具有此項技術中已知的一或多個其他5' UTR或3' UTR。如本文所用，在與UTR相關時，術語「改變(altered)」意謂UTR相對於參考序列已以某種方式變化。舉例而言，3'或5' UTR可如上文所教示藉由取向或位置的變化而相對於野生型或原生UTR發生改變，或可藉由包括額外核苷酸、核苷酸缺失、核苷酸調換或轉位而發生改變。

【0249】 在一些實施例中，AAV粒子之載體基因體包含至少一個不為野生型UTR之變體的人工UTR。

【0250】 在一些實施例中，AAV粒子之載體基因體包含UTR，該等UTR係選自其中蛋白質共用常見功能、結構、特徵或特性之轉錄本之家族。

聚腺苷酸化序列

【0251】 在一些實施例中，載體基因體在有效負載編碼序列之3'端與3'ITR之5'端之間包含至少一個聚腺苷酸化序列。

【0252】 在一些實施例中，聚腺苷酸化(聚A)序列之長度可在不存在至約500個核苷酸範圍內。聚腺苷酸化序列之長度可為但不限於1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、

35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、
50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、
65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、
80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、
95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、
108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、
120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、
132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、
144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、
156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、
168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、
180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、
192、193、194、195、196、197、198、199、200、201、202、203、
204、205、206、207、208、209、210、211、212、213、214、215、
216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、
228、229、230、231、232、233、234、235、236、237、238、239、
240、241、242、243、244、245、246、247、248、249、250、251、
252、253、254、255、256、257、258、259、260、261、262、263、
264、265、266、267、268、269、270、271、272、273、274、275、
276、277、278、279、280、281、282、283、284、285、286、287、
288、289、290、291、292、293、294、295、296、297、298、299、
300、301、302、303、304、305、306、307、308、309、310、311、
312、313、314、315、316、317、318、319、320、321、322、323、

324、325、326、327、328、329、330、331、332、333、334、335、336、337、338、339、340、341、342、343、344、345、346、347、348、349、350、351、352、353、354、355、356、357、358、359、360、361、362、363、364、365、366、367、368、369、370、371、372、373、374、375、376、377、378、379、380、381、382、383、384、385、386、387、388、389、390、391、392、393、394、395、396、397、398、399、400、401、402、403、404、405、406、407、408、409、410、411、412、413、414、415、416、417、418、419、420、421、422、423、424、425、426、427、428、429、430、431、432、433、434、435、436、437、438、439、440、441、442、443、444、445、446、447、448、449、450、451、452、453、454、455、456、457、458、459、460、461、462、463、464、465、466、467、468、469、470、471、472、473、474、475、476、477、478、479、480、481、482、483、484、485、486、487、488、489、490、491、492、493、494、495、496、497、498、499及500個核苷酸。

【0253】 在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為50-100個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為50-150個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為50-160個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為50-200個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為60-100個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為60-150個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為60-160個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為60-200個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為70-100個核苷酸。在一些實施例

中，聚腺苷酸化序列之長度為70-150個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為70-160個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為70-200個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為80-100個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為80-150個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為80-160個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為80-200個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為90-100個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為90-150個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為90-160個核苷酸。在一些實施例中，聚腺苷酸化序列之長度為90-200個核苷酸。

連接子

【0254】 載體基因體可經工程改造具有一或多個間隔子或連接子區域以分隔開編碼區或非編碼區。

【0255】 在一些實施例中，載體基因體之有效負載區域可視情況編碼一或多個連接子序列。在一些情況下，連接子可為可用於連接由有效負載區域(亦即，在表現期間，抗體輕鏈及重鏈)編碼之多肽之肽連接子。一些肽連接子可在表現之後裂解成單獨的重鏈及輕鏈域，從而實現成熟抗體或抗體片段之組裝。連接子裂解可為酶促的。在一些情況下，連接子包含酶裂解位點，以促進胞內或胞外裂解。一些有效負載區域編碼在自mRNA轉錄本轉譯連接子序列期間中斷多肽合成之連接子。此類連接子可促進單獨的蛋白域自單一轉錄本之轉譯。在一些情況下，兩個或更多個連接子係由載體基因體之有效負載區域編碼。

【0256】 內部核糖體進入位點(IRES)為允許在mRNA序列之中間起

始轉譯的核苷酸序列(>500個核苷酸) (Kim, J.H.等人, 2011. PLoS One 6(4): e18556；其內容以全文引用之方式併入本文中)。使用IRES序列確保IRES前後的基因之共表現，儘管IRES之後的序列可以比IRES序列之前的序列更低的水準轉錄及轉譯。

【0257】 2A肽為小型「自裂解」肽(18-22個胺基酸)，其衍生自諸如口蹄疫病毒(F2A)、豬捷申病毒(porcine teschovirus)-1 (P2A)、明脈扁刺蛾(*Thoseaasigna*)病毒(T2A)或馬A型鼻炎病毒(E2A)之病毒。2A標示尤其係指在2A肽之C端中之甘胺醯基-脯胺醯基鍵處引起核糖體跳越之微小RNA病毒聚合蛋白質區域(Kim, J.H.等人, 2011. PLoS One 6(4): e18556；其內容以全文引用之方式併入本文中)。此跳躍引起2A肽與其緊鄰的下游肽之間的裂解。與IRES連接子相反，2A肽產生側接2A肽之蛋白質的化學計量表現，且其較短長度可在產生病毒性表現載體中有利。

【0258】 一些有效負載區域編碼包含弗林蛋白酶(furin)裂解位點之連接子。弗林蛋白酶為鈣依賴性絲胺酸內切蛋白酶，其裂解正好位於鹼性胺基酸目標序列(Arg-X-(Arg/Lys)-Arg)下游之蛋白質(Thomas, G., 2002. Nature Reviews Molecular Cell Biology 3(10): 753-66；其內容以全文引用之方式併入本文中)。弗林蛋白酶富集於高基氏體成熟面網(trans-golgi network)中，在其中參與加工細胞前驅蛋白。弗林蛋白酶亦在活化多種病原體中起作用。可利用此活性來表現本發明之多肽。

【0259】 在一些實施例中，有效負載區域可編碼一或多個連接子，其包含組織蛋白酶、基質金屬蛋白酶或豆莢蛋白裂解位點。此類連接子例如由Cizeau及Macdonald在國際公開案第WO2008052322號中描述，其內容以全文引用之方式併入本文中。組織蛋白酶為具有裂解特定蛋白質之獨

特機制的蛋白酶家族。組織蛋白酶B為半胱胺酸蛋白酶，且組織蛋白酶D為天冬胺醯基蛋白酶。基質金屬蛋白酶為鈣依賴性及含鋅內肽酶之家族。豆莢蛋白為催化蛋白質及小分子受質之(-Asn-Xaa-)鍵水解之酶。

【0260】在一些實施例中，有效負載區域可編碼未裂解之連接子。此類連接子可包括簡單胺基酸序列，諸如富甘胺酸序列。在一些情況下，連接子可包含可撓性肽連接子，其包含甘胺酸及絲胺酸殘基。連接子可包含不同長度之可撓性肽連接子，例如nxG4S，其中n=1-10，且所編碼之連接子之長度在5至50個胺基酸之間變化。在一非限制性實例中，連接子可為5xG4S。此等可撓性連接子為小型的且不具有側鏈，因此其傾向於不影響二級蛋白質結構，同時提供抗體區段之間的可撓性連接子(George, R.A.等人, 2002. Protein Engineering 15(11): 871-9；Huston, J.S.等人, 1988. PNAS 85:5879-83；及Shan, D.等人, 1999. Journal of Immunology. 162(11):6589-95；其各自之內容以全文引用之方式併入本文中)。此外，絲胺酸殘基之極性改善溶解性且防止聚集問題。

【0261】在一些實施例中，本發明之有效負載區域可編碼小型及非分支鏈富絲胺酸肽連接子，諸如由Huston等人在美國專利案第US5525491號中所描述，其內容以全文引用之方式併入本文中。由本發明之有效負載區域編碼，由富絲胺酸連接子連接之多肽具有增加之溶解性。

【0262】在一些實施例中，本發明之有效負載區域可編碼人工連接子，諸如由Whitlow及Filpula在美國專利案第US5856456號中及由Ladner等人在美國專利案第US 4946778號中所描述之彼等者，其各自之內容以全文引用之方式併入本文中。

內含子

【0263】 在一些實施例中，有效負載區域包含至少一個用於增強表現之元件，諸如一或多個內含子或其部分。內含子之非限制性實例包括MVM (67-97 bp)、F.IX截短型內含子1 (300 bp)、β-血球蛋白SD/免疫球蛋白重鏈剪接受體(250 bp)、腺病毒剪接供體/免疫球蛋白剪接受體(500 bp)、SV40晚期剪接供體/剪接受體(19S/16S) (180 bp)及雜交腺病毒剪接供體/IgG剪接受體(230 bp)。

【0264】 在一些實施例中，內含子或內含子部分之長度可為100-500個核苷酸。內含子之長度可為80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490或500。內含子之長度可在80-100、80-120、80-140、80-160、80-180、80-200、80-250、80-300、80-350、80-400、80-450、80-500、200-300、200-400、200-500、300-400、300-500或400-500之間。

慢病毒載體

【0265】 慢病毒載體為一種反轉錄病毒類型，其可感染分裂及非分裂細胞兩者，因為其病毒殼可穿過目標細胞之核的完整膜。慢病毒載體具有將轉殖基因遞送至長時間呈現、無法用穩定基因操控治療之組織中的能力。慢病毒載體亦已打開了用於基因治療廣泛遺傳性以及後天性病症之新鮮觀點，且其臨床用途之真實提議似乎即將發生。

RNA

【0266】 核糖核酸(RNA)為由呈與含氮鹼基及磷酸酯基團連接之核

糖之核苷酸構成的分子。含氮鹼基包括腺嘌呤(A)、鳥嘌呤(G)、尿嘧啶(U)及胞嘧啶(C)。一般而言，RNA主要以單股形式存在，但在某些情況下亦可以雙股形式存在。RNA之長度、形式及結構視RNA之目的而不同。舉例而言，RNA之長度可自短序列(例如siRNA)至長序列(例如lncRNA)而變化，可為線性(例如mRNA)或環狀(例如oRNA)的，且可為編碼(例如mRNA)或非編碼(例如lncRNA)序列。

【0267】 在一些實施例中，有效負載區域可為或編碼編碼RNA。

【0268】 在一些實施例中，有效負載區域可為或編碼非編碼RNA。

【0269】 在一些實施例中，有效負載區域可為或編碼編碼及非編碼RNA兩者。

【0270】 在一些實施例中，有效負載區域包含編碼超過一種貨物或有效負載之核酸序列。

【0271】 在一些實施例中，有效負載區域包含增強基因之表現之核酸序列。作為非限制性實例，核酸序列為信使RNA (mRNA)。作為另一非限制性實例，核酸序列為環狀RNA (oRNA)。

【0272】 在一些實施例中，有效負載區域包含降低或抑制基因之表現之核酸序列。作為非限制性實例，核酸序列為小干擾RNA (siRNA)或微小RNA (miRNA)。

信使RNA (mRNA)

【0273】 在一些實施例中，初始構築體及/或基準構築體可為mRNA。如本文所用，術語「信使RNA」(mRNA)係指編碼所關注之目標且能夠進行轉譯以活體外、活體內、原位或離體產生所編碼之所關注目標的任何聚核苷酸。

【0274】一般而言，mRNA分子至少包含編碼區、5'非轉譯區(UTR)、3' UTR、5'帽及聚A尾。在一些態樣中，RNA中可包括一或多個可降低其中引入mRNA之細胞之先天性免疫反應的結構及/或化學修飾或改變。如本文所用，「結構」特徵或修飾為其中兩個或更多個連接之核苷酸在核酸中插入、缺失、重複、倒置或隨機化而對於核苷酸本身無顯著化學修飾的特徵或修飾。因為化學鍵將必然斷裂且重新形成以實現結構修飾，所以結構修飾具有化學性質且因此為化學修飾。然而，結構修飾將產生不同核苷酸序列。舉例而言，聚核苷酸「ATCG」可經化學修飾為「AT-5meC-G」。

【0275】一般而言，初始構築體及/或基準構築體之區域之最短長度可為足夠編碼二肽、三肽、四肽、五肽、六肽、七肽、八肽、九肽或十肽之核酸序列之長度。在另一實施例中，該長度可足夠編碼2-30個胺基酸，例如5-30、10-30、2-25、5-25、10-25或10-20個胺基酸之肽。該長度可足夠編碼至少11、12、13、14、15、17、20、25或30個胺基酸之肽，或不大於40個胺基酸，例如不大於35、30、25、20、17、15、14、13、12、11或10個胺基酸之肽。

【0276】一般而言，編碼所關注之目標之mRNA之區域之長度大於約30個核苷酸長度(例如至少或大於約35、40、45、50、55、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,500、及3,000、4,000、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000、10,000、20,000、30,000、40,000、50,000、60,000、70,000、80,000、90,000或至多並包

括100,000個核苷酸)。

【0277】 在一些實施例中，mRNA包括約30至約100,000個核苷酸(例如30至50、30至100、30至250、30至500、30至1,000、30至1,500、30至3,000、30至5,000、30至7,000、30至10,000、30至25,000、30至50,000、30至70,000、100至250、100至500、100至1,000、100至1,500、100至3,000、100至5,000、100至7,000、100至10,000、100至25,000、100至50,000、100至70,000、100至100,000、500至1,000、500至1,500、500至2,000、500至3,000、500至5,000、500至7,000、500至10,000、500至25,000、500至50,000、500至70,000、500至100,000、1,000至1,500、1,000至2,000、1,000至3,000、1,000至5,000、1,000至7,000、1,000至10,000、1 ,000至25,000、1,000至50,000、1,000至70,000、1,000至100,000、1,500至3,000、1,500至5,000、1,500至7,000、1,500至10,000、1 ,500至25,000、1,500至50,000、1,500至70,000、1,500至100,000、2,000至3,000、2,000至5,000、2,000至7,000、2,000至10,000、2,000至25,000、2,000至50,000、2,000至70,000及2,000至100,000)。

【0278】 在一些實施例中，側接編碼所關注目標之區域之一或多個區域之長度可獨立地在15-1,000個核苷酸範圍內(例如大於30、40、45、50、55、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800及900個核苷酸或至少30、40、45、50、55、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900及1,000個核苷酸)。

【0279】 在一些實施例中，mRNA包含長度可在不存在至500個核苷酸之範圍內(例如至少60、70、80、90、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450或500個核苷酸)之加尾序列。在加尾區域為聚A尾之情況下，長度可以聚A結合蛋白結合為單位或作為其之函數測定。在此實施例中，聚A尾足夠長以結合聚A結合蛋白之至少4個單體。聚A結合蛋白單體與大致38個核苷酸之延伸部分結合。因此，已觀測到，約80個核苷酸及160個核苷酸之聚A尾為功能性的。

【0280】 在一些實施例中，mRNA包含加帽序列，其包含單一帽或形成帽之一系列核苷酸。加帽序列之長度可為1至10個，例如2-9、3-8、4-7、1-5、5-10或至少2個，或10個或更少個核苷酸。在一些實施例中，加帽序列不存在。

【0281】 在一些實施例中，mRNA包含含有起始密碼子之區域。包含起始密碼子之區域之長度可在3至40，例如5-30、10-20、15個、或至少4個或30個或更少個核苷酸範圍內。

【0282】 在一些實施例中，mRNA包含含有終止密碼子之區域。包含終止密碼子之區域之長度可在3至40，例如5-30、10-20、15個、或至少4個或30個或更少個核苷酸範圍內。

【0283】 在一些實施例中，mRNA包含含有限制序列之區域。包含限制序列之區域之長度可在3至40，例如5-30、10-20、15個、或至少4個或30個或更少個核苷酸範圍內。

非轉譯區(UTR)

【0284】 在一些實施例中，mRNA包含至少一個側腹編碼所關注目標之區域之非轉譯區(UTR)。UTR進行轉錄，但不轉譯。

【0285】 5' UTR起始於轉錄起始位點且繼續至起始密碼子，但不包括起始密碼子；而3' UTR緊接著起始於終止密碼子且繼續直至轉錄終止訊號。雖然不希望受理論所束縛，但UTR在核酸之轉譯及其穩定性方面可具有調節作用。

【0286】 天然5' UTR通常包括之轉譯起始方面具有作用之特徵，因為其傾向於包括通常已知參與核糖體藉以起始許多基因之轉譯之過程的Kozak序列。Kozak序列具有共同CCR(A/G)CCAUGG，其中R為起始密碼子(AUG)上游三個鹼基處之嘌呤(腺嘌呤或鳥嘌呤)，繼之為另一個『G』。亦已知5'UTR形成參與延長因子結合之二級結構。

【0287】 已知3' UTR中嵌有腺苷及尿苷之延伸部分。此等富AU標誌在具有高周轉率之基因中尤其普遍。基於其序列特徵及功能特性，富AU元件(ARE)可分成三類(Chen等人, 1995)：I類ARE在富U區域內含有數個分散的AUUUA基序複本。C-Myc及MyoD含有I類ARE。II類ARE具有兩個或更多個重疊UUAUUUA(U/A)(U/A)九聚體。含有此類型ARE之分子包括GM-CSF及TNF-a。III類ARE之定義不太明確。此等富U區不含AUUUA基序。c-Jun及成肌素為此類別之兩個充分研究的實例。已知結合於ARE之大部分蛋白質使信使不穩定，而已記錄到ELAV家族成員(最顯著地，HuR)增加mRNA之穩定性。HuR與所有三種類別之ARE結合。將HuR特異性結合位點工程改造至核酸分子之3' UTR中將引起HuR結合，且因此引起活體內訊息穩定。3' UTR富AU元件(ARE)之引入、移除或修飾可用於調節mRNA之穩定性。舉例而言，可引入一或多個ARE複本以使得mRNA不太穩定且因此減少轉譯並降低所得蛋白質之產量。或者，可鑑別出ARE且將其移除或使其突變以增加胞內穩定性，且因此增加所得蛋白質

之轉譯及產量。

【0288】 在一些實施例中，引入通常在目標器官之基因中表現之特徵，可增強特定器官及/或組織中mRNA之穩定性及蛋白質產生。作為非限制性實例，該特徵可為UTR。作為另一實例，該特徵可為內含子或內含子序列之部分。

5'加帽

【0289】 mRNA之5' 帽結構參與核輸出，增加mRNA穩定性且結合mRNA帽結合蛋白(CBP)，其經由CBP與聚(A)結合蛋白之結合形成成熟環狀mRNA物種而負責mRNA在細胞中的穩定性及轉譯能力。帽進一步有助於在mRNA剪接期間移除5'近端內含子移除。

【0290】 內源性mRNA分子可經5'端加帽，從而在mRNA分子之末端鳥苷帽殘基與5'端轉錄的有義核苷酸之間產生5'-ppp-5'-三磷酸酯鍵聯。此5'-鳥苷酸帽可接著經甲基化以產生N7-甲基-鳥苷酸殘基。mRNA之5'端之末端及/或末端前(anteterminal)轉錄之核苷酸之核糖亦可視情況經2'-O-甲基化。經由水解及裂解鳥苷酸帽結構進行之5'-脫帽可靶向核酸分子，諸如mRNA分子，以進行降解。

【0291】 對mRNA之修飾可產生不可水解的帽結構，從而防止脫帽且因此增加mRNA半衰期。由於帽結構水解需要裂解5'-ppp-5'磷酸二酯鍵聯，因此可在加帽反應期間使用經修飾之核苷酸。舉例而言，可根據製造商說明書使用來自New England Biolabs (Ipswich, MA)之牛痘加帽酶以及a-硫基-鳥苷核苷酸，以在5'-ppp-5'帽中產生硫代磷酸酯鍵聯。

【0292】 可使用額外經修飾之鳥苷核苷酸，諸如a-甲基-膦酸酯及硒基-磷酸酯核苷酸。

【0293】 額外修飾包括但不限於mRNA (如上文所提及)之5'末端及/或5'末端前核苷酸之核糖在糖環之2'-羥基上的2'-O-甲基化。多中不同的5'帽結構可用於產生核酸分子(諸如mRNA分子)之5'帽。

【0294】 帽類似物在本文中亦稱為合成帽類似物、化學帽、化學帽類似物或結構性或功能性帽類似物，在其化學結構上與天然(亦即內源性、野生型或生理性) 5'帽不同，同時保留帽功能。帽類似物可為化學(亦即非酶促)或酶促合成的及/或與核酸分子連接。

【0295】 舉例而言，反向帽類似物(ARCA)帽含有由5'-5'-三磷酸酯基團連接之兩個鳥嘌呤，其中一個鳥嘌呤含有N7甲基以及3'-O-甲基(亦即，N7,3'-O-二甲基-鳥苷-5'-三磷酸酯-5'-鳥苷(m^7G-3'mppp-G；其可等效地稱為3' O-Me-m7G(5')ppp(5')G)。另一未經修飾之鳥嘌呤之3'-0原子變為與加帽核酸分子(例如mRNA)之5'端核苷酸連接。N7-及3'-O-甲基化鳥嘌呤提供加帽核酸分子(例如mRNA)之末端部分。

【0296】 另一例示性帽為mCAP，其類似於ARCA但在鳥苷上具有2'-O-甲基(亦即，N7,2'-O-二甲基-鳥苷-5'-三磷酸酯-5'-鳥苷，m^7Gm-ppp-G)。

【0297】 儘管帽類似物允許在活體外轉錄反應中對核酸分子伴隨加帽，但高達20%之轉錄本可保持未加帽。此點以及帽類似物與由內源性細胞轉錄機制產生之核酸的內源性5'帽結構的結構差異可導致轉譯能力降低及細胞穩定性降低。

【0298】 mRNA亦可使用酶在轉錄後加帽，以便產生更真實的5'帽結構。如本文所用，片語「更真實」係指在結構上或功能上密切反映或模擬內源性或野生型特徵的特徵。亦即，相較於先前技術之合成特徵或類似

物等，「更真實」的特徵更佳地代表內源性、野生型、天然或生理細胞功能及/或結構，或在一或多個方面勝過對應內源性、野生型、天然或生理特徵。更真實的5 '帽結構之非限制性實例尤其為如下之彼等者：其相較於此項技術中已知之合成5 '帽結構(或相較於野生型、天然或生理5 '帽結構)具有增強的帽結合蛋白之結合、增加的半衰期、對於5'核酸內切酶之降低的敏感性及/或降低的5'脫帽。舉例而言，重組牛痘病毒加帽酶及重組2'-O-甲基轉移酶可在mRNA之5'端核苷酸與鳥嘌呤帽核苷酸之間產生典型的5'-5'-三磷酸酯鍵聯，其中帽鳥嘌呤含有N7甲基化，且mRNA之5'端核苷酸含有2'-O-甲基。此類結構稱為Capl結構。相較於例如此項技術中已知的其他5'帽類似物結構，此帽使得轉譯能力及細胞穩定性更高以及細胞促炎性細胞介素之活化減少。帽結構包括但不限於7mG(5*)ppp(5*)N,pN2p(帽0)、7mG(5*)ppp(5*)NlmpNp（帽1)及7mG(5*)-ppp(5')NlmpN2mp（帽2)。

【0299】 在一些實施例中，5'端帽可包括內源性帽或帽類似物。

【0300】 在一些實施例中，5'端帽可包含鳥嘌呤類似物。適用的鳥嘌呤類似物包括但不限於肌苷、Nl-甲基-鳥苷、2'氟-鳥苷、7-去氮-鳥苷、8-側氧基-鳥苷、2-胺基-鳥苷、LNA-鳥苷及2-疊氮基-鳥苷。

IRES序列

【0301】 在一些實施例中，mRNA可含有內部核糖體進入位點(IRES)。IRES首次鑑別為特徵微小RNA病毒RNA，在不存在5'帽結構之情況下在起始蛋白質合成方面發揮重要作用。IRES可充當唯一核糖體結合位點，或可充當mRNA之多個核糖體結合位點之一。含有超過一個功能性核糖體結合位點之mRNA可編碼若干獨立地藉由核糖體轉譯之肽或多

肽。可使用之IRES序列之非限制性實例包括但不限於來自以下之彼等IRES序列：微小RNA病毒(例如FMDV)、有害生物病毒(CFFV)、脊髓灰質炎病毒(PV)、腦心肌炎病毒(ECMV)、口蹄疫病毒(FMDV)、C型肝炎病毒(HCV)、經典豬瘟病毒(CSFV)、鼠白血病病毒(MLV)、猿猴免疫缺乏病毒(SIV)或蟋蟀麻痹病毒(CrPV)。

聚A尾

【0302】 在RNA加工期間，可將長鏈腺嘌呤核苷酸(聚A尾)添加至諸如mRNA分子之聚核苷酸中以增加穩定性。緊接地在轉錄之後，轉錄本之3'端可裂解以釋放3'羥基。接著，聚A聚合酶添加一系列腺嘌呤核苷酸至RNA。該過程稱為聚腺苷酸化，添加某一長度之聚A尾。

【0303】 在一些實施例中，聚A尾之長度大於30個核苷酸長度。在另一實施例中，聚A尾之長度大於35個核苷酸(例如至少或大於約35、40、45、50、55、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,500及3,000個核苷酸)。在一些實施例中，mRNA包括約30至約3,000個核苷酸(例如30至50、30至100、30至250、30至500、30至750、30至1,000、30至1,500、30至2,000、30至2,500、50至100、50至250、50至500、50至750、50至1 ,000、50至1,500、50至2,000、50至2,500、50至3,000、100至500、100至750、100至1,000、100至1,500、100至2,000、100至2,500、100至3,000、500至750、500至1,000、500至1,500、500至2,000、500至2,500、500至3,000、1,000至1,500、1,000至2,000、1,000至2,500、1,000至3,000、1,500至2,000、1,500至2,500、

1,500至3,000、2,000至3,000、2,000至2,500及2,500至3,000)之聚A尾。

【0304】 在一些實施例中，聚A尾係相對於整個mRNA之長度設計。此設計可基於編碼所關注目標之區域的長度、特定特徵或區域(諸如側接區域)之長度，或基於自mRNA表現之最終產物的長度。

【0305】 在此上下文中，聚A尾之長度可比mRNA或其特徵長10、20、30、40、50、60、70、80、90或100%。聚A尾亦可設計為其所屬之mRNA之一部分。在此上下文中，聚A尾可為構築體之全長或構築體之全長減去聚A尾的10、20、30、40、50、60、70、80或90%或更多。另外，聚A結合蛋白之經工程改造的結合位點及mRNA結合可增強表現。

【0306】 另外，多個不同mRNA可使用經修飾之核苷酸，在聚A尾之3'端處經由3'端與PABP (聚A結合蛋白)連接在一起。轉染實驗可在相關細胞株中進行，且蛋白質產生可在轉染後第12小時、24小時、48小時、72小時及第7天時藉由ELISA分析。

【0307】 在一些實施例中，mRNA設計成包括聚A-G四聯體(Quartet)。G四聯體為四個鳥嘌呤核苷酸之環狀氫鍵結陣列，其可由DNA及RNA中之富G序列形成。在此實施例中，G四聯體併入於聚A尾之末端。

終止密碼子

【0308】 在一些實施例中，mRNA可包括一個終止密碼子。在一些實施例中，mRNA可包括兩個終止密碼子。在一些實施例中，mRNA可包括三個終止密碼子。在一些實施例中，mRNA可包括至少一個終止密碼子。在一些實施例中，mRNA可包括至少兩個終止密碼子。在一些實施例中，mRNA可包括至少三個終止密碼子。作為非限制性實例，終止密碼子

可選自TGA、TAA及TAG。

【0309】 在一些實施例中，mRNA包括終止密碼子TGA及一個額外終止密碼子。在另一實施例中，添加終止密碼子可為TAA。

環狀RNA (oRNA)

【0310】 在一些實施例中，初始構築體及/或基準構築體為環狀RNA (oRNA)。如本文所用，術語「oRNA」或「環狀RNA」可互換使用且可指經由共價或非共價鍵形成環狀結構之RNA。

【0311】 在一些實施例中，oRNA在哺乳動物(例如人類、非人類靈長類動物、兔、大鼠及小鼠)中可為非免疫原性的。

【0312】 在一些實施例中，oRNA在以下中能夠進行複製或可複製：來自水產動物(例如魚、蟹、蝦、牡蠣等)之細胞、哺乳動物細胞、來自寵物或動物園動物(例如貓、狗、蜥蜴、鳥類、獅子、老虎及熊等)之細胞、來自農畜或役畜(例如馬、牛、豬、雞等)之細胞、人類細胞、培養的細胞、原代細胞或細胞株、幹細胞、前驅細胞、分化的細胞、生殖細胞、癌細胞(例如致瘤、轉移性的)、非致瘤細胞(例如正常細胞)、胎兒細胞、胚胎細胞、成年細胞、有絲分裂細胞、非有絲分裂細胞或其任何組合。

【0313】 在一些實施例中，oRNA具有至少為線性對應體之半衰期的半衰期。在一些實施例中，oRNA具有相對於線性對應體之半衰期增加的半衰期。在一些實施例中，半衰期增加約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%或更大。在一些實施例中，oRNA在細胞中之半衰期或持久性為至少約1小時至約30天，或至少約2小時、6小時、12小時、18小時、24小時(1天)、2天、3,天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、

18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、29天、30天、60天或更長或其間的任何時間。在一些實施例中，oRNA在細胞中之半衰期或持久性不超過約10 min至約7天，或不超過約1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、11小時、12小時、13小時、14小時、15小時、16小時、17小時、18小時、19小時、20小時、21小時、22小時、24小時(1天)、36小時(1.5天)、48小時(2天)、60小時(2.5天)、72小時(3天)、4天、5天、6天或7天。

【0314】在一些實施例中，oRNA在細胞正處於分裂時之細胞中具有半衰期或持久性。在一些實施例中，oRNA在分裂後之細胞中具有半衰期或持久性。在某些實施例中，oRNA在分裂細胞中之半衰期或持久性大於約10分鐘至約30天，或至少約10分鐘、15分鐘、30分鐘、45分鐘、1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、11小時、12小時、13小時、14小時、15小時、16小時、17小時、18小時、24小時(1天)、2天、3,天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、29天、30天、60天或更長或其間的任何時間。

【0315】在一些實施例中，oRNA調節細胞功能，例如暫時或長期。在某些實施例中，穩定改變細胞功能，諸如保持調節至少約1小時至約30天，或至少約2小時、6小時、12小時、18小時、24小時(1天)、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24

天、25天、26天、27天、28天、29天、30天、60天或更長。在某些實施例中，暫時改變細胞功能，例如保持調節不超過約30 min至約7天，或不超過約30分鐘、45分鐘、1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、11小時、12小時、13小時、14小時、15小時、16小時、17小時、18小時、19小時、20小時、21小時、22小時、23小時、24小時(1天)、36小時(1.5天)、48小時(2天)、60小時(2.5天)、72小時(3天)、4天、5天、6天或7天。

【0316】 在一些實施例中，oRNA為至少約20個核苷酸、至少約30個核苷酸、至少約40個核苷酸、至少約50個核苷酸、至少約75個核苷酸、至少約100個核苷酸、至少約200個核苷酸、至少約300個核苷酸、至少約400個核苷酸、至少約500個核苷酸、至少約1,000個核苷酸、至少約2,000個核苷酸、至少約5,000個核苷酸、至少約6,000個核苷酸、至少約7,000個核苷酸、至少約8,000個核苷酸、至少約9,000個核苷酸、至少約10,000個核苷酸、至少約12,000個核苷酸、至少約14,000個核苷酸、至少約15,000個核苷酸、至少約16,000個核苷酸、至少約17,000個核苷酸、至少約18,000個核苷酸、至少約19,000個核苷酸或至少約20,000個核苷酸。在一些實施例中，oRNA可具有足夠的尺寸以容納核糖體之結合位點。

【0317】 在一些實施例中，oRNA之最大尺寸可能受封裝及遞送RNA至目標之能力限制。在一些實施例中，oRNA之尺寸為足夠編碼多肽之長度，且因此至少20,000個核苷酸、至少15,000個核苷酸、至少10,000個核苷酸、至少7,500個核苷酸、或至少5,000個核苷酸、至少4,000個核苷酸、至少3,000個核苷酸、至少2,000個核苷酸、至少1,000個核苷酸、至少500個核苷酸、至少400個核苷酸、至少300個核苷酸、至少200個核

苷酸、至少100個核苷酸之長度可能適用。

【0318】 在一些實施例中，oRNA包含本文中別處描述之一或多個元件。在一些實施例中，元件可由間隔子序列或連接子彼此分隔開。在一些實施例中，元件可由1個核苷酸、2個核苷酸、約5個核苷酸、約10個核苷酸、約15個核苷酸、約20個核苷酸、約30個核苷酸、約40個核苷酸、約50個核苷酸、約60個核苷酸、約80個核苷酸、約100個核苷酸、約150個核苷酸、約200個核苷酸、約250個核苷酸、約300個核苷酸、約400個核苷酸、約500個核苷酸、約600個核苷酸、約700個核苷酸、約800個核苷酸、約900個核苷酸、約1000個核苷酸、多達約1 kb、至少約1000個核苷酸彼此分隔開。

【0319】 在一些實施例中，一或多個元件彼此鄰接，例如缺乏間隔子元件。

【0320】 在一些實施例中，一或多個元件在構形上為可撓性的。在一些實施例中，構形可撓性歸因於序列實質上不含二級結構。

【0321】 在一些實施例中，oRNA包含容納核糖體、轉譯或滾環轉譯之結合位點的二級或三級結構。

【0322】 在一些實施例中，oRNA包含特定序列特徵。舉例而言，oRNA可包含特定核苷酸組成。在一些此類實施例中，oRNA可包括一或多個富嘌呤區域(腺嘌呤或鳥苷)。在一些實施例中，oRNA可包括一或多個富AU區域或元件(ARE)。在一些實施例中，oRNA可包括一或多個富腺嘌呤區域。

【0323】 在一些實施例中，oRNA包含本文中別處描述之一或多個修飾。

【0324】在一些實施例中，oRNA包含一或多個表現序列且經組態以用於活體內在個體之細胞中持續表現。在一些實施例中，oRNA經組態以使得在稍後時間點一或多個表現序列在細胞中之表現等於或高於稍早時間點。在此類實施例中，一或多個表現序列之表現可維持在相對穩定水準下或可隨著時間推移而增加。表現序列之表現可相對穩定持續延長時段。舉例而言，在一些情況下，在至少7、8、9、10、12、14、16、18、20、22、23天或更長天之時段內，一或多個表現序列在細胞中之表現不降低50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%。在一些情況下，一或多個表現序列在細胞中之表現維持在變化不超過50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%之水準下持續至少7、8、9、10、12、14、16、18、20、22、23天或更多天。

調節元件

【0325】在一些實施例中，oRNA包含調節元件。如本文所用，「調節元件」為調節表現序列之表現之序列。調節元件可包括位於有效負載或貨物區域附近的序列。調節元件可以操作方式連接於有效負載或貨物區域。

【0326】在一些實施例中，相較於當無調節元件存在時表現之量，調節元件可增加所表現之有效負載或貨物之量。作為非限制性實例，一個調節元件可增加以串聯方式連接之多個有效負載或貨物序列所表現之有效負載或貨物的量。

【0327】在一些實施例中，調節元件可包含選擇性地起始或活化有效負載或貨物之轉譯之序列。

【0328】在一些實施例中，調節元件可包含起始oRNA或有效負載

或貨物之降解之序列。起始降解之序列之非限制性實例包括但不限於核糖開關適體酶(aptazyme)及miRNA結合位點。

【0329】 在一些實施例中，調節元件可調節oRNA中有效負載或貨物之轉譯。該調節可使得有效負載或貨物增加(強化子)或降低(抑制因子)。調節元件可位於有效負載或貨物附近(例如在有效負載或貨物之一側或兩側上)。

【0330】 在一些實施例中，轉譯起始序列用作調節元件。在一些實施例中，轉譯起始序列包含AUG/ATG密碼子。在一些實施例中，轉譯起始序列包含任何真核起始密碼子，諸如但不限於AUG/ATG、CUG/CTG、GUG/GTG、UUG/TTG、ACG、AUC/ATC、AUU、AAG、AUA/ATA或AGG。在一些實施例中，轉譯起始序列包含Kozak序列。在一些實施例中，轉譯在選擇性條件(例如應激誘導條件)下始於替代性轉譯起始序列，例如除AUG/ATG外之轉譯起始序列。作為非限制性實例，環狀多核糖核苷酸之轉譯可始於替代性轉譯起始序列，諸如ACG。作為另一非限制性實例，環狀多核糖核苷酸轉譯可始於替代性轉譯起始序列CUG/CTG。作為另一非限制性實例，轉譯可始於替代性轉譯起始序列GUG/GTG。作為又一非限制性實施例，轉譯可始於重複相關非AUG(RAN)序列，諸如包括重複性RNA之短延伸部分(例如CGG、GGGGCC、CAG、CTG)之替代性轉譯起始序列。

遮蔽劑

【0331】 遮蔽側接起始轉譯之密碼子之任一核苷酸可用於改變轉譯起始位置、轉譯效率、oRNA之長度及/或結構。在一些實施例中，遮蔽劑可在起始密碼子或替代性起始密碼子附近使用，以遮蔽或隱藏該密碼子，

以降低在經遮蔽之起始密碼子或替代性起始密碼子處的轉譯起始概率。遮蔽劑之非限制性實例包括反義鎖核酸(LNA)寡核苷酸及外顯子接合複合物(exon junction complex；EJC)。在一些實施例中，遮蔽劑可用於遮蔽oRNA之起始密碼子以便增加將在替代性起始密碼子處起始轉譯之可能性。

轉譯起始序列

【0332】 在一些實施例中，oRNA編碼多肽或肽且可包含轉譯起始序列。轉譯起始序列可包含但不限於起始密碼子、非編碼起始密碼子、Kozak序列或Shine-Dalgarno序列。轉譯起始序列可位於有效負載或貨物附近(例如在有效負載或貨物之一側或兩側上)。

【0333】 在一些實施例中，轉譯起始序列為oRNA提供構形可撓性。在一些實施例中，轉譯起始序列在oRNA之實質上單股區內。

【0334】 oRNA可包括超過1個起始密碼子，諸如但不限於至少2、至少3、至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、至少10、至少11、至少12、至少13、至少14、至少15個或超過15個起始密碼子。轉譯可在第一起始密碼子上起始或可在第一起始密碼子之下游起始。

【0335】 在一些實施例中，oRNA可在不為第一起始密碼子(例如AUG)之密碼子處起始。環狀多核糖核苷酸之轉譯可在替代性轉譯起始序列處起始，諸如但不限於ACG、AGG、AAG、CUG/CTG、GUG/GTG、AUA/ATA、AUU/ATT、UUG/TTG。在一些實施例中，轉譯在選擇性條件下，例如應激誘導條件下始於替代性轉譯起始序列。作為非限制性實例，oRNA之轉譯可始於替代性轉譯起始序列，諸如ACG。作為另一非限制性實例，oRNA轉譯可始於替代性轉譯起始序列CUG/CTG。作為又一

非限制性實施例，oRNA轉譯可始於替代性轉譯起始序列GTG/GUG。作為又一非限制性實施例，oRNA可在重複相關非AUG (RAN)序列處開始轉譯，諸如包括重複性RNA之短延伸部分(例如CGG、GGGGCC、CAG、CTG)之替代性轉譯起始序列。

IRES序列

【0336】在一些實施例中，本文所描述之oRNA包含能夠接合真核核糖體之內部核糖體進入位點(IRES)元件。在一些實施例中，IRES元件為至少約5個核苷酸、至少約8個核苷酸、至少約9個核苷酸、至少約10個核苷酸、至少約15個核苷酸、至少約20個核苷酸、至少約25個核苷酸、至少約30個核苷酸、至少約40個核苷酸、至少約50個核苷酸、至少約100個核苷酸、至少約200個核苷酸、至少約250個核苷酸、至少約350個核苷酸或至少約500個核苷酸。在一個實施例中，IRES元件衍生自包括但不限於病毒、哺乳動物及果蠅之生物體之DNA。此類病毒DNA可衍生自但不限於微小RNA病毒互補DNA (cDNA)與腦心肌炎病毒(EMCV) cDNA及脊髓灰白質炎病毒cDNA。在一個實施例中，IRES元件所衍生自之果蠅DNA包括但不限於來自黑腹果蠅(Drosophila melanogaster)之觸角足基因。

【0337】在一些實施例中，IRES元件至少部分地衍生自病毒，例如其可衍生自病毒IRES元件，諸如ABPV_IGRpred、AEV、ALPV_IGRpred、BQCV_IGRpred、BVDV1_1-385、BVDV1_29-391、CrPV_5NCR、CrPV_IGR、crTMV_IREScp、crTMV_IRESmp75、crTMV_IRESmp228、crTMV_IREScp、crTMV_IREScp、CSFV、CVB3、DCV_IGR、EMCV-R、EoPV_5NTR、ERAV 245-961、ERBV

162-920、EV71_1-748、FeLV-Notch2、FMDV_type_C、GBV-A、GBV-B、GBV-C、gypsy_env、gypsyD5、gypsyD2、HAV_HM175、HCV_type_1a、HiPV_IGRpred、HIV-1、HoCV1_IGRpred、HRV-2、IAPV_IGRpred、idefix、KBV_IGRpred、LINE-1_ORF1_-101_to_-1、LINE-1_ORF1-302_to_-202、LINE-1_ORF2-138_to_-86、LINE-1_ORF1_-44to_-1、PSIV_IGR、PV_type1_Mahoney、PV_type3_Leon、REV-A、RhPV_5NCR、RhPV_IGR、SINV1_IGRpred、SV40_661-830、TMEV、TMV_UI_IRESmp228、TRV_5NTR、TrV_IGR或TSV_IGR。在一些實施例中，IRES元件至少部分地衍生自細胞IRES，諸如AML1/RUNX1、Antp-D、Antp-DE、Antp-CDE、Apaf-1、Apaf-1、AQP4、AT1R_var1、AT1R_var2、AT1R_var3、AT1R_var4、BAG1_p36delta236 nt、BAG1_p36、BCL2、BiP_-222_-3、c-IAP1_285-1399、c-IAP1_1313-1462、c-jun、c-myc、Cat-1224、CCND1、DAPS、eIF4G、eIF4GI-ext、eIF4GII、eIF4GII-長、ELG1、ELH、FGF1A、FMR1、Gtx-133-141、Gtx-1-166、Gtx-1-120、Gtx-1-196、無毛(hairless)、HAP4、HIF1a、hSNM1、Hsp101、hsp70、hsp70、Hsp90、IGF2_前導序列2、Kv1.4_1.2、L-myc、LamB1_-335_-1、LEF1、MNT_75-267、MNT_36-160、MTG8a、MYB、MYT2_997-1152、n-MYC、NDST1、NDST2、NDST3、NDST4L、NDST4S、NRF_-653_-17、NtHSF1、ODC1、p27kip1、03_128-269、PDGF2/c-sis、Pim-1、PITSLRE_p58、Rbm3、reaper、Scamper、TFIID、TIF4631、Ubx_1-966、Ubx_373-961、UNR、Ure2、UtrA、VEGF-A-133-1、XIAP_5-464、XIAP_305-466或

YAP1。

終止元件

【0338】 在一些實施例中，oRNA包括一或多個貨物或有效負載序列(亦稱為表現序列)，且各貨物或有效負載序列可具有或可不具有終止元件。

【0339】 在一些實施例中，oRNA包括一或多個貨物或有效負載序列，且序列缺乏終止元件，以使得oRNA不斷轉譯。終止元件之排除可倒置滾環轉譯或連續表現所編碼之肽或多肽，因為核糖體將不會停頓或離開(fall-off)。在此類實施例中，滾環轉譯經由各貨物或有效負載序列表現連續表現。

【0340】 在一些實施例中，oRNA中之一或多個貨物或有效負載序列包含終止元件。

【0341】 在一些實施例中，oRNA中並非全部貨物或有效負載序列均包含終止元件。在此類情況下，當核糖體遇到終止元件且終止轉譯時，貨物或有效負載可離開(fall off)核糖體。在一些實施例中，轉譯終止，同時核糖體之至少一個區域仍與oRNA接觸。

滾環轉譯

【0342】 在一些實施例中，一旦起始oRNA之轉譯，則在完成至少一輪oRNA轉譯之前，與oRNA結合之核糖體不會脫離oRNA。在一些實施例中，如本文所描述之oRNA對於滾環轉譯為勝任的。在一些實施例中，在滾環轉譯期間，一旦起始oRNA之轉譯，則在完成至少2輪、至少3輪、至少4輪、至少5輪、至少6輪、至少7輪、至少8輪、至少9輪、至少10輪、至少11輪、至少12輪、至少13輪、至少14輪、至少15輪、至少20

輪、至少30輪、至少40輪、至少50輪、至少60輪、至少70輪、至少80輪、至少90輪、至少100輪、至少150輪、至少200輪、至少250輪、至少500輪、至少1000輪、至少1500輪、至少2000輪、至少5000輪、至少10000輪、至少10.sup.5輪或至少10.sup.6輪oRNA轉譯之前，與oRNA結合之核糖體不會脫離oRNA。

【0343】 在一些實施例中，oRNA之滾環轉譯引起產生自超過一輪oRNA轉譯而轉譯之多肽。在一些實施例中，oRNA包含交錯(stagger)元件，且oRNA之滾環轉譯引起產生自單輪oRNA轉譯或小於單輪oRNA轉譯產生的多肽產物。

環化

【0344】 在一個實施例中，線性RNA可經環化或串聯(concatemerized)。在一些實施例中，線性RNA可在調配及/或遞送之前活體外環化。在一些實施例中，線性RNA可在細胞內環化。

【0345】 在一些實施例中，環化或串聯之機制可經由至少3種不同途徑進行：1)化學、2)酶促及3)核糖核酸酶催化。新形成的5'-/3'-鍵聯可為分子內或分子間的。

【0346】 在第一途徑中，核酸之5'端及3'端含有化學反應性基團，該等化學反應性基團在緊靠在一起時在分子之5'端與3'端之間形成新的共價鍵聯。5'端可含有NHS-酯反應性基團，且3'端可含有3'-胺基封端之核苷酸，以使得在有機溶劑中，合成mRNA分子之3'端上之3'-胺基封端之核苷酸將在5'-NHS-酯部分上經歷親核攻擊，從而形成新的5'-/3'-醯胺鍵。

【0347】 在第二途徑中，T4 RNA連接酶可用於酶促連接5'-磷酸化核酸分子與核酸之3'-羥基，從而形成新的磷酸二酯鍵聯。在一實例反應

中，根據製造商之方案，將1 μg之核酸分子在37℃下與1-10個單位之T4 RNA連接酶(New England Biolabs, Ipswich, MA)一起培育1小時。連接反應可在能夠與輔助酶促連接反應之並置的5'-及3'-區域兩者鹼基配對之拆分寡核苷酸存在下進行。

【0348】 在第三途徑中，cDNA模板之5'端或3'端編碼連接酶核糖核酸酶序列，以使得在活體外轉錄期間，所得核酸分子可含有能夠連接核酸分子之5'端與核酸分子之3'端的活性核糖核酸酶序列。連接酶核糖核酸酶可衍生自於I組內含子、I組內含子、D型肝炎病毒、髮夾核糖核酸酶，或可藉由配體指數富集系統演化(systematic evolution of ligands by exponential enrichment；SELEX)來選擇。核糖核酸酶連接酶反應可在0與37℃之間的溫度下耗時1至24小時。

【0349】 在一些實施例中，oRNA係經由對線性RNA之環化製得。

胞外環化

【0350】 在一些實施例中，線性RNA使用化學方法環化或串聯以形成oRNA。在一些化學方法中，核酸(例如線性RNA)之5'端及3'端包括化學反應性基團，該等化學反應性基團在緊靠在一起時可在分子之5'端與3'端之間形成新的共價鍵聯。5'端可含有NHS-酯反應性基團，且3'端可含有3'-胺基封端之核苷酸，以使得在有機溶劑中，線性RNA之3'端上之3'-胺基封端之核苷酸將在5'-NHS-酯部分上經歷親核攻擊，從而形成新的5'-/3'-醯胺鍵。

【0351】 在一個實施例中，DNA或RNA連接酶可用於酶促連接5'-磷酸化核酸分子(例如線性RNA)與核酸(例如線性核酸)之3'-羥基，從而形成新的磷酸二酯鍵聯。在一實例反應中，根據製造商之方案，線性RNA

在37℃下與1-10個單位之T4 RNA連接酶一起培育1小時。連接反應可在能夠與輔助酶促連接反應之並置的5'-及3'-區域兩者鹼基配對的線性核酸存在下進行。在一個實施例中，該連接為夾板連接法(splint ligation)，其中單股聚核苷酸(夾板)，如單股RNA，可設計成與線性RNA之兩個末端雜交，以使得兩個末端可在與單股夾板雜交後並置。因此，夾板連接酶可催化線性RNA之並置的兩個末端連接，從而產生oRNA。

【0352】 在一個實施例中，DNA或RNA連接酶可用於合成oRNA。作為非限制性實例，連接酶可為circ接合酶或環狀接合酶。

【0353】 在一個實施例中，線性RNA之5'或3'端可編碼連接酶核糖核酸酶序列，以使得在活體外轉錄期間，所得線性RNA包括能夠連接線性RNA之5'端與線性RNA之3'端的活性核糖核酸酶序列。連接酶核糖核酸酶可衍生自I組內含子、D型肝炎病毒、髮夾核糖核酸酶，或可藉由配體指數富集系統演化(SELEX)來選擇。

【0354】 在一個實施例中，線性RNA可藉由使用至少一個非核酸部分環化或串聯。在一個態樣中，該至少一個非核酸部分可與線性RNA之5'端附近及/或3'端附近之區域或特徵反應，以便環化或串聯線性RNA。在另一態樣中，該至少一個非核酸部分可位於線性RNA之5'端及/或3'端中或與其連接或位於其附近。考慮之非核酸部分可為同源或異源的。作為非限制性實例，非核酸部分可為鍵聯，諸如疏水性鍵聯、離子鍵聯、可生物降解鍵聯及/或可裂解的鍵聯。作為另一非限制性實例，非核酸部分為連接部分。作為又一非限制性實例，非核酸部分可為寡核苷酸或肽部分，諸如如本文所描述之適體或非核酸連接子。

【0355】 在一個實施例中，線性RNA可歸因於引起線性RNA之5'及

3'端處、其附近或與其連接之原子、分子表面之間的吸引的非核酸部分而環化或串聯。作為非限制性實例，一或多個線性RNA可藉由分子間力或分子內力環化或串聯。分子間力之非限制性實例包括偶極-偶極力、偶極誘導之偶極力、誘導之偶極誘導之偶極力、凡得瓦爾力(Van der Waals force)及倫敦分散力(London dispersion force)。分子內力之非限制性實例包括共價鍵、金屬鍵、離子鍵、共振鍵、不可知鍵、偶極鍵、共軛(conjugation)、超共軛(hyperconjugation)及反鍵。

【0356】在一個實施例中，線性RNA可在5'端附近及3'端附近包含核糖核酸酶RNA序列。當序列暴露於核糖核酸酶之其餘部分時，核糖核酸酶RNA序列可與肽共價連接。在一個態樣中，與5'端及3'端附近之核糖核酸酶RNA序列共價連接之肽可彼此結合，從而使得線性RNA環化或串聯。在另一態樣中，在經受使用此項技術中已知之各種方法連接(諸如但不限於蛋白質連接)之後，與5'端及3'端附近之核糖核酸酶RNA共價連接之肽可使得線性RNA環化或串聯。

【0357】在一些實施例中，線性RNA可包括例如藉由使5'三磷酸酯與RNA 5'焦磷酸水解酶(RppH)或ATP二磷酸水解酶(apyrase)接觸，轉化為5'單磷酸酯之核酸的5'三磷酸酯。或者，將線性RNA之5'三磷酸酯轉化為5'單磷酸酯可藉由包含以下之兩步驟反應進行：(a)使線性RNA之5'核苷酸與磷酸酶(例如南極磷酸酶、蝦鹼性磷酸酶或小牛腸磷酸酶)接觸，以移除所有三個磷酸酯；及(b)使在步驟(a)後之5'核苷酸與添加單一磷酸酯之激酶(例如聚核苷酸激酶)接觸。

【0358】在一些實施例中，RNA可使用WO2017222911及WO2016197121中描述之方法環化，其各自之內容以全文引用之方式併入

本文中。

【0359】 在一些實施例中，RNA可例如藉由反向剪接非哺乳動物外源性內含子或夾板連接線性RNA之5'及3'端而環化。在一個實施例中，由編碼待製備為環狀之目標RNA之重組核酸產生環狀RNA。作為非限制性實例，該方法包含：a)產生編碼待製備為環狀之目標RNA之重組核酸，其中重組核酸按5'至3'次序包含：i)包含3'剪接位點之外源性內含子之3'部分，ii)編碼目標RNA之核酸序列，及iii)包含5'剪接位點之外源性內含子之5'部分；b)進行轉錄，從而RNA由重組核酸產生；及c)進行RNA剪接，從而RNA環化以產生oRNA。

【0360】 雖然不希望受理論束縛，但產生的具有外源性內含子之環狀RNA被免疫系統識別為「非自身」的且觸發先天性免疫反應。另一方面，產生的具有內源性內含子之環狀RNA被免疫系統識別為「自身」的，且一般不會刺激先天性免疫反應，即使攜帶包含外來RNA之外顯子。

【0361】 因此，視需要可產生具有內源性或外源性內含子之環狀RNA來控制免疫學自身/非自身區分。來自廣泛多種生物體及病毒之多種內含子序列為已知的，且包括衍生自編碼蛋白質、核糖體RNA (rRNA)或轉移RNA (tRNA)之基因的序列。

【0362】 環狀RNA可以多種方式由線性RNA產生。在一些實施例中，環狀RNA藉由反向剪接下游5'剪接位點(剪接供體)至上游3'剪接位點(剪接受體)而由線性RNA產生。環狀RNA可以此方式藉由任何非哺乳動物剪接方法產生。舉例而言，含有各種類型之內含子(包括自剪接I組內含子、自剪接II組內含子、剪接體內含子及tRNA內含子)之線性RNA可經環

化。特別地，I組及II組內含子具有優勢，因為其可容易地用於產生活體外以及活體內環狀RNA，此係因為歸因於其自催化核糖核酸酶活性其能夠進行自剪接。

【0363】 在一些實施例中，環狀RNA可藉由化學或酶促連接RNA之5'及3'端而由線性RNA活體外產生。化學連接可例如使用溴化氰(BrCN)或乙基-3-(3'-二甲胺基丙基)碳化二亞胺(EDC)用於活化核苷酸磷酸單酯基團以允許磷酸二酯鍵形成來進行。參見例如Sokolova (1988) FEBS Lett 232: 153-155；Dolinnaya等人(1991) Nucleic Acids Res., 19:3067-3072；Fedorova (1996) Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids 15: 1 137-1 147；以引用的方式併入本文中。或者，酶促連接可用於環化RNA。可使用之例示性連接酶包括T4 DNA連接酶(T4 Dnl)、T4 RNA連接酶1 (T4 Rnl 1)及T4 RNA連接酶2 (T4 Rnl 2)。

【0364】 在一些實施例中，使用與線性RNA之兩端雜交之寡核苷酸夾板的夾板連接可用於使線性RNA之末端連接在一起。夾板(其可為DNA或RNA)之雜交使RNA末端之5'-磷酸酯及3'-OH定向以用於連接。後續連接可使用化學或酶促技術進行，如上文所描述。酶促連接可例如用T4 DNA連接酶(DNA夾板需要)、T4 RNA連接酶1 (RNA夾板需要)或T4 RNA連接酶2 (DNA或RNA夾板)進行。在一些情況下，若雜交的夾板-RNA複合物之結構干擾酶活性，則諸如用BrCN或EDC之化學連接比酶促連接更高效。

【0365】 在一些實施例中，oRNA可進一步包含可操作地連接於編碼多肽之RNA序列之內部核糖體進入位點(IRES)。包括IRES准許自環狀RNA轉譯一或多個開讀框。IRES元件吸引真核核糖體轉譯起始複合物且

促進轉譯起始。參見例如Kaufman等人, Nuc. Acids Res. (1991) 19:4485-4490；Gurtu等人, Biochem. Biophys. Res. Comm. (1996) 229:295-298；Rees 等人, BioTechniques (1996) 20: 102-110；Kobayashi 等人, BioTechniques (1996) 21 :399-402；及Mosser等人, BioTechniques 1997 22 150-161)。

【0366】 在一些實施例中，本文提供之環化方法的環化效率為至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%、至少約95%或100%。在一些實施例中，本文提供之環化方法的環化效率為至少約40%。

剪接元件

【0367】 在一些實施例中，oRNA包括至少一個剪接元件。剪接元件可為可介導oRNA之剪接的完整剪接元件，或剪接元件可為來自完成剪接事件之殘餘剪接元件。舉例而言，在一些情況下，線性RNA之剪接元件可介導引起線性RNA環化之剪接事件，從而所得oRNA包含來自此類剪接介導之環化事件的殘餘剪接元件。在一些情況下，殘餘剪接元件不能介導任何剪接。在其他情況下殘餘剪接元件仍可在某些情況下介導剪接。在一些實施例中，剪接元件與至少一個表現序列相鄰。在一些實施例中，oRNA包括鄰近各表現序列之剪接元件。在一些實施例中，剪接元件在各表現序列之一側或兩側上，引起例如肽及/或多肽之表現產物分離。

【0368】 在一些實施例中，oRNA包括在複製時剪接端接合在一起的內部剪接元件。一些實例可包括具有剪接位點序列及短反向重複序列(30-40 nt)之微型內含子(<100 nt) (諸如AluSq2、AluJr及AluSz)、側接內

含子中之反向序列、側接內含子中之Alu元件及在接近反向剪接事件之順式序列元件中發現之基序(上表4 (suptable4)富集基序)，諸如在側接外顯子之反向剪接位點之前(上游)或之後(下游) 200 bp中的序列。在一些實施例中，oRNA包括至少一個本文中別處描述為內部剪接元件之重複核苷酸序列。在此類實施例中，重複核苷酸序列可包括來自Alu家族內含子之重複序列。參見例如美國專利案第11,058,706號。

【0369】 在一些實施例中，oRNA可包括側接oRNA之頭對尾接合之典型剪接位點。

【0370】 在一些實施例中，oRNA可包括隆突-螺旋-隆突基序，其包含側接兩個3核苷酸隆突之4鹼基對莖。裂解發生在隆突區中之一位點處，從而產生具有末端5'-羥基及2',3'-環狀磷酸酯之特徵片段。環化藉由以下進行：將5'-OH基團親核攻擊至同一分子之2',3'-環狀磷酸酯上，從而形成3',5'-磷酸二酯橋。

【0371】 在一些實施例中，oRNA可包括介導自我連接之序列。可介導自我連接之序列之非限制性實例包括自環化內含子(例如5'及3'剪接點(slice junction))或自環化催化性內含子(諸如I組、II組或III組內含子)。I組內含子自剪接序列之非限制性實例可包括衍生自T4噬菌體基因td之自剪接之排列內含子-外顯子序列，及四膜蟲(Tetrahymena)之中間序列(IVS) rRNA。

其他環化方法

【0372】 在一些實施例中，線性RNA可包括互補序列，包括個別內含子內或整個側接內含子中之重複或非重複核酸序列。在一些實施例中，oRNA包括重複核酸序列。在一些實施例中，重複核苷酸序列包括聚CA

或聚UG序列。在一些實施例中，oRNA包括至少一個與oRNA之另一片段中之互補重複核酸序列雜交之重複核酸序列，其中雜交的片段形成內部雙股。在一些實施例中，來自兩個單獨oRNA之重複核酸序列及互補重複核酸序列進行雜交以產生單一oRNA，其中雜交的區段形成內部雙股。在一些實施例中，互補序列存在於線性RNA之5'及3'端處。在一些實施例中，互補序列包括約3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100個或更多個配對的核苷酸。

【0373】 在一些實施例中，環化化學方法可用於產生oRNA。此類方法可包括但不限於點擊化學(例如基於炔及疊氮化物之方法或可點擊鹼基)、烯烴複分解、胺基磷酸酯連接、半胺醛-亞胺交聯、鹼基修飾及其任何組合。

【0374】 在一些實施例中，環化酶促方法可用於產生oRNA。在一些實施例中，連接酶，例如DNA或RNA連接酶，可用於產生oRNA或互補序列之模板、oRNA之互補股或oRNA。

小干擾RNA (siRNA)

【0375】 在一些實施例中，有效負載區域可為或編碼可用於降低或抑制基因之表現之RNA干擾(RNAi)序列。RNAi (亦稱為轉錄後基因靜默(PTGS)、壓製或共抑制)為轉錄後基因靜默方法，其中RNA分子以序列特異性方式降低或抑制基因表現，通常藉由使特定mRNA分子受到破壞。RNAi之活性組分為短/小雙股RNA (dsRNA)，稱為小干擾RNA (siRNA)，其通常含有15-30個核苷酸(例如，19至25、19至24或19-21個

核苷酸)及2核苷酸3'懸垂物，且其匹配目標基因之核酸序列。此等短RNA物種可藉由Dicer介導之較大dsRNA的裂解而在活體內天然產生，且其在哺乳動物細胞中具功能性。

【0376】 天然表現之小RNA分子，稱為微小RNA (miRNA)，藉由調節mRNA之表現引起基因靜默。含有miRNA之RNA誘導之靜默複合物(RISC)靶向與miRNA之5'區中之核苷酸2-7 (其稱為種子區域)呈現完美序列互補性的mRNA，且其他鹼基與其3'區進行配對。miRNA介導之基因表現下調可能由目標mRNA之裂解、目標mRNA之轉譯抑制或mRNA分解引起。miRNA靶向序列通常位於目標mRNA之3'-UTR中。單一miRNA可靶向超過100種來自各種基因之轉錄本，且一種mRNA可被不同miRNA所靶向。

【0377】 靶向特定mRNA之siRNA雙螺旋或dsRNA可在活體外設計及合成，且引入細胞中用於活化RNAi過程。先前已顯示，21-核苷酸siRNA雙螺旋(稱為小干擾RNA)能夠在哺乳動物細胞中實現強效及特異性基因表現減弱而不誘導免疫反應。現在藉由siRNA進行轉錄後基因靜默已快速作為用於哺乳動物細胞中之基因分析之強大工具，且具有產生新治療劑的潛能。

【0378】 活體外合成之siRNA序列可引入細胞中以活化RNAi。在引入細胞中時，類似於內源性dsRNA，外源性siRNA雙螺旋可經組裝以形成RNA誘導靜默複合物(RISC)，一種與RNA序列(其與siRNA雙螺旋之兩股中之一者互補(亦即反義股))相互作用的多單元複合物。在該過程期間，siRNA之有義股(或乘客股)自複合物丟失，而siRNA之反義股(或引導股)與其互補去氧核酸匹配。特別地，含有siRNA之RISC複合物之目標為

呈現完美序列互補性的mRNA。接著，siRNA介導之基因靜默藉由裂解、釋放及降解目標而發生。

【0379】 由與目標mRNA同源的有義股及與目標mRNA互補的反義股構成的siRNA雙螺旋在目標RNA破壞效率方面，提供的優勢比使用單股(ss)-siRNA (例如，反義股RNA或反義寡核苷酸)多得多。在多數情況下，需要較高濃度之ss-siRNA以達成對應雙螺旋之有效基因靜默效能。

siRNA雙螺旋之設計及序列

【0380】 已在此項技術中提出設計siRNA之一些指南。此等指南一般建議生成19-核苷酸雙螺旋區域、對稱2-3核苷酸3'懸垂物、5'-磷酸酯及靶向基因中之待靜默區域的3'-羥基。可控管siRNA序列偏好之其他規則包括但不限於：(i)在反義股之5'端處的A/U；(ii)在有義股之5'端處的G/C；(iii)在反義股之5'端三分之一處的至少五個A/U殘基；及(iv)不存在長度超過9個核苷酸之任何GC延伸部分。根據此類考慮因素，連同目標基因之特定序列，可容易地設計抑制哺乳動物目標基因表現所必需的高效siRNA構築體。

【0381】 在一些實施例中，設計靶向特定基因之siRNA構築體(例如siRNA雙螺旋或所編碼之dsRNA)。具體言之，此類siRNA構築體可抑制基因表現及蛋白質產生。在一些態樣中，siRNA構築體設計成及用於選擇性地「基因剔除」細胞中之基因變體，亦即在患者中鑑別出或為各種疾病及/或病症之病因的突變轉錄本。在一些態樣中，siRNA構築體設計成及用於選擇性地「基因表現減弱」細胞中之基因之變體。在其他態樣中，siRNA構築體能夠抑制或抑止基因之野生型及突變型形式兩者。

【0382】 在一些實施例中，siRNA序列包含有義股及互補反義股，

其中兩股雜交在一起以形成雙螺旋結構。反義股與mRNA序列具有足夠的互補性以引導目標特異性RNAi，亦即，siRNA序列具有足以藉由RNAi機制或過程觸發目標mRNA之破壞的序列。

【0383】 在一些實施例中，siRNA序列包含有義股及互補反義股，其中兩股雜交在一起以形成雙螺旋結構，且其中與mRNA雜交之起始位點在mRNA序列上之核苷酸100與10,000之間。作為非限制性實例，起始位點可在以下之間：mRNA序列上之核苷酸100-150、150-200、200-250、250-300、300-350、350-400、400-450、450-500、500-550、550-600、600-650、650-700、700-70、750-800、800-850、850-900、900-950、950-1000、1000-1050、1050-1100、1100-1150、1150-1200、1200-1250、1250-1300、1300-1350、1350-1400、1400-1450、1450-1500、1500-1550、1550-1600、1600-1650、1650-1700、1700-1750、1750-1800、1800-1850、1850-1900、1900-1950、1950-2000、2000-2050、2050-2100、2100-2150、2150-2200、2200-2250、2250-2300、2300-2350、2350-2400、2400-2450、2450-2500、2500-2550、2550-2600、2600-2650、2650-2700、2700-2750、2750-2800、2800-2850、2850-2900、2900-2950、2950-3000、3000-3050、3050-3100、3100-3150、3150-3200、3200-3250、3250-3300、3300-3350、3350-3400、3400-3450、3450-3500、3500-3550、3550-3600、3600-3650、3650-3700、3700-3750、3750-3800、3800-3850、3850-3900、3900-3950、3950-4000、4000-4050、4050-4100、4100-4150、4150-4200、4200-4250、4250-4300、4300-4350、4350-4400、4400-4450、4450-4500、4500-4550、4550-4600、4600-4650、4650-4700、4700-4750、4750-4800、

4800-4850、4850-4900、4900-4950、4950-5000、5000-5050、5050-5100、5100-5150、5150-5200、5200-5250、5250-5300、5300-5350、5350-5400、5400-5450、5450-5500、5500-5550、5550-5600、5600-5650、5650-5700、5700-5750、5750-5800、5800-5850、5850-5900、5900-5950、5950-6000、6000-6050、6050-6100、6100-6150、6150-6200、6200-6250、6250-6300、6300-6350、6350-6400、6400-6450、6450-6500、6500-6550、6550-6600、6600-6650、6650-6700、6700-6750、6750-6800、6800-6850、6850-6900、6900-6950、6950-7000、7000-7050、7050-7100、7100-7150、7150-7200、7200-7250、7250-7300、7300-7350、7350-7400、7400-7450、7450-7500、7500-7550、7550-7600、7600-7650、7650-7700、7700-7750、7750-7800、7800-7850、7850-7900、7900-7950、7950-8000、8000-8050、8050-8100、8100-8150、8150-8200、8200-8250、8250-8300、8300-8350、8350-8400、8400-8450、8450-8500、8500-8550、8550-8600、8600-8650、8650-8700、8700-8750、8750-8800、8800-8850、8850-8900、8900-8950、8950-9000、9000-9050、9050-9100、9100-9150、9150-9200、9200-9250、9250-9300、9300-9350、9350-9400、9400-9450、9450-9500、9500-9550、9550-9600、9600-9650、9650-9700、9700-9750、9750-9800、9800-9850、9850-9900、9900-9950、9950-10000。

【0384】在一些實施例中，反義股與目標mRNA序列具有100%互補性。反義股可與目標mRNA序列之任何部分互補。

【0385】在其他實施例中，反義股及目標mRNA序列包含至少一個錯配。作為非限制性實例，反義股及目標mRNA序列具有至少30%、

40%、50%、60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%，或至少20-30%、20-40%、20-50%、20-60%、20-70%、20-80%、20-90%、20-95%、20-99%、30-40%、30-50%、30-60%、30-70%、30-80%、30-90%、30-95%、30-99%、40-50%、40-60%、40-70%、40-80%、40-90%、40-95%、40-99%、50-60%、50-70%、50-80%、50-90%、50-95%、50-99%、60-70%、60-80%、60-90%、60-95%、60-99%、70-80%、70-90%、70-95%、70-99%、80-90%、80-95%、80-99%、90-95%、90-99%或95-99%互補性。

【0386】在一些實施例中，siRNA序列之長度為約10-50或更多個核苷酸，亦即各股包含10-50個核苷酸(或核苷酸類似物)。較佳地，siRNA序列在各股中之長度為約15-30個，例如15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30個核苷酸，其中各股中之一者與目標區域充分互補。在一些實施例中，siRNA序列之長度為約19至25、19至24或19至21個核苷酸。

【0387】在一些實施例中，siRNA序列可為合成RNA雙螺旋，其包含約19個核苷酸至約25個核苷酸及在3'端處之兩個懸垂核苷酸。在一些態樣中，siRNA構築體可為未經修飾之RNA分子。在其他態樣中，siRNA構築體可含有至少一個經修飾之核苷酸，諸如鹼基、糖或主鏈修飾。

【0388】在一些實施例中，siRNA序列可在質體載體、病毒載體或其他核酸表現載體中編碼以遞送至細胞。DNA表現質體可用於在細胞中穩定地表現siRNA雙螺旋或dsRNA且達成目標基因表現之長期抑制。在一個態樣中，siRNA雙螺旋之有義股及反義股通常地藉由短間隔子序列連

接，從而引起表現稱為短髮夾RNA (shRNA)之莖-環結構。髮夾係由Dicer識別且裂解，由此產生成熟siRNA構築體。

【0389】 在一些實施例中，siRNA雙螺旋之有義股及反義股可藉由短間隔子序列連接，該短間隔子序列可視情況與額外側接序列連接，從而引起表現稱為一級微小RNA (pri-miRNA)之側接臂-莖-環結構。pri-miRNA可由Drosha及Dicer識別及裂解，且因此產生成熟siRNA構築體。

【0390】 在一些實施例中，siRNA雙螺旋或所編碼之dsRNA抑制(或降解)目標mRNA。因此，siRNA雙螺旋或所編碼之dsRNA可用於實質上抑制細胞中之基因表現。在一些態樣中，基因表現之抑制係指抑制至少約20%，較佳地至少約30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%及100%，或至少20-30%、20-40%、20-50%、20-60%、20-70%、20-80%、20-90%、20-95%、20-100%、30-40%、30-50%、30-60%、30-70%、30-80%、30-90%、30-95%、30-100%、40-50%、40-60%、40-70%、40-80%、40-90%、40-95%、40-100%、50-60%、50-70%、50-80%、50-90%、50-95%、50-100%、60-70%、60-80%、60-90%、60-95%、60-100%、70-80%、70-90%、70-95%、70-100%、80-90%、80-95%、80-100%、90-95%、90-100%或95-100%。因此，可使所靶向基因之蛋白質產物抑制至少約20%，諸如至少約30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%及100%，或至少20-30%、20-40%、20-50%、20-60%、20-70%、20-80%、20-90%、20-95%、20-100%、30-40%、30-50%、30-60%、30-70%、30-80%、30-90%、30-95%、30-100%、40-50%、40-60%、40-70%、40-80%、40-90%、40-95%、40-100%、50-60%、50-70%、50-80%、50-90%、50-95%、50-

100%、60-70%、60-80%、60-90%、60-95%、60-100%、70-80%、70-90%、70-95%、70-100%、80-90%、80-95%、80-100%、90-95%、90-100%或95-100%。

【0391】在一些實施例中，siRNA構築體包含位於引導股中之目標之miRNA種子匹配。在另一實施例中，siRNA構築體包含位於乘客股中之目標的miRNA種子匹配。在又另一實施例中，靶向基因之siRNA雙螺旋或所編碼之dsRNA不包含位於引導或乘客股中的目標之種子匹配。

【0392】在一些實施例中，靶向基因之siRNA雙螺旋或所編碼之dsRNA對於引導股可幾乎沒有顯著全長脫靶。在另一實施例中，靶向基因之siRNA雙螺旋或所編碼之dsRNA對於乘客股可幾乎沒有顯著全長脫靶作用。靶向基因之siRNA雙螺旋或所編碼之dsRNA對於乘客股可具有小於1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、1-5%、2-6%、3-7%、4-8%、5-9%、5-10%、6-10%、5-15%、5-20%、5-25%、5-30%、10-20%、10-30%、10-40%、10-50%、15-30%、15-40%、15-45%、20-40%、20-50%、25-50%、30-40%、30-50%、35-50%、40-50%、45-50%全長脫靶作用。在又另一實施例中，靶向基因之siRNA雙螺旋或所編碼之dsRNA對於引導股或乘客股可幾乎沒有顯著全長脫靶。靶向基因之siRNA雙螺旋或所編碼之dsRNA對於引導或乘客股可具有小於1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%,11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、1-5%、2-6%、3-7%、4-8%、5-9%、5-10%、6-10%、5-15%、5-20%、5-25%、5-30%、10-20%、10-30%、10-40%、10-50%、15-30%、15-

40%、15-45%、20-40%、20-50%、25-50%、30-40%、30-50%、35-50%、40-50%、45-50%全長脫靶作用。

【0393】在一些實施例中，靶向基因之siRNA雙螺旋或所編碼之dsRNA可具有高活體外活性。在另一實施例中，siRNA構築體可具有低活體外活性。在又另一實施例中，靶向基因之siRNA雙螺旋或dsRNA可具有活體外高引導股活性及低乘客股活性。

【0394】在一些實施例中，siRNA構築體具有高活體外引導股活性及低活體外乘客股活性。藉由引導股進行之目標基因表現減弱(knock-down；KD)可為至少40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%、99.5%或100%。藉由引導股進行之目標基因表現減弱可為40-50%、45-50%、50-55%、50-60%、60-65%、60-70%、60-75%、60-80%、60-85%、60-90%、60-95%、60-99%、60-99.5%、60-100%、65-70%、65-75%、65-80%、65-85%、65-90%、65-95%、65-99%、65-99.5%、65-100%、70-75%、70-80%、70-85%、70-90%、70-95%、70-99%、70-99.5%、70-100%、75-80%、75-85%、75-90%、75-95%、75-99%、75-99.5%、75-100%、80-85%、80-90%、80-95%、80-99%、80-99.5%、80-100%、85-90%、85-95%、85-99%、85-99.5%、85-100%、90-95%、90-99%、90-99.5%、90-100%、95-99%、95-99.5%、95-100%、99-99.5%、99-100%或99.5-100%。作為非限制性實例，藉由引導股進行之目標基因表現減弱(KD)大於70%。作為非限制性實例，藉由引導股進行之目標基因表現減弱(KD)大於60%。

【0395】在一些實施例中，活體外或活體內所表現之引導與乘客(G:P)(亦稱為反義與有義)股比率為至少1:10、1:9、1:8、1:7、1:6、

1:5、1:4、1:3、1:2、1;1、2:10、2:9、2:8、2:7、2:6、2:5、2:4、2:3、2:2、2:1、3:10、3:9、3:8、3:7、3:6、3:5、3:4、3:3、3:2、3:1、4:10、4:9、4:8、4:7、4:6、4:5、4:4、4:3、4:2、4:1、5:10、5:9、5:8、5:7、5:6、5:5、5:4、5:3、5:2、5:1、6:10、6:9、6:8、6:7、6:6、6:5、6:4、6:3、6:2、6:1、7:10、7:9、7:8、7:7、7:6、7:5、7:4、7:3、7:2、7:1、8:10、8:9、8:8、8:7、8:6、8:5、8:4、8:3、8:2、8:1、9:10、9:9、9:8、9:7、9:6、9:5、9:4、9:3、9:2、9:1、10:10、10:9、10:8、10:7、10:6、10:5、10:4、10:3、10:2、10:1、1:99、5:95、10:90、15:85、20:80、25:75、30:70、35:65、40:60、45:55、50:50、55:45、60:40、65:35、70:30、75:25、80:20、85:15、90:10、95:5或99:1。引導與乘客比率係指在胞內加工pri-microRNA之後引導股與乘客股之比率。舉例而言，80:20引導與乘客比率將由前驅體加工的每2個乘客股具有8個引導股。作為非限制性實例，活體外引導股與乘客股比率為8:2。作為非限制性實例，活體內引導股與乘客股比率為8:2。作為非限制性實例，活體外引導股與乘客股比率為9:1。作為非限制性實例，活體內引導股與乘客股比率為9:1。

【0396】 在一些實施例中，所表現之引導與乘客(G:P) (亦稱為反義與有義)股比率大於1。在一些實施例中，所表現之引導與乘客(G:P) (亦稱為反義與有義)股比率大於2。在一些實施例中，所表現之引導與乘客(G:P) (亦稱為反義與有義)股比率大於5。在一些實施例中，所表現之引導與乘客(G:P) (亦稱為反義與有義)股比率大於10。在一些實施例中，所表現之引導與乘客(G:P) (亦稱為反義與有義)股比率大於20。在一些實施例中，所表現之引導與乘客(G:P) (亦稱為反義與有義)股比率大於50。在一

些實施例中，所表現之引導與乘客(G:P) (亦稱為反義與有義)股比率為至少3:1。在一些實施例中，所表現之引導與乘客(G:P) (亦稱為反義與有義)股比率為至少5:1。在一些實施例中，所表現之引導與乘客(G:P) (亦稱為反義與有義)股比率為至少10:1。在一些實施例中，所表現之引導與乘客(G:P) (亦稱為反義與有義)股比率為至少20:1。在一些實施例中，所表現之引導與乘客(G:P) (亦稱為反義與有義)股比率為至少50:1。

【0397】 在一些實施例中，活體外或活體內表現之乘客與引導(P:G) (亦稱為有義與反義)股比率為至少1:10、1:9、1:8、1:7、1:6、1:5、1:4、1:3、1:2、1;1、2:10、2:9、2:8、2:7、2:6、2:5、2:4、2:3、2:2、2:1、3:10、3:9、3:8、3:7、3:6、3:5、3:4、3:3、3:2、3:1、4:10、4:9、4:8、4:7、4:6、4:5、4:4、4:3、4:2、4:1、5:10、5:9、5:8、5:7、5:6、5:5、5:4、5:3、5:2、5:1、6:10、6:9、6:8、6:7、6:6、6:5、6:4、6:3、6:2、6:1、7:10、7:9、7:8、7:7、7:6、7:5、7:4、7:3、7:2、7:1、8:10、8:9、8:8、8:7、8:6、8:5、8:4、8:3、8:2、8:1、9:10、9:9、9:8、9:7、9:6、9:5、9:4、9:3、9:2、9:1、10:10、10:9、10:8、10:7、10:6、10:5、10:4、10:3、10:2、10:1、1:99、5:95、10:90、15:85、20:80、25:75、30:70、35:65、40:60、45:55、50:50、55:45、60:40、65:35、70:30、75:25、80:20、85:15、90:10、95:5或99:1。乘客與引導比率係指在切除引導股之後乘客股與引導股之比率。舉例而言，80:20乘客與引導比率將自前驅體加工之每2個引導股具有8個乘客股。作為非限制性實例，活體外乘客股與引導股比率為80:20。作為非限制性實例，活體內乘客股與引導股比率為80:20。作為非限制性實例，活體外乘客股與引導股比率為8:2。作為非限制性實例，活體內乘客股與引導股比率為8:2。

作為非限制性實例，活體外乘客股與引導股比率為9:1。作為非限制性實例，活體內乘客股與引導股比率為9:1。

【0398】 在一些實施例中，所表現之乘客與引導(P:G) (亦稱為有義與反義)股比率大於1。在一些實施例中，所表現之乘客與引導(P:G) (亦稱為有義與反義)股比率大於2。在一些實施例中，所表現之乘客與引導(P:G) (亦稱為有義與反義)股比率大於5。在一些實施例中，所表現之乘客與引導(P:G) (亦稱為有義與反義)股比率大於10。在一些實施例中，所表現之乘客與引導(P:G) (亦稱為有義與反義)股比率大於20。在一些實施例中，所表現之乘客與引導(P:G) (亦稱為有義與反義)股比率大於50。在一些實施例中，所表現之乘客與引導(P:G) (亦稱為有義與反義)股比率為至少3:1。在一些實施例中，所表現之乘客與引導(P:G) (亦稱為有義與反義)股比率為至少5:1。在一些實施例中，所表現之乘客與引導(P:G) (亦稱為有義與反義)股比率為至少10:1。在一些實施例中，所表現之乘客與引導(P:G) (亦稱為有義與反義)股比率為至少20:1。在一些實施例中，所表現之乘客與引導(P:G) (亦稱為有義與反義)股比率為至少50:1。

【0399】 在一些實施例中，在量測加工時，當pri-或pre-microRNA但此項技術中已知及本文所描述之方法展現大於2倍引導股與乘客股比率時，乘客-引導股雙螺旋視為有效。作為一非限制性實例，當量測加工時，pri-或pre-microRNA展現大於2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍或2至5倍、2至10倍、2至15倍、3至5倍、3至10倍、3至15倍、4至5倍、4至10倍、4至15倍、5至10倍、5至15倍、6至10倍、6至15倍、7至10倍、7至15倍、8至10倍、8至15倍、9至10倍、9至15倍、10至15倍、11至15倍、12至15倍、13至

15倍或14至15倍引導股與乘客股比率。

【0400】 在一些實施例中，編碼dsRNA之載體基因體包含為構築體之全長的至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或超過99%之序列。作為非限制性實例，載體基因體包含為構築體之全長序列之至少80%的序列。

【0401】 在一些實施例中，siRNA構築體可用於藉由靶向序列上之至少一個外顯子而使野生型或突變基因靜默。

siRNA修飾

【0402】 在一些實施例中，siRNA構築體，在不以前驅體或DNA形式遞送時，可經化學修飾以調節RNA分子之一些特徵，諸如但不限於，增加活體內siRNA之穩定性。經化學修飾之siRNA構築體可用於人類治療性應用，且經改良而不損害siRNA構築體之RNAi活性。作為非限制性實例，siRNA構築體在有義股及反義股之3'及5'端處均經修飾。

【0403】 在一些實施例中，經修飾之核苷酸可僅在有義股上。

【0404】 在一些實施例中，經修飾之核苷酸可僅在反義股上。

【0405】 在一些實施例中，經修飾之核苷酸可在有義股及反義兩者中。

【0406】 在一些實施例中，經化學修飾之核苷酸不影響反義股與目標mRNA序列配對之能力。

微小RNA (miR)骨架

【0407】 在一些實施例中，siRNA構築體可編碼於亦包含微小RNA (miR)骨架構築體之聚核苷酸序列中。如本文所用，「微小RNA (miR)骨架構築體」為形成設計或製造後續分子之序列或結構基礎的構架或起始分

子。

【0408】 在一些實施例中，miR骨架構築體包含至少一個5'側接區域。作為非限制性實例，5'側接區域可包含可具有任何長度且可完全或部分衍生自野生型微小RNA序列或完全為人工序列的5'側接序列。

【0409】 在一些實施例中，miR骨架構築體包含至少一個3'側接區域。作為非限制性實例，3'側接區域可包含可具有任何長度且可完全或部分衍生自野生型微小RNA序列或完全為人工序列的3'側接序列。

【0410】 在一些實施例中，miR骨架構築體包含至少一個環基序區域。作為非限制性實例，環基序區域可包含可具有任何長度之序列。

【0411】 在一些實施例中，miR骨架構築體包含5'側接區域、環基序區域及/或3'側接區域。

【0412】 在一些實施例中，至少一個有效負載(例如本文所描述之siRNA、miRNA或其他RNAi劑)可由亦可包含至少一個miR骨架構築體之聚核苷酸編碼。miR骨架構築體可包含可具有任何長度且可完全或部分地衍生自野生型微小RNA序列或完全為人工的5'側接序列。3'側接序列可在尺寸及來源方面反映5'側接序列及/或3'側接序列。可不存在任一側接序列。3'側接序列可視情況含有一或多個CNNC基序，其中「N」表示任何核苷酸。

【0413】 在一些實施例中，包含或編碼miR骨架構築體之聚核苷酸之莖環結構之5'臂包含編碼有義序列的序列。

【0414】 在一些實施例中，包含或編碼miR骨架構築體之聚核苷酸之莖環之3'臂包含編碼反義序列的序列。在一些情況下，反義序列在最5'末端處包含「G」核苷酸。

【0415】 在一些實施例中，有義序列可駐存在包含或編碼miR骨架構築體之聚核苷酸之莖環結構之莖的3'臂上，同時反義序列駐存在其5'臂上。

【0416】 在一些實施例中，有義序列及反義序列可在其大部分長度中完全互補。在其他實施例中，有義序列及反義序列可在獨立地至少50、60、70、80、85、90、95或99%的各股之長度中呈至少70、80、90、95或99%互補性。

【0417】 有義序列之一致性或反義序列之同源性均不需要與目標序列100%互補。

【0418】 在一些實施例中，分隔聚核苷酸之莖環結構之有義序列與反義序列的為環序列(亦稱為環基序、連接子或連接子基序)。環序列可具有任何長度：在4-30個核苷酸之間、在4-20個核苷酸之間、在4-15個核苷酸之間、在5-15個核苷酸之間、在6-12個核苷酸之間、6個核苷酸、7個核苷酸、8個核苷酸、9個核苷酸、10個核苷酸、11個核苷酸、12個核苷酸、13個核苷酸、14個核苷酸及/或15個核苷酸。

【0419】 在一些實施例中，環序列包含編碼至少一個UGUG基序之核酸序列。在一些實施例中，編碼UGUG基序之核酸序列位於環序列之5'端。

【0420】 在一些實施例中，間隔子區域可存在於聚核苷酸中以將一或多個模組(例如，5'側接區域、環基序區域、3'側接區域、有義序列、反義序列)彼此分隔開。可存在一或多個此類間隔子區域。

【0421】 在一些實施例中，具有在8至20個之間，亦即8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個核苷酸的間隔子區域可存

在於有義序列與側接區域序列之間。

【0422】 在一些實施例中，間隔子區域之長度為13個核苷酸且位於有義序列之5'端與側接序列之3'端之間。在一些實施例中，間隔子具有足夠的長度以形成序列之大致一個螺旋轉角。

【0423】 在一些實施例中，具有在8-20個之間，亦即8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個核苷酸的間隔子區域可存在於反義序列與側接序列之間。

【0424】 在一些實施例中，間隔子序列在10-13個，亦即10、11、12或13個核苷酸之間，且位於反義序列之3'端與側接序列之5'端之間。在一些實施例中，間隔子具有足夠的長度以形成序列之大致一個螺旋轉角。

【0425】 在一些實施例中，聚核苷酸在5'至3'方向上包含5'側接序列、5'臂、環基序、3'臂及3'側接序列。作為非限制性實例，5'臂可包含有義序列，且3'臂包含反義序列。在另一非限制性實施例中，5'臂包含反義序列，且3'臂包含有義序列。

【0426】 在一些實施例中，5'臂、有效負載(例如有義序列及/或反義序列)、環基序及/或3'臂序列可改變(例如取代1或多個核苷酸、添加核苷酸及/或缺失核苷酸)。改變可引起構築體之功能的有益變化(例如增加目標序列之基因表現減弱、減少構築體之降解、減少脫靶作用、提高有效負載之效率及減少有效負載之降解)。

【0427】 在一些實施例中，為了使引導股之切除率大於乘客股之切除率，比對聚核苷酸之miR骨架構築體。引導或乘客股之切除率可獨立地為1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、

95%、99%或超過99%。作為非限制性實例，引導股之切除率為至少80%。作為另一非限制性實例，導引股之切除率為至少90%。

【0428】 在一些實施例中，引導股之切除率大於乘客股之切除率。在一個態樣中，引導股之切除率可比乘客股大至少1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或超過99%。

【0429】 在一些實施例中，引導股之切除效率為至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或超過99%。作為非限制性實例，引導股之切除效率大於80%。

【0430】 在一些實施例中，引導股之切除效率大於乘客股自miR骨架構築體之切除。引導股之切除可比乘客股自miR骨架構築體之切除更高效2、3、4、5、6、7、8、9、10或超過10倍。

【0431】 在一些實施例中，miR骨架構築體包含雙功能靶向聚核苷酸。如本文所用，「雙功能靶向」聚核苷酸為引導股及乘客股基因表現減弱相同目標或引導股及乘客股基因表現減弱不同目標的聚核苷酸。

【0432】 在一些實施例中，本文所描述之聚核苷酸之miR骨架構築體可包含5'側接區域、環基序區域及3'側接區域。

【0433】 在一些實施例中，聚核苷酸係使用以下特性中之至少一者設計：環變體、種子錯配/隆突/擺動變體、莖錯配、環變體及附屬(vassal)莖錯配變體、種子錯配及基部莖(basal stem)錯配變體、莖錯配及基部莖錯配變體、種子擺動及基部莖擺動變體或莖序列變體。

【0434】 在一些實施例中，miR骨架構築體可為天然pri-miRNA骨架。

【0435】 在一些實施例中，miR骨架構築體之選擇係藉由比較pri-miRNA中之聚核苷酸之方法確定。

【0436】 在一些實施例中，miR骨架構築體之選擇係藉由比較天然pri-miRNA及合成pri-miRNA中之聚核苷酸之方法確定。

轉移RNA (tRNA)

【0437】 轉移RNA (tRNA)為將mRNA轉譯為蛋白質之RNA分子。tRNA包括包含3'受體位點、5'端磷酸酯、D臂、T臂及反密碼子臂之三葉草結構。tRNA之主要目的係為了藉助於胺基醯基-tRNA合成酶(為將適當胺基酸負載至游離tRNA上以合成蛋白質之酶)，將其3'受體位點上之胺基酸攜帶至核糖體複合物。一旦胺基酸與tRNA結合，則tRNA視為胺基醯基-tRNA。tRNA上之胺基酸之類型視mRNA密碼子而定。tRNA之反密碼子臂為反密碼子之位點，其與mRNA密碼子互補且指定要攜帶的胺基酸。亦已知tRNA藉由作為細胞色素c清除劑而在調節細胞凋亡方面具有作用。

【0438】 在一些實施例中，初始構築體及/或基準構築體包含或編碼tRNA。

核糖體RNA (rRNA)

【0439】 核糖體RNA (rRNA)為形成核糖體之RNA。核糖體為蛋白質合成所必需的且含有大及小核糖體次單元。在原核生物中，小30S及大50S核糖體次單元構成70S核糖體。在真核生物中，40S及60S次單元形成80S核糖體。為了結合胺基醯基-tRNA且將胺基酸連接在一起以產生多肽，核糖體含有3種位點：離開位點(E)、肽基位點(P)及受體位點(A)。

【0440】 在一些實施例中，初始構築體及/或基準構築體包含或編碼rRNA。

微小RNA (miRNA)

【0441】 微小RNA (或miRNA)為19-25個核苷酸長的非編碼RNA，其與核酸分子之3'UTR結合且藉由降低核酸分子穩定性或抑制轉譯來下調基因表現。初始構築體及/或基準構築體可包含一或多個微小RNA目標序列、微小RNA序列或微小RNA種子。

【0442】 微小RNA序列包含「種子」區域，亦即成熟微小RNA之位置2-8之區域中之序列，該序列與miRNA目標序列具有完美的沃森-克里克互補性。微小RNA種子可包含成熟微小RNA之位置2-8或2-7。在一些實施例中，微小RNA種子可包含7個核苷酸(例如成熟微小RNA之核苷酸2-8)，其中對應miRNA目標中之種子互補位點由與微小RNA位置1相對之腺嘌呤(A)側接。在一些實施例中，微小RNA種子可包含6個核苷酸(例如成熟微小RNA之核苷酸2-7)，其中對應miRNA目標中之種子互補位點由與微小RNA位置1相對之腺嘌呤(A)側接。微小RNA種子之鹼基與目標序列完全互補。藉由將微小RNA目標序列工程改造至mRNA之3'UTR中，吾人可靶向分子以用於降解或降低轉譯，其限制條件為所討論之微小RNA為可用的。此過程將減少核酸分子遞送時脫靶作用的危害。

【0443】 如本文所用，術語「微小RNA位點」係指微小RNA目標位點或微小RNA識別位點，或與微小RNA結合(bind/associate)的任何核苷酸序列。應理解，「結合」可遵循傳統的沃森-克里克雜交規則，或可反映微小RNA與目標序列在微小RNA位點處或其附近之任何穩定結合。

【0444】 已知微小RNA調節mRNA，從而調節蛋白質表現之組織之非限制性實例包括但不限於肝臟(miR-122)、肌肉(miR-133、miR-206、miR-208)、內皮細胞(miR-17-92、miR-126)、骨髓細胞(miR-142-3p、

miR-142-5p、miR-16、miR-21、miR-223、miR-24、miR-27)、脂肪組織(let-7、miR-30c)、心臟(miR-1d、miR-149)、腎臟(miR-192、miR-194、miR-204)及肺上皮細胞(let-7、miR-133、miR-126)。微小RNA亦可調節複雜生物過程，諸如血管生成(miR-132)。

【0445】 舉例而言，若核酸分子為mRNA且並不意欲遞送至肝臟但最終到達彼處，則miR-122 (一種在肝臟豐富的微小RNA)可在miR-122之一或多個目標位點經工程改造至mRNA之3'UTR中時抑制所關注之基因的表現。引入不同微小RNA之一或多個結合位點可經工程改造以進一步降低mRNA之壽命、穩定性及蛋白質轉譯。

【0446】 相反，微小RNA結合位點可經工程改造在其天然出現於其中之序列之外(亦即自其移除)，以便增加特定組織中之蛋白質表現。舉例而言，可移除miR-122結合位點，以提高肝臟中之蛋白質表現。多個組織中之表現之調節可經由引入或移除一個或若干個微小RNA結合位點來實現。

長非編碼RNA (lncRNA)

【0447】 長非編碼RNA (lncRNA)為不編碼蛋白質但影響大量生物過程之調節RNA分子。lncRNA名稱一般受限於長於約200個核苷酸之非編碼轉錄本。長度名稱將lncRNA與小調節RNA，諸如短干擾RNA (siRNA)及微小RNA (miRNA)區分開。在脊椎動物中，認為lncRNA物種之數目大大超過蛋白質編碼物種之數目。亦認為，相較於無脊椎動物，lncRNA驅動脊椎動物中觀測到之生物複雜性。此複雜性之證據可見於脊椎動物生物體之許多細胞隔室中，諸如適應性免疫系統之T淋巴球隔室。lncRNA之表現及功能之差異可能為人類疾病之主要原因。

【0448】在一些實施例中，初始構築體及/或基準構築體包含lncRNA。

RNA修飾

【0449】在一些態樣中，初始構築體或基準構築體可含有一或多個經修飾之核苷酸，諸如但不限於糖修飾之核苷酸、核鹼基修飾及/或主鏈修飾。在一些態樣中，初始構築體或基準構築體可含有組合修飾，例如組合的核鹼基及主鏈修飾。

【0450】在一些實施例中，經修飾之核苷酸可為糖修飾之核苷酸。糖修飾之核苷酸包括但不限於2′-氟、2′-胺基及2′-硫基修飾之核糖核苷酸，例如2′-氟修飾之核糖核苷酸。經修飾之核苷酸可在糖部分上經修飾，且具有糖之核苷酸或不為核糖基之其類似物亦如此。舉例而言，糖部分可為或基於甘露糖、阿拉伯糖、葡萄哌喃糖、半乳哌喃糖、4′-硫基核糖及其他糖、雜環或碳環。

【0451】在一些實施例中，經修飾之核苷酸可為核鹼基修飾之核苷酸。

【0452】在一些實施例中，經修飾之核苷酸可為主鏈修飾之核苷酸。在一些實施例中，初始構築體或基準構築體可在主鏈上進一步包含其他修飾。如本文所用，常用「主鏈」係指DNA或RNA分子中之重複交替磷酸糖序列。去氧核糖/核糖以酯鍵(亦稱為「磷酸二酯」鍵/連接子(PO鍵聯))在3'-羥基及5'-羥基處接合至磷酸酯基團。PO主鏈可經修飾為「硫代磷酸酯主鏈(PS鍵聯)」。在一些情況下，天然磷酸二酯鍵可經醯胺鍵置換，但保持兩個糖單元之間之四個原子。此類醯胺修飾可促進寡核苷酸之固相合成且提高與siRNA互補序列形成之雙螺旋的熱力學穩定性。

【0453】 經修飾之鹼基係指核苷酸鹼基，諸如但不限於腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶、黃嘌呤、肌苷及Q核苷，其已藉由置換或添加一或多個原子或基團而經修飾。核鹼基部分上之修飾之一些實例包括但不限於獨立地或呈組合形式的烷基化、鹵化、硫醇化、胺化、醯胺化或乙醯化鹼基。更具體的實例包括例如5-丙炔基尿苷、5-丙炔基胞苷、6-甲基腺嘌呤、6-甲基鳥嘌呤、N,N,-二甲基腺嘌呤、2-丙基腺嘌呤、2-丙基鳥嘌呤、2-胺基腺嘌呤、1-甲基肌苷、3-甲基尿苷、5-甲基胞苷、5-甲基尿苷及在5位具有修飾之其他核苷酸、5-(2-胺基)丙基尿苷、5-鹵胞苷、5-鹵尿苷、4-乙醯基胞苷、1-甲基腺苷、2-甲基腺苷、3-甲基胞苷、6-甲基尿苷、2-甲基鳥苷、7-甲基鳥苷、2,2-二甲基鳥苷、5-甲基胺乙基尿苷、5-甲氧基尿苷、去氮核苷酸(諸如7-去氮-腺苷、6-偶氮基尿苷、6-偶氮基胞苷、6-偶氮基胸苷)、5-甲基-2-硫代尿苷、其他硫代鹼基(諸如2-硫代尿苷及4-硫代尿苷及2-硫代胞苷)、二氫尿苷、假尿苷、Q核苷、古嘌苷、萘基及經取代之萘基、任何O-烷基化嘌呤及嘧啶及N-烷基化嘌呤及嘧啶(諸如N6-甲基腺苷、5-甲基羰基甲基尿苷、尿苷5-氧基乙酸、吡啶-4-酮、吡啶-2-酮)、苯基及經修飾之苯基(諸如胺基苯酚或2,4,6-三甲氧基苯)、經修飾之胞嘧啶(其充當G形夾核苷酸)、8-取代之腺嘌呤及鳥嘌呤、5-取代之尿嘧啶及胸嘧啶、氮雜嘧啶、羧基羥基烷基核苷酸、羧基烷基胺基核苷酸及烷基羰基烷基化核苷酸。

【0454】 可包括一或多個相對於參考序列(特別地，親本RNA)而言之取代、插入及/或添加、缺失及共價修飾的初始構築體及/或基準構築體包括於本發明之範疇內。

【0455】 在一些實施例中，初始構築體及/或基準構築體包括一或多

個轉錄後修飾(例如加帽、裂解、聚腺苷酸化、剪接、聚A序列、甲基化、醯化、磷酸化、離胺酸及精胺酸殘基之甲基化、乙醯化以及硫醇基及酪胺酸殘基之亞硝基化等)。一或多個轉錄後修飾可為任何轉錄後修飾，諸如已在RNA中鑑別出之超過一百個不同的核苷修飾中之任一者(Rozenski, J, Crain, P及McCloskey, J. (1999). The RNA Modification Database: 1999 update. Nucl Acids Res 27: 196-197)。在一些實施例中，第一個經分離之核酸包含信使RNA (mRNA)。在一些實施例中，初始構築體及/或基準構築體包含至少一個選自由以下組成之群的核苷：吡啶-4-酮核糖核苷、5-氮雜-尿苷、2-硫基-5-氮雜-尿苷、2-硫代尿苷、4-硫基-假尿苷、2-硫基-假尿苷、5-羥基尿苷、3-甲基尿苷、5-羧基甲基-尿苷、1-羧基甲基-假尿苷、5-丙炔基-尿苷、1-丙炔基-假尿苷、5-牛磺酸甲基尿苷、1-牛磺酸甲基-假尿苷、5-牛磺酸甲基-2-硫基-尿苷、1-牛磺酸甲基-4-硫基-尿苷、5-甲基-尿苷、1-甲基-假尿苷、4-硫基-1-甲基-假尿苷、2-硫基-1-甲基-假尿苷、1-甲基-1-去氮-假尿苷、2-硫基-1-甲基-1-去氮-假尿苷、二氫尿苷、二氫假尿苷、2-硫基-二氫尿苷、2-硫基-二氫假尿苷、2-甲氧基尿苷、2-甲氧基-4-硫基-尿苷、4-甲氧基-假尿苷及4-甲氧基-2-硫基-假尿苷。在一些實施例中，mRNA包含至少一個選自由以下組成之群的核苷：5-氮雜-胞苷、假異胞苷、3-甲基-胞苷、N4-乙醯基胞苷、5-甲醯基胞苷、N4-甲基胞啶、5-羥甲基胞苷、1-甲基-假異胞苷、吡咯并-胞苷、吡咯并-假異胞苷、2-硫基-胞苷、2-硫基-5-甲基-胞苷、4-硫基-假異胞苷、4-硫基-1-甲基-假異胞苷、4-硫基-1-甲基-1-去氮-假異胞苷、1-甲基-1-去氮-假異胞苷、澤布拉林(zebularine)、5-氮雜-澤布拉林、5-甲基-澤布拉林、5-氮雜-2-硫基-澤布拉林、2-硫基-澤布拉林、2-甲氧基-胞苷、2-甲氧基-5-甲基-

胞苷、4-甲氧基-假異胞苷及4-甲氧基-1-甲基-假異胞苷。在一些實施例中，mRNA包含至少一個選自由以下組成之群的核苷：2-胺基嘌呤、2,6-二胺基嘌呤、7-去氮-腺嘌呤、7-去氮-8-氮雜-腺嘌呤、7-去氮-2-胺基嘌呤、7-去氮-8-氮雜-2-胺基嘌呤、7-去氮-2,6-二胺基嘌呤、7-去氮-8-氮雜-2,6-二胺基嘌呤、1-甲基腺苷、N6-甲基腺苷、N6-異戊烯基腺苷、N6-(順式-羥基異戊烯基)腺苷、2-甲硫基-N6-(順式-羥基異戊烯基)腺苷、N6-甘胺醯基胺甲醯基腺苷、N6-蘇胺醯基胺甲醯基腺苷、2-甲硫基-N6-蘇胺醯基胺甲醯基腺苷、N6,N6-二甲基腺苷、7-甲基腺嘌呤、2-甲硫基-腺嘌呤及2-甲氧基-腺嘌呤。在一些實施例中，mRNA包含至少一個選自由以下組成之群的核苷：肌苷、1-甲基-肌苷、懷俄苷(wyosine)、懷俄丁苷(wybutosine)、7-去氮-鳥苷、7-去氮-8-氮雜-鳥苷、6-硫基-鳥苷、6-硫基-7-去氮-鳥苷、6-硫基-7-去氮-8-氮雜-鳥苷、7-甲基-鳥苷、6-硫基-7-甲基-鳥苷、7-甲基肌苷、6-甲氧基-鳥苷、1-甲基鳥苷、N2-甲基鳥苷、N2,N2-二甲基鳥苷、8-側氧基-鳥苷、7-甲基-8-側氧基-鳥苷、1-甲基-6-硫基-鳥苷、N2-甲基-6-硫基-鳥苷及N2,N2-二甲基-6-硫基-鳥苷。

【0456】 初始構築體及/或基準構築體可包括諸如糖、核鹼基或核苷間鍵聯(例如連接磷酸酯/磷酸二酯鍵聯/磷酸二酯主鏈)之任何適用修飾。嘧啶核鹼基之一或多個原子可經視情況經取代之胺基、視情況經取代之硫醇、視情況經取代之烷基(例如甲基或乙基)或鹵基(例如氯或氟)置換或取代。在某些實施例中，修飾(例如一或多個修飾)存在於糖及核苷間鍵聯中之各者中。修飾可為核糖核酸(RNA)修飾成去氧核糖核酸(DNA)、蘇糖核酸(TNA)、二醇核酸(GNA)、肽核酸(PNA)、鎖核酸(LNA)或其混合物。本文描述了額外修飾。

【0457】 在一些實施例中，初始構築體及/或基準構築體包括至少一個增加轉譯效率之N(6)甲基腺苷(m6A)修飾。在一些實施例中，N(6)甲基腺苷(m6A)修飾可降低初始構築體及/或基準構築體之免疫原性。

【0458】 在一些實施例中，修飾可包括化學或細胞誘導之修飾。舉例而言，胞內RNA修飾之一些非限制性實例由Lewis及Pan在「RNA modifications and structures cooperate to guide RNA-protein interactions」, Nat. Reviews Mol. Cell Biol., 2017, 18:202-210中描述。

【0459】 在一些實施例中，RNA之化學修飾可增強免疫逃避。RNA可藉由此項技術中良好確立之方法，諸如以下中所描述之彼等方法合成及/或修飾：「Current protocols in nucleic acid chemistry」, Beaucage, S. L.等人(編), John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y., USA，其以引用的方式併入本文中。修飾包括例如末端修飾，例如5'端修飾(磷酸化(單、二及三)、結合、反向鍵聯等)、3'端修飾(結合、DNA核苷酸、反向鍵聯等)、鹼基修飾(例如經穩定化鹼基、不穩定鹼基或與搭配物之擴大庫鹼基對之鹼基置換)、移除鹼基(無鹼基核苷酸)或結合鹼基。經修飾之核糖核苷酸鹼基亦可包括5-甲基胞苷及假尿苷。在一些實施例中，鹼基修飾可調節RNA之表現、免疫反應、穩定性、次細胞定位，僅舉幾個功能作用。在一些實施例中，修飾包括雙正交核苷酸，例如非天然鹼基。參見例如Kimoto 等人, Chem Commun (Camb), 2017, 53:12309, DOI: 10.1039/c7cc06661a，其以引用之方式併入本文中。

【0460】 在一些實施例中，一或多個RNA之糖修飾(例如在2'位置或4'位置處)或糖置換以及主鏈修飾可包括磷酸二酯鍵聯之修飾或置換。修飾之具體實例包括經修飾之主鏈或無天然核苷間鍵聯，諸如核苷間修飾，

包括磷酸二酯鍵聯之修飾或置換。具有經修飾之主鏈的RNA尤其包括主鏈中不具有磷原子的彼等者。出於本申請案之目的，且如此項技術中有時提及，在其核苷間主鏈中不具有磷原子之經修飾之RNA亦可視為寡核苷。在特定實施例中，RNA將包括在其核苷間主鏈中具有磷原子之核糖核苷酸。

【0461】 經修飾之RNA主鏈可包括例如硫代磷酸酯、對掌性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、胺基烷基磷酸三酯、甲基及其他烷基膦酸酯(諸如3'-伸烷基膦酸酯)、及對掌性膦酸酯、亞膦酸酯、胺基磷酸酯(諸如3'-胺基胺基磷酸酯及胺基烷基胺基磷酸酯)、硫羰基胺基磷酸酯、硫羰基烷基膦酸酯、硫羰基烷基磷酸三酯、具有正常3'-5'鍵聯之硼烷磷酸酯、此等之2'-5'連接的類似物、及具有反向極性(其中核苷單元之相鄰對連接3'-5'至5'-3'或2'-5'至5'-2')的彼等者。亦包括各種鹽、混合鹽及游離酸形式。在一些實施例中，RNA可帶負電或正電。

【0462】 經修飾之核苷酸可在核苷間鍵聯(例如磷酸酯主鏈)上經修飾。本文中，在聚核苷酸主鏈之情況下，片語「磷酸酯」及「磷酸二酯」可互換使用。主鏈磷酸酯基團可藉由用不同的取代基置換一或多個氧原子來修飾。此外，經修飾之核苷及核苷酸可包括用如本文所描述之另一核苷間鍵聯成批置換未經修飾之磷酸酯部分。經修飾之磷酸酯基團之實例包括但不限於硫代磷酸酯、硒代磷酸酯、硼烷磷酸酯(boranophosphate)、硼烷磷酸酯(boranophosphate ester)、氫膦酸酯、胺基磷酸酯、二胺基磷酸酯、烷基或芳基膦酸酯及磷酸三酯。二硫代磷酸酯之兩個非連接氧均經硫置換。磷酸酯連接子亦可藉由用氮(橋聯胺基磷酸酯)、硫(橋聯硫代磷酸酯)及碳(橋聯亞甲基-膦酸酯)置換連接氧而修飾。

【0463】 提供a-硫基取代之磷酸酯部分以經由非天然硫代磷酸酯主鏈鍵聯賦予RNA及DNA聚合物穩定性。硫代磷酸酯DNA及RNA具有增加的核酸酶抗性，及隨後在細胞環境中具有更長的半衰期。預期與RNA連接之硫代磷酸酯經由細胞先天性免疫分子之較弱的結合/活化來減少先天性免疫反應。

【0464】 在具體實施例中，經修飾之核苷包括α-硫基-核苷(例如5'-O-(1-硫代磷酸酯)-腺苷、5'-O-(1-硫代磷酸酯)-胞苷(a-硫基-胞苷)、5'-O-(1-硫代磷酸酯)-鳥苷、5'-O-(1-硫代磷酸酯)-尿苷或5'-O-(1-硫代磷酸酯)-假尿苷)。

【0465】 本文中描述可根據本發明採用的其他核苷間鍵聯，包括不含磷原子之核苷間鍵聯。

【0466】 在一些實施例中，RNA可包括一或多個細胞毒性核苷。舉例而言，細胞毒性核苷可併入RNA中，諸如雙功能修飾。細胞毒性核苷可包括但不限於阿糖腺苷、5-氮雜胞苷、4'-硫基-阿糖胞苷、環戊烯基胞嘧啶、克拉屈濱(cladribine)、氯法拉濱(clofarabine)、阿糖胞苷(cytarabine)、阿糖胞嘧啶、1-(2-C-氰基-2-去氧-β-D-阿糖-呋喃戊醣基)-胞嘧啶、地西他濱(decitabine)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)、氟達拉濱(fludarabine)、氟尿苷(floxuridine)、吉西他濱(gemcitabine)、喃氟啶(tegafur)與尿嘧啶之組合、喃氟啶((RS)-5-氟-1-(四氫呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮)、曲沙他濱(troxacitabine)、替紮他濱(tezacitabine)、2'-去氧-2'-亞甲基胞嘧啶核苷(DMDC)及6-巰基嘌呤(6-mercaptopurine)。額外實例包括磷酸氟達拉濱(fludarabine phosphate)、N4-二十二烷醯基-1-β-D-阿糖呋喃胞嘧啶、N4-十八烷基-1-β-D-阿糖呋喃胞嘧啶、N4-軟脂

醯基-1-(2-C-氰基-2-去氧-β-D-阿糖-呋喃戊醣基)胞嘧啶及P-4055 (阿糖胞苷5'-反油酸酯)。

【0467】 在一些實施例中，RNA序列包括或包含天然核苷(例如腺苷、鳥苷、胞苷、尿苷)、核苷類似物(例如2-胺基腺苷、2-硫代胸苷、肌苷、吡咯并-嘧啶、3-甲基腺苷、5-甲基胞苷、C-5丙炔基-胞苷、C-5丙炔基-尿苷、2-胺基腺苷、C5-溴尿苷、C5-氟尿苷、C5-碘尿苷、C5-丙炔基-尿苷、C5-丙炔基-胞苷、C5-甲基胞苷、2-胺基腺苷、7-去氮腺苷、7-去氮鳥苷、8-側氧基腺苷、8-側氧基鳥苷、O(6)-甲基鳥嘌呤及2-硫代胞苷)、經化學修飾之鹼基、經生物學修飾之鹼基(例如甲基化鹼基)、插入鹼基、經修飾之糖(例如2'-氟核糖、核糖、2'-去氧核糖、阿拉伯糖及己醣)及/或經修飾之磷酸酯基團(例如硫代磷酸酯及5'-N-亞磷醯胺鍵聯)。在一個實施例中，RNA序列包括或包含併入假尿苷(y)。在另一實施例中，RNA序列包括或包含5-甲基胞嘧啶(m5C)。

【0468】 RNA可沿分子之整個長度均勻修飾或可不均勻修飾。舉例而言，一或多種或所有類型之核苷酸(例如天然存在之核苷酸、嘌呤或嘧啶，或A、G、U、C、I、pU中之任何一或多者或所有)可在RNA中或在其給定預定序列區中均勻修飾或可不均勻修飾。在一些實施例中，RNA包括假尿苷。在一些實施例中，RNA包括肌苷，其可幫助免疫系統將RNA表徵為內源性RNA與病毒RNA。肌苷之併入亦可介導改善之RNA穩定性/減少之降解。

【0469】 在一些實施例中，RNA (或其給定序列區)中之所有核苷酸均經修飾。在一些實施例中，修飾可包括m6A (其可增加表現)、肌苷(其可減弱免疫反應)、假尿苷(其可增加RNA穩定性或轉譯通讀(交錯元件))、

m5C (其可增加穩定性)及2,2,7-三甲基鳥苷(其輔助次細胞易位(例如核定位))。

【0470】 不同糖修飾、核苷酸修飾及/或核苷間鍵聯(例如主鏈結構)可存在於RNA中之多個位置。一般熟習此項技術者應瞭解，核苷酸類似物或其他修飾可位於RNA之任何位置處，以使得實質上不降低RNA之功能。修飾亦可為非編碼區域修飾。RNA可包括約1%至約100%經修飾之核苷酸(相對於總核苷酸含量，或相對於一或多種類型之核苷酸，亦即A、G、U或C中之任何一或多者)或任何中間百分比(例如1%至20%、1%至25%、1%至50%、1%至60%、1%至70%、1%至80%、1%至90%、1%至95%、10%至20%、10%至25%、10%至50%、10%至60%、10%至70%、10%至80%、10%至90%、10%至95%、10%至100%、20%至25%、20%至50%、20%至60%、20%至70%、20%至80%、20%至90%、20%至95%、20%至100%、50%至60%、50%至70%、50%至80%、50%至90%、50%至95%、50%至100%、70%至80%、70%至90%、70%至95%、70%至100%、80%至90%、80%至95%、80%至100%、90%至95%、90%至100%及95%至100%)。

密碼子最佳化

【0471】 初始構築體及/或基準構築體之核苷酸序列可經密碼子最佳化。密碼子最佳化方法為此項技術中已知的且可適用於努力達成若干目標中之一或多者。此等目標包括匹配目標生物體及宿主生物體中的密碼子頻率以確保正確摺疊；偏離GC含量以增加mRNA穩定性或減少二級結構；最小化減少可能損害基因構築或表現之串聯重複密碼子或鹼基運行；定製轉錄及轉譯控制區；插入或移除蛋白質運輸序列；移除/添加所編碼蛋白

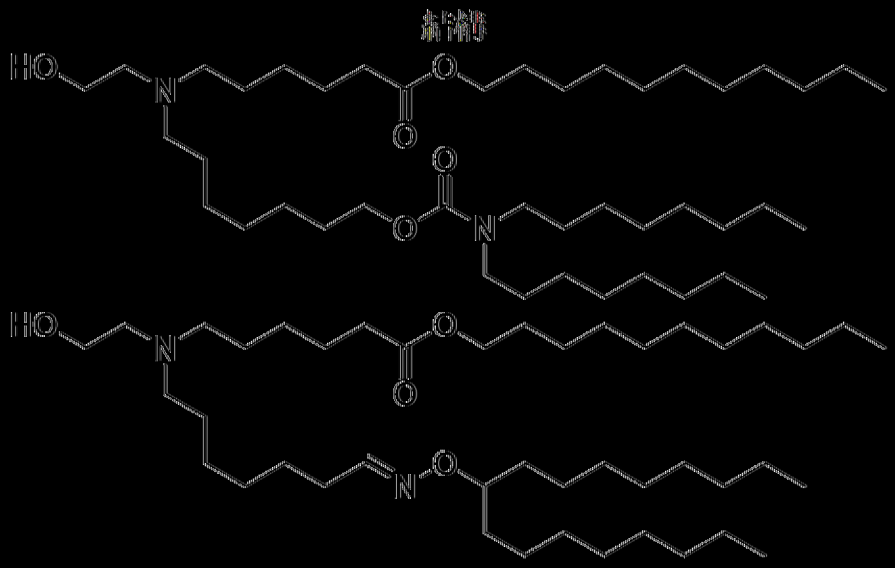
質中的轉譯後修飾位點(例如磷其化位點)；添加、移除或混編蛋白質域；插入或缺失限制位點；修飾核糖體結合位點及mRNA降解位點；調節轉譯速率以允許蛋白質的各個域恰當摺疊；或減少或消除mRNA內有問題的二級結構。密碼子最佳化工具、演算法及服務為此項技術中已知的，非限制性實例包括來自GeneArt (Life Technologies)、DNA2.0 (Menlo Park CA)及/或專用方法的服務。在一典實施例中，ORF序列使用最佳化演算法最佳化。

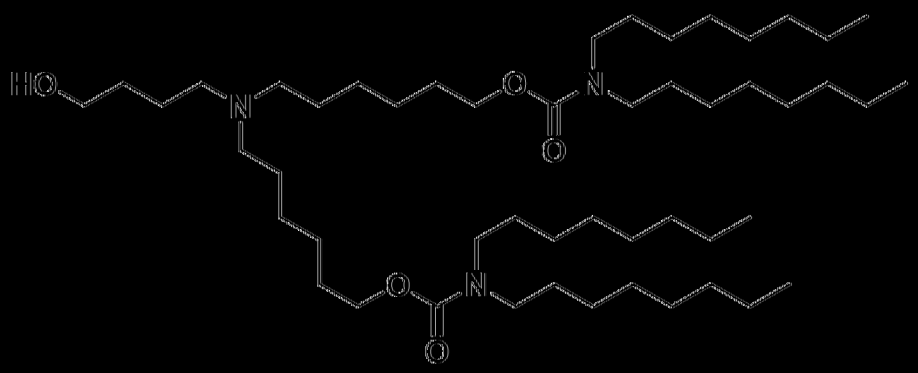
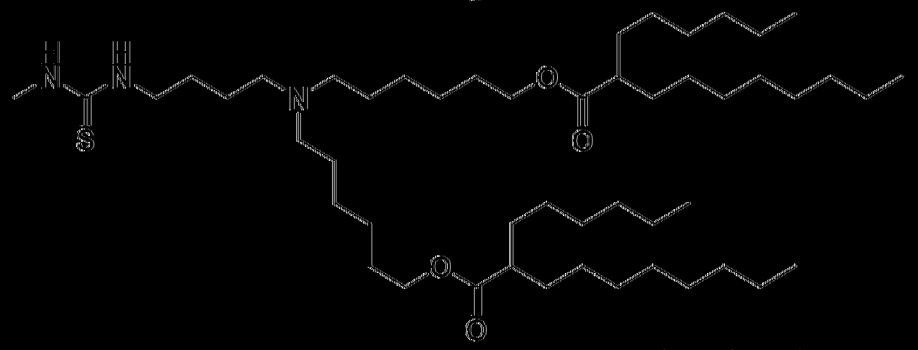
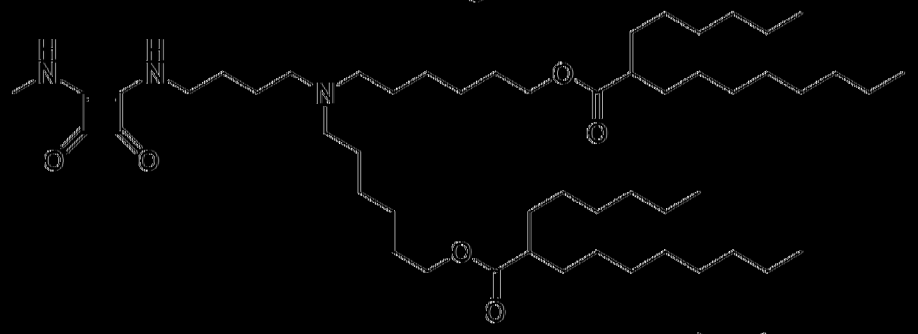
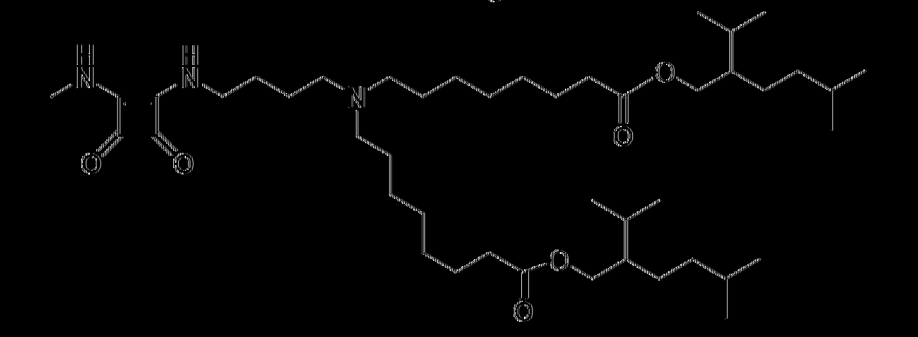
III. 脂質

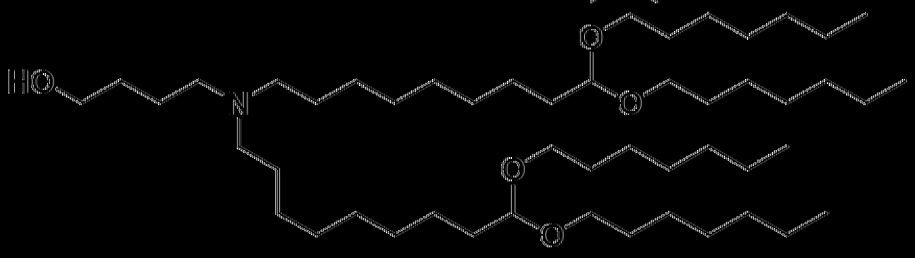
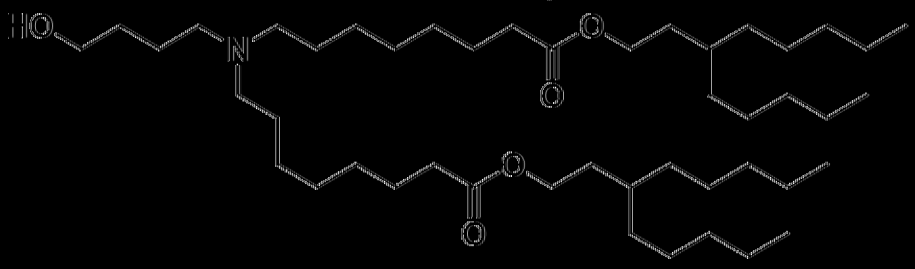
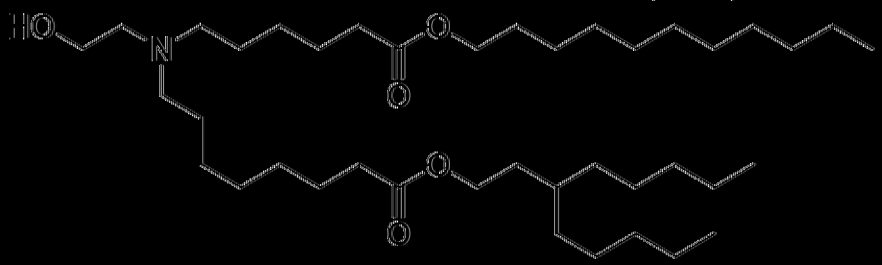
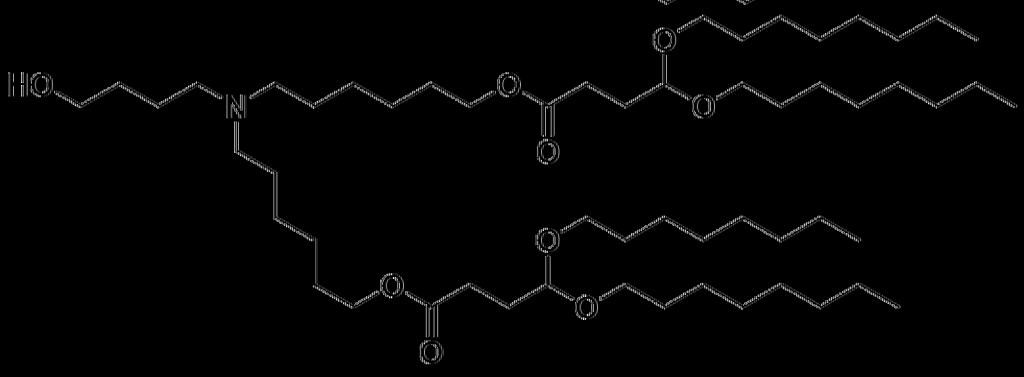
[0472] 本發明提供在相關組織中展現高功效以及低毒性、低持續脂質含量以及用於局部遞送至各種組織之可離子化脂質。可離子化脂質可為陽離子脂質。

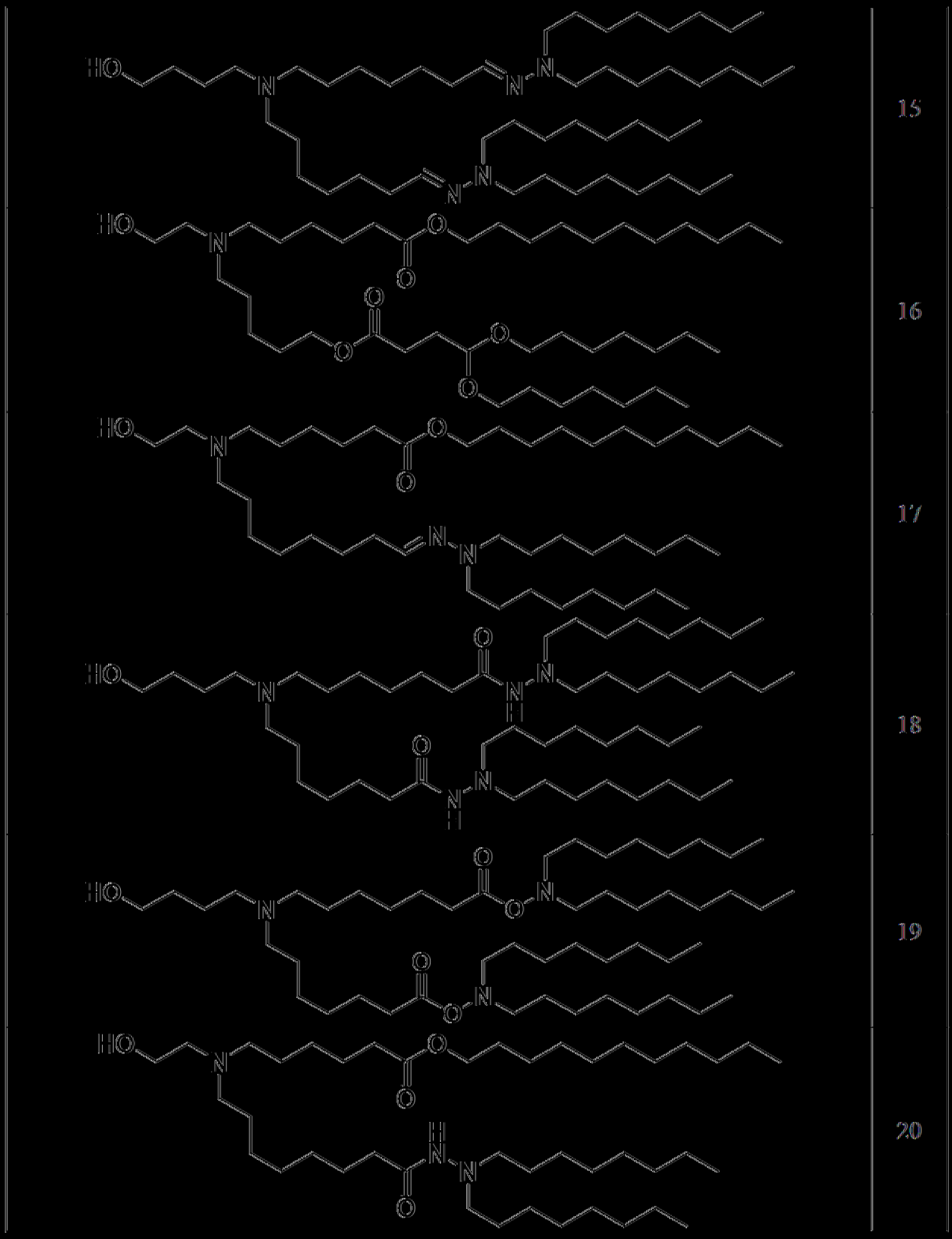
[0473] 在一典實施例中，本發明之脂質包含非環狀核心。在一典實施例中，本發明之脂質選自下表(I)中之任何脂質或其醫藥學上可接受之鹽：

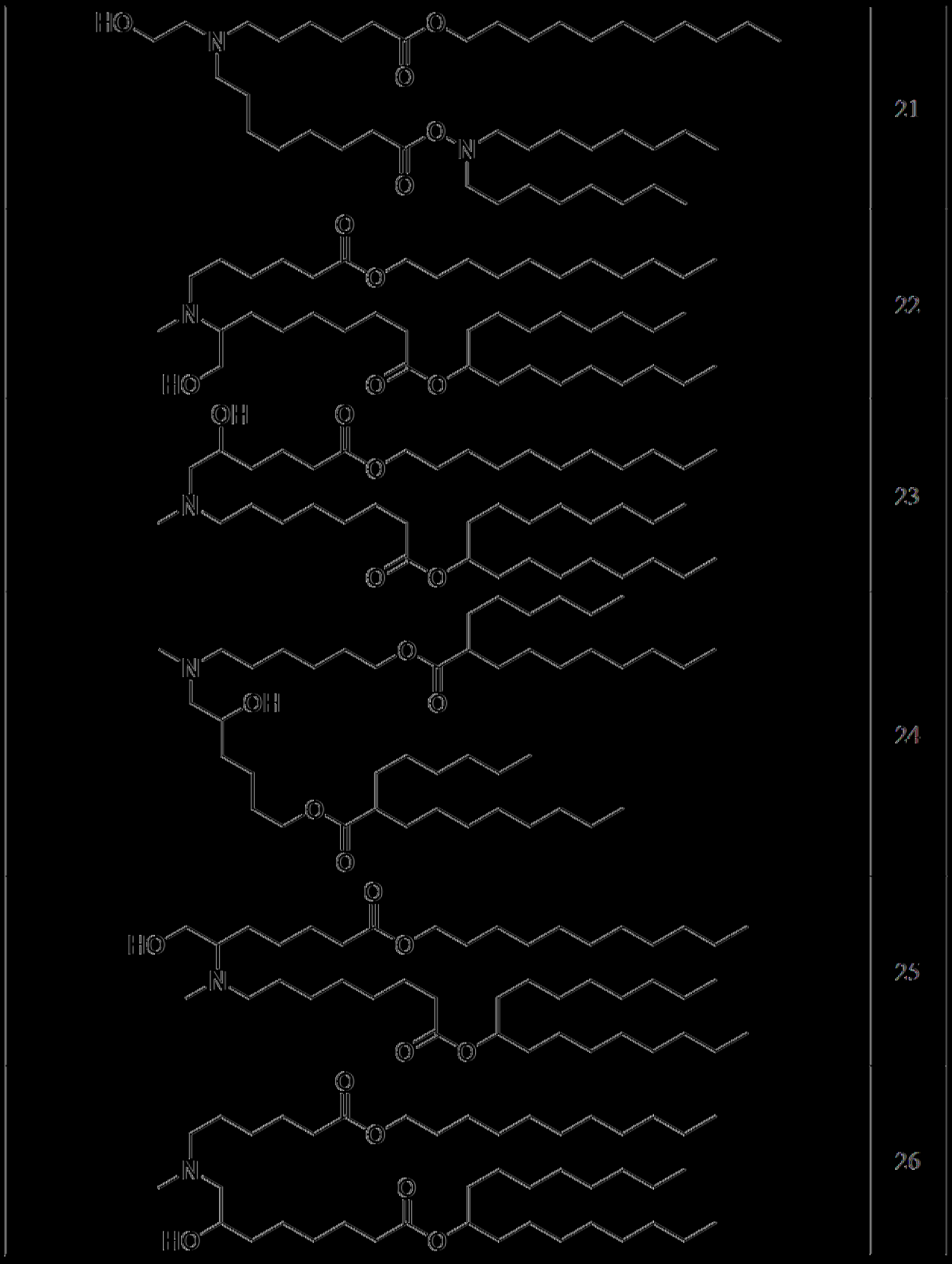
表(I).具有非環狀核心之可離子化脂質之非限制性實例

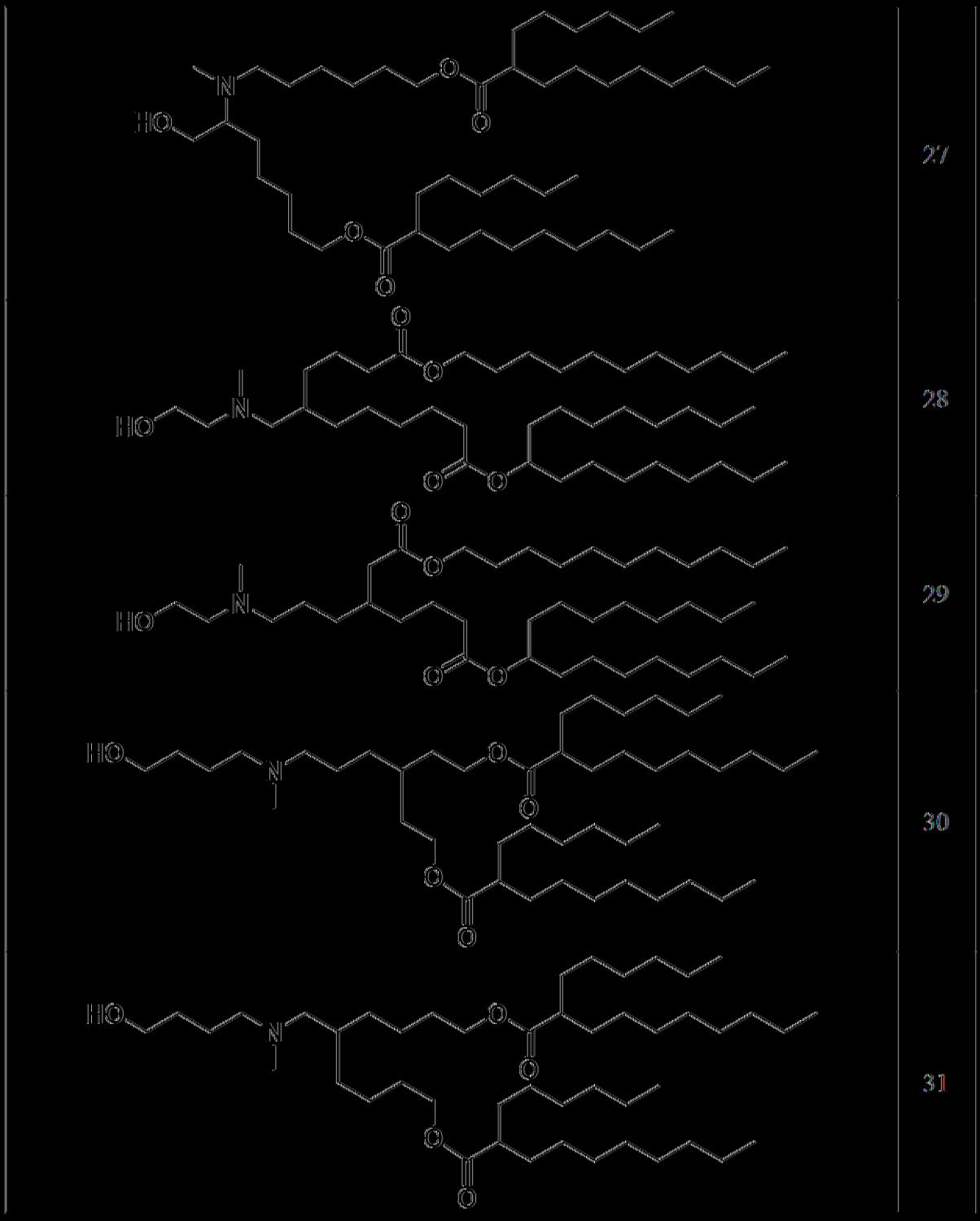
結構	化合物
	1
	2

	3
	4
	5
	6
	7

	8
	9
	10
	11
	13
	14


15
16
17
18
19
20


21
22
23
24
25
26



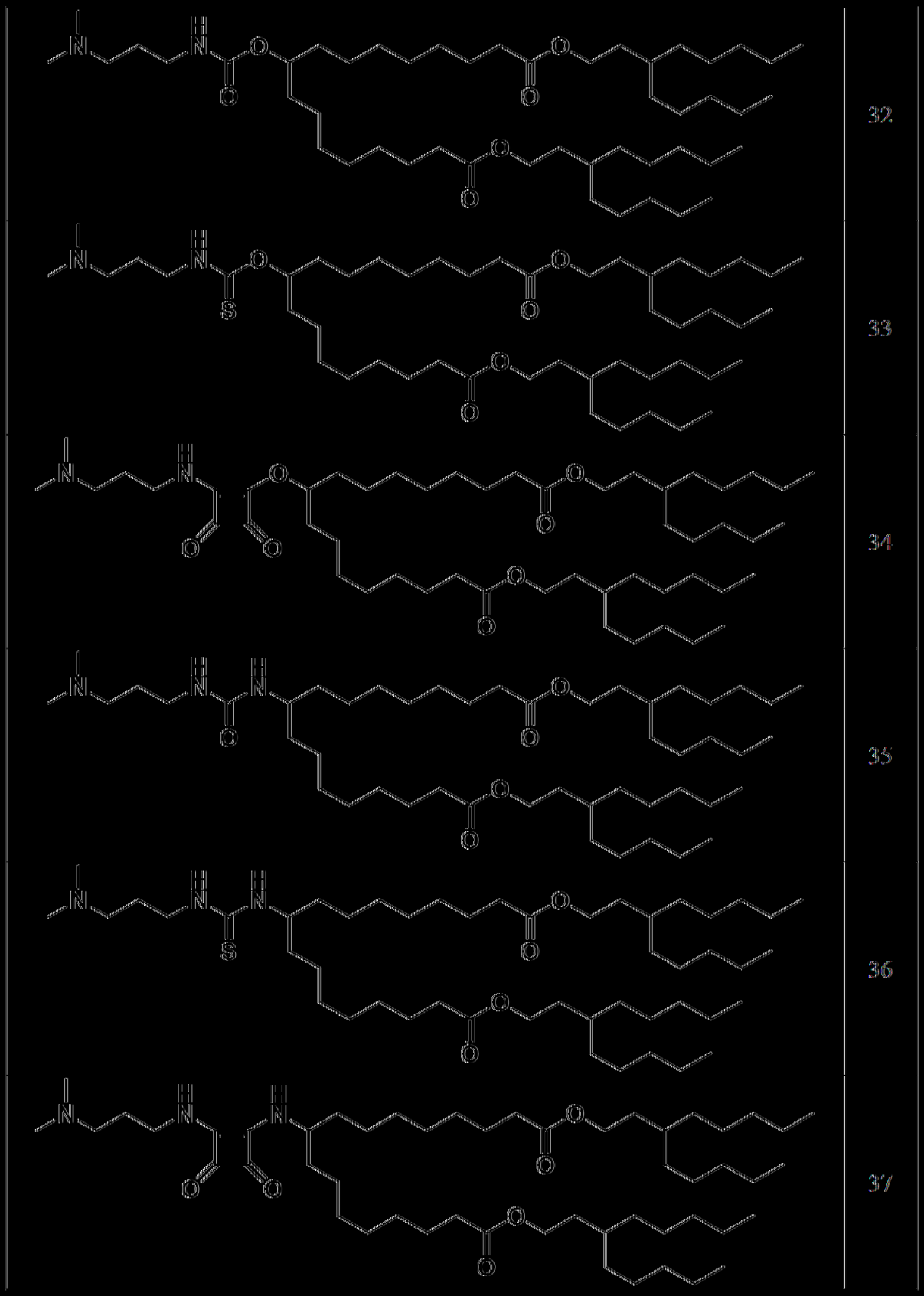
27

28

29

30

31



32

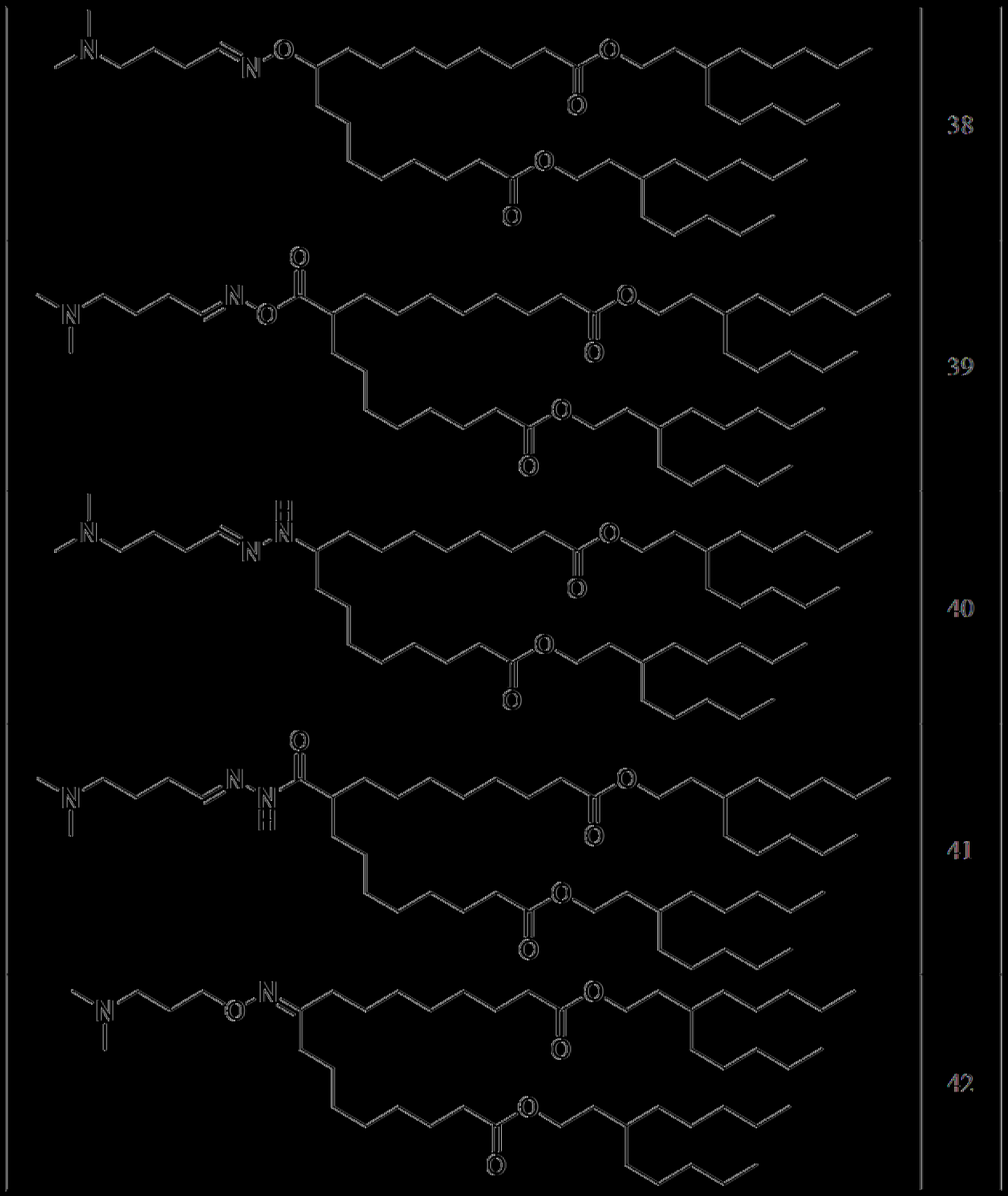
33

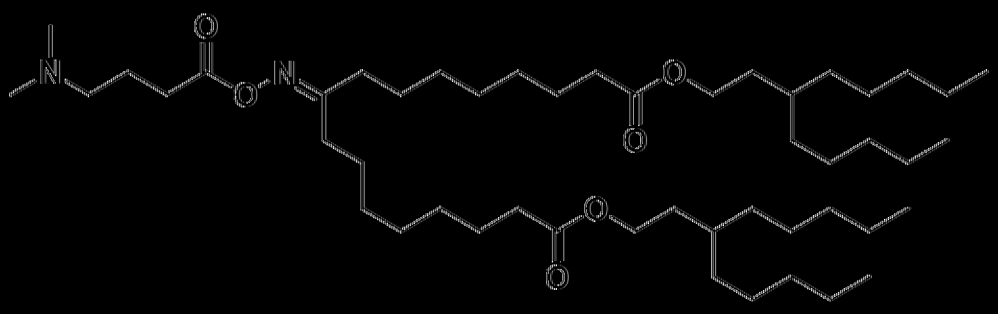
34

35

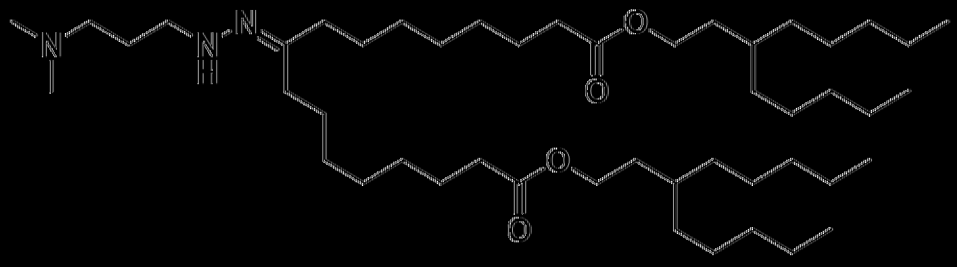
36

37

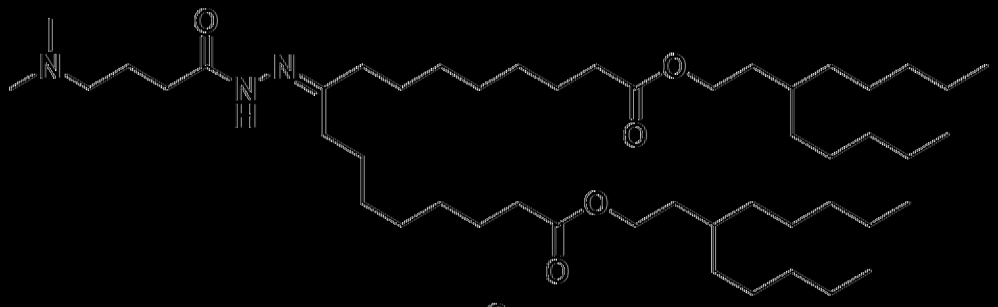

38
39
40
41
42



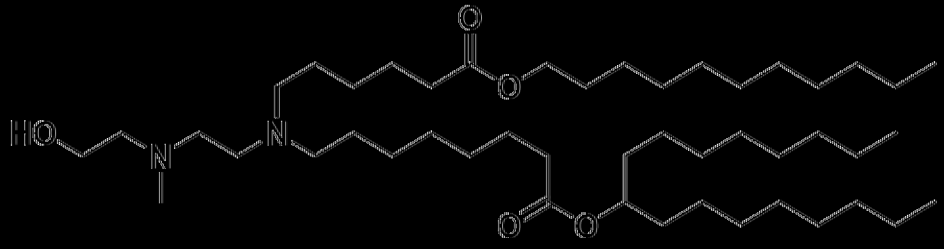
43



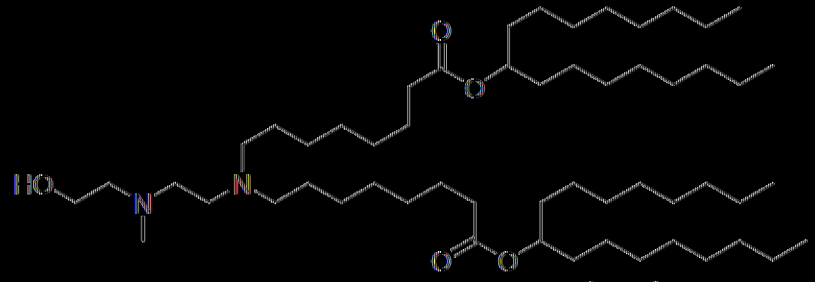
44



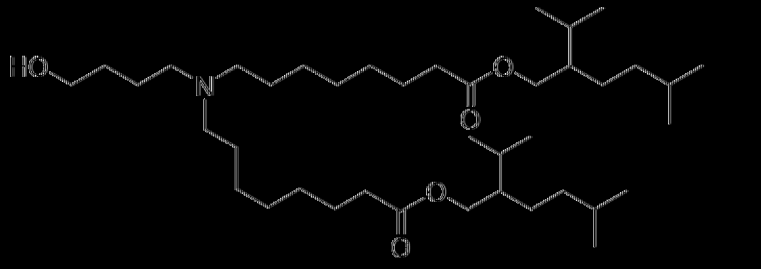
45



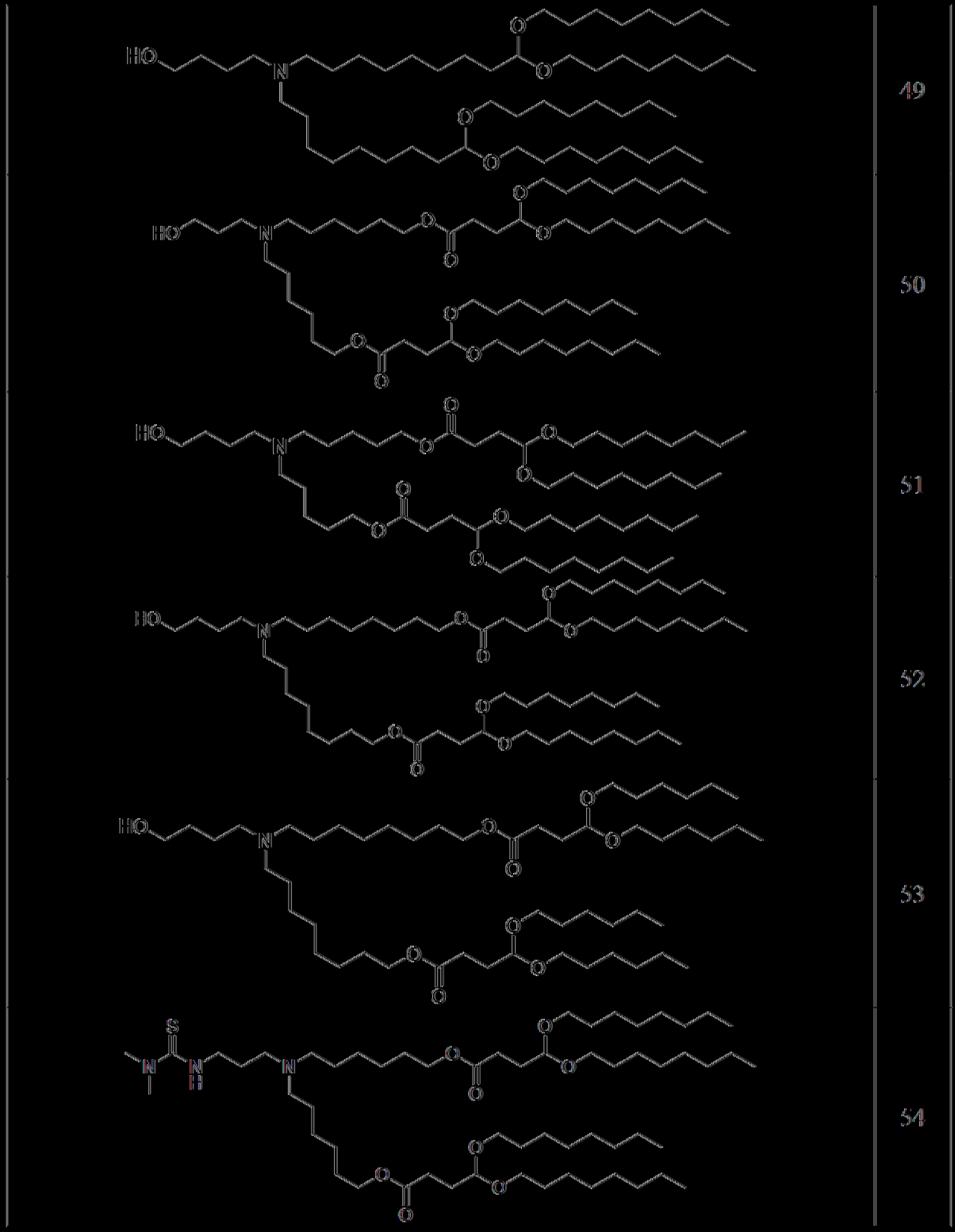
46

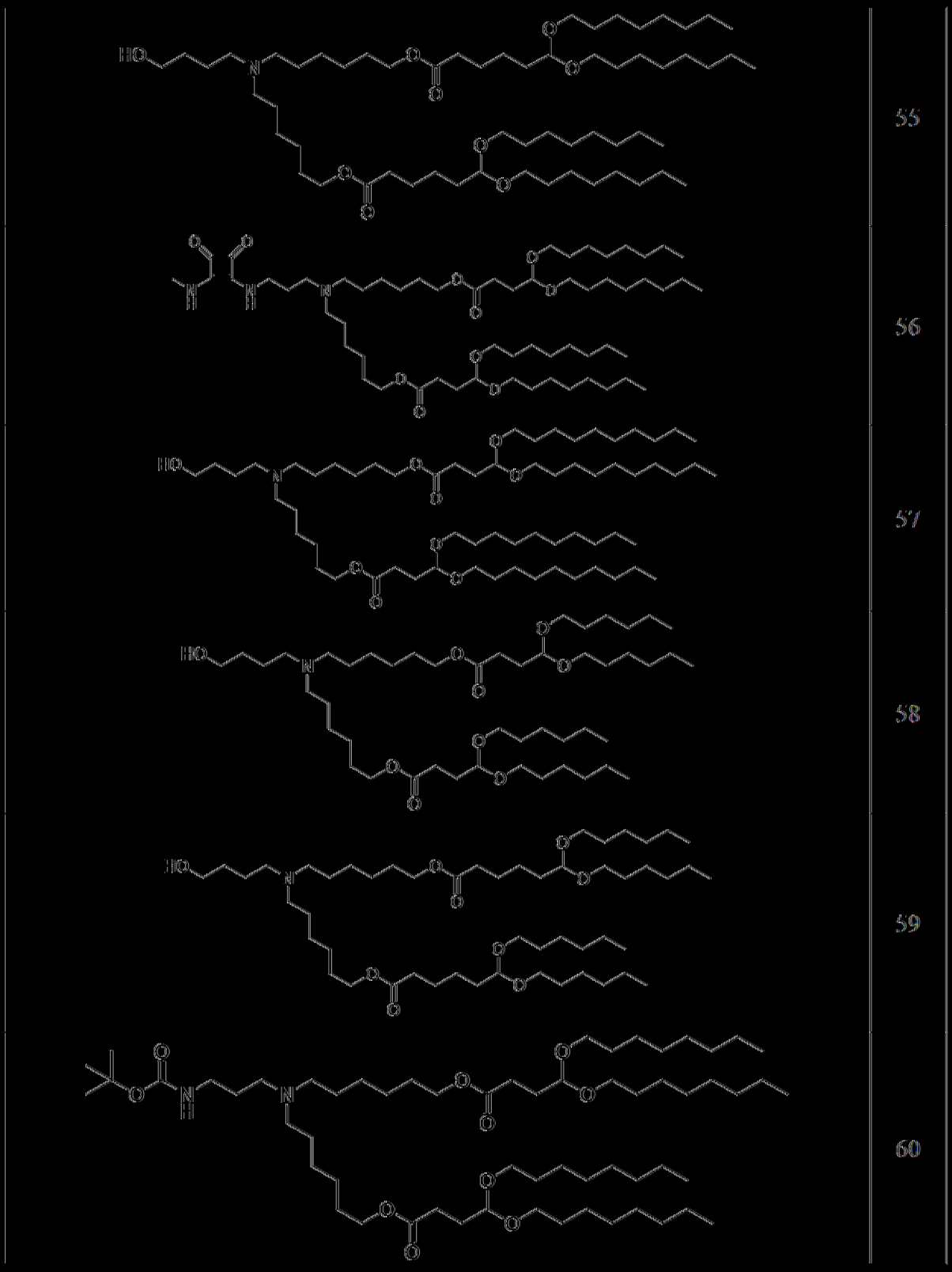


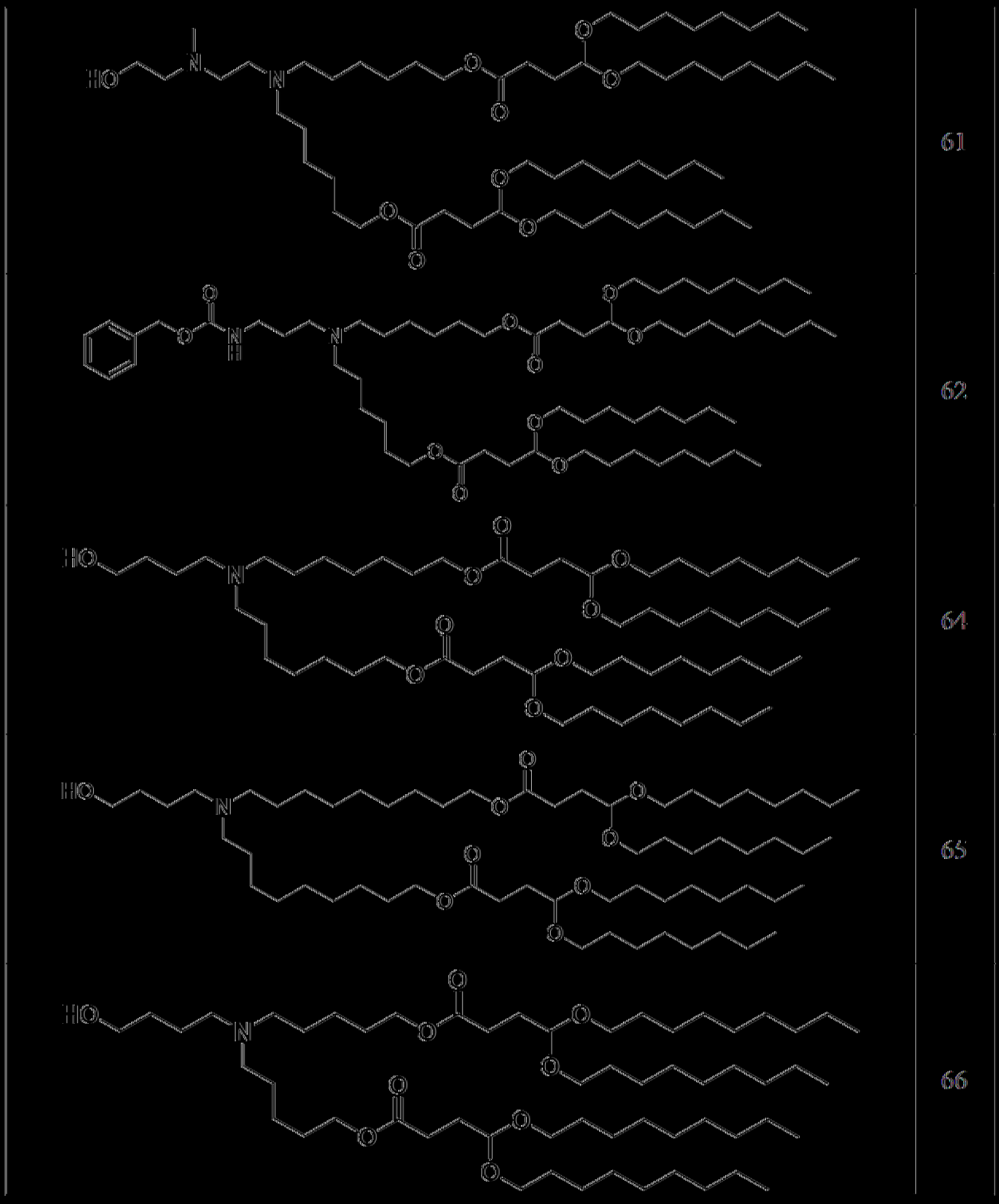
47



48


49
50
51
52
53
54


55
56
57
58
59
60



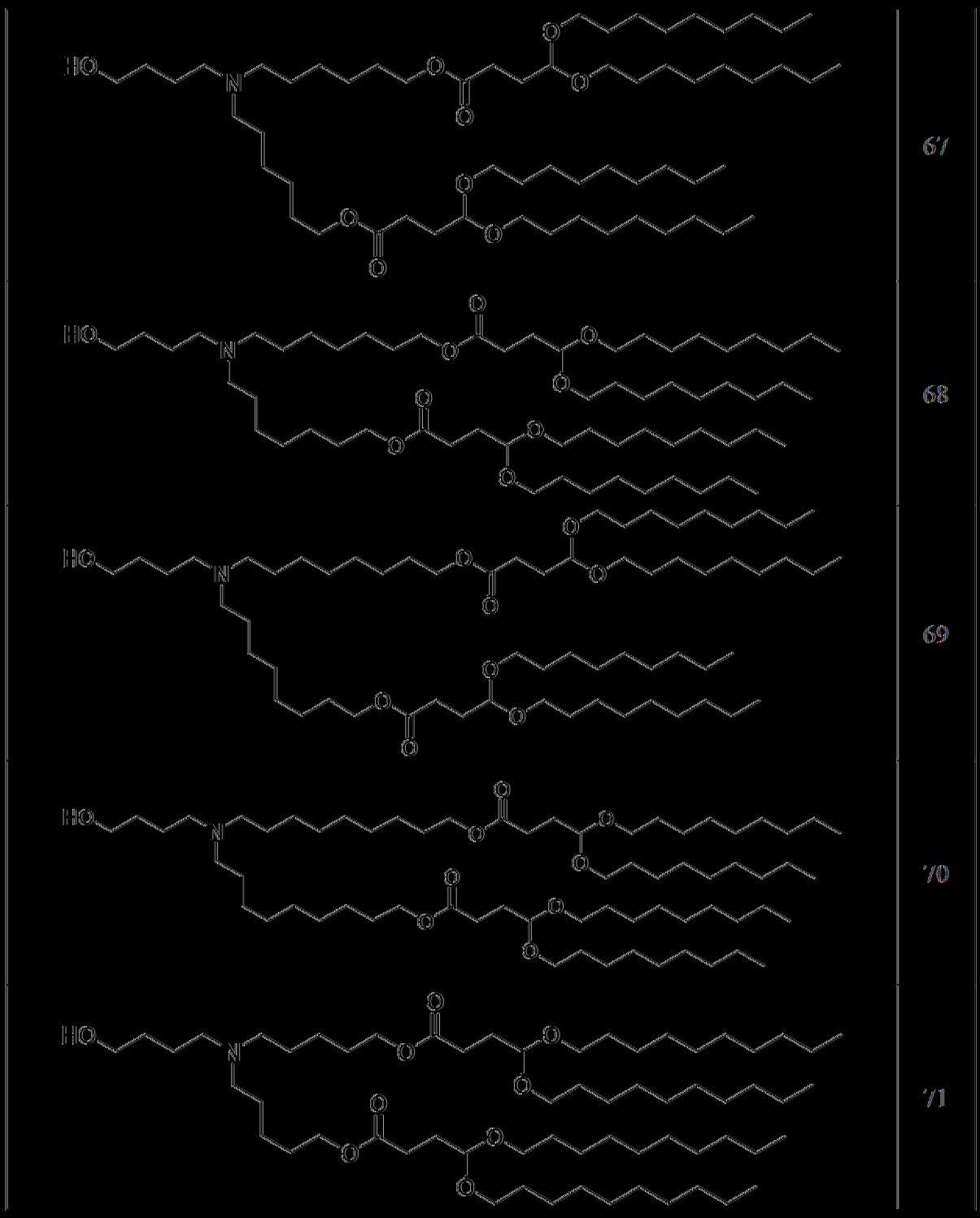
61

62

64

65

66



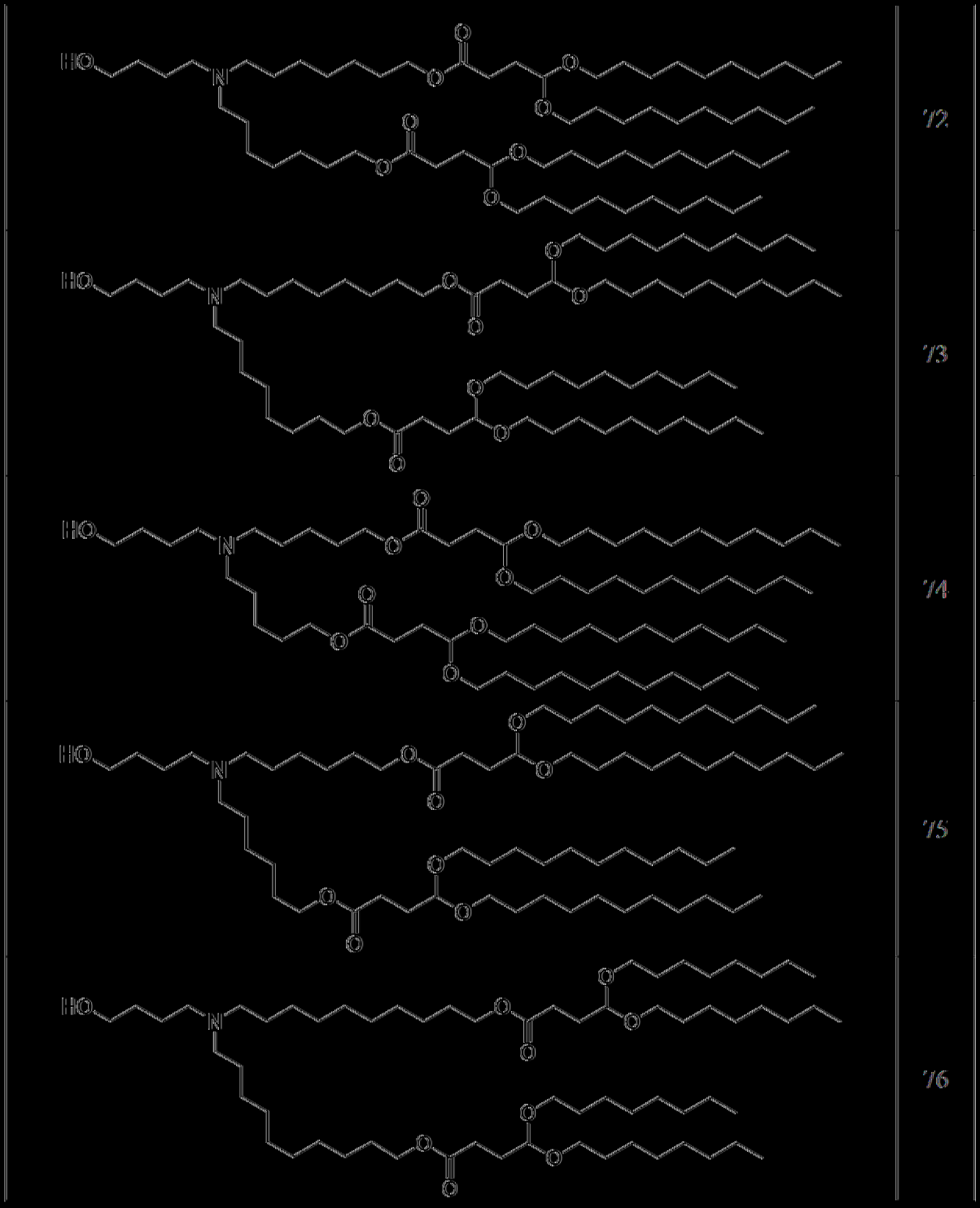
67

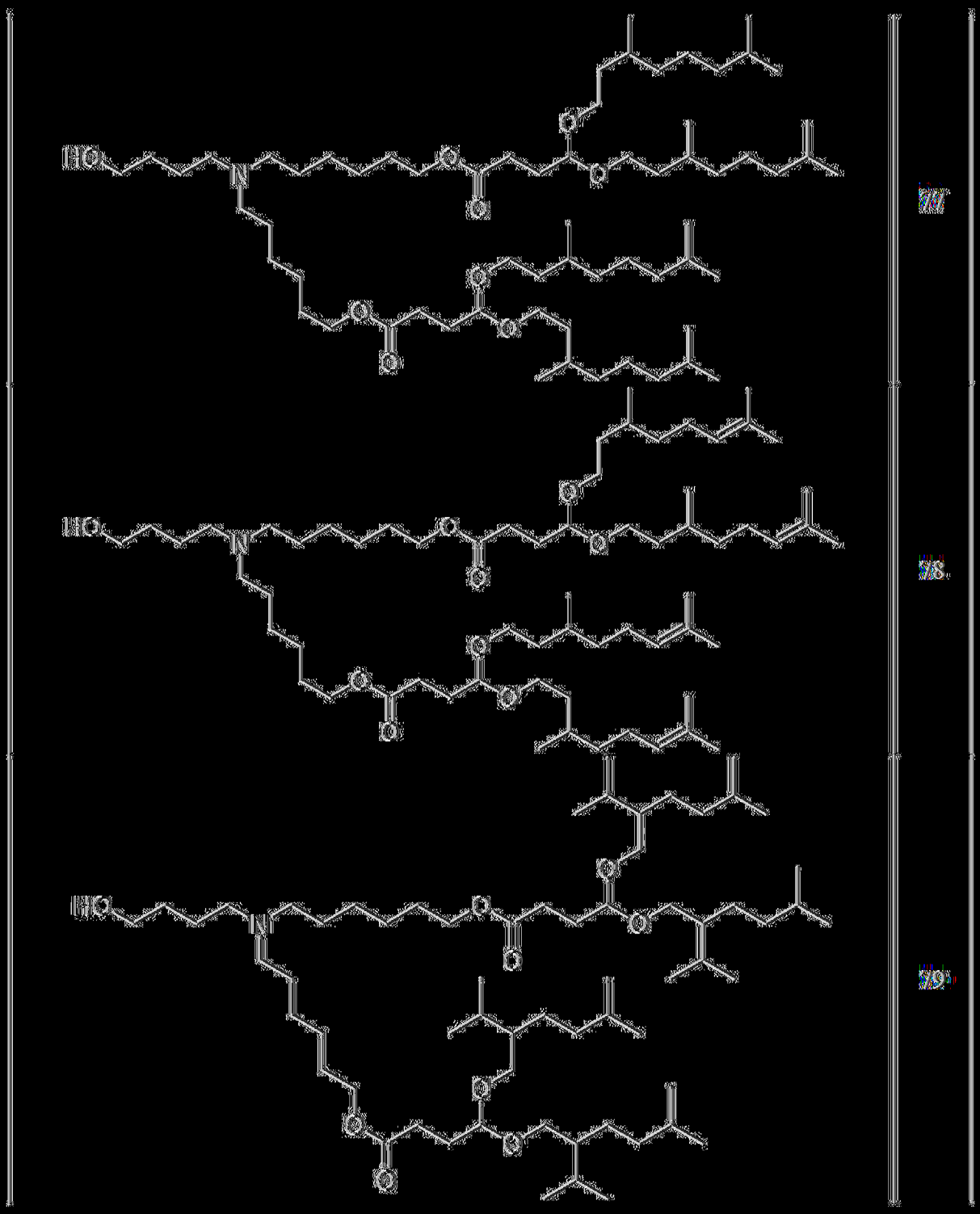
68

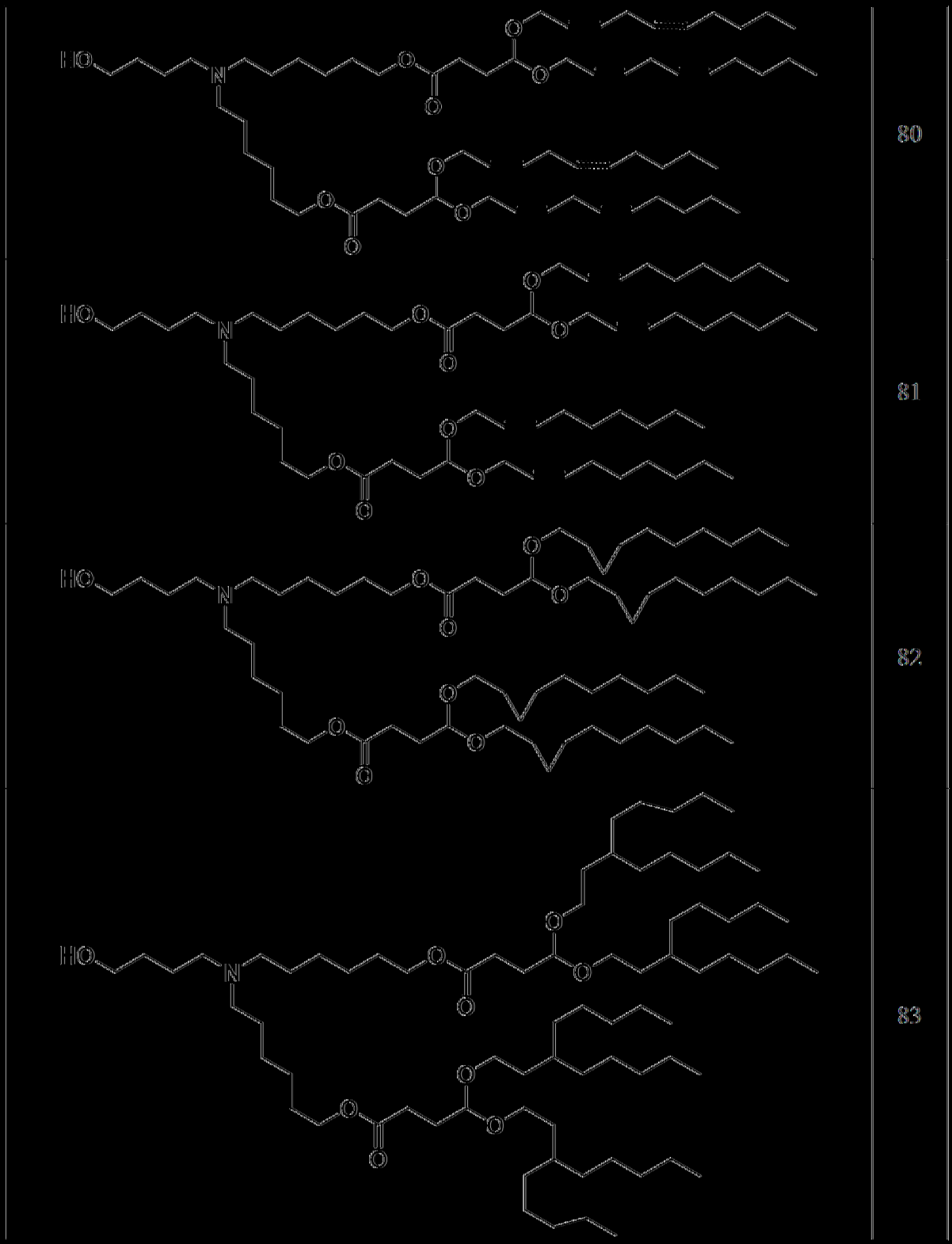
69

70

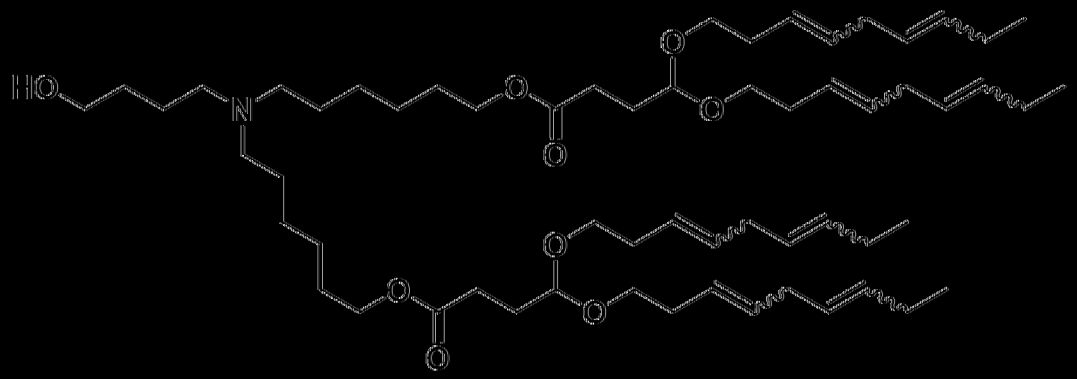
71


HO
N
O
O
O

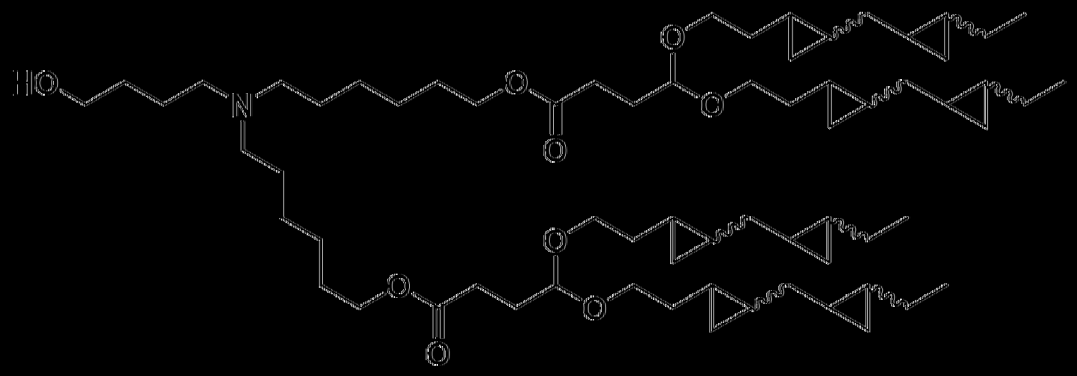

HO
N
O
O
O


80
81
82
83

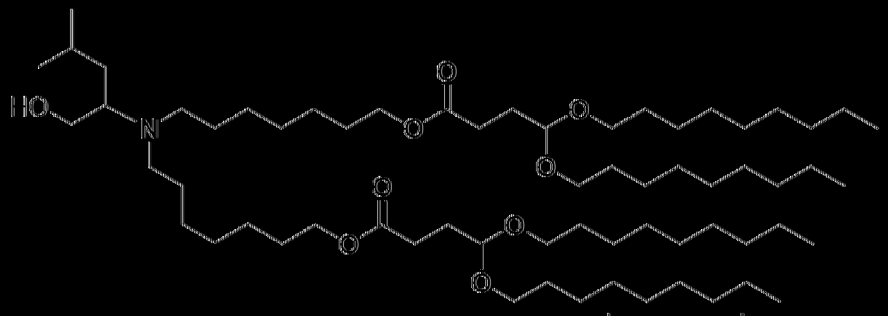
84



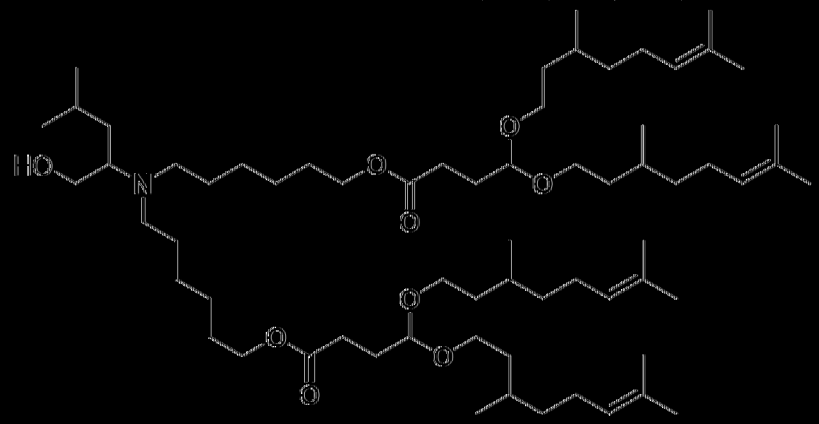
85



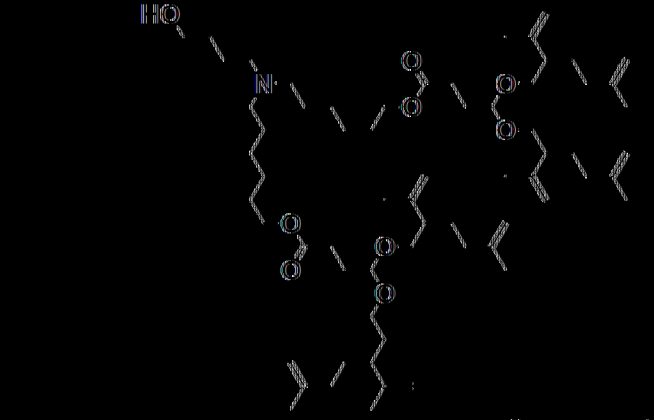
86



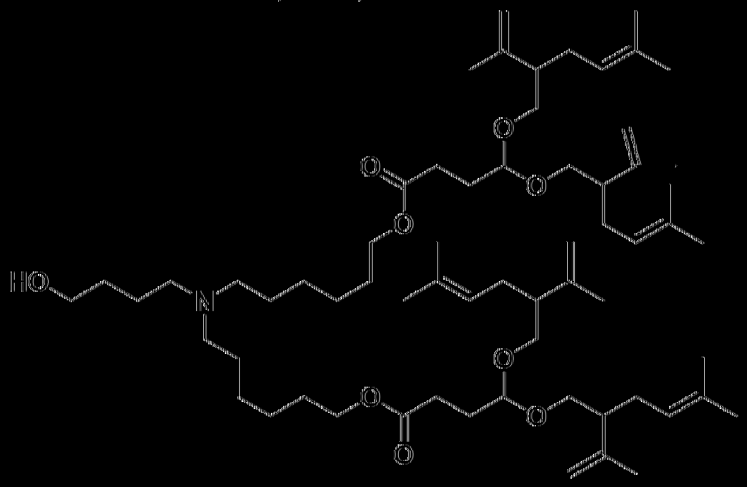
87



88



89



[0474] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)之結構：



(VII-A)，

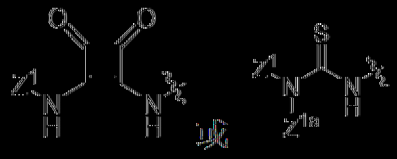
或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

A為 N(-X¹R¹)-、-C(R')(-L¹-N(R")R⁶)-、-C(R')(-OR⁷ᵃ)-、-C(R')(-N(R")R⁸ᵃ)-、-C(R')(-C(=O)OR⁹ᵃ)-、-C(R')(-C(=O)N(R")R¹⁰ᵃ)-或-C(=N-R¹¹ᵃ)-；

T為 -X²ᵃ-Y¹ᵃ-Q¹ᵃ或-X³-C(=O)OR⁴；

X¹為視情況經取代之C₂-C₆伸烷基；

R¹為-OH、-R¹ᵃ，



，

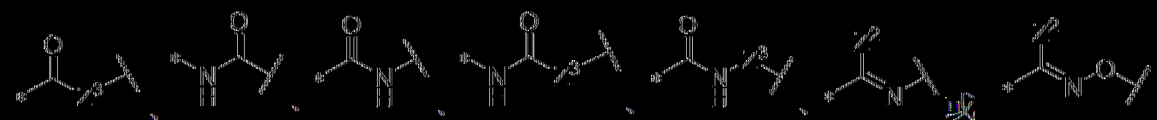
Z^1為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

Z^{1a}為氫或視情況經取代之C_1-C_6烷基；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

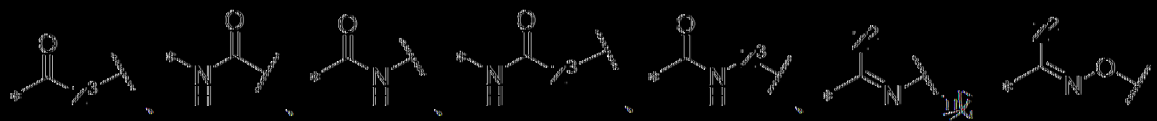
X^3為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

(i) Y^1為



其中用「*」標記之鍵與X^2連接；

Y^{1a}為



其中用「*」標記之鍵與X^{2a}連接；

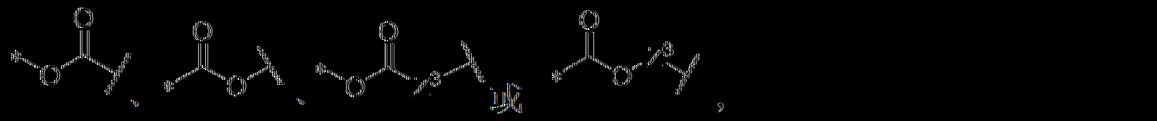
各Z^2獨立地為H或視情況經取代之C_1-C_8烷基；

各Z^3獨立地為視情況經取代之C_1-C_6伸烷基；

Q^1為$-NR^2R^3$、$-CH(OR^2)(OR^3)$、$-CR^2=C(R^3)(R^{12})$或$-C(R^2)(R^3)(R^{12})$；

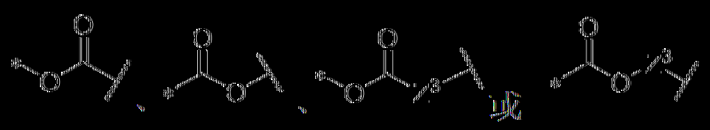
Q^{1a}為$-NR^{2'}R^{3'}$、$-CH(OR^{2'})(OR^{3'})$、$-CR^{2'}=C(R^3)(R^{12})$或$-C(R^{2'})(R^{3'})(R^{12'})$；或

(ii) Y^1為



其中用「*」標記之鍵與X^2連接；

Y^{1a}為



其中用「*」標記之鍵與X^{2a}連接；

各Z^2獨立地為H或視情況經取代之C_1-C_8烷基；

各Z^3獨立地為視情況經取代之C_1-C_6伸烷基；

Q^1為$-NR^2R^3$；

Q^{1a}為$-NR^{2'}R^{3'}$；

R^2、R^3及R^{12}獨立地為氫、視情況經取代之C_1-C_{14}烷基、視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基或$-(CH_2)_m-G-(CH_2)_nH$；

$R^{2'}$、$R^{3'}$及$R^{12'}$獨立地為氫、視情況經取代之C_1-C_{14}烷基、視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基或$-(CH_2)_m-G-(CH_2)_nH$；

G為C_3-C_8伸環烷基；

各m獨立地為0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12；

各n獨立地為0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12；

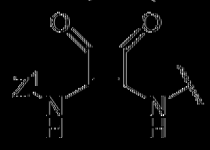
X^3為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

R^4為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

L^1為C_1-C_8伸烷基；

R^6為C_1-C_6烷基、(溴基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R^{7a}為$-C(=O)N(R'')R^{7b}$、$-C(=S)N(R'')R^{7b}$、$-N=C(R^{7b})(R^{7c})$或

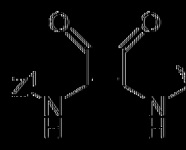


；

R^{7b}為C_1-C_6烷基、(溴基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R^{7c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{8a}為$-C(=O)N(R'')R^{8b}$、$-C(=S)N(R'')R^{8b}$、$-N=C(R^{8b})(R^{8c})$或



；

R^{8b}為C_1-C_6烷基、(經取代)C_1-C_6烷基或(被取代)C_1-C_6烷基；

R^{8c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{9a}為-N=C(R^{9b})(R^{9c})；

R^{9b}為C_1-C_6烷基、(經取代)C_1-C_6烷基或(被取代)C_1-C_6烷基；

R^{9c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{10a}為-N=C(R^{10b})(R^{10c})；

R^{10b}為C_1-C_6烷基、(經取代)C_1-C_6烷基或(被取代)C_1-C_6烷基；

R^{10c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{11a}為-OR^{11b}、-$N(R'')R^{11b}$、-OC(=O)R^{11b}或-N(R'')C(=O)R^{11b}；

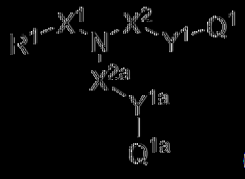
R^{11b}為C_1-C_6烷基、(經取代)C_1-C_6烷基或(被取代)C_1-C_6烷基；

R'為氫或C_1-C_6烷基；

R''為氫或C_1-C_6烷基；及

R'''為氫或C_1-C_6烷基。

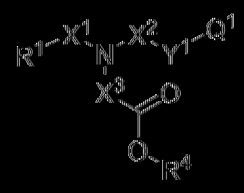
[0475] 在一典型實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-A)之結構，其中本發明之脂質具有式(VIII-A)之結構：



(VIII-A)，

或其醫藥學上可接受之鹽。

[0476] 在一典型實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-A)之結構，其中本發明之脂質具有式(IX-A)之結構：



(IX-A)，

或其醫藥學上可接受之鹽。

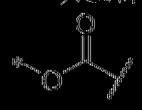
[0477] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)之結構，其中A為N(-X¹R¹)-。

[0478] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)之結構，其中T為-X^{2a}-Y^{1a}-Q^{1a}。

[0479] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)之結構，其中T為-X³-C(=O)OR⁴。

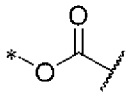
[0480] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中X²及/或X^{2a}為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基(例如C_4-C_{10}伸烷基、C_5-C_7伸烷基、C_5、C_6或C_7伸烷基)。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中X²為C_4-C_{10}伸烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中X^{2a}為C_4-C_{10}伸烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中X²為C_5伸烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中X²為C_6伸烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中X^{2a}為C_5伸烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中X^{2a}為C_6伸烷基。

[0481] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Y¹及/或Y^{1a}為

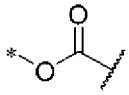


。

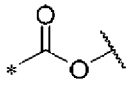
【0482】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Y^1為


。

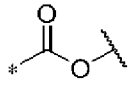
【0483】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Y^{1a}為


。

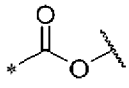
【0484】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Y^1及/或Y^{1a}為


。

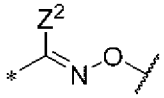
【0485】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Y^1為


。

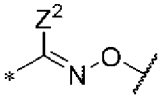
【0486】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Y^{1a}為


。

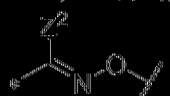
【0487】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Y^1及/或Y^{1a}為


，其中Z^2為氫。

【0488】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Y^1為

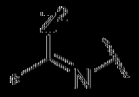

，其中Z^2為氫。

[0489] 在一典型實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Y^{1a}為



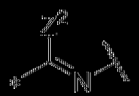
，其中Z^2為氫。

[0490] 在一典型實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Y^1及/或Y^{1a}為



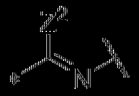
，其中Z^2為氫。

[0491] 在一典型實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Y^1為



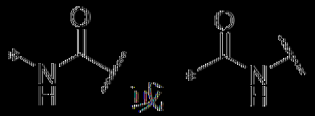
，其中Z^2為氫。

[0492] 在一典型實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Y^{1a}為



，其中Z^2為氫。

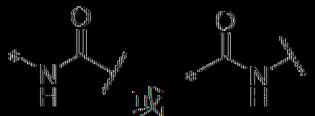
[0493] 在一典型實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Y^1及Y^{1a}獨立地為



或

。

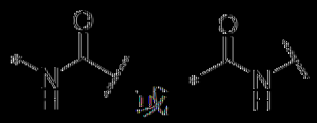
[0494] 在一典型實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Y^1獨立地為



或

。

[0495] 在一典型實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Y^{1a}獨立地為



或

。

[0496] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Q^1及/或Q^{1a}為NR^2R^3。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Q^1為NR^2R^3。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Q^{1a}為NR^2R^3。

[0497] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Q^1及/或Q^{1a}為$CH(OR^2)(OR^3)$。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Q^1為$CH(OR^2)(OR^3)$。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Q^{1a}為$CH(OR^2)(OR^3)$。

[0498] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Q^1及/或Q^{1a}為$CR^2{=}C(R^3)(R^{12})$。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Q^1為$CR^2{=}C(R^3)(R^{12})$。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Q^{1a}為$CR^2{=}C(R^3)(R^{12})$。

[0499] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Q^1及/或Q^{1a}為$C(R^{2'})(R^{3'})(R^{12'})$。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Q^1為$C(R^{2'})(R^{3'})(R^{12'})$。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中Q^{1a}為$C(R^{2'})(R^{3'})(R^{12'})$。

[0500] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中X^3為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基(例如C_4-C_{10}伸

烷基、C_5-C_7伸烷基、C_5、C_6或C_7伸烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中X^3為C_5-C_7伸烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中X^3為C_5伸烷基。

【0501】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中R^2、R^3、R^{12}、$R^{2'}$、$R^{3'}$及/或$R^{12'}$為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中R^2為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中R^3為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中R^{12}為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中$R^{2'}$為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中$R^{3'}$為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中$R^{12'}$為氫。

【0502】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中R^2、R^3、R^{12}、$R^{2'}$、$R^{3'}$及/或$R^{12'}$為視情況經取代之C_1-C_{14}烷基(例如C_5-C_{14}、C_5-C_{10}、C_6-C_9、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中R^2為C_5-C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中R^3為C_5-C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中R^{12}為C_5-C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中$R^{2'}$為C_5-C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具

有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中$R^{3'}$為C_5-C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中$R^{12'}$為C_5-C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中R^2為C_8烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中R^3為C_8烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中R^{12}為C_8烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中$R^{2'}$為C_8烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中$R^{3'}$為C_8烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中$R^{12'}$為C_8烷基。

【0503】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)或(IX-A)之結構，其中R^4為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基(例如C_6-C_{12}、C_8-C_{12}、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)或(IX-A)之結構，其中R^4為C_6-C_{12}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中R^4為C_{11}烷基。

【0504】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中R^1為OH。

【0505】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中X^1為C_{2-4}伸烷基(例如C_2、C_3或C_4伸烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)或(IX-A)之結構，其中X^1為C_2伸烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-A)、(VIII-

A)或(IX-A)之結構，其中X^1為C_4伸烷基。

[0506] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構：



(VII-B)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

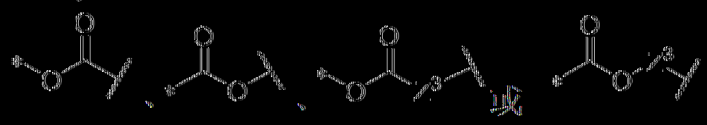
A為$C(R')(-L^1-N(R'')R^6)$、$C(R')(-OR'^a)$、$C(R')(-N(R'')R^{8a})$、$C(R')(-C(=O)OR^{9a})$、$C(R')(-C(=O)N(R'')R^{10a})$或$C(=N-R^{11a})$；

T為$-X^{2a}-Y^{1a}-Q^{1a}$或$-X^3-C(=O)OR^4$；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

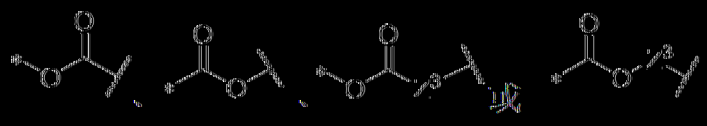
X^3為視情況經取代之C_1-C_{14}伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

Y^1為



其中用「*」標記之鍵與X^2連接；

Y^{1a}為



其中用「*」標記之鍵與X^{2a}連接；

各Z^3獨立地為視情況經取代之C_1-C_6伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

Q^1為$-NR^2R^3$、$-CH(OR^2)(OR^3)$、$-CR^2=C(R^3)(R^{12})$或$-C(R^2)(R^3)(R^{12})$；

Q^{1a}為$-NR^{2'}R^{3'}$、$-CH(OR^{2'})(OR^{3'})$、$-CR^{2'}=C(R^3)(R^{12})$或$-C(R^{2'})(R^{3'})(R^{12'})$；

R^2、R^3及R^{12}獨立地為氫、視情況經取代之C_1-C_{14}烷基、視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基或$-(CH_2)_m-G-(CH_2)_nH$；

$R^{2'}$、$R^{3'}$及$R^{12'}$獨立地為氫、視情況經取代之C_1-C_{14}烷基、視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基或$-(CH_2)_m-G-(CH_2)_nH$；

G為C_3-C_8伸環烷基；

各m獨立地為0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12；

各n獨立地為0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12；

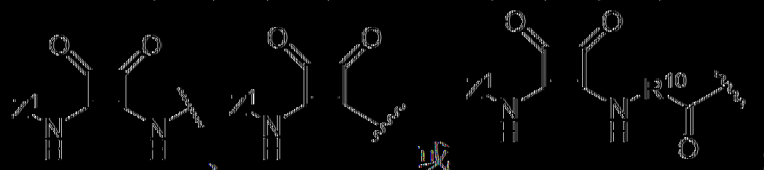
X^3為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

R^4為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

L^1為C_1-C_8伸烷基；

R^6為(羥基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R^{7a}為$-C(=O)N(R'')R^{7b}$、$-C(=S)N(R'')R^{7b}$、$-N=C(R^{7b})(R^{7c})$，



；

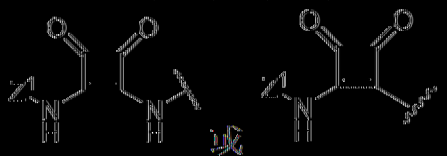
Z^1為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

R^{10}為C_1-C_6伸烷基；

R^{7b}為C_1-C_6烷基、(羥基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R^{7c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{8a}為$-C(=O)N(R'')R^{8b}$、$-C(=S)N(R'')R^{8b}$、$-N=C(R^{8b})(R^{8c})$，



；

R^{8b}為C_1-C_6烷基、(羥基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R^{8c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{9a}為-N=C(R^{9b})(R^{9c})；

R^{9b}為C_1-C_6烷基、(羥基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R^{9c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{10a}為-N=C(R^{10b})(R^{10c})；

R^{10b}為C_1-C_6烷基、(羥基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R^{10c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{11a}為-OR^{11b}、-N(R")R^{11b}、-OC(=O)R^{11b}或-N(R")C(=O)R^{11b}；

R^{11b}為C_1-C_6烷基、(羥基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R'為氫或C_1-C_6烷基；

R"為氫或C_1-C_6烷基；及

R'"為氫或C_1-C_6烷基。

【0507】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中A為-C(R')(-L^1-N(R")R^6)-。

【0508】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中A為-C(R')(-OR^{7a})-。

【0509】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中A為-C(R')(-N(R")R^{8a})。

【0510】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中A為-C(R')(-C(=O)OR^{9a})。

【0511】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中A為-C(R')(-C(=O)N(R")R^{10a})-。

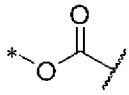
【0512】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中A為-C(=N-R^{11a})-。

【0513】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中T為$-X^{2a}-Y^{1a}-Q^{1a}$。

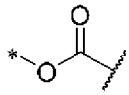
【0514】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中T為$-X^{3}-C(=O)OR^{4}$。

【0515】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中X^2及/或X^{2a}為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基(例如C_2-C_{10}伸烷基、C_2-C_8伸烷基、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_7或C_8伸烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中X^2為C_2-C_{14}伸烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中X^{2a}為C_2-C_{14}伸烷基。

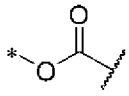
【0516】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中Y^1及/或Y^{1a}為

 。

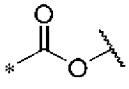
【0517】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中Y^1為

 。

【0518】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中Y^{1a}為

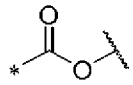
 。

【0519】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中Y^1及/或Y^{1a}為

 。

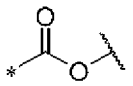
【0520】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其

中Y^1為



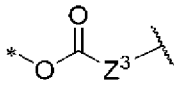
。

【0521】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中Y^{1a}為



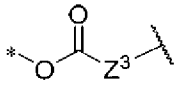
。

【0522】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中Y^1及/或Y^{1a}為



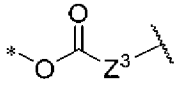
。

【0523】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中Y^1為



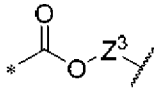
。

【0524】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中Y^{1a}為



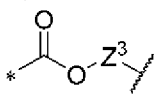
。

【0525】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中Y^1及/或Y^{1a}為



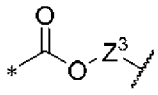
。

【0526】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中Y^1為



。

【0527】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中Y^{1a}為

 。

【0528】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中Q^1及/或Q^{1a}為-C($R^{2'}$)($R^{3'}$)($R^{12'}$)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中Q^1為-C($R^{2'}$)($R^{3'}$)($R^{12'}$)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中Q^{1a}為-C($R^{2'}$)($R^{3'}$)($R^{12'}$)。

【0529】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中X^3為視情況經取代之C_1-C_{14}伸烷基(例如C_1-C_6、C_1-C_4伸烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中X^3為C_1-C_{14}伸烷基。

【0530】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^2、R^3、R^{12}、$R^{2'}$、$R^{3'}$及/或$R^{12'}$為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^2為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^3為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{12}為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中$R^{2'}$為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中$R^{3'}$為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中$R^{12'}$為氫。

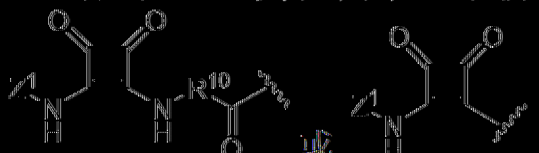
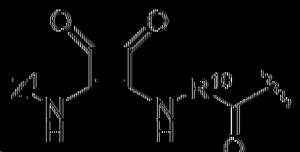
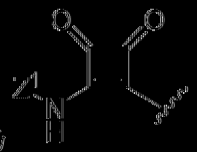
【0531】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^2、R^3、R^{12}、$R^{2'}$、$R^{3'}$及/或$R^{12'}$為視情況經取代之C_1-C_{14}烷基(例如C_4-C_{10}烷基、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^2為C_4-C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^3為C_4-C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{12}為C_4-C_{10}烷基。在一些實施例

中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中$R^{2'}$為C_4-C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中$R^{3'}$為C_4-C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中$R^{12'}$為C_4-C_{10}烷基。

[0532] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^4為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基(例如C_8-C_{14}烷基、直鏈C_8-C_{14}烷基、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}或C_{14}烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^4為直鏈C_8-C_{14}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^4為直鏈C_{11}烷基。

[0533] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中L^1為C_1-C_3伸烷基。

[0534] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^6為(羥基)C_1-C_6烷基。

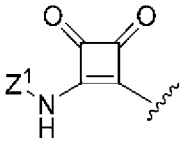
[0535] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{7a}為  或。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{7a}為  。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{7a}為  。

[0536] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{7a}選自由以下組成之群：-C(=O)N(R'")R^{7b}、-C(=S)N(R'")R^{7b}及-N=C(R^{7b})(R^{7c})。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，

其中R^{7a}為-C(=O)N(R'")R^{7b}。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{7a}為-C(=S)N(R'")R^{7b}。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{7a}為-N=C(R^{7b})(R^{7c})。

【0537】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{8a}選自由以下組成之群：-C(=O)N(R'")R^{8b}、-C(=S)N(R'")R^{8b}及-N=C(R^{8b})(R^{8c})。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{8a}為-C(=O)N(R'")R^{8b}。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{8a}為-C(=S)N(R'")R^{8b}。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{8a}為-N=C(R^{8b})(R^{8c})。

【0538】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{8a}為



。

【0539】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{9b}為(羥基)C_1-C_6烷基。

【0540】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{10b}為(胺基)C_1-C_6烷基。

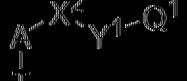
【0541】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{11a}為-OR^{11b}或-OC(=O)R^{11b}。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{11a}為-OR^{11b}。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{11a}為-OC(=O)R^{11b}。

【0542】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{11a}為-N(R")R^{11b}或-N(R")C(=O)R^{11b}。在一些實施例中，本發明之脂

質具有式(VII-B)之結構，其中R^{11a}為-N(R")R^{11b}。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{11a}為-N(R")C(=O)R^{11b}。

[0543] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-B)之結構，其中R^{11b}為(胺基)C_1-C_6烷基。

[0544] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構：



(VII-C)，

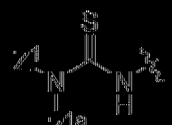
或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

A為-N(-X^1R^1)-；

T為-X^{2a}-Y^{1a}-Q^{1a}或-X^3-C(=O)OR^4；

(i)X^1為視情況經取代之C_2-C_3伸烷基；

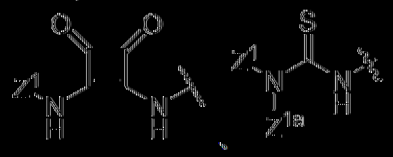
R^1為



、-NR"C(O)OR^{20}或-NR"R^{21}；或

(ii)X^1為C_4-C_6伸烷基，及

R^1為



、-NR"C(O)OR^{20}或-NR"R^{21}；

Z^1為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

Z^{1a}為氫或視情況經取代之C_1-C_6烷基；

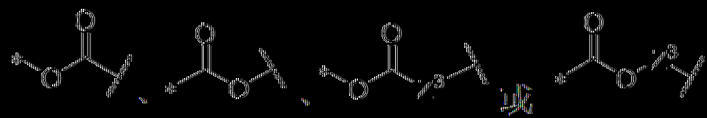
R^{20}為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

R^{21}為-(C_2伸烷基)-OH；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

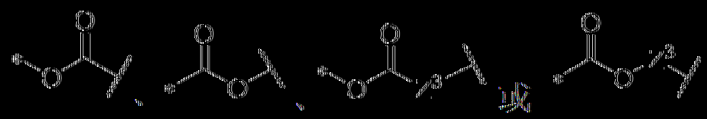
X^3為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

Y^1為鍵，

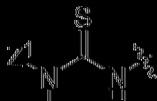
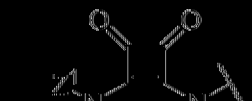


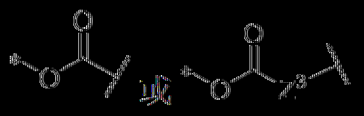
其中用「*」標記之鍵與X^2連接；

Y^{1a}為



其中用「*」標記之鍵與X^{2a}連接；

其中當R^1為  或  時，Y^1及Y^{1a}為



各Z^2獨立地為H或視情況經取代之C_1-C_8烷基；

各Z^3獨立地為視情況經取代之C_1-C_6伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

Q^1為 $-NR^{2'}R^3$、$-CH(OR^{2'})(OR^3)$、$-CR^{2'}=C(R^3)(R^{12'})$或$-C(R^{2'})(R^3)(R^{12'})$；

Q^{1a}為 $-NR^{2'}R^{3'}$、$-CH(OR^{2'})(OR^{3'})$、$-CR^{2'}=C(R^3)(R^{12'})$或$-C(R^{2'})(R^{3'})(R^{12'})$；

其中當R^1為$-NR''C(O)OR^{20}$時，Q^1為$-CH(OR^{2'})(OR^3)$，且Q^{1a}為$-CH(OR^{2'})(OR^{3'})$；

R^2、R^3及R^{12}獨立地為氫、視情況經取代之直鏈C_1-C_{14}烷基、視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基或$-(CH_2)_m-G-(CH_2)_n-H$；

$R^{2'}$、$R^{3'}$及$R^{12'}$獨立地為氫、視情況經取代之直鏈C_1-C_{14}烷基或視情

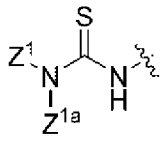
況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

X^3為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

R^4為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；及

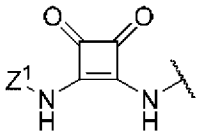
R"為氫或C_1-C_6烷基。

【0545】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中R^1為



，其中Z^1為甲基且Z^{1a}為氫或甲基。

【0546】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中R^1為



，其中Z^1為甲基。

【0547】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中R^1為-NR"C(O)OR^{20}。

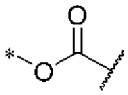
【0548】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中R^1為-NR"R^{21}。

【0549】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中R^{20}為三級丁基或苯甲基。

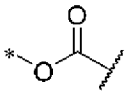
【0550】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中X^2及/或X^{2a}為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基(例如C_4-C_8伸烷基、C_4、C_5、C_6、C_7、C_8伸烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中X^2為C_4-C_8伸烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中X^{2a}為C_4-C_8伸烷基。

【0551】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其

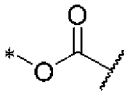
中Y^1及/或Y^{1a}為

 。

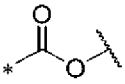
【0552】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Y^1為

 。

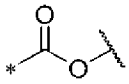
【0553】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Y^{1a}為

 。

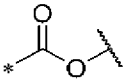
【0554】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Y^1及/或Y^{1a}為

 。

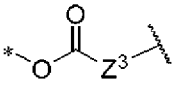
【0555】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Y^1為

 。

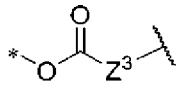
【0556】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Y^{1a}為

 。

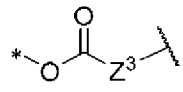
【0557】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Y^1及/或Y^{1a}為

 ，其中Z^3為C_2伸烷基。

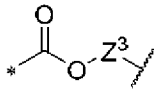
【0558】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Y^1為

 ，其中Z^3為C_2伸烷基。

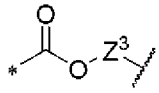
【0559】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Y^{1a}為

 ，其中Z^3為C_2伸烷基。

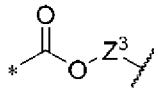
【0560】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Y^1及/或Y^{1a}為

 ，其中Z^3為C_2伸烷基。

【0561】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Y^1為

 ，其中Z^3為C_2伸烷基。

【0562】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Y^{1a}為

 ，其中Z^3為C_2伸烷基。

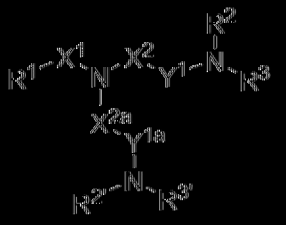
【0563】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Q^1及/或Q^{1a}為-CH(OR^2)(OR^3)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Q^{1a}為-CH(OR^2)(OR^3)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Q^1為-CH(OR^2)(OR^3)。

【0564】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Q^1及/或Q^{1a}為-C($R^{2'}$)($R^{3'}$)($R^{12'}$)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Q^1為-C($R^{2'}$)($R^{3'}$)($R^{12'}$)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中Q^{1a}為-C($R^{2'}$)($R^{3'}$)($R^{12'}$)。

【0565】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其

中R^2、R^3、R^{12}、$R^{2'}$、$R^{3'}$及$R^{12'}$獨立地為氫、視情況經取代之直鏈C_1-C_{14}烷基(例如C_4-C_{10}烷基、C_6-C_8烷基、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9烷基)。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中R^2為氫。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中R^3為氫。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中R^{12}為氫。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中$R^{2'}$為氫。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中$R^{3'}$為氫。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中$R^{12'}$為氫。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中R^2為直鏈C_4-C_{10}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中R^3為直鏈C_4-C_{10}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中R^{12}為直鏈C_4-C_{10}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中$R^{2'}$為直鏈C_4-C_{10}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中$R^{3'}$為直鏈C_4-C_{10}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VII-C)之結構，其中$R^{12'}$為直鏈C_4-C_{10}烷基。

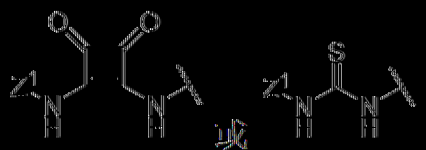
〔0566〕在一典實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構：



(I-A)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

R^1為-OH、-R^{1a}，



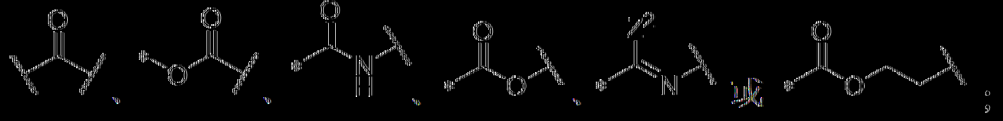
；

Z^1為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

X^1為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1及Y^{1a}獨立地為鍵，



；

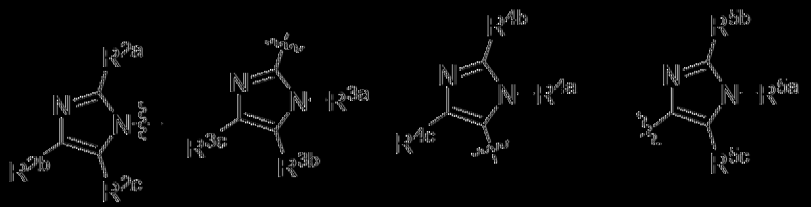
其中用「*」標記之鍵與X^2或X^{2a}連接；

Z^2為H或視情況經取代之C_1-C_8烷基；

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

R^{1a}為：



$R^{1a}1$、$R^{1a}2$、$R^{1a}3$或$R^{1a}4$；

R^{2a}、R^{2b}及R^{2c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基；

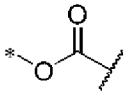
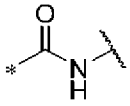
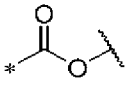
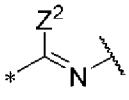
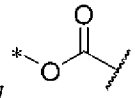
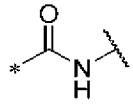
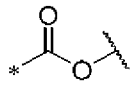
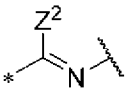
R^{3a}、R^{3b}及R^{3c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基；

R^{4a}、R^{4b}及R^{4c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基；及

R^{5a}、R^{5b}及R^{5c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基。

[0567] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中R^1為OH。

[0568] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中Y^1及Y^{1a}獨立地為  。在一典實施例

中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中Y^1為  。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中Y^1為  。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中Y^1為  。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中Y^1為  。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中Y^{1a}為  。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中Y^{1a}為  。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中Y^{1a}為  。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中Y^{1a}為  。

【0569】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中Z^2為H。

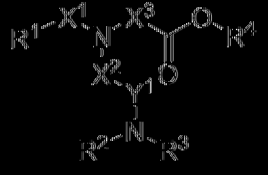
【0570】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中X^1為視情況經取代之C_2或C_4伸烷基。

【0571】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中X^2及X^{2a}獨立地為C_4-C_8伸烷基(例如C_6伸烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中X^2為C_6伸烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中X^{2a}為C_6伸烷基。

【0572】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中R^2、R^3、$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為C_4-C_{14}烷基(例如C_6-C_8烷基、C_6、C_7、C_8烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中R^2為C_6-C_8烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中R^3為C_6-C_8烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中$R^{2'}$

為C_6-C_8烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(I-A)之結構，其中$R^{3'}$為C_6-C_8烷基。

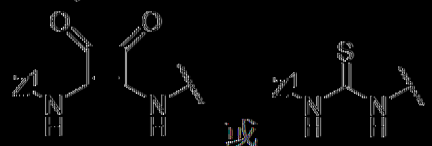
〔0573〕在一典實施例中，本發明之脂質具有式(II)之結構：



(II)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

R^1為-OH、-R^{1a}，



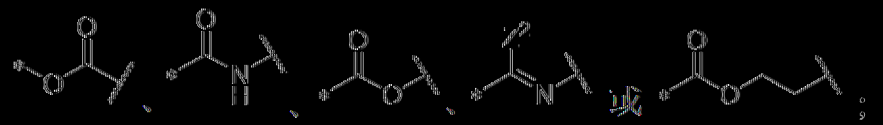
；

Z^1為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

X^1為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

X^2為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1為鍵，



；

其中用「*」標記之鍵與X^2連接；

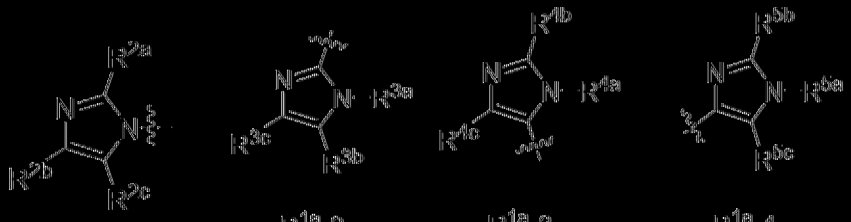
Z^2為H或視情況經取代之C_1-C_8烷基；

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

X^3為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

R^4為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

R^{1a}為：



R^{1a}-1 、 R^{1a}-2 、 R^{1a}-3 或 R^{1a}-4 ；

R^{2a}、R^{2b}及R^{2c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基；

R^{3a}、R^{3b}及R^{3c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基；

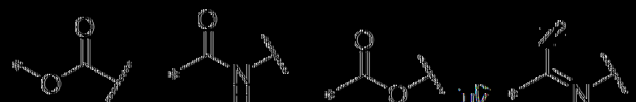
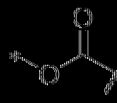
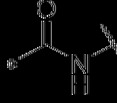
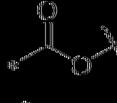
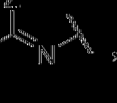
R^{4a}、R^{4b}及R^{4c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基；及

R^{5a}、R^{5b}及R^{5c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基。

[0574] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III)之結構，其中R^1為-OH。

[0575] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III)之結構，其中X^1為C_2-C_4伸烷基(例如C_2伸烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III)之結構，其中X^1為C_2伸烷基。

[0576] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III)之結構，其中X^2為C_4-C_{10}伸烷基(例如C_5、C_6、C_7、C_8、C_9烷基)。

[0577] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III)之結構，其中Y^1為  ，其中Z^2為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III)之結構，其中Y^1為  。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III)之結構，其中Y^1為  。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III)之結構，其中Y^1為  。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III)之結構，其中Y^1為  ，其中Z^2為氫。

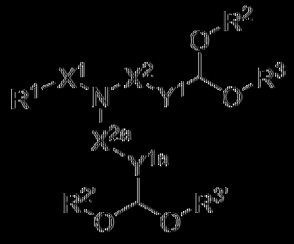
[0578] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III)之結構，其中

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{10}烷基(例如C_8烷基)。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(II)之結構，其中R^2及R^3獨立地為C_4-C_{10}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(II)之結構，其中R^2及R^3獨立地為C_8烷基。

[0579] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(II)之結構，其中X^3為視情況經取代之C_4-C_{10}伸烷基(例如C_5伸烷基)。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(II)之結構，其中X^3為C_4-C_{10}伸烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(II)之結構，其中X^3為C_5伸烷基。

[0580] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(II)之結構，其中R^4為視情況經取代之C_6-C_{12}烷基(例如C_{11}烷基)。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(II)之結構，其中R^4為C_6-C_{12}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(II)之結構，其中R^4為C_{11}烷基。

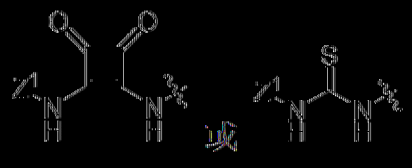
[0581] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-B)之結構：



(III-B)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R^1為



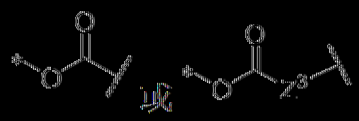
；

Z^1為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

X^1為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1及Y^{1a}獨立地為



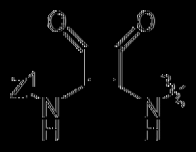
，

Z^3獨立地為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基。

[0582] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-B)之結構，其中R^1為



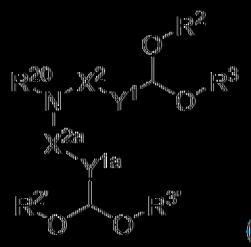
，其中Z^1為甲基。

[0583] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-B)之結構，其中X^1為C_2-C_4伸烷基(例如C_3伸烷基)。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-B)之結構，其中X^1為C_3伸烷基。

[0584] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-B)之結構，其中X^2為C_4-C_{10}伸烷基(例如C_6烷基)。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-B)之結構，其中X^2為C_6烷基。

[0585] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-B)之結構，其中R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{10}烷基(例如C_8烷基)。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-B)之結構，其中R^2及R^3獨立地為C_8烷基。

[0586] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-C)之結構：



(III-C)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R^{20}為C_1-C_6伸烷基-$NR^{20'}C(O)OR^{20''}$；

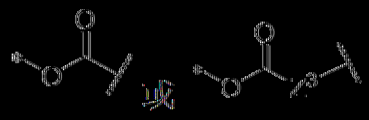
$R^{20'}$為氫或視情況經取代之C_1-C_6烷基；

$R^{20''}$為視情況經取代之C_1-C_6烷基、苯基或苯甲基；

Z^1為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1及Y^{1a}獨立地為



；

其中用「*」標記之鍵與X^2或X^{2a}連接；

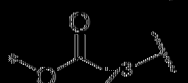
Z^3獨立地為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

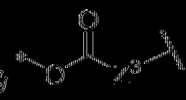
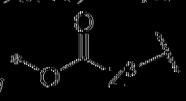
R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；及

$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基。

[0587] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-C)之結構，其中R^{20}為-$CH_2CH_2CH_2NHC(O)O$-三級丁基或-$CH_2CH_2CH_2NHC(O)O$-苯甲基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-C)之結構，其中R^{20}為-$CH_2CH_2CH_2NHC(O)O$-三級丁基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-C)之結構，其中R^{20}為-$CH_2CH_2CH_2NHC(O)O$-苯甲基。

[0588] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-C)之結構，其中X^2及X^{2a}獨立地為C_4-C_8伸烷基(例如C_5、C_6、C_7伸烷基)。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-C)之結構，其中X^2為C_6伸烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-C)之結構，其中X^{2a}為C_6伸烷基。

[0589] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-C)之結構，其中Y^1及Y^{1a}為  ，其中Z^3為C_2-C_4伸烷基(例如C_2伸烷基)。在一典

實施例中，本發明之脂質具有式(III-C)之結構，其中Y^1為  ，其中Z^3為C_2-C_4伸烷基(例如C_2伸烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-C)之結構，其中Y^{1a}為  ，其中Z^3為C_2-C_4伸烷基(例如C_2伸烷基)。

[0590] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-C)之結構，其中R^2、R^3、$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為視情況經取代之C_4-C_{10}烷基(例如C_6-C_9烷基、C_6、C_7、C_8、C_9烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-C)之結構，其中R^2為C_6-C_9烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-C)之結構，其中R^3為C_6-C_9烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-C)之結構，其中$R^{2'}$為C_6-C_9烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-C)之結構，其中$R^{3'}$為C_6-C_9烷基。

[0591] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構：



(III-D)，

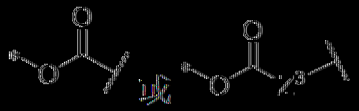
或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R^1為-OH；

X^1為視情況經取代之C_1伸烷基；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1及Y^{1a}獨立地為

 ；

Z^3獨立地為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

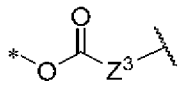
R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基或經視情況經取代之環丙基取代的C_1-C_2烷基；或

$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基或經視情況經取代之環丙基取代的C_1-C_2烷基。

【0592】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中X^1為C_4伸烷基。

【0593】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_4-C_{10}伸烷基(例如C_5、C_6、C_7、C_8、C_9或C_{10}伸烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中X^2為C_4-C_{10}伸烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中X^{2a}為C_4-C_{10}伸烷基。

【0594】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中Y^1及Y^{1a}獨立地為



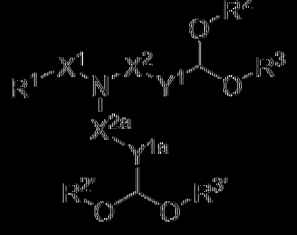
，其中Z^3獨立地為C_2-C_4伸烷基(例如C_2、C_4伸烷基)。

【0595】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中R^2、R^3、$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為C_6-C_{14}烷基(例如C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}或C_{14}烷基)或經視情況經取代之環丙基取代的C_1-C_2烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中R^2、R^3、$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為C_6-C_{14}烷基(例如C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}或C_{14}烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中R^2為C_6-C_{14}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中R^3為C_6-C_{14}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中$R^{2'}$為C_6-C_{14}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)

之結構，其中$R^{3'}$為C_6-C_{14}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中R^2為經經取代之環內其取代的C_1-C_2烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中R^3為經經取代之環內其取代的C_1-C_2烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中$R^{2'}$為經經取代之環內其取代的C_1-C_2烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中$R^{3'}$為經經取代之環內其取代的C_1-C_2烷基。

[0596] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中R^2、R^3、$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為經伸環內基(視情況經經C_1-C_6烷基取代之伸環內其取代的C_1-C_6伸烷基)取代的C_1-C_2烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中R^2為經伸環內基(視情況經經C_1-C_6烷基取代之伸環內其取代的C_1-C_6伸烷基)取代的C_1-C_2烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中R^3為經伸環內基(視情況經經C_1-C_6烷基取代之伸環內其取代的C_1-C_6伸烷基)取代的C_1-C_2烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中$R^{2'}$為經伸環內基(視情況經經C_1-C_6烷基取代之伸環內其取代的C_1-C_6伸烷基)取代的C_1-C_2烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-D)之結構，其中$R^{3'}$為經伸環內基(視情況經經C_1-C_6烷基取代之伸環內其取代的C_1-C_6伸烷基)取代的C_1-C_2烷基。

[0597] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構：



(III-E)，

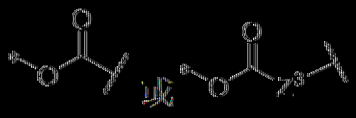
或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R^1為-OH；

X^1為分支鏈C_2-C_8伸烷基；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1及Y^{1a}獨立地為


或

；

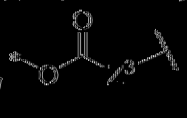
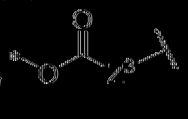
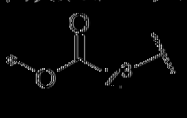
Z^3獨立地為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基。

[0598] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中X^1為分支鏈C_6伸烷基。

[0599] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中X^2及X^{2a}獨立地為C_4-C_{10}伸烷基(例如C_6、C_7、C_8伸烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中X^2為C_4-C_{10}伸烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中X^{2a}為C_4-C_{10}伸烷基。

[0600] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中Y^1及Y^{1a}為  ，其中Z^3獨立地為視情況經取代之C_2伸烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中Y^1為  ，其中Z^3獨立地為視情況經取代之C_2伸烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中Y^{1a}為  ，其中Z^3獨立地為視情況經取代之C_2伸烷基。

[0601] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中R^2、R^3、$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為C_6-C_{12}烷基(例如C_9烷基)或視情況經C_2-C_8伸烯基(例如C_4、C_6伸烯基)取代之C_4-C_{10}烷基(例如C_4、C_6烷基)。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中R^2為C_6-C_{12}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中R^3為C_6-C_{12}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中$R^{2'}$為C_6-C_{12}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中$R^{3'}$為C_6-C_{12}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中R^2為視情況經C_2-C_8伸烯基取代之C_4-C_{10}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中R^3為視情況經C_2-C_8伸烯基取代之C_4-C_{10}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中$R^{2'}$為視情況經C_2-C_8伸烯基取代之C_4-C_{10}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-E)之結構，其中$R^{3'}$為視情況經C_2-C_8伸烯基取代之C_4-C_{10}烷基。

[0602] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(III-F)之結構：



(III-F)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R^1為-OH；

X^1為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1及Y^{1a}各自為鍵；

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；及

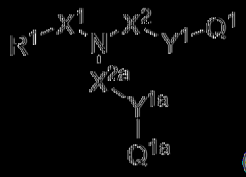
$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基。

[0603] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-F)之結構，其中X^1為C_4伸烷基。

[0604] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-F)之結構，其中X^2及X^{2a}獨立地為C_4-C_{10}伸烷基(例如C_6-C_8伸烷基、C_6、C_7、C_8伸烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-F)之結構，其中X^2為C_4-C_{10}伸烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-F)之結構，其中X^{2a}為C_4-C_{10}伸烷基。

[0605] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-F)之結構，其中R^2、R^3、$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為C_6-C_{10}烷基(例如C_7、C_8烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-F)之結構，其中R^2為C_6-C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-F)之結構，其中R^3為C_6-C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-F)之結構，其中$R^{2'}$為C_6-C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(III-F)之結構，其中$R^{3'}$為C_6-C_{10}烷基。

[0606] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構：



(VIII-B)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

X^1為鍵，

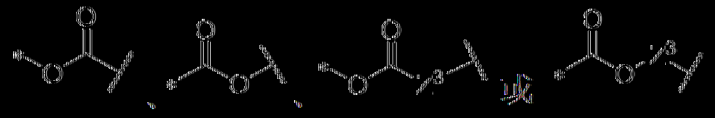
R^1為C_1-C_6烷基，

X^2為C_2-C_6伸烷基，

X^{2a}為C_2-C_{14}伸烷基，

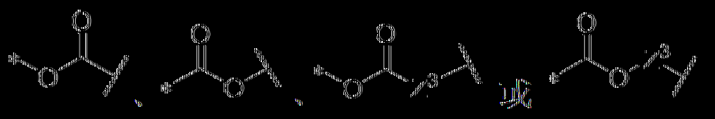
其中X^2或X^{2a}經OH或C_{1-4}伸烷基-OH取代，

Y^1為



其中用「*」標記之鍵與X^2連接；

Y^{1a}為



其中用「*」標記之鍵與X^{2a}連接；

各Z^3獨立地為視情況經取代之C_1-C_6伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

Q^1為-C(R^2)(R^3)(R^{12})；

Q^{1a}為-C($R^{2'}$)($R^{3'}$)($R^{12'}$)；

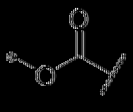
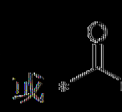
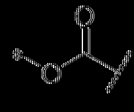
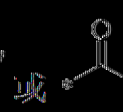
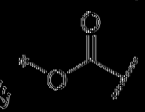
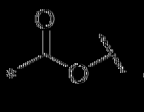
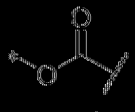
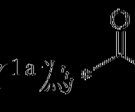
R^2、R^3及R^{12}獨立地為氫、視情況經取代之C_1-C_{14}烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基，及

$R^{2'}$、$R^{3'}$及$R^{12'}$獨立地為氫、視情況經取代之C_1-C_{14}烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基。

[0607] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中R^1為甲基。

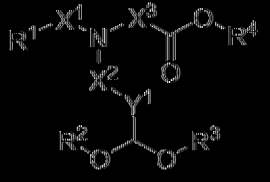
[0608] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中X^2為C_4、C_5或C_6伸烷基。

[0609] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中X^{2a}為C_4-C_8伸烷基(例如C_5、C_6或C_7伸烷基)。

[0610] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中Y^1為  或  ，且Y^{1a}為  或  。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中Y^1為  。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中Y^1為  。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中Y^{1a}為  。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中Y^{1a}為  。

[0611] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中R^2、R^3、R^{12}、$R^{2'}$、$R^{3'}$及$R^{12'}$獨立地為氫或C_5-C_{12}烷基(例如C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中R^2為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中R^3為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中$R^{2'}$為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中$R^{3'}$為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中R^2為C_5-C_{12}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中R^3為C_5-C_{12}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中$R^{2'}$為C_5-C_{12}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VIII-B)之結構，其中$R^{3'}$為C_5-C_{12}烷基。

[0612] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(IV)之結構：



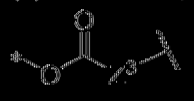
(IV)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R^1為-OH、-R^{1a}，

X^1為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

(i)　Y^1為



；

Y^3為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；及

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

X^2及X^3為C_5伸烷基；或

(ii)Y^1為鍵；

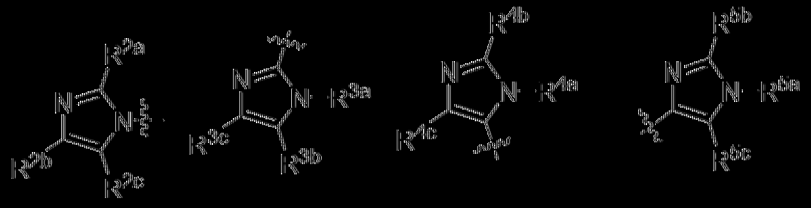
R^2及R^3獨立地為C_4-C_7烷基；

X^2為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

X^3為視情況經取代之C_5伸烷基；

R^4為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

R^{1a}為：



R^{1a}-1、R^{1a}-2、R^{1a}-3或R^{1a}-4；

R^{2a}、R^{2b}及R^{2c}獨立地為氫及C_1-C_6烷基；

R^{3a}、R^{3b}及R^{3c}獨立地為氫及C_1-C_6烷基；

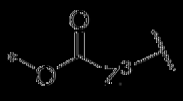
R^{4a}、R^{4b}及R^{4c}獨立地為氫及C_1-C_6烷基；及

R^{5a}、R^{5b}及R^{5c}獨立地為氫及C_1-C_6烷基。

[0613] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(IV)之結構，其中R^1為OH。

[0614] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(IV)之結構，其中

X^1為C_2伸烷基。

[0615] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(IV)之結構，其中Y^1為  ，其中Y^3為C_2伸烷基。

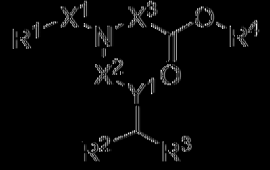
[0616] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(IV)之結構，其中R^2及R^3獨立地為C_6-C_{12}烷基(C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}烷基)。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(IV)之結構，其中R^2為C_6-C_{12}烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(IV)之結構，其中R^3為C_6-C_{12}烷基。

[0617] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(IV)之結構，其中Y^1為鍵。

[0618] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(IV)之結構，其中R^2及R^3為C_4-C_7烷基(例如C_7烷基)。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(IV)之結構，其中R^2為C_4-C_7烷基。在一典實施例中，本發明之脂質具有式(IV)之結構，其中R^3為C_4-C_7烷基。

[0619] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(IV)之結構，其中X^2為C_6-C_{12}伸烷基(例如C_7、C_8、C_9、C_{10}伸烷基)。

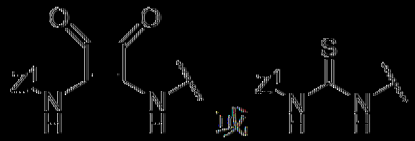
[0620] 在一典實施例中，本發明之脂質具有式(VI)之結構：



(VI)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R^1為-OH，

 ；

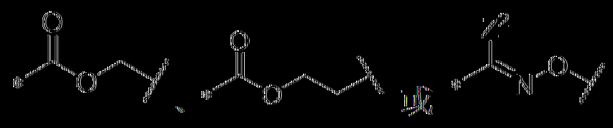
Z^1為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

X^1為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

X^2為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

X^3為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1為



；

其中用「*」標記之鍵與X^2連接；

Z^2為H或視情況經取代之C_1-C_8烷基；

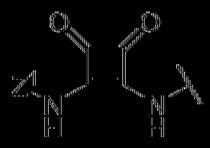
R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_3-C_{14}烷基；及

(i) R^4為直鏈C_4-C_{14}烷基；或

(ii) R^4為經1或2個異內其取代之直鏈C_4-C_{14}烷基。

[0621] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VI)之結構，其中R^1為-OH。

[0622] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VI)之結構，其中R^1為



，其中Z^1為C_1-C_6烷基(例如甲基)。

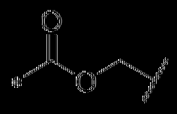
[0623] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VI)之結構，其中X^1為視情況經取代之C_2-C_4伸烷基(例如C_2、C_3、C_4伸烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VI)之結構，其中X^1為C_2-C_4伸烷基。

[0624] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VI)之結構，其中X^2為C_4-C_8伸烷基(例如C_5、C_6、C_7、C_8伸烷基)。

[0625] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VI)之結構，其中

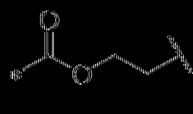
X^3為C_4-C_8伸烷基(例如C_5、C_6、C_7、C_8伸烷基)。

[0626] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VI)之結構，其中Y^1為



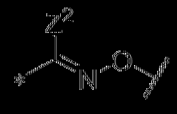
。

[0627] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VI)之結構，其中Y^1為



。

[0628] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VI)之結構，其中Y^1為



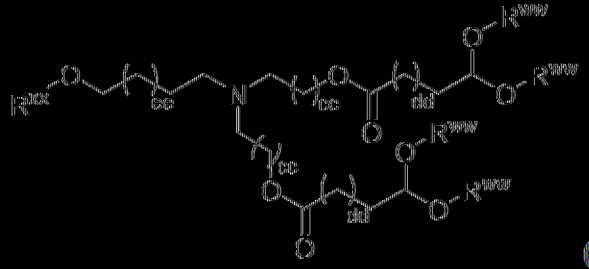
，其中Z^2為氫。

[0629] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VI)之結構，其中R^2及R^3獨立地為C_3-C_8烷基(例如C_3烷基、C_5烷基、C_8烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VI)之結構，其中R^2為C_3-C_8烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VI)之結構，其中R^3為C_3-C_8烷基。

[0630] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VI)之結構，其中R^4為直鏈C_8-C_{14}烷基(例如C_{10}、C_{11}、C_{12}烷基)。

[0631] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(VI)之結構，其中R^4為經1或2個異丙基取代之直鏈C_4-C_8烷基(例如C_4烷基)。

[0632] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構：



(X)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

各cc獨立地選自3至9；

R^{xx}選自氫及視情況經取代之C_1-C_6烷基；及

(i) ee為1，

各dd獨立地選自1至4；及

各R^{ww}獨立地選自由以下組成之群：C_4-C_{14}烷基、分支鏈C_4-C_{12}烯基、包含至少兩個雙鍵之C_4-C_{12}烯基以及C_9-C_{12}烯基，其中該C_4-C_{14}烷基之任何-$(CH_2)_2$-可視情況經C_2-C_6伸環烷基置換；

(ii) ee為0，

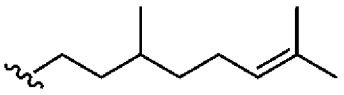
各dd為1；及

各R^{ww}為直鏈C_4-C_{12}烷基。

【0633】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中R^{xx}為H。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中R^{xx}為視情況經取代之C_1-C_6烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中R^{xx}為C_1烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中R^{xx}為C_2烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中R^{xx}為C_3烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中R^{xx}為C_4烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中R^{xx}為C_5烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中R^{xx}為C_6烷基。

【0634】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}獨立地選自由以下組成之群：C_4-C_{14}烷基、分支鏈C_4-C_{12}烯基、包含至少兩個雙鍵之C_4-C_{12}烯基以及C_9-C_{12}烯基，其中C_4-C_{14}烷基之任何-

$(CH_2)_2$-可視情況經C_2-C_6伸環烷基置換。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_4-C_{14}烷基，其中C_4-C_{14}烷基之任何-$(CH_2)_2$-可視情況經C_2-C_6伸環烷基置換。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_4-C_{14}烷基，其中C_4-C_{14}烷基之任何-$(CH_2)_2$-可視情況經伸環丙基置換。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為分支鏈C_4-C_{12}烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為包含至少兩個雙鍵之C_4-C_{12}烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_9-C_{12}烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為直鏈C_4-C_{12}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}獨立地選自由以下組成之群：C_6-C_{14}烷基、分支鏈C_8-C_{12}烯基、包含至少兩個雙鍵之C_8-C_{12}烯基以及C_9-C_{12}烯基，其中C_6-C_{14}烷基之任何-$(CH_2)_2$-可視情況經伸環丙基置換。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_6-C_{14}烷基，其中C_6-C_{14}烷基之任何-$(CH_2)_2$-可視情況經伸環丙基置換。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為分支鏈C_8-C_{12}烯基，例如(直鏈或分支鏈C_3-C_5伸烷基)-(分支鏈C_5-C_7烯基)，例如(分支鏈C_5伸烷基)-(分支鏈C_5烯基)，例如



。

【0635】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為包含至少兩個雙鍵之C_8-C_{12}烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_9-C_{12}烯基。

【0636】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}獨立地選自由以下組成之群：C_6-C_{14}烷基(例如C_6、C_8、C_9、C_{10}、

C_{11}、C_{13}烷基)，其中C_6-C_{14}烷基之任何-$(CH_2)_2$-可視情況經伸環丙基置換。

【0637】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}獨立地為分支鏈C_8-C_{12}烯基(例如分支鏈C_{10}烯基)。

【0638】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}獨立地為包含至少兩個雙鍵之C_8-C_{12}烯基(例如包含兩個雙鍵之C_9或C_{10}烯基)。

【0639】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}獨立地為(C_1伸烷基)-(伸環丙基-C_6烷基)或(C_2伸烷基)-(伸環丙基-C_2烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}獨立地為(C_1伸烷基)-(伸環丙基-C_6烷基)。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}獨立地為(C_2伸烷基)-(伸環丙基-C_2烷基)。

【0640】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_4烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_5烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_6烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_7烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_8烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_9烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_{11}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_{12}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_{13}烷基。在一些實施例中，本發明之脂

質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_{14}烷基。

【0641】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_9烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_{10}烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_{11}烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_{12}烯基。

【0642】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為包含至少兩個雙鍵之C_8烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為包含至少兩個雙鍵之C_9烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為包含至少兩個雙鍵之C_{10}烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為包含至少兩個雙鍵之C_{11}烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為包含至少兩個雙鍵之C_{12}烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為包含至少兩個雙鍵之C_{13}烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為包含至少兩個雙鍵之C_{14}烯基。

【0643】 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_9烷基，其中C_9烷基之一個-$(CH_2)_2$-經C_2-C_6伸環烷基置換。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_9烷基，其中C_9烷基之一個-$(CH_2)_2$-經伸環丙基置換。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_9烷基，其中C_9烷基之兩個-$(CH_2)_2$-經C_2-C_6伸環烷基置換。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為C_9烷基，其中C_9烷基之兩個-$(CH_2)_2$-經伸環丙基置換。

【0644】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為直鏈C_4烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為直鏈C_5烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為直鏈C_6烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為直鏈C_7烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為直鏈C_8烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為直鏈C_9烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為直鏈C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為直鏈C_{11}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為直鏈C_{12}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為直鏈C_{13}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為直鏈C_{14}烷基。

【0645】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為分支鏈C_8烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為分支鏈C_9烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為分支鏈C_{10}烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為分支鏈C_{11}烯基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各R^{ww}為分支鏈C_{12}烯基。

【0646】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各cc獨立地選自3至7。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各cc為3。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各cc為4。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各cc

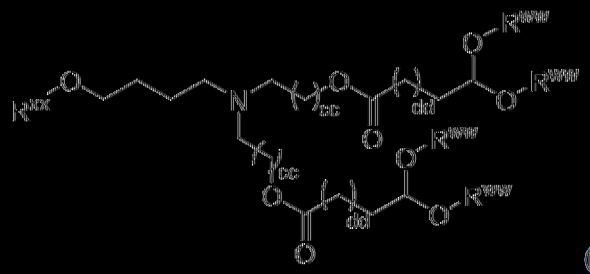
為5。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各cc為6。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各cc為7。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各cc為8。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各cc為9。

[0647] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各dd獨立地選自1至4。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各dd為1。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各dd為2。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各dd為3。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各dd為4。

[0648] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各cc為1。

[0649] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X)之結構，其中各cc為0。

[0650] 在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構：



(X-A)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

各cc獨立地選自3至7；

各dd獨立地選自1至4；

R^{**}選自氫及視情況經取代之C_1-C_6烷基；及

各R^{ww}獨立地選自由以下組成之群：C_4-C_{14}烷基或(直鏈或分支鏈C_3-C_5伸烷基)-(分支鏈C_5-C_7烯基)。

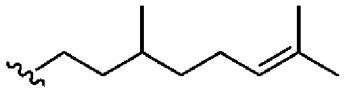
【0651】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中R^{xx}為氫。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中R^{xx}為C_1烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中R^{xx}為C_2烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中R^{xx}為C_3烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中R^{xx}為C_4烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中R^{xx}為C_5烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中R^{xx}為C_6烷基。

【0652】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各cc為4、5、6或7。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各cc為3。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各cc為4。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各cc為5。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各cc為6。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各cc為7。

【0653】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各dd為1或3。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各dd為1。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各dd為2。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各dd為3。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各dd為4。

【0654】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各R^{ww}為C_4-C_{14}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各R^{ww}為C_4烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各R^{ww}為C_5烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各R^{ww}為C_6烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各R^{ww}為C_7烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各R^{ww}為C_8烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各R^{ww}為C_9烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各R^{ww}為C_{10}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各R^{ww}為C_{11}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各R^{ww}為C_{12}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各R^{ww}為C_{13}烷基。在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各R^{ww}為C_{14}烷基。

【0655】在一些實施例中，本發明之脂質具有式(X-A)之結構，其中各R^{ww}為(直鏈或分支鏈C_3-C_5伸烷基)-(分支鏈C_5-C_7烯基)，例如(分支鏈C_5伸烷基)-(分支鏈C_5烯基)，例如

 。

IV. 遞送載體及追蹤系統

【0656】本文所描述之初始構築體及基準構築體可在遞送載體中調配。遞送載體之非限制性實例包括脂質奈米粒子、非脂質奈米粒子、胞泌體(exosome)、脂質體、微胞、病毒粒子及聚合物遞送技術。

【0657】在一些實施例中，遞送載體包含至少一種本發明之脂質。

【0658】 在一些實施例中，遞送載體包含至少兩種本發明之脂質。

【0659】 在一些實施例中，遞送載體包含至少三種本發明之脂質。

【0660】 在一些實施例中，遞送載體包含至少四種本發明之脂質。

【0661】 遞送載體中本發明之脂質之總重量百分比在約10%至約95%與之間，諸如在約10%至約20%之間、在約21%至約30%之間、在約31%至約40%之間、在約41%至約50%之間、在約51%至約60%之間、在約61%至約70%之間、在約71%至約80%之間、在約81%至約90%之間或在約91%至約95%之間。

【0662】 遞送載體中本發明之脂質之總莫耳百分比在約10%至約95%之間，諸如在約10%至約20%之間、在約21%至約30%之間、在約31%至約40%之間、在約41%至約50%之間、在約51%至約60%之間、在約61%至約70%之間、在約71%至約80%之間、在約81%至約90%之間或在約91%至約95%之間。

【0663】 在一些實施例中，遞送載體中之至少一種脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)、(IX-A)、(VII-B)、(VII-C)、(I-A)、(II)、(III-B)、(III-C)、(III-D)、(III-E)、(III-F)、(VIII-B)、(IV)、(VI)、(X)或(X-A)之結構。

【0664】 在一些實施例中，遞送載體中之至少兩種脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)、(IX-A)、(VII-B)、(VII-C)、(I-A)、(II)、(III-B)、(III-C)、(III-D)、(III-E)、(III-F)、(VIII-B)、(IV)、(VI)、(X)或(X-A)之結構。

【0665】 在一些實施例中，遞送載體中之至少三種脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)、(IX-A)、(VII-B)、(VII-C)、(I-A)、(II)、(III-B)、(III-

C)、(III-D)、(III-E)、(III-F)、(VIII-B)、(IV)、(VI)、(X)或(X-A)之結構。

【0666】 在一些實施例中，遞送載體中之至少四種脂質具有式(VII-A)、(VIII-A)、(IX-A)、(VII-B)、(VII-C)、(I-A)、(II)、(III-B)、(III-C)、(III-D)、(III-E)、(III-F)、(VIII-B)、(IV)、(VI)、(X)或(X-A)之結構。

【0667】 遞送載體中之具有式(VII-A)、(VIII-A)、(IX-A)、(VII-B)、(VII-C)、(I-A)、(II)、(III-B)、(III-C)、(III-D)、(III-E)、(III-F)、(VIII-B)、(IV)、(VI)、(X)或(X-A)之結構之脂質的總重量百分比在10%-95%之間，諸如在約10%至約20%之間、在約21%至約30%之間、在約31%至約40%之間、在約41%至約50%之間、在約51%至約60%之間、在約61%至約70%之間、在約71%至約80%之間、在約81%至約90%之間或在約91%至約95%之間。

【0668】 遞送載體中之具有式(VII-A)、(VIII-A)、(IX-A)、(VII-B)、(VII-C)、(I-A)、(II)、(III-B)、(III-C)、(III-D)、(III-E)、(III-F)、(VIII-B)、(IV)、(VI)、(X)或(X-A)之結構之脂質的總莫耳百分比在10%-95%之間，諸如在約10%至約20%之間、在約21%至約30%之間、在約31%至約40%之間、在約41%至約50%之間、在約51%至約60%之間、在約61%至約70%之間、在約71%至約80%之間、在約81%至約90%之間或在約91%至約95%之間。

【0669】 在一些實施例中，遞送載體進一步包含至少一種額外脂質。非限制性實例包括額外陽離子脂質、中性脂質、陰離子脂質、輔助脂質、隱形脂質或聚乙二醇(PEG)脂質。

【0670】「輔助脂質」為增強轉染，諸如包括有效負載及貨物之遞送載體之轉染的脂質。輔助脂質藉以增強轉染之機制可包括增強粒子穩定性及/或增強膜融合性。輔助脂質包括類固醇及烷基間苯二酚。適用於本發明中之輔助脂質包括但不限於膽固醇、5-十七基間苯二酚及膽固醇半丁二酸酯。

【0671】「隱形脂質(Stealth lipid)」為延長遞送載體可在活體內(例如在血液中)存在之時長的脂質。適用於本發明之脂質組合物中之隱形脂質包括但不限於具有與脂質部分連接之親水性頭基的隱形脂質。

【0672】適用於本發明之遞送載體中之陽離子脂質之非限制性實例包括但不限於氯化N,N-二油基-N,N-二甲基銨(DODAC)、溴化N,N-二硬脂基-N,N-二甲基銨(DDAB)、氯化N-(1-(2,3-二油醯氧基)丙基)-N,N,N-三甲基銨(DOTAP)、1,2-二油醯基-3-二甲基銨-丙烷(DODAP)、氯化N-(1-(2,3-二油烯基氧基)丙基)-N,N,N-三甲基銨(DOTMA)、1,2-二油醯基胺基甲醯基-3-二甲基銨-丙烷(DOCDAP)、1,2-二亞油醯基-3-二甲基銨-丙烷(DLINDAP)、二月桂基(C12:0)三甲基銨丙烷(DLTAP)、雙十八烷基醯胺基甘胺醯基精胺(DOGS)、DC-Choi、三氟乙酸二油醯氧基-N-[2-精胺甲醯胺基)乙基}-N,N-二甲基-1-丙銨(DOSPA)、溴化1,2-二肉豆蔻氧基丙基-3-二甲基-羥乙基銨(DMRIE)、3-二甲胺基-2-(膽固醇-5-烯-3-β-氧基丁-4-氧基)-1-(順式,順式-9,12-十八碳二烯氧基)丙烷(CLinDMA)、N,N-二甲基-2,3-二油烯基氧基)丙胺(DODMA)、2-[5′-(膽固醇-5-烯-3[β]-氧基)-3'-氧雜戊烯氧基)-3-二甲基-1-(順式,順式-9′,12′-十八碳二烯氧基)丙烷(CpLinDMA)及N,N-二甲基-3,4-二油烯基氧基苯甲胺(DMOBA)及1,2-N,N′-二油烯基胺基甲醯基-3-二甲基胺基丙烷(DOcarbDAP)。

【0673】 適用於本發明之遞送載體中之中性脂質之非限制性實施例包括多種中性、不帶電或兩性離子脂質。適用於本發明中之中性磷脂之實例包括但不限於：5-十七基苯-1,3-二醇(間苯二酚)、二軟脂醯基磷脂醯膽鹼(DPPC)、二硬脂醯基磷脂醯膽鹼(DSPC)、磷酸膽鹼(DOPC)、二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼(DMPC)、磷脂醯膽鹼(PLPC)、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DAPC)、磷脂醯乙醇胺(PE)、卵磷脂醯膽鹼(EPC)、二月桂醯基磷脂醯膽鹼(DLPC)、二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼(DMPC)、1-肉豆蔻醯基-2-軟脂醯基磷脂醯膽鹼(MPPC)、1-軟脂醯基-2-肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼(PMPC)、1-軟脂醯基-2-硬脂醯基磷脂醯膽鹼(PSPC)、1,2-二花生醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DBPC)、1-硬脂醯基-2-軟脂醯基磷脂醯膽鹼(SPPC)、1,2-雙二十碳烯醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DEPC)、軟脂醯油醯基磷脂醯膽鹼(POPC)、溶血磷脂醯膽鹼、二油醯基磷脂醯乙醇胺(DOPE)、二亞油基醯磷脂醯膽鹼二硬脂醯基磷脂醯乙醇胺(DSPE)、二肉豆蔻醯基磷脂醯乙醇胺(DMPE)、二軟脂醯基磷脂醯乙醇胺(DPPE)、軟脂醯油醯基磷脂醯乙醇胺(POPE)、溶血磷脂醯乙醇胺及其組合。

【0674】 適用於本發明之遞送載體中之陰離子脂質之非限制性實例包括但不限於磷脂醯甘油、心磷脂、二醯基磷脂醯絲胺酸、二醯基磷脂酸、N-十二醯基磷脂醯乙醇胺、N-丁二醯基磷脂醯乙醇胺、N-戊二醯基磷脂醯乙醇胺膽固醇半丁二酸酯(CHEMS)及離胺醯基磷脂醯甘油。

【0675】 在一些實施例中，遞送載體(包括所有脂質)及有效負載之重量比在約100:1至約1:1之間，諸如在約100:1至約90:1之間、在約89:1至約80:1之間、在約79:1至約70:1之間、在約69:1至約60:1之間、在約59:1至約50:1之間、在約49:1至約40:1之間、在約39:1至約30:1之間、在

約29:1至約20:1之間、在約19:1至約10:1之間及在約9:1至約1:1之間。

【0676】 在一些實施例中，遞送載體包含具有至少一種貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。貨物或有效負載可為本文所描述之任何DNA、RNA或多肽。

【0677】 在一些實施例中，遞送載體包含具有至少一種為編碼RNA之貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。

【0678】 在一些實施例中，遞送載體包含具有至少一種為非編碼RNA之貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。

【0679】 在一些實施例中，遞送載體包含具有至少一種為oRNA之貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。

【0680】 在一些實施例中，遞送載體包含具有至少一種為mRNA之貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。

【0681】 在一些實施例中，該至少一種RNA化合物由功能性RNA構成，其中該RNA引起至少一種細胞、組織、器官及/或生物體中之變化。該等狀態變化可包括但不限於：改變多肽之表現量；改變核酸之轉譯量；改變核酸之表現量；改變細胞、組織、器官及/或生物體中存在之多肽之量；改變細胞、組織、器官及/或生物體之基因序列；添加核酸至目標基因體；自目標基因體減去核酸；改變細胞、組織、器官及/或生物體中之生理活性；或其任何組合。

【0682】 在一些實施例中，遞送載體包含具有至少一種為DNA之貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。

【0683】 在一些實施例中，遞送載體包含具有兩種為DNA之貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。DNA可為相同DNA或不同DNA。

作為非限制性實例，DNA為相同的。作為非限制性實例，DNA為不同的。作為非限制性實例，DNA不同但編碼相同有效負載或貨物。作為非限制性實例，DNA為較大有效負載或貨物(例如抗體之重鏈或輕鏈)之不同碎片，其可使用此項技術中已知用於產生功能性多肽(例如抗體)之天然系統或合成方法合在一起。

【0684】 在一些實施例中，遞送載體包含具有三種為DNA之貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。DNA可為相同DNA或不同DNA。作為非限制性實例，DNA為相同的。作為非限制性實例，DNA為不同的。作為非限制性實例，兩種DNA相同且一種不同。作為非限制性實例，第一DNA與第二及第三DNA不同。作為非限制性實例，第一DNA、第二DNA及第三DNA全部均不同。作為非限制性實例，第一DNA與第二及第三DNA不同，但其全部均編碼相同有效負載或貨物。作為非限制性實例，第一DNA與第二及第三DNA不同，但第二及第三DNA編碼相同有效負載或貨物。

【0685】 在一些實施例中，遞送載體包含具有至少一種為多肽之貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。

【0686】 在一些實施例中，遞送載體包含具有兩種為多肽之貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。多肽可為相同多肽或不同多肽。作為非限制性實例，多肽為相同的。作為非限制性實例，多肽為不同的。作為非限制性實例，多肽為較大有效負載或貨物(例如抗體之重鏈或輕鏈)之不同碎片，其可使用此項技術中已知用於產生功能性多肽(例如抗體)之天然系統或合成方法合在一起。

【0687】 在一些實施例中，遞送載體包含具有三種為多肽之貨物或

有效負載之初始構築體或基準構築體。多肽可為相同多肽或不同多肽。作為非限制性實例，多肽為相同的。作為非限制性實例，多肽為不同的。作為非限制性實例，兩種多肽相同且一種不同。作為非限制性實例，第一多肽與第二及第三多肽不同。作為非限制性實例，第一多肽、第二多肽及第三多肽全部均不同。作為非限制性實例，第一多肽與第二及第三多肽不同，但其全部均編碼相同有效負載或貨物。作為非限制性實例，第一多肽與第二及第三多肽不同，但第二及第三多肽編碼相同有效負載或貨物。

【0688】 在一些實施例中，遞送載體包含具有至少一種為肽之貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。

【0689】 在一些實施例中，遞送載體包含具有兩種為肽之貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。肽可為相同肽或不同肽。作為非限制性實例，肽為相同的。作為非限制性實例，肽為不同的。作為非限制性實例，肽為較大有效負載或貨物(例如抗體之重鏈或輕鏈)之不同碎片，其可使用此項技術中已知用於產生功能性多肽(例如抗體)之天然系統或合成方法合在一起。

【0690】 在一些實施例中，遞送載體包含具有三種為肽之貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。肽可為相同肽或不同肽。作為非限制性實例，肽為相同的。作為非限制性實例，肽為不同的。作為非限制性實例，兩種肽相同且一種不同。作為非限制性實例，第一肽與第二及第三肽不同。作為非限制性實例，第一肽、第二肽及第三肽全部均不同。作為非限制性實例，第一肽與第二及第三肽不同，但其全部均編碼相同有效負載或貨物。作為非限制性實例，第一肽與第二及第三肽不同，但第二及第三肽編碼相同有效負載或貨物。

【0691】在一些實施例中，遞送載體包含具有至少一種為RNA之貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。

【0692】在一些實施例中，遞送載體包含具有兩種為RNA之貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。RNA可為相同RNA或不同RNA。作為非限制性實例，RNA為相同的。作為非限制性實例，RNA為不同的。作為非限制性實例，RNA不同但編碼相同有效負載或貨物。作為非限制性實例，RNA為較大有效負載或貨物(例如抗體之重鏈或輕鏈)之不同碎片，其可使用此項技術中已知用於產生功能性多肽(例如抗體)之天然系統或合成方法合在一起。

【0693】在一些實施例中，遞送載體包含具有三種為RNA之貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。RNA可為相同RNA或不同RNA。作為非限制性實例，RNA為相同的。作為非限制性實例，RNA為不同的。作為非限制性實例，兩種RNA相同且一種不同。作為非限制性實例，第一RNA與第二及第三RNA不同。作為非限制性實例，第一RNA、第二RNA及第三RNA全部均不同。作為非限制性實例，第一RNA與第二及第三RNA不同，但其全部均編碼相同有效負載或貨物。作為非限制性實例，第一RNA與第二及第三RNA不同，但第二及第三RNA編碼相同有效負載或貨物。

【0694】在一些實施例中，遞送載體包含具有兩種貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體，其中一種為RNA且一種為DNA。RNA及DNA可編碼相同肽或多肽，或可編碼不同肽或多肽。作為非限制性實例，RNA及DNA可編碼相同肽或多肽。作為非限制性實例，RNA及DNA可編碼不同肽或多肽。作為非限制性實例，RNA及DNA為較大有效負載

或貨物(例如抗體之重鏈或輕鏈)之不同碎片，其可使用此項技術中已知用於產生功能性多肽(例如抗體)之天然系統或合成方法合在一起。

【0695】 在一些實施例中，遞送載體包含具有兩種貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體，其中一種為RNA且一種為肽。RNA可編碼與肽貨物/有效負載相同的肽，RNA可編碼不同肽。作為非限制性實例，RNA編碼相同肽。作為非限制性實例，RNA編碼不同肽。作為非限制性實例，RNA及肽為較大有效負載或貨物(例如抗體之重鏈或輕鏈)之不同碎片，其可使用此項技術中已知用於產生功能性多肽(例如抗體)之天然系統或合成方法合在一起。

【0696】 在一些實施例中，遞送載體包含具有兩種貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體，其中一種為RNA且一種為多肽。RNA可編碼相同的多肽作為多肽貨物/有效負載，RNA可編碼不同多肽。作為非限制性實例，RNA編碼相同多肽。作為非限制性實例，RNA編碼不同多肽。作為非限制性實例，RNA及多肽為較大有效負載或貨物(例如抗體之重鏈或輕鏈)之不同碎片，其可使用此項技術中已知用於產生功能性多肽(例如抗體)之天然系統或合成方法合在一起。

【0697】 在一些實施例中，遞送載體包含具有兩種貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體，其中一種為DNA且一種為肽。DNA可編碼與肽貨物/有效負載相同的肽，DNA可編碼不同肽。作為非限制性實例，DNA編碼相同肽。作為非限制性實例，DNA編碼不同肽。作為非限制性實例，DNA及肽為較大有效負載或貨物(例如抗體之重鏈或輕鏈)之不同碎片，其可使用此項技術中已知用於產生功能性多肽(例如抗體)之天然系統或合成方法合在一起。

【0698】 在一些實施例中，遞送載體包含具有兩種貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體，其中一種為DNA且一種為多肽。DNA可編碼與多肽貨物/有效負載相同的多肽，DNA可編碼不同多肽。作為非限制性實例，DNA編碼相同多肽。作為非限制性實例，DNA編碼不同多肽。作為非限制性實例，DNA及多肽為較大有效負載或貨物(例如抗體之重鏈或輕鏈)之不同碎片，其可使用此項技術中已知用於產生功能性多肽(例如抗體)之天然系統或合成方法合在一起。

遞送載體

奈米粒子

【0699】 在一些實施例中，遞送載體為奈米粒子。如本文所用，術語「奈米粒子」係指尺寸在10-1000 nm範圍內之任何粒子。奈米粒子可為10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、195、200、205、210、215、220、225、230、235、240、245、250、255、260、265、270、275、280、285、290、295、300、305、310、315、320、325、330、335、340、345、350、355、360、365、370、375、380、385、390、395、400、405、410、415、420、425、430、435、440、445、450、455、460、465、470、475、480、485、490、495、500、505、510、515、520、525、530、535、540、545、550、555、560、565、570、575、580、585、590、595、600、605、610、615、620、625、630、635、640、645、650、655、660、665、670、675、680、685、690、695、700、705、710、715、720、725、730、735、740、

745、750、755、760、765、770、775、780、785、790、795、800、805、810、815、820、825、830、835、840、845、850、855、860、865、870、875、880、885、890、895、900、905、910、915、920、925、930、935、940、945、950、955、960、965、970、975、980、985、990、995或1000 nm。

脂質奈米粒子

【0700】 在一些實施例中，奈米粒子可為脂質奈米粒子(LNP)。一般而言，LNP之特徵可為小固體或半固體粒子，其具有外部脂質層，該外部脂質層具有暴露於非LNP環境之親水性外表面；可為水性(囊泡樣)或非水性(微胞樣)的內部空間；及至少一個疏水性膜間空間。LNP膜可層狀或非層狀的，且可由1、2、3、4、5或更多個層構成。在一些實施例中，LNP可包含進入其內部空間、進入膜間空間、進入其外表面或其任何組合的貨物或有效負載。

【0701】 適用於本文中之LNP為此項技術中已知的且通常包含膽固醇(有助於穩定性及促進膜融合)、磷脂(其為LNP雙層提供結構且亦可幫助內體逃逸)、聚乙二醇(PEG)衍生物(其降低LNP聚集且「保護」LNP免受免疫細胞之非特異性內吞作用)及可離子化脂質(與帶負電RNA複合且增強內體逃逸)，其形成LNP形成組合物。

【0702】 LNP之組分可基於所需目標、貨物、尺寸等進行選擇。作為非限制性實例，先前研究已顯示，由低分子量聚胺及脂質構成之聚合物奈米粒子可以高效能將核酸遞送至內皮細胞。(Dahlman等人, In vivo endothelial siRNA delivery using polymeric nanoparticles with low molecular weight, Nat Nanotechnol. 2014年8月; 9(8): 648-655；其內容

以全文引用之方式併入本文中)。

【0703】 在一些實施例中，本發明之初始構築體及基準構築體可併入脂質奈米粒子(LNP)中。在一些實施例中，脂質奈米粒子可由至少一種陽離子脂質、至少一種非陽離子脂質、至少一種固醇、至少一種粒子活性調節藥劑或其任何組合構成。在一些實施例中，脂質奈米粒子可由至少一種陽離子脂質、至少一種非陽離子脂質、至少一種固醇及至少一種粒子活性調節藥劑構成。在一些實施例中，LNP可由至少一種陽離子脂質、至少一種非陽離子脂質及至少一種固醇構成。在一些實施例中，LNP可由至少一種陽離子脂質、至少一種非陽離子脂質及至少一種粒子活性調節藥劑構成。在一些實施例中，LNP可由至少一種非陽離子脂質、至少一種固醇及至少一種粒子活性調節藥劑構成。在一些實施例中，LNP可由至少一種陽離子脂質及至少一種非陽離子脂質構成。在一些實施例中，LNP可由至少一種陽離子脂質及至少一種固醇構成。在一些實施例中，LNP可由至少一種陽離子脂質及至少一種粒子活性調節藥劑構成。在一些實施例中，LNP可由至少一種非陽離子脂質及至少一種固醇構成。在一些實施例中，LNP可由至少一種非陽離子脂質及至少一種粒子活性調節藥劑構成。在一些實施例中，LNP可由至少一種固醇及至少一種粒子活性調節藥劑構成。在一些實施例中，LNP可由至少一種陽離子脂質構成。在一些實施例中，LNP可由至少一種非陽離子脂質構成。在一些實施例中，LNP可由固醇構成。在一些實施例中，LNP可由粒子活性調節藥劑構成。

【0704】 在一些實施例中，至少一種陽離子脂質可包含以下中之任一者：至少一種可離子化陽離子脂質、至少一種胺基脂質、至少一種飽和陽離子脂質、至少一種不飽和陽離子脂質、至少一種兩性離子脂質、至少

一種多價陽離子脂質或其任何組合。在一些實施例中，LNP可基本上不含至少一種陽離子脂質。在一些實施例中，LNP含有之至少一種陽離子脂質之量可為零。

【0705】 在一些實施例中，至少一種陽離子脂質可選自但不限於以下中之至少一者：1,3-雙(1,2-雙-十四烷氧基-丙基-3-二甲基乙氧基溴化銨)-丙-2-醇((R)-PLC-2)、2-(二壬基胺基)乙-1-醇(17-10)、2-(雙十二烷基胺基)乙-1-醇(17-11)、3-(雙十二烷基胺基)丙-1-醇(17-12)、4-(雙十二烷基胺基)丁-1-醇(17-13)、2-(己基((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)胺基)乙-1-醇(17-2)、2-(壬基((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)胺基)乙-1-醇(17-3)、2-(十二烷基((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)胺基)乙-1-醇(17-4)、2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)(十四基)胺基)乙-1-醇(17-5)、2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)(十八基)胺基)乙-1-醇(17-6)、2-(雙十四烷基胺基)乙-1-醇(17-7)、2-(二((Z)-十八碳-9-烯-1-基)胺基)乙-1-醇(17-8)、(9Z,12Z)-N-(2-甲氧基乙基)-N-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)十八碳-9,12-二烯-1-胺(17-9)、N-壬基-N-(2-(哌啡-1-基)乙基)壬-1-胺(19-1)、N-十二基-N-(2-(哌啡-1-基)乙基)十二烷-1-胺(19-2)、(9Z,12Z)-N-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)-N-(2-(哌啡-1-基)乙基)十八碳-9,12-二烯-1-胺(19-3)、N-十二基-N-(2-(4-甲基哌啡-1-基)乙基)十二烷-1-胺中間物1:2-(雙十二烷基胺基)乙-1-醇(19-4)、N-十二基-N-(2-(4-(4-甲氧基苯甲基)哌啡-1-基)乙基)十二烷-1-胺(19-5)、(9Z,12Z)-N-(2-(4-十二基哌啡-1-基)乙基)-N-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)十八碳-9,12-二烯-1-胺(19-6)、(3-((6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基氧基)-N,N-二甲基丙-1-胺) (1-B1 1)、N-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)-N-十二烷基甘胺酸

(20-1)、二壬基8,8'-((2-(十二烷基(2-羥乙基)胺基)乙基)氮二基)二辛酸酯(20-10)、3-((2-(雙十四烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)丙-1-醇(20-11)、2-((2-(雙十四烷基胺基)乙基)(十四烷基)胺基)乙-1-醇(20-12)、2-((2-(二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)胺基)乙基)(十二烷基)胺基)乙-1-醇(20-13)、2-((2-(二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)胺基)乙基)((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)胺基)乙-1-醇(20-14)、2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(己基)胺基)乙-1-醇(20-15)、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)乙-1-醇(20-16)、2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(壬基)胺基)乙-1-醇(20-17)、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)乙-1-醇(20-18)、2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)胺基)乙-1-醇(20-19)、戊基6-(十二烷基(2-(十二烷基(2-羥基乙基)胺基)乙基)胺基)己酸酯(20-2)、2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)乙-1-醇(20-20)、3-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)丙-1-醇(20-21)、4-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)丁-1-醇(20-22)、(Z)-2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二碳-6-烯-1-基)胺基)乙-1-醇(20-23)、2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十四烷基)胺基)乙-1-醇(20-24)、2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)胺基)乙-1-醇(20-25)、戊基6-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(2-羥基乙基)胺基)己酸酯(20-3)、二戊基6,6'-((2-(十二烷基(2-羥基乙基)胺基)乙基)氮二基)二己酸酯(20-4)、二庚基6,6'-((2-((6-(庚氧基)-6-側氧基己基)(2-羥基乙基)胺基)乙基)氮二基)二己酸酯(20-5)、戊基6-((2-(二壬基胺基)乙基)(2-羥基乙基)胺基)己酸酯(20-6)、庚基6-(十二烷基(2-(十二烷基(2-羥基乙基)胺基)乙基)胺基)己酸酯(20-7)、壬基8-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(2-羥基乙基)胺基)辛酸酯(20-8)、十七烷-9-基8-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(2-羥

基乙基)胺基)辛酸酯(20-9)、1-(2,2-二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)環丙基)-N,N-二甲基甲胺(21-1)、3,3-二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)環丁基4-(二甲基胺基)丁酸酯(21-2)、3,3-二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)環戊基3-(二甲基胺基)丙酸酯(21-3)、3,3-二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)環戊基4-(二甲基胺基)丁酸酯(21-4)、1-(2,3-二((8Z,11Z)-十七碳-8,11-二烯-1-基)環丙基)-N,N-二甲基甲胺(21-6)、未知(75-016B)、聚{4-((2-(二甲基胺基)乙基)硫基)四氫-2H-哌喃-2-酮}-r-聚{4-(辛基硫基)四氫-2H-哌喃-2-酮} (A7)、(3aR5s,6aS)-N,N-二甲基-2,2-二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯基)四氫-3aH-環戊并[d][1,3]二氧雜環戊烯-5-胺(ALN100)、(3aR,5s,6aS)-N,N-二甲基-2,2-二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯基)四氫-3aH環戊并[d][1,3]二氧雜環戊烯-5-胺(ALN1001)、((3aR,5s,6aS)-N,N-二甲基-2,2-二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯基)四氫-3aH-環戊并[d][1,3]二氧雜環戊烯-5-胺)) (ALNY-100)、二肉豆蔻醯基三甲基銨丙烷(胺基脂質6)、苯甲醯胺-二烷基-甲酸(BADACA)、N,N-二羥基乙基甲基-N-2-(膽固醇氧基羰基胺基)乙基溴化銨(BHEM-Chol)、N,N-雙-(2-羥基乙基)-N-甲基-N-(2-膽固醇氧基羰基胺基-乙基)溴化銨(BHEM-Chol1)、2-{4-[(3β)-膽固醇-5-烯-3-基氧基]丁氧基}-N,N-二甲基-3-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]丙-1-胺(丁基-CLinDMA)、(2R)-2-{4-[(3β)-膽固醇-5-烯-3-基氧基]丁氧基}-N,N-二甲基-3-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基丙-1-胺(丁基-CLinDMA (2R))、(25)-2-{4-[(3β)-膽固醇-5-烯-3-基氧基]丁氧基}-iVy/V-二甲基-3-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]丙-1-胺(丁基-CLinDMA (2S))、1,1'-(2-(4-(2-((2-(雙(2-羥基十二烷基)胺基)乙基)(2-羥基十二烷基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基氮二

基)雙十二烷-2-醇(C 12-200)、1,1'-((2-(4-(2-((2-(雙(2-羥基十二烷基)胺基)乙基)(2-羥基十二烷基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)氮二基)雙(十二烷-2-醇) (C12-200)、膽固醇基-丁二醯基矽烷(C2)、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-2-((4-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十六醯基)氧基)丙烷-1,3-二基雙(十八碳-9,12-二烯酸酯) (陽離子脂質A2)、9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-((((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯(陽離子脂質A3)、1-(3-膽固醇基)-氧基羰基-胺基甲基咪唑(CHIM)、[(2-味啉-4-基-乙基胺甲醯基)甲基]-胺基甲酸膽固醇酯(Chol-C3N-Mo2)、[(2-味啉-4-基-乙基胺甲醯基)-乙基]-胺基甲酸膽固醇酯Chol-DMC3N-Mo2[1-甲基-2-(2-味啉-4-基-乙基胺甲醯基)-丙基]-胺基甲酸膽固醇酯(Chol-C4N-Mo2)、1,17-雙(2-辛基環丙基)十七烷-9-基4-(二甲基胺基)丁酸酯(CL)、三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基-4-(二甲基胺基)-丁酸酯(CL01)、膽固醇基3-(二甲基胺基)丙酸酯(CL06)、膽固醇基2-(二甲基胺基)乙酸酯(CL08)、N,N-二甲基-2,3-雙(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)氧基)丙-1-胺(CL-1)、N-甲基-2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)氧基)-N-(2-((((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)氧基)乙基)乙-1-胺(CL-11)、(3R,4R)-3,4-雙(((Z)-十六碳-9-烯-1-基)氧基)-1-甲基吡咯啶(化合物CL-12) (CL-12)、2-(二甲基胺基)-N-((6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基)乙醯胺(CL-13)、3-(二甲基胺基)丙烷-1,2-二基(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-雙(十八碳-9,12-二烯酸酯) (CL-14)、(9Z,12Z)-二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)胺(CL-15)、7-羥基7-(4-((1-甲基哌啶-4-羰基)氧基)丁基)十三烷-1,13-二基雙十二烷酸酯(CL15B6)、7-羥基7-(4-((1-甲基哌啶-4-羰基)氧基)丁基)十三烷-1,13-二基雙十四烷酸酯

(CL15C6)、7-羥基7-(4-((1-甲基哌啶-4-羰基)氧基)丁基)十三烷-1,13-二基二軟脂酸酯(CL15D6)、7-羥基7-(4-((1-甲基哌啶-4-羰基)氧基)丁基)十三烷-1,13-二基二油酸酯(CL15H6)、雙(2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)氧基)乙基)胺(CL-16)、(9Z,12Z)-N-甲基-N-(2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)氧基)乙基)十八碳-9,12-二烯-1-胺(CL-17)、(9Z,12Z)-N-(3-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)氧基)丙基)十八碳-9,12-二烯-1-胺(CL-18)、(1-甲基哌啶-3-基)甲基二((11Z,14Z)-二十碳-11,14-二烯-1-基)胺基甲酸酯(CL-19)、N-甲基-N,N-雙(2-((Z)-十六碳-9-烯基氧基)乙基)胺(CL-2)、(13Z,16Z)-N,N-二甲基-4-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)二十二碳-3,13,16-三烯-1-胺(CL-20)、(S)-2-胺基-3-羥基-N,N-雙(2-(((Z)-十八碳-9-烯-1-基)氧基)乙基)丙醯胺(CL-21)、C2:N,N-雙十六烷基-N'-(3-三乙氧基矽烷基丙基)丁二醯胺(CL3)、反式-1-甲基-3,4-雙((((Z)-十八碳-9-烯-1-基)氧基)甲基)吡咯啶(CL-3)、反式-1-甲基吡咯啶-3,4-二基)雙(亞甲基)(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-雙(十八碳-9,12-二烯酸酯) (CL-4)、7-(4-(二異丙基胺基)丁基)-7-羥基十三烷-1,13-二基雙十四烷酸酯(CL4C6)、7-(4-(二異丙基胺基)丁基)-7-羥基十三烷-1,13-二基二軟脂酸酯(CL4D6)、11-(4-(二異丙基胺基)丁基)-11-羥基二十一烷-1,21-二基二油酸酯(CL4H10)、7-(4-(二異丙基胺基)丁基)-7-羥基十三烷-1,13-二基二油酸酯(CL4H6)、9-(4-(二異丙基胺基)丁基)-7-羥基十七烷-1,17-二基二油酸酯(CL4H8)、(6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基4-(二甲基胺基)丁酸酯(CL-5)、2-(二甲基胺基)-N-(2-(((Z)-十八碳-9-烯-1-基)氧基)乙基)-N-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)乙醯胺(CL-53)、3-((2-(((Z)-十八碳-9-烯-1-基)氧基)乙基)((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)胺基)丙烷-1-All

(CL-54)、1-甲基-3,3-雙((((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)氧基)甲基)吖咀(CL-55)、1-甲基-3,3-雙(2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)氧基)乙基)吖咀(CL-56)、1-甲基-3,3-雙(2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)氧基)丙基)吖咀(CL-57)、2-(3,3-二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)吖咀-1-基)乙-1-醇(CL-58)、2-(3,3-二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)吖咀-1-基)丙-1-醇(CL-59)、3-(二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)胺基)丙-1-o (CL-6)、3-(二甲基胺基)丙基3,3-二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)吖咀-1-甲酸酯(CL-60)、2-(二((Z)-十八碳-9-烯-1-基)胺基)乙烷-1-醇(CL-61)、3-(二((Z)-十八碳-9-烯-1-基)胺基)丙-1-醇(CL-62)、(11Z,14Z)-2-((二甲基胺基)甲基)-2-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)二十碳-11,14-二烯-1-醇(CL-63)、(11Z,14Z)-2-(二甲基胺基)-2-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)二十碳-11,14-二烯-1-醇(CL-64)、3-(二甲基胺基)-2,2-雙((((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)氧基)甲基)丙-1-醇(CL-65)、(9Z,12Z)-N-(2-(((Z)-十八碳-9-烯-1-基)氧基)乙基)十八碳-9,12-二烯-1-胺(CL-7)、1-甲基-3,3-二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)吖咀(CL-8)、N,2-二甲基-1,3-雙(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)氧基)丙-2-胺(CL-9)、3-二甲基胺基-2-(膽固醇-5-烯-3B-氧基丁-4-氧基)-1-(順式,順式-9,12-十八碳二烯氧基)丙烷(CLinDMA)、2-[5′-(膽固醇-5-烯-3-氧基)-3′-氧雜戊烯氧基)-3-二甲基-1-(順式,順式-9′,12′-十八碳二烯氧基)丙烷(CpLinDMA)、鯨蠟基三甲基溴化銨(CTAB)、1,2-二花生四烯氧基-N,N-二甲基-丙基-3-胺(DAraDMA)、0,0'-雙十四烷醯基-N-(α-三甲基胺乙醯基)二乙醇胺氯化物(DC-6-14)、3β-[N-(N′,N′-二甲基胺基乙烷)胺甲醯基]膽固醇(DC-Chol)、二甲基雙十八烷基銨(DDA)、二甲基雙十八烷基溴化

銨(DDA)、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化銨(DDAB)、1,2-雙二十二碳已烯氧基-(7V,N-二甲基)-丙基-3-胺(DDocDMA)、N-(2-(二甲基胺基)乙基)-4,5-雙(十二烷基硫基)戊醯胺(DEDPA)、3-二甲基胺基-2-(膽固醇-5-烯-3β-氧基戊-3-氧雜-an-5-氧基)-1-(順式,順式-9,12-十八碳二烯氧基)丙烷(DEG-CLinDMA)、1,6-二油醯基三伸乙基四醯胺(dio-TETA)、N1,N19-雙((S,23E,25E,27E,29E)-16-((2E,4E,6E,8E)-3,7-二甲基-9-(2,6,6-三甲基環已-1-烯-1-基)壬-2,4,6,8-四烯醯胺基)-24,28-二甲基-15,22-二側氧基-30-(2,6,6-三甲基環已-1-烯-1-基)-4,7,10-三氧雜-14,21-二氮雜三十碳-23,25,27,29-四烯-1-基)-4,7,10,13,16-五氧雜十九烷-1,19-二醯胺(diVA-PEG-diVA)、DiLin-N-甲基哌啡(DL-033)、DiLin-N,N-二甲基甘胺酸(DL-036)、二油基-N,N-二甲基甘胺酸(DL-048)、3-((1,3-雙(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯基)氧基)丙-2-基)胺基)丙酸(DLAPA)、1,2-二次亞麻氧基-3-二甲基胺基丙烷(DLenDMA)、1-亞油醯基-2-亞油氧基-3-二甲基胺基丙烷(DLin-2-DMAP)、3-(N,N-二亞油基胺基)-1,2-丙二醇(DLinAP)、1,2-N,N′-二亞油基胺甲醯基-3-二甲基胺基丙烷(DLincarbDAP)、1,2-二亞油醯基胺甲醯基-3-二甲基胺基丙烷(DLinCDAP)、1,2-二亞油基胺甲醯氧基-3-二甲基胺基丙烷(DLin-C-DAP)、1,2-二亞油氧基-3-(二甲基胺基)乙醯氧基丙烷(DLin-DAC)、1,2-二亞油醯基-3-二甲基胺基丙烷(DLinDAP)、1,2-二亞油氧基-N,N-二甲基胺基丙烷(DLinDMA)、1,2-二亞油氧基-3-二甲基胺基丙烷(DLinDMA 1)、1,2-二亞油基側氧基-3-(2-N,N-二甲基胺基)乙氧基丙烷(DLin-EG-DMA)、二亞油醯基-4-胺基丁酸(DLinFAB)、2,2-二亞油基-4-(2-二甲基胺基乙基)-[1,3]-二氧雜戊環(DLin-K-C2-DMA)、2,2-二亞油基-4-二甲基

胺基甲基-[1,3]-二氧雜戊環(DLin-K-DMA)、1,2-二亞油氧基-3-(N-味啉基)丙烷(DLin-MA)、(6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基4-(二甲基胺基)丁酸酯(DLin-MC3-DMA)、1,2-二亞油氧基-3-(N-甲基哌啡基)丙烷(DLinMPZ)、1,2-二亞油氧基-3-(N-甲基哌啡基)丙烷(DLin-MPZ)、二亞油氧基3-哌啶基丙胺(DLinPip)、1.2二亞油氧基3-(3'-羥基哌啶基)-丙胺(DLinPip-3OH)、1,2二亞油氧基3-(4'-羥基哌啶基)-丙胺(DLinPip-4OH)、1,2-二亞油氧基-3-羥基丙烷(DLinPO)、1,2-二亞油基硫基-3-二甲基胺基丙烷(DLin-S-DMA)、1,2-二亞油醯基-3-三甲基胺基丙烷(DLinTAP)、1,2-二亞油醯基-3-三甲基胺基丙烷氯鹽(DLin-TAP.Cl)、1,2-二亞油氧基-3-三甲基胺基丙烷(DLinTMA)、1,2-二亞油氧基-3-三甲基胺基丙烷氯鹽(DLin-TMA.Cl)、3-((1,3-雙(((9Z,12Z.15Z)-十八碳-9,12,15-三烯醯基)氧基)丙-2-基)胺基)丙酸(DLLAPA)、1,2二亞油氧基3-(N,N二甲基D-丙胺(DLmDEA)、1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(DLPE)、1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-甘油(DLPG)、N,N-二甲基-3,4-二油氧基苯甲胺(DMOBA)、二肉豆蔻醯基磷脂醯絲胺酸(DMPS)、N-[1-(2,3-二肉豆蔻醯氧基(dimyristyloxy))丙基]-N,N-二甲基-N-(2-羥基乙基)溴化銨(DMRIE)、1,2-二肉豆蔻醯氧基丙基-3-二甲基-羥基乙基溴化銨(DMRIE1)、1,2-二肉豆蔻醯基-3-三甲基銨丙烷(DMTAP)、3-(N,N-二油基胺基)-1,2-丙二醇(DOAP)、3-((1,3-雙(油醯氧基)丙-2-基)胺基)丙酸(DOAPA)、1,2-N,N′-二油基胺甲醯基-3-二甲基胺基丙烷(DOcarbDAP)、1,2-二油醯基胺甲醯基-3-二甲基銨-丙烷(DOCDAP)、氯化N,N-二油基-N,N-二甲基銨(DODAC)、1,2-二油醯基-3-二甲基銨-丙烷(DODAP)、氯化N,N-二羥基乙基N,N-雙十八烷基銨(DODEAC)、N,N-二甲基-2,3-二油

氧基丙胺(DODMA)、二油醯基-4-胺基丁酸(DOFAB)、雙十八烷基醯胺基甘胺醯基精胺(DOGS)、1,2-二油醯基-3-甲基-(甲氧基羰基-乙基)銨-丙烷(DOMCAP)、1,2-二油醯基-3-N-吡咯啶-丙烷(DOP5P)、1,2-二油醯基-3-N-吡啶鎓-丙烷,溴鹽(DOP6P)、1,2-二油醯基-3-二甲基-羥基乙基溴化銨(DORI)、1,2-二油氧基丙基-3-二甲基-羥基乙基溴化銨(DORIE)、1,2-二油氧基丙基-3-二甲基-羥基丁基溴化銨(DORIE-HB)、1,2-二油氧基丙基-3-二甲基-羥基丙基溴化銨(DORIE-HP)、1,2-二油氧基丙基-3-二甲基-羥基戊基溴化銨(DORIE-Hpe)、2,3-二油氧基-N-[2(精胺-甲醯胺基)乙基]-N,N-二甲基-1-丙胺鎓三氟乙酸鹽(DOSPA)、1,3-二油醯氧基-2-(6-羧基-精胺基)-丙醯胺(DOSPER)、氯化N-(1-(2,3-二油醯氧基)丙基)-N,N,N-三甲基銨(DOTAP)、1,2-二油醯基-3-三甲基銨-丙烷(DOTAP1)、N-[5'-(2',3'-二油醯基)尿苷]-N',N',N'-三甲基銨甲苯磺酸鹽(DOTAU)、氯化1-[2-(9(Z)-十八烯醯氧基)乙基]-2-(8(Z)-十七烯基-3-(2-羥基乙基)咪唑啉鎓(DOTIM)、氯化N-(1-(2,3-二油氧基)丙基)-N,N,N-三甲基銨(DOTMA)、二油基磷脂醯尿苷磷脂醯膽鹼(DOUPC)、1,2-二植烷氧基-N,N-二甲基)-丁基-4-胺(DPan-C2-DMA)、1,2-二植烷氧基-3-(iV,7V-二甲基)-丙胺(DPanDMA)、2,3-雙(十二烷基硫基)丙基(2-(二甲基胺基)乙基)胺基甲酸酯(DPDEC)、二軟脂醯基-4-胺基丁酸(DPFAB)、1,2-二軟脂氧基丙基-3-二甲基-羥基乙基溴化銨(DPRIE)、1,2-二軟脂醯基-3-三甲基銨丙烷(DPTAP)、氯化1-[2-(十六醯氧基)乙基]-2-十五烷基-3-(2-羥基乙基)咪唑啉鎓(DPTIM)、3-((1,3-雙(硬脂醯氧基)丙-2-基)胺基)丙酸(DSAPA)、二硬脂基二甲基銨(DSDMA)、1,2-二硬脂氧基-N,N-二甲基胺基丙烷(DSDMA1)、1,2-二固醇氧基(disteryloxy)丙基-3-二甲基-羥基乙基溴化銨

(DSRIE)、1,2-二固醇醯基-3-三甲基銨丙烷(DSTAP)、雙十四烷基三甲基銨(DTDTMA)、1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-乙基磷酸膽鹼(EDOPC)、N2-[N2,N5-雙(3-胺基丙基)-L-鳥胺醯基(ormithyl)]-N,N-雙十八烷基-L-麩醯胺酸四氫三氟乙酸酯(GC33)、膽固醇-5-烯-3-醇(3P)-,3-[(3-胺基丙基)[4-[(3-胺基丙基)胺基]丁基]胺基甲酸酯] (GL67)、甘油基單油酸酯(GMO),胍基-二烷基-羧酸(GUADACA)、2-(雙(2-(十四烷醯氧基)乙基)胺基)-N-(2-羥基乙基)-N,N-二甲基-2-側氧基乙-溴化銨(HEDC)、2,2'-(三級丁氧基羰基氮二基)雙(乙烷-2,1-二基)雙十四烷酸酯(HEDC-BOC-TN)、1-(2-(((3S,10R,13R)-10,13-二甲基-17-((R)-6-甲基庚烷-2-基)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-十四氫-1H-環戊并[a]菲-3-基二氫硫基)乙基)胍(HGT4002)、(15Z,18Z)-N,N-二甲基-6-(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)二十四碳-15,18-二烯-1-胺(HGT5000)、(15Z,18Z)-N,N-二甲基-6-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)二十四碳-4,15,18-三烯-1-胺(HGT5001)、組織胺基-膽固醇半丁二酸酯(HisChol)、組胺醯基膽固醇半丁二酸酯(Hist-Chol)、HydroSoyPC (HSPC)、咪唑膽固醇酯(ICE)、3-(雙十二烷基胺基)-N1,N1,4-三(十二烷基)-1-哌啡乙胺(KL10)、N1-[2-(雙十二烷基胺基)乙基]-N1,N4,N4-三(十二烷基)-1,4-哌啡二乙胺(KL22)、14,25-雙十三烷基-15,18,21,24-四氮雜-三十八烷(KL25)、N,N-二-正十四烷基(lctradecyl),N-甲基-N-(2-胍基)乙銨(脂質1)、氯化N,N-二-正十八烷基,N-甲基-N-(2-胍基)乙銨(脂質2)、3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-((((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸酯(脂質A)、(9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-((((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯(脂質A1)、

2,2-二亞油基-4-二甲基胺基乙基-[1,3]-二氧雜戊環(脂質A2)、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(辛烷-8,1-二基)雙(癸酸酯) (脂質B)、2-((4-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十六醯基)氧基)丙烷-1,3-二基9Z,9'Z,12Z,12'Z)-雙(十八碳-9,12-二烯酸酯) (脂質C)、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)-13-(辛醯氧基)十三烷基3-辛基十一烷酸酯(脂質D)、(6Z,16Z)-12-((Z)-癸-4-烯-1-基)二十二碳-6,16-二烯-11-基5-(二甲基胺基)戊酸酯(脂質I)、雙十八烷基-(2-羥基-3-丙基胺基)胺基聚離胺酸(脂質T)、(3-((6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基氧基)-N,N-二甲基丙-1-胺(MC3醚)，描述於美國臨時申請案第61/384,050號中(MC3 Thioester)、(4-((6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基氧基)-N,N-二甲基丁-1-胺(MC4醚)、3-((2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯基)氧基)乙基)胺基)丙酸(MLAPA)、3-((2-(((9Z,12Z,15Z)-十八碳-9,12,15-三烯醯基)氧基)乙胺基)丙酸(MLLAPA)、單分枝醯基甘油(monomycolylglycerol ； MMG)、3-((2-(油醯氧基)乙基)胺基)丙酸(MOAPA)、4-(2-胺基乙基)-(N-味啉基)-膽固醇半丁二酸酯(MoChol)、1,2-二油醯基-3-N-味啉-丙烷(MoDO)、甲基吡啶基-二烷基-甲酸(MPDACA)、單軟脂醯基磷脂醯膽鹼(MPPC)、3-((2-(硬脂醯氧基)乙基)胺基)丙酸(MSAPA)、N1-[2-((1S)-1-[(3-胺基丙基)胺基]-4-[二(3-胺基-丙基)胺基]丁基甲醯胺基)乙基]-3,4-二[油氧基]-苯甲醯胺(MVL5)、2-({8-[(3β)-膽固醇-5-烯-3-基氧基]辛基}氧基)-N,N-二甲基-3-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]丙-1-胺(辛基-CLinDMA)、(2R)-2-({8-[(3β)-膽固醇-5-烯-3-基氧基]辛基}氧基)-N,N-二甲基-3-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]丙-1-胺(辛基-CLinDMA (2R))、磷脂醯膽鹼(PC)、1,3-雙-(1,2-

雙-十四烷氧基-丙基-3-二甲基乙氧基溴化銨)-丙烷-2-醇(PCL-2)、軟脂醯基-油醯基-nor-精胺酸(PONA)、硬脂胺(STA)、2-(((三級丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)-2-(羥基甲基)丙烷-1,3-二醇)、3-((三級丁基(二甲基)矽烷基)氧基)-2,2-雙(((9Z)-十四碳-9-烯醯氧基)甲基)丙基(9Z)-十四碳-9-烯酸酯)、3-羥基-2,2-雙(((9Z)-十四碳-9-烯醯氧基)甲基)丙基(9Z)-十四碳-9-烯酸酯)、3-((4-(二甲基胺基)丁醯基)氧基)-2,2-雙(((9Z)-十四碳-9-烯醯氧基)甲基)丙基(9Z)-十四碳-9-烯酸酯)、3-(5-(雙(2-羥基十二烷基)胺基)戊-2-基)-6-(5-((2-羥基十二烷基)(2-羥基十一烷基)胺基)戊-2-基)-1,4-二噁烷-2,5-二酮) (目標24)、海藻糖-6'6'-二山嵛酸酯(TDB)、1,1'-(2-(4-(2-((2-(雙(2-羥基十二烷基)胺基)乙基)(2-羥基十二烷基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基氮二基)雙十二烷-2-醇(Tech G1)、3-((1,3-雙(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯基)氧基)-2-((((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯基)氧基)甲基)丙-2-基)胺基)丙酸(TLAPA)、(1-(2,3-亞油氧基丙氧基)-2-(亞油氧基)-(7V,Λ/-二甲基)-丙基-3-胺) (TLinDMA)、3-((1,3-雙(((9Z.12Z.15Z)-十八碳-9.12.15-三烯醯基)氧基)-2-((((9Z.12Z.15E)-十八碳-9,12,15-三烯醯基)氧基)甲基)丙-2-基)胺基)丙酸(TLLAPA)、氯化N-(α-三甲基胺乙醯基)-雙十二烷基-D-麩胺酸酯(TMAG)、3-((1,3-雙(((Z)-十八碳-9-烯醯基)氧基)-2-((((Z)-十八碳-9-烯醯基)氧基)甲基)丙-2-基)胺基)丙酸(TOAPA)、3-((1,3-雙(硬脂醯氧基)-2-((硬脂醯氧基)甲基)丙-2-基)胺基)丙酸(TSAPA)、1,N19-雙((16E,18E,20E,22E)-17,21-二甲基-15-側氧基-23-(2,6,6-三甲基環己-1-烯-1-基)-4,7,10-三氧雜-14-氮雜二十三碳-16,18,20,22-四烯-1-基)-4,7,10,13,16-五氧雜十九烷-1,19-二醯胺(VA-PEG-VA)、2,2-二亞油基-4-二甲基胺基乙基-[1,3]-二氧雜戊環(XTC)，揭示於非專利文獻11中

(YSK05)、1,2-二-γ-次亞麻氧基-N,N-二甲基胺基丙烷(γ-DLenDMA)、a-D-生育酚半丁二醯基、(9Z,9,Z,12Z,12,Z)-2-((2-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十四烷醯基)氧基)丙烷-1,3-二基雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、2-(((13Z,16Z)-4-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)二十二碳-13,16-二烯醯基)氧基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、2-(((13Z,16Z)-4-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)二十二碳-13,16-二烯醯基)氧基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、2-((4-(((3-(乙基(甲基)胺基)丙氧基)羰基)氧基)十六醯基)氧基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、2-((4-(((3-(乙基(甲基)胺基)丙氧基)羰基)氧基)十六醯基)氧基)丙烷-1,3-二基雙(癸酸酯)、2-((4-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十六醯基)氧基)丙烷-1,3-二基雙(癸酸酯)、2-(10-十二烷基-3-乙基-8,14-二側氧基-7,9,13-三氧雜-3-氮雜二十碳-20-基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、2-(((4-(二甲基胺基)丁醯基)氧基)甲基)-2-((辛醯氧基)甲基)丙烷-1,3-二基(9Z,9′Z)雙-十四碳-9-烯酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-2-(((1-(環丙基甲基)哌啶-4-羰基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、((2-(((1-異丙基哌啶-4-羰基)氧基)甲基)-1,4-伸苯基)雙(氧基))雙(辛烷-8,1-二基)雙(癸酸酯)、2-((4-(((3-(乙基(甲基)胺基)丙氧基)羰基)氧基)十六醯基)氧基)丙烷-1,3-二基雙十二烷酸酯、2-((4-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十六醯基)氧基)丙烷-1,3-二基雙十二烷酸酯、2-((4-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十六醯基)氧基)丙烷-1,3-二基雙十二烷酸酯、2-((4-(((3-(乙基(甲基)胺基)丙氧基)羰基)氧基)十六醯基)氧基)丙烷-1,3-二基雙十四烷酸酯、2-((4-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十六醯基)氧基)丙烷-1,3-二基雙十四烷酸酯、2-((4-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十六醯基)氧基)丙烷-1,3-二基雙十四烷酸酯、(Z)-2-((4-(((3-

(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十六醯基)氧基)丙烷-1,3-二基二油酸酯、(9Z,9,Z,12Z,12,Z,15Z,15,Z)-2-((4-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十六醯基)氧基)丙烷-1,3-二基雙(十八碳-9,12,15-三烯酸酯)、(9Z,9,Z,12Z,12,Z)-2-((4-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十六醯基)氧基)丙烷-1,3-二基雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、(9Z,9,Z,12Z,12,Z)-2-((4-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十六醯基)氧基)丙烷-1,3-二基雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、N,N,N-三甲基-5-側氧基-5-(3-((3-戊基辛醯基)氧基)-2,2-雙(((3-戊基辛醯基)氧基)甲基)丙氧基)戊烷-1-碘化銨3-((5-(二甲基胺基)戊醯基)氧基)-2,2-雙(((3-戊基辛醯基)氧基)甲基)丙基3-戊基辛酸酯、3-二甲基胺基丙基碳酸酯(9Z,12Z)-二十八碳-19,22-二烯-11-基、2-(((N,N-二甲基-β-丙胺醯基)氧基]甲基}-2-[(辛醯氧基)甲基)丙烷-1,3-二基(9Z,9′Z)雙-十四碳-9-烯酸酯、O1,O1-(2-(7-十二烷基-14-甲基-3,9-二側氧基-2,4,8,10-四氧雜-14-氮雜十五烷基)丙烷-1,3-二基)8-二甲基二辛烷二酸酯、8-二甲基O1,01-(2-(((1-甲基吡咯啶-3-羰基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基)二辛烷二酸酯、1-(3-((6,6-雙((2-丙基戊基)氧基)己醯基)氧基)-2-(((1,4-二甲基哌啶-4-羰基)氧基)甲基)丙基)8-甲基辛烷二酸酯、(9Z,12Z)-5-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)-7-辛基十五烷基十八碳-9,12-二烯酸酯、5-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)-7-辛基十五烷基辛酸酯、1-(3-((6,6-雙((2-丙基戊基)氧基)己醯基)氧基)-2-(((1,4-二甲基哌啶-4-羰基)氧基)甲基)丙基)10-辛基癸二酸酯、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)-5-辛基十三烷基癸酸酯、1-(16-(((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)甲基)-9-十二烷基-2-甲基-7,13-二側氧基-6,8,12,14-四氧雜-2-氮雜十七烷-17-基)8-甲基辛烷二酸酯、3-((5-(二甲基胺基)戊醯基)氧基)-2,2-雙(((9Z)-十四碳-

9-烯醯氧基)甲基)丙基(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸酯、3-((5-(二甲基胺基)戊醯基)氧基)-2,2-雙(((3-戊基辛醯基)氧基)甲基)丙基3-戊基辛酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-2-(((3-(二乙基胺基)丙醯基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、((2-(((4-(二甲基胺基)丁醯基)氧基)甲基)-1,4-伸苯基)雙(氧基))雙(辛烷-8,1-二基)雙(癸酸酯)、1-(3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((1-甲基吡咯啶-3-羰基)氧基)甲基)丙基)8-甲基辛烷二酸酯、3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-((軟脂醯氧基)甲基)丙基1-甲基吡咯啶-3-甲酸酯、3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-((十四烷醯氧基)甲基)丙基1-甲基吡咯啶-3-甲酸酯、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)-13-(辛醯氧基)十三烷基9-戊基十四烷酸酯、3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-((十二烷醯氧基)甲基)丙基1-甲基吡咯啶-3-甲酸酯、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)-13-羥基十三烷基9-戊基十四烷酸酯、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)-13-(辛醯氧基)十三烷基7-己基十三烷酸酯、2-(5-(3-((1-甲基吡咯啶-3-羰基)氧基)-2-((十四烷醯氧基)甲基)丙氧基)-5-側氧基戊基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)-13-(辛醯氧基)十三烷基5-庚基十二烷酸酯、2-(5-(3-((1-甲基吡咯啶-3-羰基)氧基)-2-((軟脂醯氧基)甲基)丙氧基)-5-側氧基戊基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)-13-羥基十三烷基5-庚基十二烷酸酯、2-(((1-甲基吡咯啶-3-羰基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基雙(6,6-雙(辛氧基)己酸酯)、(9Z,12Z)-3-(((3-二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)-13-(辛醯氧基)十三烷基十八碳-9,12-二烯酸酯、3-((5-(二甲基胺基)戊醯基)氧基)-2,2-雙(((9Z)-十四碳-9-烯醯氧基)甲基)丙基(9Z)-十八碳-9-烯酸酯、2-(10-十二烷基-3-乙基-8,14-二側氧基-7,9,13-三氧雜-3-氮雜

十九烷-19-基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、((2-(((1-甲基哌啶-4-羰基)氧基)甲基)-1,4-伸苯基)雙(氧基))雙(辛烷-8,1-二基)雙(癸酸酯)、2-(((3-(二甲基胺基)丙醯基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸酯)、(9Z,12Z)-2-(((11Z,14Z)-2-((3-(二甲基胺基)丙醯基)氧基)二十碳-11,14-二烯-1-基)氧基)乙基十八碳-9,12-二烯酸酯、2-(((1,3-二甲基吡咯啶-3-羰基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸酯)、(13Z,16Z)-4-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)二十二碳-13,16-二烯-1-基十七烷-9-基丁二酸酯、2,2-雙(庚氧基)乙基3-((3-乙基-10-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)-8,15-二側氧基-7,9,14-三氧雜-3-氮雜十七烷-17-基)二氫硫基)丙酸酯、2-(((1-甲基吡咯啶-3-羰基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基雙(4,4-雙(辛氧基)丁烷、1-(3-((1,3-二甲基吡咯啶-3-羰基)氧基)-2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯氧基)甲基)丙基)10-辛基癸二酸酯、(13Z,16Z)-4-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)二十二碳-13,16-二烯-1-基2,2-雙(庚氧基)乙酸酯、(13Z,16Z)-4-(((2-(二甲基胺基)乙氧基)羰基)氧基)二十二碳-13,16-二烯-1-基2,2-雙(庚氧基)乙酸酯、乙酸(20,23R)-2-甲基-9-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基]-7-側氧基-6,8,11-三氧雜-2-氮雜二十九碳-20-烯-23-基3-(二甲基胺基)丙基碳酸酯(11Z,14Z)-1-{[(9Z,12R)-12-羥基十八碳-9-烯-1-基]、(12Z,15Z)-1-((((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基)羰基)氧基)二十一碳-12,15-二烯-3-基3-(二甲基胺基)丙酸酯、(9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-((((3-(二甲基胺基)丙基)胺甲醯基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、(12Z,15Z)-3-((4-(二甲基胺基)丁醯基)氧基)二十一碳-12,15-二烯-1-基9-戊基十四烷酸酯、(9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((((1,2,2,6,6-五甲基哌啶-4-基)氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十

八碳-9,12-二烯酸酯、(12Z,15Z)-3-((4-(二甲基胺基)丁醯基)氧基)二十一碳-12,15-二烯-1-基7-己基十三烷酸酯、(9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((((1-甲基哌啶-4-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、(12Z,15Z)-3-((4-(二甲基胺基)丁醯基)氧基)二十一碳-12,15-二烯-1-基5-庚基十二烷酸酯、(9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((((1-乙基哌啶-4-基)氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、(12Z,15Z)-3-((4-(二甲基胺基)丁醯基)氧基)二十一碳-12,15-二烯-1-基3-辛基十一烷酸酯,甲酸鹽、3-((5-(二甲基胺基)戊醯基)氧基)-2,2-雙(((9Z)-十四碳-9-烯醯氧基)甲基)丙基(9Z)-十六碳-9-烯酸酯、(9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((((1-甲基吖咀-3-基)氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、(9Z,12Z)-(12Z,15Z)-3-((3-(二甲基胺基)丙醯基)氧基)二十一碳-12,15-二烯-1-基十八碳-9,12-二烯酸酯、2-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十四烷基4,4-雙((2-乙基己基)氧基)丁酸酯、(9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((((1-甲基哌啶-4-基)氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、(9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((((1-甲基吡咯啶-3-基)氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、(9Z,12Z)-3-(((2-(二甲基胺基)乙氧基)羰基)氧基)十五烷基十八碳-9,12-二烯酸酯、(9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-((((3-(4-甲基哌咁-1-基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、3-(二甲基胺基)丙基三十烷-11-基碳酸酯三十烷-11-醇、(9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-((((3-(吡咯啶-1-基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、(9Z,12Z)-3-(((3-(乙基(甲基)胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基十八碳-9,12-二烯酸酯、3-((4,4-雙

(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯氧基)甲基)丙基4-((二乙基胺基)甲基)苯甲酸酯、(9Z,12Z)-3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基十八碳-9,12-二烯酸酯、3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯氧基)甲基)丙基3-((二甲基胺基)甲基)苯甲酸酯、(9Z,12Z)-3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基十八碳-9,12-二烯酸酯、3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯氧基)甲基)丙基1-甲基哌啶-3-甲酸酯、3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯氧基)甲基)丙基1-甲基哌啶-4-甲酸酯、3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯氧基)甲基)丙基1,4-二甲基哌啶-4-甲酸酯、3-((4-(二甲基胺基)丁醯基)氧基)-2,2-雙(((9Z)-十四碳-9-烯醯氧基)甲基)丙基(9Z)-十六碳-9-烯酸酯、2-(10-十二烷基-3-乙基-8,14-二側氧基-7,9,13-三氧雜-3-氮雜十六烷-16-基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-2-(((4-(哌啶-1-基)丁醯基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯氧基)甲基)丙基4-甲基味啉-2-甲酸酯、(2R)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯氧基)甲基)丙基1-甲基吡咯啶-2-甲酸酯、(2S)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯氧基)甲基)丙基1-甲基吡咯啶-2-甲酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-2-((((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)-2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯氧基)甲基)丙烷-1,3-二基雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、(9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((9Z,12Z)-十八

碳-9,12-二烯醯氧基)甲基)丙基1-(環丙基甲基)哌啶-4-甲酸酯、3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯氧基)甲基)丙基1-異丙基哌啶-4-甲酸酯、(9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛氧基)丁醯基)氧基)-2-(((3-(二甲基胺基)丙醯基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、4-(二甲基胺基)丁基碳酸酯(6Z,9Z,26Z,29Z)-三十五碳-6,9,26,29-四烯-18-基、3-((6-(二甲基胺基)己醯基)氧基)-2,2-雙(((9Z)-十四碳-9-烯醯氧基)甲基)丙基(9Z)-十四碳-9-烯酸酯、2,5-雙((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯氧基)苯甲基3-(二甲基胺基)丙基碳酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-2-(((4-(吡咯啶-1-基)丁醯基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基5-庚基十二烷酸酯、乙酸(7R,9Z)-18-({[3-(二甲基胺基)丙氧基]羰基}氧基)二十八碳-9-烯-7-基、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基9-戊基十四烷酸酯、(9Z,12Z)-3-((6,6-雙(辛氧基)己醯基)氧基)-2-((((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基7-己基十三碳-6-烯酸酯、(9Z,12Z)-3-(2,2-雙(庚氧基)乙醯氧基)-2-((((2-(二甲基胺基)乙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基3-辛基十一碳-2-烯酸酯、(9Z,12Z)-3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)-2-(((5-庚基十二烷醯基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、3-(((3-二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基3辛基十一烷酸酯、(9Z,12Z)-3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)-2-(((9-戊基十四烷醯基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、二乙酸(7R,9Z,26Z,29R)-18-({[3-(二甲基胺基)丙氧基]羰基}氧基)三十五碳-9,26-二烯-7,29-二基、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十

五烷基8,8-雙((2-丙基戊基)氧基)辛酸酯、(9Z,12Z)-3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)-2-(((7-己基十三醯基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、3-(((3-(乙基(甲基)胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基8,8-雙((2-丙基戊基)氧基)辛酸酯、(9Z,12Z)-3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)-2-(((3-辛基十一烷醯基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基8,8-雙((2-丙基戊基)氧基)辛酸酯、3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基8,8-二丁氧基辛酸酯、3-((5-(二甲基胺基)戊醯基)氧基)-2,2-雙(((9Z)-十四碳-9-烯醯氧基)甲基)丙基(9Z)-十四碳-9-烯酸酯、3-(二甲基胺基)丙基碳酸酯(6Z,9Z,26Z,29Z)-五(三十碳) (pentatriacontour)-6,9,26,29-四烯-18-基、2,5-雙((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基)苯甲基3-(二甲基胺基)丙酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-2-(((3-(4-甲基哌啉-1-基)丙醯基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基8,8-雙(辛氧基)辛酸酯、3-(二甲基胺基)丙基二十八烷-11-基碳酸酯、2,4-雙((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯氧基)苯甲基4-(二甲基胺基)丁酸酯、(9Z,12Z)-3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)-2-(((2-庚基十一烷醯基)氧基)甲基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基6,6-雙((2-乙基己基)氧基)己酸酯、2-((((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基雙(2-庚基十一烷酸酯)、3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基6,6-雙(己氧基)己酸酯、4-甲基-2,5-雙((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基)苯甲基4-(二甲基胺基)丁酸酯、3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基6,6-雙(辛氧基)己酸酯、4-(二甲基胺基)丁基4-甲基-2,5-雙((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯氧基)

苯甲基碳酸酯、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基4,4-雙((2-丙基戊基)氧基)丁酸酯、2-(12-十二烷基-3-乙基-8,14-二側氧基-7,9,13-三氧雜-3-氮雜十八烷-18-基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、2-(5-側氧基-5-((3-(((3-(哌啶-1-基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基)氧基)戊基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、3-(二甲基胺基)丙基4-甲基-2,5-雙((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基)苯甲基碳酸酯、3-(((3-(乙基(甲基)胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基4,4-雙((2-丙基戊基)氧基)丁酸酯、2-(11-十二烷基-3-乙基-9,15-二側氧基-8,10,14-三氧雜-3-氮雜十九烷-19-基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、2-(10-十二烷基-3-乙基-8,15-二側氧基-7,9,14-三氧雜-3-氮雜十九烷-19-基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、2-(5-((4-((((1-甲基哌啶-4-基)氧基)羰基)氧基)十六烷基)氧基)-5-側氧基戊基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、2-(5-((4-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)十六烷基)氧基)-5-側氧基戊基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、2-(5-((4-(((((R)-1-甲基吡咯啶-3-基)氧基)羰基)氧基)十六烷基)氧基)-5-側氧基戊基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、2-(5-((4-(((((S)-1-甲基吡咯啶-3-基)氧基)羰基)氧基)十六烷基)氧基)-5-側氧基戊基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、2-(5-側氧基-5-((4-(((S)-吡咯啶-2-羰基)氧基)十六烷基)氧基)戊基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、2-(5-((4-((1,3-二甲基吡咯啶-3-羰基)氧基)十六烷基)氧基)-5-側氧基戊基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、2-(5-((4-((1,4-二甲基哌啶-4-羰基)氧基)十六烷基)氧基)-5-側氧基戊基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、4,4-雙(辛氧基)丁基(3-(二乙基胺基)丙基)十五烷-1,3-二基二碳酸酯、3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基4,4-雙((2-丙基戊基)氧基)丁酸酯、((2-((((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)-1,4-伸苯基)雙(氧基))雙(辛烷-8,1-二基)雙(癸酸酯)、4,4-雙(辛

氧基)丁基5-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十七烷酸酯、6-((6,6-雙(辛氧基)己醯基)氧基)-4-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)己基辛酸酯、(12Z,15Z)-3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)二十一碳-12,15-二烯-1-基6,6-雙(辛氧基)己酸酯、3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十三烷基6,6-雙(辛氧基)己酸酯、3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十一烷基6,6-雙(辛氧基)己酸酯、3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基5-(4,6-二庚基-1,3-二噁烷-2-基)戊酸酯、3-((5-(二乙基胺基)戊醯基)氧基)十五烷基6,6-雙(辛氧基)己酸酯、1-((6,6-雙(辛氧基)己醯基)氧基)十五烷-3-基1,4-二甲基哌啶-4-甲酸酯、3-((3-(1-甲基哌啶-4-基)丙醯基)氧基)十五烷基6,6-雙(辛氧基)己酸酯、1-((6,6-雙(辛氧基)己醯基)氧基)十五烷-3-基1,3-二甲基吡咯啶-3-甲酸酯、3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基4,4-雙((2-乙基己基)氧基)丁酸酯、2-(((1,3-二甲基吡咯啶-3-羰基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基雙(8-(辛醯氧基)辛酸酯)、((2-((((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)-1,4-伸苯基)雙(氧基))雙(辛烷-8,1-二基)雙(癸酸酯)、(2R)-1-((6,6-雙(辛氧基)己醯基)氧基)十五烷-3-基吡咯啶-2-甲酸酯、(2S)-1-((6,6-雙(辛氧基)己醯基)氧基)十五烷-3-基1-甲基吡咯啶-2-甲酸酯、(2R)-1-((6,6-雙(辛氧基)己醯基)氧基)十五烷-3-基1-甲基吡咯啶-2-甲酸酯、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基6,6-雙((3-乙基戊基)氧基)己酸酯、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基6,6-雙((2-丙基戊基)氧基)己酸酯、3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基6,6-雙((2-丙基戊基)氧基)己酸酯、3-(((2-(二乙基胺基)乙氧基)羰基)氧基)十五烷基6,6-雙(辛氧基)己酸酯、3-(((3-(N-味啉基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基6,6-雙(辛氧基)己酸酯、3-((((1-甲基哌啶-4-基)甲

氧基)羰基)氧基)十五烷基6,6-雙(辛氧基)己酸酯、3-(((3-(4-甲基哌啡-1-基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基6,6-雙(辛氧基)己酸酯、3-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基4,4-雙(辛氧基)丁酸酯、2-(((4-(二甲基胺基)丁醯基)氧基)甲基)-2-((十二烷醯氧基)甲基)丙烷-1,3-二基(9Z,9′Z)雙-十四碳-9-烯酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-2-(((4-(二甲基胺基)丁醯基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、3-(((4-(二乙基胺基)丁氧基)羰基)氧基)十五烷基6,6-雙(辛氧基)己酸酯、3-(((3-(哌啡-1-基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基6,6-雙(辛氧基)己酸酯、3-(((3-哌啶-1-基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基6.6-雙(辛氧基)己酸酯、3-(((3-(二甲基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十五烷基4,4-雙(辛氧基)丁酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-2-(9-十二烷基-2-甲基-7,12-二側氧基-6,8,13-三氧雜-2-氮雜十四烷-14-基)丙烷-1,3-二基雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、(9Z,12Z)-10-十二烷基-3-乙基-14-(2-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯氧基)乙基)-8,13-二側氧基-7,9-二氧雜-3,14-二氮雜十六烷-16-基十八碳-9,12-二烯酸酯、2-((2-(((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)十四烷醯基)氧基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、2-(9-十二烷基-2-甲基-7,13-二側氧基-6,8,12-三氧雜-2-氮雜十九烷-19-基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、2-((癸醯氧基)甲基)-2-(((4-(二甲基胺基)丁醯基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基(9Z,9′Z)雙-十四碳-9-烯酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-2-(((3-(N-味啉基)丙醯基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、3-(二甲基胺基)丙基碳酸酯(6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基、2,5-雙((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基)苯甲基4-(二甲基胺基)丁酸酯、2-(10-十二烷基-3-乙基-8,14-二側氧基-7,9,13-三氧雜-3-氮雜十八烷-18-基)丙烷-1,3-二基二辛酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-2-(((1,3-二

甲基吡咯啶-3-羰基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、((5-((二甲基胺基)甲基)苯-1,2,3-三基)三(氧基))三(癸烷-10,1-二基)三辛酸酯、0',0-(((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丙烷-3,1-二基))9-二辛基二壬烷二酸酯、(9Z,12Z)-3-(3-((二甲基胺基)甲基)-5-(3-((3-辛基十一烷醯基)氧基)丙氧基)苯氧基)丙基十八碳-9,12-二烯酸酯、((((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丙烷-3,1-二基))雙(氧基))雙(4-側氧基丁烷-4,1-二基)雙(癸酸酯)、(R)-4-(3-((R)-3,4-雙(辛醯氧基)丁氧基)-5-((二甲基胺基)甲基)苯氧基)丁烷-1,2-二基二辛酸酯、(S)-4-(3-((S)-3,4-雙(辛醯氧基)丁氧基)-5-((二甲基胺基)甲基)苯氧基)丁烷-1,2-二基二辛酸酯、(R)-4-(3-((S)-3,4-雙(辛醯氧基)丁氧基)-5-((二甲基胺基)甲基)苯氧基)丁烷-1,2-二基二辛酸酯、4,4'-((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁烷1,2-二基)四辛酸酯、雙十二烷基6,6'-((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))二己酸酯、二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)5,5'-((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))二戊酸酯、(((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基))雙(氧基))雙(6-側氧基己烷-6,1-二基)雙(癸酸酯)、(5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基)雙(8-(辛醯氧基)辛酸酯)、(5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基)雙(10-(辛醯氧基)癸酸酯)、(((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基))雙(氧基))雙(6-側氧基己烷-6,1-二基)二辛酸酯、(((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基))雙(氧基))雙(8-側氧基辛烷-8,1-二基)雙(癸酸酯)、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基))雙(氧基))雙(4-側氧基丁烷-4,1-二基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、0',0-((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基))8-二壬基二辛烷二酸酯、0,0'-

((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基))雙(10-(辛醯氧基)癸基)二丁二酸酯、0,0'-((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基))二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)二丁二酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-((((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、(9Z,12Z)-4-(3-((二甲基胺基)甲基)-5-(4-(油醯氧基)丁氧基)苯氧基)丁基十八碳-9,12-二烯酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z,15Z,15'Z)-((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁烷-4,1-二基)雙(十八碳-9,12,15-三烯酸酯)、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁烷-4,1-二基)雙十四烷酸酯、(Z)-((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁烷-4,1-二基)二油酸酯、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(己烷-6,1-二基)雙十二烷酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((((5-((二乙基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(乙烷-2,1-二基))雙(氧基))雙(乙烷-2,1-二基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、二癸基8,8'-((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))二辛酸酯、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丙烷-3,1-二基)雙(3-辛基十一烷酸酯)、(9Z.9'Z.12Z.12'Z)-((5-((二乙基胺基)甲基-2-甲基-1.3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁烷-4,1-二基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(辛烷-8,1-二基)雙十二烷酸酯、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(辛烷-8,1-二基)雙(癸酸酯)、(9Z.9'Z.12Z.12'Z)-((5-((二甲基胺基)甲基-2-甲基-1.3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁烷-4,1-二基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、(8Z,8'Z)-((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(己烷-雙(十二碳-8-烯酸酯)、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((3-羥基吖咀-1-基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙

(丁烷-4,1-二基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(己烷-6,1-二基)二辛酸酯、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(己烷-6,1-二基)雙(癸酸酯)、(9Z.9'Z.12Z.12'Z)-((5-((二甲基胺基)甲基-1.3-伸苯基)雙(氧基))雙(辛烷-8,1-二基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(己烷-6,1-二基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(癸烷-10,1-二基)二己酸酯、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(癸烷-10,1-二基)二辛酸酯、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(辛烷-8,1-二基)二辛酸酯、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(辛烷-8,1-二基)二己酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(乙烷-2,1-二基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丙烷-3,1-二基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁烷-4,1-二基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、(5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基)雙十三烷酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、(2,6-雙((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基)吡啶-4-基)甲基3-(二甲基胺基)丙酸酯、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((3-(二甲基胺基)丙醯基)氧基)甲基)-1,3-伸苯基雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、1-(3,5-雙((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)-N,N二甲基甲胺、3,5-雙((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基)苯甲基3-(二甲基胺基)丙酸酯、1-(3,5-雙(4,4-雙(辛氧基)丁氧基)苯基)-N,N-二甲基甲胺、((((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙

(丁烷-4,1-二基))雙(氧基))雙(丙烷-3,2,1-三基)四辛酸酯、((5-(((4-(二甲基胺基)丁醯基)氧基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(辛烷-8,1-二基)雙(癸酸酯)、((5-(((3-(二甲基胺基)丙醯基)氧基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(辛烷-8,1-二基)雙(癸酸酯)、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(3-(N-味啉基)丙基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁烷4,1-二基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(3-(二甲基胺基)丙基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁烷-4,1-二基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(3-(哌啶-1-基)丙基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁烷-4,1-二基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、(5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基)雙(9-戊基十四烷酸酯)、(5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基)雙(7-己基十三烷酸酯)、(5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基)雙(5-庚基十二烷酸酯)、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁烷-4,1-二基)雙(3-辛基十一烷酸酯)、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁烷-4,1-二基)雙(5-庚基十二烷酸酯)、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁烷-4,1-二基)雙(9-戊基十四烷酸酯)、((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁烷-4,1-二基)雙(7-己基十三烷酸酯)、(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(吡咯啶-1-基甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁-4,1-二基)雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、(((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(亞甲基))雙(丙烷-3,2,1-三基)四辛酸酯、(((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(氧基))雙(丁烷-4,1-二基))雙(丙烷-3,2,1-三基)四辛酸酯、(9Z.12Z)-4-(3-((二甲基胺基)甲基-5-(4-((3-辛基十一烷醯基)氧基)丁氧基)苯氧基)丁基十八碳-9,12-二烯酸酯、雙(1,3-雙(辛醯氧基)丙-2-基)0,0'-((5-((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基))二丁二酸酯、(5-

((二甲基胺基)甲基)-1,3-伸苯基)雙(亞甲基)雙(6-(((壬氧基)羰基)氧基)己酸酯)、2-(3-(4-(5-((二甲基胺基)甲基)-2-甲基-3-((9Z,12Z)-十八碳9,12-二烯-1-基氧基)苯氧基)丁氧基)-3-側氧基丙基)丙烷-1,3-二基二己酸酯、3-((二甲基胺基)甲基)-5-(((8-(辛醯氧基)辛醯基)氧基)甲基)苯甲基3-辛基十一烷酸酯、((5-((二乙基胺基)甲基)苯-1,2,3-三基)三(氧基))三(癸烷-10,1-二基)三辛酸酯、1-(3,5-雙((Z)-十八碳-9-烯-1-基氧基)苯基)-N,N-二甲基甲胺、N'-甲基-N',N".N"-三((2E.6E)-3.7.11-三甲基十二碳-2.6.10-三烯-1-基丙烷-1,3-二胺、1,17-雙(2-((2-戊基環丙基)甲基)環丙基)十七烷-9-基4-(二甲基胺基)丁酸酯、乙基(7Z)-17-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十六碳-7-烯酸酯、(Z)-甲基6-(2-(二甲基胺基)-3-(十八碳-9-烯-1-基氧基)丙氧基)己酸酯、2-(雙十二烷基胺基)-1-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-十二烷基甘胺醯基)哌呾-1-基)乙-1-酮、3-((3-(1-(3-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)丙醯基)哌啶-4-基)丙基)(壬基)胺基)丙基己酸酯、3-((3-(4-(3-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)丙醯基)哌呾-1-基)-3-側氧基丙基)(壬基)胺基)丙基己酸酯、3-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-1-(4-(3-(二壬基胺基)丙基)哌啶-1-基)丙-1-酮、戊基4-((3-(1-(3-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)丙醯基)哌啶-4-基)丙基)(壬基)胺基)丁醇、戊基4-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(壬基)胺基)丁酸酯、戊基4-(((1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)吡咯啶-3-基)甲基)(壬基)胺基)丁酸酯、戊基4-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)吡咯啶-3-基)乙基)(壬基)胺基)丁酸酯、戊基4-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-3-基)乙基)(壬基)胺基)丁酸酯、2-(雙十二烷基胺基)-1-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌呾-

1-基)乙-1-酮、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-1-(3-(2-(二壬基胺基)乙基)哌啶-1-基)乙-1-酮、二戊基4,4'-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌吡-1-基)-2-側氧基乙基)氮二基)二丁酸酯、戊基4-(壬基(2-(4-(N-壬基-N-(2-(壬基(4-側氧基-4-(戊氧基)丁基)胺基)乙基)甘胺醯基)哌吡-1-基)-2-側氧基乙基)胺基)丁酸酯、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-1-(3-((二壬基胺基)甲基)吡咯啶-1-基)乙-1-酮、2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)-1-(4-(二壬基甘胺醯基)哌吡-1-基)乙-1-酮、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-1-(3-(2-(二壬基胺基)乙基)吡咯啶-1-基)乙-1-酮、戊基4-((3-(4-(3-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)丙醯基)哌吡-1-基)-3-側氧基丙基)(壬基)胺基)丁酸酯、3-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(壬基)胺基)丙基己酸酯、丁基5-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(壬基)胺基)戊酸酯、2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(壬基)胺基)-1-(4-(二壬基甘胺醯基)哌吡-1-基)乙-1-酮、丙基6-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(壬基)胺基)己酸酯、乙基7-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(壬基)胺基)庚酸酯、甲基8-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(壬基)胺基)辛酸酯、3-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌吡-1-基)-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)丙基己酸酯、丁基5-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌吡-1-基)-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)戊酸酯、丙基6-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌吡-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)己酸酯、乙基7-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌吡-1-基)-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)庚酸

酯、3-(二壬基胺基)-1-(4-(3-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)丙醯基)哌啡-1-基)丙-1-酮、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-1-(4-(雙十四烷基甘胺醯基)哌啡-1-基)乙-1-酮、2-(二壬基胺基)-1-(4-(2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)乙基)哌啶-1-基)乙-1-酮、2-(二壬基胺基)-1-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-十二烷基甘胺醯基)哌啡-1-基)乙-1-酮、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-1-(4-(2-(二壬基胺基)乙基)哌啶-1-基)乙-1-酮、甲基8-((2-(4-(二壬基甘胺醯基)哌啡-1-基)-2-側氧基乙基)(2-((8-甲氧基-8-側氧基辛基)(壬基)胺基)乙基)胺基)辛酸酯、甲基8-((2-(二壬基胺基)乙基)(2-(4-(二壬基甘胺醯基)哌啡-1-基)-2-側氧基乙基)胺基)辛酸酯、甲基8-((2-((2-(4-(二壬基甘胺醯基)哌啡-1-基)-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)乙基)(壬基)胺基)辛酸酯、戊基4-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啡-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)丁酸酯、甲基8-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啡-1-基)-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)辛酸酯、2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)-1-(5-(二壬基甘胺醯基)-2,5-二氮雜雙環[2.2.1]庚烷-2-基)乙-1-酮3、2-(二壬基胺基)-1-(5-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)-2,5-二氮雜雙環[2.2.1]庚烷-2-基)乙-1-酮、N1,N1,N2-三((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)-N2-(2-(哌啡-1-基)乙基)乙烷-1,2-二胺、N1,N1,N2-三((Z)-十八碳-9-烯-1-基)-N2-(2-(哌啡-1-基)乙基)乙烷-1,2-二胺、2-(二壬基胺基)-1-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啡-1-基)乙-1-酮、N1,N1,N2-三(十二烷基)-N2-(2-(哌啡-1-基)乙基)乙烷-1,2-二胺、N1,N1,N2-三壬基-N2-(2-(哌啡-1-基)乙基)乙烷-1,2-二胺、N1,N1,N2-三己基-N2-(2-(哌啡-1-基)乙基)乙烷-1,2-二胺、N1-(2-(4-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三

((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)乙烷-1,2-二胺、N1-(2-(4-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三((Z)-十八碳-9-烯-1-基)乙烷-1,2-二胺、N1-(2-(4-(2-(雙十四烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三(十四烷基)乙烷-1,2-二胺、N1-(2-(4-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三(十四烷基)乙烷-1,2-二胺、N1-(2-(4-(2-(二壬基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三(十四烷基)乙烷-1,2-二胺、2-(雙十二烷基胺基)-1-(4-(2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙-1-酮、N1-(2-(4-(2-(二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三(十二烷基)乙烷-1,2-二胺、N1-(2-(4-(2-(二((Z)-十八碳-9-烯-1-基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三(十二烷基)乙烷-1,2-二胺、N1,N1,N2-三(十二烷基)-N2-(2-(4-(2-(十二烷基((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)乙烷-1,2-二胺、N1-(2-(4-(2-(雙十四烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三(十二烷基)乙烷-1,2-二胺、N1-(2-(4-(2-(二((Z)-十二碳-6-烯-1-基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N^三(十二烷基)乙烷-1,2-二胺、(Z)-N1-(2-(4-(2-(十二碳-6-烯-1-基(十二烷基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N,N2,N2-三(十二烷基)乙烷-1,2-二胺、N1-(2-(4-(2-(二壬基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三(十二烷基)乙烷-1,2-二胺、N1-(2-(4-(2-(二辛基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三(十二烷基)乙烷-1,2-二胺、N1-(2-(4-(2-(二己基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三(十二烷基)乙-1,2-二胺、N1-(2-(4-(2-(雙十四烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三壬基乙烷-1,2-二胺、2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)-1-(4-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙-1-酮、N1-(2-(4-

(2-(雙十二烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三壬基乙烷-1,2-二胺、N1-(2-(4-(2-(二壬基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三壬基乙烷-1,2-二胺、N1-(2-(4-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三己基乙烷-1,2-二胺、二甲基12,12'-((2-(4-(2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)氮二基)雙十二烷酸酯、甲基12-((2-(4-(2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)(十二烷基)胺基)十二烷酸酯、二戊基6,6'-((2-(4-(2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)氮二基)二己酸酯、戊基6-((2-(4-(2-((2-(雙十四烷基胺基)乙基)(十四烷基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)(十二烷基)胺基)己酸酯、戊基6-((2-(4-(2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)(十二烷基)胺基)己酸酯、2-(雙十二烷基胺基)-1-(4-(N-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)-N-十二烷基甘胺醯基)哌啡-1-基)乙-1-酮、2-(雙十二烷基胺基)-1-(4-(N-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啡-1-基)乙-1-酮、2-(雙十二烷基胺基)-N-(2-(4-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N-十二烷基乙醯胺、((2-((3,S',4R)-3,4-二羥基吡咯啶-1-基)乙醯基)氮二基)雙(乙烷-2,1-二基)(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、2-胺基-N,N-雙十六烷基-3-(1H-咪唑-5-基)丙醯胺、(2-胺基-N,N-雙十六烷基-3-(1H-咪唑-5-基)丙醯胺、甲基(9Z)-19-[2-(二甲基胺基)乙基]二十七碳-9-烯酸酯、甲基8-(2-{9-[2-(二甲基胺基)乙基]十八烷基}環丙基)辛酸酯、甲基(9Z)-19-[2-(二甲基胺基)乙基]二十八碳-9-烯酸酯、乙基8-(2-{11-[(二甲基胺基)甲基]十七烷基}環丙基)辛酸酯、乙基8-(2-{11-[(二甲基胺基)甲基]十八烷基}環丙基)辛酸酯、二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)3-(((2-(二甲基胺基)乙

氧基)羰基)胺基)戊烷二酸酯、庚基6-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(十四烷基)胺基)己酸酯、乙基8-(2-{11-[(二甲基胺基)甲基]十九烷基}環丙基)辛酸酯、戊基8-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(十四烷基)胺基)辛酸酯、乙基8-(2-{11-[(二甲基胺基)甲基]二十烷基}環丙基)辛酸酯、乙基8-(2-{9-[(二甲基胺基)甲基]十五烷基}環丙基)辛酸酯、3-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(十四烷基)胺基)丙基癸酸酯、庚基6-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌咁-1-基)-2-側氧基乙基)(十四烷基)胺基)己酸酯、乙基8-(2-{9-[(二甲基胺基)甲基]十六烷基}環丙基)辛酸酯、戊基8-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌咁-2-側氧基乙基)(十四烷基)胺基)辛酸酯、乙基8-(2-{9-[(二甲基胺基)甲基]十七烷基}環丙基)辛酸酯、甲基6-(2-(8-(2-(二甲基胺基)-3-(壬氧基)丙氧基)辛基)環丙基)己酸酯、甲基(9Z)-21-(二甲基胺基)二十七碳-9-烯酸酯、甲基(9Z)-21-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十七碳-9-烯酸酯、(2R)-N,N-二甲基-1-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]十二烷-2-胺、(15Z,18Z)-N,N-二甲基二十四碳(tetracoda)-15,18-二烯-5-胺、乙基8-(2-{9-[(二甲基胺基)甲基]十八烷基}環丙基)辛酸酯、3-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌咁-1-基)-2-側氧基乙基)(十四烷基)胺基)丙基癸酸酯、乙基4-(2-{11-[(二甲基胺基)甲基]二十烷基}環丙基)丁酸酯、乙基8-(2-{7-[(二甲基胺基)甲基]十六烷基}環丙基)辛酸酯、3-((3-(1-(3-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)丙醯基)哌啶-4-基)丙基)(壬基)胺基)丙基己酸酯、乙基6-(2-{9-[(二甲基胺基)甲基]十五烷基}環丙基)己酸酯、3-((3-(4-(3-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)丙醯基)哌

咁-1-基)-3-側氧基丙基)(壬基)胺基)丙基己酸酯、乙基6-(2-{9-[(二甲基胺基)甲基]十六烷基}環丙基)己酸酯、3-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-1-(4-(3-(二壬基胺基)丙基)哌啶-1-基)丙-1-酮、戊基4-((3-(1-(3-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)丙醯基)哌啶-4-基)丙基)(壬基)胺基)buta^、乙基6-(2-{9-[(二甲基胺基)甲基]十七烷基}環丙基)己酸酯、戊基4-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(壬基)胺基)丁酸酯、乙基6-(2-{9-[(二甲基胺基)甲基]十八烷基}環丙基)己酸酯、戊基4-(((1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)吡咯啶-3-基)甲基)(壬基)胺基)丁酸酯、乙基(9Z)-21-[(二甲基胺基)甲基]二十七碳-9-烯酸酯、戊基4-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)吡咯啶-3-基)乙基)(壬基)胺基)丁酸酯、乙基(9Z)-21-[(二甲基胺基)甲基]二十八碳-9-烯酸酯、((2-((3,S',4R)-3,4-二羥基吡咯啶-1-基)乙醯基)氮二基)雙(乙烷-2,1-二基)(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-雙(十八碳-9,12-二烯酸酯)、戊基4-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-3-基)乙基)(壬基)胺基)丁酸酯、乙基(9Z)-21-[(二甲基胺基)甲基]二十九碳-9-烯酸酯、甲基6-(2-(8-(2-(二甲基胺基)-3-(庚氧基)丙氧基)辛基)環丙基)己酸酯、甲基(9Z)-21-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十八碳-9-烯酸酯、甲基(9Z)-21-(二甲基胺基)二十八碳-9-烯酸酯、2-(雙十二烷基胺基)-1-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌咁-1-基)乙-1-、(2S)-N.N-二甲基-1-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]壬-2-胺、(18Z,21Z)-N,N-二甲基二十七碳-18,21-二烯-10-胺、乙基(9Z)-21-[(二甲基胺基)甲基]三十碳-9-烯酸酯、乙基(9Z)-19-[(二甲基胺基)甲基]二十五碳-9-烯酸酯、乙基(9Z)-19-[(二甲基胺基)甲基]二十六碳-9-烯酸酯、乙基(9Z)-19-[(二甲基胺基)甲基]二十七碳-9-烯

酸酯、乙基(9Z)-19-[(二甲基胺基)甲基]二十八碳-9-烯酸酯、乙基(5Z)-17-[(二甲基胺基)甲基]二十六碳-5-烯酸酯、乙基(9Z)-17-[(二甲基胺基)甲基]二十六碳-9-烯酸酯、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-1-(3-(2-(二壬基胺基)乙基)哌啶-1-基)乙-1-酮、乙基(7Z)-17-[(二甲基胺基)甲基]二十三碳-7-烯酸酯、二戊基4,4'-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啡-1-基)-2-側氧基乙基)氮二基)二丁酸酯、戊基4-(壬基(2-(4-(N-壬基-N-(2-(壬基(4-側氧基-4-(戊氧基)丁基)胺基)乙基)甘胺醯基)哌啡-1-基)-2-側氧基乙基)胺基)丁酸酯、乙基(7Z)-17-[(二甲基胺基)甲基]二十四碳-7-烯酸酯、乙基(7Z)-17-[(二甲基胺基)甲基]二十五碳-7-烯酸酯、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-1-(3-((二壬基胺基)甲基)吡咯啶-1-基)乙-1-酮、反式-3-[(3}7-二甲基辛基)氧基]-1-甲基-4~[(9Z,12Z)-十八碳-9512-二烯-1-基氧基吡咯啶、甲基6-(2-(8-(2-(二甲基胺基)-3-(己氧基)丙氧基)辛基)環丙基)己酸酯、甲基(9Z)-21-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十九碳-9-烯酸酯、甲基(9Z)-21-(二甲基胺基)二十九碳-9-烯酸酯、(2S)-N,N-二甲基-1-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]十三烷-2-胺、(15Z,18Z)-N,N-二甲基二十四碳-15,18-二烯-7-胺、乙基(7Z)-17-[(二甲基胺基)甲基]二十六碳-7-烯酸酯、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-1-(3-(2-(二壬基胺基)乙基)吡咯啶-1-基)乙-1-酮、甲基6-(2-{11-[(二甲基胺基)甲基]二十烷基}環丙基)己酸酯、甲基10-(2-{7-[(二甲基胺基)甲基]十六烷基}環丙基)癸酸酯、甲基8-(2-{11-[(二甲基胺基)甲基]十七烷基}環丙基)辛酸酯、甲基8-(2-{11-[(二甲基胺基)甲基]十八烷基}環丙基)辛酸酯、甲基8-(2-{11-[(二甲基胺基)甲基]十九烷基}環丙基)辛酸酯、甲基8-(2-{11-[(二甲基胺基)甲基]二十烷基}環丙基)辛酸酯、戊基4-((3-(4-(3-((2-

(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)丙醯基)哌啉-1-基)-3-側氧基丙基)(壬基)胺基)丁酸酯、甲基8-(2-{9-[(二甲基胺基)甲基]十五烷基}環丙基)辛酸酯、甲基8-(2-{9-[(二甲基胺基)甲基]十六烷基}環丙基)辛酸酯、3-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(壬基)胺基)丙基己酸酯、甲基8-(2-{9-[(二甲基胺基)甲基]十七烷基}環丙基)辛酸酯、甲基8-(2-(二甲基胺基)-3-((6-((2-辛基環丙基)甲氧基)-6-側氧基己基)氧基)丙氧基)辛酸酯、丁基5-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(壬基)胺基)戊酸酯、反式-1-甲基-3-[(12Z)-十八碳-12-烯-1-基氧基]-4-(辛氧基)吡咯啶、甲基(9Z)-21-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}三十碳-9-烯酸酯、甲基(9Z)-21-(二甲基胺基)三十碳-9-烯酸酯、2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(壬基)胺基)-1-(4-(二壬基甘胺醯基)哌啉-1-基)乙-1-酮甲基N-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)-N-壬基甘胺酸酯、1-((2R,3S,5R)-3-(雙(十六烷氧基)甲氧基)-5-(5-甲基-2,4-二側氧基-3,4-二氫嘧啶-1(2H)-基)四氫呋喃甲磺酸酯、(Z)-甲基16-(3-(癸氧基)-2-(二甲基胺基)丙氧基)十六碳-7-烯酸酯、(2S)-1-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]壬-2-胺、(14Z,17Z)-N,N-二甲基二十三碳-14,17-二烯-6-胺、丙基6-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(壬基)胺基)己酸酯、甲基7-(2-(二甲基胺基)-3-((6-((2-辛基環丙基)甲氧基)-6-側氧基己基)氧基)丙氧基)庚酸酯、甲基(7Z)-19-[(二甲基胺基)甲基]二十八碳-7-烯酸酯、甲基(HZ)-19-[(二甲基胺基)甲基]二十八碳-11-烯酸酯、乙基7-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(壬基)胺基)庚酸酯、(2-辛基環丙基)甲基6-(2-(二甲基胺基)-3-((5-甲氧基-5-側氧基戊基)氧基)丙氧基)己酸酯、甲基8-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-

壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(壬基)胺基)辛酸酯、甲基(9Z)-21-[(二甲基胺基)甲基]二十七碳-9-烯酸酯、(2-辛基環丙基)甲基6-(2-(二甲基胺基)-3-(4-甲氧基-4-側氧基丁氧基)丙氧基)己酸酯、甲基(9Z)-21-[(二甲基胺基)甲基]二十八碳-9-烯酸酯、3-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啉-1-基)-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)丙基己酸酯、(Z)-甲基8-(2-(二甲基胺基)-3-((6-側氧基-6-(十一碳-2-烯-1-基氧基)己基)氧基)丙氧基)辛酸酯、甲基(9Z)-21-[(二甲基胺基)甲基]二十九碳-9-烯酸酯、丁基5-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啉-1-基)-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)戊酸酯、(Z)-甲基7-(2-(二甲基胺基)-3-((6-側氧基-6-(十一碳-2-烯-1-基氧基)己基)氧基)丙氧基)庚酸酯、丙基6-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啉-1-基)-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)己酸酯、甲基(9Z)-21-[(二甲基胺基)甲基]三十碳-9-烯酸酯、(Z)-十一碳-2-烯-1-基6-(2-(二甲基胺基)-3-((5-甲氧基-5-側氧基戊基)氧基)丙氧基)己酸酯、甲基(9Z)-19-[(二甲基胺基)甲基]二十五碳-9-烯酸酯、乙基7-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啉-1-基)-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)庚酸酯、(Z)-十一碳-2-烯-1-基6-(2-(二甲基胺基)-3-(4-甲氧基-4-側氧基丁氧基)丙氧基)己酸酯、甲基6-(2-(二甲基胺基)-3-((6-((2-辛基環丙基)甲氧基)-6-側氧基己基)氧基)丙氧基)己酸酯、甲基(9Z)-19-[(二甲基胺基)甲基]二十六碳-9-烯酸酯、3-(二壬基胺基)-1-(4-(3-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)丙醯基)哌啉-1-基)丙-1-酮、甲基(9Z)-19-[(二甲基胺基)甲基]二十七碳-9-烯酸酯、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-1-(4-(雙十四烷基甘胺醯基)哌啉-1-基)乙-1-酮、(Z)-甲基6-(2-(二甲基胺基)-3-((6-側氧基-6-(十一碳-2-烯-1-基氧基)己基)氧基)丙氧基)己酸酯、甲基8-(2-

(二甲基胺基)-3-((8-(2-(6-甲氧基-6-側氧基己基)環丙基)辛基)氧基)丙氧基)辛酸酯、甲基8-(2-{9-[(二甲基胺基)甲基]十八烷基}環丙基)辛酸酯、2-(二壬基胺基)-1-(4-(2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)乙基)哌啶-1-基)乙-1-酮、反式-1-甲基-3-[(9Z)-十八碳-9-烯-1-基氧基]-4-(辛氧基)吡咯啶、甲基(9Z)-19-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十五碳-9-烯酸酯、甲基(9Z)-19-(二甲基胺基)二十五碳-9-烯酸酯、(Z)-甲基16-(2-(二甲基胺基)-3-(壬氧基)丙氧基)十六碳-7-烯酸酯、(2S)-1-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]癸-2-胺、(12Z,15Z)-N,N-二甲基二十一碳-12,15-二烯-4-胺、甲基7-(2-(二甲基胺基)-3-((8-(2-(6-甲氧基-6-側氧基己基)環丙基)辛基)氧基)丙氧基)庚酸酯、甲基(9Z)-19-[(二甲基胺基)甲基]二十八碳-9-烯酸酯、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-1-(4-(2-(二壬基胺基)乙基)哌啶-1-基)乙-1-酮、甲基8-((2-(4-(二壬基甘胺醯基)哌啡-1-基)-2-側氧基乙基)(2-((8-甲氧基-8-側氧基辛基)(壬基)胺基)乙基)胺基)辛酸酯、甲基6-(2-(8-(2-(二甲基胺基)-3-((5-甲氧基-5-側氧基戊基)氧基)丙氧基)辛基)環丙基)己酸酯、乙基8-{2-[11-(二甲基胺基)十七烷基]環丙基}辛酸酯、甲基8-((2-(二壬基胺基)乙基)(2-(4-(二壬基甘胺醯基)哌啡-1-基)-2-側氧基乙基)胺基)辛酸酯、甲基6-(2-(8-(2-(二甲基胺基)-3-(4-甲氧基-4-側氧基丁氧基)丙氧基)辛基)環丙基)己酸酯、乙基8-{2-[11-(二甲基胺基)十八烷基]環丙基}辛酸酯、甲基8-((2-((2-(4-(二壬基甘胺醯基)哌啡-1-基)-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)乙基)(壬基)胺基)辛酸酯、乙基8-{2-[11-(二甲基胺基)十九烷基]環丙基}辛酸酯、(Z)-甲基16-(2-(二甲基胺基)-3-((8-甲氧基-8-側氧基辛基)氧基)丙氧基)十六碳-7-烯酸酯、戊基4-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啡-1-基)-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)丁酸酯、乙

基8-{2-[11-(二甲基胺基)二十烷基]環丙基}辛酸酯、(Z)-甲基16-(2-(二甲基胺基)-3-((7-甲氧基-7-側氧基庚基)氧基)丙氧基)十六碳-7-烯酸酯、甲基8-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啉-1-基)-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)辛酸酯、乙基8-{2-[9-(二甲基胺基)十五烷基]環丙基}辛酸酯、(Z)-甲基16-(2-(二甲基胺基)-3-((5-甲氧基-5-側氧基戊基)氧基)丙氧基)十六碳-7-烯酸酯、(11E,20Z,23Z)-N,N-二甲基二十九碳-11,20,23-三烯-10-胺、N,N-二甲基-1-[(1S,2R)-2-辛基環丙基]十五烷-8-胺、乙基8-{2-[9-(二甲基胺基)十六烷基]環丙基}辛酸酯、2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)-1-(5-(二壬基甘胺醯基)-2,5-二氮雜雙環[2.2.1]庚烷-2-基)乙-1-酮3、(Z)-甲基16-(2-(二甲基胺基)-3-(4-甲氧基-4-側氧基丁氧基)丙氧基)十六碳-7-烯酸酯、甲基6-(2-(8-(2-(二甲基胺基)-3-((6-甲氧基-6-側氧基己基)氧基)丙氧基)辛基)環丙基)己酸酯、乙基8-{2-[9-(二甲基胺基)十七烷基]環丙基}辛酸酯、2-(二壬基胺基)-1-(5-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)-2,5-二氮雜雙環[2.2.1]庚烷-2-基)乙-1-酮、1-[(1S,2R)-2-癸基環丙基]-N,N-二甲基十五烷-6-胺、N1,N1,N2-三((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)-N2-(2-(哌啉-1-基)乙基)乙烷-1,2-二胺、乙基8-{2-[9-(二甲基胺基)十八烷基]環丙基}辛酸酯、1-[(1R,2S)-2-庚基環丙基]-N,N-二甲基十八烷-9-胺、(Z)-甲基16-(2-(二甲基胺基)-3-((6-甲氧基-6-側氧基己基)氧基)丙氧基)十六碳-7-烯酸酯、N1,N1,N2-三((Z)-十八碳-9-烯-1-基)-N2-(2-(哌啉-1-基)乙基)乙烷-1,2-二胺、N,N-二甲基-3-{7-[(1S,2R)-2-辛基環丙基]庚基}十二烷-1-胺、甲基8-(2-(二甲基胺基)-3-((8-(2-((2-戊基環丙基)甲基)環丙基)辛基)氧基)丙氧基)辛酸酯、乙基4-{2-[11-(二甲基胺基)二十烷基]環丙基}丁酸酯、反式-1-甲基-3-

[((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯基)氧基]-4-辛氧基-吡咯啶、甲基(9Z)-19-(二甲基胺基)二十六碳-9-烯酸酯、甲基(9Z)-19-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十六碳-9-烯酸酯、(Z)-甲基16-(2-(二甲基胺基)-3-(庚氧基)丙氧基)十六碳-7-烯酸酯、(2R)-1-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]十二烷-2-胺、(13Z,16Z)-N,N-二甲基二十二碳-13,16-二烯-5-胺、N,N-二甲基-1-[(1R,2S)-2-十一烷基環丙基]十四烷-5-胺、甲基7-(2-(二甲基胺基)-3-((8-(2-((2-戊基環丙基)甲基)環丙基)辛基)氧基)丙氧基)庚酸酯、乙基8-{2-[7-(二甲基胺基)十六烷基]環丙基}辛酸酯、2-(雙十二烷基胺基)-N-十二烷基-N-(2-(哌啉-1-基)乙基)乙醯胺、N,N-二甲基-1-[(1S,2R)-2-辛基環丙基]十六烷-8-胺、N1-(2-(哌啉-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三(十四烷基)乙烷-1,2-二胺、甲基6-(2-(二甲基胺基)-3-((8-(2-((2-戊基環丙基)甲基)環丙基)辛基)氧基)丙氧基)己酸酯、乙基6-{2-[9-(二甲基胺基)十五烷基]環丙基}己酸酯、N,N-二甲基-1-[(1S,2S)-2-{[(1R,2R)-2-戊基環丙基]甲基}環丙基]十九烷-10-胺、NN1,N2-三(十二烷基)-N2-(2-(哌啉-1-基)乙基)乙烷-1,2-二胺、甲基5-(2-(二甲基胺基)-3-((8-(2-((2-戊基環丙基)甲基)環丙基)辛基)氧基)丙氧基)戊酸酯、乙基6-{2-[9-(二甲基胺基)十六烷基]環丙基}己酸酯、N,N-二甲基-21-[(1S,2R)-2-辛基環丙基]二十一烷-10-胺、NNN2-三壬基-N2-(2-(哌啉-1-基)乙基)乙烷-1,2-二胺、甲基4-(2-(二甲基胺基)-3-((8-(2-((2-戊基環丙基)甲基)環丙基)辛基)氧基)丙氧基)丁酸酯、乙基6-{2-[9-(二甲基胺基)十七烷基]環丙基}己酸酯、N,N-二甲基-1-[(1S,2R)-2-辛基環丙基]十九烷-10-胺、N1,N1,N2-三己基-N2-(2-(哌啉-1-基)乙基)乙烷-1,2-二胺、甲基8-(2-(二甲基胺基)-3-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基)丙氧基)辛酸酯、乙基6-{2-[9-(二甲基胺基)十八烷基]

環丙基}己酸酯、N1-(2-(4-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基)乙烷-1,2-二胺、甲基7-(2-(二甲基胺基)-3-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基)丙氧基)庚酸酯、乙基(9Z)-21-(二甲基胺基)二十七碳-9-烯酸酯、1-[(1S,2R)-2-己基環丙基]-N,N-二甲基十九烷-10-胺、1-甲基18-[(2Z)-壬-2-烯-1-基]9-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}十八烷二酸酯、N1-(2-(4-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三((Z)-十八碳-9-烯-1-基)乙烷-1,2-二胺、N,N-二甲基-1-[(1S,2R)-2-辛基環丙基]十七烷-8-胺、甲基6-(2-(二甲基胺基)-3-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基)丙氧基)己酸酯、乙基(9Z)-21-(二甲基胺基)二十八碳-9-烯酸酯、二甲基(9Z)-19-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十七碳-9-烯二酸酯、N1-(2-(4-(2-(雙十四烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三(十四烷基)乙烷-1,2-二胺、甲基5-(2-(二甲基胺基)-3-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基)丙氧基)戊酸酯、乙基8-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}-15-(2-辛基環丙基)十五烷酸酯、乙基(9Z)-21-(二甲基胺基)二十九碳-9-烯酸酯、(13Z,16Z)-N,N-二甲基-3-壬基二十二碳-13,16-二烯-1-胺、N1-(2-(4-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三(十四烷基)乙烷-1,2-二胺、甲基9-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}-16-(2-辛基環丙基)十六烷酸酯、甲基4-(2-(二甲基胺基)-3-((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基)丙氧基)丁酸酯、乙基(9Z)-21-(二甲基胺基)三十碳-9-烯酸酯、(12Z,15Z)-N,N-二甲基-2-壬基二十一碳-12,15-二烯-1-胺、甲基8-(2-(二甲基胺基)-3-((8-(2-辛基環丙基)辛基)氧基)丙氧基)辛酸酯、乙基(9Z)-19-(二甲基胺基)二十五碳-9-烯酸酯、乙基(18Z,21Z)-8-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十七碳-18,21-二烯酸酯、

(16Z)-N,N-二甲基二十五碳-16-烯-8-胺、甲基(9Z)-19-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十七碳-9-烯酸酯、甲基(9Z)-19-(二甲基胺基)二十七碳-9-烯酸酯、2-(雙十二烷基胺基)-1-(4-(2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙-1-酮、(Z)-甲基16-(2-(二甲基胺基)-3-(己氧基)丙氧基)十六碳-7-烯酸酯、(2S)-1-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]十二烷-2-胺、(16Z,19Z)-N,N-二甲基二十五碳-16,19-二烯-8-胺、N1-(2-(4-(2-(二壬基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2^V2-三(十四烷基)乙烷-1,2-二胺、甲基7-(2-(二甲基胺基)-3-((8-(2-辛基環丙基)辛基)氧基)丙氧基)庚酸酯、甲基(19Z,22Z)-9-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十八碳-19,22-二烯酸酯、乙基(9Z)-19-(二甲基胺基)二十六碳-9-烯酸酯、(22Z)-N,N-二甲基hen三十碳-22-烯-10-胺、N1-(2-(4-(2-(二((Z)-十八碳-9-烯-1-基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)- !^^-三(十二烷基)乙烷-1,2-二胺、甲基5-(2-(二甲基胺基)-3-((8-(2-辛基環丙基)辛基)氧基)丙氧基)戊酸酯、乙基(9Z)-19-(二甲基胺基)二十七碳-9-烯酸酯、(2-丁基環丙基)甲基12-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十一烷酸酯、(20Z)-N,N-二甲基二十九碳-20-烯-10-胺、N1,N1,N2-三(十二烷基)-N2-(2-(4-(2-(十二烷基((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯--基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)乙烷-1,2-二胺、甲基4-(2-(二甲基胺基)-3-((8-(2-辛基環丙基)辛基)氧基)丙氧基)丁酸酯、乙基(9Z)-19-(二甲基胺基)二十八碳-9-烯酸酯、(2-辛基環丙基)甲基8-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}十七烷酸酯、(24Z)-N,N-二甲基三十三碳-24-烯-10-胺、N1-(2-(4-(2-(雙十四烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三(十二烷基)乙烷-1,2-二胺、乙基(5Z)-17-(二甲基胺基)二十六碳-5-烯酸酯、(Z)-甲基8-(2-(二甲基胺基)-3-(十八碳-9-烯-1-基氧基)丙氧基)辛酸

酯、(2Z)-庚-2-烯-1-基12-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十一烷酸酯、(17Z)-N,N-二甲基二十九碳-17-烯-10-胺、N1-(2-(4-(2-(二((Z)-十二碳-6-烯-1-基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2,N2-三(十二烷基)乙烷-1,2,-二胺、乙基(9Z)-17-(二甲基胺基)二十六碳-9-烯酸酯、(Z)-甲基7-(2-(二甲基胺基)-3-(十八碳-9-烯-1-基氧基)丙氧基)庚酸酯、(2Z)-十一碳-2-烯-1-基8-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}十七烷酸酯、(14Z)-N,N-二甲基二十九碳-14-烯-10-胺、乙基(7Z)-17-(二甲基胺基)二十三碳-7-烯酸酯、(Z)-N1-(2-(4-(2-(十二碳-6-烯-1-基(十二烷基)胺基)乙基)哌啡-N!^^-三(十二烷基)乙烷-1,2-二胺、(Z)-甲基5-(2-(二甲基胺基)-3-(十八碳-9-烯-1-基氧基)丙氧基)戊酸酯、(2-己基環丙基)甲基10-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}十九烷酸酯、(15Z)-N,N-二甲基二十七碳-15-烯-10-胺、乙基(7Z)-17-(二甲基胺基)二十四碳-7-烯酸酯、(Z)-甲基4-(2-(二甲基胺基)-3-(十八碳-9-烯-1-基氧基)丙氧基)丁酸酯、(2Z)-壬-2-烯-1-基10-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}十九烷酸酯、(20Z)-N,N-二甲基二十七碳-20-烯-10-胺、N1-(2-(4-(2-(二辛基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1,N2^V2-三(十二烷基)乙烷-1,2-二胺、甲基6-(2-(二甲基胺基)-3-((8-(2-辛基環丙基)辛基)氧基)丙氧基)己酸酯、乙基6-[2-(9-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}十八烷基)環丙基]己酸酯、乙基(7Z)-17-(二甲基胺基)二十五碳-7-烯酸酯、1-[(11Z,14Z)-1-壬基二十碳-11,14-二烯-1-基]吡咯啶、乙基(7Z)-17-(二甲基胺基)二十六碳-7-烯酸酯、(20Z,23Z)-N-乙基-N-甲基二十九碳-20,23-二烯-10-胺、N,N-二甲基二十七烷-10-胺、甲基6-{2-[11-(二甲基胺基)二十烷基]環丙基}己酸酯、甲基6-[2-(11-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十烷基)環丙基]己酸酯、(2-辛基環丙基)甲基6-(3-(癸氧基)-2-(二甲基胺基)

丙氧基)己酸酯、甲基8-{2-[9-(二甲基胺基)十八烷基]環丙基}辛酸酯、甲基8-[2-(9-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}十八烷基)環丙基]辛酸酯、甲基7-(2-(8-(2-(二甲基胺基)-3-(辛氧基)丙氧基)辛基)環丙基)庚酸酯、十七烷-9-基8-((2-羥基乙基)(十四烷基)胺基)辛酸酯、2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)-1-(4-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙-1-酮、(2S)-1-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]十一烷-2-胺、(17Z,20Z)-N,N-二甲基二十六碳-17,20-二烯-9-胺、(18Z)-二十七碳-18-烯-10-基4-(二甲基胺基)丁酸酯、(2S)-1-({6-[3B))-膽固醇-5-烯-3-基氧基]己基}氧基)-N,N-二甲基-3-[(9Z)-十八碳-9-烯-1-基氧基]丙-2-胺、甲基10-{2-[7-(二甲基胺基)十六烷基]環丙基}癸酸酯、甲基10-[2-(7-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}十六烷基)環丙基]癸酸酯、(2S)-N,N-二甲基-1-({8-[(1R,2R)-2-{[(1S,2S)-2-戊基環丙基]甲基}環丙基]辛基}氧基)十三烷-2-胺、(2-辛基環丙基)甲基6-(2-(二甲基胺基)-3-(壬氧基)丙氧基)己酸酯、(19Z,22Z)-N,N-二甲基二十八碳-19,22-二烯-7-胺、4-((N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)氧基)戊-2-基二壬基甘胺酸酯、3-羥基丁-2-基N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基、二(十七烷-9-基)8,8'-(26,28-二甲基-11,24,30,43-四側氧基-10,25,29,44-四氧雜-19,35-二氮雜五十三烷-19,35-二基)二辛酸酯、二(十七烷-9-基)8,8'-(26,27-二甲基-11,24,29,42-四側氧基-10,25,28,43-四氧雜-19,34-二氮雜五十二烷-19,34-二基)二辛酸酯、二(十七烷-9-基)8,8'-(11,24,29,42-四側氧基-10,25,28,43-四氧雜-19,34-二氮雜五十二烷-19,34-二基)二辛酸酯、二(十七烷-9-基)8,8'-((哌啡-1,4-二基雙(5-側氧基戊烷-5,1-二基))雙((8-(壬氧基)-8-側氧基辛基)氮二基))二辛酸酯、二(十七烷-9-基)15,18-二甲基-9,24-雙(8-(壬氧基)-8-側氧基辛基)-

14,19-二側氧基-9,15,18,24-四氮雜三十二烷二酸酯、二(十七烷-9-基)15,19-二甲基-9,25-雙(8-(壬氧基)-8-側氧基辛基)-14,20-二側氧基-9,15,19,25-四氮雜三十三烷二酸酯、二(十七烷-9-基)15,18-二乙基-9,24-雙(8-(壬氧基)-8-側氧基辛基)-14,19-二側氧基-9,15,18,24-四氮雜三十二烷二酸酯、N,N-二甲基-3-{[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]甲基}十二烷-1-胺、甲基8-[2-(11-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}十八烷基)環丙基]辛酸酯、甲基8-{2-[11-(二甲基胺基)十七烷基]環丙基}辛酸酯(化合物18)、十七烷-9-基8-((2-羥基乙基)(8-(壬氧基)-8-側氧基辛基)胺基)辛酸酯、(2-辛基環丙基)甲基6-(2-(二甲基胺基)-3-(庚氧基)丙氧基)己酸酯、(17Z)-N,N-二甲基二十六碳-17-烯-9-胺、N1-(2-(4-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)-N1^V2,N2-三己基乙烷-1,2-二胺、N,N-二甲基-2-{[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]甲基}十一烷-1-胺、甲基8-{2-[11-(二甲基胺基)十八烷基]環丙基}辛酸酯、(2-辛基環丙基)甲基6-(2-(二甲基胺基)-3-(己氧基)丙氧基)己酸酯、(18Z)-N,N-二甲基二十七碳-18-烯-10-胺、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)乙基十四烷酸酯、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)乙基壬酸酯、十四烷基N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺酸酯、壬基N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺酸酯、4-(2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)乙醯胺基)丁基戊酸酯、1,1'-(哌啡-1,4-二基)雙(5-(二癸基胺基)戊-1-酮、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-N-十四烷基乙醯胺、N-癸基-2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)、N1-(3-(3-(二壬基胺基)丙氧基)丙基)-N1,N2,N2-三壬基乙烷-1,2-二胺、N1-(2-(二壬基胺基)乙基)-N\N8,N8-三壬基辛烷-1,8-二胺、甲基8-[2-(11-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}十九烷基)環丙基]辛酸酯、甲基8-{2-[11-

(二甲基胺基)十九烷基]環丙基}辛酸酯、(Z)-十一碳-2-烯-1-基6-(3-(癸氧基)-2-(二甲基胺基)丙氧基)己酸酯、(2R,12Z,15Z)-N,N-二甲基-1-(十一烷氧基)二十一碳-12,15-二烯-2-胺、(21Z,24Z)-N,N-二甲基三十碳-21,24-二烯-9-胺、2-(二壬基胺基)-N-(4-(2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-N-甲基乙醯胺基)丁基)-N-甲基乙醯胺、7,10-二甲基-13,16-二壬基-6,11-二側氧基-4-十四烷基-4,7,10,13,16-五氮雜二十五烷基癸酸酯、2-(二壬基胺基)-N-(2-(2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-N-乙基乙醯胺基)乙基)-N-乙基乙醯胺、2-(二壬基胺基)-N-(3-(2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-N-甲基乙醯胺基)丙基)-N-甲基乙醯胺、2-((2-(二((Z)-壬-3-烯-1-基)胺基)乙基)((Z)-壬-3-烯-1-基)胺基)-N-(2-(2-(二壬基胺基)-N-甲基乙醯胺基)乙基)-N-甲基乙醯胺、2-(二壬基胺基)-N-(2-(2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)乙醯胺基)乙基)乙醯胺、戊基8,11-二甲基-5,14,17-三壬基-7,12-二側氧基-5,8,11,14,17-五氮雜二十六烷酸酯2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-N-甲基-N-(2-(甲基胺基(andno))乙基)乙醯胺基、2-(二壬基胺基)-N-(2-(2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)-N-甲基乙醯胺基)乙基)-N-甲基乙醯胺2-(二壬基胺基)-N-甲基-N-(2-(甲基胺基)乙基)乙醯胺、2-((N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)氧基)乙基二壬基甘胺酸酯2-羥基乙基二壬基甘胺酸酯、甲基8-[2-(11-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十烷基)環丙基]辛酸酯、甲基8-{2-[11-(二甲基胺基)二十烷基]環丙基}辛酸酯、(Z)-十一碳-2-烯-1-基6-(2-(二甲基胺基)-3-(壬氧基)丙氧基)己酸酯、(2R,12Z,15Z)-1-(十六烷氧基)-N,N-二甲基二十一碳-12,15-二烯-2-胺、(22Z,25Z)-N,N-二甲基三十一碳-22,25-二烯-10-胺、1,1-(哌啡-1,4-二基)雙(4-(二癸基胺基)丁-1-酮)三級丁基4-(二癸基胺基丁酸酯、庚基5-(4-(N-

(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌呾-1-基)-5-側氧基戊酸酯5-(庚氧基)-5-側氧基戊酸、庚基5-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌呾-1-基)-5-側氧基戊酸酯5-(庚氧基)-5-側氧基戊酸、(Z)-4-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌呾-1-基)-2-側氧基乙基)(十四烷基)胺基)丁-2-烯-1-基壬酸酯(Z)-4-羥基丁-2-烯-1-基壬酸酯、(Z)-3-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌呾-1-基)-2-側氧基乙基)(十四碳-9-烯-1-基)胺基)丙基癸酸酯(Z)-十四碳-9-烯-1-基甲磺酸酯、甲基8-[2-(9-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}十五烷基)環丙基]辛酸酯、甲基8-{2-[9-(二甲基胺基)十五烷基]環丙基}辛酸酯、(Z)-十一碳-2-烯-1-基6-(2-(二甲基胺基)-3-(庚氧基)丙氧基)己酸酯、(2R,12Z,15Z)-1-(己氧基)-N,N-二甲基二十一碳-12,15-二烯-2-胺、(16Z,19Z)-N,N-二甲基二十五碳-16,19-二烯-6-胺、甲基8-((2-(4-(N-(2-(二((Z)-壬-3-烯-1-基)胺基)乙基)-N-((Z)-壬-3-烯-1-基)甘胺醯基)哌呾-1-基)-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)辛酸酯三級丁基4-(壬基甘胺醯基)哌呾-1-甲酸酯、3-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌呾-1-基)-2-側氧基乙基)(十四烷基)胺基)丙基(Z)-癸-3-烯酸酯(Z)-癸-3-烯-1-醇、2-((2-(二((Z)-壬-3-烯-1-基)胺基)乙基)((Z)-壬-3-烯-1-基)胺基)-1-(4-(二壬基甘胺醯基)哌呾-1-基)乙-1-酮(Z)-1-溴壬-4-烯、3-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌呾-側氧基乙基)(十二烷基)胺基)丙基辛酸酯三級丁基十二烷基甘胺酸酯、S-戊基4-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌呾-1-基)-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)硫代丁酸酯、3-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-^基)乙基)(壬基)胺基)丙基3-甲基己酸酯三級丁基4-(2-((3-((3-甲基己醯基)氧基)丙基)(壬基)胺基)乙基)哌啶-1-、3-((2-(1-(N-

(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(壬基)胺基)-2-甲基丙基己酸酯、3-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌呫-側氧基乙基)(壬基)胺基)丙基3-甲基己酸酯、3-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌呫-側氧基乙基)(壬基)胺基)-2-甲基丙基己酸酯、甲基8-[2-(9-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}十六烷基)環丙基]辛酸酯、甲基8-{2-[9-(二甲基胺基)十六烷基]環丙基}辛酸酯、(Z)-十一碳-2-烯-1-基6-(2-(二甲基胺基)-3-(己氧基)丙氧基)己酸酯、(2R,12Z,15Z)-1-(癸氧基)-N,N-二甲基二十一碳-12,15-二烯-2-胺、(17Z,20Z)-N,N-二甲基二十六碳-17,20-二烯-7-胺、2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)乙基1-(二壬基甘胺醯基)哌啶-4-甲酸酯、1-(2-(二壬基胺基)乙基)4-(2-((2-(二壬基胺基)乙基)(壬基)胺基)乙基)環己烷-1,4-二甲酸酯2-(二壬基胺基)乙-1-醇、甲基12-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)吡咯啶-3-基)乙基)(十四烷基)胺基)十二烷酸酯三級丁基3-(2-((12-甲氧基-12-側氧基十二烷基)(十四烷基)胺基)乙基)吡咯啶-1-甲酸酯、3-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)吡咯啶-3-基)乙基)(十四烷基)胺基)丙基癸酸酯三級丁基3-(2-((3-(癸醯氧基)丙基)(十四烷基)胺基)乙基)吡咯啶-1-甲酸酯、"庚基6-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)吡咯啶-3-基)乙基)(十四烷基)胺基)己酸酯三級丁基3-(2-((6-(庚氧基)-6-側氧基己基)(十四烷基)胺基)乙基)吡咯啶-1-甲酸酯"、戊基8-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)吡咯啶-3-基)乙基)(十四烷基)胺基)辛酸酯/er/-丁基3-(2-(十四烷基胺基)乙基)吡咯啶-1-甲酸酯、甲基12-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-3-基)乙基)(十四烷基)胺基)十二烷酸酯-丁基3-(2-((12-甲氧基-12-側氧基十二烷基)(十四烷基)胺基)乙

基)哌啶-1-甲酸酯、3-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-3-基)乙基)(十四烷基)胺基)丙基癸酸酯、庚基6-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-3-基)乙基)(十四烷基)胺基)己酸酯、戊基8-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-3-基)乙基)(十四烷基)胺基)辛酸酯、戊基6-((2-(4-(2-((2-(雙十二烷基胺基)乙基)(十二烷基)胺基)乙基)哌啡-1-基)乙基)(十二烷基)胺基)己酸酯戊基6-溴己酸酯、甲基8-[2-(9-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}十七烷基)環丙基]辛酸酯、甲基8-{2-[9-(二甲基胺基)十七烷基]環丙基}辛酸酯、(2S,12Z,15Z)-N,N-二甲基-1-(辛氧基)二十一碳-12,15-二烯-2-胺、(2-辛基環丙基)甲基6-(2-(二甲基胺基)-3-(辛氧基)丙氧基)己酸酯、(18Z,21Z)-N,N-二甲基二十七碳-18,21-二烯-8-胺、反式-1-甲基-3,4-雙(((Z)-十六碳-9-烯醯氧基)甲基)吡咯啶、(Z)-壬-2-烯-1-基4-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啡-1-基)-2-側氧基乙基)(十四烷基)胺基)丁酸酯、反式-1-甲基-3,4-雙(((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯醯氧基)甲基)吡咯啶、甲基12-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啡-1-基)-2-側氧基乙基)(十四烷基)胺基)十二烷酸酯、乙基(7Z)-17-[2-(二甲基胺基)乙基]二十六碳-7-烯酸酯、反式-1-甲基-3,4-雙(((Z)-十八碳-9-烯醯氧基)甲基)吡咯啶、甲基6-(2-{]11-^2-(二甲基胺基)乙基]二十烷基}環丙基)己酸酯、甲基12-((2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基)(十四烷基)胺基)十二烷酸酯、甲基10-(2-V-^2-(二甲基胺基)乙基]十六烷基}環丙基)癸酸酯、甲基8-(2-{111-;2-(二甲基胺基)乙基]十七烷基}環丙基)辛酸酯、2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌啶-4-基)乙基二壬基甘胺酸酯三級丁基4-(2-((二壬基甘胺醯基)氧基)

乙基)哌啶-1-甲酸酯、甲基8-(2-{1L1-;2-(二甲基胺基)乙基]十八烷基}環丙基)辛酸酯、甲基8-(2-{111-"2-(二甲基胺基)乙基]十九烷基}環丙基)辛酸酯、1,-(哌咁-1,4-二基)雙(2-(二壬基胺基)乙-1-酮)、甲基8-[2-{]11-^2-(二甲基胺基)乙基]二十烷基}環丙基)辛酸酯、甲基8-(2-{9-[2-(二甲基胺基)乙基]十五烷基}環丙基)辛酸酯、甲基(7Z)-19-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十八碳-7-烯酸酯、甲基(7Z)-19-(二甲基胺基)二十八碳-7-烯酸酯、順式-1-甲基-3-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]-4-(辛氧基)吡咯啶、2-(雙十二烷基胺基)-1-(4-(N-(2-(雙十二烷基胺基)乙基)-N-十二烷基甘胺醯基)哌咁-1-基)乙-1-酮、(Z)-十一碳-2-烯-1-基6-(2-(二甲基胺基)-3-(辛氧基)丙氧基)己酸酯、(2SN,N-二甲基-1-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]癸-2-胺(化合物11)、(19Z,22Z)-N,N-二甲基二十八碳-19,22-二烯-9-胺、甲基8-(2-{9-[2-(二甲基胺基)乙基]十六烷基}環丙基)辛酸酯、5-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌咁-側氧基乙基)(壬基)胺基)戊基甲基碳酸酯、甲基8-(2-{9-[2-(二甲基胺基)乙基]十七烷基}環丙基)辛酸酯、甲基(7Z)-19-[2-(二甲基胺基)乙基]二十八碳-7-烯酸酯、(Z)-戊-2-烯-1-基4-((2-(4-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)哌咁-1-基)-2-側氧基乙基)(壬基)胺基)丁酸酯、甲基(11Z)-19-[2-(二甲基胺基)乙基]二十八碳-11-烯酸酯、甲基(9Z)-21-[2-(二甲基胺基)乙基]二十七碳-9-烯酸酯、甲基(9Z)-21-[2-(二甲基胺基)乙基]二十八碳-9-烯酸酯、甲基(9Z)-21-[2-(二甲基胺基)乙基]二十九碳-9-烯酸酯、2-(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)吡咯啶-3-基)乙基二壬基甘胺酸酯、甲基(9Z)-21-[2-(二甲基胺基)乙基]三十碳-9-烯酸酯、(1-(N-(2-(二壬基胺基)乙基)-N-壬基甘胺醯基)吡咯啶-3-基)甲基二壬基甘胺酸酯、甲基(9Z)-19-[2-(二

甲基胺基)乙基]二十五碳-9-烯酸酯、甲基(9Z)-19-[2-(二甲基胺基)乙基]二十六碳-9-烯酸酯、甲基6-(2-(8-(3-(癸氧基)-2-(二甲基胺基)丙氧基)辛基)環丙基)己酸酯、甲基(11Z)-19-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十八碳-11-烯酸酯、甲基(11Z)-19-(二甲基胺基)二十八碳-11-烯酸酯、(2S)-N,N-二甲基-1-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]十二烷-2-胺、(14Z,17Z)-N,N-二甲基二十三碳-14,17-二烯-4-胺、甲基二((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯基)胺、甲基(9Z)-19-{[4-(二甲基胺基)丁醯基]氧基}二十八碳-9-烯酸酯、甲基(9Z)-19-(二甲基胺基)二十八碳-9-烯酸酯、(Z)-甲基17-(2-(二甲基胺基)-3-(辛氧基)丙氧基)十七碳-8-烯酸酯、(3R,4R)-3,4-雙((Z)-十六碳-9-烯基氧基)-1-甲基吡咯啶、(2S)-N,N-二甲基-1-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]十一烷-2-胺、(20Z,23Z)-二十九碳-20,23-二烯-10-基4-(二甲基胺基)丁酸酯、(20Z,23Z)-N,N-二甲基二十九碳-20,23-二烯-10-胺、3-((6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基氧基)-N,N-二甲基丙-1-胺、3-((6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基氧基)-N,N-二甲基丙-1-胺、(6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基4-(二甲基胺基)丁酸酯)、(6Z,16Z)-12-((Z)-癸-4-烯基)二十二碳-6,16-二烯-11-基5-(二甲基胺基)戊酸酯、(6Z,16Z)-12-((Z)-癸-4-烯基)二十二碳-6,16-二烯-11-基5-(二甲基胺基)戊酸酯、(6Z,16Z)-12-((Z)-癸-4-烯基)二十二碳-6,16-二烯-11-基5-(二甲基胺基)戊酸酯、L-精胺酸-α-(2,3-二月桂氧基)丙醯胺、L-離胺酸-α-(2,3-二月桂氧基)丙醯胺、2,3-二油氧基丙胺、2,3-二硬脂氧基丙胺、2,3-二月桂氧基丙胺、二亞油基甲基4-(二甲基胺基)丙醚)、二亞油基甲基4-(二甲基胺基)丁醚)及2,2-二亞油基-4-(2-二甲基胺基乙基)-[1,3]-二氧雜戊環。

【0706】在一些實施例中，至少一種非陽離子脂質包含至少一種磷脂、至少一種融合脂質、至少一種陰離子脂質、至少一種輔助脂質、至少一種中性脂質或其任何組合。在一些實施例中，LNP可基本上不含至少一種非陽離子脂質。在一些實施例中，LNP含有之至少一種非陽離子脂質之量可為零。

【0707】在一些實施例中，至少一種非陽離子脂質可選自但不限於以下中之至少一者：1,2-二-O-十八烯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(18:0二醚PC)、但每個尾巴(pertail)具有3個不飽和雙鍵之DSPC (18:3 PC)、醯基肌肽(AC)、1-十六烷基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(C16 Lyso PC)、N-油醯基-SPM (C18:1)、N-二十四烷基SPM (C24:0)、N-神經醯基C (nervacyl C) (C24:1)、胺甲醯基]膽固醇(Cet-P)、膽固醇半丁二酸酯(CHEMS)(Chol)、膽固醇半十二烷二甲酸(Chol-C12)、12-膽固醇氧基羰胺基十二烷酸(Chol-C13N)膽固醇半草酸酯(Chol-C2)、膽固醇半丙二酸酯(Chol-C3)、N-(膽固醇基-氧基羰基)甘胺酸(Chol-C3N)、膽固醇半戊二酸酯(Chol-C5)、膽固醇半己二酸酯(Chol-C6)、膽固醇半庚二酸酯(Chol-C7)、膽固醇半辛二酸酯(Chol-C8)、心磷脂(Cardiolipid；CL)、1,2-雙(二十三碳-10,12-二炔醯基)-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DC8-9PC)、二鯨蠟基磷酸酯(DCP)、雙十六烷基磷酸酯(DCP1)、1,2-二軟脂醯基甘油-3-半丁二酸酯(DGSucc)、短鏈雙-正十七烷醯基磷脂醯膽鹼(DHPC)、雙十六烷醯基磷酸乙醇胺(DHPE)、1,2-二亞油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DLPC)、1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-PE (DLPE)、二肉豆蔻醯基甘油半丁二酸酯(DMGS)、二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼(DMPC)、二肉豆蔻醯基磷酸乙醇胺(DMPE)、二肉豆蔻醯基磷脂醯甘油(DMPG)、二油烯基氧基苯甲醇

(DOBA)、1,2-二油醯基甘油基-3-半丁二酸酯(DOGHEMS)、N-[2-(2-{2-[2-(2,3-雙-十八碳-9-烯基氧基-丙氧基)-乙氧基]-乙氧基}-乙氧基)-乙基]-3-(3,4,5-三羥基-6-羥甲基-四氫-哌喃-2-基氫硫基)-丙醯胺(DOGP4αMan)、二油醯基磷脂醯膽鹼(DOPC)、二油醯基磷脂醯乙醇胺(DOPE)、二油醯基-磷脂醯乙醇胺4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)-環己烷-1-甲酸鹽(DOPE-mal)、二油醯基磷脂醯甘油(DOPG)、1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-(磷酸基-L-絲胺酸) (DOPS)、細胞融合磷脂(DPhPE)、二軟脂醯基磷脂醯膽鹼(DPPC)、二軟脂醯基磷脂醯乙醇胺(DPPE)、二軟脂醯基磷脂醯甘油(DPPG)、二軟脂醯基磷脂醯絲胺酸(DPPS)、二硬脂醯基磷脂醯膽鹼(DSPC)、二硬脂醯基-磷脂醯基-乙醇胺(DSPE)、二硬脂醯基磷酸乙醇胺咪唑(DSPEI)、1,2-雙十一烷醯基-sn-甘油基-磷酸膽鹼(DUPC)、卵磷脂醯膽鹼(EPC)、N-組胺醯基膽固醇胺基甲酸酯(HCChol)、組織胺二硬脂醯基甘油(HDSG)、N-組胺醯基膽固醇半丁二酸酯(HistChol)、1,2-二軟脂醯甘油-半丁二酸酯-Nα-組胺醯基-半丁二酸酯(HistSuccDG)、N-(5'-羥基-3'-氧基戊基)-10-12-二十五烷二炔醯胺(h-Pegi-PCDA)、2-[1-己氧基乙基]-2-去乙烯基焦脫鎂葉綠酸-a(HPPH)、氫化大豆磷脂醯膽鹼(HSPC)、1,2-二軟脂醯甘油-Oα-組胺醯基-Nα-半丁二酸酯(IsohistsuccDG)、甘露糖化(mannosialized)二軟脂醯基磷脂醯乙醇胺(ManDOG)、1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-[4-(p-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-甲醯胺](MCC-PE)、1,2-二植烷醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(ME 16.0 PE)、1-肉豆蔻醯基-2-羥基-sn-甘油基-磷酸膽鹼(MHPC)、硫醇-反應性順丁烯二醯亞胺頭基脂質，例如1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-[4-(p-馬來醯亞胺基苯基)丁醯胺(MPB-PE)、神經酸(NA)、膽酸鈉(NaChol)、1,2-

二油醯基-sn-甘油基-3-[磷酸乙醇胺-N-十二烷醯基(NC12-DOPE)，由WO2008042973A2中之合成實例定義(ND98)、「調配物1之N-戊二醯基磷脂醯乙醇胺」(NG-PE)、N-羥基磺基丁二醯亞胺(NHS-'x')、「調配物1涵蓋之N-(co)-二羧酸衍生化之磷脂醯乙醇胺」(NωPE-'x')、油酸(OA)、1-油醯基-2-膽固醇半丁二醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(OChemsPC)、磷脂酸(PA)、磷脂醯乙醇胺脂質(PE)、與聚乙二醇(PEG)結合之PE脂質。PEG-PE之一個實例可為聚乙二醇-二硬脂醯基磷脂醯乙醇胺脂質(PEG-PE)、磷脂醯甘油(PG)、部分氫化的大豆磷脂醯膽鹼(PHSPC)、磷脂酸肌醇脂質(PI)、磷脂醯肌醇-4-磷酸酯(PIP)、軟脂醯油醯基磷脂醯膽鹼(POPC)、磷脂醯乙醇胺(POPE)、軟脂醯基油醯基磷脂醯甘油(POPG)、磷脂醯絲胺酸(PS)、麗絲胺玫瑰紅B-磷脂醯乙醇胺脂質(Rh-PE)、純化的大豆源性磷脂混合物(SIOO)、磷脂醯膽鹼(SM)、18-1-反式PE、1-硬脂醯基-2-油醯基-磷脂醯乙醇胺(SOPE)、大豆磷脂醯膽鹼(SPC)、鞘磷脂(SPM)、α.α'-海藻糖-6,6'-二山嵛酸酯(TDB)、1,2-二反油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(transDOPE)、((23S,5R)-3-(雙(十六烷氧基)甲氧基)-5-(5-甲基-2,4-二側氧基-3,4-二氫嘧啶-1(2H)-基)四氫呋喃-2-基)甲基甲基磷酸酯、1,2-二花生四烯醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼、1,2-二花生四烯醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-雙二十二碳六烯醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼、1,2-雙二十二碳六烯醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亞麻醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼、1,2-二亞麻醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亞油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二油基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、16-O-單甲基PE、16-O-二甲基PE及二油基磷脂醯乙醇胺。

【0708】在一些實施例中，LNP包含可離子化脂質或脂質樣材料。作為非限制性實例，可離子化脂質可為C12-200、CKK-E12、5A2-SC8、BAMEA-016B或7C1。其他可離子化脂質為此項技術中已知的且適用於本文中。

【0709】在一些實施例中，LNP包含磷脂。作為非限制性實例，磷脂(輔助)可為DOPE、DSPC、DOTAP或DOTMA。

【0710】在一些實施例中，LNP包含PEG衍生物。作為非限制性實例，PEG衍生物可為脂質錨定的，諸如PEG為C14-PEG2000、C14-PEG1000、C14-PEG3000、C14-PEG5000、C12-PEG1000、C12-PEG2000、C12-PEG3000、C12-PEG5000、C16-PEG1000、C16-PEG2000、C16-PEG3000、C16-PEG5000、C18-PEG1000、C18-PEG2000、C18-PEG3000或C18-PEG5000。

【0711】在一些實施例中，該至少一種固醇包含至少一種膽固醇或膽固醇衍生物。在一些實施例中，LNP可基本上不含至少一種固醇。在一些實施例中，LNP含有之至少一種固醇之量可為零。

【0712】在一些實施例中，該至少一種粒子活性調節藥劑包含：至少一種降低粒子之聚集的組分、至少一種降低自個體中之循環清除LNP的組分、至少一種增加LNP穿越黏液層之能力的組分、至少一種降低個體對於LNP投與之免疫反應的組分、至少一種調節LNP之膜流動性的組分、至少一種有助於LNP之穩定性的組分或其任何組合。在一些實施例中，LNP可基本上不含該至少一種粒子活性調節藥劑。在一些實施例中，LNP含有之該至少一種粒子活性調節藥劑之量可為零。

【0713】在一些實施例中，粒子活性調節藥劑可由聚合物構成。在

一些實施例中，包含粒子活性調節藥劑之聚合物可由以下構成：至少一種聚乙二醇(PEG)、至少一種聚丙二醇(PPG)、聚(2-噁唑啉) (POZ)、至少一種聚醯胺(ATTA)、至少一種陽離子聚合物或其任何組合。

【0714】 在一些實施例中，聚合物部分(例如PEG)之平均分子量可在500至20,000道爾頓之間。在一些實施例中，聚合物之分子量可為約500至20,000、1,000至20,000、1,500至20,000、2,000至20,000、2,500至20,000、3,000至20,000、3,500至20,000、4,000至20,000、4,500至20,000、5,000至20,000、5,500至20,000、6,000至20,000、6,500至20,000、7,000至20,000、7,500至20,000、8,000至20,000、8,500至20,000、9,000至20,000、9,500至20,000、10,000至20,000、10,500至20,000、11,000至20,000、11,500至20,000、12,000至20,000、12,500至20,000、13,000至20,000、13,500至20,000、14,000至20,000、14,500至20,000、15,000至20,000、15,500至20,000、16,000至20,000、16,500至20,000、17,000至20,000、17,500至20,000、18,000至20,000、18,500至20,000、19,000至20,000、19,500至20,000、500至19,500、1,000至19,500、1,500至19,500、2,000至19,500、2,500至19,500、3,000至19,500、3,500至19,500、4,000至19,500、4,500至19,500、5,000至19,500、5,500至19,500、6,000至19,500、6,500至19,500、7,000至19,500、7,500至19,500、8,000至19,500、8,500至19,500、9,000至19,500、9,500至19,500、10,000至19,500、10,500至19,500、11,000至19,500、11,500至19,500、12,000至19,500、12,500至19,500、13,000至19,500、13,500至19,500、14,000至19,500、14,500至19,500、15,000至19,500、15,500至19,500、16,000至19,500、16,500至19,500、17,000至

19,500、17,500至19,500、18,000至19,500、18,500至19,500、19,000至19,500、1,500至19,000、2,000至19,000、2,500至19,000、3,000至19,000、3,500至19,000、4,000至19,000、4,500至19,000、5,000至19,000、5,500至19,000、6,000至19,000、6,500至19,000、7,000至19,000、7,500至19,000、8,000至19,000、8,500至19,000、9,000至19,000、9,500至19,000、10,000至19,000、10,500至19,000、11,000至19,000、11,500至19,000、12,000至19,000、12,500至19,000、13,000至19,000、13,500至19,000、14,000至19,000、14,500至19,000、15,000至19,000、15,500至19,000、16,000至19,000、16,500至19,000、17,000至19,000、17,500至19,000、18,000至19,000、18,500至19,000、1,500至18,500、2,000至18,500、2,500至18,500、3,000至18,500、3,500至18,500、4,000至18,500、4,500至18,500、5,000至18,500、5,500至18,500、6,000至18,500、6,500至18,500、7,000至18,500、7,500至18,500、8,000至18,500、8,500至18,500、9,000至18,500、9,500至18,500、10,000至18,500、10,500至18,500、11,000至18,500、11,500至18,500、12,000至18,500、12,500至18,500、13,000至18,500、13,500至18,500、14,000至18,500、14,500至18,500、15,000至18,500、15,500至18,500、16,000至18,500、16,500至18,500、17,000至18,500、17,500至18,500、18,000至18,500、1,500至18,000、2,000至18,000、2,500至18,000、3,000至18,000、3,500至18,000、4,000至18,000、4,500至18,000、5,000至18,000、5,500至18,000、6,000至18,000、6,500至18,000、7,000至18,000、7,500至18,000、8,000至18,000、8,500至18,000、9,000至18,000、9,500至18,000、10,000至18,000、10,500至

18,000、11,000至18,000、11,500至18,000、12,000至18,000、12,500至18,000、13,000至18,000、13,500至18,000、14,000至18,000、14,500至18,000、15,000至18,000、15,500至18,000、16,000至18,000、16,500至18,000、17,000至18,000、17,500至18,000、1,500至17,500、2,000至17,500、2,500至17,500、3,000至17,500、3,500至17,500、4,000至17,500、4,500至17,500、5,000至17,500、5,500至17,500、6,000至17,500、6,500至17,500、7,000至17,500、7,500至17,500、8,000至17,500、8,500至17,500、9,000至17,500、9,500至17,500、10,000至17,500、10,500至17,500、11,000至17,500、11,500至17,500、12,000至17,500、12,500至17,500、13,000至17,500、13,500至17,500、14,000至17,500、14,500至17,500、15,000至17,500、15,500至17,500、16,000至17,500、16,500至17,500、17,000至17,500、1,500至17,000、2,000至17,000、2,500至17,000、3,000至17,000、3,500至17,000、4,000至17,000、4,500至17,000、5,000至17,000、5,500至17,000、6,000至17,000、6,500至17,000、7,000至17,000、7,500至17,000、8,000至17,000、8,500至17,000、9,000至17,000、9,500至17,000、10,000至17,000、10,500至17,000、11,000至17,000、11,500至17,000、12,000至17,000、12,500至17,000、13,000至17,000、13,500至17,000、14,000至17,000、14,500至17,000、15,000至17,000、15,500至17,000、16,000至17,000、16,500至17,000、1,500至16,500、2,000至16,500、2,500至16,500、3,000至16,500、3,500至16,500、4,000至16,500、4,500至16,500、5,000至16,500、5,500至16,500、6,000至16,500、6,500至16,500、7,000至16,500、7,500至16,500、8,000至16,500、8,500至

16,500、9,000至16,500、9,500至16,500、10,000至16,500、10,500至16,500、11,000至16,500、11,500至16,500、12,000至16,500、12,500至16,500、13,000至16,500、13,500至16,500、14,000至16,500、14,500至16,500、15,000至16,500、15,500至16,500、16,000至16,500、1,500至16,000、2,000至16,000、2,500至16,000、3,000至16,000、3,500至16,000、4,000至16,000、4,500至16,000、5,000至16,000、5,500至16,000、6,000至16,000、6,500至16,000、7,000至16,000、7,500至16,000、8,000至16,000、8,500至16,000、9,000至16,000、9,500至16,000、10,000至16,000、10,500至16,000、11,000至16,000、11,500至16,000、12,000至16,000、12,500至16,000、13,000至16,000、13,500至16,000、14,000至16,000、14,500至16,000、15,000至16,000、15,500至16,000、1,500至15,500、2,000至15,500、2,500至15,500、3,000至15,500、3,500至15,500、4,000至15,500、4,500至15,500、5,000至15,500、5,500至15,500、6,000至15,500、6,500至15,500、7,000至15,500、7,500至15,500、8,000至15,500、8,500至15,500、9,000至15,500、9,500至15,500、10,000至15,500、10,500至15,500、11,000至15,500、11,500至15,500、12,000至15,500、12,500至15,500、13,000至15,500、13,500至15,500、14,000至15,500、14,500至15,500、15,000至15,500、1,500至15,000、2,000至15,000、2,500至15,000、3,000至15,000、3,500至15,000、4,000至15,000、4,500至15,000、5,000至15,000、5,500至15,000、6,000至15,000、6,500至15,000、7,000至15,000、7,500至15,000、8,000至15,000、8,500至15,000、9,000至15,000、9,500至15,000、10,000至15,000、10,500至15,000、11,000至

15,000、11,500至15,000、12,000至15,000、12,500至15,000、13,000至15,000、13,500至15,000、14,000至15,000、14,500至15,000、1,500至14,500、2,000至14,500、2,500至14,500、3,000至14,500、3,500至14,500、4,000至14,500、4,500至14,500、5,000至14,500、5,500至14,500、6,000至14,500、6,500至14,500、7,000至14,500、7,500至14,500、8,000至14,500、8,500至14,500、9,000至14,500、9,500至14,500、10,000至14,500、10,500至14,500、11,000至14,500、11,500至14,500、12,000至14,500、12,500至14,500、13,000至14,500、13,500至14,500、14,000至14,500、1,500至14,000、2,000至14,000、2,500至14,000、3,000至14,000、3,500至14,000、4,000至14,000、4,500至14,000、5,000至14,000、5,500至14,000、6,000至14,000、6,500至14,000、7,000至14,000、7,500至14,000、8,000至14,000、8,500至14,000、9,000至14,000、9,500至14,000、10,000至14,000、10,500至14,000、11,000至14,000、11,500至14,000、12,000至14,000、12,500至14,000、13,000至14,000、13,500至14,000、1,500至13,500、2,000至13,500、2,500至13,500、3,000至13,500、3,500至13,500、4,000至13,500、4,500至13,500、5,000至13,500、5,500至13,500、6,000至13,500、6,500至13,500、7,000至13,500、7,500至13,500、8,000至13,500、8,500至13,500、9,000至13,500、9,500至13,500、10,000至13,500、10,500至13,500、11,000至13,500、11,500至13,500、12,000至13,500、12,500至13,500、13,000至13,500、1,500至13,000、2,000至13,000、2,500至13,000、3,000至13,000、3,500至13,000、4,000至13,000、4,500至13,000、5,000至13,000、5,500至13,000、6,000至

13,000、6,500至13,000、7,000至13,000、7,500至13,000、8,000至13,000、8,500至13,000、9,000至13,000、9,500至13,000、10,000至13,000、10,500至13,000、11,000至13,000、11,500至13,000、12,000至13,000、12,500至13,000、1,500至12,500、2,000至12,500、2,500至12,500、3,000至12,500、3,500至12,500、4,000至12,500、4,500至12,500、5,000至12,500、5,500至12,500、6,000至12,500、6,500至12,500、7,000至12,500、7,500至12,500、8,000至12,500、8,500至12,500、9,000至12,500、9,500至12,500、10,000至12,500、10,500至12,500、11,000至12,500、11,500至12,500、12,000至12,500、1,500至12,000、2,000至12,000、2,500至12,000、3,000至12,000、3,500至12,000、4,000至12,000、4,500至12,000、5,000至12,000、5,500至12,000、6,000至12,000、6,500至12,000、7,000至12,000、7,500至12,000、8,000至12,000、8,500至12,000、9,000至12,000、9,500至12,000、10,000至12,000、10,500至12,000、11,000至12,000、11,500至12,000、1,500至11,500、2,000至11,500、2,500至11,500、3,000至11,500、3,500至11,500、4,000至11,500、4,500至11,500、5,000至11,500、5,500至11,500、6,000至11,500、6,500至11,500、7,000至11,500、7,500至11,500、8,000至11,500、8,500至11,500、9,000至11,500、9,500至11,500、10,000至11,500、10,500至11,500、11,000至11,500、1,500至11,000、2,000至11,000、2,500至11,000、3,000至11,000、3,500至11,000、4,000至11,000、4,500至11,000、5,000至11,000、5,500至11,000、6,000至11,000、6,500至11,000、7,000至11,000、7,500至11,000、8,000至11,000、8,500至11,000、9,000至

11,000、9,500至11,000、10,000至11,000、10,500至11,000、1,500至10,500、2,000至10,500、2,500至10,500、3,000至10,500、3,500至10,500、4,000至10,500、4,500至10,500、5,000至10,500、5,500至10,500、6,000至10,500、6,500至10,500、7,000至10,500、7,500至10,500、8,000至10,500、8,500至10,500、9,000至10,500、9,500至10,500、10,000至10,500、1,500至10,000、2,000至10,000、2,500至10,000、3,000至10,000、3,500至10,000、4,000至10,000、4,500至10,000、5,000至10,000、5,500至10,000、6,000至10,000、6,500至10,000、7,000至10,000、7,500至10,000、8,000至10,000、8,500至10,000、9,000至10,000、9,500至10,000、1,500至9,500、2,000至9,500、2,500至9,500、3,000至9,500、3,500至9,500、4,000至9,500、4,500至9,500、5,000至9,500、5,500至9,500、6,000至9,500、6,500至9,500、7,000至9,500、7,500至9,500、8,000至9,500、8,500至9,500、9,000至9,500、1,500至9,000、2,000至9,000、2,500至9,000、3,000至9,000、3,500至9,000、4,000至9,000、4,500至9,000、5,000至9,000、5,500至9,000、6,000至9,000、6,500至9,000、7,000至9,000、7,500至9,000、8,000至9,000、8,500至9,000、1,500至8,500、2,000至8,500、2,500至8,500、3,000至8,500、3,500至8,500、4,000至8,500、4,500至8,500、5,000至8,500、5,500至8,500、6,000至8,500、6,500至8,500、7,000至8,500、7,500至8,500、8,000至8,500、1,500至8,000、2,000至8,000、2,500至8,000、3,000至8,000、3,500至8,000、4,000至8,000、4,500至8,000、5,000至8,000、5,500至8,000、6,000至8,000、6,500至8,000、7,000至8,000、7,500至8,000、1,500至7,500、2,000至7,500、

2,500至7,500、3,000至7,500、3,500至7,500、4,000至7,500、4,500至7,500、5,000至7,500、5,500至7,500、6,000至7,500、6,500至7,500、7,000至7,500、1,500至7,000、2,000至7,000、2,500至7,000、3,000至7,000、3,500至7,000、4,000至7,000、4,500至7,000、5,000至7,000、5,500至7,000、6,000至7,000、6,500至7,000、1,500至6,500、2,000至6,500、2,500至6,500、3,000至6,500、3,500至6,500、4,000至6,500、4,500至6,500、5,000至6,500、5,500至6,500、6,000至6,500、1,500至6,000、2,000至6,000、2,500至6,000、3,000至6,000、3,500至6,000、4,000至6,000、4,500至6,000、5,000至6,000、5,500至6,000、1,500至5,500、2,000至5,500、2,500至5,500、3,000至5,500、3,500至5,500、4,000至5,500、4,500至5,500、5,000至5,500、1,500至5,000、2,000至5,000、2,500至5,000、3,000至5,000、3,500至5,000、4,000至5,000、4,500至5,000、1,500至4,500、2,000至4,500、2,500至4,500、3,000至4,500、3,500至4,500、4,000至4,500、1,500至4,000、2,000至4,000、2,500至4,000、3,000至4,000、3,500至4,000、1,500至3,500、2,000至3,500、2,500至3,500、3,000至3,500、1,500至3,000、2,000至3,000、2,500至3,000、1,500至2,500、2,000至2,500及1,500至2,000道爾頓。

【0715】在一些實施例中，聚合物(例如PEG)與至少一種脂質結合。在一些實施例中，與聚合物結合之脂質由以下構成：至少一種中性脂質、至少一種磷脂、至少一種陰離子脂質、至少一種陽離子脂質、至少一種膽固醇、至少一種膽固醇衍生物或其任何組合。

【0716】在一些實施例中，與聚合物結合之脂質可選自但不限於以下中之至少一者：先前列舉之陽離子脂質、非陽離子脂質或固醇脂質。

【0717】在一些實施例中，該至少一種PEG-脂質結合物可選自但不限於以下中之至少一者：Siglec-1L-PEG-DSPE、(R)-2,3-雙(十八烷氧基)丙基-1-(甲氧基聚(乙二醇)2000)丙基胺基甲酸酯、PEG-S-DSG、PEG-S-DMG、PEG-PE、PEG-PAA、PEG-OH DSPE C18、PEG-DSPE、PEG-DSG、PEG-DPG、PEG-DOMG、PEG-DMPE Na、PEG-DMPE、PEG-DMG2000、PEG-DMG C14、PEG-DMG 2000、PEG-DMG、PEG-DMA、PEG-腦醯胺C16、PEG-C-DOMG、PEG-c-DMOG、PEG-c-DMA、PEG-cDMA、PEGA、PEG750-C-DMA、PEG400、PEG2k-DMG、PEG2k-C11、PEG2000-PE、PEG2000P、PEG2000-DSPE、PEG2000-DOMG、PEG2000-DMG、PEG2000-C-DMA、PEG2000、PEG200、PEG(2k)-DMG、PEG DSPE C18、PEG DMPE C14、PEG DLPE C12、PEG點擊DMG C14、PEG點擊C12、PEG點擊C10、N(羰基-甲氧基聚乙二醇-2000)-1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基3-磷酸乙醇胺、Myrj52、mPEG-PLA、MPEG-DSPE、mPEG3000-DMPE、MPEG-2000-DSPE、MPEG2000-DSPE、mPEG2000-DPPE、mPEG2000-DMPE、mPEG2000-DMG、mDPPE-PEG2000、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-PEG2000、HPEG-2K-LIPD、葉酸PEG-DSPE、DSPE-PEGMA 500、DSPE-PEGMA、DSPE-PEG6000、DSPE-PEG5000、DSPE-PEG2K-NAG、DSPE-PEG2k、DSPE-PEG2000順丁烯二醯亞胺、DSPE-PEG2000、DSPE-PEG、DSG-PEGMA、DSG-PEG5000、DPPE-PEG-2K、DPPE-PEG、DPPE-mPEG2000、DPPE-mPEG、DPG-PEGMA、DOPE-PEG2000、DMPE-PEGMA、DMPE-PEG2000、DMPE-Peg、DMPE-mPEG2000、DMG-PEGMA、DMG-PEG2000、DMG-PEG、二硬

脂醯基-甘油-聚乙二醇、CI8PEG750、CI8PEG5000、CI8PEG3000、CI8PEG2000、CI6PEG2000、CI4PEG2000、C18-PEG5000、C18PEG、C16PEG、C16 mPEG（聚乙二醇）2000腦醯胺、C14-PEG-DSPE200、C14-PEG2000、C14PEG2000、C14-PEG 2000、C14-PEG、C14PEG、14:0-PEG2KPE、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-PEG2000、(R)-2,3-雙(十八烷氧基)丙基-1-(甲氧基聚(乙二醇)2000)丙基胺基甲酸酯、(PEG)-C-DOMG、PEG-C-DMA及DSPE-PEG-X。

【0718】 在一些實施例中，LNP包含本發明之脂質、二硬脂醯基磷脂醯膽鹼(DSPC)、膽固醇及1,2-二肉豆蔻醯基-rac-甘油基-3-甲氧基聚乙二醇-2000 (DMG-PEG2000)。

【0719】 在一些實施例中，LNP包含本發明之脂質、二硬脂醯基磷脂醯膽鹼(DSPC)、膽固醇及1,2-二肉豆蔻醯基-rac-甘油基-3-甲氧基聚乙二醇-2000 (DMG-PEG2000)，其莫耳比分別為約48.5:10:40:1.5。

【0720】 在一些實施例中，LNP包含本發明之脂質、二硬脂醯基磷脂醯膽鹼(DSPC)、膽固醇及1,2-二肉豆蔻醯基-rac-甘油基-3-甲氧基聚乙二醇-2000 (DMG-PEG2000)，其莫耳比分別為約48.5:10:39:2.5。

【0721】 LNP組分之量及比率可視所需形式、結構、功能、貨物、目標或其任何組合而改變任何量。各組分之量在各種實施例中可以所指示組分佔所有脂質或脂質結合組分之總莫耳質量之百分比(mol%)形式表述。各組分之量在各種實施例中可以各組分基於莫耳質量之相對比率(莫耳比)形式表述。各組分之量在各種實施例中可以在製造之前用於調配LNP之各組分之重量(mg或當量)形式表述。各組分之量在各種實施例中可藉由此項技術中已知之任何其他方法表述。以組分量之一個表示(「單

位」)給定之任何調配物明確地意謂涵蓋以不同單位之組分量表述的任何調配物，其中彼等表示在轉化為相同單位時為有效等效的。在一些實施例中，「有效等效(effectively equivalent)」意謂兩個或更多個值在彼此之約10%內。

【0722】 在一些實施例中，LNP包含呈約0.1至100 mol%之量之至少一種陽離子脂質。在一些實施例中，LNP包含呈約20至60 mol%之量之至少一種陽離子脂質。在一些實施例中，LNP包含呈約50至85 mol%之量之至少一種陽離子脂質。在一些實施例中，LNP包含呈小於約20 mol%之量之至少一種陽離子脂質。在一些實施例中，LNP包含呈超過約60 mol%或約85 mol%之量之至少一種陽離子脂質。在一些實施例中，LNP包含呈約95 mol%或更小之量之至少一種陽離子脂質。在一些實施例中，LNP包含呈以下之量之陽離子脂質：小於或等於約95、90、85、80、75、70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10及5 mol%。在一些實施例中，LNP包含呈以下之量之至少一種陽離子脂質：超過或等於約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90及95 mol%。在一些實施例中，LNP包含呈以下之量之至少一種陽離子脂質：約20至30 mol%、20至35 mol%、20至40 mol%、20至45 mol%、20至50 mol%、20至55 mol%、20至60 mol%、20至65 mol%、20至70 mol%、20至75 mol%、20至80 mol%、20至85 mol%、20至90 mol%、25至35 mol%、25至40 mol%、25至45 mol%、25至50 mol%、25至55 mol%、25至60 mol%、25至65 mol%、25至70 mol%、25至75 mol%、25至80 mol%、25至85 mol%、25至90 mol%、30至40 mol%、30至45 mol%、30至50 mol%、30至55 mol%、30至60 mol%、30至65

mol%、30至70 mol%、30至75 mol%、30至80 mol%、30至85 mol%、30至90 mol%、35至40 mol%、35至45 mol%、35至50 mol%、35至55 mol%、35至60 mol%、35至65 mol%、35至70 mol%、35至75 mol%、35至80 mol%、35至85 mol%、35至90 mol%、40至45 mol%、40至50 mol%、40至55 mol%、40至60 mol%、40至65 mol%、40至70 mol%、40至75 mol%、40至80 mol%、40至85 mol%、40至90 mol%、45至55 mol%、45至60 mol%、45至65 mol%、45至70 mol%、45至75 mol%、45至80 mol%、45至85 mol%、45至90 mol%、50至60 mol%、50至65 mol%、50至70 mol%、50至75 mol%、50至80 mol%、50至85 mol%、50至90 mol%、55至65 mol%、55至70 mol%、55至75 mol%、55至80 mol%、55至85 mol%、55至90 mol%、60至70 mol%、60至75 mol%、60至80 mol%、60至85 mol%、60至90 mol%、65至75 mol%、65至80 mol%、65至85 mol%、65至90 mol%、70至80 mol%、70至85 mol%、70至90 mol%、75至85 mol%、75至90 mol%、80至90 mol%或85至95 mol%。

【0723】 在一些實施例中，LNP包含呈約0.1至100 mol%之量之至少一種非陽離子脂質。在一些實施例中，LNP包含呈約5至35 mol%之量之至少一種非陽離子脂質。在一些實施例中，LNP包含呈約5至25 mol%之量之至少一種非陽離子脂質。在一些實施例中，LNP包含呈小於約5 mol%之量之至少一種非陽離子脂質。在一些實施例中，LNP包含呈超過約25 mol%或約35 mol%之量之至少一種非陽離子脂質。在一些實施例中，LNP包含呈約95 mol%或更小之量之至少一種非陽離子脂質。在一些實施例中，LNP包含呈以下之量之至少一種非陽離子脂質：小於或等於約

95、90、85、80、75、70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10及5 mol%。在一些實施例中，LNP包含呈以下之量之至少一種非陽離子脂質：超過或等於約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90及95 mol%。在一些實施例中，LNP包含呈以下之量之至少一種非陽離子脂質：約5至15 mol%、5至25 mol%、5至35 mol%、5至45 mol%、5至55 mol%、10至20 mol%、10至30 mol%、10至40 mol%、10至50 mol%、15至25 mol%、15至35 mol%、15至45 mol%、20至30 mol%、20至40 mol%、20至50 mol%、25至35 mol%、25至45 mol%、30至40 mol%、30至50 mol%及35至45 mol%。

【0724】 在一些實施例中，LNP包含呈約0.1至100 mol%之量之至少一種固醇。在一些實施例中，LNP包含呈約20至45 mol%之量之至少一種固醇。在一些實施例中，LNP包含呈約25至55 mol%之量之至少一種固醇。在一些實施例中，LNP包含呈小於約20 mol%之量之至少一種固醇。在一些實施例中，LNP包含呈超過約45 mol%或約55 mol%之量之至少一種固醇。在一些實施例中，LNP包含呈約95 mol%或更小之量之至少一種固醇。在一些實施例中，LNP包含呈以下之量之至少一種固醇：小於或等於約95、90、85、80、75、70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10及5 mol%。在一些實施例中，LNP包含呈以下之量之至少一種固醇：超過或等於約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90及95 mol%。在一些實施例中，LNP包含呈以下之量之至少一種固醇：約10至20 mol%、10至30 mol%、10至40 mol%、10至50 mol%、10至60 mol%、15至25 mol%、15至35

mol%、15至45 mol%、15至55 mol%、15至65 mol%、20至30 mol%、20至40 mol%、20至50 mol%、20至60 mol%、25至35 mol%、25至45 mol%、25至55 mol%、25至65 mol%、30至40 mol%、30至50 mol%、30至60 mol%、35至45 mol%、35至55 mol%、35至65 mol%、40至50 mol%、40至60 mol%、45至55 mol%、45至65 mol%、50至60 mol%及55至65 mol%。

【0725】 在一些實施例中，LNP包含呈約0.1至100 mol%之量之至少一種粒子活性調節藥劑。在一些實施例中，LNP包含呈約0.5至15 mol%之量之至少一種粒子活性調節藥劑。在一些實施例中，LNP包含呈約15至40 mol%之量之至少一種粒子活性調節藥劑。在一些實施例中，LNP包含呈小於約0.1 mol%之量之至少一種粒子活性調節藥劑。在一些實施例中，LNP包含呈超過約15 mol%或約40 mol%之量之至少一種粒子活性調節藥劑。在一些實施例中，LNP包含呈約95 mol%或更小之量之至少一種粒子活性調節藥劑。在一些實施例中，LNP包含呈以下之量之至少一種粒子活性調節藥劑：小於或等於約95、90、85、80、75、70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10及5 mol%。在一些實施例中，LNP包含呈以下之量之至少一種粒子活性調節藥劑：超過或等於約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90及95 mol%。在一些實施例中，LNP包含呈以下之量之至少一種粒子活性調節藥劑：約0.1至1 mol%、0.1至2 mol%、0.1至3 mol%、0.1至4 mol%、0.1至5 mol%、0.1至6 mol%、0.1至7 mol%、0.1至8 mol%、0.1至9 mol%、0.1至10 mol%、0.1至15 mol%、0.1至20 mol%、0.1至25 mol%、1至2 mol%、1至3 mol%、1至4 mol%、1至5 mol%、1至6

mol%、1至7 mol%、1至8 mol%、1至9 mol%、1至10 mol%、1至15 mol%、1至20 mol%、1至25 mol%、2至3 mol%、2至4 mol%、2至5 mol%、2至6 mol%、2至7 mol%、2至8 mol%、2至9 mol%、2至10 mol%、2至15 mol%、2至25 mol%、3至4 mol%、3至5 mol%、3至6 mol%、3至7 mol%、3至8 mol%、3至9 mol%、3至10 mol%、3至15 mol%、3至20 mol%、3至25 mol%、4至5 mol%、4至6 mol%、4至7 mol%、4至8 mol%、4至9 mol%、4至10 mol%、4至15 mol%、4至20 mol%、4至25 mol%、5至10 mol%、5至15 mol%、5至20 mol%、5至25 mol%、10至15 mol%、10至20 mol%、10至25 mol%、15至20 mol%、15至25 mol%及20至25 mol%。

【0726】 在一些實施例中，LNP由以下構成：約30-60 mol%之至少一種陽離子脂質、約0-30 mol%之至少一種非陽離子脂質(例如磷脂)、約18.5-48.5 mol%之至少一種固醇(例如膽固醇)及約0-10 mol%之至少一種粒子活性調節藥劑(例如聚乙二醇化脂質)。

【0727】 在一些實施例中，LNP由以下構成：約35-55 mol%之至少一種陽離子脂質、約5-25 mol%之至少一種非陽離子脂質(例如磷脂)、約30-40 mol%之至少一種固醇(例如膽固醇)及約0-10 mol%之至少一種粒子活性調節藥劑(例如聚乙二醇化脂質)。

【0728】 在一些實施例中，LNP由以下構成：約35-45 mol%之至少一種陽離子脂質、約25-35 mol%之至少一種非陽離子脂質(例如磷脂)、約20-30 mol%之至少一種固醇(例如膽固醇)及約0-10 mol%之至少一種粒子活性調節藥劑(例如聚乙二醇化脂質)。

【0729】 在一些實施例中，LNP由以下構成：約45-65 mol%之至少

一種陽離子脂質、約5-10 mol%之至少一種非陽離子脂質(例如磷脂)、約25-40 mol%之至少一種固醇(例如膽固醇)及約0.5-10 mol%之至少一種粒子活性調節藥劑(例如聚乙二醇化脂質)。

【0730】 在一些實施例中，LNP由以下構成：約40-60 mol%之至少一種陽離子脂質、約5-15 mol%之至少一種非陽離子脂質(例如磷脂)、約35-45 mol%之至少一種固醇(例如膽固醇)及約0.5-3 mol%之至少一種粒子活性調節藥劑(例如聚乙二醇化脂質)。

【0731】 在一些實施例中，LNP由以下構成：約30-60 mol%之至少一種陽離子脂質、約0-30 mol%之至少一種非陽離子脂質(例如磷脂)、約15-50 mol%之至少一種固醇(例如膽固醇)及約0.01-10 mol%之至少一種粒子活性調節藥劑(例如聚乙二醇化脂質)。

【0732】 在一些實施例中，LNP由以下構成：約10-75 mol%之至少一種陽離子脂質、約0.5-50 mol%之至少一種非陽離子脂質(例如磷脂)、約5-60 mol%之至少一種固醇(例如膽固醇)及約0.1-20 mol%之至少一種粒子活性調節藥劑(例如聚乙二醇化脂質)。

【0733】 在一些實施例中，LNP由以下構成：約50-65 mol%之至少一種陽離子脂質、約3-15 mol%之至少一種非陽離子脂質(例如磷脂)、約30-40 mol%之至少一種固醇(例如膽固醇)及約0.5-2 mol%之至少一種粒子活性調節藥劑(例如聚乙二醇化脂質)。

【0734】 在一些實施例中，LNP由以下構成：約50-85 mol%之至少一種陽離子脂質、約3-15 mol%之至少一種非陽離子脂質(例如磷脂)、約30-40 mol%之至少一種固醇(例如膽固醇)及約0.5-2 mol%之至少一種粒子活性調節藥劑(例如聚乙二醇化脂質)。

【0735】 在一些實施例中，LNP由以下構成：約25-75 mol%之至少一種陽離子脂質、約0.1-15 mol%之至少一種非陽離子脂質(例如磷脂)、約5-50 mol%之至少一種固醇(例如膽固醇)及約0.5-20 mol%之至少一種粒子活性調節藥劑(例如聚乙二醇化脂質)。

【0736】 在一些實施例中，LNP由以下構成：約50-65 mol%之至少一種陽離子脂質、約5-10 mol%之至少一種非陽離子脂質(例如磷脂)、約25-35 mol%之至少一種固醇(例如膽固醇)及約5-10 mol%之至少一種粒子活性調節藥劑(例如聚乙二醇化脂質)。

【0737】 在一些實施例中，LNP由以下構成：約20-60 mol%之至少一種陽離子脂質、約5-25 mol%之至少一種非陽離子脂質(例如磷脂)、約25-55 mol%之至少一種固醇(例如膽固醇)及約0.5-15 mol%之至少一種粒子活性調節藥劑(例如聚乙二醇化脂質)。

【0738】 在一些實施例中，LNP之特徵可在於其形狀。在一些實施例中，LNP基本上呈球形。在一些實施例中，LNP基本上為棒狀(亦即，圓柱形)。在一些實施例中，LNP基本上為圓盤形。

【0739】 在一些實施例中，LNP之特徵可在於其尺寸。在一些實施例中，LNP之尺寸可定義為其最大圓形截面之直徑，在本文中簡稱為其直徑。在一些實施例中，LNP之直徑可在30 nm至約150 nm之間。在一些實施例中，LNP之直徑可在以下之間的範圍內：約40至150 nm、50至150 nm、60至150 nm、約70至150 nm、或80至150 nm、90至150 nm、100至nm、110至150 nm、120至150 nm、130至150 nm、140至150 nm、30至140 nm、40至140 nm、50至140 nm、60至140 nm、70至140 nm、80至140 nm、90至140 nm、100至140 nm、110至140 nm、120至140 nm、

130至140 nm、140至140 nm、30至140 nm、40至130 nm、50至130 nm、60至130 nm、70至130 nm、80至130 nm、90至130 nm、100至130 nm、110至130 nm、120至130 nm、30至120 nm、40至120 nm、50至120 nm、60至120 nm、70至120 nm、80至120 nm、90至120 nm、100至120 nm、110至120 nm、30至110 nm、40至110 nm、50至110 nm、60至110 nm、70至110 nm、80至110 nm、90至110 nm、100至110 nm、30至100 nm、40至100 nm、50至100 nm、60至100 nm、70至100 nm、80至100 nm、90至100 nm、30至90 nm、40至90 nm、50至90 nm、60至90 nm、70至90 nm、80至90 nm、30至80 nm、40至80 nm、50至80 nm、60至80 nm、70至80 nm、30至70 nm、40至70 nm、50至70 nm、60至70 nm、30至60 nm、40至60 nm、50至60 nm、30至50 nm、40至50 nm及30至40 nm。

【0740】 在一些實施例中，LNP (諸如由相同調配物產生之彼等者)群體可藉由量測群體中粒子之尺寸、形狀或質量之均一性來表徵。均一性在一些實施例中可以群體之多分散性指數(PI)表述。在一些實施例中，均一性在一些實施例中可以群體之不等性(Đ)形式表述。術語「多分散性指數」及「不等性(disparity)」在本文中應理解為等效的且可互換使用。在一些實施例中，由既定調配物產生之LNP群體之PI將在約0.1至1之間。在一些實施例中，由既定調配物產生之LNP群體之PI將小於約1、小於約0.5、小於約0.4、小於約0.3、小於約0.2、小於約0.1。在一些實施例中，由既定調配物產生之LNP群體之PI將在以下之間：約0.1至1、0.1至0.8、0.1至0.6、0.1至0.4、0.1至0.2、0.2至1、0.2至0.8、0.2至0.6、0.2至0.4、0.4至1、0.4至0.8、0.4至0.6、0.6至1、0.6至0.8及0.8至1。

【0741】在一些實施例中，LNP可完全或部分包封貨物，諸如本發明之初始構築體及基準構築體。在一些實施例中，最終調配物中存在之基本上0%之貨物暴露於LNP外的環境(亦即，貨物被完全包封)。在一些實施例中，貨物與LNP結合但至少部分暴露於LNP外之環境。在一些實施例中，LNP可藉由不暴露於LNP外之環境之貨物%，例如包封效率表徵。為清楚起見，約100%之包封效率係指其中基本上所有貨物完全由LNP包封之LNP調配物；而約0%之包封率係指其中基本沒有貨物包封於LNP中之LNP，諸如在其中貨物與LNP之外表面結合之LNP的情況下。在一些實施例上，LNP之包封效率可小於約100%、小於約95%、小於約85%、小於約80%、小於約75%、小於約70%、小於約65%、小於約60%、小於約55%、小於約50%、小於約45%、小於約40%、小於約35%、小於約30%、小於約25%、小於約20%、小於約15%、小於約10%或小於5%。在一些實施例中，LNP之包封效率可在以下之間：約90至100%、80至100%、70至100%、60至100%、50至100%、40至100%、30至100%、20至100%、10至100%、80至90%、70至90%、60至90%、50至90%、40至90%、30至90%、20至90%、10至90%、70至80%、60至80%、50至80%、40至80%、30至80%、20至80%、10至80%、60至70%、50至70%、40至70%、30至70%、20至70%、10至70%、40至50%、30至50%、20至50%、10至50%、30至40%、20至40%、10至40%、20至30%、10至30%及10至20%。

【0742】在一些實施例中，LNP可包括至少一個標識符部分，如**圖5**中所示。標識符部分之非限制性實例包括聚醣、抗體、肽、小分子及其任何組合。在一些實施例中，至少一種靶向劑可併入基於脂質之奈米粒子

之脂膜中。在一些實施例中，至少一種靶向劑可存在於奈米粒子之外表面上。在一些實施例中，至少一種靶向劑可與奈米粒子之脂質組分結合。在一些實施例中，至少一種靶向劑可與奈米粒子之聚合物組分結合。在一些實施例中，至少一種靶向劑可經由至少一種靶向劑、奈米粒子膜及奈米粒子內部或外部之水性環境中之疏水性及親水性相互作用而錨定於奈米粒子。在一些實施例中，至少一種靶向劑與奈米粒子膜之肽/蛋白質組分結合。在一些實施例中，至少一種靶向劑與結合於奈米粒子膜之組分之合適的連接子部分結合。在一些實施例中，力及鍵之任何組合可導致靶向劑與奈米粒子結合。

【0743】 本文所描述之LNP可使用此項技術中已知之技術形成。作為非限制性實例，將含有脂質之有機溶液與含有初始構築體或基準構築體之酸性水溶液一起混合在微流體通道中，從而導致形成靶向系統(遞送載體及基準構築體)。

【0744】 在一些實施例中，各LNP調配物包括具有獨特可鑑別的核苷酸標識符序列(例如條碼)之基準構築體。獨特標識符序列提供鑑別產生所需結果之特定LNP之能力。LNP調配物亦可與用於產生LNP之LNP形成組合物不同。舉例而言，LNP形成組合物之可離子化脂質的莫耳量及/或結構、輔助脂質的莫耳量及/或結構、PEG的莫耳量及/或結構及/或膽固醇的莫耳量可變化。或者或另外，LNP調配物可包含生物活性分子之編碼序列不同的基準構築體。或者或另外，LNP調配物可包含對核酸序列進行之修飾不同的基準構築體。

【0745】 在一些實施例中，根據調配物中組分脂質之各別莫耳比描述脂質組合物。作為非限制性實例，可離子化脂質之mol%可為約10

mol%至約80 mol%。作為非限制性實例，可離子化脂質之mol%可為約20 mol%至約70 mol%。作為非限制性實例，可離子化脂質之mol%可為約30 mol%至約60 mol%。作為非限制性實例，可離子化脂質之mol%可為約35 mol%至約55 mol%。作為非限制性實例，可離子化脂質之mol%可為約40 mol%至約50 mol%。作為非限制性實例，轉移載體批次之可離子化脂質mol%將為目標mol%之±30%、±25%、±20%、±15%、±10%、±5%或±2.5%。在一些實施例中，批次之間的轉移載體變化性將小於15%、小於10%或小於5%。

【0746】 在一些實施例中，輔助脂質之mol%可為約1 mol%至約50 mol%。在一些實施例中，輔助脂質之mol%可為約2 mol%至約45 mol%。在一些實施例中，輔助脂質之mol%可為約3 mol%至約40 mol%。在一些實施例中，輔助脂質之mol%可為約4 mol%至約35 mol%。在一些實施例中，輔助脂質之mol%可為約5 mol%至約30 mol%。在一些實施例中，輔助脂質之mol%可為約10 mol%至約20 mol%。在一些實施例中，轉移載體批次之輔助脂質mol%將為目標mol%之±30%、±25%、±20%、±15%、±10%、±5%或±2.5%。

【0747】 在一些實施例中，結構性脂質之mol%可為約10 mol%至約80 mol%。在一些實施例中，結構性脂質之mol%可為約20 mol%至約70 mol%。在一些實施例中，結構性脂質之mol%可為約30 mol%至約60 mol%。在一些實施例中，結構性脂質之mol%可為約35 mol%至約55 mol%。在一些實施例中，結構性脂質之mol%可為約40 mol%至約50 mol%。在一些實施例中，轉移載體批次之結構性脂質mol%將為目標mol%之±30%、±25%、±20%、±15%、±10%、±5%或±2.5%。

【0748】在一些實施例中，PEG修飾之脂質之mol%可為約0.1 mol%至約10 mol%。在一些實施例中，PEG修飾之脂質之mol%可為約0.2 mol%至約5 mol%。在一些實施例中，PEG修飾之脂質之mol%可為約0.5 mol%至約3 mol%。在一些實施例中，PEG修飾之脂質之mol%可為約1 mol%至約2 mol%。在一些實施例中，PEG修飾之脂質之mol%可為約1.5 mol%。在一些實施例中，轉移載體批次之PEG修飾之脂質mol%將為目標mol%之±30%、±25%、±20%、±15%、±10%、±5%或±2.5%。

【0749】在一些實施例中，遞送載體可為WO2021113777中描述之脂質奈米粒子中之任一者：，其內容以全文引用之方式併入本文中。

【0750】在一些實施例中，遞送載體為包含WO2021113777 (其內容以全文引用之方式併入本文中)中之可離子化脂質(例如胺脂質)、PEG脂質、非陽離子(輔助)脂質或結構性脂質中之任一者的脂質奈米粒子。

【0751】在一些實施例中，脂質奈米粒子調配物可藉由國際公開案第WO2011127255號或第W02008103276號中描述之方法製備，其各自之內容以全文引用之方式併入本文中。在一些實施例中，脂質奈米粒子調配物可如國際公開案第W02019131770號中所描述，其內容以全文引用之方式併入本文中。

【0752】在一些實施例中，脂質奈米粒子調配物可藉由國際公開案第WO2020237227號中描述之方法製備，其各自之內容以全文引用之方式併入本文中。在一些實施例中，脂質奈米粒子調配物可如國際公開案第WO2020237227號中所描述，其內容以全文引用之方式併入本文中。

非脂質奈米粒子

【0753】在一些實施例中，奈米粒子為基於非脂質之奈米粒子。基

於非脂質之奈米粒子包括但不限於基於矽之奈米粒子(亦即，多孔矽奈米粒子)、金奈米粒子、基於多肽之奈米粒子、基於核苷酸之奈米粒子及基於碳之奈米粒子。

胞泌體

【0754】 在一些實施例中，遞送載體包含至少一種胞泌體。如本文所用，「胞泌體」係指具有胞吞來源之膜結合小囊泡。不希望受理論所束縛，胞泌體一般在多囊泡體融合細胞質膜後自宿主/前驅細胞釋放至胞外環境中。因此，除所設計之組分及貨物以外，胞泌體將傾向於包括前驅細胞膜之組分。胞泌體膜一般為層狀，由脂質雙層與水性奈米粒子間空間構成。

【0755】 在一些實施例中，胞泌體可包括至少一個標識符部分，如**圖5**中所示。標識符部分之非限制性實例包括聚醣、抗體、肽、小分子及其任何組合。

脂質體

【0756】 在一些實施例中，遞送載體包含至少一種脂質體。如本文所用，「脂質體」為由圍繞一般不衍生於前驅/宿主細胞之水性奈米粒子內部空間之至少一種脂質雙層膜構成的小囊泡。脂質體可為：(大)多層囊泡(MLV)，直徑可能為數百奈米，其包含一系列由狹窄的水性空間分隔開之同心雙層；單細胞小囊泡(SUV)，直徑可能小於50 nm；及單層大囊泡(LUV)，直徑可能在50至500 nm之間。在一些實施例中，脂質體可由與脂質奈米粒子之任何或所有相同組分及相同組分量構成，不同之處主要在於其製造方法。

微胞

【0757】 在一些實施例中，遞送載體包含至少一種微胞。如本文所用，「微胞」係指不具有水性粒子內部空間之小粒子。不希望受理論所束縛，微胞之粒子內部空間由包含微胞膜及可能的結合貨物之脂質之疏水性尾而非任何額外脂質頭基佔據。在一些實施例中，微胞可由與脂質奈米粒子之任何或所有相同組分構成，不同之處主要在於其製造方法。

【0758】 在一些實施例中，微胞可包括至少一個標識符部分，如**圖5**中所示。標識符部分之非限制性實例包括聚醣、抗體、肽、小分子及其任何組合。

病毒粒子

【0759】 在一些實施例中，遞送載體包含至少一種病毒樣粒子。如本文所用，「病毒樣粒子」係指可負載有貨物部分之主要為衍生自病毒之蛋白質殼體、鞘、殼或外殼(所有在本文中均可互換使用)的囊泡。一般而言，病毒樣粒子為非感染的且可使用表現病毒殼體蛋白質序列之細胞機制，接著自裝配且併入結合的貨物部分來合成，但可能在無表現相關細胞機制且允許其自裝配之情況下藉由提供殼體及貨物組分而形成病毒樣粒子。

【0760】 在一些實施例中，病毒樣粒子可衍生自諸如但不限於以下之病毒物種中之至少一者：微小病毒科、逆轉錄病毒科、黃病毒科、副黏液病毒科及噬菌體。在一些實施例中，病毒樣粒子可衍生自腺相關病毒、HIV、C型肝炎病毒、HPV或其任何組合。

【0761】 在一些實施例中，病毒樣粒子為AAV粒子，且該AAV粒子可包括至少一個標識符部分，如**圖5**中所示。標識符部分之非限制性實例包括聚醣、抗體、肽、小分子及其任何組合。

聚合物遞送技術

【0762】 在一些實施例中，遞送載體可包含至少一種聚合物遞送劑。如本文所用，「聚合物遞送劑」係指由經由各種鍵聯基團與貨物部分結合之可溶性聚合物構成的非聚集性遞送劑。在一些實施例中，聚合物遞送劑可包含本文所描述之聚合物中之任一者。

追蹤系統

【0763】 本文揭示之向性探索平台可使用包括標識符序列及部分(亦稱為「條碼」)以便允許在投與後檢核遞送載體及/或基準構築體、貨物及有效負載之多種追蹤系統。

【0764】 在一些實施例中，追蹤系統為單一標識符序列或部分。標識符序列或部分可位於遞送載體、基準構築體、貨物或有效負載區域、5' UTR、3'UTR、啟動子區域或加尾區域中。作為非限制性實例，標識符序列或部分位於遞送載體中或上。作為非限制性實例，標識符序列或部分位於基準構築體中或上。作為非限制性實例，標識符序列或部分位於5' UTR中或上。作為非限制性實例，標識符序列或部分位於3' UTR中或上。作為非限制性實例，標識符序列或部分位於啟動子區域中或上。作為非限制性實例，標識符序列或部分位於有效負載區域中或上。作為非限制性實例，標識符序列或部分位於加尾區域中或上。

【0765】 在一些實施例中，追蹤系統為具有針對遞送載體之標識符序列或部分及針對基準構築體、貨物及有效負載之第二標識符序列或部分的一組標識符序列或部分。第一及第二標識符序列或部分可相同或不同。若遞送載體中存在額外基準構築體、貨物及有效負載，則各基準構築體、貨物及有效負載可具有其自身的標識符序列或部分，或其在第二標識符序

列或部分處可能相同。

【0766】 在一些實施例中，向性探索平台由多個追蹤系統構成，其中各追蹤系統允許在不同解析水準下偵測遞送載體及/或基準構築體、貨物及有效負載。

【0767】 在一些實施例中，追蹤系統包含至少一種條碼序列。如本文所用，「條碼」或「條碼序列」為可使用此項技術中已知之方法偵測到且不同於細胞、組織、器官及/或生物體中之序列的任何序列或所投與的任何序列。條碼序列可包括於遞送載體中或與其連接，及/或包括於基準構築體、貨物及有效負載中。作為非限制性實例，遞送載體包含條碼序列。作為非限制性實例，貨物或有效負載包含條碼序列。作為非限制性實例，基準構築體包含條碼序列。

【0768】 在一些實施例中，標識符序列或部分在靶向系統中之位置為隨機的。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在遞送載體中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在基準構築體中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在貨物或有效負載中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在遞送載體及基準構築體中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在遞送載體及貨物或有效負載中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在基準構築體及貨物或有效負載中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在遞送載體、基準構築體及貨物或有效負載中。

【0769】 在一些實施例中，標識符序列或部分在靶向系統中之位置為預定的。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在遞送載體中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在基準構築體中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在貨物或有效負載中。作為非限制性實例，標識

符序列或部分係在遞送載體及基準構築體中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在遞送載體及貨物或有效負載中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在基準構築體及貨物或有效負載中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在遞送載體、基準構築體及貨物或有效負載中。

【0770】 在一些實施例中，標識符序列或部分在靶向系統中之位置為倒置的。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在遞送載體中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在基準構築體中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在貨物或有效負載中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在遞送載體及基準構築體中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在遞送載體及貨物或有效負載中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在基準構築體及貨物或有效負載中。作為非限制性實例，標識符序列或部分係在遞送載體、基準構築體及貨物或有效負載中。

【0771】 在一些實施例中，標識符序列為用於避免在深度定序期間複製之隨機生成的序列。在一些實施例中，標識符序列為核苷酸或胺基酸之重複序列。在一些實施例中，標識符序列為較大序列(諸如但不限於貨物或有效負載)之片段。標識符序列可使用合成技術設計成任何可用的長度(參見Clement等人, AmpUMI: design and analysis of unique molecular identifiers for deep amplicon sequencing, Bioinformatics,第34卷,第13期, 2018年7月01日,第i202-i210頁；其內容以全文引用之方式併入本文中)。

【0772】 在一些實施例中，標識符序列之長度在2至1000個核苷酸之間。舉例而言，標識符序列之長度可為2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、

270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800、810、820、830、840、850、860、870、880、890、900、910、920、930、940、950、960、970、980、990、1000或超過1000個核苷酸。標識符序列之長度可在以下之間：2-5、2-10、2-15、2-20、2-30、2-50、2-70、2-90、2-100、2-250、2-300、2-350、2-400、2-450、2-500、2-550、2-600、2-650、2-700、2-750、2-800、2-850、2-900、2-950、2-1000、5-10、5-15、5-20、5-30、5-50、5-70、5-90、5-100、5-250、5-300、5-350、5-400、5-450、5-500、5-550、5-600、5-650、5-700、5-750、5-800、5-850、5-900、5-950、5-1000、10-30、10-50、10-70、10-90、10-100、10-250、10-300、10-350、10-400、10-450、10-500、10-550、10-600、10-650、10-700、10-750、10-800、10-850、10-900、10-950、10-1000、20-30、20-50、20-70、20-90、20-100、20-250、20-300、20-350、20-400、20-450、20-500、20-550、20-600、20-650、20-700、20-750、20-800、20-850、20-900、20-950、20-1000、30-50、30-70、30-90、30-100、30-250、30-300、30-350、30-400、30-450、30-500、30-550、30-600、30-650、30-700、30-750、30-800、30-850、30-900、30-950、30-1000、40-50、40-70、40-90、40-100、40-250、40-300、40-350、40-400、40-450、40-500、40-550、40-600、40-650、40-700、40-750、40-800、40-850、40-900、40-950、40-1000、50-70、

50-90、50-100、50-250、50-300、50-350、50-400、50-450、50-500、50-550、50-600、50-650、50-700、50-750、50-800、50-850、50-900、50-950、50-1000、60-70、60-90、60-100、60-250、60-300、60-350、60-400、60-450、60-500、60-550、60-600、60-650、60-700、60-750、60-800、60-850、60-900、60-950、60-1000、70-90、70-100、70-250、70-300、70-350、70-400、70-450、70-500、70-550、70-600、70-650、70-700、70-750、70-800、70-850、70-900、70-950、70-1000、80-90、80-100、80-250、80-300、80-350、80-400、80-450、80-500、80-550、80-600、80-650、80-700、80-750、80-800、80-850、80-900、80-950、80-1000、90-100、90-250、90-300、90-350、90-400、90-450、90-500、90-550、90-600、90-650、90-700、90-750、90-800、90-850、90-900、90-950、90-1000、100-250、100-300、100-350、100-400、100-450、100-500、100-550、100-600、100-650、100-700、100-750、100-800、100-850、100-900、100-950、100-1000、150-250、150-300、150-350、150-400、150-450、150-500、150-550、150-600、150-650、150-700、150-750、150-800、150-850、150-900、150-950、150-1000、200-250、200-300、200-350、200-400、200-450、200-500、200-550、200-600、200-650、200-700、200-750、200-800、200-850、200-900、200-950、200-1000、250-300、250-350、250-400、250-450、250-500、250-550、250-600、250-650、250-700、250-750、250-800、250-850、250-900、250-950、250-1000、300-350、300-400、300-450、300-500、300-550、300-600、300-650、300-700、300-750、300-800、300-850、300-900、300-950、

300-1000、350-400、350-450、350-500、350-550、350-600、350-650、350-700、350-750、350-800、350-850、350-900、350-950、350-1000、400-450、400-500、400-550、400-600、400-650、400-700、400-750、400-800、400-850、400-900、400-950、400-1000、450-500、450-550、450-600、450-650、450-700、450-750、450-800、450-850、450-900、450-950、450-1000、500-550、500-600、500-650、500-700、500-750、500-800、500-850、500-900、500-950、500-1000、550-600、550-650、550-700、550-750、550-800、550-850、550-900、550-950、550-1000、600-650、600-700、600-750、600-800、600-850、600-900、600-950、600-1000、650-700、650-750、650-800、650-850、650-900、650-950、650-1000、700-750、700-800、700-850、700-900、700-950、700-1000、750-800、750-850、750-900、750-950、750-1000、800-850、800-900、800-950、800-1000、850-900、850-950、850-1000、900-950、900-1000、950-1000或超過1000個核苷酸。

【0773】在一些實施例中，標識符序列或部分可產生緊接地在投與之後可偵測的訊號。在一些實施例中，標識符序列或部分可產生在投與後無限時間量內可偵測的訊號。在一些實施例中，標識符序列或部分可產生在投與後超過1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天內可偵測的訊號。在一些實施例中，標識符序列或部分可產生在約1至24小時內可偵測的訊號。作為非限制性實例，訊號在約1至6、1至12、1至18、6至12、6至18、6至24或18至24小時，或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24小時內可為可

偵測的。在一些實施例中，標識符序列或部分可產生在約1-60分鐘內可偵測的訊號，諸如但不限於1-5、1-10、1-20、1-30、1-40、1-50、10-20、10-30、10-40、10-50、10-60、20-30、20-40、20-50、20-60、30-40、30-50、30-60、40-50、40-60或50-60分鐘，或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59或60分鐘。在一些實施例中，標識符序列或部分可產生在投與後小於1分鐘內可偵測的訊號。

【0774】 在一些實施例中，標識符序列或部分可產生在個體之身體外可偵測的訊號。在一些實施例中，標識符序列或部分可產生經由無創成像技術，例如在個體之器官或組織外部但在個體之身體內可偵測的訊號。在一些實施例中，標識符序列或部分可產生在宏觀層級上可偵測的訊號。在一些實施例中，標識符序列或部分可產生在微觀層級上可偵測的訊號。在一些實施例中，標識符序列或部分可產生在奈米級層級上可偵測的訊號。在一些實施例中，標識符序列或部分可產生僅在收集且分析目標細胞後，對於非限制性實例，經由質譜儀、電泳、流式細胞分析技術或深度定序，可偵測的訊號。

【0775】 在一些實施例中，遞送載體包含標識符部分或與其可操作地連接。

【0776】 在一些實施例中，遞送載體包含與免疫細胞抗原結合之標識符部分或與其可操作地連接。作為非限制性實例，免疫細胞抗原可為T細胞抗原，諸如CD2、CD3、CD5、CD7、CD8、CD4、β7整合素、β2整

合素及C1q。作為非限制性實例，免疫細胞抗原可為NK細胞、NKT細胞、巨噬細胞或嗜中性球。作為非限制性實例，免疫細胞抗原可為巨噬細胞抗原，諸如甘露糖受體、CD206及C1q。

【0777】 在一些實施例中，遞送載體包含標識符部分或與其可操作地連接，該標識符部分為與免疫細胞上之胞外酶結合之小分子。胞外酶可為但不限於CD38、CD73、腺苷2a受體及腺苷2b受體。

【0778】 在一些實施例中，遞送載體包含標識符部分或與其可操作地連接，該標識符部分為小分子，諸如但不限於甘露糖、凝集素、阿西維辛(acivicin)、生物素或地高辛(digoxigenin)。

【0779】 在一些實施例中，遞送載體包含標識符部分或與其可操作地連接於，該標識符部分為單鏈Fv (scFv)片段、奈米抗體、肽、基於肽之巨環、微型抗體、小分子配體(例如葉酸、精胺醯甘胺醯天冬胺酸(RGD)或酚可溶性調控蛋白α1肽(PSMA1))、重鏈可變區、輕鏈可變區或其片段。

追蹤系統：螢光

【0780】 在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含可藉由螢光偵測之標識符序列或部分。

【0781】 在一些實施例中，螢光係經由在遞送載體中包括至少一種螢光染料達成。在一些實施例中，該至少一種螢光染料可選自但不限於螢光素、TAMRA (羧基四甲基玫瑰紅(carboxytetramethylrhodamine))、Cy染料、德克薩斯紅(Texas red)、HEX、JOE、俄勒岡綠(Oregon green)、玫瑰紅6 G、香豆素(coumarin)、芘(pyrene)及DiOC6 (3,3′-二己基氧羰花青碘化物)。

【0782】在一些實施例中，螢光係經由在遞送載體中包括至少一種螢光蛋白或包括與遞送載體結合之至少一種螢光蛋白達成。在一些實施例中，至少一種螢光蛋白係在包含螢光蛋白之基準構築體或基準構築體中編碼。螢光蛋白之非限制性實例包括綠色螢光蛋白(Green Fluorescent Protein；GFP)、黃色螢光蛋白(Yellow Fluorescent Protein；YFP)、紅色螢光蛋白(Red Fluorescent Protein；RFP)、錫利(Sirius)、可激發藍色螢光蛋白(excitable blue fluorescent protein；EBFP2)、強化型藍色螢光蛋白(cyan fluorescent protein；CFP)、Cerulean天藍、可激發綠色螢光蛋白(excitable green fluorescent protein；EGFP)、可激發黃色螢光蛋白(excitable yellow fluorescent protein；EYFP)、mOrange、mCherry、mPlum、NIR、iRFP、EosFP、PamCherry、Dronpa、Dreiklang、asFP595、mMaple、mGeo、mEos2、Dendra2、psCFP2及2,3,5,6-四咔唑-4-氰基-吡啶(CPy)。

【0783】在一些實施例中，螢光係經由包括與遞送載體或基準構築體結合之至少一種螢光奈米粒子達成。在一些實施例中，螢光奈米粒子可為但不限於碳點、石墨烯量子點、金奈米棒、基於聚合物之奈米粒子、聚集誘導之發射光點、共軛聚合物奈米粒子(CP-點)、金奈米球、金奈米殼、金奈米籠及AIE費洛蒙(pheromone)。

【0784】在一些實施例中，螢光係經由包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種螢光脂質達成。在一些實施例中，螢光脂質可為但不限於DiR、DiD、DiO及DiI，磷脂之Di系列之其他成員、氟硼吡咯(Bodipy)及FL-鞘磷脂。

【0785】在一些實施例中，螢光係經由在遞送載體中包括至少一種

螢光素酶或包括與其結合之至少一種螢光素酶達成。在一些實施例中，至少一種螢光素酶蛋白係在包含螢光素酶之基準構築體或基準構築體中編碼。可使用之螢光素酶之類型之非限制性實例包括海腎螢光素酶(Renilla luciferase)、長腹水蚤螢光素酶(Gaussia luciferase)、Nanoluc螢光素酶、螢火蟲螢光素酶(Firefly luciferase)及磕頭蟲螢光素酶(Click Beetle luciferase)。

【0786】 在一些實施例中，螢光係經由包括與遞送載體結合或其中所含之β-半乳糖苷酶(β-gal)達成。在一些實施例中，至少一種β-半乳糖苷酶(β-gal)蛋白係在包含β-半乳糖苷酶(β-gal)之基準構築體或基準構築體中編碼。

【0787】 在一些實施例中，螢光係經由包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種淬滅劑分子達成。在一些實施例中，螢光係經由包括與基準構築體結合或由其編碼之至少一種淬滅劑分子達成。淬滅劑分子之非限制性實例包括二甲基胺基苯基偶氮苯甲酸(DABCYL)、QSY 7、Cu(II)離子、Dabcyl、QSY 35、BHQ-0、Eclipse、BHQ-1、QSY 9、BHQ-2、ElleQuencher、Iowa Black、QSY 21及BHQ-3。

追蹤系統：螢光團及放射性磷酸酯

【0788】 在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含為螢光團或放射性磷酸酯之標識符序列或部分。

【0789】 在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種螢光團。在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與基準構築體結合、其中編碼或其中所含之至少一種螢光團。螢光團之非限制性實例包括量子點及有機小分子。

【0790】在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種量子點。在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與基準構築體結合、其中編碼或其中所含之至少一種量子點。量子點之非限制性實例包括CdSe/ZnS、CdTe/ZnS、CdTe/CdSe、CdSe/ZnTe、CdSe/CdTe/ZnSe、nAs/ZnSe、InAs/CdSe、InAs/InP、Cu:InP/ZnSe、InAsxP1-x/InP/ZnSe、CdS/CdSe、ZnSe/CdSe、ZnSe/InP/ZnS、ZnSe/InP/ZnS、CdTe/ZnSe、QD585及QD655。

【0791】在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種有機小分子。在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與基準構築體結合、其中編碼或其中所含之至少一種有機小分子。有機小分子之非限制性實例包括以下類別：香豆素、萘醯亞胺、螢光素及玫瑰紅衍生物、氟硼吡咯、花青、二苯并哌喃、噁 吩、寡聚噻吩及酞花青衍生物(PcDer)。在一些實施例中，該至少一種有機小分子可選自但不限於7-二烷基-胺基-4-三氟甲基香豆素、玫瑰紅B、香豆素314、螢光黃CH、螢光素、玫瑰紅123、氟硼吡咯FL NHS酯、Cy5、玫瑰紅6G、矽-玫瑰紅(SiR)、Cy3、Cy5.5、Cy7、Cy2、ATTO655、ATTO680、ATTO700、硝基苯并噁二唑(NBD)、1,6-二苯基-1,3,5-己三烯(DPH)、ABBERIOR™、ALEXA FLUOR™、ATTO™、DYLIGHT FLUOR™、ALEXA FLUOR 647™及TOPFLUOR™。

【0792】在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種成像對比劑。在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與基準構築體結合、其中編碼或其中所含之至少一種成像對比劑。成像對比劑之非限制性實例包括基於釓之小分子、包封釓之脂

質體、基於錳之小分子及鐵氧化物奈米粒子。

【0793】在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種放射性標記。在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與基準構築體結合、其中編碼或其中所含之至少一種放射性標記。放射性標記之非限制性實例包括^{111}In、^{99m}Tc、^{13}N、^{68}Ga、^{18}F、^{64}Cu、^{86}Y、^{76}Br、^{89}Zr、^{72}As、^{124}I、^{74}As、氟-18、鎵-68、氮-13、銅-64、溴-76、碘-125、砷-74、碳-11、碘-131、^{153}Sm、^{177}Lu、^{186}Re、^{188}Re、^{198}Au及^{225}Ac。

【0794】在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種生物素。

【0795】在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種洋地黃毒苷(digoxygenin)。

【0796】在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種二硝基苯基(DNP)。

【0797】在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種螢光素。

【0798】在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種岩藻醣。

【0799】在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種胺。

【0800】在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種Texas Red®。

【0801】在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與基準構

築體結合、其中所編碼或其中所含之至少一種生物素。

【0802】 在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與基準構築體結合、其中所編碼或其中所含之至少一種洋地黃毒苷。

【0803】 在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與基準構築體結合、其中所編碼或其中所含之至少一種二硝基苯基(DNP)。

【0804】 在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與基準構築體結合、其中所編碼或其中所含之至少一種螢光素。

【0805】 在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與基準構築體結合、其中所編碼或其中所含之至少一種岩藻醣。

【0806】 在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與基準構築體結合、其中所編碼或其中所含之至少一種胺。

【0807】 在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與基準構築體結合、其中所編碼或其中所含之至少一種Texas Red®。

【0808】 在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種報導序列或蛋白質。在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與基準構築體結合、其中所編碼或其中所含之至少一種報導序列或蛋白質。報導序列或蛋白質之非限制性實例包括eGFP；螢光素酶；基因編輯劑(例如cas9編輯、DNA讀出)；ox-40；β6整合素；CD45；具有HA標籤、具有或不具有TEV蛋白酶位點之flag標籤的表面標記；或其任何組合。

【0809】 在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與遞送載體結合或其中所含之至少一種功能序列或蛋白質。在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括與基準構築體結合、其中所編碼或其中所含之至

少一種功能序列或蛋白質。功能序列或蛋白質之非限制性實例包括螢光蛋白、表面蛋白質、Cre-重組酶、CRISPR/CAS系統、具有抗原決定基標籤(例如HA、FLAG等)之表面蛋白質或其任何組合。

【0810】 在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括可與遞送載體結合或其中所含之包含蛋白酶裂解位點(例如TEV)的至少一種功能序列或蛋白質。在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括可與基準構築體結合、其中所編碼或其中所含之包含蛋白酶裂解位點(例如TEV)的至少一種功能序列或蛋白質。

【0811】 在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括可與遞送載體結合或其中所含之包含親和標籤(例如3xHA、FLAG、His)的至少一種功能序列或蛋白質。在一些實施例中，該至少一種追蹤系統包含包括可與基準構築體結合、其中所編碼或其中所含之包含親和標籤(例如3xHA、FLAG、His)的至少一種功能序列或蛋白質。

V.醫藥組合物及投與途徑

醫藥組合物及調配物

【0812】 可使用一或多種賦形劑調配初始構築體、基準構築體及靶向系統以：(1)增加穩定性；(2)增加細胞轉染或轉導；(3)允許有效負載之持續或延遲表現；(4)改變生物分佈(例如使病毒粒子靶向特定組織或細胞類型)；(5)增加所編碼之蛋白質之轉譯；(6)改變所編碼之蛋白質之釋放概況；及/或(7)實現貨物及/或有效負載之可調節表現。

【0813】 調配物可包括但不限於鹽水、脂質體、脂質奈米粒子、聚合物、肽、蛋白質、經病毒載體轉染之細胞(例如用於轉移或移植至個體中)及其組合。

【0814】 本文所描述之醫藥組合物的調配物可藉由藥理學技術中已知或此後研發之任何方法來製備。如本文中所用，術語「醫藥組合物」係指包含至少一種活性成分及視情況選用之一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之組合物。

【0815】 一般而言，此類製備方法包括使活性成分與賦形劑及/或一或多種其他附屬成分結合之步驟。如本文所用，片語「活性成分」一般係指具有如本文所描述之有效負載區域或貨物或有效負載之初始構築體或基準構築體。

【0816】 本文所描述之初始構築體、基準構築體及靶向系統之調配物以及醫藥組合物可藉由藥理學技術中已知或此後研發之任何方法製備。一般而言，此類製備方法包括以下步驟：使活性成分與賦形劑及/或一或多種其他附屬成分結合，且接著在必要及/或需要時，將產物分割、塑形及/或封裝成所需單劑量或多劑量單元。

【0817】 根據本發明之醫藥組合物可以散裝、以單一單位劑量形式及/或以複數個單一單位劑量形式製備、封裝及/或出售。如本文所用，「單位劑量」係指包含預定量之活性成分之醫藥組合物的離散量。活性成分之量一般等於將向個體投與之活性成分之劑量及/或此類劑量之適宜分數，諸如此類劑量之二分之一或三分之一。

【0818】 在一些實施例中，醫藥學上可接受之賦形劑可為至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%純。在一些實施例中，賦形劑被批准用於人類及獸醫學用途。在一些實施例中，賦形劑可由美國食品藥物管理局(United States Food and Drug Administration)批准。在一些實施例中，賦形劑可為醫藥級。在一些實施例中，賦形劑可滿

足美國藥典(United States Pharmacopoeia；USP)、歐洲藥典(European Pharmacopoeia；EP)、英國藥典(British Pharmacopoeia)及/或國際藥典(International Pharmacopoeia)之標準。

【0819】 根據本發明之醫藥組合物中之活性成分、醫藥學上可接受之賦形劑及/或任何額外成分的相對量可視治療之個體之身分、體型及/或病狀且進一步視組合物投與之途徑而變化。舉例而言，組合物可包含0.1%至99% (w/w)之間的活性成分。藉助於實例，組合物可包含0.1%至100%之間，例如0.5至50%之間、1-30%之間、5-80%之間或至少80% (w/w)的活性成分。

【0820】 在一個態樣中，本發明進一步提供用於遞送本文揭示之治療性有效負載之遞送系統。在一些實施例中，適合於遞送本文揭示之治療性有效負載之遞送系統包含脂質奈米粒子(LNP)調配物。

【0821】 在一些實施例中，本發明之LNP包含可離子化脂質、結構性脂質、聚乙二醇化脂質(亦稱為PEG脂質)及磷脂。在替代實施例中，LNP包含可離子化脂質、結構性脂質、聚乙二醇化脂質(亦稱為PEG脂質)及兩性離子胺基酸脂質。在一些實施例中，除前述脂質組分中之任一者以外，LNP進一步包含第5脂質。在一些實施例中，LNP包封一或多個本發明之活性劑之元件。在一些實施例中，LNP進一步包含共價或非共價鍵結至LNP之外表面之靶向部分。在一些實施例中，靶向部分為與特定器官系統之細胞結合或者有助於被其攝取之靶向部分。

【0822】 在一些實施例中，LNP之直徑為至少約20 nm、30 nm、40 nm、50 nm、60 nm、70 nm、80 nm或90 nm。在一些實施例中，LNP之直徑小於約100 nm、110 nm、120 nm、130 nm、140 nm、150 nm或160

nm。在一些實施例中，LNP之直徑小於約100 nm。在一些實施例中，LNP之直徑小於約90 nm。在一些實施例中，LNP之直徑小於約80 nm。在一些實施例中，LNP之直徑為約60-100 nm。在一些實施例中，LNP之直徑為約75-80 nm。

【0823】 在一些實施例中，本發明之脂質奈米粒子組合物係根據調配物中組分脂質之各別莫耳比描述。作為非限制性實例，可離子化脂質之mol%可為約10 mol%至約80 mol%。作為非限制性實例，可離子化脂質之mol%可為約20 mol%至約70 mol%。作為非限制性實例，可離子化脂質之mol%可為約30 mol%至約60 mol%。作為非限制性實例，可離子化脂質之mol%可為約35 mol%至約55 mol%。作為非限制性實例，可離子化脂質之mol%可為約40 mol%至約50 mol%。

【0824】 在一些實施例中，磷脂之mol%可為約1 mol%至約50 mol%。在一些實施例中，磷脂之mol%可為約2 mol%至約45 mol%。在一些實施例中，磷脂之mol%可為約3 mol%至約40 mol%。在一些實施例中，磷脂之mol%可為約4 mol%至約35 mol%。在一些實施例中，磷脂之mol%可為約5 mol%至約30 mol%。在一些實施例中，磷脂之mol%可為約10 mol%至約20 mol%。在一些實施例中，磷脂之mol%可為約5 mol%至約20 mol%。

【0825】 在一些實施例中，結構性脂質之mol%可為約10 mol%至約80 mol%。在一些實施例中，結構性脂質之mol%可為約20 mol%至約70 mol%。在一些實施例中，結構性脂質之mol%可為約30 mol%至約60 mol%。在一些實施例中，結構性脂質之mol%可為約35 mol%至約55 mol%。在一些實施例中，結構性脂質之mol%可為約40 mol%至約50

mol%。

【0826】 在一些實施例中，PEG脂質之mol%可為約0.1 mol%至約10 mol%。在一些實施例中，PEG脂質之mol%可為約0.2 mol%至約5 mol%。在一些實施例中，PEG脂質之mol%可為約0.5 mol%至約3 mol%。在一些實施例中，PEG脂質之mol%可為約1 mol%至約2 mol%。在一些實施例中，PEG脂質之mol%可為約1.5 mol%。

賦形劑及稀釋劑

【0827】 如本文所用，賦形劑包括但不限於適用於所需特定劑型之任何及全部溶劑、分散介質、稀釋劑或其他液體媒劑、分散或懸浮助劑、界面活性劑、等張劑、增稠或乳化劑、防腐劑及其類似者。用於調配醫藥組合物之各種賦形劑及用於製備該組合物之技術為此項技術中已知的(參見Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第21版, A. R. Gennaro, Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006；以全文引用之方式併入本文中)。除非任何習知載劑介質與物質或其衍生物不相容，諸如產生任何不期望生物作用或以有害的方式與醫藥組合物的任何其他組分另外相互作用，否則習知賦形劑介質之用途可涵蓋於本發明之範疇內。

【0828】 例示性稀釋劑包括但不限於碳酸鈣、碳酸鈉、磷酸鈣、磷酸二鈣、硫酸鈣、磷酸氫鈣、磷酸鈉乳糖、蔗糖、纖維素、微晶纖維素、高嶺土、甘露醇、山梨糖醇、肌醇、氯化鈉、乾燥澱粉、玉米澱粉、粉末狀糖等，及/或其組合。

可離子化脂質

【0829】 在一些實施例中，本文揭示之LNP包含可離子化脂質。在

一些實施例中，LNP包含兩種或更多種可離子化脂質。在一些實施例中，可離子化脂質為本文揭示之任何可離子化脂質或其任何組合。

結構性脂質

【0830】在一些實施例中，LNP包含結構性脂質。結構性脂質可選自由(但不限於)以下組成之群：膽固醇、糞固醇、海藻固醇、β穀甾醇、植物固醇、植物固醇、麥角固醇、菜油固醇、豆固醇、菜子固醇、番茄次鹼、膽酸、植固烷醇、石膽酸、蕃茄鹼、熊果酸、α-生育酚、維生素D3、維生素D2、鈣泊三醇、臘腸桿菌毒素、羽扇豆醇、齊墩果酸、β-植物固醇-乙酸酯及其混合物。在一些實施例中，結構性脂質為膽固醇。在一些實施例中，結構性脂質為由Patel等人, Nat Commun., 11, 983 (2020)揭示之膽固醇類似物，其以全文引用的方式併入本文中。在一些實施例中，結構性脂質包括膽固醇及皮質類固醇(諸如普賴蘇穩(prednisolone)、地塞米松(dexamethasone)、普賴松(prednisone)及氫皮質酮(hydrocortisone))或其任何組合。在一些實施例中，結構性脂質描述於國際專利申請案WO2019152557A1中，其以全文引用的方式併入本文中。

【0831】在一些實施例中，結構性脂質為膽固醇類似物。使用膽固醇類似物可增強內體逃逸，如Patel等人, Naturally-occuring 膽固醇 analogues in lipid nanoparticles induce polymorphic shape and enhance intracellular delivery of mRNA, Nature Communications (2020)中所描述，其以引用的方式併入本文中。

【0832】在一些實施例中，結構性脂質為植固醇。使用植固醇可增強內體逃逸，如Herrera等人, Illuminating endosomal escape of polymorphic lipid nanoparticles that boost mRNA delivery, Biomaterials

Science (2020)中所描述，其以引用的方式併入本文中。

【0833】 在一些實施例中，結構性脂質含有用於增強內體釋放之植物固醇模擬物。

聚乙二醇化脂質

【0834】 聚乙二醇化脂質為經聚乙二醇修飾之脂質。在一些實施例中，LNP包含如上文所描述之式I之化合物或其醫藥學上可接受之鹽。在一些實施例中，LNP包含如上文所描述之式II之化合物或其醫藥學上可接受之鹽。在一些實施例中，LNP包含如上文所描述之表(I)中闡述之化合物。

【0835】 在一些實施例中，LNP包含額外聚乙二醇化脂質或PEG修飾之脂質。聚乙二醇化脂質可選自由以下組成之非限制性群：PEG修飾之磷脂醯乙醇胺、PEG修飾之磷脂酸、PEG修飾之腦醯胺、PEG修飾之二烷基胺、PEG修飾之二醯基甘油、PEG修飾之二烷基甘油及其混合物。舉例而言，PEG脂質可為PEG-c-DOMG、PEG-DMG、PEG-DLPE、PEG-DMPE、PEG-DPPC或PEG-DSPE脂質。

【0836】 在一些實施例中，LNP包含以下中之一者中揭示之聚乙二醇化脂質：US 2019/0240354、US 2010/0130588、US 2021/0087135、WO 2021/204179、US 2021/0128488、US 2020/0121809、US 2017/0119904、US 2013/0108685、US 2013/0195920、US 2015/0005363、US 2014/0308304、US 2013/0053572、WO 2019/232095A1、WO 2021/077067、WO 2019/152557、US 2015/0203446、US 2017/0210697、US 2014/0200257 或 WO 2019/089828A1，其各自以全文引用的方式併入本文中。

【0837】在一些實施例中，LNP包含聚乙二醇化脂質替代物而非聚乙二醇化脂質。本文揭示之涵蓋聚乙二醇化脂質之所有實施例均應理解為亦適用於聚乙二醇化脂質替代物。在一些實施例中，LNP包含聚肌胺酸-脂質結合物，諸如US 2022/0001025 A1中揭示之彼等者，其以全文引用之方式併入本文中。

磷脂

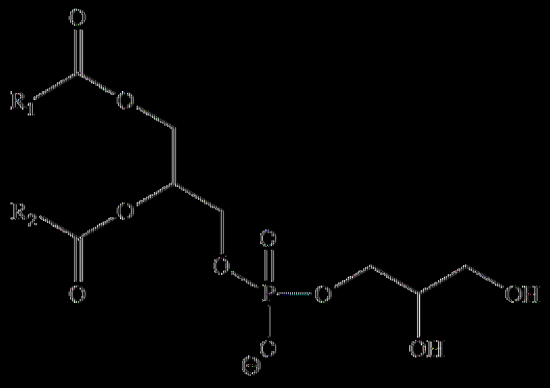
【0838】在一些實施例中，本發明之LNP包含磷脂。適用於組合物及方法中之磷脂可選自由以下組成之非限制性群：1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DSPC)、1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、1,2-二亞油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DLPC)、1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-磷酸膽鹼(DMPC)、1.2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DOPC)、1,2-二軟脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DPPC)、1,2-雙十一烷醯基-sn-甘油基-磷酸膽鹼(DUPC)、1-軟脂醯基-2-油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(POPC)、1,2-二-O-十八烯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(18:0二醚PC)、1-油醯基-2-膽固醇基半丁二醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(OChemsPC)、1-十六基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(C16 Lyso PC)、1,2-二亞麻醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼、1,2-二花生四烯醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼、1,2-雙二十二碳六烯醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼、1,2-二植醯基-甘油基-3-磷酸乙醇胺(ME 16.0 PE)、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亞油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亞麻醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二花生四烯醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-雙二十二碳六烯醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸基-rac-(1-甘油)鈉鹽(DOPG)、(S)-2-銨基-3-((((R)-2-(油醯基氧基)-

3-(硬脂醯基氧基)丙氧基)氧化磷醯基)氧基)丙酸鈉(L-α-磷脂醯絲胺酸；腦PS)、二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼(DMPC)、二肉豆蔻醯基磷酸乙醇胺(DMPE)、二肉豆蔻醯基磷脂醯甘油(DMPG)、二油醯基-磷脂醯乙醇胺4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)-環己烷-1-甲酸鹽(DOPE-mal)、二油醯基磷脂醯丙三醇(DOPG)、1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-(磷酸基-L-絲胺酸)(DOPS)、細胞融合磷脂(DPhPE)、二軟脂醯基磷脂醯乙醇胺(DPPE)、二軟脂醯基磷脂醯甘油(DPPG)、二軟脂醯基磷脂醯絲胺酸(DPPS)、二硬脂醯基磷脂醯膽鹼(DSPC)、二硬脂醯基-磷脂醯基-乙醇胺(DSPE)、二硬脂醯基磷酸乙醇胺咪唑(DSPEI)、1,2-雙十一烷醯基-sn-甘油基-磷酸膽鹼(DUPC)、卵磷脂醯膽鹼(EPC)、1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸酯(18:1 PA；DOPA)、雙((S)-2-羥基-3-(油醯基氧基)丙基)磷酸銨(18:1 DMP；LBPA)、1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸基-(1'-肌醇) (DOPI；18:1 PI)、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸基-L-絲胺酸(18:0 PS)、1,2-二亞油醯基-sn-甘油基-3-磷酸基-L-絲胺酸(18:2 PS)、1-軟脂醯基-2-油醯基-sn-甘油基-3-磷酸基-L-絲胺酸(16:0-18:1 PS；POPS)、1-硬脂醯基-2-油醯基-sn-甘油基-3-磷酸基-L-絲胺酸(18:0-18:1 PS)、1-硬脂醯基-2-亞油醯基-sn-甘油基-3-磷酸基-L-絲胺酸(18:0-18:2 PS)、1-油醯基-2-羥基-sn-甘油基-3-磷酸基-L-絲胺酸(18:1 Lyso PS)、1-硬脂醯基-2-羥基-sn-甘油基-3-磷酸基-L-絲胺酸(18:0 Lyso PS)及鞘磷脂。在一些實施例中，LNP包括DSPC。在某些實施例中，LNP包括DOPE。在一些實施例中，LNP包括DSPC及DOPE兩者。

【0839】 在一些實施例中，磷脂尾可經修飾以便促進內體逃逸，如U.S. 2021/0121411中所描述，其以引用的方式併入本文中。

[0840] 在一些實施例中，LNP包含以下中之一者中揭示之磷脂：US 2019/0240354、US 2010/0130588、US 2021/0087135、WO 2021/204179、US 2021/0128488、US 2020/0121809、US 2017/0119904、US 2013/0108685、US 2013/0195920、US 2015/0005363、US 2014/0308304、US 2013/0053572、WO 2019/232095A1、WO 2021/077067、WO 2019/152557、US 2017/0210697或WO 2019/089828A1，其各自以全文引用之方式併入本文中。

[0841] 在一些實施例中，US 2020/0121809中揭示之磷脂具有以下結構：



其中R_1及R_2各自獨立地為分支鏈或直鏈、飽和或不飽和碳鏈(例如烷基、烯基、炔基)。

靶向部分

[0842] 在一些實施例中，脂質奈米粒子進一步包含靶向部分。靶向部分可為抗體或其片段。靶向部分可能能夠與目標抗原結合。

[0843] 在一些實施例中，醫藥組合物包含與脂質奈米粒子可操作地連接之靶向部分。在一些實施例中，靶向部分能夠與目標抗原結合。在一些實施例中，目標抗原在目標器官中表現。在一些實施例中，目標抗原在目標器官中之表現比其在肝臟中之表現更多。

【0844】 在一些實施例中，靶向部分為如WO2016189532A1中所描述之抗體，其以引用的方式併入本文中。舉例而言，在一些實施例中，所靶向之粒子與特異性抗CD38單株抗體(mAb)結合，其允許將包封在粒子內之siRNA特異性遞送至B細胞淋巴球惡性病(諸如MCL)的百分比大於至其他子類型之白血球的百分比。

【0845】 在一些實施例中，脂質奈米粒子可在與諸如抗體之靶向部分結合(conjugated)/連接/結合(associated)時被靶向。

兩性離子胺基脂質

【0846】 在一些實施例中，LNP包含兩性離子脂質。在一些實施例中，包含兩性離子脂質之LNP不包含磷脂。

【0847】 已顯示兩性離子胺基脂質能夠在無磷脂負載之情況下自組裝為LNP，使其穩定且胞內釋放mRNA，如美國專利申請案20210121411中所描述，其以全文引用的方式併入本文中。兩性離子、可離子化陽離子及持久性陽離子輔助脂質使得能夠組織選擇性遞送mRNA至脾臟、肝臟及肺中且在其中進行CRISPR-Cas9基因編輯，如Liu等人, Membrane-destablizing ionizable phospholipids for organ-selective mRNA delivery and CRISPR-Cas gene editing, Nat Mater. (2021)中所描述，其以全文引用的方式併入本文中。

【0848】 兩性離子脂質可具有含有陽離子胺及陰離子羧酸根之頭基，如Walsh等人, Synthesis, Characterization and Evaluation of Ionizable Lysine-Based Lipids for siRNA Delivery, Bioconjug Chem. (2013)中所描述，其以全文引用的方式併入本文中。含有經由在離胺酸α-胺處之醯胺鍵聯與長鏈二烷基胺連接之離胺酸頭基之可離子化的基於離胺

酸的脂質可降低免疫原性，如Walsh等人, Synthesis, Characterization and Evaluation of Ionizable Lysine-Based Lipids for siRNA Delivery, Bioconjug Chem. (2013)中所描述。

額外脂質組分

【0849】 在一些實施例中，本發明之LNP組合物進一步包含一或多種能夠影響LNP之向性之額外脂質組分。在一些實施例中，LNP進一步包含至少一種選自以下之脂質：DDAB、EPC、14PA、18BMP、DODAP、DOTAP及C12-200 (參見Cheng等人, *Nat Nanotechnol.* 2020年4月; 15(4): 313-320.；Dillard等人, *PNAS* 2021 第118卷第52期.)。

聚核苷酸

【0850】 在一些實施例中，本發明之LNP含有活性劑。在一些實施例中，活性劑為聚核苷酸。在一些實施例中，LNP能夠將聚核苷酸遞送至目標器官。聚核苷酸，在該術語之最廣泛的意義上，包括併入寡核苷酸鏈中或可併入其中之任何化合物及/或物質。根據本發明使用之例示性聚核苷酸包括但不限於以下中之一或多者：去氧核糖核酸(DNA)、核糖核酸(RNA)，包括信使mRNA (mRNA)、其混合物、RNAi誘導藥劑、RNAi劑、siRNA、shRNA、miRNA、反義RNA、核糖核酸酶、催化性DNA、誘導三螺旋形成之RNA、適體、載體等。適用於本文所描述之組合物及方法中之RNA可選自由(但不限於)以下組成之群：短計時器(shortimer)、拮抗miR、反義、核糖核酸酶短干擾RNA(siRNA)、不對稱干擾RNA (aiRNA)、微小RNA (miRNA)、Dicer受質RNA (dsRNA)、短髮夾RNA (shRNA)、轉移RNA (tRNA)、信使RNA (mRNA)及其混合物。在一些實施例中，聚核苷酸為mRNA。在一些實施例中，聚核苷酸為環狀RNA。

在一些實施例中，聚核苷酸編碼蛋白質。聚核苷酸可編碼任何所關注多肽，包括任何天然或非天然存在之多肽或者經修飾之多肽。多肽可具有任何尺寸且可具有任何二級結構或活性。在一些實施例中，由mRNA編碼之多肽在於細胞中表現時可具有治療作用。

【0851】 在其他實施例中，聚核苷酸為siRNA。siRNA可能能夠選擇性地基因表現減弱或下調所關注之基因之表現。舉例而言，可選擇siRNA以在向有需要之個體投與包括siRNA之奈米粒子組合物後使與特定疾病、病症或病狀相關之基因靜默。siRNA可包含與編碼所關注之基因或蛋白質的mRNA序列互補之序列。在一些實施例中，siRNA可為免疫調節siRNA。

【0852】 在一些實施例中，聚核苷酸為shRNA或編碼其之載體或質體。shRNA可在將適當構築體遞送至核後在目標細胞內部產生。與shRNA相關之構築體及機制在相關領域中為熟知的。

【0853】 聚核苷酸可包括編碼所關注多肽之鍵聯核苷的第一區(例如編碼區)、位於第一區之5'端處的第一側接區域(例如5'-UTR)、位於第一區之3'端處的第二側接區域(例如3'-UTR)、至少一種5'-帽區域及3'-穩定區。在一些實施例中，聚核苷酸進一步包括聚A區域或Kozak序列(例如在5'-UTR中)。在一些情況下，聚核苷酸可含有一或多個能夠自聚核苷酸切除之內含子核苷酸序列。在一些實施例中，聚核苷酸(例如mRNA)可包括5'帽結構、鏈終止核苷酸、莖環、聚A序列及/或聚腺苷酸化訊號。核酸之任一區域可包括一或多種替代性組分(例如替代性核苷)。舉例而言，3'-穩定區可含有替代性核苷，諸如L-核苷、反向胸苷或2'-O-甲基核苷；及/或編碼區、5'-UTR、3'-UTR或帽區域可包括替代性核苷，諸如5-取代之尿苷

(例如5-甲氧基尿苷)、1-取代之假尿苷(例如1-甲基假尿苷或1-乙基-假尿苷)及/或5-取代之胞苷(例如5-甲基-胞苷)。在一些實施例中，聚核苷酸僅含有天然存在之核苷。

【0854】 在一些情況下，聚核苷酸之長度大於30個核苷酸。在另一實施例中，聚核苷酸分子之長度大於35個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少40個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少45個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少55個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少50個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少60個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少80個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少90個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少100個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少120個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少140個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少160個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少180個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少200個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少250個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少300個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少350個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少400個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少450個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少500個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少600個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少700個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少800個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少900個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少1000個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少1100個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少1200個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少1300個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少1400個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少1500個核苷酸。在另一實

施例中，長度為至少1600個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少1800個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少2000個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少2500個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少3000個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少4000個核苷酸。在另一實施例中，長度為至少5000個核苷酸或大於5000個核苷酸。

【0855】在一些實施例中，聚核苷酸分子、與其相關之式、組合物或方法包含一或多種含有如以下中所描述之特徵的聚核苷酸：WO2002/098443、WO2003/051401、WO2008/052770、WO2009/127230、WO2006/122828、WO2008/083949、WO2010/088927、WO2010/037539、WO2004/004743、WO2005/016376、WO2006/024518、WO2007/095,976、WO2008/014979、WO2008/077592、WO2009/030481、WO2009/095226、WO2011/069586、WO2011/026641、WO2011/144358、WO2012/019780、WO2012/013326、WO2012/089338、WO2012/113513、WO2012/116811、WO2012/116810、WO2013/113502、WO2013/113501、WO2013/113736、WO2013/143698、WO2013/143699、WO2013/143700、WO2013/120626、WO2013/120627、WO2013/120628、WO2013/120629、WO2013/174409、WO2014/127917、WO2015/024669、WO2015/024668、WO2015/024667、WO2015/024665、WO2015/024666、WO2015/024664、WO2015/101415、WO2015/101414、WO2015/024667、WO2015/062738、WO2015/101416，以上所有均以引

用之方式併入本文中。

【0856】 聚核苷酸，諸如環狀RNA，可含有內部核糖體進入位點(IRES)。IRES可充當唯一核糖體結合位點，或可充當mRNA之多個核糖體結合位點之一。含有超過一個功能性核糖體結合位點之聚核苷酸可編碼若干獨立地由核糖體轉譯之肽或多肽(例如多順反子mRNA)。當聚核苷酸具有IRES時，進一步視情況提供第二可轉譯區域。可根據本發明使用之IRES序列之實例包括但不限於來自微小RNA病毒(例如FMDV)、有害生物病毒(CFFV)、脊髓灰質炎病毒(PV)、腦心肌炎病毒(ECMV)、口蹄疫病毒(FMDV)、C型肝炎病毒(HCV)、經典豬瘟病毒(CSFV)、鼠白血病病毒(MLV)、猿猴免疫缺乏病毒(SIV)或蟋蟀麻痺病毒(CrPV)之彼等序列。

【0857】 在一些實施例中，聚核苷酸包含一或多個微小RNA結合位點。在一些實施例中，微小RNA結合位點被非目標器官中之微小RNA識別。在一些實施例中，微小RNA結合位點被肝臟中之微小RNA識別。在一些實施例中，微小RNA結合位點被肝細胞中之微小RNA識別。

非活性成分

【0858】 在一些實施例中，本文所描述之調配物可包含至少一種非活性成分。如本文所用，術語「非活性成分」係指一或多種對調配物中所含之醫藥組合物之活性成分的活性無幫助之藥劑。在一些實施例中，可用於本發明之調配物中之非活性成分可全部、均未或其中一些經美國食品及藥物管理局(FDA)批准。

【0859】 在一些實施例中，本文揭示之調配物可包括陽離子或陰離子。調配物包括金屬陽離子，諸如但不限於Zn^{2+}、Ca^{2+}、Cu^{2+}、Mn^{2+}、Mg^{2+}及其組合。作為非限制性實例，調配物可包括與金屬陽離子之聚合

物及錯合物。

【0860】本發明之調配物亦可包括一或多種醫藥學上可接受之鹽。如本文所用，「醫藥學上可接受之鹽」係指所揭示化合物之衍生物，其中藉由將存在之酸或鹼部分轉化為其鹽形式(例如藉由使游離鹼基團與合適的有機酸反應)來修飾母體化合物。醫藥學上可接受之鹽之實例包括但不限於鹼性殘基，諸如胺之無機酸鹽或有機酸鹽；酸性殘基，諸如羧酸之鹼金屬鹽或有機鹽；及其類似者。代表性酸加成鹽包括乙酸鹽、乙酸、己二酸鹽、褐藻酸鹽、抗壞血酸鹽、天冬胺酸鹽、苯磺酸鹽、苯磺酸、苯甲酸鹽、硫酸氫鹽、硼酸鹽、丁酸鹽、樟腦酸鹽、樟腦磺酸鹽、檸檬酸鹽、環戊烷丙酸鹽、二葡糖酸鹽、十二烷基硫酸鹽、乙磺酸鹽、反丁烯二酸鹽、葡庚糖酸鹽、甘油磷酸鹽、半硫酸鹽、庚酸鹽、己酸鹽、氫溴酸鹽、鹽酸鹽、氫碘酸鹽、2-羥基-乙磺酸鹽、乳糖酸鹽、乳酸鹽、月桂酸鹽、月桂基硫酸鹽、蘋果酸鹽、順丁烯二酸鹽、丙二酸鹽、甲磺酸鹽、2-萘磺酸鹽、菸鹼酸鹽、硝酸鹽、油酸鹽、草酸鹽、軟脂酸鹽、雙羥萘酸鹽、果膠酸鹽、過硫酸鹽、3-苯基丙酸鹽、磷酸鹽、苦味酸鹽、特戊酸鹽、丙酸鹽、硬脂酸鹽、丁二酸鹽、硫酸鹽、酒石酸鹽、硫氰酸鹽、甲苯磺酸鹽、十一烷酸鹽、戊酸鹽及其類似者。代表性鹼金屬鹽或鹼土金屬鹽包括鈉鹽、鋰鹽、鉀鹽、鈣鹽、鎂鹽及其類似者，以及無毒性銨、四級銨及胺陽離子，包括但不限於銨、四甲銨、四乙銨、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺、乙胺及其類似者。本發明之醫藥學上可接受之鹽包括例如由無毒無機酸或有機酸形成之母體化合物的習知無毒鹽。

【0861】溶劑合物可藉由自包括有機溶劑、水或其混合物之溶液結晶、再結晶或沈澱來進行製備。適合溶劑之實例為乙醇、水(例如單水合

物、二水合物及三水合物)、*N*-甲基吡咯啶酮(NMP)、二甲亞碸(DMSO)、*N*,*N*′-二甲基甲醯胺(DMF)、*N*,*N*′-二甲基乙醯胺(DMAC)、1,3-二甲基-2-咪唑啶酮(DMEU)、1,3-二甲基-3,4,5,6-四氫-2-(1H)-嘧啶酮(DMPU)、乙腈(ACN)、丙二醇、乙酸乙酯、苯甲醇、2-吡咯啶酮、苯甲酸苯甲酯及其類似者。當水為溶劑時，溶劑合物稱為「水合物」。

投與途徑

【0862】本文所描述之初始構築體、基準構築體及靶向系統可藉由產生治療有效結果之任何遞送途徑投與。此等包括但不限於：經腸(至腸中)、胃腸道、硬膜外(至硬腦膜中)、經口(藉助於口腔)、經皮、腦內(至腦中)、腦室內(至腦室中)、上表皮(塗覆至皮膚上)、皮內(至皮膚自身中)、皮下(在皮膚下)、經鼻投與(經由鼻)、靜脈內(至靜脈中)、靜脈內推注、靜脈內滴注、動脈內(至動脈中)、肌肉內(至肌肉中)、心內(至心臟中)、骨內輸注(至骨髓中)、鞘內(至脊椎管中)、實質內(至腦組織中)、腹膜內(輸注或注射至腹膜中)、膀胱內輸注、玻璃體內(經由眼睛)、海綿竇內注射(至病理腔中)、腔內(至陰莖基底中)、陰道內投與、子宮內、羊膜外投與、經皮(經由完好皮膚擴散以進行全身性分佈)、經黏膜(經由黏膜擴散)、經陰道、吹入(嗅吸)、舌下、唇下、灌腸劑、滴眼劑(至結膜上)、滴耳劑、經耳(在耳中或藉助於耳)、經頰(導引朝向頰部)、結膜、皮膚、牙齒(至一或多個牙齒)、電滲透、子宮頸內、竇道內、氣管內、體外、血液透析、浸潤、間質性、腹部內、羊膜內、關節內、膽管內、支氣管內、囊內、軟骨內(在軟骨內)、尾部內(在馬尾內)、腦池內(在小腦延髓大池內)、角膜內(在角膜內)、齒冠內、冠狀動脈內(在冠狀動脈內)、陰莖海綿體內(在陰莖海綿體之可膨脹空間內)、椎間盤內(在椎間盤內)、管內(在腺

管內)、十二指腸內(在十二指腸內)、硬膜內(在硬腦膜內或其下方)、表皮內(至表皮)、食管內(至食道)、胃內(在胃內)、齒齦內(在齒齦內)、回腸內(在小腸之遠端部分內)、病灶內(在局部病灶內或直接引入至局部病灶)、官腔內(在官腔內)、淋巴內(在淋巴內)、髓內(在骨骼之骨髓腔內)、腦脊膜內(在腦膜內)、心肌內(在心肌內)、眼內(在眼睛內)、卵巢內(在卵巢內)、心包內(在心包膜內)、胸膜內(在胸膜內)、前列腺內(在前列腺腺體內)、肺內(在肺或其支氣管內)、竇內(在鼻或眶周鼻竇內)、脊柱內(在脊柱內)、滑膜內(在關節之滑液腔內)、肌腱內(在肌腱內)、睾丸內(在睾丸內)、鞘內(在腦脊髓軸之任何層級處之腦脊髓液內)、胸內(在胸內)、小管內(在器官之小管內)、瘤內(在腫瘤內)、鼓室內(在中耳內)、血管內(在一或多個血管內)、室內(在室內)、離子電滲(藉助於電流，其中可溶性鹽之離子遷移至身體之組織中)、灌洗(沖刷或沖洗開放的傷口或身體腔)、喉部(直接在喉後)、鼻胃管(經由鼻且至胃中)、封閉敷裹技術(體表途徑投與，其接著由封閉該區域之敷料覆蓋)、眼用(至眼睛外部)、口咽(直接至口腔及咽)、非經腸、經皮、關節周、硬膜外、神經周、牙周、經直腸、呼吸道(藉由經口或經鼻吸入至呼吸道內以用於局部或全身性作用)、眼球後(腦橋後或眼球後)、軟組織、蛛膜下、結膜下、黏膜下、體表、經胎盤(穿過或跨過胎盤)、經氣管(穿過氣管壁)、經鼓膜(跨過或穿過鼓腔)、輸尿管(至輸尿管)、尿道(至尿道)、經陰道、尾部阻滯、診斷、神經阻滯、膽道灌注、心臟灌注、光除去法及脊椎。

【0863】 在一些實施例中，組合物可按允許其穿過血腦障壁、血管障壁或其他上皮障壁之方式進行投與。初始構築體、基準構築體及靶向系統可以任何適合之形式，呈液體溶液或懸浮液形式、呈適合於液態溶液或

呈液態溶液之懸浮液之固體形式投與。初始構築體、基準構築體及靶向系統可用任何適當及醫藥學上可接受之賦形劑調配。

【0864】 在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可經由單一投與途徑遞送至個體。

【0865】 在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可經由多位點投與途徑遞送至個體。個體可在2、3、4、5或超過5個位點處進行投與。

【0866】 在一些實施例中，可使用推注輸注向個體投與初始構築體、基準構築體及靶向系統。

【0867】 在一些實施例中，可使用持續遞送數分鐘、數小時或數天之時段，向個體投與初始構築體、基準構築體及靶向系統。輸注速率可視個體、分佈、調配物或另一遞送參數而改變。

【0868】 在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可藉由肌肉內遞送途徑遞送。肌肉內投與之非限制性實例包括靜脈內注射或皮下注射。

【0869】 在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可藉由經口投與遞送。經口遞送之非限制性實例包括消化道投與及經頰投與。

【0870】 在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可藉由眼內遞送途徑遞送。眼內遞送之非限制性實例包括玻璃體內注射。

【0871】 在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可藉由鼻內遞送途徑遞送。鼻內遞送之非限制性實例包括鼻滴劑或鼻噴霧劑。

【0872】在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可藉由周邊注射向個體投與。周邊注射之非限制性實例包括腹膜內、肌內、靜脈內、結膜或關節注射。

【0873】在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可藉由注射至腦脊髓液中遞送。遞送至腦脊髓液之非限制性實例包括鞘內及腦室內投與。

【0874】在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可藉由全身遞送來遞送。作為非限制性實例，全身遞送可藉由血管內投與進行。

【0875】在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可藉由顱內遞送向個體投與。

【0876】在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可藉由實質內投與向個體投與。

【0877】在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可藉由肌肉內投與向個體投與。

【0878】在一些實施例中，向個體投與初始構築體、基準構築體及靶向系統且轉導個體之肌肉。作為非限制性實例，初始構築體、基準構築體及靶向系統係藉由肌肉內投與而投與。

【0879】在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可藉由靜脈內投與向個體投與。

【0880】在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可藉由皮下投與向個體投與。

【0881】在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可

藉由體表投與向個體投與。

【0882】 在一些實施例中，初始構築體、基準構築體及靶向系統可藉由超過一種投與途徑遞送。

【0883】 本文所描述之初始構築體、基準構築體及靶向系統可結合一或多種初始構築體、基準構築體、靶向系統或治療劑或部分共投與。

VI. 遞送之目標區域、組織或細胞

【0884】 核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送可使用本文所描述之方法及靶向遞送系統定位至特定目標區域、組織或細胞。

腫瘤

【0885】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送可定位至腫瘤。腫瘤可為良性腫瘤或惡性腫瘤。

【0886】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送係定位至結締組織腫瘤，諸如但不限於成人纖維組織、胚胎(黏液瘤)纖維組織、脂肪組織、軟骨、骨骼及脊索。作為非限制性實例，腫瘤為位於成人纖維組織中之稱為纖維瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於成人纖維組織中之稱為纖維肉瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於胚胎纖維組織中之稱為黏液瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於胚胎纖維組織中之稱為黏液肉瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於脂肪組織中之稱為脂肪瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於脂肪組織中之稱為脂肪肉瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於軟骨中之稱為軟骨瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於軟骨中之稱為軟骨肉瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於骨骼中之稱為骨瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於骨骼中之稱

為骨肉瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於脊索中之稱為脊索瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於結締組織中之稱為纖維組織細胞瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於結締組織中之稱為惡性纖維組織細胞瘤的惡性腫瘤。

【0887】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送係定位至內皮及/或間皮腫瘤組織，諸如但不限於血管、淋巴管及間皮。作為非限制性實例，腫瘤為位於血管中之稱為血管瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於血管中之稱為血管外皮瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於血管中之稱為血管內皮瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於血管中之稱為血管肉瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於淋巴管中之稱為淋巴管瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於淋巴管中之稱為淋巴管肉瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於間皮中之稱為間皮瘤的惡性腫瘤。

【0888】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送係定位至血液及淋巴細胞組織，諸如但不限於造血細胞及淋巴組織。作為非限制性實例，腫瘤為位於造血細胞中之稱為白血病前期的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於造血細胞中之稱為骨髓增生病的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於造血細胞中之稱為白血病的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於淋巴組織中之稱為漿細胞增多的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於淋巴組織中之稱為漿細胞瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於淋巴組織中之稱為多發性骨髓瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於淋巴組織中之稱為霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin lymphoma)的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於淋巴

組織中之稱為非霍奇金氏淋巴瘤的惡性腫瘤。

【0889】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送係定位至肌肉組織，諸如但不限於平滑肌及橫紋肌。作為非限制性實例，腫瘤為位於平滑肌中之稱為平滑肌瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於平滑肌中之稱為平滑肌肉瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於橫紋肌中之稱為橫紋肌瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於橫紋肌中之稱為橫紋肌肉瘤的惡性腫瘤。

【0890】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送係定位至上皮細胞組織，諸如但不限於分層的鱗狀組織、腺上皮組織(例如肝臟、腎臟、膽管)、移行上皮組織、胎盤及睪丸。作為非限制性實例，腫瘤為位於分層的鱗狀組織中之稱為乳頭瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於分層的鱗狀組織中之稱為脂溢性角化症的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於分層的鱗狀組織中之稱為鱗狀細胞癌的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於分層的鱗狀組織中之稱為表皮樣癌瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於腺上皮組織中之稱為腺瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於肝臟腺上皮組織中之稱為肝腺瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於腎臟腺上皮組織中之稱為腎小管腺瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於膽管腺上皮組織中之稱為膽管腺瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於腺上皮組織中之稱為腺癌的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於肝臟腺上皮組織中之稱為肝癌的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於肝臟腺上皮組織中之稱為肝細胞癌的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於腎臟腺上皮組織中之稱為腎細胞癌的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫

瘤為位於腎臟腺上皮組織中之稱為腎上腺樣瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於膽管腺上皮組織中之稱為膽管癌的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於移行上皮組織中之稱為移行細胞乳頭瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於移行上皮組織中之稱為移行細胞癌的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於胎盤中之稱為水囊狀胎塊的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於胎盤中之稱為絨毛膜癌的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於睪丸中之稱為精原細胞瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於睪丸中之稱為胚胎細胞癌瘤的惡性腫瘤。

【0891】在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送係定位至神經組織，諸如但不限於神經膠質細胞、神經細胞、腦膜及神經鞘。作為非限制性實例，腫瘤為位於神經膠質細胞中之稱為神經膠質瘤(I-III級)的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於神經膠質細胞中之稱為多形性神經膠質瘤(I-III級)的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於神經膠質細胞中之稱為多形性膠質母細胞瘤(IV級)的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於神經細胞中之稱為神經節細胞瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於神經細胞中之稱為神經母細胞瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於神經細胞中之稱為神經管胚細胞瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於腦膜組織中之稱為脊膜瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於腦膜組織中之稱為惡性脊膜瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於神經鞘中之稱為神經鞘瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於神經鞘中之稱為神經鞘膜瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於神經鞘中之稱為神經纖維瘤的良

性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於神經鞘中之稱為惡性脊膜瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於神經鞘中之稱為惡性神經鞘瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於神經鞘中之稱為神經纖維肉瘤的惡性腫瘤。

【0892】在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送係定位至胺前驅體攝取及去羧基(APUD)系統，諸如但不限於垂體組織、副甲狀腺組織、甲狀腺組織、支氣管組織、腎上腺髓質組織、胰臟組織、胃及腸、頸動脈體及化學受體系統組織。APUD系統為具有內分泌功能且分泌多種小胺或多肽激素之一系列細胞。作為非限制性實例，腫瘤為位於垂體組織中之稱為嗜鹼性腺瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於垂體組織中之稱為嗜酸性腺瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於垂體組織中之稱為難染細胞腺瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於副甲狀腺中之稱為副甲狀腺腺瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於副甲狀腺中之稱為副甲狀腺癌瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於甲狀腺組織(C細胞)中之稱為c細胞增生的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於甲狀腺組織(C細胞)中之稱為甲狀腺髓性癌的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於支氣管內層(Kultschitzky細胞)中之稱為支氣管類癌的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於支氣管內層(Kultschitzky細胞)中之稱為燕麥細胞癌瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於腎上腺髓質中之稱為嗜鉻細胞瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於腎上腺髓質中之稱為惡性嗜鉻細胞瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於胰臟中之稱為胰島細胞腺瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於胰臟中之稱為胰島素瘤的良性腫

瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於胰臟中之稱為胃泌素瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於胰臟中之稱為胰島細胞癌的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於胃及腸中之稱為類癌的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於胃及腸中之稱為惡性類癌的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於頸動脈體及化學受體系統中之稱為化學受器瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於頸動脈體及化學受體系統中之稱為副神經節瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於頸動脈體及化學受體系統中之稱為惡性類癌的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於頸動脈體及化學受體系統中之稱為惡性副神經節瘤的惡性腫瘤。

【0893】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送係定位於神經脊源性細胞中，諸如但不限於產生色素之細胞(例如皮膚及眼睛)、周邊神經系統之神經鞘細胞及鱗狀上皮中之梅克爾(merkel)細胞。作為非限制性實例，腫瘤為位於產生色素之細胞(諸如皮膚及眼睛)中之稱為斑痣的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於產生色素之細胞(諸如皮膚及眼睛)中之稱為黑色素瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於周邊神經系統之神經鞘細胞中之稱為神經鞘瘤(schwannoma/neurilemmoma)的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於周邊神經系統之神經鞘細胞中之稱為惡性神經鞘瘤的惡性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為位於鱗狀上皮中之梅克爾細胞中之稱為梅克爾細胞贅瘤的惡性腫瘤。

【0894】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送係定位於乳房組織中。作為非限制性實例，腫瘤為稱為纖維腺瘤的良性腫瘤。作為非限制性實例，腫瘤為稱為葉狀囊肉瘤的惡性腫瘤。

【0895】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送係定位於腎原基(renal anlage)組織中。作為非限制性實例，腫瘤為稱為威爾姆氏腫瘤(Wilms tumor)的惡性腫瘤。

【0896】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送係定位於卵巢組織中。

【0897】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送係定位於睪丸組織中。

【0898】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送係定位於生殖細胞腫瘤組織中。生殖細胞腫瘤之非限制性實例包括精原細胞瘤、無性細胞瘤、絨毛膜癌、胚胎性癌、內胚層竇瘤及畸胎癌。

【0899】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送係定位於結締組織基質中。此等腫瘤之非限制性實例為塞特利氏-萊迪希氏細胞腫瘤(Sertoli-Leydig cell tumor)、卵巢男胚瘤、顆粒膜細胞腫瘤、門細胞腫瘤、脂質細胞腫瘤。

器官

【0900】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送可定位至器官。器官之非限制性實例包括肛管、動脈、升結腸、膀胱、骨髓、腦、支氣管、細支氣管、尿道球腺、毛細管、盲腸、小腦、腦半球、大腦、子宮頸、脈絡叢、陰蒂、顱神經、降結腸、間腦、十二指腸、耳、腸溶性神經系統、附睾、食道、外生殖器官、輸卵管、膽囊、神經節、味覺、腸相關淋巴組織、心臟、回腸、內生殖器官、間質、空腸、關節、腎、大腸、喉、韌帶、肝臟、肺、淋巴結、淋巴血管、乳腺、延髓、腸系膜、中腦、口腔、呼吸肌、鼻腔、神經、嗅覺、卵巢、胰臟、腮腺、陰

莖、咽、胎盤、腦橋、前列腺、直腸、唾液腺、陰囊、儲精囊、乙狀結腸、骨架(skeleton)、皮膚、小腸、脊椎神經、脾臟、胃、皮下組織、舌下腺、頜下腺、牙齒、肌腱、睪丸、腦幹、脊髓、腦室系統、胸腺、舌、扁桃體、氣管、橫結腸、輸尿管、尿道、子宮、陰道、輸精管、靜脈及外陰。

組織

【0901】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送可定位至組織。組織之非限制性實例包括腎上腺髓質、成人纖維組織、血管、骨骼、乳房、支氣管內層、頸動脈體、軟骨、結締組織、胚胎(黏液瘤)纖維組織、上皮細胞、上皮、脂肪、腺上皮(肝臟、腎臟、膽管)、性腺、造血細胞、淋巴管、淋巴組織、腦膜、間皮、肌肉、神經鞘、神經性、脊索、卵巢、胰臟、副甲狀腺、垂體、胎盤、腎原基、平滑肌、胃及腸、分層的鱗狀組織、橫紋肌、基質、睪丸、甲狀腺及移行上皮。作為非限制性實例，組織為結締組織。

細胞

【0902】 在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送可定位至特定細胞類型。細胞之非限制性實例包括脂肪細胞；腎上腺素神經細胞；α細胞；無軸突神經細胞；成釉細胞；晶狀體前上皮細胞；前部/中間垂體細胞；頂漿汗腺細胞；星形膠質細胞；柯蒂氏(corti)器官之聽覺內毛細胞；柯蒂氏器官之聽覺外毛細胞；b細胞；巴氏(bartholin's)腺細胞；角膜、舌、口腔、鼻腔、遠端肛管、遠端尿道及遠端陰道之基底細胞(幹細胞)；嗅上皮之基底細胞；籃狀細胞；嗜鹼性顆粒球及前驅細胞；β細胞；貝氏細胞(betz cell)；骨髓網狀組織纖維母細胞；柯蒂氏器官之邊

界細胞；邊界細胞；鮑曼氏(bowman's)腺細胞、棕色脂肪細胞、布氏(brunner's)腺細胞、尿道球腺細胞、叢生細胞(bushy cell)、c細胞、cajal-retzius細胞、心肌細胞(cardiac muscle cell)、心肌細胞(cardiac muscle cells)、車輪細胞、產生糖皮質激素之束狀帶之細胞、產生鹽皮質激素之束狀帶之細胞、產生雄激素之網狀帶之細胞、腎上腺皮層之細胞、室質母細胞、腺胞中央細胞、耳內耵聹腺細胞、枝形吊燈狀細胞、頸動脈體細胞之化學受體血管球細胞、主細胞、膽鹼能神經元、嗜鉻細胞、棒狀細胞(club cell)、冷敏感性一級感覺神經元、結締組織巨噬細胞(所有類型)、角膜纖維母細胞(角膜角化細胞)、分泌孕酮之破裂卵泡之黃體細胞、皮質毛幹細胞、促皮質激素細胞、含有晶狀體球蛋白之晶狀體纖維細胞、角質層毛幹細胞、細胞毒性t細胞、d細胞、δ細胞、樹突狀細胞、雙花束細胞、管細胞、外分泌性汗腺透明細胞、外分泌性汗腺暗色細胞、傳出管細胞、彈性軟骨軟骨細胞、內皮細胞、腸溶性神經膠質細胞、腸親鉻細胞、腸親鉻樣細胞、腸內分泌細胞、嗜酸性白血球顆粒球及前驅細胞、室管膜細胞、表皮基底細胞、表皮蘭格漢氏細胞(langerhans cell)、附睾基底細胞、附睾主要細胞、上皮網狀細胞、ε細胞、紅血球、纖維軟骨軟骨細胞、叉神經元、小窩細胞(foveolar cell)、g細胞、膽囊上皮細胞、生殖細胞、利特雷氏細胞(littre cell)腺、眼瞼中之莫耳細胞(moll cell腺、神經膠質細胞、高基氏體細胞、性腺基質細胞、促性腺素細胞(gonadotrope)、顆粒細胞、粒層細胞、粒層黃體素細胞、柵格細胞、頭朝向細胞及造血幹細胞。在一些實施例中，該至少一種細胞類型包含癌細胞。在一些實施例中，該至少一種細胞類型包含非癌細胞。在一些實施例中，該至少一種細胞類型包含癌及非癌類型兩者。在一些實施例中，該至少一種細胞類型之

癌狀態為未知的。

生理系統

【0903】在一些實施例中，核酸序列、多肽或肽及其調配物之遞送可定位至生理系統。生理系統之非限制性實例包括聽覺系統、心臟血管系統、中樞神經系統、化學受體系統、循環系統、消化系統、內分泌系統、排泄系統、外分泌系統、生殖器系統、表皮系統、淋巴系統、肌肉系統、肌肉骨胳系統、神經系統、周邊神經系統、腎系統、生殖系統、呼吸道系統、泌尿系統及視覺系統。

VII. 偵測方法及分析

【0904】包括靶向系統(例如候選物靶向系統及經驗證靶向系統)之向性探索平台之偵測可經由可基於使用追蹤系統選擇之多種技術(亦即，偵測技術或分析技術，兩者可在本文中互換使用)進行。

【0905】在一些實施例中，利用核成像技術偵測本文所描述之靶向系統。如本文所用，核成像技術意欲涵蓋利用放射性發射(自個體或外部來源發射)之任何成像、偵測、計數(couniting)或分選技術。非限制性地，核成像技術可包括X射線、磁共振成像(magnetic resonance imaging；MRI) (包括功能性磁共振成像(fMRI)及核磁共振成像)、電腦斷層攝影術(computed tomography；CT)、正電子發射斷層掃描(positron emission tomography；PET)、單光子發射電腦斷層攝影術(single-photon emission computed tomography；SPECT)、吸收成像或其任何組合。此等途徑之一般原理及程序為此項技術中已知的，參見Pérez-Medina等人, *Nuclear imaging approaches facilitating nanomedicine translation*. Advanced Drug Delivery Reviews 154-155 (2020) 123-141，由於其係關

於核成像技術，其內容以全文引用之方式併入本文中。

【0906】 在一些實施例中，本文所描述之靶向系統在個體中之偵測可利用MRI技術進行。此途徑可藉由已知或發現之任何方法進行。雖然不希望受理論所束縛，但MRI利用某些核種旋轉特徵之偵測。在一些實施例中，MRI結合本文所描述之靶向系統可用作無創偵測技術，其包含MRI對比劑，諸如基於釓之小分子、基於錳之小分子、鐵氧化物奈米粒子、基於^{19}F之化合物及其任何組合。作為一實例，MRI技術可允許活體內偵測個體之特定器官及組織中之靶向系統以及彼等分佈隨著時間推移的變化。

【0907】 在一些實施例中，本文所描述之靶向系統在個體中之偵測可利用CT技術進行。此途徑可藉由已知或發現之任何方法進行。雖然不希望受理論所束縛，但是CT利用X射線光子與物質之相互作用，CT結合靶向系統可用作無創偵測技術，其包含CT對比劑，諸如金高密度脂蛋白奈米粒子(Au-HDL)。作為一實例，CT技術可允許活體內偵測個體之特定器官及組織中之靶向系統以及彼等分佈隨著時間推移的變化。

【0908】 在一些實施例中，本文所描述之靶向系統在個體中之偵測可利用PET技術進行。此途徑可藉由已知或發現之任何方法進行。雖然不希望受理論所束縛，但PET利用自外源投與之放射學物質(亦即放射性示蹤劑)之光子發射之偵測。主要地，PET掃描器在正電子-電子湮沒後偵測以相反方向發射的兩個光子(重合事件)。PET結合靶向系統可用作創傷性或無創偵測技術，其包含適當放射性標記，諸如111In、99mTc、13N、68Ga、18F、64Cu、86Y、76Br、89Zr、72As、124I、74As、氟-18、鎵-68、氮-13、銅-64、溴-76、碘-125、砷-74、碳-11、碘-131、153Sm、177Lu、186Re、188Re、198Au及225Ac。此等標記可與結構元

件、貨物組分或兩者結合。可進行PET掃描以活體內偵測靶向系統在個體上之分佈(包括彼等分佈隨著時間推移之變化)或在個體之已切除樣品上之分佈。PET技術可允許自器官/組織層級降至細胞類型層級偵測個體中之靶向系統。一些PET技術可允許在胞內層級下偵測靶向系統。

【0909】 在一些實施例中，本文所描述之靶向系統在個體中之偵測可利用SPECT技術進行。此途徑可藉由已知或發現之任何方法進行。雖然不希望受理論所束縛，但SPECT利用自外源投與之放射物質(亦即放射性示蹤劑)之光子發射的偵測。主要地，SPECT掃描器偵測與核狀態轉移相關之X射線及γ光子。SPECT結合靶向系統可用作創傷性或無創偵測技術，其包含適當放射性標記，諸如111In、99mTc、13N、68Ga、18F、64Cu、86Y、76Br、89Zr、72As、124I、74As、氟-18、鎵-68、氮-13、銅-64、溴-76、碘-125、砷-74、碳-11、碘-131、153Sm、177Lu、186Re、188Re、198Au及225Ac。此等標記可與結構元件、貨物組分或兩者結合。可進行SPECT掃描以活體內偵測靶向系統在個體上之分佈(包括彼等分佈隨著時間推移之變化)或在個體之已切除樣品上之分佈。SPECT技術可允許自器官/組織層級降至細胞類型層級偵測個體中之靶向系統。一些SPECT技術可允許在胞內層級下偵測靶向系統。

【0910】 在一些實施例中，多核成像技術可與靶向系統一起使用，其包含單一追蹤系統。在一些實施例中，多核成像技術可與靶向系統一起使用，其包含多追蹤系統。

【0911】 在一些實施例中，利用光學成像技術偵測本文所描述之靶向系統。如本文所用，光學成像技術意欲涵蓋利用光子(自個體或外部來源發射)之光發射及特殊特性的任何成像、偵測、計數或分選技術。非限

制性地，光學成像技術可包括可見光顯微法、拉曼光譜法(Raman spectroscopy)、螢光顯微法、生物發光成像(BLI)、光同調斷層掃描或其任何組合。此等途徑之一般原理及程序為此項技術中已知的，參見*Drummen. Fluorescent Probes and Fluorescence (Microscopy) Techniques - Illuminating Biological and Biomedical Research.* Molecules 2012, 17, 14067-14090，Boutorine等人, *Fluorescent Probes for Nucleic Acid Visualization in Fixed and Live Cells*. Molecules 2013, 18, 15357-15397，及Juskowiak, *Nucleic acid-based fluorescent probes and their analytical potential*. Anal. Bioanal. Chem. (2011) 399:3157-3176，關於光學成像技術，其內容以全文引用之方式併入本文中。

【0912】在一些實施例中，本文所描述之靶向系統在個體中之偵測可利用可見螢光顯微法技術進行。螢光顯微法技術包括此項技術中已知之廣泛範圍之技術，包括但不限於共焦螢光顯微法、螢光反射成像、螢光分子斷層成像及Förster共振能量轉移(FRET)。一般而言，所有螢光顯微法技術均使用自內源性存在或外源投與之螢光化合物(亦即吸收光或其他電磁輻射且在較長波長下將其再發射之化合物)發射的光之偵測。螢光顯微法技術結合靶向系統可用作創傷性或無創偵測技術，其包含至少一種包含適當螢光化合物之追蹤系統。非限制性地，此類螢光化合物可包括綠色螢光蛋白、黃色螢光蛋白、紅色螢光蛋白、錫利、EBFP2、CFP、天藍、EGFP、EYFP、mOrange、mCherry、mPlum、NIR、iRFP、EosFP、PamCherry、Dronpa、Dreiklang、asFP595、mMaple、mGeo、mEos2、Dendra2、psCFP2、2,3,5,6-四咔唑-4-氰基-吡啶(CPy)、螢光奈米粒子、或螢光脂質、螢光素、TAMRA、Cy染料、德克薩斯紅、HEX、JOE、俄

勒岡綠、玫瑰紅6 G、香豆素、芘、DiOC6 (3,3′-二己基氧羰花青碘化物)或其任何組合。在一些實施例中，用於用螢光顯微法偵測之靶向系統將包含至少一種螢光團，其可包括但不限於量子點、香豆素、萘二甲醯亞胺、螢光素、氟硼吡咯、花青、二苯并哌喃、噁 吩、寡聚噻吩及酞花青衍生物(PcDer)。此等螢光化合物可併入靶向系統之結構中，作為貨物或有效負載負載，作為貨物或有效負載之產物表現或其任何組合。可進行螢光顯微法技術以活體內偵測靶向系統在個體上之分佈(包括彼等分佈隨著時間推移之變化)或在個體之已切除樣品上之分佈。螢光顯微法技術可允許自器官/組織層級降至細胞類型層級偵測個體中之靶向系統。一些螢光顯微法技術可允許在胞內層級下偵測靶向系統。在一些實施例中，螢光顯微法技術可用於利用螢光活化細胞分選(FACS)在投與後分選細胞之樣品。

【0913】 在一些實施例中，靶向系統在個體中之偵測可利用生物發光成像(BLI)技術進行。此途徑可藉由已知或發現之任何方法進行。雖然不希望受理論所束縛，但是BLI成像利用外源供應之化合物，其在生理條件下作為化學反應之產物發光。此等發射可經由光及螢光顯微法之各種技術偵測到。在一些實施例中，BLI技術可結合靶向系統使用，其包含生物發光化合物。此類化合物可併入奈米粒子中或作為貨物或有效負載以用於遞送後表現。在一些實施例中，生物發光化合物可包括但不限於螢光素酶，包括海腎螢光素酶、長腹水蚤螢光素酶、Nanoluc螢光素酶、螢火蟲螢光素酶、磕頭蟲螢光素酶或其任何組合。可進行BLI技術以活體內偵測向性探索平台在個體上之分佈(包括彼等分佈隨著時間推移之變化)或在個體之已切除樣品上之分佈。BLI可允許自器官/組織層級降至細胞類型層級偵測個體中之靶向系統。一些BLI技術可允許在胞內層級下偵測靶向系

統。在一些實施例中，BLI技術可包括用活體內成像系統(IVIS)定量來自不同器官之螢光素酶表現。

【0914】在一些實施例中，本文所描述之靶向系統之偵測可利用核苷酸定序技術進行。核苷酸定序技術可用於偵測樣品中核苷酸之已知序列之存在，諸如標識符(例如條碼)序列。可用於偵測靶向系統之核苷酸定序技術之非限制性實例包括高通量定序、PCR、深度定序及其任何組合。

【0915】在一些實施例中，本文所描述之靶向系統之偵測可藉由偵測包含編碼已知肽序列或蛋白質(亦即，報導序列)之功能性聚核苷酸(例如DNA、mRNA或oRNA)之追蹤系統的產物進行。在一些實施例中，功能性聚核苷酸可包含編碼獨特非功能性多肽序列(亦即，肽或蛋白質)之序列。在一些實施例中，報導序列可包含β-半乳糖苷酶(β-gal)序列。在一些實施例中，報導序列可包含eGFP；螢光素酶；基因編輯劑(例如cas9編輯、DNA讀出)；ox-40；β6整合素；CD45；具有(3x)-HA標籤、(在具有或不具有TEV蛋白酶位點)之(3x)-flag標籤或其任何組合的表面標記。在一些實施例中，報導序列可包含螢光素酶或螢光化合物序列。在一些實施例中，功能序列之表現及相關地靶向系統之存在，可藉由先前揭示之任何技術進行。在一些實施例中，偵測包含報導序列之追蹤系統之產物可使用已知或發現用於偵測表現之產物之任何方法進行。此類技術包括但不限於液/氣相層析法、質譜、光光譜法(吸光度)、凝膠電泳、定量酶聯免疫吸附分析(ELISA)、西方墨點法(Western blotting)、點漬墨點法、北方墨點法(Northern Blotting)、蛋白質免疫染色、蛋白質免疫沈澱或其任何組合。

【0916】在一些實施例中，本文所描述之靶向系統之偵測可藉由利用選擇用於尤其匹配所設計之追蹤系統的偵測系統進行。作為非限制性實

例，本文所描述之靶向系統可藉由電子顯微法、熱成像、超音波成像、光聲成像、實驗室分析及其任何組合偵測。

【0917】 在一些實施例中，本文所描述之靶向系統之偵測可藉由利用包括但不限於以下的細胞分選技術與包含被細胞分選方法識別之組分的追蹤系統奈米粒子組合來進行：磁性珠粒、流式細胞分析技術、用LC-MS/MS進行之肽之裂解、螢光活化細胞分選(FACS)或其任何組合。

【0918】 在一些實施例中，偵測技術可一次僅分析一種調配物或貨物。在一些實施例中，偵測技術可一次分析多種調配物或貨物。在一些實施例中，偵測技術可一次分析約1種調配物、2種調配物、3種調配物、4種調配物、5種調配物、6種調配物、7種調配物、8種調配物、9種調配物、10種調配物、11種調配物、12種調配物、13種調配物、14種調配物、15種調配物、16種調配物、17種調配物、18種調配物、19種調配物、20種調配物、21種調配物、22種調配物、23種調配物、24種調配物、25種調配物或更多。在一些實施例中，偵測技術可分析約1至100種之間的調配物。作為非限制性實例，偵測技術可分析約1-10、1-20、1-30、1-40、1-50、1-60、1-70、1-80或1-90種調配物。在一些實施例中，偵測技術可一次分析超過100種調配物。

【0919】 在一些實施例中，可分析靶向系統之庫。作為一非限制性實例，靶向系統可具有相同調配物及不同標識符序列或部分。作為另一非限制性實例，靶向系統可具有相同調配物及相同標識符序列或部分。作為另一非限制性實例，靶向系統可具有不同調配物及相同標識符序列或部分。作為另一非限制性實例，靶向系統可具有不同調配物及不同標識符序列或部分。

【0920】 在一些實施例中，靶向系統之庫可具有一種標識符序列或部分用於分析。

【0921】 在一些實施例中，靶向系統之庫可具有至少兩種標識符序列或部分用於分析。該庫可具有2-10種標識符序列或部分用於分析。該庫可具有2-100種標識符序列或部分用於分析。該庫可具有2-500種標識符序列或部分用於分析。該庫可具有100-500種標識符序列或部分用於分析。該庫可具有2-1000種標識符序列或部分用於分析。該庫可具有2-2500種標識符序列或部分用於分析。該庫可具有1000-2500種標識符序列或部分用於分析。該庫可具有1000-5000種標識符序列或部分用於分析。該庫可具有2500-5000種標識符序列或部分用於分析。該庫可具有4000-5000種標識符序列或部分用於分析。

【0922】 在一些實施例中，靶向系統之庫可具有至少一個調配於奈米粒子遞送載體中之初始構築體或基準構築體。該庫可具有1-10000個奈米粒子。該庫可具有1-10個奈米粒子。該庫可具有1-100個奈米粒子。該庫可具有1-500 個奈米粒子。該庫可具有100-500個奈米粒子。該庫可具有1-1000個奈米粒子。該庫可具有100-500個奈米粒子。該庫可具有1000-5000個奈米粒子。該庫可具有2500-5000個奈米粒子。該庫可具有1-5000個奈米粒子。該庫可具有1-10000個奈米粒子。該庫可具有5000-10000個奈米粒子。作為非限制性實例，奈米粒子可為脂質奈米粒子。

VIII.使用方法

【0923】 在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作用於診斷、預防、治療及/或管理疾病、病症及病狀之治療劑，或用作診斷劑。該治療劑可用於個人化醫療、免疫腫瘤學、癌症、疫苗、基因編輯

(例如CRISPR)中。

【0924】 在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用於診斷目的或作為診斷工具。

【0925】 在一些實施例中，本文所描述之遞送系統可用於治療經食品傳播的病痛、胃腸炎、傳染病、忽略的局部疾病、熱帶疾病、病媒感染疾病、毒素暴露。

【0926】 醫藥組合物可如PCT公開案WO2012135805中所描述進行遞送，其以全文引用的方式併入本文中。

【0927】 本發明提供包含向有需要之個體投與醫藥組合物之方法。醫藥組合物可使用有效預防、治療、診斷或成像疾病、病症及/或病狀之任何量及任何投與途徑向個體投與。視諸如但不限於個體之物種、年齡及一般狀況、疾病之嚴重程度、特定組合物、其投與模式、其活動模式及其類似因素而定，所需之精確量將因個體而異。可向動物，諸如哺乳動物(例如人類、馴養動物、貓、狗、猴、小鼠、大鼠等)投與醫藥組合物。醫藥組合物之有效負載為聚核苷酸。

【0928】 在一些實施例中，向人類投與醫藥組合物、預防組合物、診斷組合物或其成像組合物。

【0929】 在一些實施例中，藉由以下多種途徑中之一或多者投與活性劑，包括但不限於：局部、經口、靜脈內、肌肉內、動脈內、髓內、鞘內、皮下、室內、經皮、皮間、經直腸、陰道內、腹膜內、體表(例如藉由散劑、軟膏、乳膏、凝膠、洗劑及/或滴劑)、黏膜、鼻、經頰、經腸、玻璃體、腫瘤內、舌下；藉由氣管內滴注、支氣管滴注及/或吸入；作為經口噴霧、鼻用噴霧、及/或氣溶膠，及/或經由門靜脈導管。

【0930】 在一些實施例中，藉由全身性靜脈內注射投與活性劑。

【0931】 在一些實施例中，靜脈內及/或經口投與活性劑。

【0932】 在具體實施例中，活性劑可以允許活性劑穿過血腦障壁、血管障壁或其他上皮細胞障壁之方式投與。

【0933】 可根據已知技術使用適合之分散劑、潤濕劑及/或懸浮劑來調配可注射製劑，例如無菌可注射水性或油性懸浮液。無菌可注射製劑可為於無毒非經腸可接受之稀釋劑及/或溶劑中的無菌可注射溶液、懸浮液及/或乳液，例如呈於1,3-丁二醇中之溶液形式。在可接受之媒劑及溶劑中，可使用的為水、林格氏溶液(Ringer's solution)、U.S.P.及等張氯化鈉溶液。無菌不揮發性油習知地用作溶劑或懸浮介質。出於此目的，可採用任何溫和的不揮發性油，包括合成單甘油酯或二甘油酯。諸如油酸之脂肪酸可用於製備可注射劑。

【0934】 可例如藉由經由細菌截留過濾器過濾，及/或藉由併入在使用之前可溶解或分散於無菌水或其他無菌可注射介質中之呈無菌固體組合物形式之滅菌劑，來將可注射調配物滅菌。

【0935】 用於局部、體表及/或經皮投與醫藥組合物之劑型可包括軟膏、糊劑、乳膏、洗劑、凝膠、散劑、溶液、噴霧劑、吸入劑及/或貼片。另外，本發明涵蓋經皮貼片之用途，其通常具有向身體提供可控制遞送化合物之附加優勢。此類劑型可例如藉由將化合物溶解及/或分配於適當介質中來製備。或者或另外，速率可藉由提供速率控制膜及/或藉由將化合物分散於聚合物基質及/或凝膠中來控制。

【0936】 適用於體表投與之調配物包括但不限於液體及/或半液體製劑，諸如擦劑、洗劑、水包油及/或油包水乳液，諸如乳膏、軟膏及/或糊

劑，及/或溶液及/或懸浮液。舉例而言，體表可投與之調配物可包含約1%至約10% (w/w)活性成分，但活性成分之濃度可高達活性成分在溶劑中之溶解限度。體表投與之調配物可進一步包含本文所描述之額外成分中之一或多者。

【0937】 醫藥組合物可以適合於經眼投與之調配物形式製備、封裝及/或出售。此類調配物可以例如呈滴眼劑形式，包括例如活性成分於水性或油性液體賦形劑中的0.1/1.0% (w/w)溶液及/或懸浮液。此類滴劑可進一步包含緩衝劑、鹽及/或本文所描述之任何額外成分中之一或多種其他成分。適用的其他可眼內投與調配物包括包含呈微晶形式及/或脂質體製劑形式之活性成分的彼等調配物。本發明範疇內涵蓋滴耳劑及/或滴眼劑。

【0938】 一般而言，大部分適當投與途徑將視多種因素而定，包括待遞送之活性劑之性質(例如其在胃腸道、血流等之環境中之穩定性)、患者之狀況(例如患者是否能夠耐受特定投與途徑)等。本發明涵蓋考量藥物遞送科學中之可能進展，藉由任何適當途徑對活性劑之遞送。

【0939】 在某些實施例中，根據本發明之醫藥組合物可以足夠遞送以下之劑量水準投與：每天約0.0001 mg/kg至約100 mg/kg、約0.01 mg/kg至約50 mg/kg、約0.1 mg/kg至約40 mg/kg、約0.5 mg/kg至約30 mg/kg、約0.01 mg/kg至約10 mg/kg、約0.1 mg/kg至約10 mg/kg或約1 mg/kg至約25 mg/kg之個體體重，一天一或多次，以獲得所需治療、診斷或預防作用。所需劑量可一天三次、一天兩次、一天一次、每隔一天、每三天、每週、每兩週、每三週或每四週遞送。在某些實施例中，所需劑量可使用多次投與進行遞送(例如兩次、三次、四次、五次、六次、七次、

八次、九次、十次、十一次、十二次、十三次、十四次或更多次投與)。當採用多次投與時，可使用分次給藥方案，諸如本文所描述之彼等者。

【0940】 根據本發明，以分次劑量方案投與活性劑可在哺乳動物個體中產生較高含量之蛋白質。如本文所用，「分次劑量(split dose)」為將單一單位劑量或每日總劑量分成兩個或更多個劑量。如本文所用，「單一單位劑量」為以一個劑量/一次性/在單一途徑/單一接觸點中投與(亦即，單次投與事件)的任何治療劑之劑量。如本文所用，「每日總劑量」為在24小時時段中給定或規定之量。其可以單一單位劑量形式進行投與。在一個實施例中，本發明之活性劑係以分次劑量向個體投與。在一些實施例中，活性劑係調配於僅緩衝液中或本文所描述之調配物中。

【0941】 本發明之LNP可與一或多個其他治療劑、預防劑、診斷劑或造影劑組合使用或投與。「與……組合」不意欲暗示藥劑必須同時投與及/或調配成一起遞送，但此等遞送方法屬於本發明之範疇內。醫藥組合物可與一或多種其他所需治療或醫療程序同時投與、在其之前或之後投與。一般而言，各藥劑將以針對彼藥劑所確定的劑量及/或時間表來投與。在一些實施例中，本發明涵蓋將醫藥組合物、預防組合物、診斷組合物或成像組合物與可改良其生物可利用性、降低及/或調節其代謝、抑制其排泄及/或調節其在體內之分佈的藥劑組合遞送。

【0942】 將進一步瞭解，組合使用之治療劑、預防劑、診斷劑或成像活性劑可一起在單一醫藥組合物中投與或單獨地在不同醫藥組合物中投與。一般而言，吾人預期，組合使用之治療劑係以不超過其單獨使用量之量使用。在一些實施例中，組合中之用量將低於單獨使用量。在一個實施例中，組合(各自或一起)可根據本文所描述之分次給藥方案投與。

【0943】 用於組合方案中之療法(治療劑或程序)之特定組合將考慮所需治療劑及/或程序之相容性以及欲達成之所需治療作用。亦應瞭解，所採用之療法可達成針對相同病症之所要作用(例如根據本發明之適用於治療癌症之醫藥組合物可與化學治療劑同時投與)，或其可達成不同作用(例如控制任何副作用)。

【0944】 含有本文揭示之LNP之醫藥組合物經調配以用於如下投與：肌肉內、動脈內、眼內、經陰道、經直腸、腹膜內、靜脈內、鼻內、皮下、內窺鏡地、透皮、肌肉內、腦室內、皮內、鞘內、體表(例如藉由散劑、軟膏、乳膏、凝膠、洗劑及/或滴劑)、經黏膜、鼻、經腸、瘤內、藉由氣管內滴注、支氣管滴注及/或吸入；鼻用噴霧及/或氣溶膠、及/或經由門靜脈導管。

【0945】 醫藥組合物亦可經調配用於以此項技術中之若干方式中之任一者直接遞送至器官或組織，該等方式包括但不限於：直接浸泡或沐浴，經由導管，藉由凝膠、散劑、軟膏、乳膏、凝膠、洗劑及/或滴劑，藉由使用塗佈或浸漬有醫藥組合物之基板，諸如織物或可生物降解材料，及其類似方式。在一些實施例中，醫藥組合物經調配以用於延長釋放。在具體實施例中，活性劑及/或其醫藥、預防、診斷或成像組合物可以允許活性劑穿過血腦障壁、血管障壁或其他上皮細胞障壁之方式投與。

【0946】 在本發明之一些態樣中，本發明之活性劑空間上滯留於目標組織內或其附近。提供將醫藥組合物提供至哺乳動物個體之目標組織之方法，其係藉由使目標組織(其含有一或多個目標細胞)與醫藥組合物在使得醫藥組合物，尤其醫藥組合物之活性劑組分實質上滯留於目標組織中之條件下接觸，意謂至少10、20、30、40、50、60、70、80、85、90、

95、96、97、98、99、99.9、99.99或大於99.99%之醫藥組合物滯留於目標組織中。有利的是，滯留係藉由量測存在於該醫藥組合物中之進入一或多種目標細胞之活性劑之組分的量測定。舉例而言，在投與後之一段時間時，胞內存在至少1、5、10、20、30、40、50、60、70、80、85、90、95、96、97、98、99、99.9、99.99或大於99.99%之向個體投與之活性劑。

【0947】 本發明之態樣係針對將醫藥組合物提供至哺乳動物個體之目標組織或器官之方法，其係藉由使目標組織(含有一或多個目標細胞)或器官(含有一或多個目標細胞)與醫藥組合物在使得醫藥組合物實質上滯留於目標組織或器官中之條件下接觸。醫藥組合物含有有效量之活性劑。

【0948】 可肌肉內及/或皮下投與之醫藥組合物可包括但不限於聚合物、共聚物及凝膠。聚合物、共聚物及/或凝膠可進一步調整以藉由調節諸如但不限於分子量、粒徑、有效負載及/或單體之比率之因素而修改釋放動力學。作為非限制性實例，肌肉內及/或皮下投與之調配物可包括共聚物，諸如聚(乳酸-共-乙醇酸)。

【0949】 本文所描述之醫藥組合物之定位遞送可藉由諸如但不限於體表遞送、眼部遞送、經皮遞送及其類似者之方法投與。醫藥組合物亦可局部投與至通常不可用於定位遞送之身體之部分，諸如但不限於當個體身體在治療期間對環境開放時。醫藥組合物可進一步藉由用醫藥組合物沐浴、浸泡及/或圍繞該身體部分來遞送。

【0950】 然而，本發明涵蓋考量藥物遞送科學中之可能進展，藉由任何適當途徑遞送本文揭示之活性劑及/或其醫藥、預防、診斷或成像組合物。

ii. 醫藥組合物

【0951】在一些實施例中，奈米粒子包括可離子化脂質、磷脂、PEG脂質及結構性脂質。在某些實施例中，奈米粒子組合物之脂質組分包括約30 mol%至約60 mol%可離子化脂質、約0 mol%至約30 mol%磷脂、約18.5 mol%至約48.5 mol%結構性脂質及約0 mol%至約10 mol% PEG脂質，其限制條件為總mol%不超過100%。在一些實施例中，奈米粒子組合物之脂質組分包括約35 mol%至約55 mol%可離子化脂質、約5 mol%至約25 mol%磷脂、約30 mol%至約40 mol%結構性脂質及約0 mol%至約10 mol% PEG脂質。在一特定實施例中，脂質組分包括約50 mol%可離子化脂質、約10 mol%磷脂、約38.5 mol%結構性脂質及約1.5 mol% PEG脂質。在另一特定實施例中，脂質組分包括約40 mol%可離子化脂質、約20 mol%磷脂、約38.5 mol%結構性脂質及約1.5 mol% PEG脂質。在另一特定實施例中，脂質組分包括約48.5 mol%可離子化脂質、約10 mol%磷脂、約40 mol%結構性脂質及約1.5 mol% PEG脂質。在另一特定實施例中，脂質組分包括約48.5 mol%可離子化脂質、約10 mol%磷脂、約39 mol%結構性脂質及約2.5 mol% PEG脂質。在一些實施例中，磷脂可為DOPE或DSPC。在其他實施例中，PEG脂質可為PEG-DMG，及/或結構性脂質可為膽固醇。奈米粒子組合物中活性劑之量可視奈米粒子組合物之尺寸、組成、所需目標及/或應用或其他特性而定以及視活性劑之特性而定。舉例而言，適用於奈米粒子組合物中之活性劑之量可視活性劑之尺寸、序列及其他特性而定。奈米粒子組合物中活性劑及其他元件(例如脂質)之相對量亦可變化。在一些實施例中，奈米粒子組合物中脂質組分與酶之wt/wt比率可為約5:1至約60:1，諸如5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、

10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、25:1、30:1、35:1、40:1、45:1、50:1及60:1。奈米粒子組合物中酶之量可例如使用吸收光譜分析(例如紫外線可見光譜)來量測。

【0952】在一些實施例中，包含本發明之活性劑之奈米粒子組合物經調配以提供特定E:P比率。組合物之E:P比率係指一或多種脂質中之氮原子與RNA活性劑中之磷酸酯基團之數目的莫耳比。一般而言，較低E:P比率為較佳的。一或多種酶、脂質及其量可經選擇以提供約2:1至約30:1之E:P比率，諸如2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、12:1、14:1、16:1、18:1、20:1、22:1、24:1、26:1、28:1或30:1。在某些實施例中，E:P比率可為約2:1至約8:1。在其他實施例中，E:P比率為約5:1至約8:1。舉例而言，E:P比率可為約5.0:1、約5.5:1、約5.67:1、約6.0:1、約6.5:1或約7.0:1。

【0953】奈米粒子組合物之特徵可視其組分而定。舉例而言，包括膽固醇作為結構性脂質之奈米粒子組合物可具有與包括不同結構性脂質之奈米粒子組合物不同的特徵。類似地，奈米粒子組合物之特徵可視其組分之絕對量或相對量而定。舉例而言，包括較高莫耳分率之磷脂的奈米粒子組合物可具有與包括較低莫耳分率之磷脂的奈米粒子組合物不同的特徵。特徵亦可視製備奈米粒子組合物之方法及條件而變化。奈米粒子組合物可由各種方法表徵。舉例而言，顯微法(例如，穿透電子顯微術或掃描電子顯微法)可用於檢驗奈米粒子組合物之形態及尺寸分佈。動態光散射或電位測定法(例如，電位滴定)可用於量測ζ電位。動態光散射亦可用於測定粒徑。諸如Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Worcestershire, UK)之儀器亦可用於量測奈米粒子組合物之多重特徵，諸

如粒徑、多分散性指數及ζ電位。

【0954】 奈米粒子組合物之平均尺寸可在十多奈米至一百多奈米之間，例如藉由動態光散射(DLS)來量測。舉例而言，平均尺寸可為約40 nm至約150 nm，諸如約40 nm、45 nm、50 nm、55 nm、60 nm、65 nm、70 nm、75 nm、80 nm、85 nm、90 nm、95 nm、100 nm、105 nm、110 nm、115nm、120 nm、125 nm、130 nm、135 nm、140 nm、145 nm或150 nm。在一些實施例中，奈米粒子組合物之平均尺寸可為約50 nm至約100 nm、約50 nm至約90 nm、約50 nm至約80 nm、約50 nm至約70 nm、約50 nm至約60 nm、約60 nm至約100 nm、約60 nm至約90 nm、約60 nm至約80 nm、約60 nm至約70 nm、約70 nm至約100 nm、約70 nm至約90 nm、約70 nm至約80 nm、約80 nm至約100 nm、約80 nm至約90 nm或約90 nm至約100 nm。在某些實施例中，奈米粒子組合物之平均尺寸可為約70 nm至約100 nm。在一特定實施例中，平均尺寸可為約80 nm。在其他實施例中，平均尺寸可為約100 nm。

【0955】 奈米粒子組合物可為相對均質的。多分散性指數可用於指示奈米粒子組合物之均質性，例如奈米粒子組合物之粒徑分佈。小(例如小於0.3)多分散性指數一般指示窄粒徑分佈。奈米粒子組合物可具有約0至約0.25之多分散性指數，諸如0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.10、0.11、0.12、0.13、0.14、0.15、0.16、0.17、0.18、0.19、0.20、0.21、0.22、0.23、0.24或0.25。

【0956】 奈米粒子組合物之ζ電位可用於指示組合物之動電位。舉例而言，ζ電位可描述奈米粒子組合物之表面電荷。具有相對低之正或負電荷之奈米粒子組合物一般為合乎需要的，此係因為更多高電荷物種可能

會不合需要地與細胞、組織及體內其他元件相互作用。在一些實施例中，奈米粒子組合物之ζ電位可為約-10 mV至約+20 mV、約-10 mV至約+15 mV、約-10 mV至約+10 mV、約-10 mV至約+5 mV、約-10 mV至約0 mV、約-10 mV至約-5 mV、約-5 mV至約+20 mV、約-5 mV至約+15 mV、約-5 mV至約+10 mV、約-5 mV至約+5 mV、約-5 mV至約0 mV、約0 mV至約+20 mV、約0 mV至約+15 mV、約0 mV至約+10 mV、約0 mV至約+5 mV、約+5 mV至約+20 mV、約+5 mV至約+15 mV或約+5 mV至約+10 mV。

【0957】 有效負載之包封效率描述在製備後包封或另外與奈米粒子組合物結合之有效負載相對於所提供之初始量的量。包封效率宜較高(例如接近100%)。可例如藉由在用一或多種有機溶劑或清潔劑分解奈米粒子組合物之前及之後將含有奈米粒子組合物之溶液中之有效負載的量進行比較來量測包封效率。螢光可用於量測溶液中之游離有效負載之量。對於本文所描述之奈米粒子組合物而言，治療劑及/或預防劑之包封效率可為至少50%，例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。在一些實施例中，包封效率可為至少80%。在某些實施例中，包封效率可為至少90%。

【0958】 脂質及其製備方法在例如以下中揭示：美國專利第8,569,256號、第5,965,542號；及美國專利公開案第2016/0199485號、第2016/0009637 號 、 第 2015/0273068 號 、 第 2015/0265708 號 、 第 2015/0203446 號 、 第 2015/0005363 號 、 第 2014/0308304 號 、 第 2014/0200257 號 、 第 2013/086373 號 、 第 2013/0338210 號 、 第

2013/0323269 號、第 2013/0245107 號、第 2013/0195920 號、第 2013/0123338 號、第 2013/0022649 號、第 2013/0017223 號、第 2012/0295832 號、第 2012/0183581 號、第 2012/0172411 號、第 2012/0027803 號、第 2012/0058188 號、第 2011/0311583 號、第 2011/0311582 號、第 2011/0262527 號、第 2011/0216622 號、第 2011/0117125 號、第 2011/0091525 號、第 2011/0076335 號、第 2011/0060032 號、第 2010/0130588 號、第 2007/0042031 號、第 2006/0240093 號、第 2006/0083780 號、第 2006/0008910 號、第 2005/0175682 號、第 2005/017054 號、第 2005/0118253 號、第 2005/0064595 號、第 2004/0142025 號、第 2007/0042031 號、第 1999/009076號；及PCT公開案第WO 99/39741號、第WO 2017/117528號、第WO 2017/004143號、第WO 2017/075531號、第WO 2015/199952號、第WO 2014/008334號、第WO 2013/086373號、第WO 2013/086322號、第WO 2013/016058號、第WO 2013/086373號、第WO2011/141705號及第WO 2001/07548號；以及Semple等人，Nature Biotechnology, 2010, 28, 172-176，其全部揭示內容均出於所有目的以全文引用之方式併入本文中。

【0959】 奈米粒子組合物可包括適用於醫藥組合物中之任何物質。舉例而言，奈米粒子組合物可包括一或多種醫藥學上可接受之賦形劑或附屬成分，諸如但不限於一或多種溶劑、分散介質、稀釋劑、分散助劑、懸浮助劑、造粒助劑、崩解劑、填充劑、助滑劑、液體媒劑、黏合劑、界面活性劑、等張劑、增稠或乳化劑、緩衝劑、潤滑劑、油、防腐劑及其他物種。亦可包括賦形劑，諸如蠟、脂、著色劑、包衣劑、調味劑及芳香劑。

醫藥學上可接受之賦形劑為此項技術中熟知的(參見例如Remington之*The Science and Practice of Pharmacy*, 第21版, A. R. Gennaro: Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, Md., 2006)。

iii.疾病、病症及其他用途

在細胞中產生多肽之方法

【0960】 本發明提供在哺乳動物細胞中產生所關注多肽之方法。產生多肽之方法涉及使細胞與本發明之調配物接觸，該調配物包含包括編碼所關注多肽之mRNA的LNP。在使細胞與脂質奈米粒子接觸後，mRNA可攝入細胞中且在其中轉譯以產生所關注多肽。

【0961】 一般而言，使哺乳動物細胞與包括編碼所關注多肽之mRNA之LNP接觸之步驟可在活體內、離體、在培養物中或活體外進行。與細胞接觸之脂質奈米粒子之量及/或其中mRNA之量可視以下而定：所接觸之細胞或組織的類型、投與手段、脂質奈米粒子及其中mRNA之生理化學特徵(例如尺寸、電荷及化學組成)以及其他因素。一般而言，有效量之脂質奈米粒子將允許在細胞中高效產生多肽。效率之量度可包括多肽轉譯(由多肽表現指示)、mRNA降解之水準及免疫反應指示物。

【0962】 使包括mRNA之LNP與細胞接觸之步驟可涉及或引起轉染。LNP之脂質組分中包括之磷脂可例如藉由與細胞或胞內膜相互作用及/或與其融合促進轉染及/或增加轉染效率。轉染可允許在細胞內轉譯mRNA。

【0963】 在一些實施例中，本文所描述之脂質奈米粒子可在治療上使用。舉例而言，LNP中所含之mRNA可編碼治療性多肽(例如在可轉譯區域中)，且在接觸細胞及/或進入(例如轉染)至細胞中後產生治療性多

肽。在其他實施例中，LNP中所含之mRNA可編碼可改善或增加個體之免疫性的多肽。在一些實施例中，mRNA可編碼顆粒球群落刺激因子或曲妥珠單抗(trastuzumab)。

【0964】 在一些實施例中，LNP中所含之mRNA可編碼可置換一或多種在與脂質奈米粒子接觸之細胞中可實質上不存在的多肽的重組多肽。該一或多種實質上不存在的多肽可能歸因於編碼基因或其調節路徑之基因突變而缺乏。或者，由mRNA之轉譯產生之重組多肽可拮抗細胞中、其表面上存在或其分泌之內源蛋白之活性。拮抗重組多肽可為對抗由內源蛋白之活性，諸如由突變引起之改變的活性或定位引起之不利影響所需的。在另一替代方案中，由mRNA之轉譯產生之重組多肽可間接或直接拮抗細胞中、其表面上存在或其分泌之生物學部分之活性。拮抗的生物學部分可包括但不限於脂質(例如膽固醇)、脂蛋白(例如低密度脂蛋白)、核酸、碳水化合物及小分子毒素。由mRNA之轉譯產生之重組多肽可經工程改造以用於位於細胞內，諸如位於特定隔室，諸如核內，或可經工程改造以用於自細胞分泌或用於易位至細胞之質膜。

【0965】 在一些實施例中，使細胞與包括mRNA之LNP接觸可降低細胞對於外源核酸之先天性免疫反應。可使細胞與包括第一量之包括可轉譯區域之第一外源性mRNA的第一脂質奈米粒子接觸，且可測定細胞對於第一外源性mRNA之先天性免疫反應水準。隨後，可使細胞與包括第二量之第一外源性mRNA的第二組合物接觸，相較於第一量，該第二量為更少量之第一外源性mRNA。或者，第二組合物可包括第一量之不同於第一外源性mRNA之第二外源性mRNA。使細胞與第一及第二組合物接觸之步驟可重複一或多次。另外，細胞中產生多肽(例如轉譯)之效率可視情況測

定，且可使細胞與第一及/或第二組合物反覆地再接觸，直至達成目標蛋白產生效率。

將治療劑遞送至細胞及器官之方法

【0966】 本文提供治療疾病或病症之方法，該等方法包含向有需要之個體投與本發明之醫藥組合物，諸如包含本文所描述之LNP的醫藥組合物。

【0967】 本發明提供將活性劑及/或預防性(諸如核酸)遞送至哺乳動物細胞或器官之方法。將治療劑及/或預防劑遞送至細胞涉及向個體投與包含包括治療劑及/或預防劑(諸如核酸)之LNP的本發明之調配物，其中投與組合物涉及使細胞與組合物接觸。在一些實施例中，可將蛋白質、細胞毒性劑、放射性離子、化學治療劑或核酸(諸如RNA，例如mRNA)遞送至細胞或器官。在治療劑及/或預防劑為mRNA之情況下，在使細胞與脂質奈米粒子接觸後，可轉譯mRNA可在細胞中轉譯以產生所關注多肽。然而，亦可將實質上不可轉譯之mRNA遞送至細胞。實質上非可轉譯mRNA可適用作疫苗，及/或可螯合細胞之轉譯組分以降低其他物種在細胞中之表現。

【0968】 在一些實施例中，LNP可靶向特定類型或類別之細胞(例如特定器官或其系統之細胞)。在一些實施例中，可將包括所關注之治療劑及/或預防劑之LNP特異性地遞送至哺乳動物肝臟、腎臟、脾臟、股骨或肺。「特異性遞送」至特定類別之細胞、器官或其系統或群組暗示，例如在向哺乳動物投與LNP後，遞送至所關注目的地(例如組織)之包括治療劑及/或預防劑之脂質奈米粒子的比例相對於其他目的地更高。在一些實施例中，相較於另一目的地(例如脾臟)，特異性遞送可引起所靶向目的地

(例如所關注組織，諸如肝臟)之每1 g組織的治療劑及/或預防劑的量大於2倍、5倍、10倍、15倍或20倍增加。在一些實施例中，所關注組織選自由以下組成之群：肝臟、腎臟、肺、脾臟、股骨、血管(例如冠狀動脈內或股動脈內)或腎臟中之血管內皮，及腫瘤組織(例如經由瘤內注射)。

【0969】 作為靶向或特異性遞送之另一實例，LNP中可包括編碼蛋白結合搭配物(例如抗體或其功能片段、骨架蛋白質或肽)或細胞表面上之受體的mRNA。mRNA可另外或替代地用於引導脂質、碳水化合物或其他生物學部分之合成及胞外定位。或者，LNP之其他治療劑及/或預防劑或元件(例如脂質或配體)可基於其針對特定受體(例如低密度脂蛋白受體)之親和力進行選擇，以使得LNP可更容易地與包括受體之目標細胞群體相互作用。在一些實施例中，配體可包括但不限於特異性結合對之成員、抗體、單株抗體、Fv片段、單鏈Fv (scFv)片段、Fab'片段、F(ab')2片段、單域抗體、駱駝化抗體及其片段、人源化抗體及其片段以及其多價形式；多價結合試劑，包括單或雙特異性抗體，諸如二硫鍵穩定的Fv片段、scFv串接體、雙功能抗體、三功能抗體或四功能抗體；及適體、受體及融合蛋白。

【0970】 在一些實施例中，配體可為表面結合的抗體，其可允許調諧細胞靶向特異性。此尤其適用，因為可產生針對所需靶向位點之所關注抗原決定基的高度特異性抗體。在一些實施例中，多種抗體在細胞表面上表現，且各抗體針對所需目標可具有不同特異性。此類途徑可增加靶向相互作用之親合力及特異性。

【0971】 配體可例如由熟習生物學技術者基於細胞之所需定位或功能進行選擇。在一些實施例中，雌激素受體配體，諸如他莫昔芬

(tamoxifen)，可使細胞靶向細胞表面上雌激素受體數目增加之雌激素依賴性乳癌細胞。配體/受體相互作用之其他非限制性實例包括CCR1 (例如用於治療類風濕性關節炎及/或多發性硬化中之發炎的關節組織或腦)、CCR7、CCR8 (例如靶向淋巴結組織)、CCR6、CCR9、CCR10 (例如靶向腸組織)、CCR4、CCR10 (例如用於靶向皮膚)、CXCR4 (例如一般用於增強的反式遷移)、HCELL (例如用於治療發炎及發炎性病症、骨髓)、α4β7 (例如用於腸黏膜靶向)及VLA-4NCAM-1 (例如靶向內皮)。一般而言，參與靶向(例如癌轉移)之任何受體可用於本文所描述之方法及組合物中。

【0972】 所靶向之細胞可包括但不限於肝細胞、上皮細胞、造血細胞、上皮細胞、內皮細胞、肺細胞、骨細胞、幹細胞、間葉細胞、神經細胞、心臟細胞、脂肪細胞、血管平滑肌細胞、心肌細胞、骨骼肌細胞、β細胞、垂體細胞、滑膜內層細胞、卵巢細胞、睪丸細胞、纖維母細胞、B細胞、T細胞、網織紅細胞、白血球、顆粒球及腫瘤細胞。

【0973】 在一些實施例中，LNP可靶向肝細胞。已顯示脂蛋白元，諸如脂蛋白元E (apoE)，與體內的含有中性或接近中性脂質之脂質奈米粒子結合，且已知與肝細胞表面上存在之受體，諸如低密度脂蛋白受體(LDLR)結合。因此，向個體投與之包括具有中性或接近中性電荷之脂質組分的LNP可在個體體內獲取apoE，且隨後可依靶向方式將治療劑及/或預防劑(例如RNA)遞送至肝細胞，包括LDLR。

治療疾病及病症之方法

【0974】 脂質奈米粒子適用於治療疾病、病症或病狀。特別地，此類組合物適用於治療特徵在於缺失或異常蛋白質或多肽活性之疾病、病症或病狀。在一些實施例中，包含包括編碼缺失或異常多肽之mRNA之LNP

的本發明之調配物可投與或遞送至細胞。mRNA之隨後轉譯可產生多肽，從而降低或消除由不存在該多肽或由其引起之異常活性引起的問題。因為轉譯可快速發生，所以該等方法及組合物可適用於治療急性疾病、病症或病狀，諸如敗血症、中風及心肌梗塞。LNP中所含之治療劑及/或預防劑亦可以能夠改變既定物種之轉錄速率，從而影響基因表現。

【0975】 可投與組合物之特徵在於功能異常或異常蛋白質或多肽活性之疾病、病症及/或病狀包括但不限於：罕見疾病、傳染病(作為疫苗及治療劑兩者)、癌症及增生性疾病、遺傳病(例如囊腫纖維化)、自體免疫疾病、糖尿病、神經變性疾病、心血管疾病及代謝疾病。多種疾病、病症及/或病狀之特徵可為缺失(或實質上下降，而使得無法出現適當蛋白質功能)蛋白質活性。此類蛋白質可以不存在，或其可基本上為非功能性的。功能異常蛋白質之具體實例為囊腫纖維化跨膜傳導調節蛋白(CFTR)基因之錯義突變變體，其產生CFTR蛋白之引起囊腫纖維化的功能異常蛋白質變體。本發明提供一種用於治療個體之此類疾病、病症及/或病狀之方法，其藉由投與包括RNA的LNP及包括本文揭示之聚乙二醇化脂質化合物、磷脂(視情況不飽和)、視情況第二聚乙二醇化脂質及結構性脂質的脂質組分，其中RNA可為編碼拮抗或另外克服個體之細胞中存在之異常蛋白質活性之多肽的mRNA。

【0976】 在一些實施例中，本文揭示之脂質奈米粒子包含編碼抗原蛋白質之聚核苷酸。在一些實施例中，聚核苷酸為編碼抗原蛋白質之mRNA或環狀RNA。在一些實施例中，聚核苷酸編碼選自SEQ ID NO: 1-54之蛋白質，或與選自SEQ ID NO: 1-54之蛋白質具有約60%序列一致性、約70%序列一致性、約80%序列一致性、約90%序列一致性或約95%

序列一致性的序列。

【0977】 在一些實施例中，本文揭示之脂質奈米粒子適用於治療疾病或病症之方法中。在一些實施例中，疾病或病症為經食品傳播的病痛或胃腸炎。在一些實施例中，經食品傳播的病痛係由選自由以下組成之群之病原體引起：空腸彎曲桿菌(*Campylobacter jejuni* bacteria)、艱難梭菌(*Clostridium difficile* bacteria)、痢疾內阿米巴(*Entamoeba histolytica*)、腸毒素B (*Enterotoxin B*)、諾沃克病毒(Norwalk virus)/諾羅病毒(Norovirus)、幽門螺旋桿菌(*Helicobacter pyroli*)及輪狀病毒(*Rotavirus*)。

【0978】 在一些實施例中，疾病或病症為傳染病。在一些實施例中，傳染病為感染選自由以下組成之群之傳染原的結果：念珠菌屬酵母、冠狀病毒(例如SARS-CoV、SARS-CoV-2、MERS-CoV)、腸病毒71、埃-巴二氏病毒、革蘭氏陰性細菌(例如博德氏桿菌)、革蘭氏陽性細菌(例如破傷風梭菌、土拉熱弗朗西斯氏菌、鏈球菌屬細菌、葡萄球菌屬細菌)、肝炎病毒、人類巨細胞病毒、HIV、HPV、流感病毒、JCV、分支桿菌、痘病毒、銅綠假單胞菌、剛地弓形蟲、水痘帶狀疱疹病毒、屈公病毒、登革熱病毒、狂犬病病毒、克氏錐蟲、伊波拉病毒、鐮狀瘧原蟲、馬堡病毒、日本腦炎病毒、聖路易腦炎病毒、西尼羅河病毒及黃熱病病毒。

預防性應用

【0979】 在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用於預防疾病或使疾病進展穩定。

【0980】 在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防未來疾病或病症之預防劑。

【0981】在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用於中斷疾病或病症之進一步進展。

疫苗

【0982】在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作疫苗及/或以類似於疫苗之方式使用。如本文所用，「疫苗」為改善對於特定疾病或傳染原之免疫性的生物製劑。

【0983】在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作疫苗及/或以類似於疫苗之方式用於治療領域，諸如但不限於心臟血管、CNS、皮膚病學、內分泌學、腫瘤學、免疫學、呼吸道及抗感染。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作疫苗以診斷、預防、治療及/或管理經食品傳播的病痛。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作疫苗以診斷、預防、治療及/或管理胃腸炎。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作疫苗以診斷、預防、治療及/或管理流感。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理HIV。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理冠狀病毒。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理COVID-19。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理脊髓灰質炎。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理破傷風。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理A型肝炎。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理B型肝炎。在一些實施例

中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理C型肝炎。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理風疹。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理Hib (b型流感嗜血桿菌)。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理麻疹。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理百日咳(Pertussis/Whooping Cough)。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理肺炎鏈球菌疾病。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理輪狀病毒。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理流行性腮腺炎。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理水痘。在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作預防劑以診斷、預防、治療及/或管理白喉。

避孕藥

【0984】 在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用作避孕藥及/或以類似於避孕藥之方式使用。如本文所用，術語「避孕藥(contraceptive)」可定義為可用於防止妊娠之任何藥劑或方法。

【0985】 在一些實施例中，可短期或長期使用避孕藥。

【0986】 在一些實施例中，避孕藥可為可逆的或永久性的。

診斷

【0987】 在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用於診斷

目的或作為前述疾病或病症中之任一者的診斷工具。

【0988】 在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用於偵測生物標記以用於疾病診斷。

【0989】 在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用於診斷成像目的，例如MRI、PET、CT或超音波。

研究

【0990】 在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用於診斷目的或作為前述疾病或病症中之任一者的研究工具。

【0991】 在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可用於偵測生物標記以用於研究。

【0992】 在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可在任何研究實驗，例如活體內或活體外實驗中使用。

【0993】 在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可在培養的細胞中使用。培養的細胞可來源於熟習此項技術者已知的任何來源，且作為非限制性實例，可來源於穩定的細胞株、動物模型或人類患者或對照個體。

【0994】 在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可在動物模型(亦即，小鼠、大鼠、兔、狗、貓、非人類靈長類動物、天竺鼠、雪貂、秀麗隱桿線蟲、果蠅、斑馬魚或此項技術中已知用於研究目的之任何其他動物)中之活體內實驗中使用。

【0995】 在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可在人類研究實驗或人類臨床試驗中使用。

【0996】 在一些實施例中，本文所描述之向性遞送系統可在幹細胞

及/或細胞分化中使用。

IX. 列舉的實施例

【0997】 在本發明之一實施例中，本文提供一種醫藥組合物，其包含：

a)編碼至少一種所關注蛋白質之聚核苷酸，及

b)包含至少一種脂質之遞送載體，

其中該組合物引發個體之免疫反應。

【0998】 在一實施例中，聚核苷酸為DNA。

【0999】 在一實施例中，聚核苷酸為RNA。

【1000】 在一實施例中，RNA為短干擾RNA (siRNA)。

【1001】 在一實施例中，siRNA抑制或抑止細胞中所關注目標之表現。

【1002】 在一實施例中，抑制或抑止為約30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%及100%，或至少20-30%、20-40%、20-50%、20-60%、20-70%、20-80%、20-90%、20-95%、20-100%、30-40%、30-50%、30-60%、30-70%、30-80%、30-90%、30-95%、30-100%、40-50%、40-60%、40-70%、40-80%、40-90%、40-95%、40-100%、50-60%、50-70%、50-80%、50-90%、50-95%、50-100%、60-70%、60-80%、60-90%、60-95%、60-100%、70-80%、70-90%、70-95%、70-100%、80-90%、80-95%、80-100%、90-95%、90-100%或95-100%。

【1003】 在一實施例中，聚核苷酸為實質上環狀的。

【1004】 在一實施例中，聚核苷酸包含可操作地連接於有效負載序

列區之內部核糖體進入位點序列。

【1005】在一實施例中，IRES序列包含衍生自微小RNA病毒互補DNA、腦心肌炎病毒(EMCV)互補DNA、脊髓灰白質炎病毒互補DNA或來自黑腹果蠅之觸角足基因之序列。

【1006】在一實施例中，聚核苷酸包含終止元件，其中終止元件包含至少一個終止密碼子。

【1007】在一實施例中，聚核苷酸包含調節元件。

【1008】在一實施例中，聚核苷酸包含至少一種遮蔽劑。

【1009】在一實施例中，使用活體外轉錄產生實質上環狀聚核苷酸。

【1010】在一實施例中，有效負載序列區包含非編碼核酸序列。

【1011】在一實施例中，有效負載序列區包含編碼核酸序列。

【1012】在一實施例中，編碼核酸序列編碼空腸彎曲桿菌之所關注蛋白質。

【1013】在一實施例中，編碼核酸序列編碼艱難梭菌之所關注蛋白質。

【1014】在一實施例中，編碼核酸序列編碼痢疾內阿米巴之所關注蛋白質。

【1015】在一實施例中，編碼核酸序列編碼腸毒素B之所關注蛋白質。

【1016】在一實施例中，編碼核酸序列編碼諾沃克病毒或諾羅病毒之所關注蛋白質。

【1017】在一實施例中，編碼核酸序列編碼幽門螺旋桿菌之所關注

蛋白質。

【1018】在一實施例中，編碼核酸序列編碼輪狀病毒之所關注蛋白質。

【1019】在一實施例中，編碼核酸序列編碼念珠菌屬酵母之所關注蛋白質。

【1020】在一實施例中，編碼核酸序列編碼冠狀病毒之所關注蛋白質。

【1021】在一實施例中，編碼核酸序列編碼SARS-CoV之所關注蛋白質。

【1022】在一實施例中，編碼核酸序列編碼SARS-CoV-2之所關注蛋白質。

【1023】在一實施例中，編碼核酸序列編碼MERS-CoV之所關注蛋白質。

【1024】在一實施例中，編碼核酸序列編碼腸病毒71之所關注蛋白質。

【1025】在一實施例中，編碼核酸序列編碼埃-巴二氏病毒之所關注蛋白質。

【1026】在一實施例中，編碼核酸序列編碼革蘭氏陰性細菌之所關注蛋白質。

【1027】在一實施例中，革蘭氏陰性細菌為博德氏桿菌。

【1028】在一實施例中，編碼核酸序列編碼革蘭氏陽性細菌之所關注蛋白質。

【1029】在一實施例中，革蘭氏陽性細菌為破傷風梭菌。

【1030】在一實施例中，革蘭氏陽性細菌為土拉熱弗朗西斯氏菌。

【1031】在一實施例中，革蘭氏陽性細菌為鏈球菌屬細菌。

【1032】在一實施例中，革蘭氏陽性細菌為葡萄球菌屬細菌。

【1033】在一實施例中，編碼核酸序列編碼肝炎之所關注蛋白質。

【1034】在一實施例中，編碼核酸序列編碼人類巨細胞病毒之所關注蛋白質。

【1035】在一實施例中，編碼核酸序列編碼人類免疫缺乏病毒之所關注蛋白質。

【1036】在一實施例中，編碼核酸序列編碼人類乳頭狀瘤病毒之所關注蛋白質。

【1037】在一實施例中，編碼核酸序列編碼流感之所關注蛋白質。

【1038】在一實施例中，編碼核酸序列編碼約翰坎甯安病毒之所關注蛋白質。

【1039】在一實施例中，編碼核酸序列編碼分支桿菌之所關注蛋白質。

【1040】在一實施例中，編碼核酸序列編碼痘病毒之所關注蛋白質。

【1041】在一實施例中，編碼核酸序列編碼銅綠假單胞菌之所關注蛋白質。

【1042】在一實施例中，編碼核酸序列編碼呼吸道合胞病毒之所關注蛋白質。

【1043】在一實施例中，編碼核酸序列編碼德國麻疹病毒之所關注蛋白質。

【1044】在一實施例中，編碼核酸序列編碼水痘帶狀疱疹病毒之所關注蛋白質。

【1045】在一實施例中，編碼核酸序列編碼屈公病毒之所關注蛋白質。

【1046】在一實施例中，編碼核酸序列編碼登革熱病毒之所關注蛋白質。

【1047】在一實施例中，編碼核酸序列編碼狂犬病病毒之所關注蛋白質。

【1048】在一實施例中，編碼核酸序列編碼克氏錐蟲及/或卻格司氏病之所關注蛋白質。

【1049】在一實施例中，編碼核酸序列編碼伊波拉病毒之所關注蛋白質。

【1050】在一實施例中，編碼核酸序列編碼鐮狀瘧原蟲之所關注蛋白質。

【1051】在一實施例中，編碼核酸序列編碼馬堡病毒之所關注蛋白質。

【1052】在一實施例中，編碼核酸序列編碼日本腦炎病毒之所關注蛋白質。

【1053】在一實施例中，編碼核酸序列編碼聖路易腦炎病毒之所關注蛋白質。

【1054】在一實施例中，編碼核酸序列編碼西尼羅河病毒之所關注蛋白質。

【1055】在一實施例中，編碼核酸序列編碼黃熱病病毒之所關注蛋

白質。

【1056】在一實施例中，編碼核酸序列編碼炭疽芽孢桿菌之所關注蛋白質。

【1057】在一實施例中，編碼核酸序列編碼肉毒桿菌毒素之所關注蛋白質。

【1058】在一實施例中，編碼核酸序列編碼蓖麻毒素之所關注蛋白質。

【1059】在一實施例中，編碼核酸序列編碼志賀毒素及/或志賀樣毒素之所關注蛋白質。

【1060】在一實施例中，聚核苷酸包含至少一個修飾。

【1061】在一實施例中，至少一個修飾為吡啶-4-酮核糖核苷、5-氮雜-尿苷、2-硫基-5-氮雜-尿苷、2-硫代尿苷、4-硫基-假尿苷、2-硫基-假尿苷、5-羥基尿苷、3-甲基尿苷、5-羧甲基-尿苷、1-羧甲基-假尿苷、5-丙炔基-尿苷、1-丙炔基-假尿苷、5-牛磺酸甲基尿苷、1-牛磺酸甲基-假尿苷、5-牛磺酸甲基-2-硫基-尿苷、1-牛磺酸甲基-4-硫基-尿苷、5-甲基-尿苷、1-甲基-假尿苷、4-硫基-1-甲基-假尿苷、2-硫基-1-甲基-假尿苷、1-甲基-1-去氮-假尿苷、2-硫基-1-甲基-1-去氮-假尿苷、二氫尿苷、二氫假尿苷、2-硫基-二氫尿苷、2-硫基-二氫假尿苷、2-甲氧基尿苷、2-甲氧基-4-硫基-尿苷、4-甲氧基-假尿苷、及4-甲氧基-2-硫基-假尿苷、5-氮雜-胞苷、假異胞苷、3-甲基-胞苷、N4-乙醯基胞苷、5-甲醯基胞苷、N4-甲基胞苷、5-羥甲基胞苷、1-甲基-假異胞苷、吡咯并-胞苷、吡咯并-假異胞苷、2-硫基-胞苷、2-硫基-5-甲基-胞苷、4-硫基-假異胞苷、4-硫基-1-甲基-假異胞苷、4-硫基-1-甲基-1-去氮-假異胞苷、1-甲基-1-去氮-假異胞

苷、澤布拉林、5-氮雜-澤布拉林、5-甲基-澤布拉林、5-氮雜-2-硫基-澤布拉林、2-硫基-澤布拉林、2-甲氧基-胞苷、2-甲氧基-5-甲基-胞苷、4-甲氧基-假異胞苷、及4-甲氧基-1-甲基-假異胞苷、2-胺基嘌呤、2,6-二胺基嘌呤、7-去氮-腺嘌呤、7-去氮-8-氮雜-腺嘌呤、7-去氮-2-胺基嘌呤、7-去氮-8-氮雜-2-胺基嘌呤、7-去氮-2,6-二胺基嘌呤、7-去氮-8-氮雜-2,6-二胺基嘌呤、1-甲基腺苷、N6-甲基腺苷、N6-異戊烯基腺苷、N6-(順式-羥基異戊烯基)腺苷、2-甲硫基-N6-(順式-羥基異戊烯基)腺苷、N6-甘胺醯基胺甲醯基腺苷、N6-蘇胺醯基胺甲醯基腺苷、2-甲硫基-N6-蘇胺醯基胺甲醯基腺苷、N6,N6-二甲基腺苷、7-甲基腺嘌呤、2-甲硫基-腺嘌呤、及2-甲氧基-腺嘌呤、肌苷、1-甲基-肌苷、懷俄苷、懷俄丁苷、7-去氮-鳥苷、7-去氮-8-氮雜-鳥苷、6-硫基-鳥苷、6-硫基-7-去氮-鳥苷、6-硫基-7-去氮-8-氮雜-鳥苷、7-甲基-鳥苷、6-硫基-7-甲基-鳥苷、7-甲基肌苷、6-甲氧基-鳥苷、1-甲基鳥苷、N2-甲基鳥苷、N2,N2-二甲基鳥苷、8-側氧基-鳥苷、7-甲基-8-側氧基-鳥苷、1-甲基-6-硫基-鳥苷、N2-甲基-6-硫基-鳥苷或N2,N2-二甲基-6-硫基-鳥苷。

【1062】 在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種選自由以下組成之群的陽離子脂質：表(I)中之任何脂質；具有式(VII-A)、(VIII-A)、(IX-A)、(VII-B)、(VII-C)、(I-A)、(II)、(III-B)、(III-C)、(III-D)、(III-E)、(III-F)、(VIII-B)、(IV)、(VI)、(X)或(X-A)之結構的任何脂質；及其組合。

【1063】 在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種具有式(VII-A)之結構的陽離子脂質。在一實施例中，陽離子脂質選自由以下組成之群：化合物1、2、3、4、15、17、18、19、20及21。

【1064】在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種具有式(VII-B)之結構的陽離子脂質。在一實施例中，陽離子脂質選自由以下組成之群：化合物8、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44及45。

【1065】在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種具有式(VII-C)之結構的陽離子脂質。在一實施例中，陽離子脂質選自由以下組成之群：化合物5、6、46、47、54、60、61及62。

【1066】在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種具有式(I-A)之結構的陽離子脂質。在一實施例中，陽離子脂質選自由以下組成之群：化合物3、15、18及19。

【1067】在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種具有式(II)之結構的陽離子脂質。在一實施例中，陽離子脂質選自由以下組成之群：化合物1、17、20及21。

【1068】在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種具有式(III-B)之結構的陽離子脂質。在一實施例中，陽離子脂質為化合物56。

【1069】在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種具有式(III-C)之結構的陽離子脂質。在一實施例中，陽離子脂質選自由以下組成之群：化合物60及62。

【1070】在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種具有式(III-D)之結構的陽離子脂質。在一實施例中，陽離子脂質選自由以下組成之群：化合物14、51、52、53、55、57、58、59、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、79、82、83及85。

【1071】在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種具有式(III-E)之

結構的陽離子脂質。在一實施例中，陽離子脂質選自由以下組成之群：化合物86及87。

【1072】 在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種具有式(III-F)之結構的陽離子脂質。在一實施例中，陽離子脂質選自由以下組成之群：化合物10及49。

【1073】 在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種具有式(IV)之結構的陽離子脂質。在一實施例中，陽離子脂質為化合物16。

【1074】 在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種具有式(VI)之結構的陽離子脂質。在一實施例中，陽離子脂質選自由以下組成之群：化合物2、7、9、13及48。

【1075】 在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種具有式(VIII-B)之結構的陽離子脂質。在一實施例中，陽離子脂質選自由以下組成之群：化合物22、23、24、25、26及27。

【1076】 在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種具有式(VIII-B)之結構的陽離子脂質。在一實施例中，陽離子脂質選自由以下組成之群：化合物22、23、24、25、26及27。

【1077】 在一實施例中，醫藥組合物包含至少一種具有式(X)之結構的陽離子脂質。在一實施例中，陽離子脂質選自由以下組成之群：化合物14、50、51、52、53、55、57、58、59、64、66、67、68、69、71、72、73、74、75、77、78、79、80、81、82、83、84、85、88及89。

【1078】 在一實施例中，陽離子脂質為具有本文揭示之結構的任何脂質。

【1079】 在一實施例中，醫藥組合物包含額外陽離子脂質。

【1080】 在一實施例中，醫藥組合物包含中性脂質。

【1081】 在一實施例中，醫藥組合物包含陰離子脂質。

【1082】 在一實施例中，醫藥組合物包含輔助脂質。

【1083】 在一實施例中，醫藥組合物包含隱形脂質。

【1084】 在一實施例中，脂質與聚核苷酸之重量比在100:1至1:1之間。

【1085】 在一實施例中，本文所揭示之醫藥組合物優先靶向免疫細胞，例如T細胞，例如T調節細胞。舉例而言，相對於肝細胞，所揭示之醫藥組合物可優先靶向免疫細胞。例示性非限制性免疫細胞包括CD8+、CD4+或CD8+CD4+細胞。在一些實施例中，所揭示之醫藥組合物將貨物或有效負載遞送至免疫細胞而無需基於肽、蛋白質或適體之靶向配體。參見例如WO 2021/021634。

【1086】 在一實施例中，本文所揭示之醫藥組合物在不存在靶向配體下遞送至哺乳動物肝臟免疫細胞、脾臟T細胞或肺內皮細胞。特異性遞送至特定類別或類型之細胞指示，遞送至目標類型或類別之細胞之醫藥組合物的比例較高。舉例而言，特異性遞送可引起每1 g所靶向目的地之組織之貨物或有效負載的量大於2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、15倍或20倍增加。

【1087】 在一實施例中，疫苗調配物包含醫藥組合物。

【1088】 在一實施例中，疫苗經製備具有式(I)-(VI)中之任一者。

【1089】 在一實施例中，本文提供一種針對傳染原對個體疫苗接種之方法，其包含使個體與疫苗調配物或製劑接觸及引發免疫反應。

【1090】 在一實施例中，傳染原為空腸彎曲桿菌、艱難梭菌、痢疾

內阿米巴、腸毒素B、諾沃克病毒或諾羅病毒、幽門螺旋桿菌、輪狀病毒、念珠菌屬酵母、冠狀病毒(包括SARS-CoV、SARS-CoV-2及MERS-CoV)、腸病毒71、埃-巴二氏病毒、革蘭氏陰性細菌(包括博德氏桿菌)、革蘭氏陽性細菌(包括破傷風梭菌、土拉熱弗朗西斯氏菌、鏈球菌屬細菌及葡萄球菌屬細菌)、及肝炎、人類巨細胞病毒、人類免疫缺乏病毒、人類乳頭狀瘤病毒、流感、約翰坎甯安病毒、分支桿菌、痘病毒、銅綠假單胞菌、呼吸道合胞病毒、德國麻疹病毒、水痘帶狀疱疹病毒、屈公病毒、登革熱病毒、狂犬病病毒、克氏錐蟲及/或卻格司氏病、伊波拉病毒、鐮狀瘧原蟲、馬堡病毒、日本腦炎病毒、聖路易腦炎病毒、西尼羅河病毒、黃熱病病毒、炭疽芽孢桿菌、肉毒桿菌毒素、蓖麻毒素或志賀毒素及/或志賀樣毒素。

【1091】 本發明包括以下所列舉實施例：

1. 一種醫藥組合物，其包含：

a)編碼至少一種所關注蛋白質之聚核苷酸，及

b)包含至少一種脂質之遞送載體，

其中該組合物引發個體之免疫反應。

2. 如實施例1之醫藥組合物，其中該聚核苷酸為DNA。

3.如實施例1之醫藥組合物，其中該聚核苷酸為RNA。

4. 如實施例3之醫藥組合物，其中該RNA為短干擾RNA (siRNA)。

5. 如實施例4之醫藥組合物，其中該siRNA抑制或抑止細胞中所關注目標之表現。

6. 如實施例5之醫藥組合物，其中該抑制或抑止為約30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%及100%，或至少20-30%、

20-40%、20-50%、20-60%、20-70%、20-80%、20-90%、20-95%、20-100%、30-40%、30-50%、30-60%、30-70%、30-80%、30-90%、30-95%、30-100%、40-50%、40-60%、40-70%、40-80%、40-90%、40-95%、40-100%、50-60%、50-70%、50-80%、50-90%、50-95%、50-100%、60-70%、60-80%、60-90%、60-95%、60-100%、70-80%、70-90%、70-95%、70-100%、80-90%、80-95%、80-100%、90-95%、90-100%或95-100%。

7.如實施例2或3之醫藥組合物，其中該聚核苷酸為實質上環狀的。

8.如實施例7之醫藥組合物，其中聚核苷酸包含可操作地連接於有效負載序列區之內部核糖體進入位點(IRES)序列。

9.如實施例8之醫藥組合物，其中該IRES序列包含衍生自微小RNA病毒互補DNA、腦心肌炎病毒(EMCV)互補DNA、脊髓灰白質炎病毒互補DNA或來自黑腹果蠅之觸角足基因的序列。

10. 如實施例7之醫藥組合物，其中該聚核苷酸包含終止元件，其中該終止元件包含至少一個終止密碼子。

11. 如實施例7之醫藥組合物，其中該聚核苷酸包含調節元件。

12. 如實施例7至11中任一項之醫藥組合物，其中該聚核苷酸包含至少一種遮蔽劑。

13. 如實施例7至12中任一項之醫藥組合物，其中該實質上環狀聚核苷酸係使用活體外轉錄產生。

14. 如實施例7至14中任一項之醫藥組合物，其中該有效負載序列區包含非編碼核酸序列。

15. 如實施例7至13中任一項之醫藥組合物，其中該有效負載序列

區包含編碼核酸序列。

16. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼空腸彎曲桿菌之所關注蛋白質。

17. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼艱難梭菌之所關注蛋白質。

18. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼痢疾內阿米巴之所關注蛋白質。

19. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼腸毒素B之所關注蛋白質。

20. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼諾沃克病毒或諾羅病毒之所關注蛋白質。

21. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼幽門螺旋桿菌之所關注蛋白質。

22. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼輪狀病毒之所關注蛋白質。

23. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼念珠菌屬酵母之所關注蛋白質。

24. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼冠狀病毒之所關注蛋白質。

25. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼SARS-CoV之所關注蛋白質。

26. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼SARS-CoV-2之所關注蛋白質。

27. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼MERS-CoV之所關注蛋白質。

28. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼腸病毒71之所關注蛋白質。

29. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼埃-巴二氏病毒之所關注蛋白質。

30. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼革蘭氏陰性細菌之所關注蛋白質。

31. 如實施例30之醫藥組合物，其中該革蘭氏陰性細菌為博德氏桿菌。

32. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼革蘭氏陽性細菌之所關注蛋白質。

33. 如實施例32之醫藥組合物，其中該革蘭氏陽性細菌為破傷風梭菌。

34. 如實施例32之醫藥組合物，其中該革蘭氏陽性細菌為土拉熱弗朗西斯氏菌。

35. 如實施例32之醫藥組合物，其中該革蘭氏陽性細菌為鏈球菌屬細菌。

36. 如實施例32之醫藥組合物，其中該革蘭氏陽性細菌為葡萄球菌屬細菌。

37. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼肝炎之所關注蛋白質。

38. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼人類巨細

胞病毒之所關注蛋白質。

39. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼人類免疫缺乏病毒之所關注蛋白質。

40. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼人類乳頭狀瘤病毒之所關注蛋白質。

41. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼流感之所關注蛋白質。

42. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼約翰坎甯安病毒之所關注蛋白質。

43. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼分支桿菌之所關注蛋白質。

44. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼痘病毒之所關注蛋白質。

45. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼銅綠假單胞菌之所關注蛋白質。

46. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼呼吸道合胞病毒之所關注蛋白質。

47. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼德國麻疹病毒之所關注蛋白質。

48. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼水痘帶狀疱疹病毒之所關注蛋白質。

49. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼屈公病毒之所關注蛋白質。

50. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼登革熱病毒之所關注蛋白質。

51. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼狂犬病病毒之所關注蛋白質。

52. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼克氏錐蟲及/或卻格司氏病之所關注蛋白質。

53. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼伊波拉病毒之所關注蛋白質。

54. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼鐮狀瘧原蟲之所關注蛋白質。

55. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼馬堡病毒之所關注蛋白質。

56. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼日本腦炎病毒之所關注蛋白質。

57. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼聖路易腦炎病毒之所關注蛋白質。

58. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼西尼羅河病毒之所關注蛋白質。

59. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼黃熱病病毒之所關注蛋白質。

60. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼炭疽芽孢桿菌之所關注蛋白質。

61. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼肉毒桿菌

毒素之所關注蛋白質。

62. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼蓖麻毒素之所關注蛋白質。

63. 如實施例15之醫藥組合物，其中該編碼核酸序列編碼志賀毒素及/或志賀樣毒素之所關注蛋白質。

64. 如實施例3至63中任一項之醫藥組合物，其中該聚核苷酸包含至少一個修飾。

65. 如實施例64之醫藥組合物，其中至少20%之鹼基經修飾。

66. 如實施例64之醫藥組合物，其中至少30%之鹼基經修飾。

67. 如實施例64之醫藥組合物，其中至少40%之鹼基經修飾。

68. 如實施例64之醫藥組合物，其中至少50%之鹼基經修飾。

69. 如實施例64之醫藥組合物，其中至少60%之鹼基經修飾。

70. 如實施例64之醫藥組合物，其中至少70%之鹼基經修飾。

71. 如實施例64之醫藥組合物，其中至少80%之鹼基經修飾。

72. 如實施例64之醫藥組合物，其中至少90%之鹼基經修飾。

73. 如實施例64之醫藥組合物，其中至少100%之鹼基經修飾。

74. 如實施例64之醫藥組合物，其中特定鹼基包含至少一個修飾。

75. 如實施例74之醫藥組合物，其中該鹼基為腺嘌呤。

76. 如實施例75之醫藥組合物，其中至少20%之腺嘌呤鹼基經修飾。

77. 如實施例75之醫藥組合物，其中至少30%之腺嘌呤鹼基經修飾。

78. 如實施例75之醫藥組合物，其中至少40%之腺嘌呤鹼基經修

飾。

79. 如實施例75之醫藥組合物，其中至少50%之腺嘌呤鹼基經修飾。

80. 如實施例75之醫藥組合物，其中至少60%之腺嘌呤鹼基經修飾。

81. 如實施例75之醫藥組合物，其中至少70%之腺嘌呤鹼基經修飾。

82. 如實施例75之醫藥組合物，其中至少80%之腺嘌呤鹼基經修飾。

83. 如實施例75之醫藥組合物，其中至少90%之腺嘌呤鹼基經修飾。

84. 如實施例75之醫藥組合物，其中至少100%之腺嘌呤鹼基經修飾。

85. 如實施例74之醫藥組合物，其中該鹼基為鳥嘌呤。

86. 如實施例85之醫藥組合物，其中至少20%之鳥嘌呤鹼基經修飾。

87. 如實施例85之醫藥組合物，其中至少30%之鳥嘌呤鹼基經修飾。

88. 如實施例85之醫藥組合物，其中至少40%之鳥嘌呤鹼基經修飾。

89. 如實施例85之醫藥組合物，其中至少50%之鳥嘌呤鹼基經修飾。

90. 如實施例85之醫藥組合物，其中至少60%之鳥嘌呤鹼基經修

飾。

91. 如實施例85之醫藥組合物，其中至少70%之鳥嘌呤鹼基經修飾。

92. 如實施例85之醫藥組合物，其中至少80%之鳥嘌呤鹼基經修飾。

93. 如實施例85之醫藥組合物，其中至少90%之鳥嘌呤鹼基經修飾。

94. 如實施例85之醫藥組合物，其中至少100%之鳥嘌呤鹼基經修飾。

95. 如實施例74之醫藥組合物，其中該鹼基為胞嘧啶。

96. 如實施例95之醫藥組合物，其中至少20%之胞嘧啶鹼基經修飾。

97. 如實施例95之醫藥組合物，其中至少30%之胞嘧啶鹼基經修飾。

98. 如實施例95之醫藥組合物，其中至少40%之胞嘧啶鹼基經修飾。

99. 如實施例95之醫藥組合物，其中至少50%之胞嘧啶鹼基經修飾。

100. 如實施例95之醫藥組合物，其中至少60%之胞嘧啶鹼基經修飾。

101. 如實施例95之醫藥組合物，其中至少70%之胞嘧啶鹼基經修飾。

102. 如實施例95之醫藥組合物，其中至少80%之胞嘧啶鹼基經修

飾。

103. 如實施例95之醫藥組合物，其中至少90%之胞嘧啶鹼基經修飾。

104. 如實施例95之醫藥組合物，其中至少100%之胞嘧啶鹼基經修飾。

105. 如實施例74之醫藥組合物，其中該鹼基為尿嘧啶。

106. 如實施例105之醫藥組合物，其中至少20%之尿嘧啶鹼基經修飾。

107. 如實施例105之醫藥組合物，其中至少30%之尿嘧啶鹼基經修飾。

108. 如實施例105之醫藥組合物，其中至少40%之尿嘧啶鹼基經修飾。

109. 如實施例105之醫藥組合物，其中至少50%之尿嘧啶鹼基經修飾。

110. 如實施例105之醫藥組合物，其中至少60%之尿嘧啶鹼基經修飾。

111. 如實施例105之醫藥組合物，其中至少70%之尿嘧啶鹼基經修飾。

112. 如實施例105之醫藥組合物，其中至少80%之尿嘧啶鹼基經修飾。

113. 如實施例105之醫藥組合物，其中至少90%之尿嘧啶鹼基經修飾。

114. 如實施例105之醫藥組合物，其中至少100%之尿嘧啶鹼基經修

飾。

115. 如實施例64至114中任一項之醫藥組合物，其中該至少一個修飾為吡啶-4-酮核糖核苷、5-氮雜-尿苷、2-硫基-5-氮雜-尿苷、2-硫代尿苷、4-硫基-假尿苷、2-硫基-假尿苷、5-羥基尿苷、3-甲基尿苷、5-羧甲基-尿苷、1-羧甲基-假尿苷、5-丙炔基-尿苷、1-丙炔基-假尿苷、5-牛磺酸甲基尿苷、1-牛磺酸甲基-假尿苷、5-牛磺酸甲基-2-硫基-尿苷、1-牛磺酸甲基-4-硫基-尿苷、5-甲基-尿苷、1-甲基-假尿苷、4-硫基-1-甲基-假尿苷、2-硫基-1-甲基-假尿苷、1-甲基-1-去氮-假尿苷、2-硫基-1-甲基-1-去氮-假尿苷、二氫尿苷、二氫假尿苷、2-硫基-二氫尿苷、2-硫基-二氫假尿苷、2-甲氧基尿苷、2-甲氧基-4-硫基-尿苷、4-甲氧基-假尿苷、及4-甲氧基-2-硫基-假尿苷、5-氮雜-胞苷、假異胞苷、3-甲基-胞苷、N4-乙醯基胞苷、5-甲醯基胞苷、N4-甲基胞苷、5-羥甲基胞苷、1-甲基-假異胞苷、吡咯并-胞苷、吡咯并-假異胞苷、2-硫基-胞苷、2-硫基-5-甲基-胞苷、4-硫基-假異胞苷、4-硫基-1-甲基-假異胞苷、4-硫基-1-甲基-1-去氮-假異胞苷、1-甲基-1-去氮-假異胞苷、澤布拉林、5-氮雜-澤布拉林、5-甲基-澤布拉林、5-氮雜-2-硫基-澤布拉林、2-硫基-澤布拉林、2-甲氧基-胞苷、2-甲氧基-5-甲基-胞苷、4-甲氧基-假異胞苷、及4-甲氧基-1-甲基-假異胞苷、2-胺基嘌呤、2,6-二胺基嘌呤、7-去氮-腺嘌呤、7-去氮-8-氮雜-腺嘌呤、7-去氮-2-胺基嘌呤、7-去氮-8-氮雜-2-胺基嘌呤、7-去氮-2,6-二胺基嘌呤、7-去氮-8-氮雜-2,6-二胺基嘌呤、1-甲基腺苷、N6-甲基腺苷、N6-異戊烯基腺苷、N6-(順式-羥基異戊烯基)腺苷、2-甲硫基-N6-(順式-羥基異戊烯基)腺苷、N6-甘胺醯基胺甲醯基腺苷、N6-蘇胺醯基胺甲醯基腺苷、2-甲硫基-N6-蘇胺醯基胺甲醯基腺苷、N6,N6-二甲基腺苷、7-甲基腺

嘌呤、2-甲硫基-腺嘌呤、及2-甲氧基-腺嘌呤、肌苷、1-甲基-肌苷、懷俄苷、懷俄丁苷、7-去氮-鳥苷、7-去氮-8-氮雜-鳥苷、6-硫基-鳥苷、6-硫基-7-去氮-鳥苷、6-硫基-7-去氮-8-氮雜-鳥苷、7-甲基-鳥苷、6-硫基-7-甲基-鳥苷、7-甲基肌苷、6-甲氧基-鳥苷、1-甲基鳥苷、N2-甲基鳥苷、N2,N2-二甲基鳥苷、8-側氧基-鳥苷、7-甲基-8-側氧基-鳥苷、1-甲基-6-硫基-鳥苷、N2-甲基-6-硫基-鳥苷或N2,N2-二甲基-6-硫基-鳥苷。

116. 如實施例1之醫藥組合物，其進一步包含至少一種選自由以下組成之群的陽離子脂質：表(I)中的任何脂質；具有式(VII-A)、(VIII-A)、(IX-A)、(VII-B)、(VII-C)、(I-A)、(II)、(III-B)、(III-C)、(III-D)、(III-E)、(III-F)、(VIII-B)、(IV)、(VI)、(X)或(X-A)之結構的任何脂質；及其組合。

125. 如實施例116至124中任一項之醫藥組合物，其進一步包含額外陽離子脂質。

126. 如實施例116至125中任一項之醫藥組合物，其進一步包含中性脂質。

127. 如實施例116至126中任一項之醫藥組合物，其進一步包含陰離子脂質。

128. 如實施例116至127中任一項之醫藥組合物，其進一步包含輔助脂質。

129. 如實施例116至128中任一項之醫藥組合物，其進一步包含隱形脂質。

130. 如實施例116至129中任一項之醫藥組合物，其中該等脂質與該等聚核苷酸之重量比為約100:1至約1:1。

131. 一種疫苗調配物，其包含如實施例1至130中任一項之醫藥組合物。

132. 一種疫苗製劑，其包含如實施例116至130中任一項之醫藥組合物。

133. 一種針對傳染原對個體疫苗接種之方法，其包含：

a) 使個體與如實施例131之疫苗調配物或如實施例132之疫苗製劑接觸，及

b) 引發免疫反應。

134. 如實施例133之方法，其中該傳染原為空腸彎曲桿菌、艱難梭菌、痢疾內阿米巴、腸毒素B、諾沃克病毒或諾羅病毒、幽門螺旋桿菌、輪狀病毒、念珠菌屬酵母、冠狀病毒(包括SARS-CoV、SARS-CoV-2及MERS-CoV)、腸病毒71、埃-巴二氏病毒、革蘭氏陰性細菌(包括博德氏桿菌)、革蘭氏陽性細菌(包括破傷風梭菌、土拉熱弗朗西斯氏菌、鏈球菌屬細菌及葡萄球菌屬細菌)、及肝炎、人類巨細胞病毒、人類免疫缺乏病毒、人類乳頭狀瘤病毒、流感、約翰坎甯安病毒、分支桿菌、痘病毒、銅綠假單胞菌、呼吸道合胞病毒、德國麻疹病毒、水痘帶狀疱疹病毒、屈公病毒、登革熱病毒、狂犬病病毒、克氏錐蟲及/或卻格司氏病、伊波拉病毒、鐮狀瘧原蟲、馬堡病毒、日本腦炎病毒、聖路易腦炎病毒、西尼羅河病毒、黃熱病病毒、炭疽芽孢桿菌、肉毒桿菌毒素、蓖麻毒素或志賀毒素及/或志賀樣毒素。

135. 如實施例133之方法，其中該接觸為經腸(至腸中)、胃腸道、硬膜外(至硬腦膜中)、經口(藉助於口腔)、經皮、腦內(至腦中)、腦室內(至腦室中)、上表皮(塗覆至皮膚上)、皮內(至皮膚自身中)、皮下(在皮膚

下)、經鼻投與(經由鼻)、靜脈內(至靜脈中)、靜脈內推注、靜脈內滴注、動脈內(至動脈中)、肌肉內(至肌肉中)、心內(至心臟中)、骨內輸注(至骨髓中)、鞘內(至脊椎管中)、實質內(至腦組織中)、腹膜內(輸注或注射至腹膜中)、膀胱內輸注、玻璃體內(經由眼睛)、海綿竇內注射(至病理腔中)、腔內(至陰莖基底中)、陰道內投與、子宮內、羊膜外投與、經皮(經由完好皮膚擴散以進行全身性分佈)、經黏膜(經由黏膜擴散)、經陰道、吹入(嗅吸)、舌下、唇下、灌腸劑、滴眼劑(至結膜上)、滴耳劑、經耳(在耳中或藉助於耳)、經頰(導引朝向頰部)、結膜、皮膚、牙齒(至一或多個牙齒)、電滲透、子宮頸內、竇道內、氣管內、體外、血液透析、浸潤、間質性、腹部內、羊膜內、關節內、膽管內、支氣管內、囊內、軟骨內(在軟骨內)、尾部內(在馬尾內)、腦池內(在小腦延髓大池內)、角膜內(在角膜內)、齒冠內、冠狀動脈內(在冠狀動脈內)、陰莖海綿體內(在陰莖海綿體之可膨脹空間內)、椎間盤內(在椎間盤內)、管內(在腺管內)、十二指腸內(在十二指腸內)、硬膜內(在硬腦膜內或其下方)、表皮內(至表皮)、食管內(至食道)、胃內(在胃內)、齒齦內(在齒齦內)、回腸內(在小腸之遠端部分內)、病灶內(在局部病灶內或直接引入至局部病灶)、官腔內(在官腔內)、淋巴內(在淋巴內)、髓內(在骨骼之骨髓腔內)、腦脊膜內(在腦膜內)、心肌內(在心肌內)、眼內(在眼睛內)、卵巢內(在卵巢內)、心包內(在心包膜內)、胸膜內(在胸膜內)、前列腺內(在前列腺腺體內)、肺內(在肺或其支氣管內)、竇內(在鼻或眶周鼻竇內)、脊柱內(在脊柱內)、滑膜內(在關節之滑液腔內)、肌腱內(在肌腱內)、睾丸內(在睾丸內)、鞘內(在腦脊髓軸之任何層級處之腦脊髓液內)、胸內(在胸內)、小管內(在器官之小管內)、瘤內(在腫瘤內)、鼓室內(在中耳內)、血管內(在一或多個血管

內)、室內(在室內)、離子電滲(藉助於電流，其中可溶性鹽之離子遷移至身體之組織中)、灌洗(沖刷或沖洗開放的傷口或身體腔)、喉部(直接在喉後)、鼻胃管(經由鼻且至胃中)、封閉敷裹技術(體表途徑投與，其接著由封閉該區域之敷料覆蓋)、眼用(至眼睛外部)、口咽(直接至口腔及咽)、非經腸、經皮、關節周、硬膜外、神經周、牙周、經直腸、呼吸道(藉由經口或經鼻吸入至呼吸道內以用於局部或全身性作用)、眼球後(腦橋後或眼球後)、軟組織、蛛膜下、結膜下、黏膜下、體表、經胎盤(穿過或跨過胎盤)、經氣管(穿過氣管壁)、經鼓膜(跨過或穿過鼓腔)、輸尿管(至輸尿管)、尿道(至尿道)、經陰道、尾部阻滯、診斷、神經阻滯、膽道灌注、心臟灌注、光除去法或脊椎。

136. 一種將編碼至少一種所關注蛋白質之聚核苷酸遞送至有需要之個體之免疫細胞中之方法，該方法包含向該個體投與如實施例1至130中任一項之醫藥組合物。

137. 如實施例136之方法，其中該免疫細胞為T細胞。

138. 如實施例137之方法，其中該T細胞為CD8+ T細胞。

139. 如實施例137之方法，其中該T細胞為T調節細胞。

140. 如實施例137之方法，其中該T細胞為CD4+ T細胞。

141. 如實施例136之方法，其中該免疫細胞為巨噬細胞、樹突狀細胞或肝臟免疫細胞。

X. 定義

【1092】 如本文所用，術語「化合物」或「結構」意欲包括所描繪結構之所有立體異構物、幾何異構物、互變異構物及同位素。

【1093】 本文所描述之化合物或結構可為不對稱的(例如具有一或多

個立構中心)。除非另外指示，否則所有立體異構物，諸如鏡像異構物及非鏡像異構物均為吾人所需。含有經不對稱取代之碳原子之本發明化合物可以光學活性或外消旋形式分離。如何自光學活性起始物料製備光學活性形式之方法為此項技術中已知的，諸如藉由解析外消旋混合物或立體選擇性合成來製備。本文所描述之化合物中亦可存在烯烴、C=N雙鍵及其類似物之許多幾何異構物，且所有此類穩定異構物均涵蓋於本發明中。描述本發明之化合物之順式及反式幾何異構物且可以異構物混合物或分開的異構形式分離。

【1094】 本發明之化合物或結構亦包括互變異構形式。互變異構形式由單鍵與相鄰雙鍵之調換以及伴隨之質子遷移而產生。互變異構形式包括處於具有相同實驗式及總電荷之異構質子化狀態的質子轉移互變異構物。質子轉移互變異構物之實例包括酮-烯醇對、醯胺-亞胺酸對、內醯胺-內醯亞胺對、醯胺-亞胺酸對、烯胺-亞胺對及一個質子可佔據雜環系統之兩個或更多個位置的環狀形式，諸如1H-及3H-咪唑、1H-、2H-及4H-1,2,4-三唑、1H-及2H-異吲哚以及1H-及2H-吡唑。互變異構形式可處於平衡狀態或藉由適當取代而立體地鎖定為一種形式。

【1095】 本發明之化合物或結構亦包括存在於中間物或最終化合物中之原子的所有同位素。「同位素」係指具有相同原子數但因為原子核中之中子數不同而具有不同質量數之原子。舉例而言，氫之同位素包括氚及氘。

【1096】 本發明之化合物或結構及鹽可藉由常規方法與溶劑或水分子組合製備以形成溶劑合物及水合物。

【1097】 術語「烷基」係指飽和脂族基之基團，包括直鏈烷基、分

支鏈烷基、環烷基(脂環)基團、經烷基取代之環烷基及經環烷基取代之烷基基團。

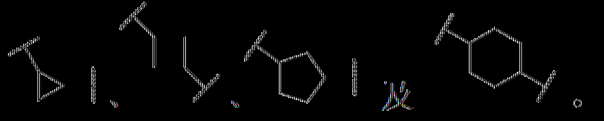
【1098】 在一些實施例中，直鏈或分支鏈烷基在其主鏈中具有30個或更少碳原子(例如對於直鏈，C_1-C_{30}；對於分支鏈，C_3-C_{30})、20個或更少、12個或更少或7個或更少。同樣，在一些實施例中，環烷基在其環結構中具有3-10個碳原子，例如在環結構中具有5、6或7個碳。如整個說明書、實例及申請專利範圍中所用之術語「烷基」(或「低級烷基」)意欲包括「未經取代之烷基」與「經取代之烷基」兩者，後者係指烴主鏈之一或多個碳上的氫經一或多個取代基置換的烷基部分。此類取代基包括但不限於鹵素、羥基、羰基(諸如羧基、烷氧基羰基、甲醯基或醯基)、硫代羰基(諸如硫代酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、磷醯基、磷酸酯、膦酸酯、亞膦酸酯(hosphinate)、胺基、醯胺基、脒、亞胺、氰基、硝基、疊氮基、硫氫基、烷基硫基、硫酸酯、磺酸酯、胺磺醯基、磺醯胺基、磺醯基、雜環基、芳烷基或芳族或雜芳族部分。

【1099】 除非另外指定碳數，否則如本文所用，「低級烷基」意謂如上所定義但在主鏈結構中具有一至十個碳或一至六個碳原子之烷基。同樣，「低級烯基」及「低級炔基」具有類似鏈長鏈長。在一些實施例中，烷基為低級烷基。在一些實施例中，本文中指定為烷基之取代基為低級烷基。

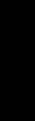
【1100】 如本文所用，術語「伸烷基」係指直鏈或分支鏈烷基之二價基團。在一個實施例中，伸烷基為$C_{1\text{-}12}$烷基之二價形式，亦即C_1-C_{12}伸烷基。在一個實施例中，伸烷基為$C_{2\text{-}6}$烷基之二價形式，亦即C_2-C_6伸烷基。在一個實施例中，伸烷基為$C_{2\text{-}14}$烷基之二價形式，亦即C_2-C_{14}伸烷

基。在一個實施例中，伸烷基為未經取代之C_{1-6}烷基之二價形式，亦即C_1-C_6伸烷基。在另一實施例中，伸烷基為未經取代之C_{1-4}烷基之二價形式，亦即C_1-C_4伸烷基。非限制性例示性伸烷基基團包括-CH_2-、-CH_2CH_2-、-$CH_2CH_2CH_2$-、-$CH_2CH(CH_3)CH_2$-、-$CH_2(CH_2)_2CH_2$-、-$CH(CH_2)_3CH_2$-及-$CH_2(CH_2)_4CH_2$-。

[1101] 如本文所用，術語「伸環烷基」係指環烷基之二價基團。在一個實施例中，伸環烷基為C_{3-8}環烷基之二價形式，亦即C_3-C_8伸環烷基。非限制性例示性伸環烷基包括：



及



。

[1102] 熟習此項技術者應瞭解，烴鏈上經取代之部分本身在適當時可經取代。舉例而言，經取代之烷基之取代基可包括鹵素、羥基、硝基、硫醇基、胺基、疊氮基、亞胺基、醯胺基、磷醯基(包括膦酸酯及亞膦酸酯)、磺醯基(包括硫酸酯、磺醯胺基、胺磺醯基及磺酸酯)及矽烷基，以及醚、烷基硫基、羰基(包括酮、醛、羧酸酯及酯)、-CF_3、-CN及其類似者。環烷基可以相同方式經取代。

[1103] 如本文所用，術語「雜烷基」係指含有至少一個雜原子之直鏈或分支鏈或環狀含碳基團，或其組合。合適的雜原子包括但不限於O、N、Si、P、Sc、B及S，其中磷及硫原子視情況經氧化，且氮雜原子視情況四級銨化。雜烷基可如上文關於烷基所定義經取代。

[1104] 術語「烷硫基」係指與硫基連接之如上文所定義之烷基。在一典實施例中，「烷硫基」部分由-S-烷基、-S-烯基及-S-炔基中之一者表示。代表性烷硫基包括甲硫基及乙硫基。術語「烷硫基」亦涵蓋環烷基、烯烴及環烯基團，及炔烴基團。「芳硫基」係指芳基或雜芳基。烷硫

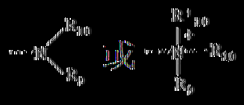
其可如上文關於烷基所定義經取代。

[1105] 術語「烯基」及「炔基」係指長度及可能之取代基與上文描述之烷基類似，但分別含有至少一個雙鍵或參鍵的不飽和脂族基。在一個實施例中，烯基含有一個雙鍵。在另一實施例中，烯基含有兩個雙鍵。在另一實施例中，烯基含有三個雙鍵。

[1106] 如本文所用，術語「伸烯基」係指烯基之二價基團。在一個實施例中，伸烯基為C_{2-12}烯基之二價形式，亦即C_2-C_{12}伸烯基。在一個實施例中，伸烯基為C_{2-6}烯基之二價形式，亦即C_2-C_6伸烯基。在一個實施例中，伸烯基為C_{2-14}烯基之二價形式，亦即C_2-C_{14}伸烯基。在一個實施例中，伸烷基為未經取代之C_{2-6}烯基之二價形式，亦即C_2-C_6伸烯基。在另一實施例中，伸烷基為未經取代之C_{2-4}烷基之二價形式，亦即C_2-C_4伸烯基。非限制性例示性伸烯基包括-CH=CH-、-CH_2CH=CH-、-CH_2CH_2CH=CH-、-CH_2CH_2CH=$CHCH_2$-及-CH_2CH=CHCH_2CH=$CHCH_2CH_2$-。

[1107] 如本文所用，術語「烷氧基(alkoxyl/alkoxy)」係指與氧基連接之如上文所定義之烷基。代表性烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基及三級丁氧基。「醚」為由氧共價連接之兩個烴。因此，使得烷基成為醚之烷基之取代基為或類似於烷氧基，諸如可由-O-烷基、-O-烯基及-O-炔基中之一者表示。芳氧基可由-O-芳基或O-雜芳基表示，其中芳基及雜芳基如下文所定義。烷氧基及芳氧基可如上文針對烷基所描述經取代。

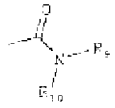
[1108] 術語「胺」及「胺基」為此項技術中公認的，且係指未經取代及經取代之胺，例如可由以下通式表示之部分：



其中R_9、R_{10}及R'_{10}各自獨立地表示氫、烷基、烯基、-$(CH_2)_m$-R_8，

或R_9及R_{10}與其所連接之N原子一起完成在環結構中具有4至8個原子之雜環；R_8表示芳基、環烷基、環烯基、雜環或多環；及m為零或在1至8範圍內之整數。在一些實施例中，R_9或R_{10}中僅一者可為羰基，例如R_9、R_{10}及氮一起不會形成醯亞胺。在另其他實施例中，術語「胺」不涵蓋醯胺，例如其中R_9及R_{10}中之一者表示羰基。在額外實施例中，R_9及R_{10} (及視情況R'_{10})各自獨立地表示氫、烷基或環烷基、烯基或環烯基、或炔基。因此，如本文所用，術語「烷基胺」意謂與經取代(如上文關於烷基所描述)或未經取代之烷基連接之如上文所定義的胺基，亦即R_9及R_{10}中之至少一者為烷基。

【1109】 術語「醯胺基」在此項技術中公認的為經胺基取代之羰基，且包括可由以下通式表示之部分：



其中R_9及R_{10}如上文所定義。

【1110】 如本文所用，「芳基」係指C_5-C_{10}員芳族、雜環、稠合芳族、稠合雜環、聯芳族或雙雜環環系統。如本文所用，廣泛地定義之「芳基」包括5、6、7、8、9及10員單環芳族基團，其可包括零至四個雜原子，例如苯、吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、噁唑、噻唑、三唑、吡唑、吡啶、吡啡、嗒啡及嘧啶，以及其類似者。在環結構中具有雜原子之彼等芳基亦可稱為「芳基雜環」或「雜芳族化合物」。芳族環可在一或多個環位置處經一或多個包括但不限於以下之取代基取代：鹵素、疊氮基、烷基、芳烷基、烯基、炔基、環烷基、羥基、烷氧基、胺基(或四級銨化胺基)、硝基、硫氫基、亞胺基、醯胺基、膦酸酯、亞膦酸酯、羰基、羧基、矽烷基、醚、烷硫基、磺醯基、磺醯胺基、酮、醛、酯、雜環基、芳族或雜芳

族部分、-CF_3、-CN；及其組合。

【1111】術語「芳基」亦包括具有兩個或更多個環狀環之多環環系統，其中兩個或更多個碳為兩個鄰接環((亦即，「稠環」)所共用，其中至少一個環為芳族環，例如其他一或多個環狀環可為環烷基、環烯基、環炔基、芳基及/或雜環。雜環之實例包括但不限於苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并硫代呋喃基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、苯并噻唑基、苯并三唑基、苯并四唑基、苯并異噁唑基、苯并異噻唑基、苯并咪唑啉基、咔唑基、4aH咔唑基、咔啉基、吲烷基、吲烯基、啶啉基、十氫喹啉基、2*H*,6*H*-1,5,2-二噻吩基、二氫呋喃并[2,3-b]四氫呋喃、呋喃基、呋呫基、四氫咪唑基、咪唑啉基、咪唑基、1*H*-吲唑基、吲哚烯基、吲哚啉基、吲呻基、吲哚基、3*H*-吲哚基、靛紅醯基、異苯并呋喃基、異吲基、異吲唑基、異吲哚啉基、異吲哚基、異喹啉基、異噻唑基、異噁唑基、亞甲基二氧基苯基、味啉基、嗪啶基、八氫異喹啉基、噁二唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、噁唑啶基、噁唑基、羥吲哚基、嘧啶基、啡啶基、啡啉基、啡吩基、啡噻吩基、啡噁噻基、啡噁 吩基、呔吩基、哌吩基、哌啶基、哌啶酮基、4-哌啶酮基、向日葵基、喋啶基、嘌呤基、哌喃基、吡吩基、吡唑啶基、吡唑啉基、吡唑基、嗒吩基、吡啶并噁唑基、吡啶并咪唑基、吡啶并噻唑基、吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡咯啶基、吡咯啉基、2H-吡咯基、吡咯基、喹唑啉基、喹啉基、4*H*-喹吩基、喹噁啉基、喨啶基、四氫呋喃基、四氫異喹啉基、四氫喹啉基、四唑基、6*H*-1,2,5-噻二吩基、1,2,3-噻二唑基、1,2,4-噻二唑基、1,2,5-噻二唑基、1,3,4-噻二唑基、噻嗯基、噻唑基、噻吩基、噻吩并噻唑基、噻吩并噁唑基、噻吩并咪唑基、苯硫基及呫基。環

中之一或多者可如上文關於「芳基」所定義經取代。

【1112】 如本文所用，術語「芳烷基」係指經芳基(例如芳族或雜芳族基團)取代之烷基。

【1113】 如本文所用，術語「碳環」係指環之各原子為碳的芳族或非芳族環。

【1114】 如本文所用，「雜環(Heterocycle/heterocyclic)」係指經由單環或雙環之環碳或氮連接之環狀基團，其含有3-10個環原子，例如5-6個環原子，該等環原子由碳及一至四個各自選自由以下組成之群的雜原子組成：非過氧化氧、硫及N(Y)，其中Y不存在或為H、O、(C_1-C_{10})烷基、苯基或苯甲基，且視情況含有1-3個雙鍵並視情況經一或多個取代基取代。雜環之實例包括但不限於苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并硫代呋喃基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、苯并噁唑啉基、苯并噻唑基、苯并三唑基、苯并四唑基、苯并異噁唑基、苯并異噻唑基、苯并咪唑啉基、咔唑基、4a*H*-咔唑基、咔啉基、唅烷基、唅烯基、啶啉基、十氫喹啉基、2*H*,6*H*-1,5,2-二噻吲基、二氫呋喃并[2,3-b]四氫呋喃、呋喃基、呋呫基、四氫咪唑基、咪唑啉基、咪唑基、1*H*-吲唑基、吲哚烯基、吲哚啉基、吲呻基、吲哚基、3H-吲哚基、靛紅醯基、異苯并呋喃基、異唅基、異吲唑基、異吲哚啉基、異吲哚基、異喹啉基、異噻唑基、異噁唑基、亞甲基二氧基苯基、味啉基、嗪啶基、八氫異喹啉基、噁二唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、噁唑啶基、噁唑基、氧雜環庚烷基、氧雜環丁基、羥吲哚基、嘧啶基、啡啶基、啡啉基、啡吲基、啡噻吲基、啡噁噻基、啡噁 吲基、呔吲基、哌吲基、哌啶基、哌啶酮基、4-哌啶酮基、向日葵基、喋啶基、嘌呤基、哌喃基、吡吲基、

吐唑啶基、吐唑啉基、吐唑基、喀啡基、吐啶并噁唑基、吐啶并咪唑基、吐啶并噻唑基、吐啶基、吐啶基、嘧啶基、吐哢啶基、吐哢啉基、2H-吐哢基、吐哢基、喹唑啉基、喹啉基、4H-喹啡基、喹噁啉基、啶啡基、四氫呋喃基、四氫異喹啉基、四氫哌喃基、四氫喹啉基、四唑基、6H-1,2,5-噻二哄基、1,2,3-噻二唑基、1,2,4-噻二唑基、1,2,5-噻二唑基、1,3,4-噻二唑基、噻嗯基、噻唑基、噻吩基、噻吩并噻唑基、噻吩并噁唑基、噻吩并咪唑基、苯硫基及呫基。雜環基可如上文關於烷基及芳基所定義，視情況在一或多個位置處經一或多個取代基取代，例如鹵素、烷基、芳烷基、烯基、炔基、環烷基、羥基、胺基、硝基、硫氫基、亞胺基、醯胺基、磷酸酯、膦酸酯、亞膦酸酯、羰基、羧基、矽烷基、醚、烷硫基、磺醯基、酮、醛、酯、雜環基、芳族或雜芳族部分、-CF_3及-CN。

[(1115)] 術語「羰基」為此項技術中公認的且包括諸如可由以下通式表示之部分：



其中X為鍵或表示氧或硫，且R_{11}表示氫、烷基、環烷基、烯基、環烯基或炔基，R'_{11}表示氫、烷基、環烷基、烯基、環烯基或炔基。在X為氧且R_{11}或R'_{11}不為氫之情況下，該式表示「酯」。在X為氧且R_{11}如上文所定義之情況下，該部分在本文中稱為羧基，且特定言之當R_{11}為氫時，該式表示「羧酸」。在X為氧且R'_{11}為氫之情況下，該式表示「甲酸酯」。一般而言，在上式之氧原子經硫置換之情況下，該式表示「硫羰基」。在X為硫且R_{11}或R'_{11}不為氫之情況下，該式表示「硫酯」。在X為硫且R_{11}為氫之情況下，該式表示「硫代羧酸」。在X為硫且R'_{11}為氫之情況下，該式表示「硫代甲酸酯」。另一方面，在X為鍵且R_{11}不為氫之情

況下，上式表示「酮」基團。在X為鍵且R_{11}為氫之情況下，上式表示「醛」基團。

【1116】 如本文所用，術語「雜原子」意謂除碳或氫之外的任何元素之原子。雜原子之實例為硼、氮、氧、磷、硫及硒。其他適用雜原子包括矽及砷。

【1117】 如本文所用，術語「硝基」意謂$-NO_2$；術語「鹵素」指代-F、-Cl、-Br或-I；術語「硫氫基」意謂-SH；術語「羥基」意謂-OH；且術語「磺醯基」意謂$-SO_2-$。

【1118】 如本文所用，術語「經取代」係指本文所描述之化合物之所有可容許的取代基。最廣義而言，可容許的取代基包括有機化合物之非環狀及環狀、分支鏈及非分支鏈、碳環及雜環、芳族及非芳族取代基。說明性取代基包括但不限於鹵素、羥基或含有任何數目之碳原子(例如1-14個碳原子)之任何其他有機基團，且視情況以直鏈、分支鏈或環狀結構性形式包括一或多個雜原子，諸如氧、硫或氮分組。代表性取代基包括烷基、經取代之烷基、烯基、經取代之烯基、炔基、經取代之炔基、苯基、經取代之苯基、芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、鹵基、羥基、烷氧基、經取代之烷氧基、苯氧基、經取代之苯氧基、芳氧基、經取代之芳氧基、烷基硫基、經取代之烷基硫基、苯硫基、經取代之苯硫基、芳基硫基、經取代之芳基硫基、氰基、異氰基、經取代之異氰基、羰基、經取代之羰基、羧基、經取代之羧基、胺基、經取代之胺基、醯胺基、經取代之醯胺基、磺醯基、經取代之磺醯基、磺酸、磷醯基、經取代之磷醯基、膦醯基、經取代之膦醯基、聚芳基、經取代之聚芳基、C_3-C_{20}環狀基團、經取代之C_3-C_{20}環狀基團、雜環、經取代之雜環、胺基酸、肽

及多肽基團。

【1119】如本文所描述，本發明之化合物可含有「視情況經取代」之部分。一般而言，術語「經取代」無論前面是否有術語「視情況」均意謂指定部分之一或多個氫經合適的取代基置換。除非另外指示，否則「視情況經取代」之基團可在基團之各可取代位置處具有適合的取代基，且當任何既定結構中之超過一個位置可經超過一個選自指定基團之取代基取代時，在每一位置處之取代基可相同或不同。本發明所設想之取代基的組合較佳地為使得形成穩定或化學上可行的化合物的彼等取代基的組合。如本文所用，術語「穩定」係指化合物在經受允許其產生、偵測及(在某些實施例中)其回收、純化及用於本文所揭示之一或多種目的之條件時不發生實質上改變。

【1120】「視情況經取代」之基團之可取代碳原子上之合適的單價取代基獨立地為：鹵素；$-(CH_2)_{0-4}R^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}OR^\circ$；$-O(CH_2)_{0-4}R^\circ$，$-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}CH(OR^\circ)_2$；$-(CH_2)_{0-4}SR^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}Ph$，其可經$R^\circ$取代；$-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$，其可經$R^\circ$取代；-CH=CHPh，其可經$R^\circ$取代；$-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}$-吡啶基，其可經$R^\circ$取代；$-NO_2$；-CN；$-N_3$；$-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$；$-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)R^\circ$；$-N(R^\circ)C(S)R^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$；$-N(R^\circ)C(S)NR^\circ_2$；$-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)OR^\circ$；$-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)R^\circ$；$-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$；$-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)OR^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}C(O)R^\circ$；$-C(S)R^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}C(O)SR^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR^\circ_3$；$-(CH_2)_{0-4}OC(O)R^\circ$；$-OC(O)(CH_2)_{0-4}SR^\circ$，SC(S)SR°；$-(CH_2)_{0-4}SC(O)R^\circ$；$-(CH_2)_{0-4}C(O)NR^\circ_2$；$-C(S)NR^\circ_2$；$-C(S)SR^\circ$；$-SC(S)SR^\circ$，$-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR^\circ_2$；$-C(O)N(OR^\circ)R^\circ$；-

C(O)C(O)R° ； -C(O)CH_2C(O)R° ； -C(NOR°)R° ； -$(CH_2)_{0-4}$SSR° ； -$(CH_2)_{0-4}$S(O)$_2$R° ； -$(CH_2)_{0-4}$S(O)$_2$OR° ； -$(CH_2)_{0-4}$OS(O)$_2$R° ； -S(O)$_2$NR°$_2$ ； -$(CH_2)_{0-4}$S(O)R° ； -N(R°)S(O)$_2$NR°$_2$ ； -N(R°)S(O)$_2$R° ； -N(OR°)R° ； -C(NH)NR°$_2$ ； -P(O)$_2$R° ； -P(O)R°$_2$ ； -OP(O)R°$_2$ ； -OP(O)(OR°)$_2$ ； SiR°$_3$ ；-(C_{1-4}直鏈或分支鏈伸烷基)O-N(R°)$_2$ ；或-(C_{1-4}直鏈或分支鏈伸烷基)C(O)O-N(R°)$_2$ ，其中各R°可如下文所定義經取代且獨立地為氫、C_{1-6}脂族基、-CH_2Ph、-O$(CH_2)_{0-1}$Ph、-CH_2-(5-6員雜芳環)或具有0-4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子的5-6員飽和、部分不飽和環或芳環，或不管上文定義，兩個獨立出現之R°與其中間原子一起形成具有0-4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子的3-12員飽和、部分不飽和環或芳基單環或雙環，其可如下文所定義經取代。

【1121】 R°(或藉由將兩個獨立出現之R°與其中間原子結合在一起形成之環)上之合適的單價取代基獨立地為：鹵素、-$(CH_2)_{0-2}$R•、-(鹵基R•)、-$(CH_2)_{0-2}$OH、-$(CH_2)_{0-2}$OR•、-$(CH_2)_{0-2}$CH(OR•)$_2$ ；-O(鹵基R•)、-CN 、-N_3 、-$(CH_2)_{0-2}$C(O)R• 、-$(CH_2)_{0-2}$C(O)OH 、-$(CH_2)_{0-2}$C(O)OR• 、-$(CH_2)_{0-2}$SR• 、 -$(CH_2)_{0-2}$SH 、 -$(CH_2)_{0-2}$$NH_2$ 、 -$(CH_2)_{0-2}$NHR• 、 -$(CH_2)_{0-2}$NR•$_2$ 、-NO_2 、-SiR•$_3$ 、-OSiR•$_3$ 、-C(O)SR• 、-(C_{1-4}直鏈或分支鏈伸烷基)C(O)OR•或-SSR• ，其中各R•未經取代，或當前面為「鹵基」時僅經一或多個鹵素取代，且獨立地選自C_{1-4}脂族基、-CH_2Ph、-O$(CH_2)_{0-1}$Ph ，或具有0-4個獨立地選自氮、氧及硫之雜原子的5-6員飽和、部分不飽和環或芳環。R°之飽和碳原子上之合適的二價取代基包括=O及=S。

【1122】 「視情況經取代」之基團之飽和碳原子上之合適的二價取代基包括以下：=O 、=S 、=NNR*$_2$ 、=NNHC(O)R* 、=NNHC(O)OR* 、

=NNHS(O)$_2$R*、=NR*、=NOR*、-O(C(R*$_2$))$_{2-3}$O-或-S(C(R*$_2$))$_{2-3}$S-，其中各獨立出現之R*選自氫；可如下文所定義經取代的C_{1-6}脂族基；或具有0-4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子的未經取代之5-6員飽和、部分不飽和環或芳環。與「視情況經取代」之基團之鄰接可取代碳結合之合適的二價取代基包括：-O(CR*$_2$)$_{2-3}$O-，其中各獨立出現之R*選自氫；可如下文所定義經取代之C_{1-6}脂族基；或具有0-4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子的未經取代之5-6員飽和、部分不飽和環或芳環。

【1123】R*之脂族基上之合適的取代基包括鹵素、-R•、-(鹵基R•)、-OH、-OR•、-O(鹵基R•)、-CN、-C(O)OH、-C(O)OR•、-NH$_2$、-NHR•、-NR•$_2$或-NO$_2$，其中各R•未經取代或當前面有「鹵基」時，僅經一或多個鹵素取代，且獨立地為C_{1-4}脂族基、-CH$_2$Ph、-O(CH$_2$)$_{0-1}$Ph，或具有0-4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子的5-6員飽和、部分不飽和環或芳環。

【1124】「視情況經取代」之基團之可取代氮上之合適的取代基包括-R†、-NR†$_2$、-C(O)R†、-C(O)OR†、-C(O)C(O)R†、-C(O)CH$_2$C(O)R†、-S(O)$_2$R†、-S(O)$_2$NR†$_2$、-C(S)NR†$_2$、-C(NH)NR†$_2$或-N(R†)S(O)$_2$R†；其中各R†獨立地為氫；可如下文所定義經取代之C_{1-6}脂族基；未經取代之-OPh；或具有0-4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子的未經取代之5-6員飽和、部分不飽和環或芳環，或不管上文定義，兩個獨立出現之R†與其中間原子一起形成未經取代之具有0-4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子的3-12員飽和、部分不飽和環或芳基單環或雙環。

【1125】R†之脂族基上之合適的取代基包括鹵素、-R•、-(鹵基R•)、-OH、-OR•、-O(鹵基R•)、-CN、-C(O)OH、-C(O)OR•、-NH$_2$、-

$NHR^{\bullet}$、$-NR^{\bullet}_2$或$-NO_2$，其中各$R^{\bullet}$未經取代或當前面有「鹵基」時，僅經一或多個鹵素取代，且獨立地為C_{1-4}脂族基、$-CH_2Ph$、$-O(CH_2)_{0-1}Ph$，或具有0-4個獨立地選自氮、氧或硫之雜原子的5-6員飽和、部分不飽和環或芳環。

【1126】 雜原子，諸如氮，可具有氫取代基及/或本文所描述之有機化合物之任何可容許的取代基，該等取代基滿足雜原子之價數。應理解，「取代」或「經取代」包括隱含限制條件，此類取代係根據經取代之原子及取代基的允許價數，且該取代產生穩定化合物，亦即化合物不自發地經歷轉化，例如藉由重排、環化或消除。

【1127】 在一廣泛態樣中，可容許的取代基包括有機化合物之非環狀及環狀、分支鏈及非分支鏈、碳環及雜環、芳族及非芳族取代基。說明性取代基包括例如本文描述之取代基。對於適當有機化合物，可容許的取代基可為一或多個且相同或不同。雜原子，諸如氮，可具有氫取代基及/或本文所描述之有機化合物之任何可容許的取代基，該等取代基滿足雜原子之價數。

【1128】 在各種實施例中，取代基選自烷氧基、芳氧基、烷基、烯基、炔基、醯胺、胺基、芳基、芳烷基、胺基甲酸酯、羧基、氰基、環烷基、酯、醚、甲醯基、鹵素、鹵烷基、雜芳基、雜環基、羥基、酮、硝基、磷酸酯、硫醚、亞磺醯基、磺醯基、磺酸、磺醯胺及硫酮，其各自視情況經一或多個合適的取代基取代。在一些實施例中，取代基選自烷氧基、芳氧基、烷基、烯基、炔基、醯胺、胺基、芳基、芳烷基、胺基甲酸酯、羧基、環烷基、酯、醚、甲醯基、鹵烷基、雜芳基、雜環基、酮、磷酸酯、硫醚、亞磺醯基、磺醯基、磺酸、磺醯胺及硫酮，其中以下中之各

者可進一步經一或多個合適的取代基取代：烷氧基、芳氧基、烷基、烯基、炔基、醯胺、胺基、芳基、芳烷基、胺基甲酸酯、羧基、環烷基、酯、醚、甲醯基、鹵烷基、雜芳基、雜環基、酮、磷酸酯、硫醚、亞磺醯基、磺醯基、磺酸、磺醯胺及硫酮。

【1129】取代基之實例包括但不限於鹵素、疊氮基、烷基、芳烷基、烯基、炔基、環烷基、羥基、烷氧基、胺基、硝基、硫氫基、亞胺基、醯胺基、膦酸酯、亞膦酸酯、羰基、羧基、矽烷基、醚、烷硫基、磺醯基、磺醯胺基、酮、醛、硫酮、酯、雜環基、-CN、芳基、芳氧基、全鹵烷氧基、芳烷氧基、雜芳基、雜芳氧基、雜芳基烷基、雜芳烷氧基、疊氮基、烷硫基、側氧基、醯基烷基、羧基酯、甲醯胺基、醯氧基、胺基烷基、烷胺基芳基、烷芳基、烷胺基烷基、烷氧基芳基、芳胺基、芳烷基胺基、烷基磺醯基、甲醯胺基烷芳基、甲醯胺基芳基、羥烷基、鹵烷基、烷胺基烷基羧基、胺基甲醯胺基烷基、氰基、烷氧基烷基、全鹵烷基、芳基烷氧基烷基及其類似者。在一些實施例中，取代基選自氰基、鹵素、羥基及硝基。

【1130】*抗體*：如本文所用，術語「抗體」以最廣泛含義指代且特定地涵蓋各種實施例，包括但不限於單株抗體、多株抗體、多特異性抗體(例如由至少兩種完整抗體形成之雙特異性抗體)及抗體片段(例如雙功能抗體)，只要其呈現所需生物活性(例如「功能性」)即可。抗體主要為基於胺基酸之分子，但亦可包含一或多個修飾((包括但不限於添加糖部分、螢光部分、化學標籤等)。抗體或其片段之非限制性實例包括VH及VL域、scFv、Fab、Fab'、F(ab')2、Fv片段、雙功能抗體、線性抗體、單鏈抗體分子、多特異性抗體、雙特異性抗體、胞內抗體、單株抗體、多株抗

體、人源化抗體、密碼子最佳化之抗體、串聯scFv抗體、雙特異性T細胞接合分子、mAb2抗體、嵌合抗原受體(CAR)、四價雙特異性抗體、生物合成抗體、原生抗體、微型化抗體、單抗體、最大抗體、針對衰老細胞之抗體、針對構象異構體之抗體、針對疾病特異性抗原決定基之抗體或針對先天性防禦分子之抗體。

【1131】*結合(Associated)*：如本文所用，術語「與……結合(associated with)」、「結合(conjugated)」、「連接(linked)」、「連接(attached)」及「繫栓(tethered)」在關於兩個或更多個部分使用時，意謂該等部分物理上彼此結合或連接，直接或經由充當連接劑之一或多個額外部分，以形成足夠穩定以使得該等部分在其中使用該結構之條件(例如生理條件)下保持物理上結合的結構「結合」不必嚴格經由直接共價化學鍵結進行。其亦可表明離子或氫鍵結或基於雜交之連接性足夠穩定，以使得「結合(associated)」實體保持物理結合。

【1132】*貨物*：如本文所用，術語「貨物(cargo)」或「有效負載(payload)」可指用於遞送細胞或組織至遞送至細胞或組織中之遞送載體中涵蓋之一或多個分子或結構。貨物之非限制性實例可包括核酸、多肽、肽、蛋白質、脂質體、標記、標籤、小化學分子、大生物分子及其任何組合。

【1133】*嵌合抗原受體(CAR)*：如本文所用，術語「嵌合抗原受體」或「CAR」係指包含至少一個抗原特異性靶向區(ASTR)、跨膜域及胞內傳訊域之人工嵌合蛋白，其中抗原特異性靶向區包含全長抗體或其片段。任何能夠以高親和力結合目標抗原之分子均可用於CAR之ASTR中。CAR可視情況具有胞外間隔子域及/或共刺激域。CAR亦可用於產生攜帶

CAR之細胞毒性細胞。

【1134】*環狀RNA*：如本文所用，術語「環狀RNA」或「circRNA」係指經由共價或非共價鍵形成環狀結構之RNA。

【1135】*共投與*：如本文所用，術語「共投與(co-administered/co-administering)」意謂在充分接近的時間內投與初始構築體、基準構築體或靶向系統具有一或多種額外初始構築體、基準構築體、靶向系統或其他治療劑或部分，以使得增強初始構築體、基準構築體、靶向系統或其他治療劑或部分的作用。

【1136】*互補及實質上互補*：如本文所用，術語「互補」係指聚核苷酸彼此形成鹼基對之能力。鹼基對通常由反向平行聚核苷酸股中之核苷酸單元之間的氫鍵形成。互補聚核苷酸股可以沃森-克里克方式(例如A與T、A與U、C與G)，或以允許形成雙螺旋之任何其他方式形成鹼基對。如熟習此項技術者所知，當使用RNA而非DNA時，尿嘧啶而非胸腺嘧啶係被視為與腺苷互補的鹼基。然而，除非另外陳述，否則當在本發明之上下文中表示為U時，暗示能夠取代T。完美互補性或100%互補性係指一個聚核苷酸股之各核苷酸單元可與第二聚核苷酸股之核苷酸單元形成氫鍵之情況。次完美互補性係指兩股之一些但並非所有核苷酸單元可彼此形成氫鍵的情況。舉例而言，對於兩個20聚體，若各股上僅兩個鹼基對可彼此形成氫鍵，則聚核苷酸股呈現10%互補性。在相同實例中，若各股上之18個鹼基對可彼此形成氫鍵，則聚核苷酸股呈現90%互補性。如本文所用，術語「實質上互補」意謂siRNA之序列(例如在反義股中)足以結合所需目標mRNA及觸發該目標mRNA之RNA靜默。

【1137】*遞送*：如本文所用，「遞送」係指遞送化合物、物質、實

體、部分、貨物或有效負載的行為或方式。

【1138】 *DNA及RNA*：如本文所用，術語「RNA」或「RNA分子」或「核糖核酸分子」係指核糖核苷酸聚合物；術語「DNA」或「DNA分子」或「去氧核糖核酸分子」係指去氧核糖核苷酸聚合物。DNA及RNA可分別例如藉由DNA複製及DNA轉錄天然合成；或化學合成。DNA及RNA可為單股(亦即，分別為ssRNA或ssDNA)或多股(例如雙股，亦即分別為dsRNA及dsDNA)。如本文所用，術語「mRNA」或「信使RNA」係指編碼一或多個多肽鏈之胺基酸序列之單股RNA。

【1139】 *包封*：如本文所用，術語「包封」意謂封閉、包圍或包覆。

【1140】 *編碼*：如本文所用，術語「編碼(encode)」廣泛地指藉以使用聚合大分子中之資訊來導引不同於第一分子之第二分子產生的任何過程。第二分子可具有不同於第一分子之化學性質之化學結構。

【1141】 *基因之增強表現*：如本文所用，片語「反加(add-back)」或「基因之增強表現」意謂引起基因之表現產物之量增加。表現產物可為自基因轉錄之RNA (例如mRNA)或自mRNA (自基因轉錄)轉譯之多肽。通常，mRNA之含量增加引起自其轉譯之多肽之含量增加。表現量可使用用於量測mRNA或蛋白質之標準技術來確定。

【1142】 *胞泌體*：如本文所用，「胞泌體」為哺乳動物細胞分泌之囊泡或參與RNA降解之複合物。

【1143】 *調配物*：如本文所用，「調配物」包括至少一種化合物、物質、實體、部分、貨物或有效負載及遞送劑。

【1144】 *片段*：如本文所用，「片段」係指一部分。舉例而言，蛋

白質之片段可包含藉由使自經培養細胞分離之全長蛋白質消化而獲得的多肽。

【1145】*同源性*：如本文所用，術語「同源性」係指聚合分子之間，例如聚核苷酸分子(例如DNA分子及/或RNA分子)之間及/或多肽分子之間的總體相關性。在一些實施例中，若聚合物分子之序列至少25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%一致或相似，則將其視為彼此「同源」。術語「同源」必然係指在至少兩個序列(聚核苷酸或多肽序列)之間的比較。根據本發明，若對於具有至少約20個胺基酸的至少一個延伸部分，兩個聚核苷酸序列編碼之多肽至少約50%、60%、70%、80%、90%、95%或甚至99%一致，則其被視為同源。在一些實施例中，同源聚核苷酸序列之特徵在於編碼具有至少4-5個獨特指定之胺基酸之延伸部分之能力。對於長度小於60個核苷酸之聚核苷酸序列，同源性由編碼具有至少4-5個獨特指定之胺基酸的延伸部分之能力來確定。根據本發明，若對於具有至少約20個胺基酸之至少一個延伸部分，兩個蛋白質為至少約50%、60%、70%、80%或90%一致，則將兩個蛋白質序列視為同源。

【1146】*非活性成分*：如本文所用，術語「非活性成分」係指一或多種對調配物中所含之醫藥組合物之活性成分的活性無幫助之藥劑。在一些實施例中，可用於本發明之調配物中之非活性成分可全部、均未或其中一些經美國食品及藥物管理局(FDA)批准。

【1147】*IRES*：如本文所用，術語「內部核糖體進入位點」或「IRES」係指尺寸在10個核苷酸至1,000個核苷酸或更多範圍內、能夠在不存在正常RNA帽結構下起始多肽之轉譯的RNA序列或結構元件。

【1148】 *一致性*：如本文所用，術語「一致性」係指聚合物分子之間，例如聚核苷酸分子(例如DNA分子及/或RNA分子)之間及/或多肽分子之間的總體相關性。舉例而言，兩個聚核苷酸序列之一致性百分比的計算可藉由出於最佳比較目的而比對兩個序列來進行(例如，可將間隙引入第一及第二核酸序列中之一者或兩者中以便最佳比對且出於比較目的可忽略不一致序列)。在某些實施例中，出於比較目的比對之序列的長度為參考序列之長度的至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或100%。接著比較在對應核苷酸位置處之核苷酸。當第一序列中之位置被與第二序列中之對應位置相同的核苷酸佔據時，則分子在該位置處一致。兩個序列之間的一致性百分比為該等序列共有之相同位置數目之函數，考慮到間隙之數目及各間隙之長度，需要引入該等間隙以便最佳比對兩個序列。可使用數學演算法來實現序列比較及兩個序列之間的一致性百分比測定。舉例而言，兩個核苷酸序列之間的一致性百分比可使用諸如以下中所描述之方法來測定：Computational Molecular Biology, Lesk, A. M.編, Oxford University Press, New York, 1988；Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W.編, Academic Press, New York, 1993；Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987；Computer Analysis of Sequence Data, 第I部分, Griffin, A. M.及Griffin, H. G.編, Humana Press, New Jersey, 1994；及Sequence Analysis Primer, Gribskov, M.及Devereux, J.編, M Stockton Press, New York, 1991；其各自以引用之方式併入本文中。舉例而言，兩個核苷酸序列之間的一致性百分比可使用Meyers及Miller (CABIOS, 1989, 4:11-17)之演算法來判定，該演算法已

併入使用PAM120權重殘基表、間隙長度罰分12及間隙罰分4之ALIGN程式(2.0版)中。或者，兩個核苷酸序列之間的一致性百分比可使用GCG套裝軟體中之GAP程式，使用NWSgapdna.CMP矩陣來測定。常用於測定序列之間的一致性百分比的方法包括但不限於Carillo, H.及Lipman, D., SIAM J Applied Math., 48:1073 (1988)中所揭示之方法，該文獻以引用之方式併入本文中。用於測定一致性之技術編碼於公開可獲得之電腦程式中。用於測定兩個序列之間的同源性之例示性電腦軟體包括但不限於GCG套裝程式(Devereux, J.等人, Nucleic Acids Research, 12(1), 387 (1984))、BLASTP、BLASTN及FASTA (Altschul, S. F.等人, J. Molec. Biol., 215, 403 (1990))。

【1149】 *抑制基因之表現*：如本文所用，片語「基因表現減弱(knock-down)」或「抑制基因之表現(inhibit expression of a gene)」意謂使基因之表現產物之量降低。表現產物可為自基因轉錄之RNA (例如mRNA)或自mRNA (自基因轉錄)轉譯之多肽。通常，mRNA含量之減少引起自其轉譯之多肽的含量減少。表現量可使用用於量測mRNA或蛋白質之標準技術來確定。

【1150】 *可離子化脂質*：如本文所用，「可離子化脂質」係指在所選擇pH下攜帶淨正電荷之多種脂質物種中之任一者。

【1151】 *脂質奈米粒子*：如本文所用，「脂質奈米粒子」或「LNP」係指包含一或多種脂質(例如陽離子脂質、非陽離子脂質、PEG修飾之脂質)的遞送載體。

【1152】 *脂質體*：如本文所用，「脂質體」通常係指由以一或多個球形雙層佈置之脂質(例如兩親媒性脂質)構成的囊泡。

【1153】 *經修飾*：如本文所用，「經修飾」係指分子之狀態或結構改變。可以多種方式修飾分子，包括在化學上、結構上及功能上修飾分子。

【1154】 *非陽離子脂質*：如本文所用，「非陽離子脂質」係指任何中性、兩性離子或陰離子脂質。

【1155】 *肽*：如本文所用，「肽」之長度小於或等於50個胺基酸，例如長度為約5、10、15、20、25、30、35、40、45或50個胺基酸。

【1156】 *醫藥組合物*：如本文所用，術語「醫藥組合物」係指包含至少一種活性成分及視情況選用之一或多種醫藥學上可接受之賦形劑之組合物。

【1157】 *PEG*：如本文所用，「PEG」意謂任何聚乙二醇或其他聚伸烷基醚聚合物。

【1158】 *間隔子*：如本文所用，術語「間隔子」係指序列中分隔開兩個其他元件之1個殘基至數百或數千個殘基範圍內的聚核苷酸或多肽區域。間隔子之序列可為限定或隨機的。間隔子序列通常為非編碼序列，但可為編碼序列。

【1159】 *固醇*：如本文所用，「固醇(sterol)」為由類固醇組成之類固醇子組。

【1160】 *結構性脂質*：如本文所用，「結構性脂質」係指固醇及含有固醇部分之脂質。

【1161】 *轉錄*：如本文所用，術語「轉錄」係指藉由RNA聚合酶，使用DNA分子作為模板，形成或合成RNA分子。

【1162】 *轉譯*：如本文所用，術語「轉譯」係指藉由核糖體，基於

RNA模板形成多肽分子。

【1163】 *治療及預防*：如本文所用，術語「治療」或「預防」以及自其起源之詞未必暗示100%或完全治療或預防。相反，存在不同程度之治療或預防，一般熟習此項技術者認可該等程度之治療或預防具有潛在益處或治療作用。此外，「預防」可涵蓋延遲疾病、其症狀或病狀之發作。

【1164】 *未經修飾*：如本文所用，「未經修飾」係指任何以任何方式改變之前的物質、化合物或分子。未經修飾可以指，但並不始終指生物分子之野生型或原生形式。分子可經歷一系列修飾，由此，各經修飾之分子可充當後續修飾之「未經修飾」之起始分子。

【1165】 *載體*：如本文所用，「載體」為運輸、轉導或以其他方式充當異源分子運載體的任何分子或部分。本發明之載體可以重組方式生產，且可基於及/或可包含病毒親本或參考序列。此類親本或參考病毒序列可充當用於對載體進行工程改造之初始、第二、第三或後續序列。在非限制性實例中，此類親本或參考病毒序列可包含以下序列中之任何一或多者：編碼多肽或多種多肽之聚核苷酸序列，該序列可為野生型或自野生型經修飾，且該序列可編碼蛋白質蛋白質域或蛋白質之一或多個次單元的全長或部分序列；包含調節或調控核酸之聚核苷酸，該序列可為野生型或自野生型經修飾；及可自野生型序列經修飾或可未經修飾之轉殖基因。此等病毒序列可充當一或多個密碼子(在核酸層級)或胺基酸(在多肽層級)之「供體」序列或一或多個密碼子(在核酸層級)或胺基酸(在多肽層級)之「受體」序列。本發明之一或多個實施例的細節在以下隨附描述中闡述。儘管類似或等效於本文所描述之彼等者之任何材料及方法可用於本發明之實踐或測試中，但現描述較佳材料及方法。本發明之其他特徵、目標及優

勢根據說明書將顯而易見。除非上下文清楚地另外指示，否則在說明書中，單數形式亦包括複數。除非另外定義，否則本文所用之所有技術及科學術語均具有與本發明所屬領域之一般熟習技術者所理解相同之含義。在有衝突的情況下，以本說明書為準。

XII. 實例

實例1

製備脂質之方法

【1166】本發明之脂質可使用任何適宜方法製備。在一理論途徑中，脂質自其個別組分構築。如此項技術中已知，組分可經由官能基彼此共價鍵結，其中此類官能基可存在於組分上或使用一或多個步驟(例如氧化反應、還原反應、裂解反應及其類似者)引入至組分上。可用於將組分共價鍵結在一起以產生脂質之官能基：羥基、硫氫基、胺基及其類似者。必要及/或需要時，組分上之某些部分可使用如此項技術中已知之封端基團(blocking group)進行保護，參見例如Green & Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis (John Wiley & Sons) (1991)。

【1167】或者，脂質可使用已知組合法產生，以產生可能脂質之較大庫，該等脂質接著可進行篩選以鑑別具有所需官能性之脂質。

實例2

製備遞送載體之方法

【1168】遞送載體，諸如本發明之LNP，可使用任何適宜方法製備。在一個非限制性實例中，LNP係藉由利用衝擊噴射方法，將等體積之溶解於醇中的脂質與溶解於檸檬酸鹽緩衝液中的寡核苷酸有效負載混合而形成。

【1169】 脂質溶液含有本發明之陽離子脂質化合物、輔助脂質、中性脂質及聚乙二醇化脂質。有效負載與總脂質比率為大致1:20 (wt/wt)。LNP係藉由利用衝擊噴射方法，經由混合裝置，將等體積之脂質乙醇溶液與溶解於檸檬酸鹽緩衝液中之寡核苷酸有效負載混合而形成。在稀釋步驟之前，將混合的LNP溶液保持在室溫下0-24小時。

【1170】 接著，濃縮該溶液且藉由使用膜之超過濾或透析方法用合適的緩衝液透濾。將最終產物無菌過濾且儲存在4℃下。

實例3

候選LNP靶向系統之評估

【1171】 製備候選靶向系統之庫，其中候選靶向系統包含於調配物中之至少一種標識符序列或部分及於核酸構築體中之至少一種標識符序列及/或有效負載。

候選靶向系統產生

【1172】 產生脂質奈米粒子(LNP)調配物群體，其中陽離子脂質組分用至少一個標識符序列或部分標記。產生之LNP調配物可包括如下LNP：其中(a)所有調配物之組分相同，且所有LNP調配物的各組分之莫耳比相同，(b)所有調配物之組分相同，但所有LNP調配物的各組分之莫耳比不同，或(c)LNP調配物之組分不同。不同LNP調配物中之各者可包括不同標識符序列或部分以便在投與後追蹤靶向系統。產生包括至少一個標識符序列或有效負載(例如報導基因)之核酸構築體且調配於LNP群體中，以便產生待投與至個體之候選靶向系統。

候選靶向系統之篩選及驗證

【1173】 接著，以預定劑量及給藥間隔，將候選靶向系統投與至個

體中。在投與後，篩選全部個體或個體之區域以確定LNP形成及/或基準構築體之有效負載的位置。個體可藉由此項技術中已知之各種方法掃描，包括利用^{64}Cu放射性標記的正電子發射斷層掃描(PET)及電腦斷層攝影術(CT)。LNP形成及/或有效負載之位置將藉由目視檢查PET影像之具有最大^{64}Cu濃度的區域確定，且PET結果之解剖學位置將使用CT掃描之結果確認。可重複進行掃描以便確定位置是否隨著時間推移而變化。

【1174】 在所需時間點處，將自個體之在以上進行之全動物定位篩選中顯示LNP及/或有效負載之位置的區域獲得樣品，以用於對於分佈進行較高解析篩選。

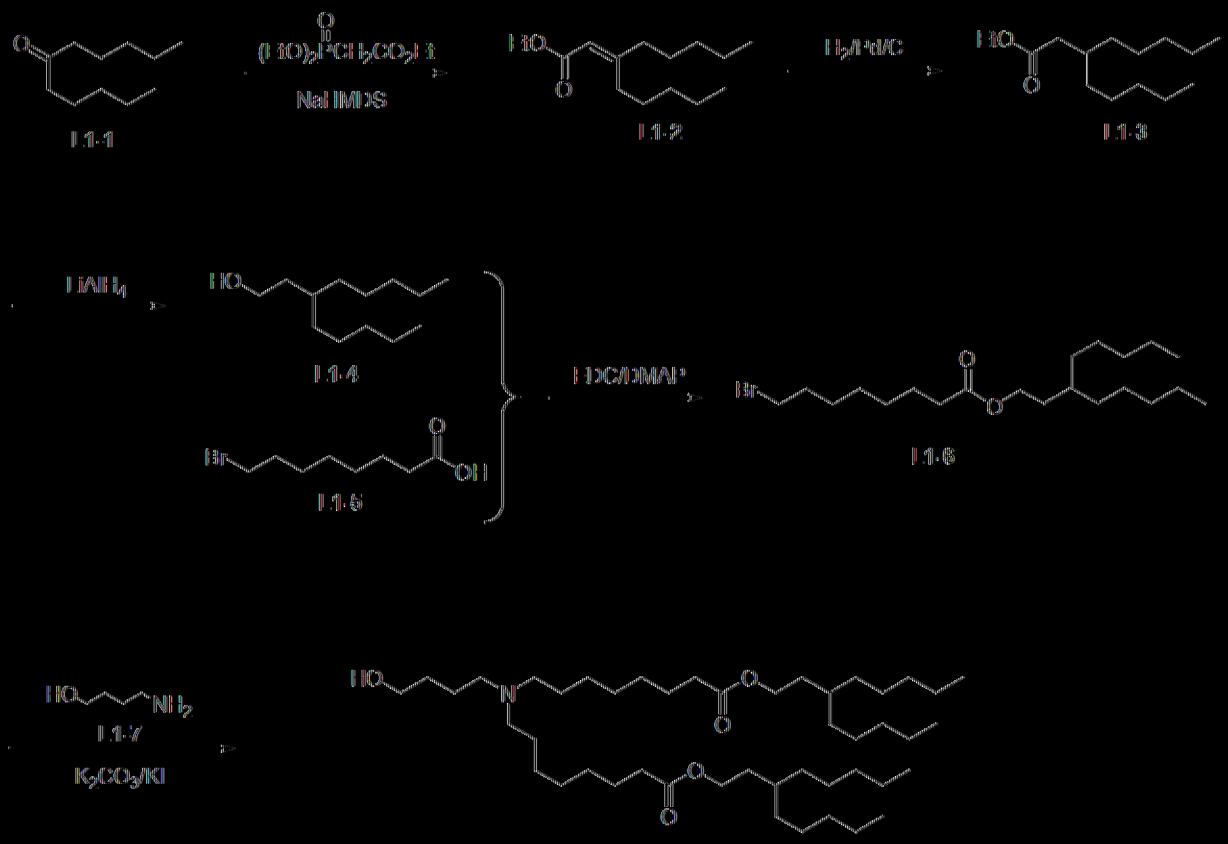
【1175】 接著，樣品可經由細胞分選器所供應之說明進行製備以用於螢光活化細胞分選(FACS)。接著，製備此等細胞群以用於深度定序以確定有效負載及/或標識符序列之存在及屬性(identity)。

【1176】 來自篩選LNP庫之此等結果將提供向個體投與之LNP調配物及核酸構築體的向性。

實例4

合成例示性可離子化脂質

合成8,8'-((4-羥基丁基)氮二基)二辛酸雙(3-戊基辛基)酯(化合物11)



化合物 I-1

合成3-戊基辛-2-烯酸乙酯(I-1-2)

[1177] 在氮氣氛圍下，在-10至-15℃下，向膦醯基乙酸三乙酯(26.3 g，118 mmol)於無水THF (33 mL)中之溶液中逐滴添加含1M NaHMDS之THF (118 mL，118 mmol)。完成添加後，在相同溫度下攪拌混合物30 min且接著在0℃下攪拌1 h。在0℃下向此混合物中滴入6-十一烷酮(10.0 g，59 mmol)，且將反應混合物升溫至室溫並攪拌過夜。接著將其升溫至45℃且再攪拌24 h。添加NH_4Cl飽和水溶液(8 mL)且蒸發THF。將殘餘物與Et_2O (80 mL)及H_2O (100 mL)混合，且分離所得相。水相用Et_2O (80 mL)萃取。經合併之有機相用H_2O (100 mL×2)洗滌且經無水Na_2SO_4乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至4%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈無色油狀之3-戊基辛-2-烯酸乙酯I-1-2 (11.6 g，82%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 5.60 (s, 1H), 4.13 (q, J

= 7.1 Hz, 2H), 2.57 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.12 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.52-1.19 (m, 15H), 0.89 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H); CIMS m/z 241 $[M+H]^+$。

合成3-戊基辛酸乙酯(L1-3)

【1178】 向**L1-2** (11.0 g，2.1 mmol)於EtOAc (90 mL)中之溶液中添加10% Pd/C (0.5 g)。在氫氣球下攪拌所得混合物一天。接著將其經由矽藻土過濾。矽藻土用EtOAc (25 mL×3)沖洗。蒸發經合併之濾液，得到呈淺黃色油狀之3-戊基辛酸乙酯**L1-3** (9.0 g，83%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.10 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.20 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 1.82 (s, 1H), 1.40-1.12 (m, 19H), 0.88 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H)。

合成3-戊基辛-1-醇(L1-4)

【1179】 在氮氣氛圍下，在0℃下，向氫化鋰鋁之2.0 M THF溶液(28 mL，56 mmol)中緩慢添加**L1-3** (7.0 g，29 mmol)於THF (33 mL)中之溶液。在0℃下攪拌所得混合物1 h，接著在室溫下攪拌過夜。在冰水浴冷卻下，反應物藉由添加Na_2SO_4飽和水溶液淬滅，得到乳白色溶液。分離有機相，且水相用Et_2O (50 mL×2)萃取。經合併之有機相經Na_2SO_4乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至15%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈略微黃色油狀之3-戊基辛-1-醇**L1-4** (4.0 g，70%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) 3.65 (t, *J* =4.4 Hz, 2H), 1.51 (dd, *J* = 13.7 Hz, 6.8 Hz, 2H), 1.46-1.12 (m, 17H), 0.88 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H)。

合成8-溴辛酸3-戊基辛酯(L1-6)

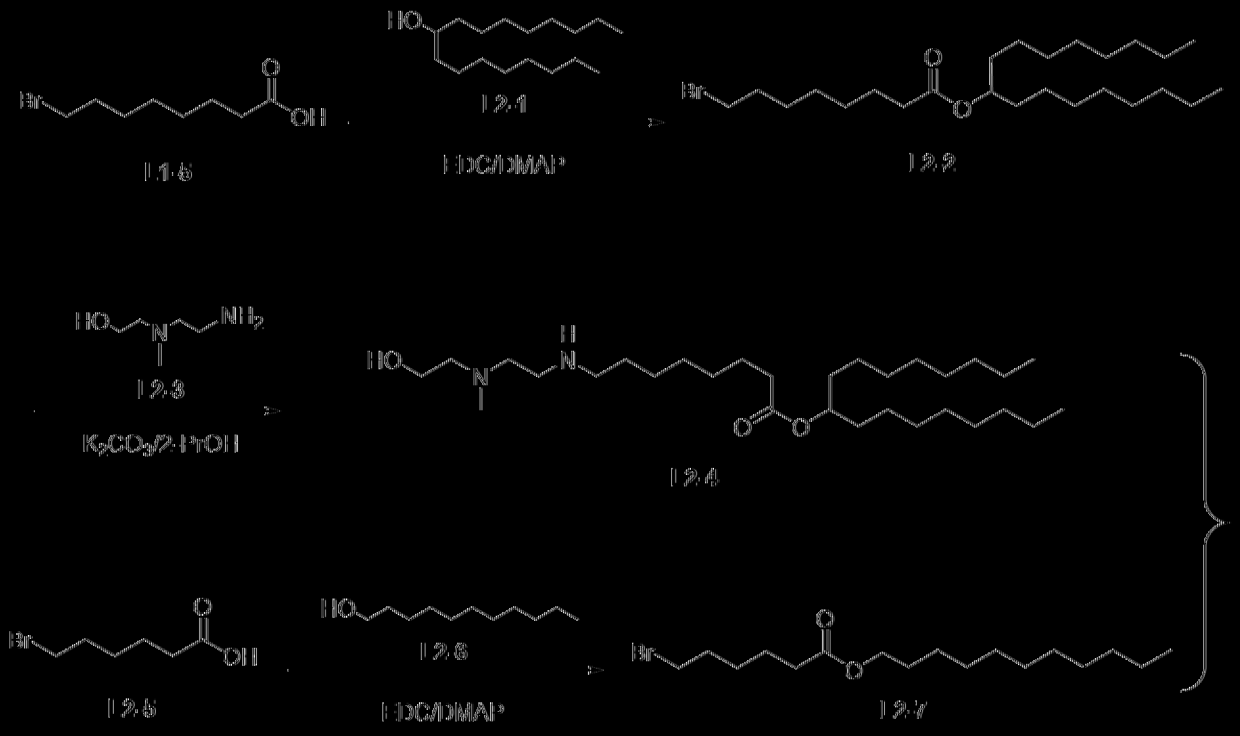
【1180】 向**L1-4** (0.8 g，4 mmol)於DCM (10 mL)中之溶液中添加8-溴辛酸**L1-5** (1.0 g，4.4 mmol)，隨後添加DMAP (0.3 g，2 mmol)及EDC (1.9 g，8 mmol)。在氮氣氛圍下在室溫下攪拌所得混合物過夜。反

應混合物用DCM (10 mL)稀釋，且用飽和$NaHCO_3$水溶液(10 mL)、水(10 mL)及鹽水(10 mL)洗滌。有機相經無水Na_2SO_4乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至10%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈無色油狀之8-溴辛酸3-戊基辛酯**L1-6** (1.0 g，78%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.07 (t, *J* =7.3 Hz, 2H), 3.39 (t, *J* =6.9 Hz, 2H), 2.28 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.90-1.15 (m, 29H), 0.88 (t, *J* = 6.9 Hz, 6H)。

合成8,8'-((4-羥基丁基)氮二基)二辛酸雙(3-戊基辛基酯(化合物11)

【1181】 在85℃下加熱**L1-6** (650 mg，1.6 mmol)、4-胺基-1-丁醇**L1-7** (64 mg，0.7 mmol)於含有碳酸鉀(400 mg，2.8 mmol)及碘化鉀(120 mg，0.7 mmol)之環戊基甲基醚(10 mL)及乙腈(10 mL)中之溶液24小時。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾，用乙酸乙酯洗滌，且接著在真空下移除溶劑，得到粗產物，其藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-100% + 1%三乙胺於溶離劑中)純化，得到呈略微黃色油狀之化合物**11** (337 mg，63%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.06 (t, *J* =7.0 Hz, 4H), 3.52 (m, 2H), 2.40 (m, 6H), 2.26 (t, *J* = 7.7 Hz, 4H), 1.70-1.15 (m, 68H), 0.86 (t, *J* = 7.1 Hz, 12H); MS (CI): *m/z* $[M+H]^+$ 738.7；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 10.7 min，純度：99.61%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 13.1 min，純度：97.30%。

合成8-((2-((2-羥基乙基)(甲基)胺基)乙基)(6-側氧基-6-(十一烷氧基)己基)胺基)辛酸十七烷-9-基酯(化合物46)



化合物46

合成8-溴辛酸十七烷-9-酯(L2-2)

[1182] 向L2-1 (2.56 g，1 mmol)於DCM (60 mL)中之溶液中添加8-溴辛酸L1-5 (2.22 g，1 mmol)，隨後添加DMAP (0.61 g，0.5 mmol)及EDC (3.9 g，2 mmol)。在氮氣氛圍下在室溫下攪拌所得混合物過夜。反應混合物用DCM(50 mL)稀釋，且用飽和$NaHCO_3$水溶液(50 mL)、水(30 mL)及鹽水(30 mL)洗滌。有機相經無水Na_2SO_4乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至10%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈無色油狀之8-溴辛酸3-戊基辛酯L2-2 (3.2 g，70%)。^{1}H-NMR (300

MHz, $CDCl_3$) δ 4.85 (五重峰, *J* =6.1 Hz, 1H), 3.40 (t, *J* =6.9 Hz, 2H), 2.28 (t, *J* =7.7 Hz, 2H), 1.86 (五重峰, *J* =6.0 Hz, 2H), 1.70-1.15 (m, 36H), 0.87 (t, *J* =6.9 Hz, 6H)。

合成8-((2-((2-羥基乙基)(甲基)胺基)乙基)胺基)辛酸十七烷-9-酯(L2-4)及8,8'-((2-((2-羥基乙基)(甲基)胺基)乙基)氮二基)二辛酸二(十七烷-9-基)酯(化合物47)

【1183】 在55-60℃下，加熱**L2-2** (1.0 g，2.2 mmol)及2-[(2-胺基乙基)(甲基)胺基]乙醇**L2-3** (1.28 g，11 mmol)於含有碳酸鉀(0.28 g，2.0 mmol)之2-丙醇(10 mL)中之混合物3.5天。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾。濃縮得到油殘餘物，其藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-100% + 1-30%三乙胺於溶離劑中)純化，得到呈略微黃色油狀之**L2-4** (0.79 g，72%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.85 (五重峰, *J* =6.1 Hz, 1H), 3.59 (t, *J* =5.2 Hz, 2H), 2.70 (t, *J* =6.1 Hz, 2H), 2.62-2.48 (m, 6H), 2.29 (s, 3H), 2.27 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.73-1.16 (m, 40H), 0.87 (t, *J* =6.6 Hz, 6H); MS (CI): *m/z* $[M+H]^+$ 499；亦分離出呈略微黃色油狀之雙加成化合物產物(化合物**47**) (69 mg)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.86 (五重峰, *J* =6.3 Hz, 1H), 3.55 (t, *J* =4.9 Hz, 2H), 2.54 (t, *J* =5.4 Hz, 2H), 2.49 (s, 4H), 2.40 (t, *J* =7.4 Hz, 4H), 2.30 (s, 3H), 2.27 (t, *J* =7.6 Hz, 4H), 1.73-1.16 (m, 84H), 0.87 (t, *J* =6.6 Hz, 6H); MS (CI): *m/z* $[M+H]^+$ 879.7；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 12.0 min，純度：> 99%；UPLC管柱：

Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 14.8 min，純度：99.42%。

合成6-溴己酸十一烷酯(L2-7)

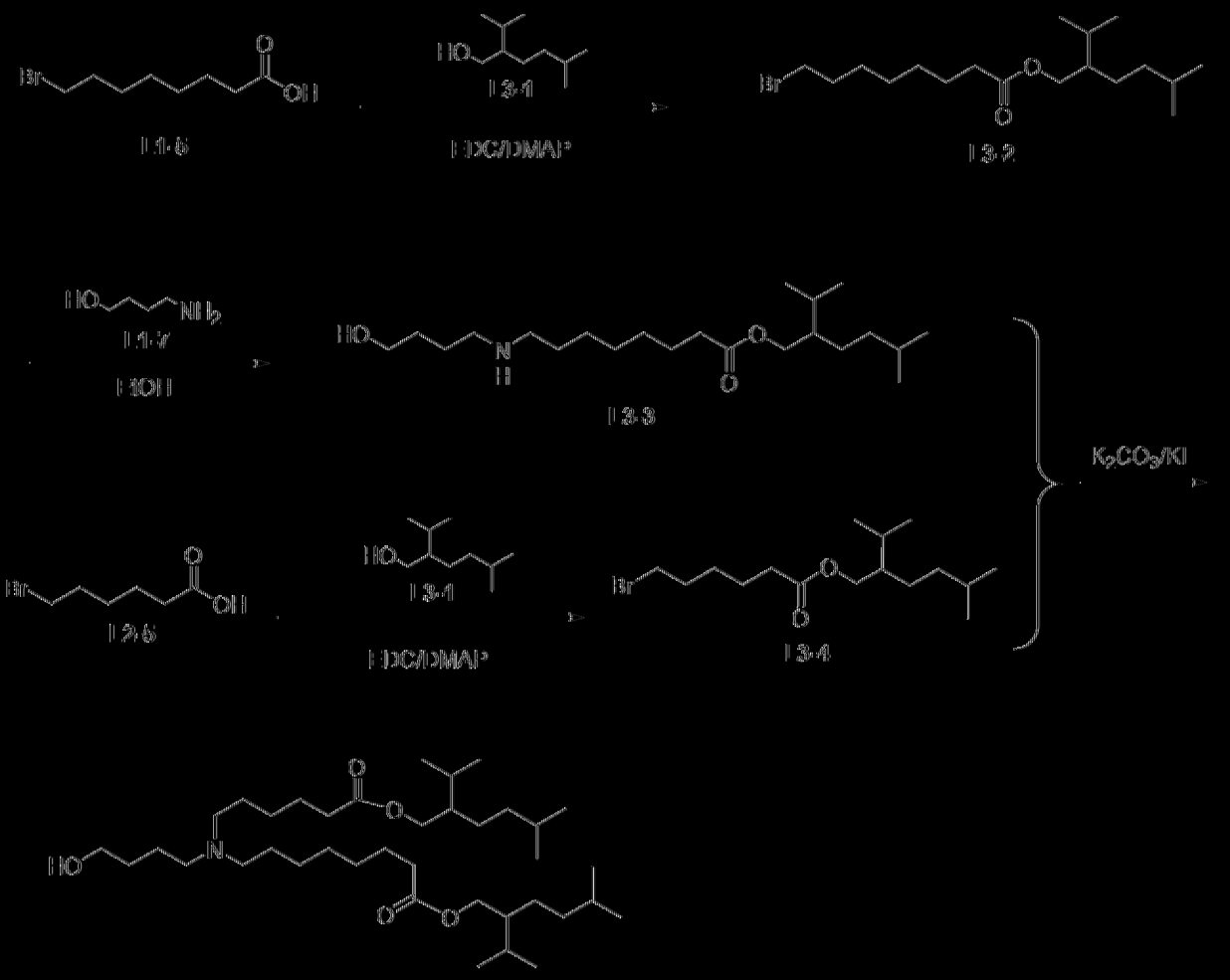
【1184】向**L2-6** (5.16 g，30 mmol)於DCM (160 mL)中之溶液中添加6-溴己酸**L2-5** (5.85 g，30 mmol)，隨後添加DMAP (1.8 g，15 mmol)及EDC (11.9 g，60 mmol)。在氮氣氛圍下在室溫下攪拌所得混合物20 h。反應混合物用DCM (150 mL)稀釋，且用飽和$NaHCO_3$水溶液(150 mL)、水(100 mL)及鹽水(100 mL)洗滌。有機相經無水Na_2SO_4乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至10%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈略微黃色油狀之6-溴己酸十一烷酯**L2-7** (8.5 g，81%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.06 (t, *J* =6.9 Hz, 2H), 3.40 (t, *J* =6.6 Hz, 2H), 2.31 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.88 (五重峰, *J* =6.1 Hz, 2H), 1.70-1.15 (m, 19H), 0.88 (t, *J* =6.9 Hz, 6H)。

合成8-((2-((2-羥基乙基)(甲基)胺基)乙基)(6-側氧基-6-(十一烷氧基)己基)胺基)辛酸十七烷-9-基酯(化合物46)

【1185】在氮氣下，在80℃下於攪拌下加熱**L2-4** (0.4 g，0.8 mmol)及**L2-7** (0.4 g，1.2 mmol)於含有碳酸鉀(0.33 g，2.4 mmol)及碘化鉀(0.134 g，0.8 mmol)之環戊基甲基醚(5 mL)及乙腈(5 mL)中之混合物一天。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾。濃縮濾液，得到油殘餘物，其藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-100% + 1%三乙胺於溶離劑中)純化，得到呈略微黃色油狀之化合物**46** (0.319 g，52%)。^{1}H NMR

(300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.85 (五重峰, J =6.3 Hz, 1H), 4.04 (t, J =6.6 Hz, 2H), 3.55 (t, J =5.2 Hz, 2H), 2.53 (t, J =5.0 Hz, 2H), 2.49 (s, 4H), 2.40 (m, 4H), 2.30 (s, 3H), 2.27 (t, J =7.4Hz, 4H), 1.73-1.16 (m, 66H), 0.87 (t, J =6.6 Hz, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 767.7；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 11.1 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min, A in B 60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 12.4 min，純度：98.95%。

合成8-((4-羥基丁基)(6-((2-異丙基-5-甲基己基)氧基)-6-側氧基己基)胺基)辛酸2-異丙基-5-甲基己酯(化合物9)



化合物 9

合成8-溴辛酸2-異內基-5-甲基己酯(L3-2)

[1186] 向四氫萜衣草醇L3-1 (1.2 g，7.6 mmol)於DCM (40 mL)中之溶液中添加8-溴辛酸L1-5 (1.69 g，7.6 mmol)，隨後添加DMAP (0.46 g，3.8 mmol)及EDC (2.9 g，15.2 mmol)。在氮氣氛圍下在室溫下攪拌所得混合物20 h。反應混合物用DCM (40 mL)稀釋，且用飽和$NaHCO_3$水溶液(40 mL)、水(30 mL)及鹽水(30 mL)洗滌。有機相經無水Na_2SO_4乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至10%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈無色油狀之8-溴辛酸2-異內基-5-甲基己酯L3-2 (1.8 g，65%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.10-3.91 (m, 2H), 3.40 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.29 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.90-1.10 (m, 17H), 0.93-0.76 (m, 12H)。

合成8-((4-羥基丁基)胺基)辛酸2-異丙基-5-甲基己酯(L3-3)及8,8'-((4-羥基丁基)氮二基)二辛酸雙(2-異丙基-5-甲基己基)酯(化合物48)

【1187】 在55℃下加熱**L3-2** (1.2 g，3.3 mmol)、4-胺基-1-丁醇**L1-7** (1.47 g，16.5 mmol)於含有碳酸鉀(0.38 g，3.3 mmol)之無水EtOH (10 mL)中之混合物3.5天。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾。濃縮濾液，得到油殘餘物，其藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-100% + 1-30%三乙胺於溶離劑中)純化，得到呈略微黃色油狀之**L3-3** (0.67 g，54%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.86 (五重峰, J =6.3 Hz, 1H), 3.55 (t, J =4.9 Hz, 2H), 2.54 (t, J =5.4 Hz, 2H), 2.49 (s, 4H), 2.40 (t, J =7.4 Hz, 4H), 2.30 (s, 3H), 2.27 (t, J =7.6 Hz, 4H), 1.73-1.16 (m, 84H), 0.87 (t, J =6.6 Hz, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 373。亦分離出呈略微黃色油狀之雙加成產物(化合物**48**) (62 mg)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.86 (五重峰, J =6.3 Hz, 1H), 3.55 (t, J =4.9 Hz, 2H), 2.54 (t, J =5.4 Hz, 2H), 2.49 (s, 4H), 2.40 (t, J =7.4 Hz, 4H), 2.30 (s, 3H), 2.27 (t, J =7.6 Hz, 4H), 1.73-1.16 (m, 84H), 0.87 (t, J =6.6 Hz, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 654.5；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 5.42 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 9.8 min，純度：97.20%。

合成6-溴己酸2-異丙基-5-甲基己酯(L3-4)

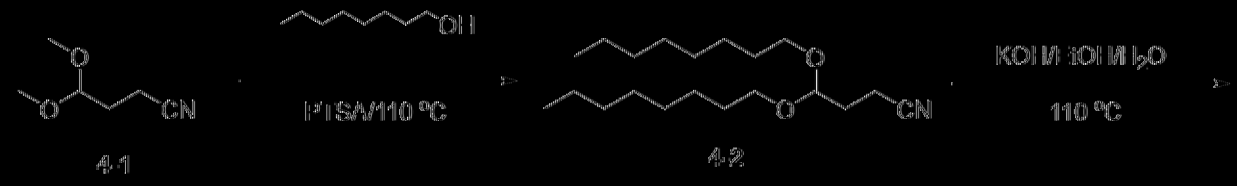
【1188】 向四氫薰衣草醇**L3-1** (0.8 g，5 mmol)於DCM (25 mL)中之溶液中添加6-溴己酸**L2-5** (0.98 g，5 mmol)，隨後添加DMAP (0.3 g，2.5 mmol)及EDC (1.7 g，9 mmol)。在氮氣氛圍下在室溫下攪拌所得混合物20 h。反應混合物用DCM (25 mL)稀釋，且用飽和$NaHCO_3$水溶液(25 mL)、水(15 mL)及鹽水(15 mL)洗滌。有機相經無水Na_2SO_4乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至10%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈無色油狀之**L3-4** (0.76 g，45%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.10-3.92 (m, 2H), 3.40 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.32 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.92-1.10 (m, 13H), 0.93-0.76 (m, 12H)。

合成8-((4-羥基丁基)(6-((2-異丙基-5-甲基己基)氧基)-6-側氧基己基)胺基)辛酸2-異丙基-5-甲基己酯(化合物9)

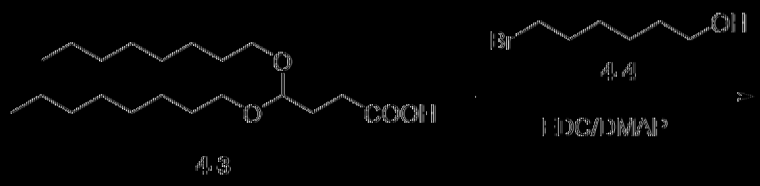
【1189】 在氮氣下，在80℃下於攪拌下加熱**L3-3** (0.3 g，0.8 mmol)及**L3-4** (0.3 g，0.9 mmol)於含有碳酸鉀(0.19 g，2.4 mmol)及碘化鉀(0.134 g，0.8 mmol)之環戊基甲基醚(5 mL)及乙腈(5 mL)中之混合物一天。添加更多**L3-4** (0.2 g，0.6 mmol)，且反應再繼續兩天。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾。濃縮濾液，得到油殘餘物，其藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-100% + 1%三乙胺於溶離劑中)純化，得到呈略微黃色油狀之化合物**9** (0.276 g，55%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.10-3.91 (m, 4H), 3.53 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 2.49-2.22 (m, 10H), 1.82-1.12 (m, 35H), 0.93-0.79 (m, 24H); MS (CI): *m/z* $[M+H]^+$ 626.5；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於

B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：5.8 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：8.8 min，純度：98.29%。

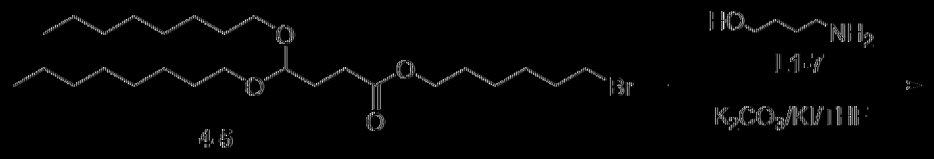
合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯)(化合物14)



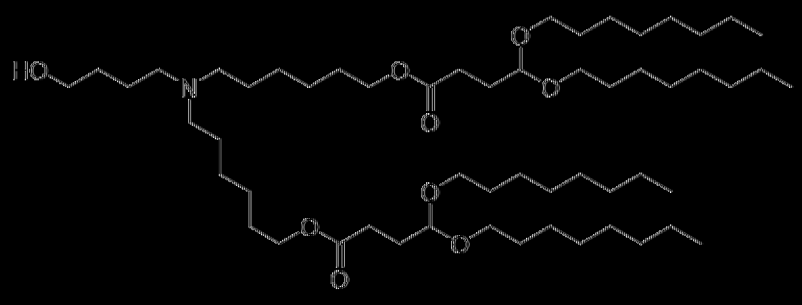
4-1　　4-2



4-3　　4-4



4-5　　4-7



化合物14

合成4,4-雙(辛氧基)丁腈(L4-2)

[(1190)] 向烘箱乾燥的100 mL圓底燒瓶中，添加4,4-二甲氧基丁腈

(10.0 g，77.4 mmol)及1-辛醇(24.9 g，232 mmol)。在120℃下攪拌所得混合物18 h且冷卻至室溫。添加EtOAc (150 mL)及H_2O (60 mL)，且分離所得相。水相用EtOAc (50 mL)萃取。經合併之有機萃取物用H_2O (60 mL×2)洗滌且經無水$MgSO_4$乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至10%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈無色油狀之4,4-雙(辛氧基)丁腈**L4-2** (6.9 g，27%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.56-4.53 (t, 1H), 3.61-3.58 (2 H, m), 3.44-3.41 (m, 2H), 2.44-2.39 (t, 2H), 1.97-1.90 (q, 2H), 1.58-1.54 (m, 5H), 1.32-1.27 (m, 23H), 0.90-0.85 (m, 6H)。

合成4,4-雙(辛氧基)丁酸(L4-3)

【1191】 向含有4,4-雙(辛氧基)丁腈**L4-2** (6.9 g，21 mmol)於乙醇(25 mL)中之溶液之烘箱乾燥的100 mL圓底燒瓶中添加KOH (3.6 g，64 mmol)於水(25 mL)中之溶液。完成添加後，在110℃下攪拌混合物18 h。移除揮發物，且將反應物pH調整至5。添加EtOAc (150 mL)及H_2O (60 mL)，且分離所得相。水相用EtOAc (50 mL)萃取。經合併之有機萃取物用H_2O (60 mL×2)洗滌且經無水$MgSO_4$乾燥。過濾且濃縮提供4,4-雙(辛氧基)丁酸**L4-3** (6.75 g，92%)，其未經進一步純化即用於下一步驟。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.53-4.49 (t, 1H), 3.59-3.42 (m, 2 H), 3.42-3.39 (m, 2H), 2.43-2.41 (t, 2H), 1.96-1.92 (m, 2H), 1.58-1.54 (m, 5H), 1.32-1.27 (m, 23H), 0.90-0.85 (m, 6H)。

合成4,4-雙(辛氧基)丁酸6-溴己酯(L4-5)

【1192】 向在氮氣下之含有4,4-雙(辛氧基)丁酸**L4-3** (1.5 g，4.35 mmol)於二氯甲烷(20 mL)中之溶液之烘箱乾燥的100 mL圓底燒瓶中添加

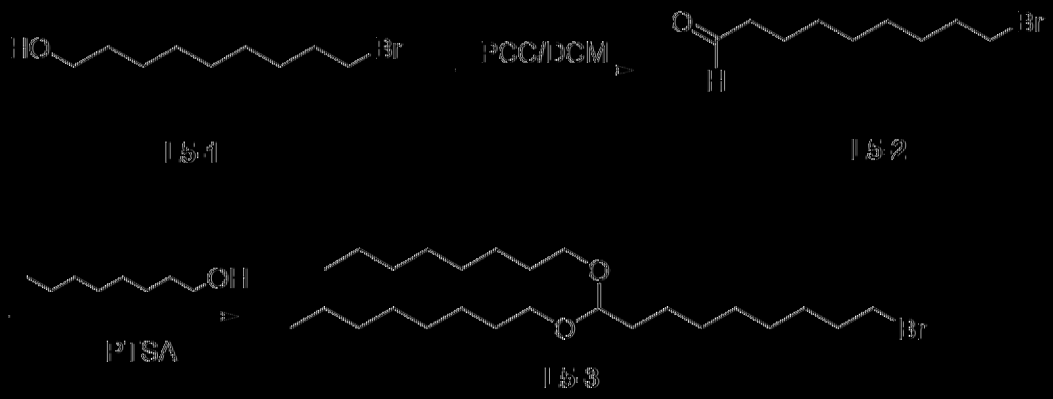
EDC (1.25 g，6.53 mmol)、DMAP (0.106 g，0.871 mmol)及DIPEA (2.25 g，17.41 mmol)。完成添加後，在室溫下攪拌混合物10 min。接著添加6-溴-1-己醇**L4-4** (1.02 g，5.66 mmol)，且在室溫下攪拌反應混合物16 h。反應混合物用二氯甲烷及水稀釋，且分離所得相。水相用EtOAc (50 mL)再次萃取。經合併之有機萃取物用H_2O (60 mL×2)洗滌且經無水$MgSO_4$乾燥。過濾且濃縮提供粗產物，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至10%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈無色油狀之4,4-雙(辛氧基)丁酸6-溴己酯**L4-5** (0.74 g，33%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.49 (t, 1H), 4.06 (t, 2H), 3.60-3.50 (m, 2H), 3.45-3.34 (m, 4H), 2.38 (t, 2H), 1.96-1.81 (m, 4H), 1.66-1.18 (m, 30H), 0.90-0.85 (m, 6H)。

合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯)(化合物14)

【1193】在氮氣下之化合物**L4-5** (0.74 g，1.46 mmol)於CH_3CN/CPME (1:1，10 mL)中之溶液用化合物4-胺基-1-丁醇(65.1 mg，0.731 mmol)處理，且隨後添加K_2CO_3 (0.708 g，5.12 mmol)及KI (0.726 g，4.38 mmol)。在80℃下加熱反應混合物18 h。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾，用乙酸乙酯洗滌，且在真空下移除溶劑，得到粗產物，其藉由急驟層析(SiO_2：DCM/MeOH 0-10%)純化，得到呈無色油狀之最終化合物**14** (0.3 g，44%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.48 (t, 2H), 4.04 (t, 4H), 3.60-3.50 (m, 6H), 3.42-3.36 (m, 4H), 2.56-2.32 (m, 8H), 1.95-1.88 (q, 4H), 1.68-1.46 (m, 20H), 1.41-1.18 (m, 51H), 0.89-0.85 (t, 12H); CIMS m/z 942.7 $[M+H]^+$；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相

B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：11.81 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：12.9 min，純度：98.63%。

合成4-(雙(9,9-雙(辛氧基)壬基)胺基)丁-1-醇(化合物49)



化合物49

合成9-溴壬醛(L5-2)

|(1194)| 向含有9-溴壬醇(5.0 g，22.52 mmol)於二氯甲烷(400 mL)中之溶液之烘箱乾燥的1000 mL圓底燒瓶中添加氯鉻酸吡啶(PCC) (7.74 g，33.77 mmol)，且在室溫下攪拌反應混合物3 h。接著，使反應混合物穿過氟羅里矽土(Florisil)塞。將水添加至濾液中，且分離所得相。水相再次用DCM (150 mL)萃取。經合併之有機萃取物用碳酸氫鈉水溶液(150 mL)及H_2O (60 mL×2)洗滌且經無水$MgSO_4$乾燥。過濾且濃縮提供粗物質

呈無色油狀之**L5-2** (4.95 g，100%)，其未經進一步純化即用於下一步驟；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.76 (s, 1H), 3.40 (m, 2H), 2.43 (m, 2H), 1.85-1.78 (m, 2H), 1.70-1.55 (m, 2H), 1.48-1.19 (m, 8H)。

合成9-溴-1,1-雙(辛氧基)壬烷(L5-3)

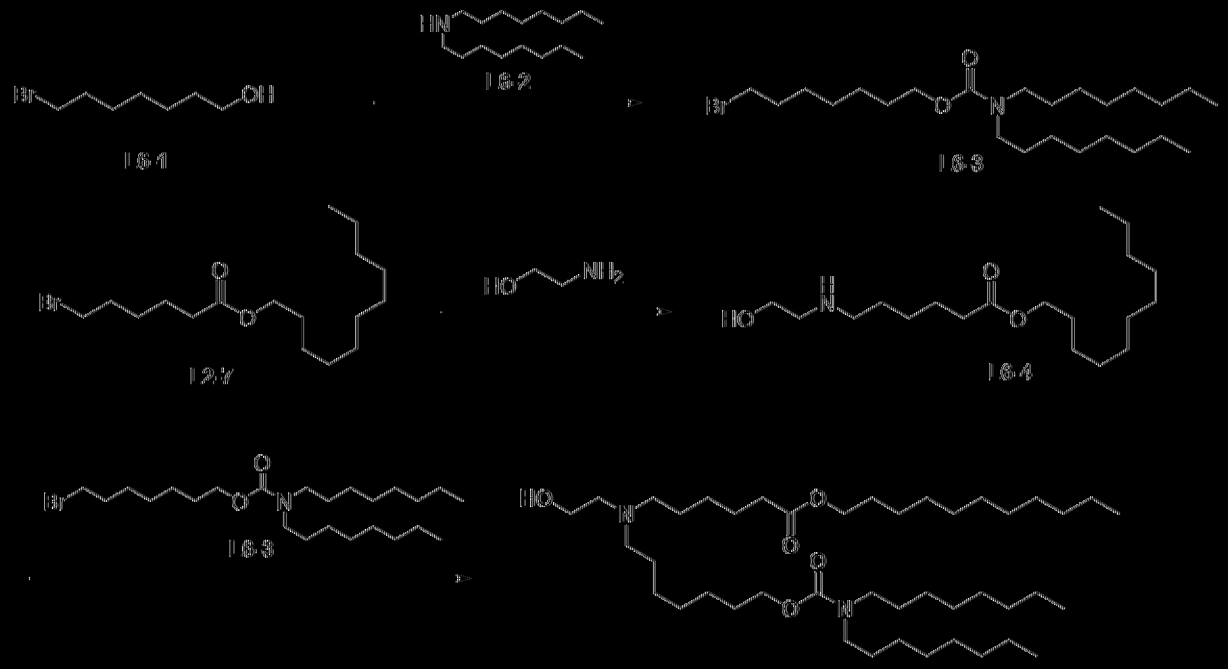
【1195】向含有**L5-2** (5.0 g，22.61 mmol)於二氯甲烷(150 mL)中之溶液之烘箱乾燥的100 mL圓底燒瓶中添加1-辛醇(8.83 g，67.83 mmol)、PTSA (0.584 g，3.39 mmol)及硫酸鈉(9.63 g，67.83 mmol)。完成添加後，在室溫下攪拌混合物18 h。接著，將二氯甲烷及水添加至反應混合物中，且分離所得相。水相再次用DCM (150 mL)萃取。經合併之有機萃取物用碳酸氫鈉水溶液(150 mL)及H_2O (60 mL×2)洗滌且經無水$MgSO_4$乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至20 % EtOAc/己烷)純化，得到**L5-3** (1.4 g，14%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.45 (t, 1H), 3.57-3.50 (m, 2H), 3.43-3.34 (m, 4H), 1.87-1.80 (m, 2H), 1.62-1.51 (m, 6H), 1.41-1.20 (m, 30H), 0.92-0.85 (m, 6H)。

合成4-(雙(9,9-雙(辛氧基)壬基)胺基)丁-1-醇(化合物49)

【1196】向在氮氣下之化合物**L5-3** (0.75 g，1.62 mmol)於CH_3CN/CPME (1:1，10 mL)中之溶液中添加4-胺基-1-丁醇**L1-7** (72 mg，0.811 mmol)，隨後添加K_2CO_3 (0.783 g，5.67 mmol)及KI (0.807 g，4.86 mmol)。在氮氣下在85℃下加熱反應混合物24 h。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾，用乙酸乙酯洗滌，且在真空下移除溶劑，得到粗產物，其藉由急驟層析(SiO_2：DCM/MeOH 0-10%)純化，得到呈略微黃色油狀之化合物**49** (0.250 g，36%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.44 (t, 2H), 3.56-3.53 (m, 6H), 3.41-3.35 (m, 4H), 2.44-2.39 (m, 6H), 1.64-1.20

(m, 8H), 0.89-0.85 (m, 12H). CIMS m/z 854.8 [M+H]+。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：11.99 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：15.45 min，純度：91.24%。

合成6-((7-((二辛基胺甲醯基)氧基)庚基)(2-羥基乙基)胺基)己酸十一烷酯(化合物1)



化合物1

合成2,3,3a,4,7,7a-六氫-1H-異吲哚(L6-3)

[1197] 歷經5 min，向在氮氣下於冰水浴中冷卻之化合物L6-1 (1.0 g，5.1 mmol)於DCM (20 mL)中之溶液中添加三光氣(1.5 g，11.2 mmol)，隨後添加DIPEA (1.98 g，15.3 mmol)。攪拌5 min。將反應物升

溫至室溫且攪拌1 h，且接著一次性添加化合物**L6-2** (1.2 g，5.1 mmol)。將所得混合物升溫至室溫且攪拌12 h。真空移除溶劑，且將殘餘物溶解於乙酸乙酯中，且用飽和$NaHCO_3$及鹽水洗滌，並乾燥(Na_2SO_4)。真空濃縮混合物，得到粗產物，其藉由用己烷/乙酸乙酯之梯度溶離之矽膠管柱層析純化，得到呈無色油狀之**L6-3** (1.2 g，50%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.32-4.25 (m, 2H), 4.02 (t, 2H), 3.41-3.36 (m, 3H), 3.15 (s, 3H), 1.86-1.70 (m, 5H), 1.60-1.25 (m, 27H), 0.86 (t, 6H); CIMS m/z 462.56 $[M+H]^+$。

合成6-((2-羥基乙基)胺基)己酸十一烷酯(L6-4)

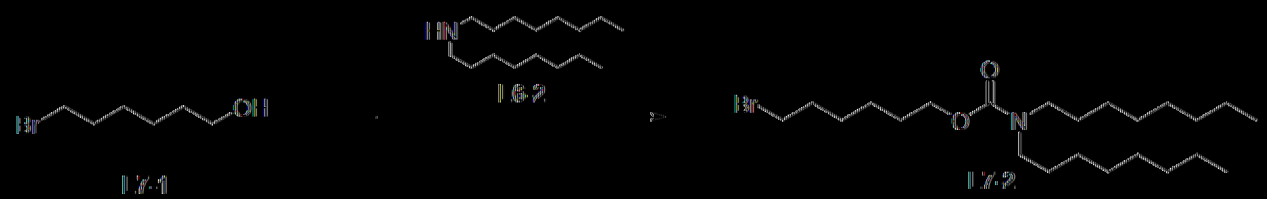
【1198】 在環境溫度下，歷經25分鐘，將化合物**L2-7** (6.0 g，17.1 mmol)於乙醇(80 mL)中之溶液逐滴添加至乙醇胺(31.4 g，515 mmol)於EtOH (940 mL)中之溶液中。在60℃-70℃下加熱反應溶液5 h。藉由關閉加熱器使反應溶液冷卻至35℃，且在40℃下真空濃縮反應溶液，得到粗殘餘物。將粗殘餘物稀釋於TBME中，且接著將TBME層與乙醇胺層分離。乙醇胺層用TBME (200 mL)反萃取。經合併之TBME層用5% $NaHCO_3$溶液洗滌且接著在40℃下真空濃縮，得到淡黃色油。粗產物藉由急驟層析(SiO_2：DCM/MeOH 0-100%，1% NH_4OH)純化，得到呈無色油狀之產物**L6-4** (2.3 g，40%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.01 (t, 2H), 3.63 (t, 2H), 2.90 (s, 3H), 2.74 (t, 2H), 2.60 (t,2H), 2.27 (t, 2H), 1.63-1.40 (m, 7H), 1.37-1.19 (m, 15H), 0.84 (t, 3H); CIMS m/z 330.3 $[M+H]^+$。

合成6-((7-((二辛基胺甲醯基)氧基)庚基)(2-羥基乙基)胺基)己酸十一烷酯(化合物1)

【1199】 向在氮氣下之化合物**L6-3** (500 mg，1.08 mmol，1 eq)於

CPME (5 mL)及(ACN 5 mL)中之溶液中添加化合物L-**2-8** (427 mg，1.29 mmol，1.2 eq)，隨後添加K_2CO_3 (597 mg，4.3 mmol，4 eq)及KI (179 mg，1.08 mmol，1 eq)。在60℃下加熱反應混合物18 h。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾，用乙酸乙酯洗滌，且真空移除溶劑，得到粗產物，其藉由急驟層析(80 g SiO_2：0至100%乙酸乙酯/己烷+ 0至30%三乙胺梯度)純化，得到呈無色油狀之化合物**1** (0.15 g，20%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.06-4.0 (m, 4H), 3.50-3.49 (m, 3H), 3.17 (s, 3H), 2.55 (t, 2H), 2.45-2.39 (m, 5H), 2.28 (t, 3H), 1.64-1.55 (m, 7H), 1.49-1.39 (m, 7H), 1.34-1.24 (m, 43H), 0.84 (t, 9H)); CIMS m/z 711.3 $[M+H]^+$。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 10.2 min，純度：92.0%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 12.6 min，純度：91.05%。

合成雙(二辛基胺基甲酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯)(化合物3)



化合物3

合成8-(苄基胺基)辛酸6-溴己酯(L7-2)

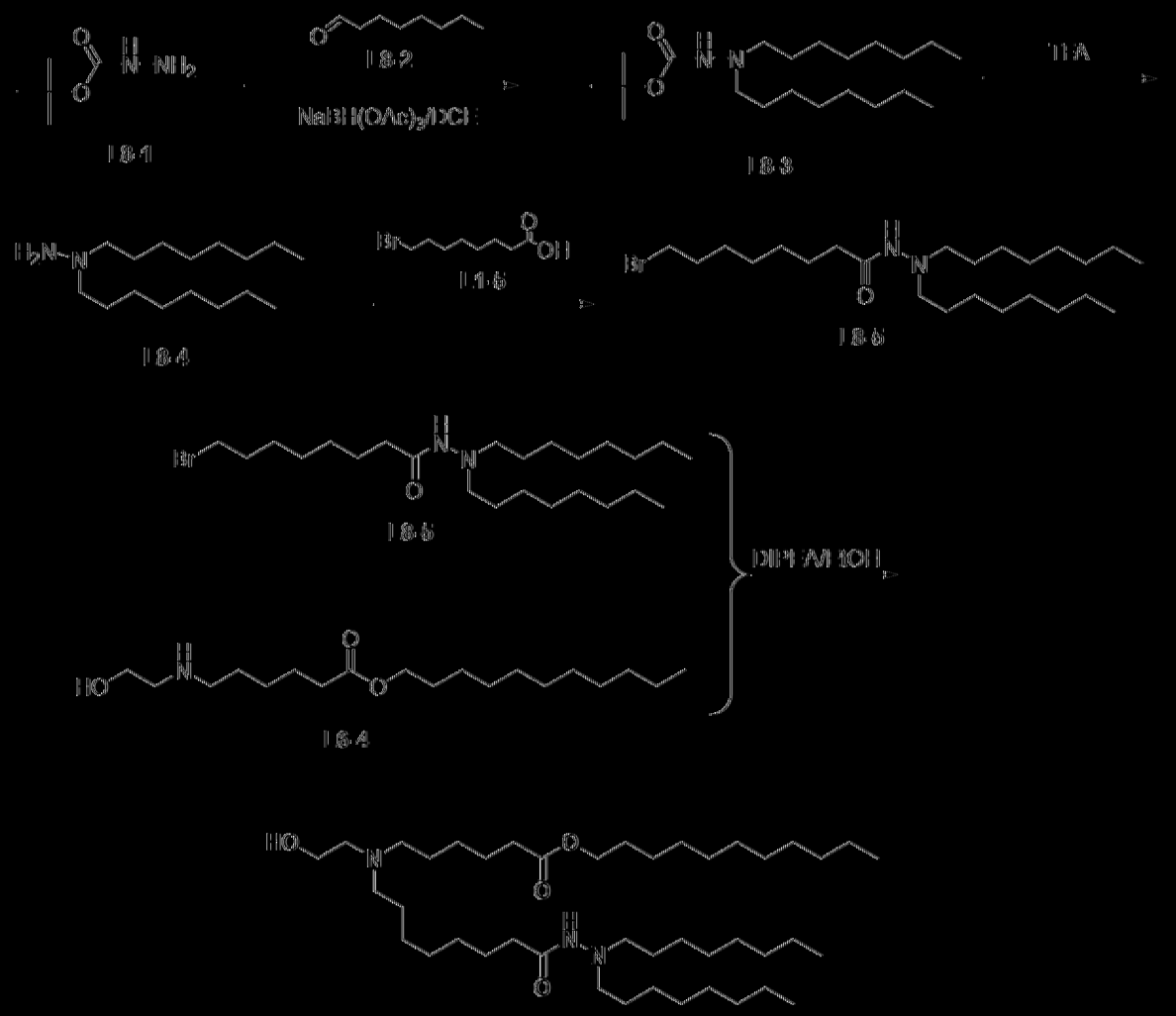
[1200] 在冰水浴中及在氮氣下冷卻之化合物L7-1 (1.0 g，5.52 mmol)於DCM (20 mL)中之溶液用三光氣(1.63 g，5.52 mmol)處理超過5 min，隨後添加DIPEA (2.8 mL，16.5 mmol)且攪拌5 min，將混合物升溫至室溫且攪拌1 h，且接著一次性添加化合物L6-2。將所得混合物升溫至室溫且攪拌12 h。真空移除溶劑，且將殘餘物溶解於乙酸乙酯中，且用飽和$NaHCO_3$及鹽水洗滌，並乾燥(Na_2SO_4)。真空濃縮得到粗產物，其藉由用己烷/乙酸乙酯之梯度溶離之矽膠管柱層析純化，得到最終化合物L7-2 (1.48 g，60%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.04 (t, 2H), 3.39 (t, 2H), 3.16 (s, 4H), 1.90-1.74 (m, 2H), 1.64-1.58 (m, 2H), 1.51-1.37 (m, 7H), 1.36-1.12 (m, 21H), 0.87 (t, 6H). CIMS m/z 449.2 $[M+H]^+$。

合成雙(8-(苄基胺基)辛酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基)酯(化合物3)

[1201] 向在氮氣下之化合物L1-7 (0.05 g，0.5 mmol)於CPME (5 mL)及(ACN 5 mL)中之溶液中添加化合物L7-2 (0.503 g，1.1 mmol)，且

隨後添加K_2CO_3 (0.310 g，2.2 mmol，4 eq)及KI (0.093 g，0.56 mmol)。在80℃下加熱反應混合物18 h。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾，用乙酸乙酯洗滌，且真空移除溶劑，得到粗產物，其藉由急驟層析(SiO_2：DCM/MeOH 0-10%)純化，得到呈無色油狀之化合物**3** (0.2 g，45%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.03 (t, 4H), 3.61 (t, 2H), 3.15-3.14 (m, 7H), 2.71-2.69 (m, 5H), 1.78-1.75 (m, 10H), 1.71-1.58 (m, 15H), 1.41-1.26 (m, 46H), 0.84 (t, 12H); CIMS m/z 824.7 $[M+H]^+$。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 11.4 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 13.8 min，純度：99.38%。

合成6-((8-(2,2-二辛基肼基)-8-側氧基辛基)(2-羥基乙基)胺基)己酸十一烷酯(化合物20)



化合物20

合成2,2-二甲基丙-1-甲酸[3-級]酯(L8-3)

[1202] 向烘箱乾燥的500 mL圓底燒瓶中，向肼甲酸[3-級]酯(3.0 g，22.70 mmol)、1-辛醛(3.64 g，28.37 mmol)於二氯乙烷(100 mL)中之溶液中添加$NaBH(OAc)_3$ (24.05 g，113.5 mmol)，且在室溫下攪拌反應混合物24 h。接著，反應混合物用DCM (300 mL)稀釋。添加水，且分離所得兩個相。水相再次用DCM (150 mL)萃取。經合併之有機萃取物用碳酸氫鹽溶液(150 mL)及H_2O (60 mL×2)洗滌且經無水$MgSO_4$乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至35 % EtOAc/己烷)純化，得到L8-3 (3.6 g，44%)；^1H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$)，觀測到旋轉異構物δ 5.16 (bs, 0.68H), 4.71 (bs, 0.23H), 2.70-2.52 (m, 4H), 1.55-1.38 (m,

13H), 1.38-1.15 (m, 20H), 0.92-0.84 (t, 6H) . CIMS m/z 357.3 $[M+H]^+$。

合成1,1-二辛基肼(L8-4)

【1203】 在0℃下，向**L8-3** (3.6 g，10.08 mmol)於二氯甲烷(40 mL)中之溶液中添加TFA (20 mL)，且在室溫下攪拌反應混合物16 h。減壓移除揮發性組分，且粗物質**L8-4** (2.7 g)未經進一步純化即用於下一步驟。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.50 (b, 1H), 3.30 (b, 1H), 2.74 (t, 2H), 2.51-2.38 (m, 2H), 1.58-1.46 (m, 3H), 1.32-1.12 (m, 20H), 0.89-0.84 (m, 6H). CIMS m/z 257.2 $[M+H]^+$。

合成8-溴-*N'*,*N'*-二辛基辛烷醯肼(L8-5)

【1204】 向含有**L8-4** (0.400 g，1.561 mmol)及溴-辛酸(0.485 g，2.185 mmol)於二氯甲烷(20 mL)中之溶液之烘箱乾燥的100 mL圓底燒瓶中添加EDC (0.449 g，2.341 mmol)及DMAP (0.038 g，0.312 mmol)。完成添加後，在室溫下攪拌混合物16 h。反應混合物用水稀釋，且分離所得相。水相用DCM (50 mL)萃取。經合併之有機萃取物用H_2O (60 mL×2)洗滌且經無水$MgSO_4$乾燥。過濾且濃縮提供粗產物，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至50%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈白色固體狀之**L8-5** (0.24 g，33%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 5.78 (s, 0.19H), 5.64 (s, 0.61H), 3.39 (t, 2H), 2.70-2.64 (m, 2H), 2.43-2.37 (m, 2H), 2.10 (t, 0.65H), 1.87-1.80 (m, 2H), 1.63-1.56 (m, 2H), 1.49-1.20 (m, 30H), 1.03 (t, 1H), 0.88-0.85 (m, 6H). CIMS m/z 461.2, 463.2 $[M+H]^+$。

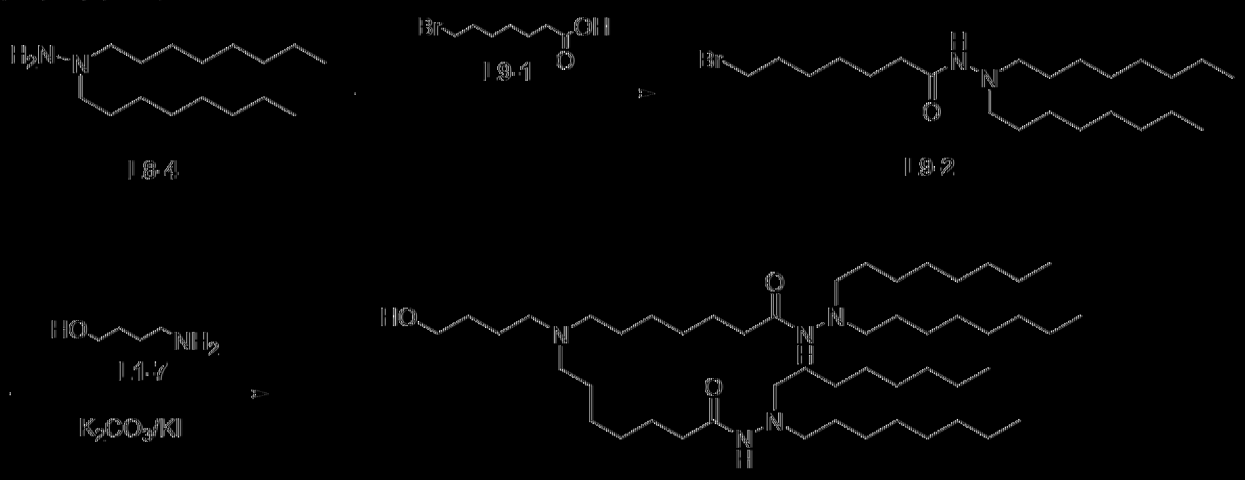
合成6-((8-(2,2-二辛基肼基)-8-側氧基辛基)(2-羥基乙基)胺基)己酸十一烷酯(化合物20)

【1205】 向在氮氣下之化合物**L8-5** (0.240 g，0.52 mmol)於EtOH

(5 mL)中之溶液中添加化合物L6-4 (223 mg，0.676 mmol)，且隨後添加DIPEA (0.235 g，1.82 mmol)。在80℃下加熱反應混合物24 h。冷卻至室溫後，真空蒸發反應混合物，得到粗產物，其藉由急驟層析(SiO_2：DCM/MeOH 0-10%)純化，得到化合物20 (0.078 g，30%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$)，觀測到旋轉異構物δ 6.02 (s, 0.23H), 5.71 (s, 0.5H), 4.05 (t, 2H), 3.98-3.86 (m, 2H), 3.15-2.90 (m, 5H), 2.73-2.64 (m, 2H), 2.45-2.29 (m, 4H), 2.11 (t, 0.46H), 1.89-1.56 (m, 10H), 1.46-1.15 (m, 46H), 0.90-0.85 (m, 9H) . CIMS m/z 710.6 [M+H]$^+$。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：10.4 min，純度：99.90%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：9.6 min，純度：93.12%。

合成7,7'-((4-溴庚二基)雙(*N*',*N*'-二辛基肼碳醯胺)

(化合物18)



化合物18

合成7-溴-*N*',*N*'-二辛基庚烷醯肼(L9-2)

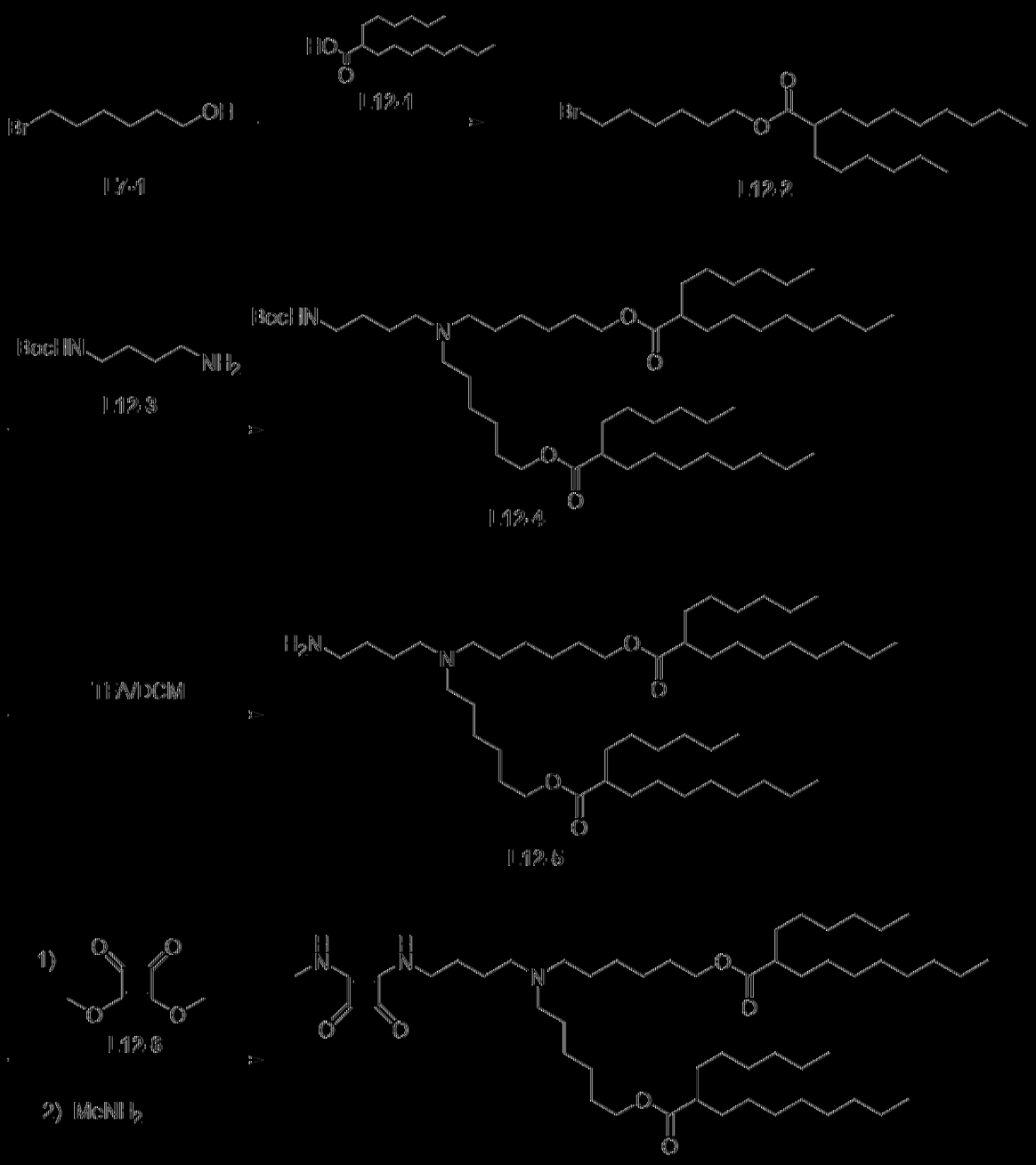
【1206】 向含有**L8-4** (1.25 g，4.88 mmol)及溴-庚酸(1.53 g，7.32 mmol)於二氯甲烷(20 mL)中之溶液之烘箱乾燥的100 mL圓底燒瓶中添加DCC (2.01 g，9.76 mmol)及DMAP (0.06 g，0.488 mmol)。完成添加後，在室溫下攪拌混合物16 h。接著，反應混合物用水稀釋，且分離有機相。水相用DCM (50 mL)萃取。經合併之有機萃取物用H_2O (60 mL×2)洗滌且經無水$MgSO_4$乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至30%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈無色油狀之**L9-2** (0.59 g，27%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$)觀測到旋轉異構物δ 5.78 (s, 0.3H), 5.66 (s, 1.2H), 3.52 (t, 4H), 3.40 (q, 2H), 2.74-2.60 (m, 5H), 2.48-2.35 (m, 7H), 2.14-2.06 (t, 1H), 1.82-1.78 (m, 3H), 1.68-1.54 (m, 7H), 1.52-1.36 (m, 12H), 1.32-1.15 (m, 55H), 0.88-0.85 (m, 16H). CIMS m/z 447.2, 449.2 $[M+H]^+$。

合成7,7'-((4-羥基丁基)氮二基)雙(*N*',*N*'-二辛基庚烷醯肼) (化合物18)

【1207】 在氮氣下之化合物**L9-2** (0.500 g，1.12 mmol)於CPME (5 mL)及(ACN 5 mL)中之溶液用化合物4-胺基-1-丁醇(40 mg，0.811 mmol)處理，且隨後添加K_2CO_3 (0.464 g，3.36 mmol)及KI (0.557 g，3.36 mmol)。在90℃下加熱反應混合物18 h。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾，用乙酸乙酯洗滌，且真空移除溶劑，得到粗產物，其藉由急驟層析(SiO_2：DCM/MeOH 0-10%)純化，得到呈黃色油狀之化合物**18** (0.054 g，12%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.40 (s, 0.3H), 6.25 (s, 0.15H), 5.70 (s, 1.13H), 3.68-3.58 (m, 2H), 2.80-2.60 (m, 9H), 2.48-2.36 (m, 5H), 2.12 (t, 1H), 1.80-1.15 (m, 73H), 0.90-0.84 (m, 12H). CIMS m/z

822.7 $[M+H]^+$。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 5.26 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 8.86 min，純度：96.15%。

合成雙(2-已基癸酸)((4-((2-(甲基胺基)-3,4-二側氧基環丁-1-烯-1-基)胺基)丁基)氮二基)雙(已烷-6,1-二基酯)(化合物6)



化合物6

合成2-己基癸酸6-溴己酯(I-12-2)

[1208] 向含有2-己基癸酸I-12-1 (5.0 g，19.50 mmol)於二氯甲烷(50 mL)中之溶液之烘箱乾燥的100 mL圓底燒瓶中添加EDC (5.61 g，29.25 mmol)及DMAP (0.476 g，3.90 mmol)。完成添加後，在室溫下攪拌混合物10 min。接著添加6-溴-1-己醇I-7-1 (3.5 g，19.50 mmol)，且在室溫下攪拌反應混合物16 h。反應物用水稀釋，且分離所得相。水相用

EtOAc (50 mL×2)萃取。經合併之有機萃取物用H_2O (60 mL×2)洗滌且經無水$MgSO_4$乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至30%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈無色油狀之2-己基癸酸6-溴己酯**L12-2** (3.8 g，47%)；CIMS m/z 419.2, 421.2 $[M+H]^+$。

合成雙(2-己基癸酸)((4-((三級丁氧基羰基)胺基)丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯)(L12-4)

【1209】在氮氣下之化合物**L12-2** (2.0 g，4.77 mmol)於CPME (5 mL)及(ACN 5 mL)中之溶液用化合物(4-胺基丁基)-胺基甲酸三級丁酯(404 mg，2.15 mmol)處理，且隨後添加K_2CO_3 (2.31 g，16.69 mmol)及KI (2.37 g，14.31 mmol)。在85℃下加熱反應混合物18 h。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾，用乙酸乙酯洗滌，且真空移除溶劑，得到粗物產物(2.6 g，100%)，其未經進一步純化即用於下一步驟；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 5.05 (m, 1H), 4.05 (t, 4H), 3.19-3.03(m, 2H), 2.48-2.25 (m, 6H), 1.66-1.17 (m, 79H), 0.89-0.84 (m, 12H); CIMS m/z 865.7 $[M+H]^+$。

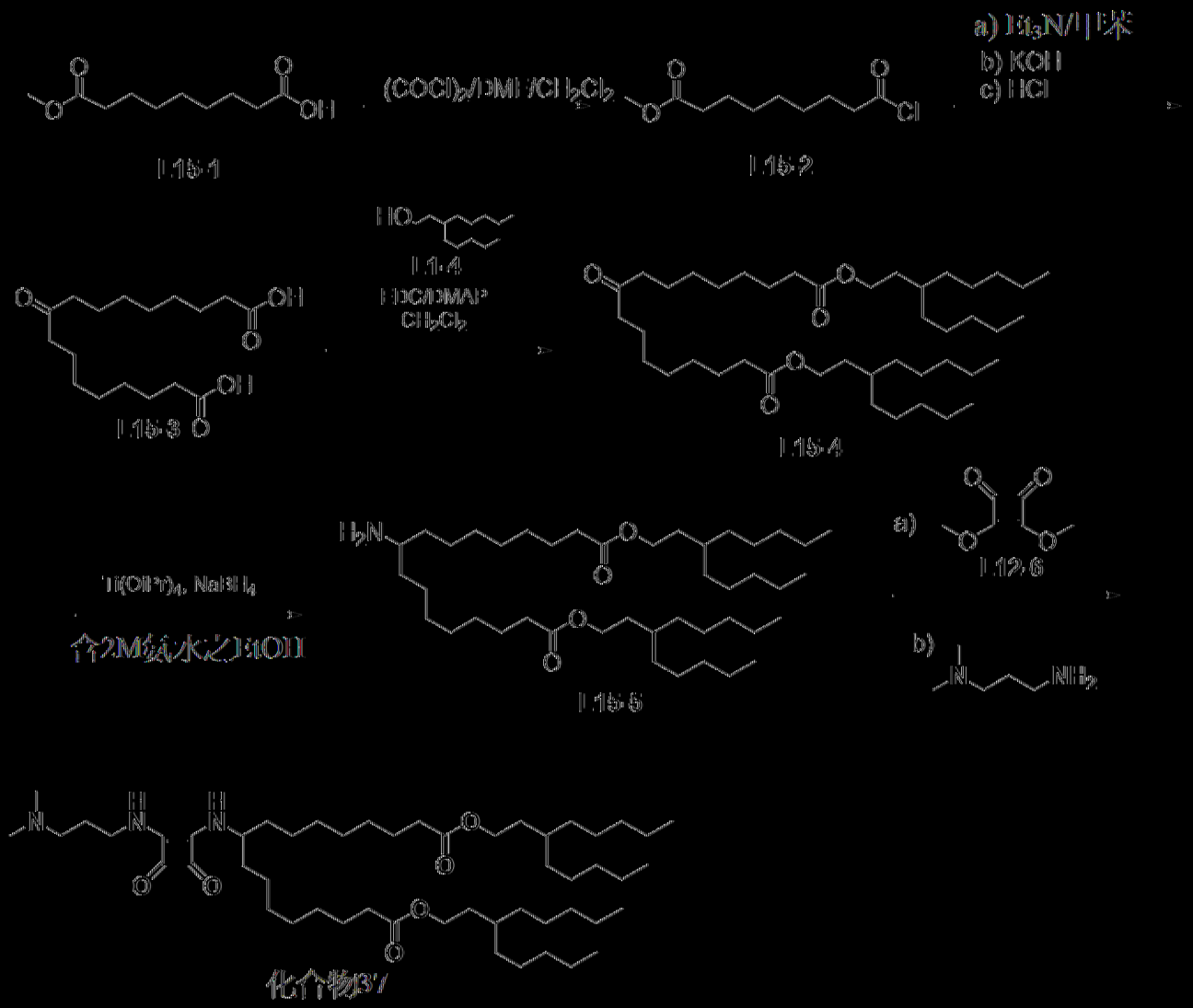
合成雙(2-己基癸酸)((4-胺基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯)(L12-5)

【1210】在0℃下，向**L12-4** (2.06 g，2.38 mmol)於二氯甲烷(20 mL)中之溶液中添加TFA (5 mL)，且使反應物到達室溫且攪拌4 h。在旋轉蒸發儀上移除溶劑，粗物質藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至10% MeOH/DCM + 1% NH_4OH)純化，得到呈黏性油狀之**L12-5** (1.5 g，82%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.05 (t, 4H), 2.75-2.71 (m, 2H), 2,45-2.27 (m, 8H), 1.66-1.15 (m, 74H), 0.89-0.84 (m, 12H). CIMS m/z 765.7 $[M+H]^+$。

合成雙(2-己基癸酸)((4-((2-(甲基胺基)-3,4-二側氧基環丁-1-烯-1-基)胺基)丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯)(化合物6)

【1211】 在0℃下，向**L12-5** (500 mg，0.653 mmol)於乙醚(50 mL)中之溶液中添加3,4-二甲氧基環丁烯-1,2-二酮(139 mg，0.980 mmol)，且使反應物到達室溫且攪拌3 h。TLC顯示起始材料耗盡。向反應混合物中添加含甲胺(2.0 M)之甲醇(300 mg，6.53 mmol)，且在室溫下繼續攪拌反應物過夜。在旋轉蒸發儀上移除溶劑，且粗物質藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至10% MeOH/DCM + 1% NH_4OH)純化，得到呈黏性膠狀之化合物**6** (300 mg，53%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.20 (b, 1H), 7.45 (b, 1H), 4.06 (t, 4H), 3.72-3.68 (m, 2H), 3.31 (d, 3H), 3.20-2.94 (m, 6H), 2.33-2.27 (m, 2H), 1.95-1.80 (m, 2H), 1.73-1.56 (m, 18H), 1.53-1.41 (m, 12H), 1.40-1.24 (m, 42H), 0.89-0.84 (t, 12H). CIMS m/z 874.7 $[M+H]^+$。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 11.84 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 14.05 min，純度：96.59%。

合成9-((2-((3-(二甲基胺基)丙基)胺基)-3,4-二側氧基環丁-1-烯-1-基)胺基)十七烷二酸雙(3-戊基辛酯) (化合物37)



合成9-氯-9-側氧基壬酸甲酯(L15-2)

|(1212)| 向L15-1 (12 g，59 mmol)於無水DCM (40 mL)中之溶液中添加無水DMF (1 mL)。在冰浴冷卻下，在攪拌下在氮氣下滴入草醯氯(8.2 g，65 mmol)於無水DCM (10 mL)中之溶液。接著，在氮氣下在室溫下攪拌所得混合物過夜。濃縮反應混合物且與無水甲苯一起共蒸發，得到呈無色油狀之L15-2 (11.6 g，97%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 3.63 (s, 3H), 2.85 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.27 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 1.77-1.48 (m, 4H), 1.41-1.19 (m, 6H)。

合成9-側氧基十七烷二酸(L15-3)

|(1213)| 在攪拌下，在10 min內，向L15-2 (11 g，50 mmol)於無水

甲苯(85 mL)中之冰浴冷卻溶液中添加三乙胺(5 g，50 mmol)，同時保持反應溫度低於25℃。在添加完成後，反應混合物溫度在15-20 min期間用溫熱水浴達到35-40℃。在溫度達到40℃之後，移除水浴，且攪拌反應混合物1 h。接著，其經由短矽藻土墊過濾，且矽藻土用甲苯(25 mL)沖洗。蒸發經合併之濾液，得到油殘餘物，將其與2N KOH水溶液(42 mL)混合。使混合物回流6 h且接著在冰浴中冷卻。水層用乙醚(35 mL×3)洗滌且用濃HCl酸化至pH 4。在冰浴中冷卻混合物1 h之後，過濾沈澱，用冰冷水洗滌且乾燥，得到呈灰白色固體狀之**L15-3** (6.0 g，71%)。^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 2.38 (t, J = 7.1 Hz, 4H), 2.18 (t, J = 7.4 Hz, 4H), 1.53-1.35 (m, 8H), 1.33-1.02 (m, 12H)。

合成9-側氧基十七烷二酸雙(3-戊基辛酯) (L15-4)

【1214】 向在室溫下之**L15-3** (1.8 g，5.99 mmol)及**L1-4** (2.52 g，12.58 mmol)於DCM (20 mL)中之溶液中添加DMAP (70 mg)，且攪拌反應物10 min，隨後添加EDC (2.45 g，12.76 mmol)。在氮氣氛圍下在室溫下攪拌反應物48 h。反應混合物用DCM (100 mL)稀釋，且用飽和$NaHCO_3$溶液(2×25 mL)、水(25 mL)及鹽水(25 mL)洗滌。有機層經無水Na_2SO_4乾燥。過濾且濃縮得到粗產物，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：5至8%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈無色油狀之**L15-4** (2.1 g，54%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.09-4.04 (t, 4 H), 2.39-2.34 (t, 4 H), 2.29-2.24 (t, 4 H), 1.59-1.52 (m, 12 H), 1.29-1.25 (m, 46 H), 0.89-0.85 (t, 12 H). CIMS m/z 680.6 $[M+H]^+$。

合成9-胺基十七烷二酸雙(3-戊基辛酯) (L15-5)

【1215】 在環境溫度下，向**L15-4** (0.5 g，0.736 mmol)於含2M氨水

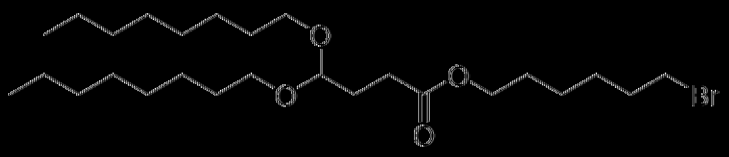
之EtOH (2.0 mL)溶液中之溶液中逐滴添加異丙醇鈦(IV) (0.46 mL，1.509 mmol)。攪拌反應物6 h，藉由TLC/質譜監測亞胺形成之進程。亞胺形成完成後，將硼氫化鈉(56 mg，1.472 mmol) 逐份添加至反應物中。硼氫化物之添加係放熱的，因此隨著反應過程冷卻反應混合物。在室溫下進一步攪拌反應物過夜。反應混合物在冰浴中冷卻且藉由添加NH_4OH溶液淬滅(形成白色沈澱)。反應混合物經由矽藻土過濾，且用EtOAc洗滌。真空移除溶劑，且粗材料藉由急驟管柱層析(SiO_2：5至7% MeOH/DCM (1%NH_4OH)純化)，得到呈無色油狀之**L15-5** (300 mg，60%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.07 (t, 4 H), 2.68 (s, 1 H), 2.27 (t, 4 H), 1.60-1.55 (m, 8 H), 1.53-1.25 (m, 54 H), 0.90-0.85 (t, 12 H). CIMS m/z 681.6 $[M+H]^+$。

合成9-((2-((3-(二甲基胺基)丙基)胺基)-3,4-二側氧基環丁-1-烯-1-基)胺基)十七烷二酸雙(3-戊基辛酯) (化合物37)

【1216】 在0℃下，向**L15-5** (200 mg，0.294 mmol)於乙醚(20 mL)中之溶液中添加3,4-二甲氧基環丁烯-1,2-二酮(63 mg，0.441 mmol)，且使反應物升溫至室溫且攪拌3 h。將額外3,4-二甲氧基環丁烯-1,2-二酮(63 mg，0.441 mmol)添加至反應混合物中且攪拌2 h。向反應混合物中添加N,N-二甲基-1,3-丙二胺(300 mg，2.94 mmol)，且在室溫下繼續攪拌過夜。真空移除溶劑，且粗材料藉由急驟管柱層析(SiO_2：6至8% MeOH/DCM (1% NH_4OH))純化，得到呈黏性膠狀之化合物**37** (132 mg，52%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.07 (t, 4 H), 3.70 (s, 1 H), 2.60 (s, 2 H), 2.25-2.38 (s, 8 H), 2.27 (t, 4 H), 1.88-1.72 (m, 6 H), 1.55 (m, 8 H), 1.28-1.24 (m, 52 H), 0.90-0.85 (t, 12 H). CIMS m/z 860.7 $[M+ H]^+$。分析

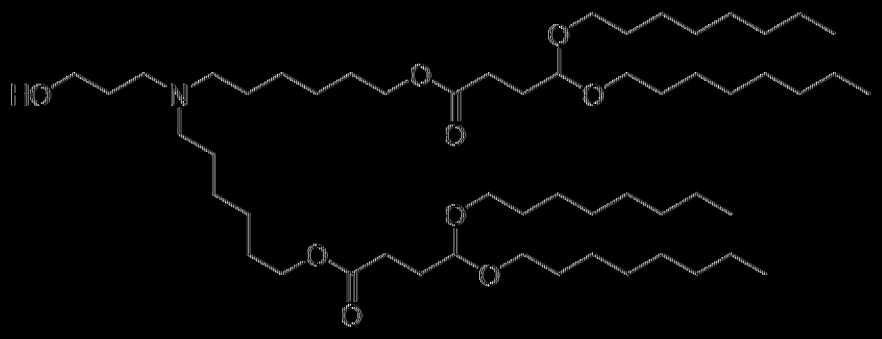
製HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：11.85 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：14.63 min，純度：95.25%。

合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((3-羥基丙基)氮二基)雙(十一烷-6,1-二基酯)(化合物50)



L4-5





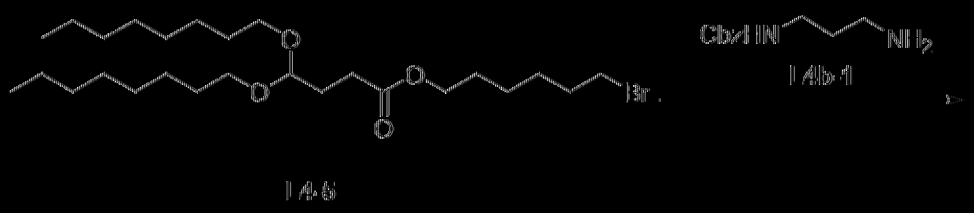
化合物50

合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((3-羥基丙基)氮二基)雙(十一烷-6,1-二基酯)(化合物50)

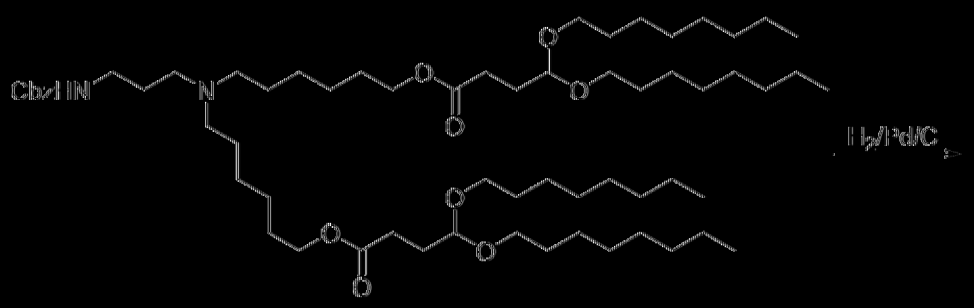
[1217] 向在氮氣下、在室溫下之L4-5 (1.5 g，2.96 mmol)及3-胺基-1-丙醇(111 mg，1.48 mmol)於CH_3CN (5 mL)及CPME (5 mL)中之溶

液中添加K_2CO_3 (1.23 g，8.87 mmol)及KI (1.47 g，8.87 mmol)。接著在85℃下加熱反應混合物18 h。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾，且用乙酸乙酯洗滌，且真空移除溶劑，得到粗產物，其藉由急驟層析(SiO_2：MeOH/DCM 0-10%梯度)純化，得到呈無色油狀之化合物**50** (0.685 g，50%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ; 4.49 (t, 2H), 4.05 (t, 4H), 3.78 (t, 2H), 3.60-3.52 (m, 4H), 3.43-3.36 (m, 4H), 2.67-2.60 (m, 2H), 2.42-2.32 (m, 8H), 1.92 (q, 4H), 1.67-1.39 (m, 20H), 1.38-1.10 (m, 47H), 0.87 (t, 12H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 928.9；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 11.60 min，純度：>99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 14.23 min，純度：97.97%。

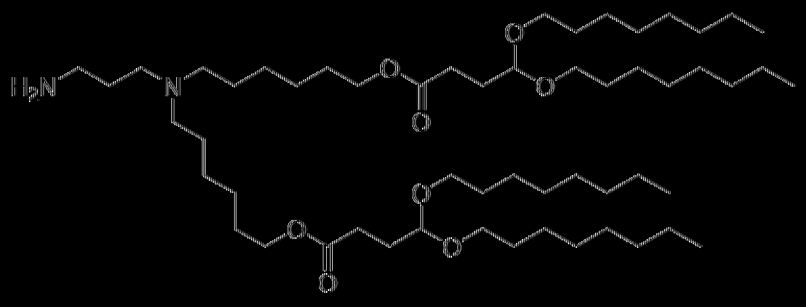
合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((3-(((苯甲氧基)羰基)胺基)丙基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯)(化合物62)及雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((3-(3,3-二甲基硫基脲基)丙基)-氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯)(化合物54)



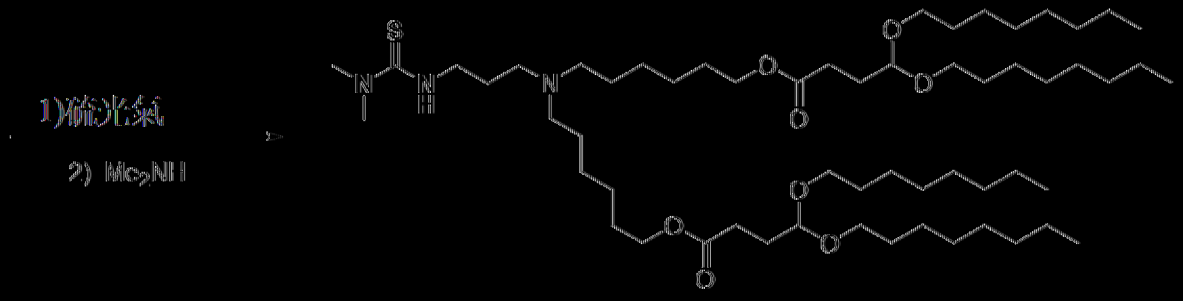
I-4-6



化合物62



I-4b-3



化合物54

合成雙(4,4-雙(苄氧基)丁酸)((3-(((((苯甲氧基)羰基)胺基)丙基)氫硫基)雙(亞甲基))(化合物62)

[1218] 向在氮氣下之化合物L4-5 (4.5 g，8.87 mmol)於CH_3CN (10 mL)及CPME (10 mL)中之溶液中添加(3-胺基丙基)胺基甲酸苯甲酯(994 mg，4.43 mmol)，隨後添加K_2CO_3 (3.68 g，26.60 mmol)及KI (4.41 g，26.60 mmol)。在85℃下加熱反應混合物18 h。冷卻至室溫後，反應混

合物經由矽藻土過濾，用乙酸乙酯洗滌，且真空移除溶劑，得到粗產物，其藉由急驟層析(SiO_2：MeOH/DCM 0-5%梯度)純化，得到呈無色油狀之化合物**62** (1.2 g，25%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ; 7.33-7.28 (m, 5H), 5.08 (s, 2H), 4.47 (t, 2H), 4.02 (t, 4H), 3.58-3.52 (m, 4H), 3.42-3.29 (m, 4H), 3.29-3.25 (m, 2H), 2.36 (t, 4H), 1.93-1.88 (m, 4H), 1.62-1.45 (m, 16H), 1.90-1.40 (m, 47H), 0.87 (t, 12H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 1061.9；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 11.81 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 13.62 min，純度：96.66%。

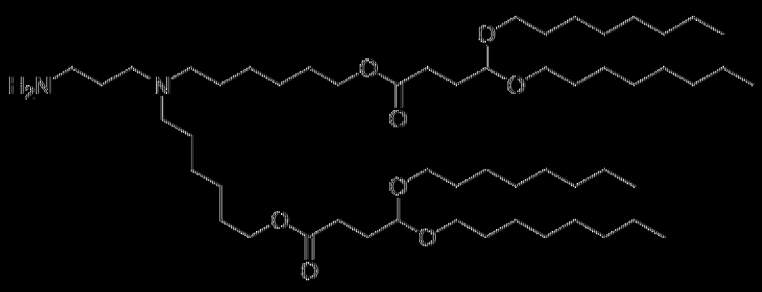
合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((3-胺基丙基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯) (L4b-3)

【1219】在H_2氣球下攪拌化合物**62** (0.85 g，0.80 mmol)、Pd/C (0.25 g)及乙酸(0.144 g，2.40 mmol)於乙酸乙酯(15 mL)中之混合物4 h。反應物經由矽藻土墊過濾，且真空移除溶劑。將粗材料溶解於DCM (25 mL)中，且用碳酸氫鹽溶液洗滌。分離有機相，乾燥且蒸發，得到呈黏性油狀之**L4b-3** (330 mg，45%)，其未經進一步純化即用於下一步驟。

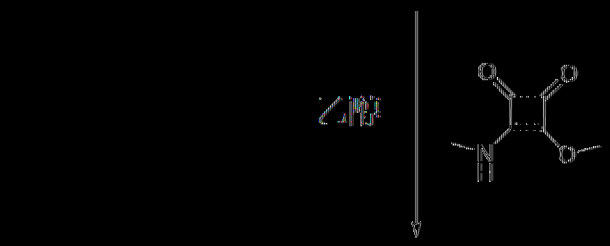
合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((3-(3,3-二甲基硫基脲基)丙基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯) (化合物54)

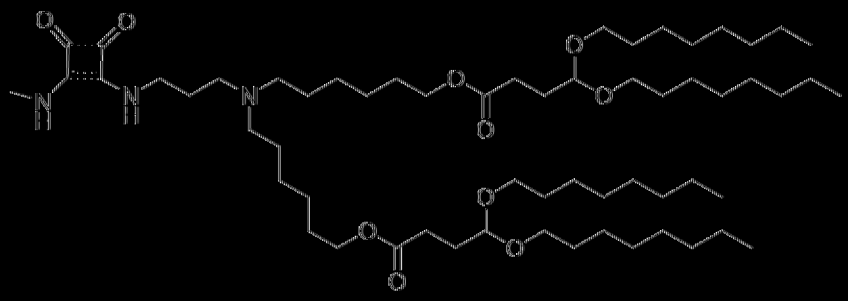
【1220】 向在0℃下之**L4b-3** (400 mg，0.431 mmol)於乙醚(30 mL)中之溶液中添加三乙胺(218 mg，2.156 mmol)及硫光氣(146 mg，1.293 mmol)。使反應混合物溫熱至室溫，且攪拌3 h。減壓移除揮發性組分，且向殘餘物中添加含甲胺(2.0 M)之THF (2.16 mL，4.31 mmol)。在室溫下繼續攪拌16 h。真空移除溶劑，且粗材料藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至10% MeOH/DCM + 1% NH_4OH)純化，得到呈黏性膠狀之化合物**54** (152 mg，35%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ. 4.49 (t, 2H), 4.05 (t, 4H), 3.80 (b, 2H), 3.62-3.52 (m, 4H), 3.43-3.18 (m, 8H), 3.00 (b, 2H), 2.38 (t, 4H), 1.96-1.89 (m, 4H), 1.68-1.10 (m, 73H), 0.87 (t, 12H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 1014.8。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 7.96 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 13.77 min，純度：98.33%。

合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((3-((2-(甲基胺基)-3,4-二側氧基環丁-1-烯-1-基)胺基)丙基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯) (化合物56)



L4b-3





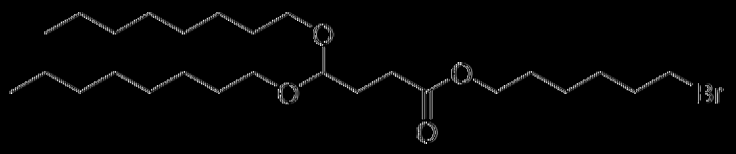
化合物56

合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((3-((2-(甲基胺基)-3,4-二側氧基環丁-1-烯-1-基)胺基)丙基)氮二基)雙(十烷-6,1-二基酯) (化合物56)

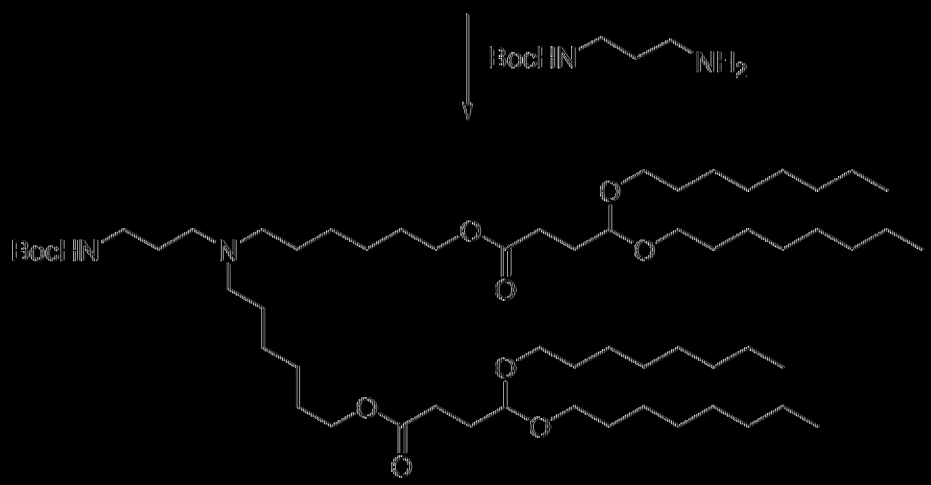
[0221] 在0℃下，向L4b-3 (750 mg，0.809 mmol)於乙醇(5 mL)中之溶液中添加3-甲氧基-4-(甲基胺基)環丁-3-烯-1,2-二酮(171 mg，1.214 mmol)，且使反應物達到室溫且攪拌24 h。真空移除溶劑，且粗材料藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至10% MeOH/DCM (1% NH_4OH))純化，得到呈淺黃色黏性油狀之化合物56 (110 mg，13%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.48 (t, 2H), 4.05 (t, 4H), 3.72-3.68 (m, 1H), 3.60-3.52 (m, 4H), 3.43-3.36 (m, 4H), 3.29 (d, 3H), 2.92-2.60 (m, 3H), 2.38 (t, 4H), 1.95-1.86 (m, 6H), 1.68-1.46 (m, 18H), 1.40-1.24 (m, 53H), 0.89-0.85 (t, 12H). CIMS m/z 1036.9 $[M+H]^+$ 1036.9。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax

SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：8.52 min，純度：95.32%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：3.26 min，純度：87.12%。

合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((3-((三級丁氧基羰基)胺基)丙基)氮烷二基)雙(十烷-6,1-二基酯) (化合物60)



化合物 L4-5



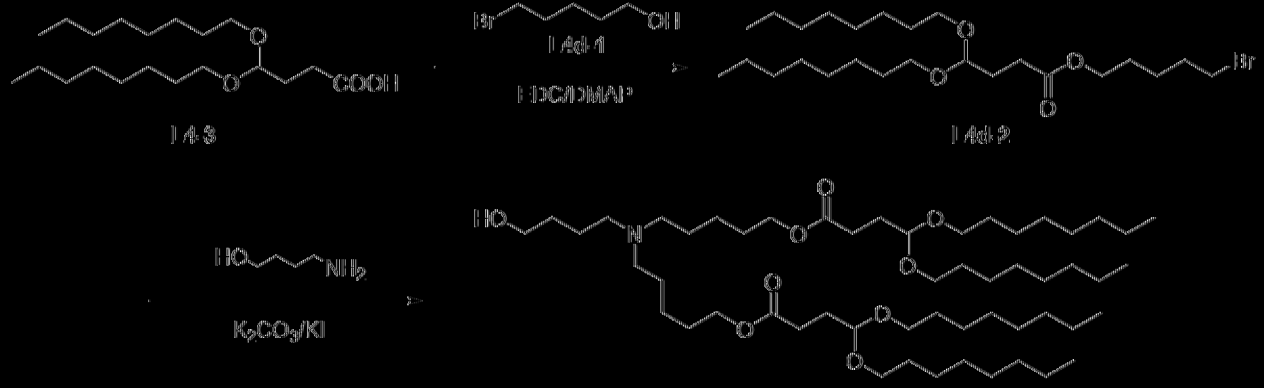
化合物 60

合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((3-((三級丁氧基羰基)胺基)丙基)氮烷二基)雙(十烷-6,1-二基酯) (化合物60)

[1222] 向在氮氣下之化合物L4-5 (5.0 g，9.88 mmol)於CH_3CN (5 mL)及CPME (5 mL)中之溶液中添加(3-胺基丙基)胺基甲酸三級丁酯(939 mg，4.94 mmol)，隨後添加K_2CO_3 (4.09 g，29.63 mmol)及KI (4.92 g，

29.63 mmol)。在85℃下加熱反應混合物18 h。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾，用乙酸乙酯洗滌，且真空移除溶劑，得到粗產物，其藉由急驟層析(SiO_2：MeOH/DCM 0-10%梯度)純化，得到呈無色油狀之化合物60 (4.0 g，79%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ; 4.49 (t, 2H), 4.05 (t, 4H), 3.60-3.52 (m, 4H), 3.43-3.36 (m, 4H), 3.15 (b, 2H), 2.50-2.25 (m, 10H), 1.95-1.88 (q, 4H), 1.67-1.16 (m, 76H), 0.87 (m, 12H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 1027.9；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：11.75 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：13.07 min，純度：>99%。

合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((4-溴基丁基)氮二基)雙(戊烷-5,1-二基)酯)(化合物51)



化合物51

合成4,4-雙(辛氧基)丁酸5-溴戊酯(L4d-2)

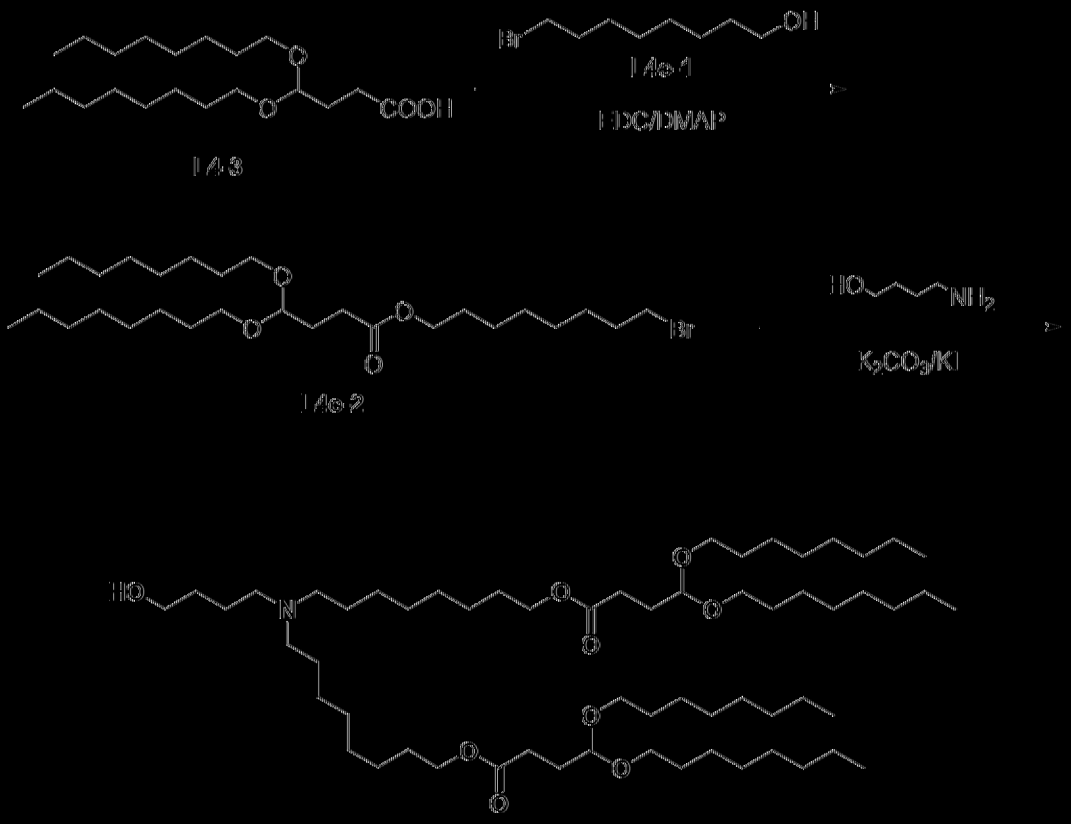
【1223】 向化合物**L4-3** (3.0 g，8.70 mmol)於二氯甲烷(60 mL)中之溶液中添加DMAP (1.06 mg，8.70 mmol)、EDC (6.67 g，34.8 mmol)及**L4d-1** (3.2 g，19.1 mmol)。在室溫下攪拌反應混合物12 h。真空蒸發反應混合物。將殘餘物溶解於二氯甲烷(100 mL)中且用鹽水(80 mL×3)洗滌。在經無水Na_2SO_4乾燥之後，蒸發溶劑，且粗材料藉由管柱層析(330 g SiO_2：0至30%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈無色油狀之**L4d-2** (2.6 g，60%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.48 (t, 1H), 4.06 (t, 2H), 3.59-3.31 (m, 6H), 2.37 (t, 2H), 1.95-1.85 (m, 4H), 1.67-1.47 (m, 8H), 1.38-1.18 (m, 20H), 0.86 (t, 6H)。

合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(戊烷-5,1-二基酯)(化合物51)

【1224】 向在氮氣下之化合物**L4d-2** (2.5 g，5.1 mmol)於CPME (15 mL)及ACN (15 mL)中之溶液中添加4-胺基-1-丁醇(200 mg，2.24 mmol)，隨後添加K_2CO_3 (1.2 g，8.9 mmol)及KI (372 mg，2.5 mmol)。在80℃下加熱反應混合物18 h。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾，用乙酸乙酯洗滌，且真空移除溶劑，得到粗產物，其藉由急驟層析(80 g SiO_2：0至30%乙酸乙酯/己烷+ 5%三乙胺梯度)純化，得到呈無色油狀之化合物**51** (0.8 g，40%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.48 (t, 2H), 4.04 (t, 4H), 3.59-3.35 (m, 10H), 2.44-2.34 (m, 10H), 1.94-1.87 (m, 4H), 1.67-1.44 (m, 20H), 1.38-1.13 (m, 45H), 0.86 (t, 12H)); CIMS m/z $[M+H]^+$ 914.7。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：

20:2℃，偵測器：ELSD，t_R：11.4 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20:2℃，偵測器：CAD，t_R：13.9 min，純度：> 97%。

合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(辛烷-8,1-二基酯)(化合物52)



化合物52

合成4,4-雙(辛氧基)丁酸8-溴辛酯(L4c-2)

[1225] 向化合物L4-3 (3.0 g，8.70 mmol)於二氯甲烷(60 mL)中之溶液中添加DMAP (1.06 mg，8.70 mmol)、EDCI (6.67 g，34.8 mmol)及L4c-1 (4.0 g，19.1 mmol)。在室溫下攪拌反應混合物12 h。真空蒸發反應混合物。將殘餘物溶解於二氯甲烷(100 mL)中且用鹽水(80 mL×3)洗

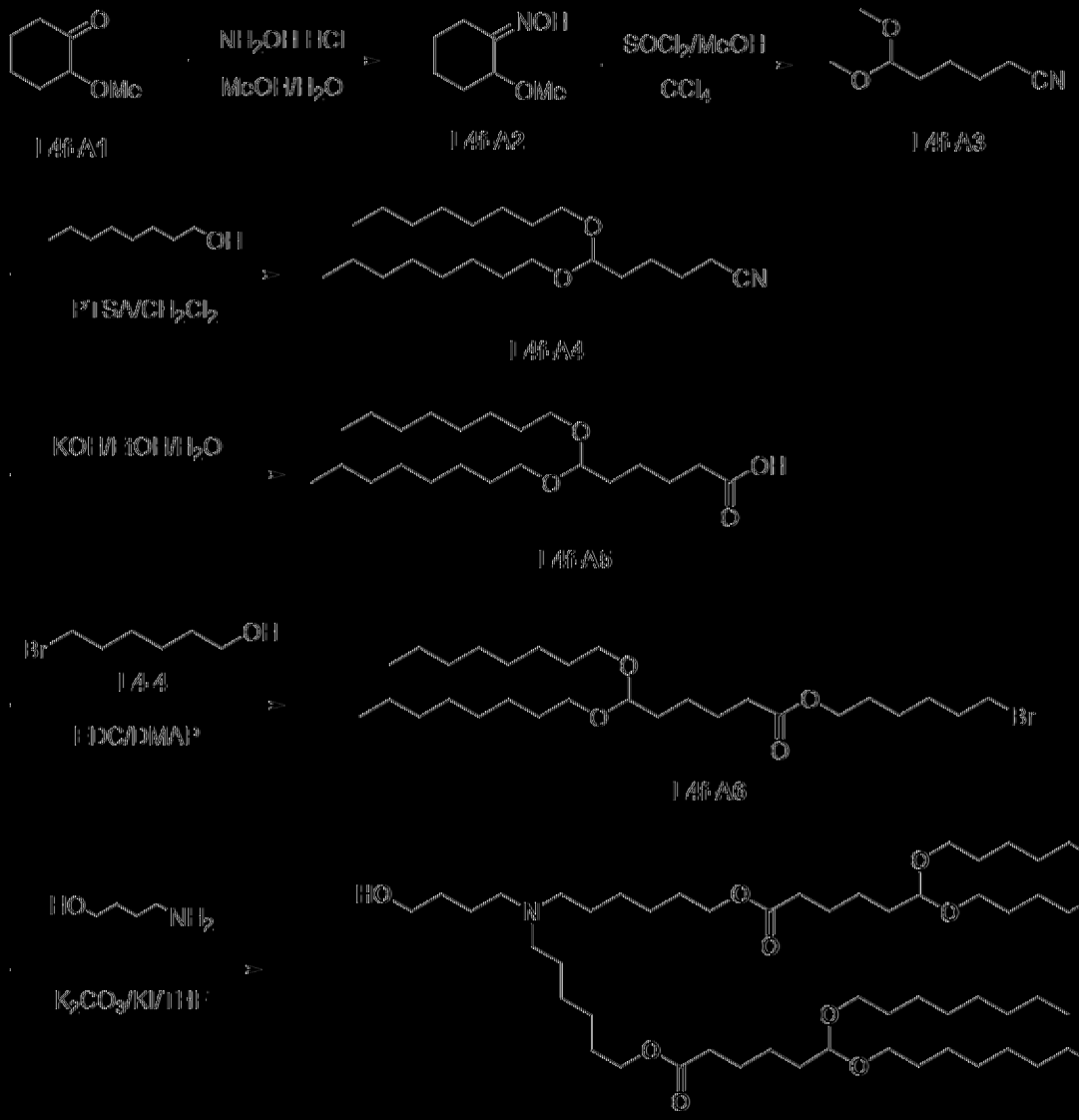
滌。在經無水Na_2SO_4乾燥之後，蒸發溶劑，且粗物質藉由管柱層析(330 g SiO_2：0至30%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到化合物**L4e-2** (3.3 g，70%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.48 (t, 1H), 4.04 (t, 2H), 3.59-3.35 (m, 6H), 2.37 (t, 2H), 1.95-1.86 (m, 3H), 1.67-1.08 (m, 35H), 0.86 (t, 6H). CIMS m/z $[M+H]^+$ 536.4。

合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(辛烷-8,1-二基酯)(化合物52)

【1226】向在氮氣下之化合物**L4e-2** (3.17 g，5.9 mmol)於CPME (15 mL)及ACN (15 mL)中之溶液中添加4-胺基-1-丁醇(230 mg，2.5 mmol)，隨後添加K_2CO_3 (1.4 g，10.3 mmol)及KI (428 mg，2.5 mmol)。在80℃下加熱反應混合物18 h。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾，用乙酸乙酯洗滌，且真空移除溶劑，得到粗產物，其藉由急驟層析(80 g SiO_2：0至30%乙酸乙酯/己烷+ 5%三乙胺梯度)純化，得到呈無色油狀之化合物**52** (1.2 g，47%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.49 (t, 2H), 4.03 (t, 4H), 3.59-3.35 (m, 10H), 2.43-2.34 (m, 10H), 1.94-1.87 (m, 4H), 1.63-1.42 (m, 18H), 1.37-1.18 (m, 58H), 0.86 (t, 12H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 998.8。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 11.8 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 14.8

min，純度：> 87%。

合成雙(6,6-雙(辛氧基)己酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯)(化合物55)



合成(*E*)-2-甲氧基環己-1-烯酮(I-4f-A2)

[122?] 向5 mL微波反應管中添加I-4f-A1 (1.0g, 7.80 mmol)、溴胺醋酸鹽(1.139g, 16.38 mmol)及乙酸鈉(1.34g,16.38 mmol)。向其中添加MeOH及水之混合物(2:1，2 mL)，且反應混合物用小瓶蓋密封且在CEM微波反應器中在100℃下加熱5 min。反應完成後，真空移除溶劑。將殘餘

物分配於乙酸乙酯/鹽水之間(3次)。將乙酸乙酯層合併且經無水硫酸鎂乾燥。真空移除乙酸乙酯，得到940 mg (84%)粗產物**L4f-A2**。此粗產物未經進一步純化即用於下一步驟。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 8.32 (bs,1H), 3.72 (t, J =5.0 Hz, 1H), 3.27(s, 3H), 3.10-3.25 (m,1H), 2.10-2.01 (m,2H), 1.81-1.30 (m, 6H) MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 143.2。

合成6,6-二甲氧基己腈(L4f-A3)

【1228】 向100 mL三頸燒瓶中之**L4f-A2** (5.7 g，44.47 mmol)中添加四氯化碳(30 mL)。燒瓶用氮氣沖洗且冷卻至0℃。歷經10 min，向此燒瓶中逐滴添加溶解於四氯化碳(15 mL)中之亞硫醯氯(4.64 g，2.89 ml，66.70 mmol)。將反應物維持在相同溫度下且攪拌5 min。將無水甲醇(20 mL)逐滴添加至反應物中。在0-5℃下攪拌反應物1 h。反應完成後，將反應內含物倒入含有30 g碳酸氫鈉及鹽水(5 mL)之1000 mL圓底燒瓶中。使反應內含物中和5 min。真空蒸發溶劑。將殘餘物分配於乙酸乙酯/鹽水之間(3次)，將乙酸乙酯層合併且穿過矽藻土。乙酸乙酯層經無水硫酸鎂乾燥。真空移除乙酸乙酯，且將殘餘物保持於高真空中，得到粗產物**L4f-A3** (4.07 g，58%)。此粗物質未經進一步純化即用於下一步驟。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.35 (t, J =5.0 Hz, 1H), 3.32 (s, 6H), 2.31 (t, J =6.0 Hz, 2H), 1.70-1.51 (m, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 157.3。

合成6,6-雙(辛氧基)己腈(L4f-A4)

【1229】 向100 mL圓底燒瓶中添加**L4f-A3** (2.0 g，12.72 mmol)及辛醇(9.94 g，76.33 mmol)。向其中添加吡啶鎓對甲苯磺酸鹽(480 mg，1.91 mmol)，且在120℃下攪拌反應混合物2 h。反應完成後，將內含物負載至120g急驟矽膠管柱上且藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-20%)純

化，得到呈略微黃色油狀之化合物**L4f-A4** (2.99 g，67%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.45 (t, J =6.0 Hz, 1H), 3.57-3.53 (m, 2H), 3.42-3.37 (m, 2H), 2.33 (t, J =7.0 Hz, 2H), 1.62-1.50 (m, 6H), 1.41-1.16 (m, 24H), 0.89-0.84 (m, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 354.5。

合成6,6-雙(辛氧基)己酸(L4f-A5)

【1230】 向250 mL圓底燒瓶中添加**L4f-A4** (2.94 g，8.31 mmol)及KOH (3.86 g，68.815 mmol)。向其中添加乙醇及水之混合物(1:1，80 mL)，且使反應混合物在110℃下回流30 h。反應完成後，真空移除溶劑。將殘餘糊狀物與100 g冰混合且使用1M HCl酸化至pH 5。將此混合物分配於乙酸乙酯:水中。向其中添加鹽水(100 mL)。過濾此混合物以移除任何形成之乳液。在過濾後充分分離乙酸乙酯層。產物用乙酸乙酯萃取三次。經合併之乙酸乙酯層經無水硫酸鈉乾燥。真空移除乙酸乙酯，得到呈略微黃色油狀之粗化合物**L4f-A5** (2.45 g，79%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.44 (t, J =3.0 Hz, 1H), 3.55-3.50 (m, 2H), 3.42-3.36 (m, 2H), 2.33 (m, 2H), 1.59-1.16 (m, 30H), 0.89-0.84 (m, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 373.6。

合成6,6-雙(辛氧基)己酸6-溴己酯(L4f-A6)

【1231】 向250 mL圓底燒瓶中添加**L4f-A5** (2.0 g，5.37 mmol)、EDC (4.12 g，21.47 mmol)、DMAP (0.656 g，5.37 mmol)。向其中添加6-溴己醇(1.94 g，10.73 mmol)以及二氯甲烷(60 mL)，且在室溫下攪拌反應混合物2 h。反應完成後，添加約30 g急驟矽膠，且攪拌內含物，得到均勻混合物。在真空下自此混合物中移除溶劑。將殘餘物負載至空急驟筒柱上，接著該急驟筒柱與負載有80g急驟矽膠管柱之急驟純化系統連接，且

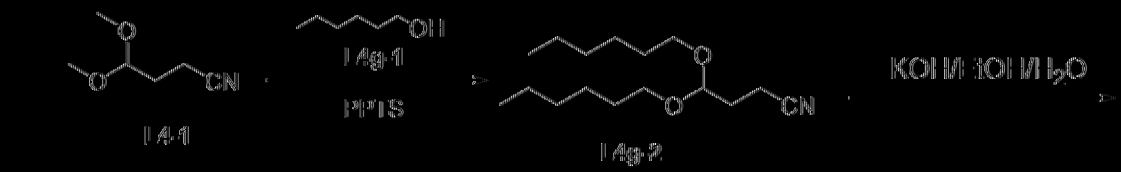
藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-20%)純化，得到呈略微黃色油狀之化合物**L4f-A6** (1.935 g，67%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.49 (t, J =6.0 Hz, 1H), 4.05 (t, J =6.0 Hz, 2H), 3.56-3.54 (m, 2H), 3.40-3.37 (m, 4H), 2.36 (t, J =7.0 Hz, 2H), 1.94-1.85 (m, 4H), 1.58-1.23 (m, 36H), 0.89-0.87 (m, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 535.4。

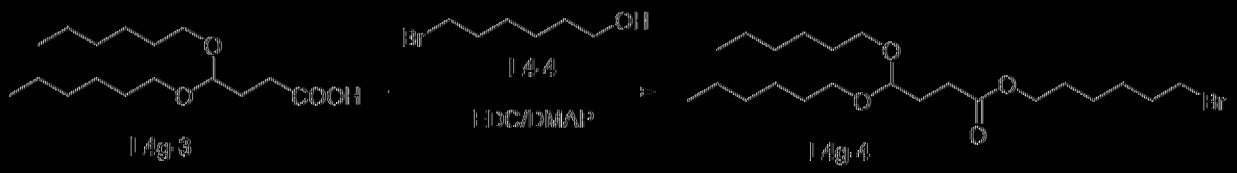
合成雙(6,6-雙(辛氧基)己酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯)(化合物55)

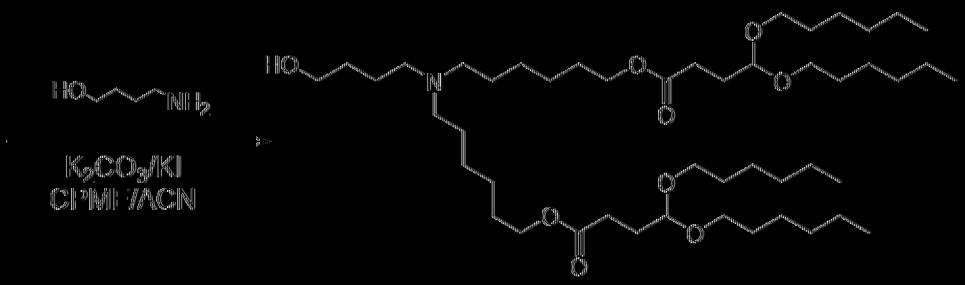
【1232】向40 mL微波反應管中添加**L4f-A6** (1.56 g，2.912 mmol)、4-胺基-1-丁醇(116.8 mg，1.31 mmol)、碳酸鉀(1.207 g，8.74 mmol)及碘化鉀(725.1 mg，4.368 mmol)。向其中添加CPME及ACN之混合物(1:1，5 mL)，且將反應混合物密封且在CEM微波反應器中在100℃下加熱6 h。反應完成後，將內含物轉移至含有約40 g急驟矽膠(在使用之前，將此矽膠攪拌於300 mL含5%三乙胺之己烷中10 min)之500 mL圓底燒瓶，且充分攪拌內含物，得到均勻混合物。在真空下自此混合物中移除溶劑。將殘餘物負載至空急驟筒柱上，接著該急驟筒柱與負載有80g尺寸預填充急驟矽膠管柱(在使用之前，急驟管柱用含10%三乙胺之己烷，以80 mL/min之流速平衡15min)之急驟純化系統連接，且藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-50%)純化，得到化合物**55** (520 mg，18%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 6.56(bs, 1H), 4.44 (t, J =6.0 Hz, 2H), 4.03 (t, J =7.0 Hz, 4H), 3.56-3.36 (m, 10H), 2.42-2.28 (m, 10H), 1.95-1.88 (m, 4H), 1.64-1.20 (m, 70H), 0.89-0.86 (m, 12H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 998.6。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mmol，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三

氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：10.7 min，純度：96.78%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：13.1 min，純度：>99%。

合成雙(4,4-雙(1-氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(1-烷-6,1-二基酯)(化合物58)







化合物58

合成4,4-雙(1-氧基)丁腈(L4g-2)

[1233] 向250 mL圓底燒瓶中添加L4-1 (10.0 g，77.42 mmol)及L4g-1 (30.11 g，294.6 mmol)。向其中添加吡啶鎓對甲苯磺酸鹽(0.5 g，1.989 mmol)，且在125℃下攪拌反應混合物26 h。反應完成後，將內含物負載至220g矽膠矽膠管柱上且藉由矽膠層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-10%)

純化，得到呈略微黃色油狀之化合物**L4g-2** (16.4 g，79%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.54 (t, J =6.0 Hz, 1H), 3.63-3.55 (m, 2H), 3.46-3.38 (m, 2H), 2.43 (t, J =6.0 Hz, 2H), 1.95-1.92 (m, 2H), 1.56-1.32 (m, 4H), 1.32-1.29 (m,12H), 0.87-0.85 (m, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 270.3。

【1234】 合成4,4-雙(己氧基)丁酸(L4g-3)

【1235】 向250 mL圓底燒瓶中添加**L4g-2** (6.8 g，25.24 mmol)及KOH (4.25 g，75.71 mmol)。向其中添加乙醇(50 mL)及水(50 mL)，且使反應混合物在110℃下回流18 h。反應完成後，真空移除溶劑。將殘餘糊狀物與100 g冰混合且使用4M HCl酸化至pH 5。將此混合物分配於乙酸乙酯及水中。向其中添加鹽水(100 mL)。分離乙酸乙酯層。產物用乙酸乙酯萃取三次。經合併之乙酸乙酯層經無水硫酸鈉乾燥。真空移除乙酸乙酯，得到粗產物。將此粗物質負載至220g急驟矽膠管柱上，且藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-10%)純化，得到呈略微黃色油狀之化合物**L4g-3** (6.9 g，94%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.50 (t, J =6.0 Hz, 1H), 3.59-3.56 (m, 2H), 3.42-3.39 (m, 2H), 2.44-2.42 (m, 2H), 1.95-1.93 (m, 2H), 1.59-1.28 (m, 24H), 0.87-0.85 (m, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 289.4。

合成4,4-雙(己氧基)丁酸6-溴己酯(化合物(L4g-4))

【1236】 在250 mL圓底燒瓶中，將**L4g-3** (3.0 g，10.40 mmol)、EDC (2.99 g，15.60 mmol)、DMAP (0.25 g，2.08 mmol)及N,N-二異丙基乙胺(5.37 g，41.65 mmol)添加於DCM (40 mL)中。向其中添加6-溴己醇(2.45 g，13.52 mmol)，且在室溫下攪拌反應混合物3天。反應完成後，真空移除溶劑。將殘餘糊狀物分配於乙酸乙酯及水中。其得到乳白色乳

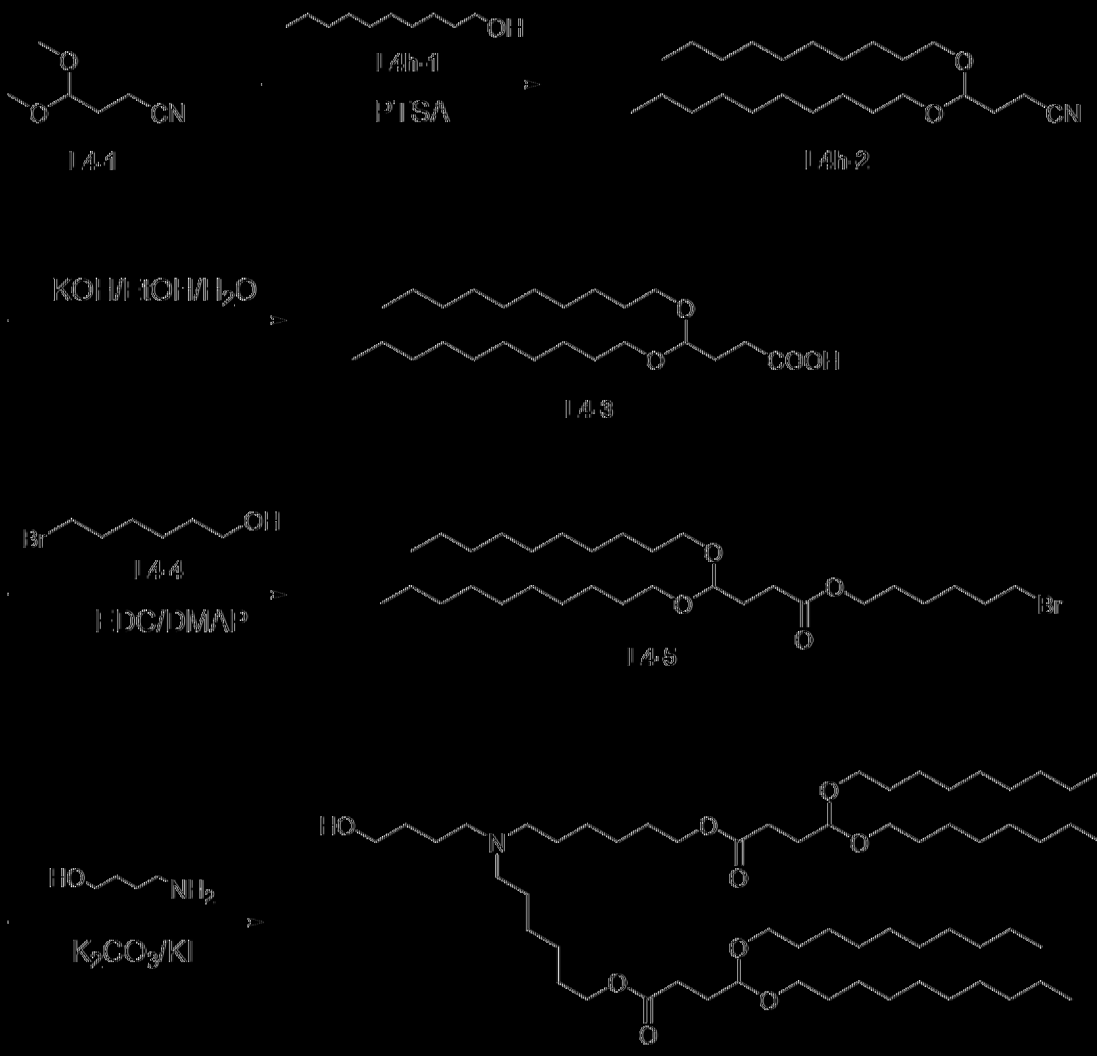
液。向其中添加鹽水(100 mL)。乳白色乳液使用4M HCl酸化至pH4。分離乙酸乙酯層。產物用乙酸乙酯萃取三次。經合併之乙酸乙酯層用碳酸氫鹽洗滌且經無水硫酸鈉乾燥。真空移除乙酸乙酯，且將殘餘物負載至220g急驟矽膠管柱上且藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-20%)純化，得到呈略微黃色油狀之化合物**L4g-4** (1.0 g，22%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.50 (t, J =6.0 Hz, 1H), 4.05 (t, J =7.0 Hz, 2H), 3.58-3.35 (m, 6H), 2.37-2.34 (m, 2H), 1.93-1.90 (m, 2H), 1.59-1.28 (m, 24H), 0.87-0.85 (m, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 452.4。

合成雙(4,4-雙(己氧基)丁酸)((4-羥基丁基) 氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯) (化合物58)

【1237】 向250 mL圓底燒瓶中添加**L4g-4** (2.2 g，4.87 mmol)、4-胺基-1-丁醇(0.195 g，2.19 mmol)、KI (1.213 g，7.31 mmol)及碳酸鉀(2.02 g，14.618 mmol)。向其中添加無水乙腈(10 mL)以及環戊基甲基醚(CPME) (10 mL)，且在回流下在90℃下攪拌反應混合物36 h。反應完成後，添加約40g急驟矽膠(在使用之前，此矽膠藉由攪拌於300 mL含5%三乙胺之己烷中10 min中和)，且充分攪拌內含物，得到均勻混合物。在真空下自此混合物中移除溶劑。將殘餘物負載至空急驟筒柱上，接著該急驟筒柱與負載有80g尺寸預填充急驟矽膠管柱(在使用之前，急驟管柱用含10%三乙胺之己烷，以80 mL/min之流速平衡15min)之急驟純化系統連接，且藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-50%)純化，得到化合物**58** (1.1 g，28%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.50 (t, J =6.0 Hz, 2H), 4.05 (t, J =7.0 Hz, 4H), 3.58-3.34 (m, 10H), 2.42-2.34 (m, 10H), 1.95-1.88 (m, 4H), 1.64-1.28 (m, 54H), 0.89-0.85 (m, 12H); MS (CI): m/z

$[M+H]^+$ 831.3。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mmol，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 10.7 min，純度：>99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 13.1 min，純度：>99%。

合成雙(4,4-雙(癸氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯)(化合物57)



化合物*57*

合成4,4-雙(癸氧基)丁腈(L4h-2)

[1238] 向100 mL圓底燒瓶中添加L4-1 (5.0 g，31.58 mmol)及L4h-1 (15.05 g，95.11 mmol)。向其中添加吡啶鎓對甲苯磺酸鹽(0.26 g，1.015 mmol)，且在125℃下攪拌反應混合物26 h。反應完成後，將內含物負載至220g矽膠管柱上且藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-10%)純化，得到呈略微黃色油狀之化合物L4h-2 (8.96 g，61%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.54 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 3.63-3.55 (m, 2H), 3.46-3.38 (m, 2H), 2.43(t, J = 6.0 Hz, 2H), 1.95-1.92 (m, 2H), 1.56-1.32 (m, 4H),1.32-1.29(m,28H), 0.87-0.85 (m, 6H); MS (CI): m/z [M+H]$^+$

381.4。

合成4,4-雙(癸氧基)丁酸(L4-3)

【1239】 向500 mL圓底燒瓶中添加**L4h-2** (8.9 g，23.47 mmol)及KOH (3.95 g，70.43 mmol)。向其中添加乙醇(50 mL)及水(50 mL)。使反應混合物在110℃下回流18 h。反應完成後，真空移除溶劑。將殘餘糊狀物與100 g冰混合且使用4M HCl酸化至pH 5。將此混合物分配於乙酸乙酯:水中。向其中添加鹽水(100 mL)。分離乙酸乙酯層。產物用乙酸乙酯萃取三次。經合併之乙酸乙酯層經無水硫酸鈉乾燥。真空移除乙酸乙酯，得到粗產物。將此粗物質負載至220g急驟矽膠管柱上且藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-10%)純化，得到呈略微黃色油狀之化合物**L4-3** (6.8 g，73%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.52 (t, J =6.0 Hz, 1H), 3.59-3.53 (m, 2H), 3.42-3.38 (m, 2H), 2.46-2.42 (m, 2H), 1.95-1.93 (m, 2H), 1.59-1.28 (m, 28H), 0.89-0.84 (m, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 401.3。

合成4,4-雙(癸氧基)丁酸6-溴己酯(L4-5)

【1240】 向250 mL圓底燒瓶中添加**L4-3** (2.0 g，4.992 mmol)、EDC (3.83 g，19.96 mmol)、DMAP (0.61 g，5.0 mmol)。向其中添加6-溴己醇(1.81 g，9.98 mmol)以及二氯甲烷(80 mL)，且在室溫下攪拌反應混合物2 h。反應完成後，添加約40g急驟矽膠，且充分攪拌內含物，得到均勻混合物。在真空下自此混合物中移除溶劑。將殘餘物負載至空急驟筒柱上，接著該急驟筒柱與負載有80g急驟矽膠管柱之急驟純化系統連接，且藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-10%)純化，得到呈略微黃色油狀之化合物**L4-5** (2.18 g，78%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.49

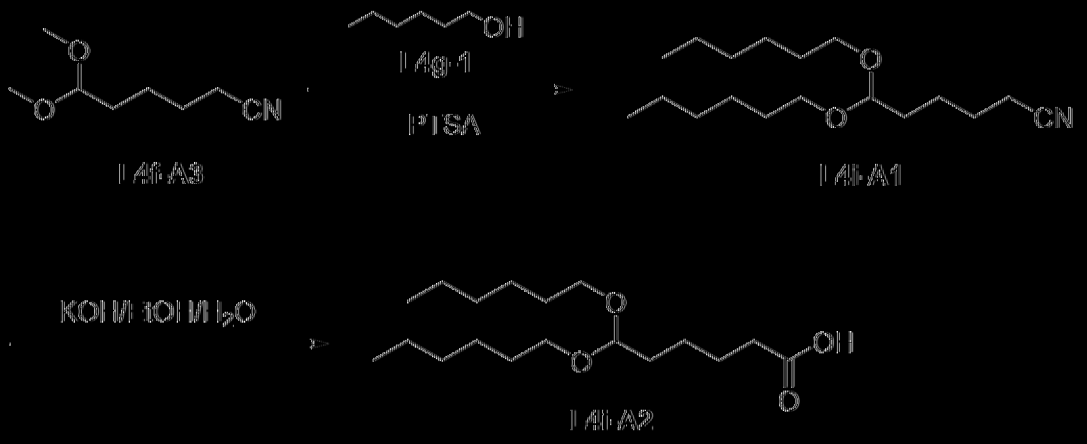
(t, J =6.0 Hz, 1H), 4.07 (t, J =6.0 Hz, 2H), 3.57-3.53 (m, 2H), 3.40-3.37 (m, 2H), 2.37 (t, J =7.0 Hz, 2H), 1.93-1.83 (m, 4H), 1.56-1.24 (m, 38H), 0.89-0.84 (m, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 563.7。

合成雙(4,4-雙(癸氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯)(化合物57)

【1241】 向250 mL圓底燒瓶中添加**L4-5** (2.1 g，3.725 mmol)、4-胺基-1-丁醇(0.149 g，1.676 mmol)、KI (0.93 g，5.588 mmol)及碳酸鉀(1.54 g，11.176 mmol)。向其中添加無水乙腈(15 mL)以及環戊基甲基醚(CPME) (15 mL)，且在回流下在90℃下攪拌反應混合物36 h。反應完成後，添加約40g急驟矽膠(在使用之前，此矽膠藉由攪拌於含5%三乙胺之己烷(300 mL)中10 min中和)，且充分攪拌內含物，得到均勻混合物。在真空下自此混合物中移除溶劑。將殘餘物負載至空急驟筒柱上，接著該急驟筒柱與負載有80g尺寸預填充急驟矽膠管柱(在使用之前，急驟管柱用含10%三乙胺之己烷，以80 mL/min之流速平衡15min)之急驟純化系統連接，且藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-30%)純化，得到化合物**57** (1.1 g，28%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.48 (t, J =6.0 Hz, 2H), 4.05 (t, J =7.0 Hz, 4H), 3.58-3.36 (m, 10H), 2.44-2.34 (m, 10H), 1.92-1.90 (m, 2H), 1.64-1.20 (m, 86H), 0.89-0.84 (m, 12H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 1054.7。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mmol，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 10.7 min，純度：>99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙

酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：13.1 min，純度：>99%。

合成雙(6,6-雙(三氟甲基)三氟酸)((4-氰基丁基)氮三基)雙(三氟烷-6,1-二基甲酯)(化合物59)



化合物59

合成6,6-雙(三氟甲基)三氟腈(L4f-A1)

[1242] 向100 mL圓底燒瓶中添加L4f-A3 (2.0 g，12.72 mmol)及1-三氟醇(7.798 g，76.33 mmol)。向其中添加吡啶鎓對甲苯磺酸鹽(480 mg，1.91 mmol)，且在120℃下攪拌反應混合物2 h。反應完成後，將內

含物負載至120g急驟矽膠管柱上且藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-20%)純化，得到呈略微黃色油狀之化合物**L4i-A1** (2.45 g，65%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.45 (t, J =6.0 Hz, 1H), 3.57-3.53 (m, 2H), 3.42-3.37 (m, 2H), 2.33 (t, J =7.0 Hz, 2H), 1.62-1.50 (m, 6H), 1.41-1.16 (m, 16H), 0.89-0.84 (m, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 298.5。

合成6,6-雙(己氧基)己酸(L4i-A2)

【1243】 向250 mL圓底燒瓶中添加**L4i-A1** (2.45 g，8.24 mmol)及KOH (1.386 g，24.70 mmol)。向其中添加1:1乙醇:水之混合物(80 mL)，且使反應混合物在110℃下回流30 h。反應完成後，真空移除溶劑。將殘餘糊狀物與100 g冰混合且使用1M HCl酸化至pH 5。將此混合物分配於乙酸乙酯:水中。向其中添加鹽水(100 mL)。過濾此混合物以移除任何形成之乳液。在過濾後充分分離乙酸乙酯層。產物用乙酸乙酯萃取三次。經合併之乙酸乙酯層經無水硫酸鈉乾燥。真空移除乙酸乙酯，得到呈略微黃色油狀之**L4i-A2** (2.07 g，79%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.45 (t, J =7.0 Hz, 1H), 3.56-3.50 (m, 2H), 3.42-3.37 (m, 2H), 2.33 (t, J =7.0 Hz, 2H), 1.69-1.20 (m, 22H), 0.89-0.84 (m, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 316.4。

合成6,6-雙(己氧基)己酸6-溴己酯(L4i-A3)

【1244】 向250 mL圓底燒瓶中添加**L4i-A2** (2.07 g，6.54 mmol)、EDC (5.015 g，26.16 mmol)、DMAP (0.799 g，6.54 mmol)。向其中添加6-溴己醇(2.368 g，13.08 mmol)以及二氯甲烷(60 mL)，且在室溫下攪拌反應混合物120 min。藉由TLC及使用PMA染色監測反應。反應完成後，添加約30g急驟矽膠，且充分攪拌內含物，得到均勻混合物。在真空

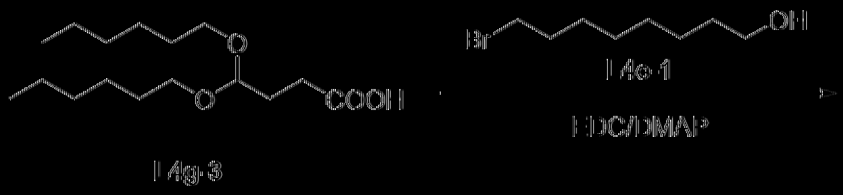
下自此混合物中移除溶劑。將殘餘物負載至空急驟筒柱上，接著該急驟筒柱與負載有80g急驟矽膠管柱之急驟純化系統連接，且藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-20%)純化，得到呈略微黃色油狀之化合物**L4i-A3** (2.35 g，75%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.44 (t, J =6.0 Hz, 1H), 4.05 (t, J =6.0 Hz, 2H), 3.56-3.52 (m, 2H), 3.42-3.36 (m, 4H), 2.29 (t, J =7.0 Hz, 2H), 1.88-1.80 (m, 4H), 1.62-1.27 (m, 28H), 0.89-0.85 (m, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 479.5。

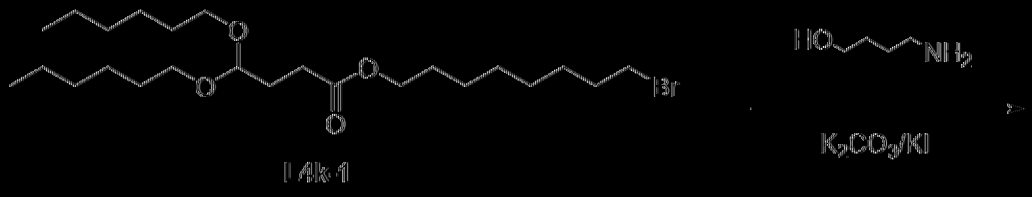
合成雙(6,6-雙(己氧基)己酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯)(化合物59)

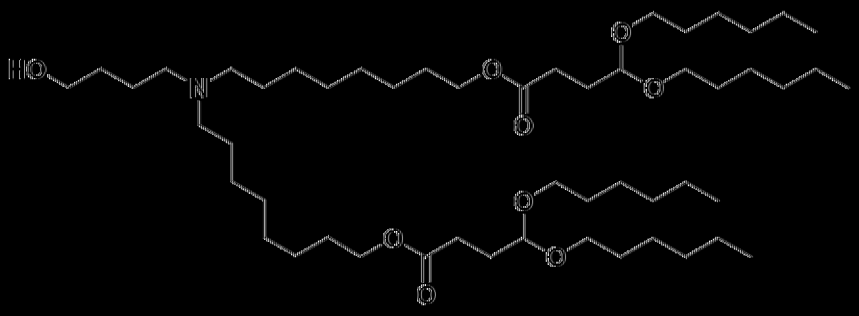
【1245】 向40 mL微波反應管中添加**L4f-A3** (2.3 g，4.29 mmol)、4-胺基-1-丁醇(172.2 mg，1.93 mmol)、碳酸鉀(1.78 g，12.88 mmol)及碘化鉀(1.07 g，6.44 mmol)。向其中添加CPME及ACN之混合物(1:1，5 mL)，且反應混合物用蓋密封且在CEM微波反應器中在100℃下加熱6 h。反應完成後，將內含物轉移至含有約40g急驟矽膠(在使用之前，將此矽膠攪拌於含10%之己烷(300 mL)中10 min)之500 mL圓底燒瓶，且充分攪拌內含物，得到均勻混合物。在真空下自此混合物中移除溶劑。將殘餘物負載至空急驟筒柱上，接著該急驟筒柱與負載有80g尺寸預填充急驟矽膠管柱(在使用之前，急驟管柱用含10%三乙胺之己烷，以80 mL/min之流速平衡15min)之急驟純化系統連接，且藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-50%)純化，得到化合物**59** (1.1 g，29%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 6.67(bs, 1H), 4.44 (t, J =6.0 Hz, 2H), 4.03 (t, J =7.0 Hz, 4H), 3.56-3.36 (m, 10H), 2.44-2.28 (m, 10H), 1.63-1.28 (m, 64H), 0.89-0.84 (m, 12H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 886.4。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax

SB-C18，5 μm，4.6×150 mmol，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：10.7 min，純度：>96.11%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：13.1 min，純度：>99%。

合成雙(4,4-雙(1-乙氧基)丁酸)((4-溴基丁基)氮二基)雙(辛烷-8,1-二基酯)(化合物53)







化合物53

合成4,4-雙(1-乙氧基)丁酸8-溴辛酯(L4k-1)

[1246] 向250 mL圓底燒瓶中添加L4g-3 (1.6 g，5.547 mmol)、EDC (4.25 g，22.189 mmol)、DMAP (0.68 g，5.547 mmol)。向其中添

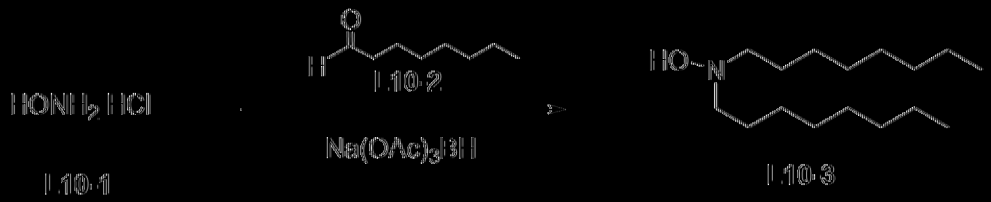
加6-溴辛醇(2.32 g，11.095 mmol)以及二氯甲烷(80 mL)，且在室溫下攪拌反應混合物120 min。反應完成後，添加約40g急驟矽膠，且充分攪拌內含物，得到均勻混合物。在真空下自此混合物中移除溶劑。將殘餘物負載至空急驟筒柱上，接著該急驟筒柱與負載有80g急驟矽膠管柱之急驟純化系統連接，且藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-10%)純化，得到呈略微黃色油狀之化合物**L4k-1** (2.0 g，75%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.49 (t, J =6.0 Hz, 1H), 4.05 (t, J =6.0 Hz, 2H), 3.55-3.54 (m, 2H), 3.40-3.37 (m, 4H), 2.37 (t, J =7.0 Hz, 2H), 1.93-1.84 (m, 4H), 1.57-1.24 (m, 28H), 0.89-0.87 (m, 6H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 479.5。

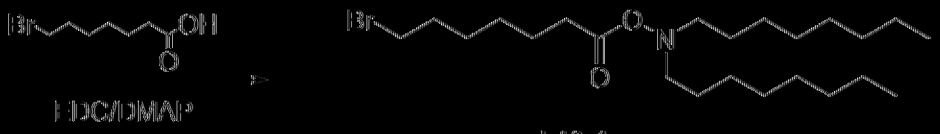
合成雙(4,4-雙(己氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(辛烷-8,1-二基酯)(化合物53)

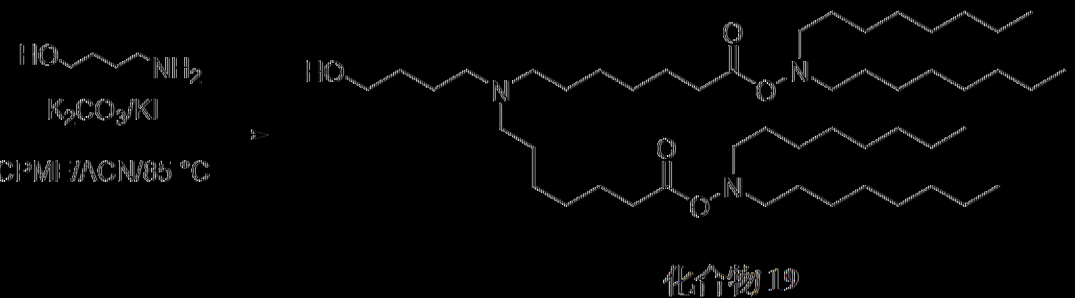
【1247】 向250 mL圓底燒瓶中添加**L4k-1** (2.0 g，4.17 mmol)、4-胺基-1-丁醇(0.167 g，1.87 mmol)、KI (1.04 g，6.25 mmol)及碳酸鉀(1.73 g，12.51 mmol)。向其中添加無水ACN (10 mL)以及環戊基甲基醚(CPME) (10 mL)，且在回流下在90℃下攪拌反應混合物36 h。反應完成後，添加約40g急驟矽膠(在使用之前，將此矽膠攪拌於含5%三乙胺之己烷(300 mL)中10 min)，且充分攪拌內含物，得到均勻混合物。在真空下自此混合物中移除溶劑。將殘餘物負載至空急驟筒柱上，接著該急驟筒柱與負載有80g尺寸預填充急驟矽膠管柱(在使用之前，急驟管柱用含10%三乙胺之己烷，以80 mL/min之流速平衡15min)之急驟純化系統連接，且藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-50%)純化，得到化合物**53** (1.0 g，27%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.48 (t, J =6.0 Hz, 2H), 4.03 (t, J =7.0 Hz, 4H), 3.58-3.37 (m, 10H), 2.44-2.34 (m, 10H), 1.95-1.88 (m,

4H)，1.64-1.20 (m，60H)，0.89-0.85 (m，12H)；MS (CI)：*m/z* [M+H]+ 886.3。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mmol，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：ELSD，t_R：10.7 min，純度：>99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：CAD，t_R：13.1 min，純度：>99%。

合成4-(雙(7-((2-辛基癸基)氧基)-7-側氧基庚基)胺基)-1-醇(化合物19)







合成*N,N*-二辛基癸醯胺(L10-3)

[1248] 在氮氣氛圍下，在室溫下攪拌癸胺與酸酐L10-1 (1.75 g，

25 mmol)、1-辛醛**L10-2** (6.4 g，50 mmol)及Et_3N (3.5 mL，25 mmol)於二氯乙烷(75 mL)中之混合物，形成透明溶液。數份添加$NaBH(OAc)_3$ (15.5 g，75 mmol)，且在室溫下攪拌所得混合物20 h。將碳酸氫鈉溶液飽和水溶液緩慢添加至反應混合物中，直至不產生氣泡。分離所得相。水相再次用DCM (150 mL)萃取。經合併之有機萃取物經無水Na_2SO_4乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至100% EtOAc/己烷)純化，得到呈白色固體狀之**L10-3** (2.9 g，53%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.31 (s, bs, 1H), 2.63 (t, *J* =4.7 Hz, 4H), 1.70-1.49 (m, 4H), 1.43-1.15 (m, 20H), 0.87 (t, *J* =6.6 Hz, 6H) . CIMS m/z $[M+H]^+$ 258.2。

合成*O*-(7-溴庚醯基)-*N*, *N*-二辛基羥胺(L10-4)

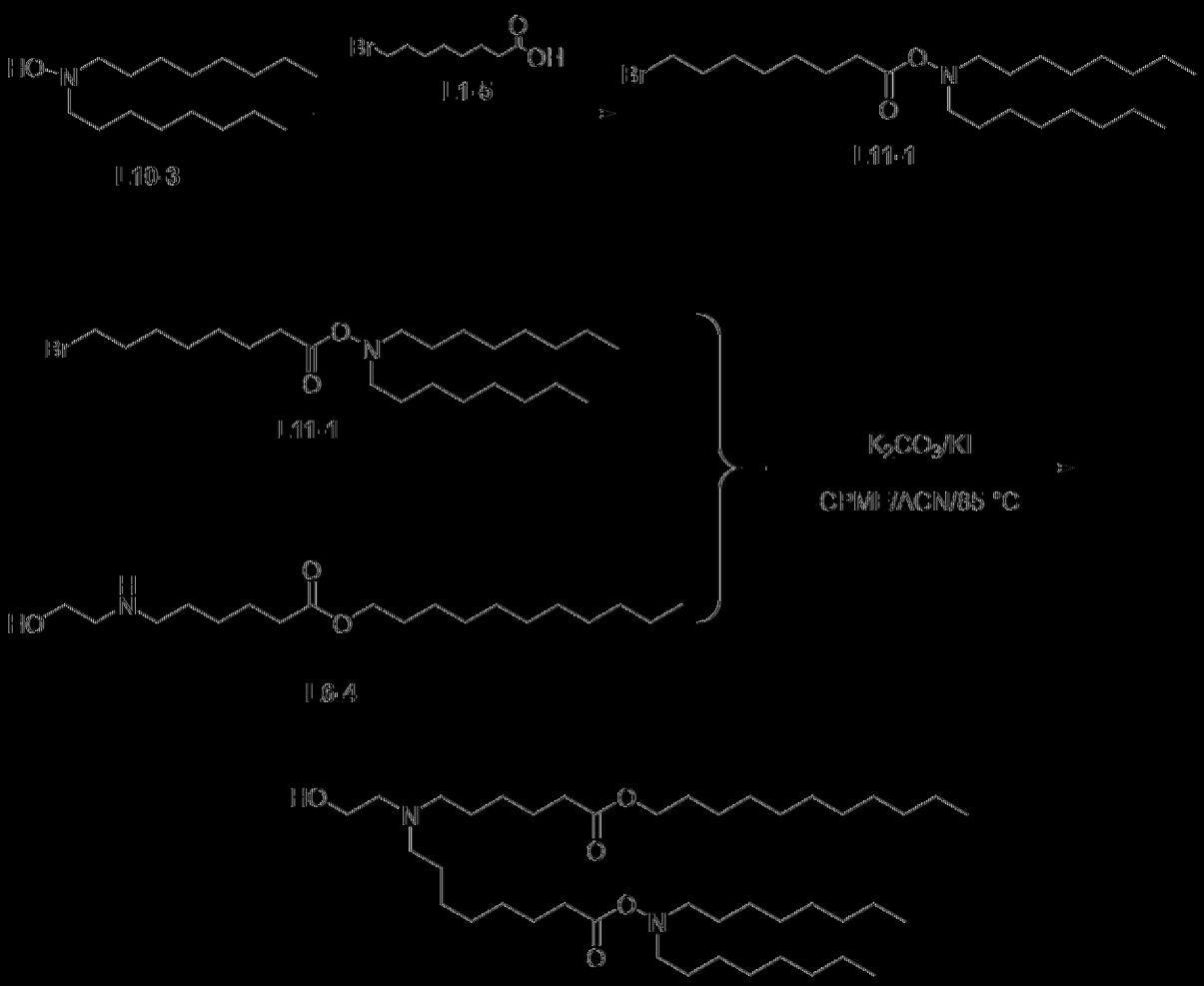
【1249】 向**L10-3** (2.8 g，11 mmol)於DCM (70 mL)中之溶液中添加7-溴庚酸(2.8 g，13 mmol)，隨後添加DIPEA (4 mL，22 mmol)、DMAP (1.4 g，11 mmol)及EDC (4.3 g，22 mmol)。在氮氣氛圍下在室溫下攪拌所得混合物22 h。反應混合物用DCM (70 mL)稀釋，且用飽和$NaHCO_3$水溶液(50 mL)、水(50 mL)及鹽水(50 mL)洗滌。有機相經無水Na_2SO_4乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至100%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈無色油狀之**L10-4** (1.9 g，38%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 3.40 (t, *J* =7.0 Hz, 2H), 2.79 (t, *J* = 7.7 Hz, 4H), 2.28 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.91-1.15 (m, 34H), 0.86 (t, *J* = 6.9 Hz, 6H). CIMS m/z $[M+H]^+$ 448/450。

合成4-(雙(7-((二辛基胺基)氧基)-7-側氧基庚基)胺基)丁-1-醇(化合物19)

【1250】 在85℃下加熱**L10-4** (650 mg，1.4 mmol)、4-胺基-1-丁醇(56 mg，0.6 mmol)於含有碳酸鉀(386 mg，2.8 mmol)及碘化鉀(232 mg，

1.4 mmol)之環戊基甲基醚(1.5 mL)及乙腈(1.5 mL)中之溶液48小時。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾，用乙酸乙酯洗滌，且接著在真空下移除溶劑，得到粗產物，其藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-100% + 1%三乙胺於溶離劑中)純化，得到呈略微黃色油狀之化合物**19** (93 mg，18%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 3.54 (m, 2H), 2.78 (t, J = 7.7 Hz, 8H), 2.42 (m, 6H), 2.27 (t, J = 7.7 Hz, 4H), 1.70-1.16 (m, 68H), 0.86 (t, J = 7.1 Hz, 12H); MS (CI): m/z $[M+H]^+$ 824；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 11.1 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 11.6 min，純度：97.26%。

合成6-((8-((二辛基胺基)氧基)-8-側氧基辛基)(2-羥基乙基)胺基)己酸十一烷酯(化合物21)



化合物21

合成*O*-(8-溴辛醯基)-*N*,*N*-二辛基羥胺(L11-1)

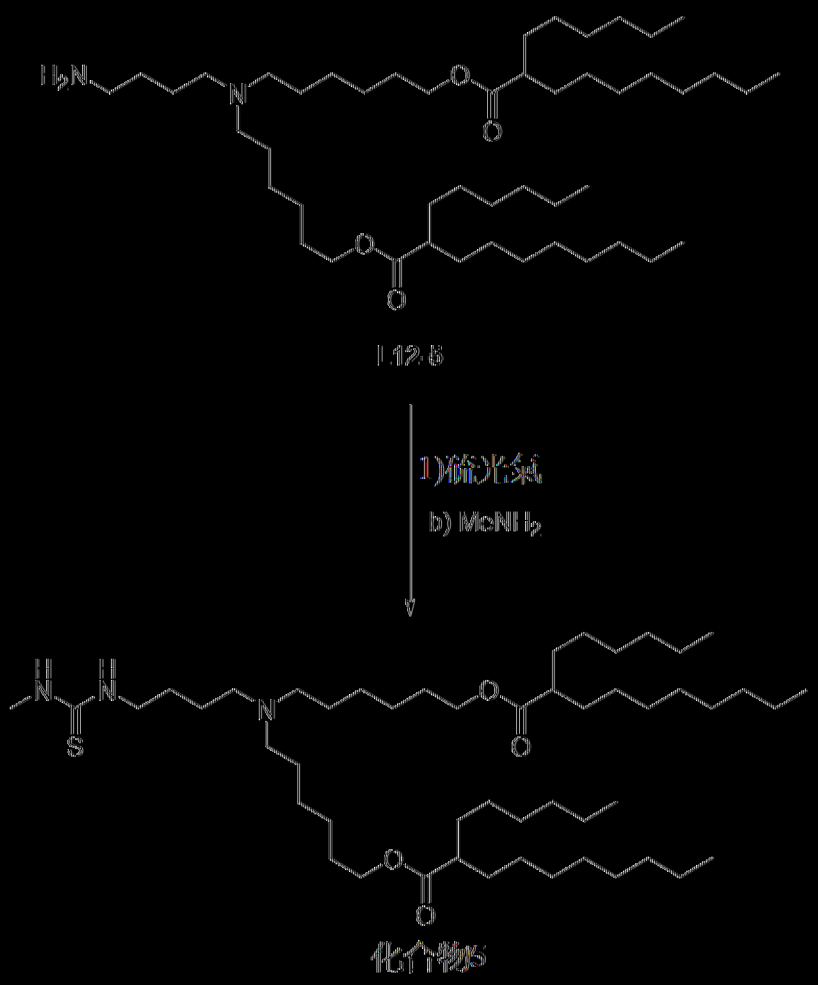
[1251] 向L10-3 (0.5 g，1.9 mmol)於DCM (12 mL)中之溶液中添加7-溴辛酸(0.52 g，2.3 mmol)，隨後添加DIPEA (0.7 mL，3.8 mmol)、DMAP (0.25 g，1.9 mmol)及EDC (0.78 g，3.8 mmol)。在氮氣氛圍下在室溫下攪拌所得混合物22 h。反應混合物用DCM (10 mL)稀釋，且用飽和$NaHCO_3$水溶液(10 mL)、水(10 mL)及鹽水(10 mL)洗滌。有機相經無水Na_2SO_4乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至100%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈無色油狀之L11-1 (0.4 g，38%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 3.39 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.79 (t, *J* = 7.4 Hz, 4H), 2.28 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.90-1.15 (m, 36H), 0.86 (t, *J* = 6.9 Hz, 6H).

CIMS m/z $[M+H]^+$ 462/464。

合成6-((8-((二辛基胺基)氧基)-8-側氧基辛基)(2-羥基乙基)胺基)己酸十一烷酯(化合物21)

【1252】 在85℃下加熱**L11-1** (460 mg，0.86 mmol)、**L6-4** (234 mg，0.72 mmol)於含有碳酸鉀(300 mg，2.2 mmol)及碘化鉀(143 mg，0.86 mmol)之環戊基甲基醚(5 mL)及乙腈(5 mL)中之溶液48小時。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾，用乙酸乙酯洗滌，且接著在真空下移除溶劑，得到粗產物，其藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-100% + 1%三乙胺於溶離劑中)純化，得到呈略微黃色油狀之化合物**21** (132 mg，26%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.05 (t, J =6.6 Hz, 2H), 3.53 (m, 2H), 2.79 (t, J = 7.1 Hz, 4H), 2.40 (m, 6H), 2.58 (s, bs, 2H), 2.45 (s, bs, 4H), 2.29 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.27 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 1.70-1.15 (m, 68H), 0.87 (t, J = 6.8 Hz, 3H), 0.86 (t, J = 6.9 Hz, 6H); MS (CI): *m/z* $[M+H]^+$ 711.6；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 10.3 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min, A in B 60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 10.2 min，純度：97.65%。

合成雙(2-己基癸酸)((4-(3-甲基硫基脲基)丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯) (化合物5)

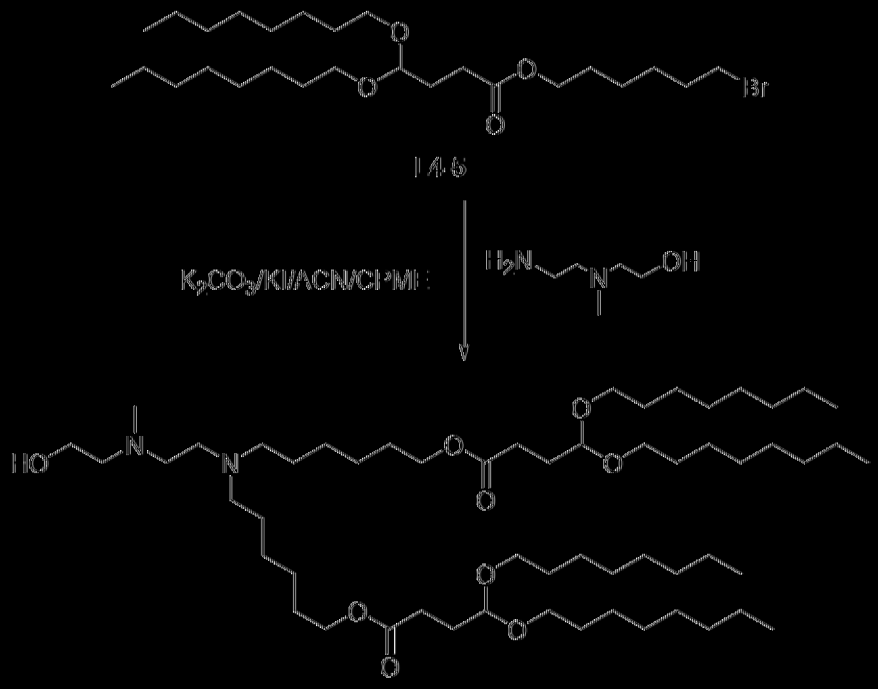


合成雙(2-己基癸酸)((4-(3-甲基硫基脲基)丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基)酯) (化合物5)

[1253] 在氮氣氛圍下，在0℃下，向L12-5 (300 mg，0.392 mmol)於乙醚(30 mL)中之溶液中添加硫光氣(136 mg，1.176 mmol)。接著使反應混合物升溫至室溫，且攪拌3 h。減壓移除揮發性組分，且向殘餘物中添加含2.0 M甲胺之甲醇(1.96 mL，3.92 mmol)。在室溫下攪拌所得混合物16 h。真空移除溶劑，且粗物質藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至10% MeOH/DCM + 1% NH_4OH)純化，得到呈黏性膠狀之化合物5 (158 mg，48%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ. 4.05 (t, 4H), 3.65 (b, 2H), 3.04 (d, 3H), 2.90 (b, 4H), 2.34-2.24 (m, 2H), 1.98-1.48 (m, 20H), 1.48-1.15 (m, 52H), 0.87 (t, 12H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 838.8。分析型HPLC管

柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：11.27 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：13.83 min，純度：92.71%。

合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((2-((2-羥基乙基)(甲基)胺基)乙基)氮二基)雙(十一烷-6,1-二基酯)(化合物61)



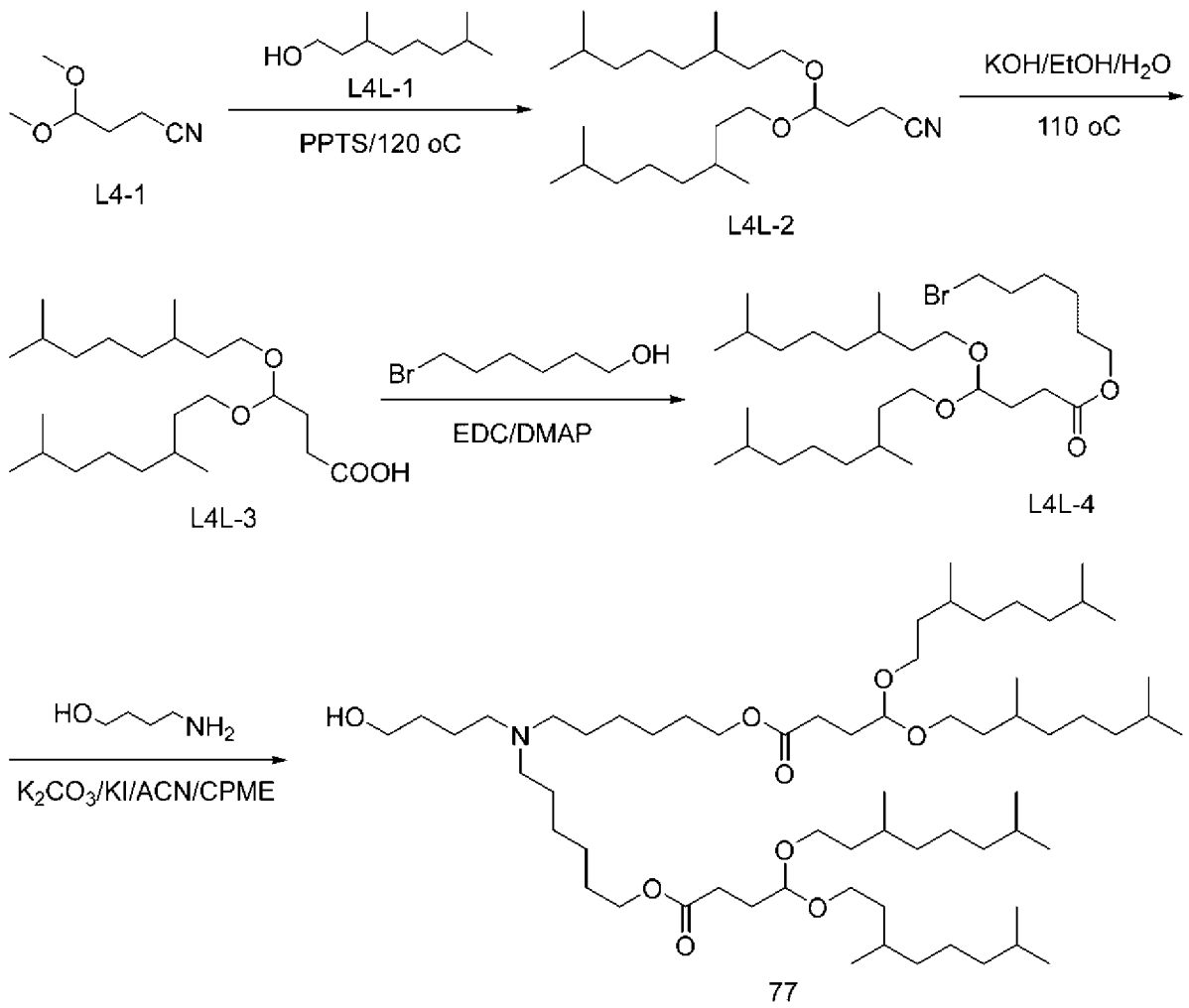
化合物61

合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((2-((2-羥基乙基)(甲基)胺基)乙基)氮二基)雙(十一烷-6,1-二基酯)(化合物61)

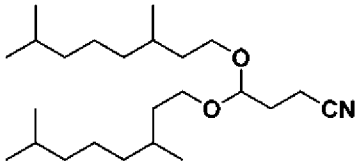
[1254] 向在氮氣下之4,4-雙(辛氧基)丁酸6-溴己酯I-46-5 (2.13 g，4.2 mmol)於乙腈(10 mL)及環戊基甲基醚(10 mL)中之溶液中添加2-((2-胺基乙基)(甲基)胺基)乙-1-醇(224 mg，1.9 mmol)、K_2CO_3 (1.57 g，11.4

mmol)及KI (315 mg，1.9 mmol)。在80℃下加熱反應混合物過夜。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾，且濾餅用乙酸乙酯洗滌。濃縮經合併之濾液，得到粗產物，其藉由急驟層析(SiO_2：0至5% MeOH/DCM梯度)純化，得到呈無色油狀之化合物**61** (652 mg，35%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.48 (t, J = 5.7, 2H), 4.04 (t, J = 6.5, 4H), 3.56 (m, 6H), 3.38 (m, 4H), 2.6-2.8 (m, 6H), 2.37 (m, 7H), 1.9 (m, 4H), 1.52-1.6 (m, 16H), 1.26-1.35 (m, 52H), 0.87 (m, 12H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 971.8；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 8.45 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Thermo Scientific Hypersil GOLD C4，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 11.19 min，純度：98.46 %。

化合物77之合成流程



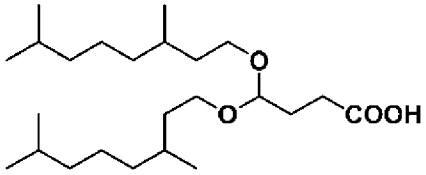
合成4,4-雙(3,7-二甲基辛基)氧基)丁腈(L4L-2) [程序A]



【1255】 向100 mL圓底燒瓶中添加4,4-二甲氧基丁腈(3.0 g，23.2 mmol)、乙醇(11.0 g，69.7 mmol)及吡啶鎓對甲苯磺酸鹽(0.29 g，1.2 mmol)。在120℃下攪拌所得混合物4 h且冷卻至室溫。添加EtOAc (50 mL)及H_2O (20 mL)，且分離所得相。水相用EtOAc (50 mL)萃取。經合併之有機萃取物用H_2O (20 mL)洗滌且經無水$MgSO_4$乾燥。過濾且濃縮提供粗材料，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至10%乙酸乙酯/己烷梯度)純化，得到呈無色油狀之**L4L-2** (6.6 g，74%)；^{1}HNMR ($CDCl_3$) δ 4.50-4.53 (t,

1H), 3.58-3.60 (m, 2H), 3.41 - 3.49 (m, 2H), 2.39 - 2.44 (t, 2H), 1.92-1.94 (q, 2H), 1.50-1.55 (m, 6H), 1.38-1.42 (m, 2H), 1.11 - 1.14 (m, 14H) 0.88-0.84 (t, 18H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 381。

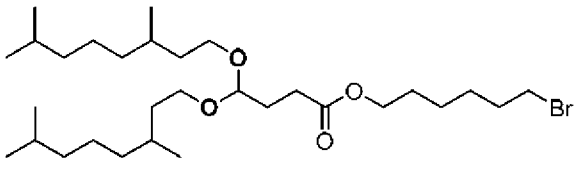
合成4,4-雙((3,7-二甲基辛基)氧基)丁酸(L4L-3) [程序B]



L4L-3

【1256】 向含有**L4L-2** (8.2 g，21 mmol)於乙醇(50 mL)中之溶液之100 mL圓底燒瓶中添加KOH (3.6 g，64 mmol)於水(50 mL)中之溶液。在120℃下攪拌混合物20 h。移除揮發物，且將反應物pH調整至5。添加EtOAc (150 mL)及H_2O (60 mL)，且分離所得相。水相用EtOAc (50 mL)萃取。經合併之有機萃取物用H_2O (60 mL×2)洗滌且經無水$MgSO_4$乾燥。過濾且濃縮提供**L4L-3** (6.4 g，74%)，其未經進一步純化即用於下一步驟。^{1}HNMR ($CDCl_3$) δ 4.54 (t, 1H), 3.60-3.65 (m, 2H), 3.45- 3.49 (m, 2H), 2.39 - 2.44 (t, 2H), 1.92 - 1.94 (m, 2H), 1.50 - 1.95 (m, 6H), 1.26 - 1.55 (m, 8H), 1.11 - 1.14 (m, 6H). 0.84 - 0.88 (d, 18H); CIMS m/z $[M-H]^-$ 399。

合成4,4-雙((3,7-二甲基辛基)氧基)丁酸6-溴己酯(L4L-4) [程序C]

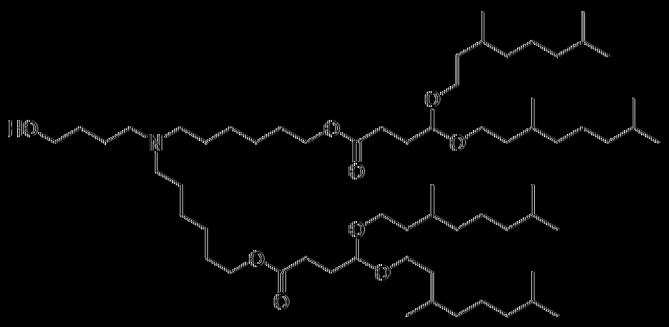


L4L-4

【1257】 向在氮氣下之含有酸**L4L-3** (1.5 g，3.8 mmol)於二氯甲烷(10 mL)中之溶液之烘箱乾燥的100 mL圓底燒瓶中添加EDC (1.44 g，7.6 mmol)、DMAP (92 mg，0.76 mmol)。在室溫下攪拌混合物15 min。接著

添加乙醇(0.61 g，3.38 mmol)，且在室溫下攪拌反應混合物20 h。反應混合物用二氯甲烷及水稀釋，且分離所得相。水相用EtOAc (50 mL)再次萃取。經合併之有機萃取物用H_2O (60 mL×2)洗滌且經無水$MgSO_4$乾燥。過濾且濃縮提供粗產物，其藉由急驟管柱層析(SiO_2：0至10%乙酸乙酯/庚烷梯度)純化，得到呈無色油狀之L4L-4 (1.1 g，58%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.49 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.05 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.70-3.33 (m, 6H), 2.36 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.99-1.77 (m, 2H), 1.70-1.00 (m, 28H), 0.87 (t, *J* = 6.6 Hz, 18H)。

合成雙(4,4-雙((3,7-二甲基辛基)氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯) (77) [程序D]

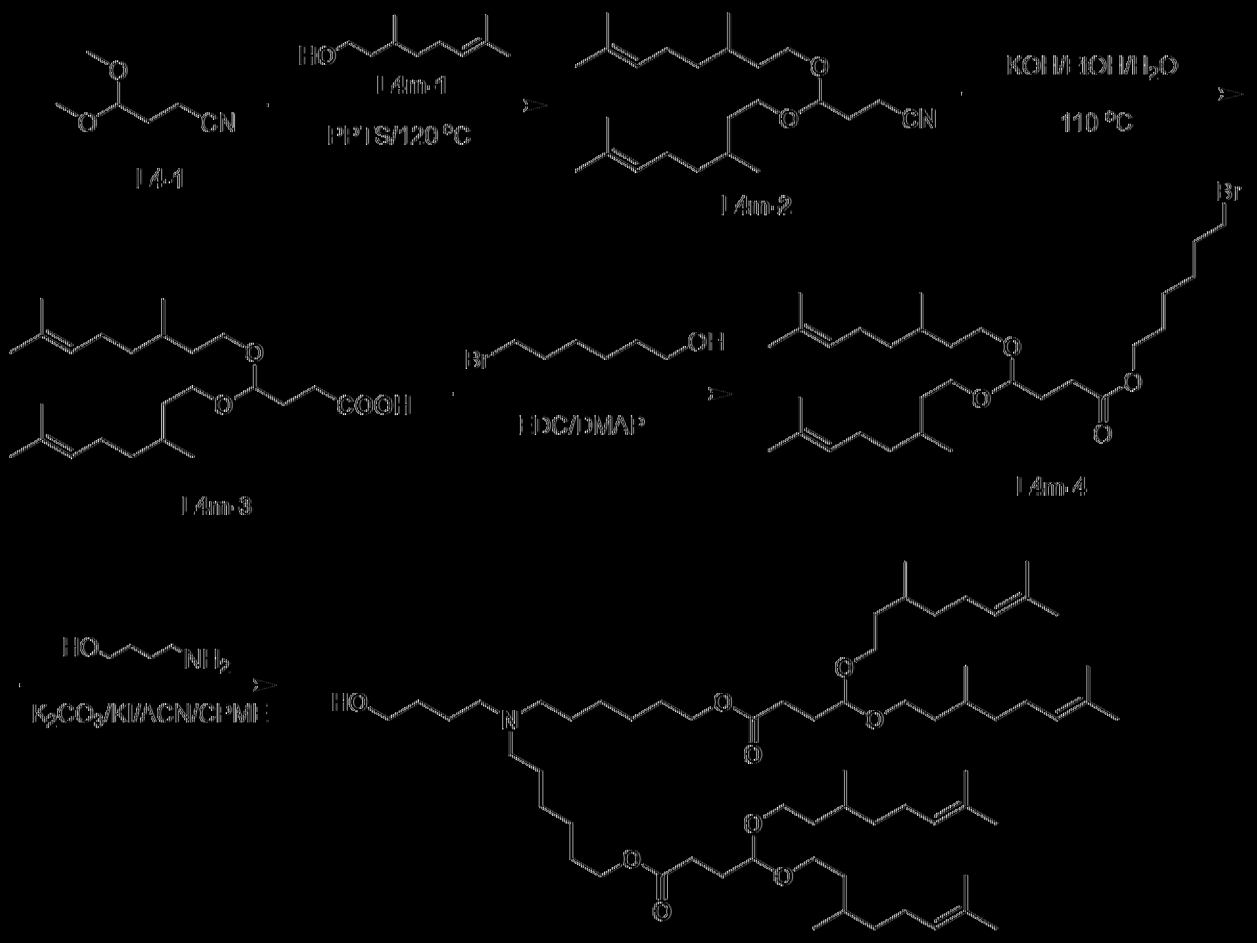


化合物77

[1258] 向在氮氣下之化合物L4L-4 (1.1 g，1.9 mmol)於CH_3CN/CPME (1:1，10 mL)中之溶液中添加4-胺基-1-丁醇(79 mg，0.88 mmol)，隨後添加K_2CO_3 (0.37 g，2.6 mmol)及KI (0.15 g，0.88 mmol)。在80-90℃下加熱反應混合物18 h。冷卻至室溫後，反應混合物經由矽藻土過濾，用乙酸乙酯洗滌，且真空移除溶劑，得到粗產物，其藉由急驟層析(SiO_2：DCM/MeOH 0-10%)純化，得到呈略微黃色油狀之最終化合物77 (619 mg，68%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.48 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 4.04 (t, *J* = 6.8 Hz, 4H), 3.70-3.35 (m, 10H), 2.51-2.32 (m, 10H), 1.96-1.87 (m, 4H), 1.72-1.03 (m, 60H), 0.91-0.83 (m, 36H); MS (CI): *m/z*

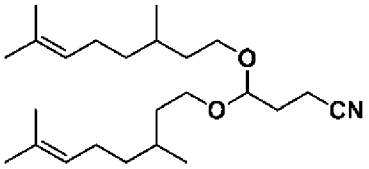
[M+H]+ 1054.9；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：ELSD，t_R：8.8 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，60%至100%，15 min，流速：0.5mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：CAD，t_R：15.4 min，純度：> 99%。

化合物78之合成流程



化合物78

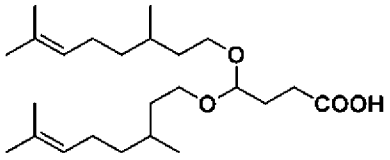
合成4,4-雙((3,7-二甲基辛-6-烯-1-基)氧基)丁腈(I-4m-2)



L4m-2

【1259】 按照化合物**77**合成中描述之程序A製備。分離出呈無色油狀之化合物**L4m-2** (6.2 g，73%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 5.08 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 4.54 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H), 3.72-3.36 (m, 4H), 2.41 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.10-1.84 (m, 6H), 1.80-1.05 (m, 22H), 0.89 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H)。

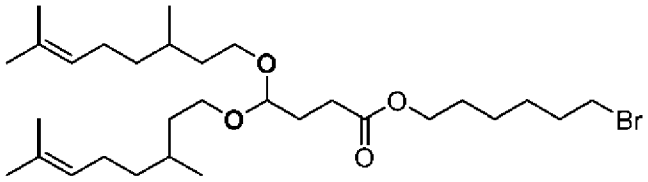
合成4,4-雙((3,7-二甲基辛-6-烯-1-基)氧基)丁酸(L4m-3)



L4m-3

【1260】 按照化合物**77**合成中描述之程序B製備。分離出呈無色油狀之化合物**L4m-3** (6.2 g，73%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ：5.08 (t, *J* = 6.84 Hz, 2H), 4.5 (t, *J* = 5.22 Hz, 1H), 3.59 (m, 2H), 3.44 (m, 2H), 2.44 (t, *J* = 7.44 Hz, 2H), 1.94 (m, 6H), 1.54-1.67 (m, 16H), 1.35 (m, 4H), 1.13 (m, 2H), 0.87 (d, *J* = 6.33 Hz, 6H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 396.2。

合成4,4-雙((3,7-二甲基辛-6-烯-1-基)氧基)丁酸6-溴己酯(L4m-4)

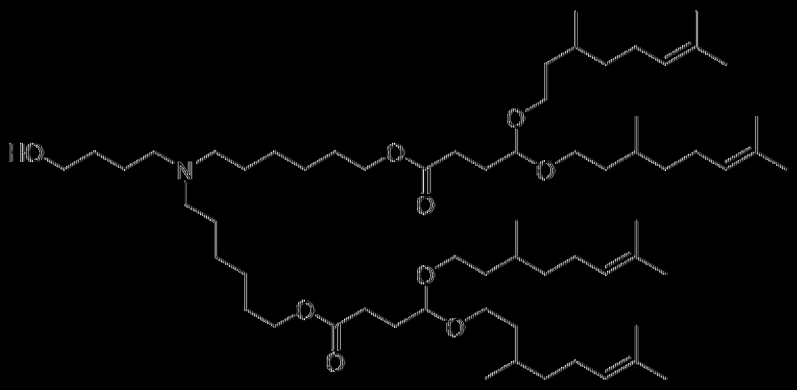


L4m-4

【1261】 按照化合物**77**合成中描述之程序C製備。分離出呈無色油狀之化合物**L4m-4** (880 mg，88%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ：5.08 (t, *J* = 7.14 Hz, 2H), 4.48 (t, *J* = 5.49 Hz, 1H), 4.06 (t, *J* = 6.57 Hz, 2H),

3.57 (m, 2H), 3.43 (m, 2H), 3.4 (t, *J* = 6.87 Hz, 2H), 2.37 (t, *J* = 7.41 Hz, 2H) 1.93 (m, 8H), 1.55-1.67 (m, 16H), 1.36 (m, 10H), 1.15 (m, 2H), 0.87 (d, *J* = 6.33 Hz, 6H)。

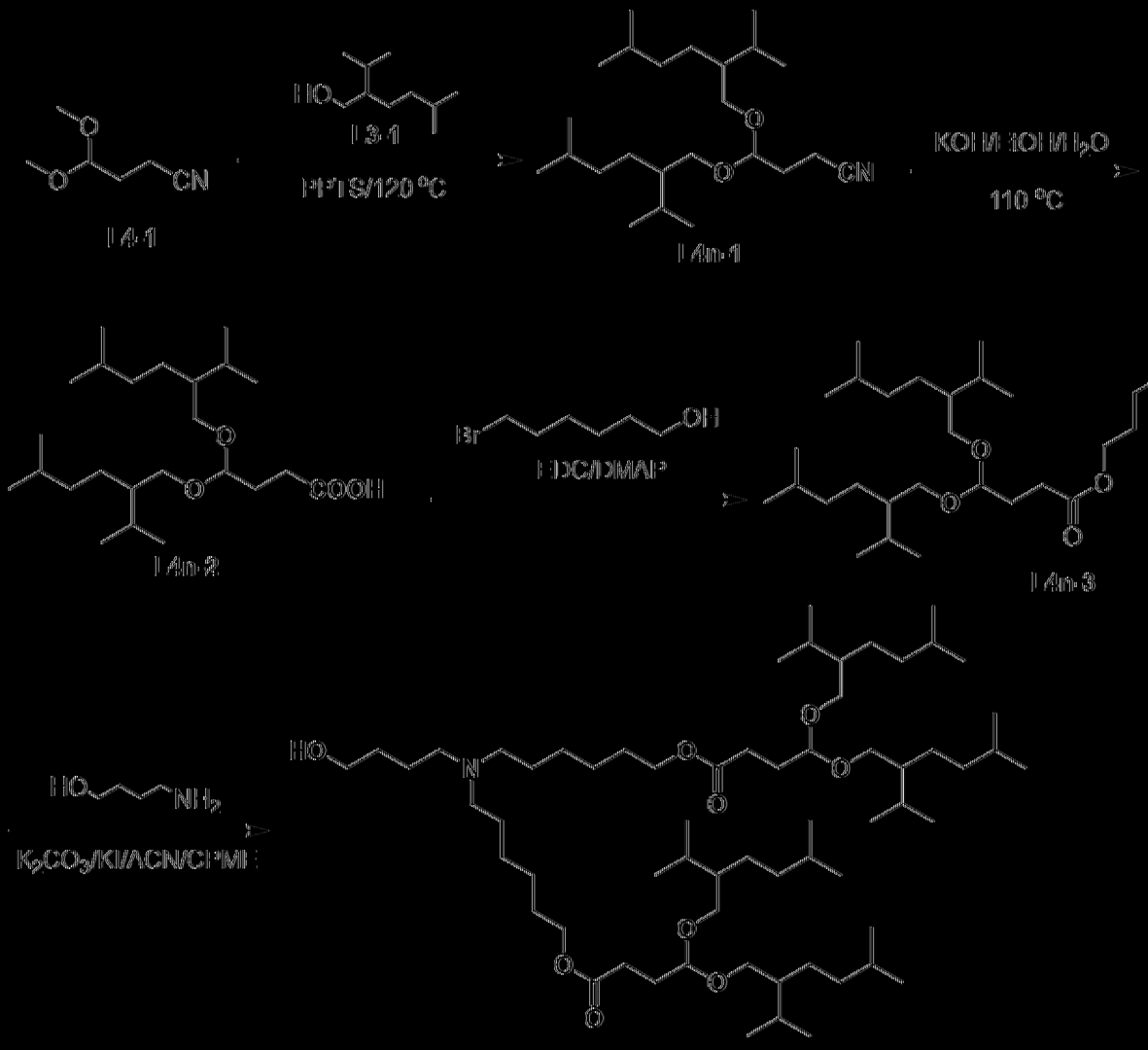
合成雙(4,4-雙((3,7-二甲基辛-6-烯-1-基)氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(十烷-6,1-二基酯) (78)



化合物78

[1262] 按照化合物77合成中描述之程序D製備。分離出呈無色油狀之化合物78 (415 mg，53%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 5.08 (t, *J* = 7.14 Hz, 4H), 4.46 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 4.04 (t, *J* = 6.5 Hz, 4H), 3.54-3.6 (m, 4H), 3.41-3.44 (m, 4H), 2.37 (m, 6H), 1.95 (m, 12H), 1.56-1.67 (m, 50H), 1.35 (m, 16H), 1.16 (m, 4H), 0.87 (m, 12H); CIMS m/z [M+H]$^+$ 1046.6。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：ELSD，t_R = 8.4 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：CAD，t_R = 14.1 min，純度：96.7 %。

化合物79之合成流程



化合物79

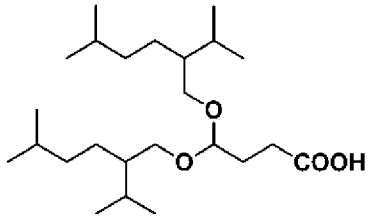
合成4,4-雙((2-異丙基-5-甲基環己氧基)羰基)丁腈(I-4n-1)



【1263】按照化合物77合成中描述之程序A製備，分離出呈淡黃色油狀物之產出為3.66 g (92%)的化合物(I-4n-1)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.48 (dd, 1H), 3.62-3.49 (m, 2H), 3.42-3.31 (m, 2H), 2.42 (t, 2H), 1.97-1.78 (m, 2H), 1.58-1.42 (m, 2H), 1.41-1.08 (m, 10H), 0.87 (m,

24H)。

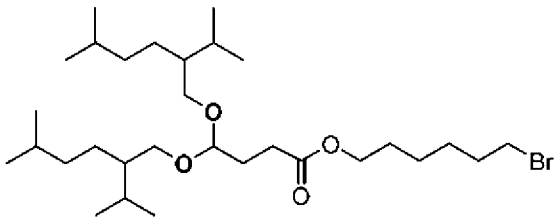
合成4,4-雙((2-異丙基-5-甲基己基)氧基)丁酸(L4n-2)



L4n-2

【1264】按照化合物**77**合成中描述之程序B製備。分離出呈淡黃色油狀物之產量為3.7 g (98%)的化合物(**L4n-2**)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.48 (dd, 1H), 3.62-3.49 (m, 2H), 3.42-3.31 (m, 4H), 2.38 (t, 2H), 1.94 (q, 2H), 1.83-1.67 (m, 2H), 1.54-1.39 (m, 2H), 1.38-1.01 (m, 10H), 0.87 (m, 24H)。

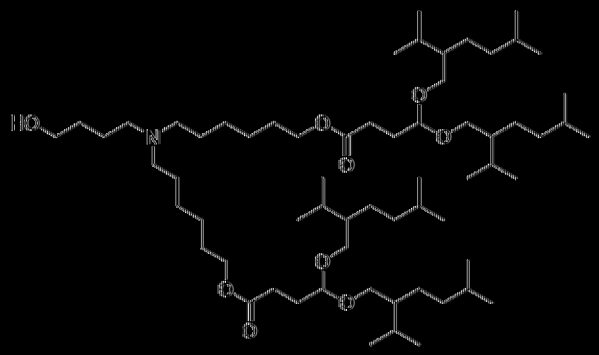
合成4,4-雙((2-異丙基-5-甲基己基)氧基)丁酸6-溴己酯(L4n-3)



L4n-3

【1265】按照化合物**77**合成中描述之程序C製備。分離出呈淡黃色油狀物之產量為1.8 g (85%)的化合物(**L4n-3**)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.44 (dd, 1H), 4.06 (t, 2H), 3.55-3.43 (m, 2H), 3.40 (t, 2H), 3.31-3.18 (m, 2H), 2.38 (t, 2H), 1.94-1.71 (m, 6H), 1.68-1.54 (m, 2H), 1.54-1.01 (m, 16H), 0.87 (m, 24H)。

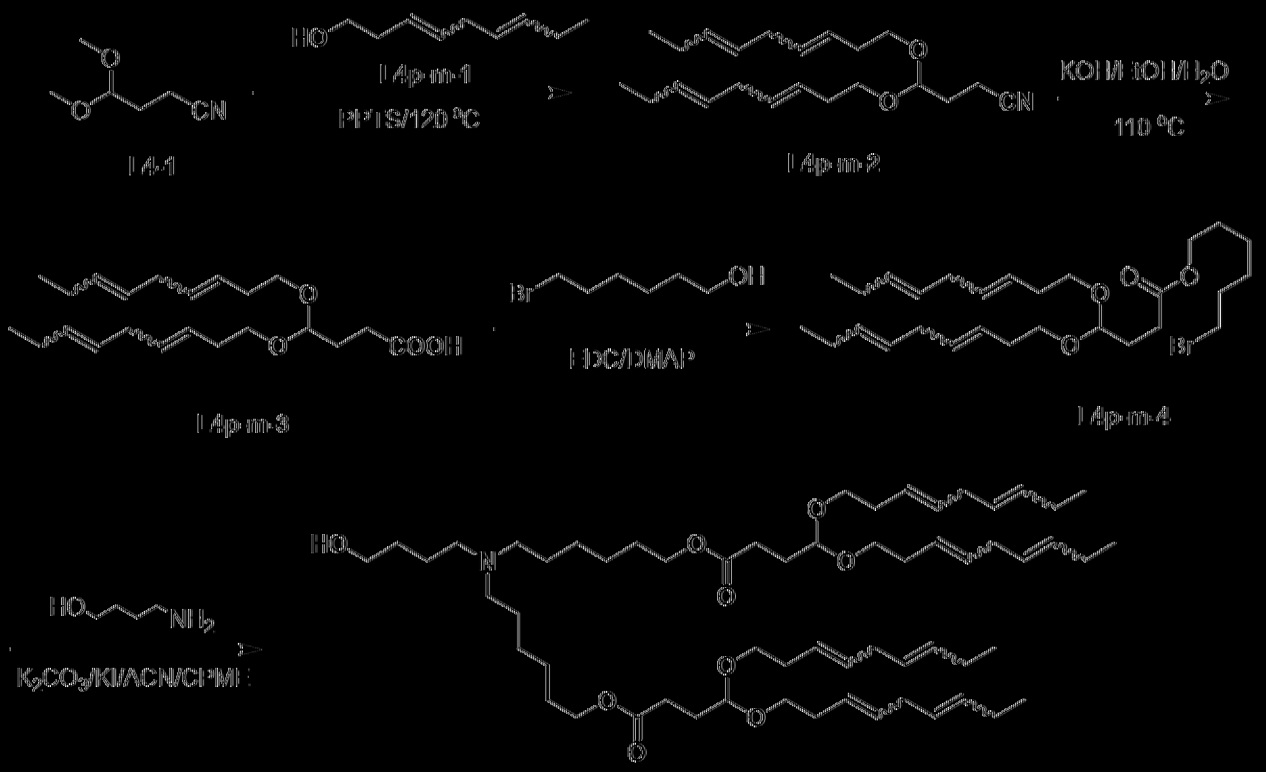
合成雙(4,4-雙((2-異丙基-5-甲基己基)氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯) (79)



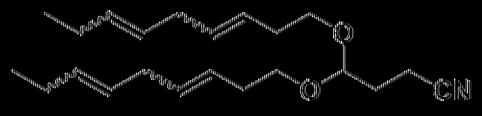
化合物79

[1266] 按照化合物77合成中描述之程序D製備。分離出呈淺黃色油狀之產量為1.21 g (81%)的化合物79。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.43 (dd, 2H), 4.05 (t, 4H), 3.66-3.56 (m, 2H), 3.55-3.44 (m, 4H), 3.35-3.23 (m, 4H), 2.90-2.46 (bs, 6H), 2.37 (t, 4H), 1.92 (q, 4H), 1.86-1.72 (m, 6H), 1.70-1.53 (m, 12H), 1.54-1.43 (m, 6H), 1.42-1.24 (m, 16H), 1.24-1.04 (m, 14H), 0.87 (m, 48H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 1055.1。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，70%至100%，5 min；接著100%，10 min。流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：ELSD，t_R：6.61 min，純度：>99.9%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，70%至100%，5 min；接著100%，15 min。流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：CAD，t_R：7.67 min，純度：98.2%。

化合物84之合成流程



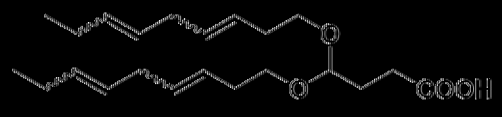
合成4,4-雙(庚-3,6-二烯-1-基氧基)丁腈L4p-m-2：



L4p-m-2

[1267] 按照化合物77合成中描述之程序A製備，分離出呈無色油狀之L4p-m-2 (1.45 g，54%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 5.47-5.33 (m, 8H), 4.56 (t, 1H), 3.63-3.42 (m, 4H), 2.73 (t, 4H), 2.40 (t, 2H), 2.28-2.24 (m, 4H), 2.06-1.90 (m, 6H), 0.95 (t, 6H)。

合成4,4-雙(庚-3,6-二烯-1-基氧基)丁酸L4p-m-3：

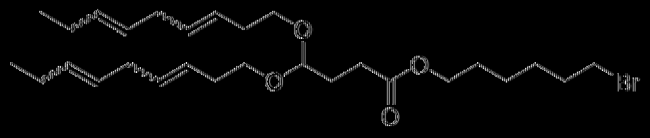


L4p-m-3

[1268] 按照化合物77合成中描述之程序B製備。化合物L4p-m-3 (1.35 g，88%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 5.46-5.28 (m, 8H), 4.53 (t, 1H), 3.61-3.41 (m, 4H), 2.73 (t, 4H), 2.44 (t, 2H), 2.29-2.23 (m, 4H),

2.06–1.90 (m, 6H), 0.95 (t, 6H)。

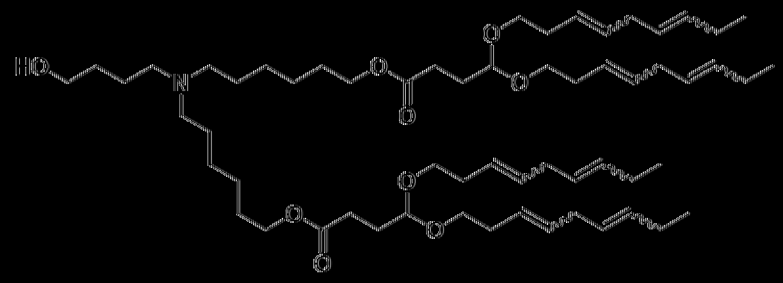
合成4,4-雙(十-3,6-二烯-1-基氧基)丁酸6-溴己酯L4p-m-4：



L4p-m-4

[1269] 按照化合物77合成中描述之程序C製備。分離出呈無色油狀之化合物L4p-m-4 (1.08 g，51%)。

合成雙(4,4-雙(十-3,6-二烯-1-基氧基)丁酸)((4-溴丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯) (化合物84)

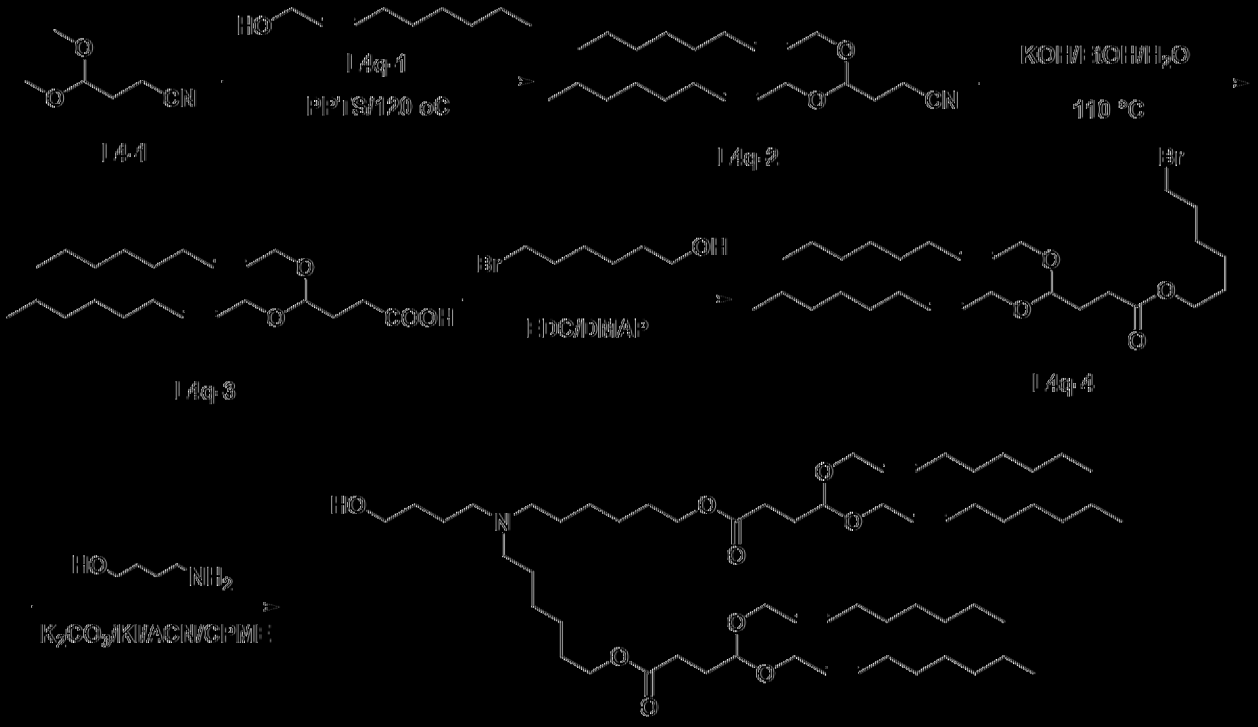


化合物 84

[1270] 按照化合物77合成中描述之程序D製備。分離出呈無色油狀之化合物84 (0.610 g，61%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 5.51–5.29 (m, 16H), 4.51 (t, 2H), 4.04 (t, 4H), 3.62–3.37 (m, 10H), 2.73 (t, 8H), 2.55 (bs, 5H), 2.36 (t, 4H), 2.25 (q, 8H), 2.08–1.88 (m, 12H), 1.74–1.18 (m, 28H), 0.95 (t, 12H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 982.7；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：7.44 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%

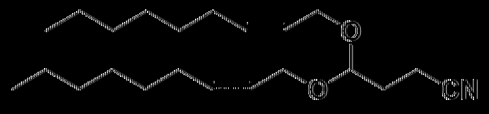
含95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：11.39 min，純度：98.3%。

化合物81之合成流程



化合物 81

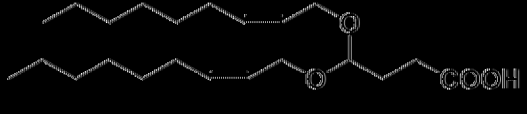
合成4,4-雙(((Z)-十三-2-烯-1-基)氧基)丁腈(L4q-2)



L4q-2

[12/1] 按照化合物77合成中描述之程序A製備，呈淡棕色油狀之化合物L4q-2 (2.0 g，74%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 5.58-5.47 (m, 4H), 4.65 (t, 1H), 4.19-4.06 (m, 4H), 2.43 (t, 2H), 2.07-1.92 (m, 6H), 1.37-1.18 (m, 16H), 0.88 (t, 6H)。

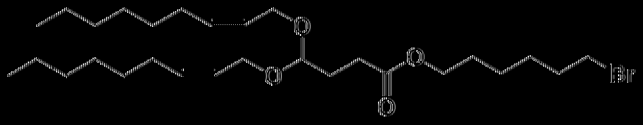
合成4,4-雙(((Z)-十三-2-烯-1-基)氧基)丁酸(L4q-3)



L4q-3

[1272] 按照化合物77合成中描述之程序B製備，分離出呈淺棕色油狀之化合物L4q-3 (1.93 g，92%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 5.60-5.47 (m, 4H), 4.62 (t, 1H), 4.18-4.04 (m, 4H), 2.48-2.43 (t, 2H), 2.08-1.93 (m, 6H), 1.40-1.18 (m, 16H), 0.87 (t, 6H)。

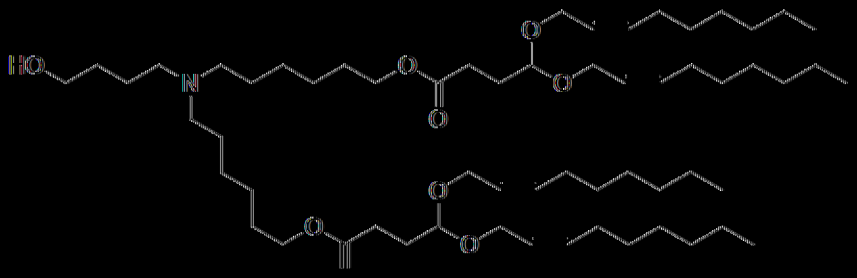
合成4,4-雙(((Z)-十-2-烯-1-基)氧基)丁酸6-溴己酯(L4q-4)



L4q-4

[1273] 按照化合物77合成中描述之程序C製備，分離出呈淺棕色油狀之化合物L4q-4 (1.08 g，37%)；^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 5.58-5.46 (m, 4H), 4.59 (t, 1H), 4.13-4.02 (m, 6H), 3.40 (t, 2H), 2.39 (t, 2H), 2.08-1.81 (m, 8H), 1.68-1.58 (m, 2H), 1.50-1.18 (m, 20H), 0.87 (t, 6H)。

合成雙(4,4-雙(((Z)-十-2-烯-1-基)氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯) (81)

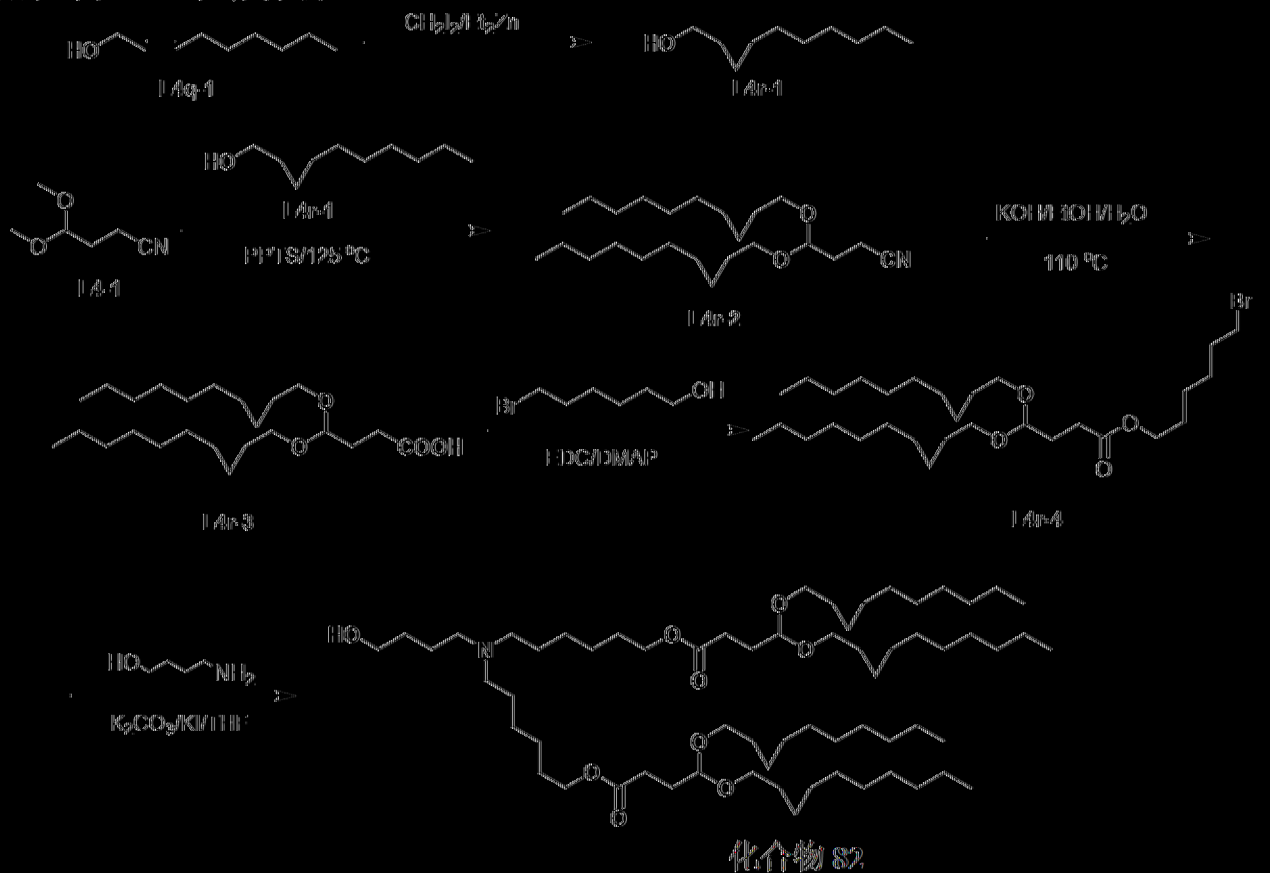


化合物 81

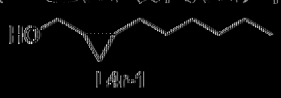
[1274] 按照化合物77合成中描述之程序D製備，分離出呈淺棕色油狀之化合物81 (0.62 g，62%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 5.58-5.44 (m, 8H), 4.59 (t, 2H), 4.15-4.0 (m, 13H), 3.60 (bs, 2H), 2.70-2.48 (m, 4H), 2.39 (t, 4H), 2.08-1.92 (m, 12H), 1.78-1.44 (m, 14H), 1.42-1.18 (m, 43H), 0.87 (t, 12H); CIMS m/z [M+H]$^+$ 990.7；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，

移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：11.19 min，純度：>99 %；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：13.94 min，純度：94.66 %。

化合物82之合成流程：



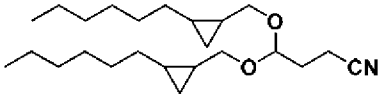
合成(2-(十五烷基)乙醇)中間體(I-Ar-1)：



[1275] 向配備有100 mL滴液漏斗之烘箱乾燥的500 mL三頸圓底燒瓶中添加二乙基鋅之溶液(1M於己烷中，50 mL)以及無水二氯甲烷(50

mL)，且在氮氣氛圍下在-40℃下攪拌內含物30 min。將溶解於無水二氯甲烷(30 mL)中之二碘甲烷(8.05 mL，100 mmol)逐滴添加至反應物中。在相同溫度下攪拌所得混合物60 min。向此混合物中逐滴添加三氯乙酸(817.5 mg，5 mmol)於無水二氯甲烷(20 mL)及無水二甲氧基乙烷(3 mL)中之溶液，且在-40℃下攪拌反應混合物1 h，接著在1 h內升溫至-15℃。將**L4q-1**於無水二氯甲烷(30 mL)中之溶液逐滴添加至反應物中，且在-15℃下攪拌內含物1 h，接著升溫至室溫且攪拌過夜。在反應完成之後，將內含物添加至含有飽和NH_4Cl (300 mL)之2000 mL錐形瓶中，且攪拌15 min。粗產物用二氯甲烷(100 mL×3)萃取。經合併之有機相用鹽水洗滌且經無水硫酸鎂乾燥。真空移除溶劑，得到粗產物(4.0 g)。此粗產物未經進一步純化即進行下一步驟反應。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 3.68-3.54 (m, 2H), 1.58-1.20 (m, 15H), 1.18-0.85 (m, 4H), 0.85-0.68 (m, 1H), 0.0- -0.04 (m, 1H); CIMS m/z [M+H] $^+$157.32。

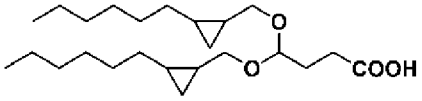
合成4,4-雙((2-己基環丙基)甲氧基)丁腈(化合物L4r-2)：



L4r-2

【1276】 按照化合物**77**合成中描述之程序A製備。化合物**L4r-2** (2.55 g，87%)；^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ 4.76-4.63 (m, 1H), 3.76-3.54 (m, 1H),3.53-3.51 (m, 2H), 3.51 (t, J =6.0 Hz, 1H), 2.45(t, J =6.0 Hz, 2H), 2.00 (t, J =6.0 Hz, 2H), 1.50-0.92 (m, 22H), 0.89-0.85 (m, 8H), 0.74-0.71 (m, 2H), 0.00- -0.5 (m, 2H); CIMS m/z [M+H] $^+$378.71。

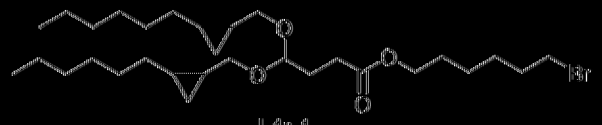
合成4,4-雙((2-己基環丙基)甲氧基)丁酸(L4r-3)：



L4r-3

[12177] 按照化合物77合成中描述之程序B製備。分離出呈無色油狀之化合物L4r-3 (2.0 g，76%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ 4.68-4.57 (m, 1H), 3.68-3.59 (m, 1H), 3.58-3.49 (m, 2H), 3.39 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 2.49 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 1.98 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 1.53-0.85 (m, 30H), 0.72-0.70 (m, 2H), -0.009--0.06 (m, 2H); CIMS m/z [M+H]$^+$ 539.61。

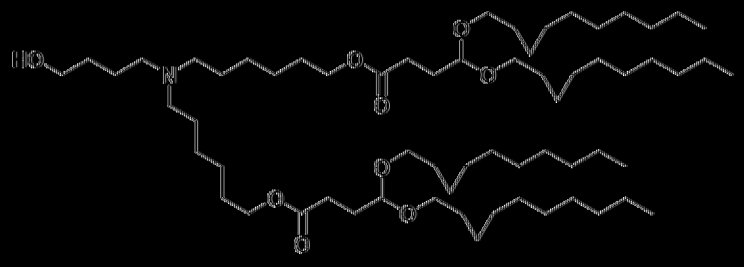
合成4,4-雙((2-乙基環內基)甲氧基)丁酸6-溴己酯(L4r-4)：



L4r-4

[12178] 按照化合物77合成中描述之程序C製備。呈略微黃色油狀之化合物L4r-4 (1.33 g，48%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ 4.68-4.57 (m, 1H), 4.22-4.16(m, 1H), 4.09(t, J = 6.0 Hz, 1H), 3.98-3.91 (m, 1H), 3.51-3.49 (m, 2H), 3.51-3.48 (m, 1H), 2.49 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 1.98 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 1.53-0.85 (m, 30H), 0.90-0.85 (m, 10H), 0.72-0.69 (m, 2H), -0.008--0.073 (m, 2H); CIMS m/z [M+H]$^+$ 560.68。

合成雙(4,4-雙((2-乙基環內基)甲氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯) (82)：

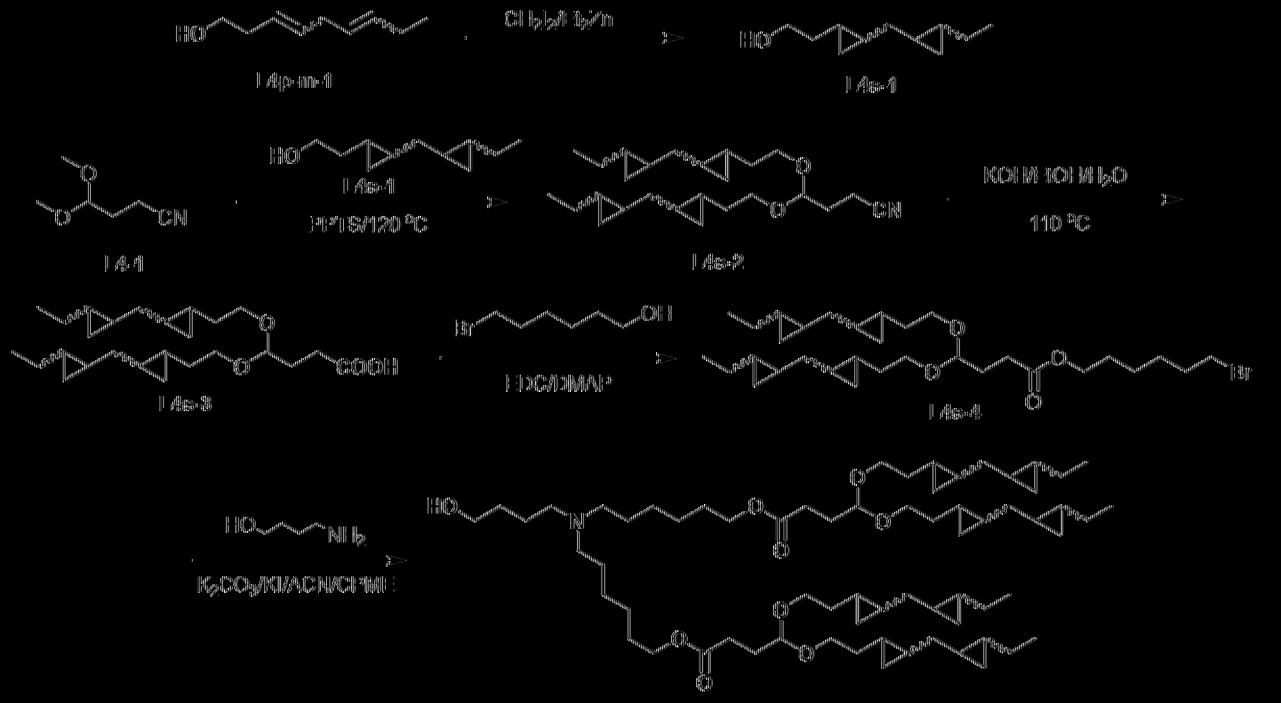


化合物 82

[12179] 按照化合物77合成中描述之程序D製備。化合物82 (810 mg，77%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ 4.78-4.67 (m, 2H), 4.05(t, J = 6.0 Hz, 4H), 3.78-3.35 (m, 10H), 2.51-2.40 (m, 10H), 1.99-1.90 (m, 4H), 1.73-1.05 (m, 66H), 0.99-0.75 (m, 19H), -0.007--0.071 (m, 4H); CIMS

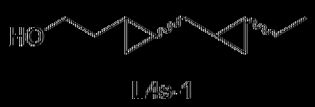
m/z [M+H]+ 1047.77。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1 mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：10.7 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1 mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：14.8 min，純度：> 99%。

化合物129之合成流程：



化合物 129

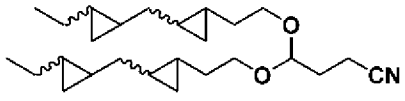
合成2-(2-((2-乙基環丙基)甲氧)環丙基)乙-1-醇(L4s-1)：



[1280] 向配備有50 mL滴液漏斗之烘箱乾燥的三頸250 mL圓底燒瓶中添加二乙基鋅之溶液(0.9M於甲苯中，72 mL)以及無水二氯甲烷(30

mL)，且在氮氣氛圍下在-40℃下攪拌內含物30 min。將溶解於無水二氯甲烷(20 mL)中之二碘甲烷(8.1 mL，98.84 mmol)逐滴添加至反應物中。在-40℃下攪拌所得混合物60 min。向此混合物中逐滴添加三氯乙酸(2.56 g，15.68 mmol)於無水二氯甲烷(20 mL)及無水二甲氧基乙烷(6.7 mL)中之溶液，且在-40℃下攪拌反應混合物1 h，接著在1 h內升溫至-15℃。將**L4p-m-1** (2.2 g，15.68 mmol)於無水二氯甲烷(10 mL)中之溶液逐滴添加至反應物中，且在-15℃下攪拌內含物1 h，接著升溫至室溫且攪拌過夜。在反應完成之後，將內含物添加至含有飽和NH_4Cl (400 mL)之1000 mL錐形瓶中，且攪拌15 min。使用二氯甲烷(200 mL × 3)自此混合物中萃取粗產物。經合併之有機相用鹽水洗滌且經無水硫酸鎂乾燥。真空移除溶劑，得到粗產物。將粗材料吸附於30 g急驟矽膠上且負載至空急驟筒柱上，接著該急驟筒柱與負載有40 g急驟矽膠管柱之急驟純化系統連接，且藉由急驟層析(SiO_2：乙酸乙酯/己烷0-10%)純化，得到化合物**L4s-1** (2.38 g，90%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 3.78 - 3.72 (m, 2H), 3.00 (s, 2H), 1.62-1.14 (m, 6H), 0.99 (t, J =7.0 Hz, 3H), 0.68-0.56 (m, 4H), 0.28-0.25 (m, 2H), -0.25-0.29 (m, 1H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 168.28。

合成4,4-雙(2-(2-((2-乙基環丙基)甲基)環丙基)乙氧基)丁腈(L4s-2)：

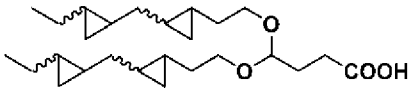


L4s-2

【1281】 按照化合物**77**合成中描述之程序A製備。化合物**L4s-2** (1.88 g，86%)；^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.58 (t, *J* =5.0 Hz, 1H), 3.70-3.66 (m, 2H), 3.53-3.48 (m, 2H), 2.43 (t, *J* =7.0 Hz, 2H), 1.99-1.94 (m, 2H), 1.56-1.18 (m, 14H), 0.96 (t, *J* =7.0 Hz, 6H), 0.62-0.52 (m,

8H), 0.26-0.21 (m, 4H), -0.25-0.29 (m, 2H); CIMS m/z [M+H] $^{+}$ 402.75。

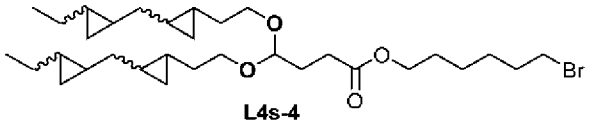
合成4,4-雙(2-(2-((2-乙基環丙基)甲基)環丙基)乙氧基)丁酸(L4s-3)：



L4s-3

【1282】 按照化合物**77**合成中描述之程序B製備。分離出呈無色油狀之化合物**L4s-3** (1.71 g，91%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm ppm 4.56 (t, J =5.0 Hz, 1H), 3.70-3.66 (m, 2H), 3.52-3.48 (m, 2H), 2.47 (t, J =7.0 Hz, 2H), 1.99-1.94 (m, 2H), 1.50-1.17 (m, 14H), 0.96 (t, J =7.0 Hz, 6H), 0.62-0.52 (m, 8H), 0.25-0.20 (m, 4H), -0.28-0.31 (m, 2H); CIMS m/z [M+H]$^{+}$ 421.72。

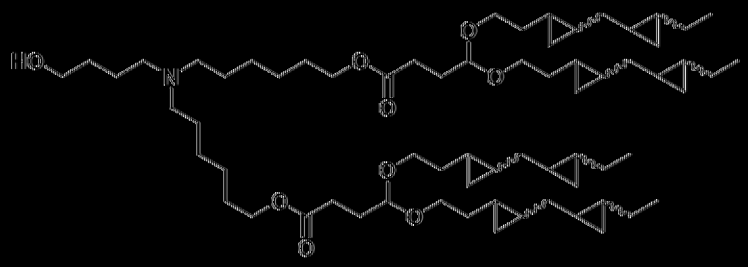
合成4,4-雙(2-(2-((2-乙基環丙基)甲基)環丙基)乙氧基)丁酸6-溴己酯(L4s-4)：



L4s-4

【1283】 按照化合物**77**合成中描述之程序C製備。分離出呈透明油狀之化合物**L4s-4** (1.7 g，67%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.52 (t, J =5.0 Hz, 1H), 4.06 (t, J =7.0 Hz, 2H), 3.70-3.20 (m, 2H), 3.50-3.37 (m, 4H), 2.38 (t, J =7.0 Hz, 2H), 1.99-1.83 (m, 6H), 1.49-1.33 (m, 16H), 0.96 (t, J =7.0 Hz, 6H), 0.62-0.51 (m, 10H), 0.25-0.20 (m, 4H), -0.28-0.31 (m, 2H); CIMS m/z [M+H]$^{+}$ 584.71。

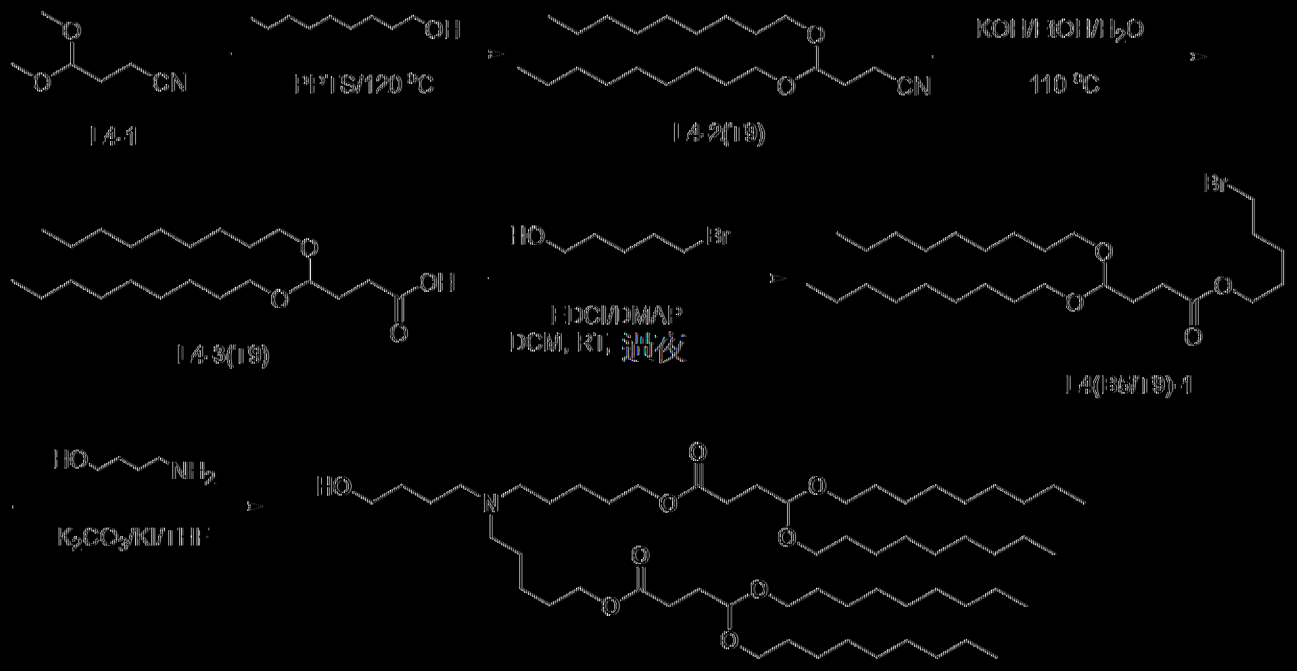
合成雙(4,4-雙(2-(2-((2-乙基環丙基)甲基)環丙基)乙氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯) (129)：



化合物 129

[1284] 按照化合物77合成中描述之程序D製備。化合物129 (895 mg，66%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.5 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 4.06 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 3.78-3.61 (m, 4H), 3.60-3.51 (m, 6H), 2.39 (m, 10H), 1.94 (m, 4H), 1.71-1.02 (m, 46H), 0.96 (t, J = 7.0 Hz, 12H), 0.75-0.51 (m, 20H), 0.24-0.22 (m, 8H), -3.9-0.28 (m, 4H). CIMS m/z [M+H]$^+$ 1095.82。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1 mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：ELSD，t_R : 10.7 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1 mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：CAD，t_R : 14.3 min，純度：> 99%。

化合物66之合成流程



I4-1

I4-2(T9)

I4-3(T9)

I4(BG/T9)-1

化合物66

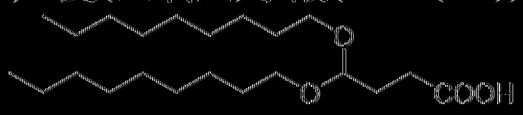
合成4,4-雙(己氧基)丁腈(I4-2(T9))



I4-2(T9)

[1285] 按照化合物77合成中描述之程序A製備。分離出呈淡黃色油狀物之產出為11.5 g (91%)的化合物I4-2 (T9)。^{1}HNMR ($CDCl_3$) δ: 4.54-4.56 (t, 1H), 3.57-3.56 (m, 2H), 3.40-3.43 (m, 2H), 2.39-2.41 (t, 2H), 1.92-1.95 (m, 2H), 1.54-1.56 (m, 2H), 1.26 (bs, 26 H), 0.85-0.87 (t, 6H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 354。

合成4,4-雙(己氧基)丁酸(I4-3(T9))

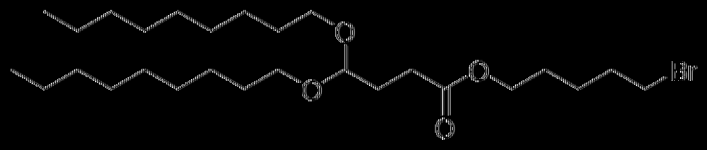


I4-3(T9)

[1286] 按照化合物77合成中描述之程序B製備。分離出呈淺黃色油狀之產出為11.8 g (98%)的化合物I4-3(T9)。^{1}HNMR ($CDCl_3$) δ: 4.53-4.56 (t, 1H), 3.57-3.60 (m, 2H), 3.40-3.43 (m, 2H), 2.39-2.41 (t, 2H),

1.90-1.95 (m, 2H), 1.54-1.56 (M, 4H), 1.26 (bs, 28H), 0.85-0.87 (t, 6H); CIMS m/z [M-H]⁻ 371。

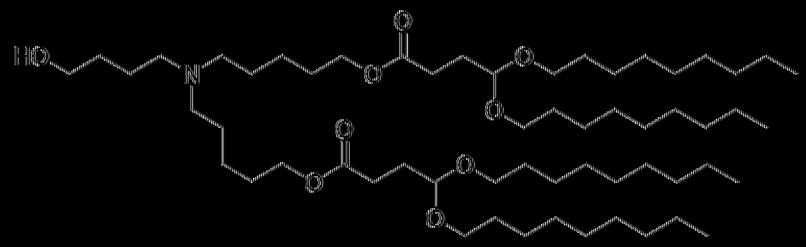
合成4,4-雙(己氧基)丁酸5-溴戊酯(L4(B5/T9)-1)



L4(B5/T9)-1

[1287] 按照化合物77合成中描述之程序C製備。分離出呈無色油狀之化合物L4(B5/T9)-1 (970 mg，69%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 4.48 (t, *J* = 5.52 Hz, 1H), 4.07 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.4 (m, 4H), 2.38 (t, *J* = 7.44 Hz, 2H), 1.83-1.95 (m, 4H), 1.65 (m, 2H), 1.47-1.55 (m, 6H), 1.25 (m, 24H), 0.87 (m, 6H)。

合成雙(4,4-雙(己氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(戊烷-5,1-二基酯) (66)

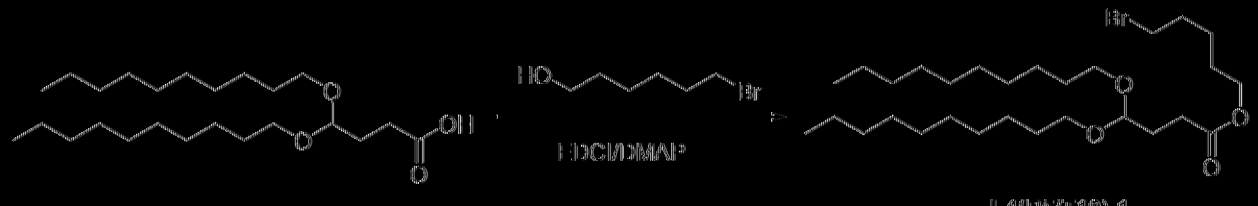


化合物 66

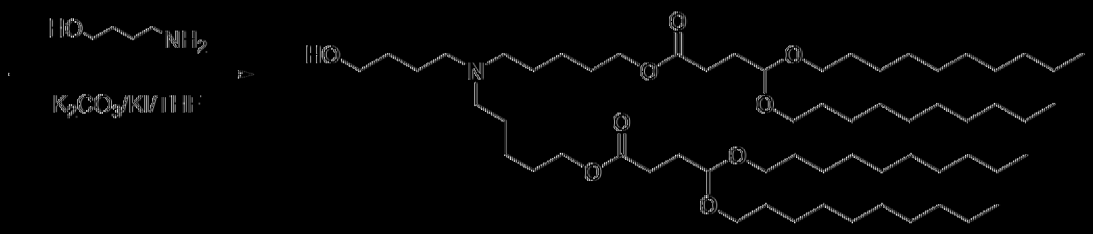
[1288] 按照化合物77合成中描述之程序D製備。分離出呈無色油狀之化合物66 (418 mg，51%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 4.48 (t, *J* = 5.49 Hz, 2H), 4.05 (t, *J* = 6.6 Hz, 4H), 3.56 (m, 6H), 3.38 (m, 4H), 2.52 (brs, 2H), 2.37 (t, *J* = 7.41 Hz, 4H), 1.9 (m, 4H), 1.52-1.66 (m, 20H), 1.25 (m, 56H), 0.87 (m, 12H); CIMS m/z [M+H]⁺ 970.7。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至

95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：9.4 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：15.2 min，純度：98.6 %。

化合物71之合成流程

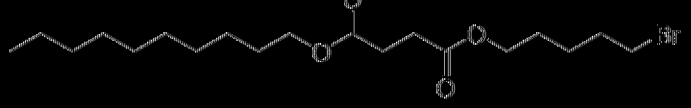


L4(B5/T10)-OH　　L4(B5/T10)-1



化合物 71

合成4,4-雙(癸氧基)丁酸5-溴戊酯L4(B5/T10)-1

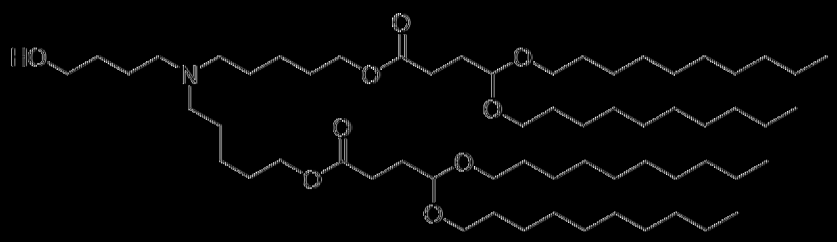


L4(B5/T10)-1

[1289] 按照化合物77合成中描述之程序C製備，分離出呈無色油狀之化合物L4(B5/T10)-1 (1.0 g，70%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 4.48 (t, J = 5.49 Hz, 1H), 4.07 (t, J = 6.57 Hz, 2H), 3.54 (m, 2H), 3.4 (m, 4H), 2.38 (t, J = 7.41 Hz, 2H), 1.85-1.95 (m, 4H), 1.63 (m, 2H), 1.47-1.55 (m, 8H), 1.25 (m, 26H), 0.87 (m, 6H)。

合成雙(4,4-雙(癸氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(戊烷-5,1-二基酯)

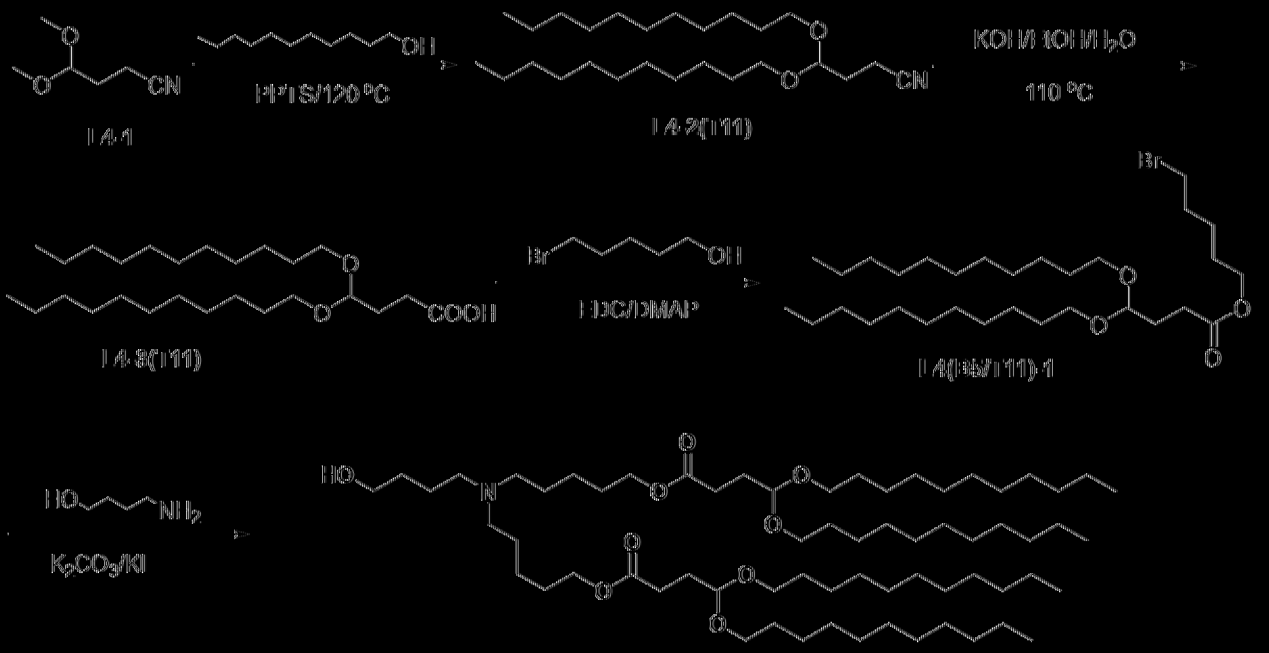
(71)



化合物71

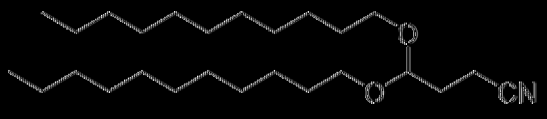
[1290] 按照化合物77合成中描述之程序D製備。分離出呈無色油狀之化合物71 (383 mg，45%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 4.48 (t, *J* = 5.49 Hz, 2H), 4.05 (t, *J* = 6.6 Hz, 4H), 3.56 (m, 6H), 3.4 (m, 4H), 2.6 (br, 2H), 2.37 (t, *J* = 7.9 Hz, 4H), 1.9 (m, 4H), 1.52-1.67 (m, 20H), 1.25 (m, 64H), 0.87 (m, 12H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 1026.8。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：ELSD，t_R = 9.6 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：CAD，t_R = 15.7 min，純度：> 99 %。

化合物74之合成流程



化合物 '4

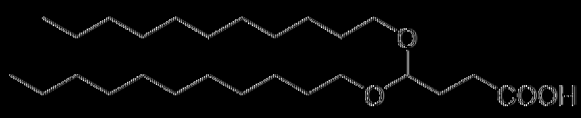
合成4,4-雙(己氧基)丁腈(L4-2(T11))



L4-2(T11)

[1291] 按照化合物'7合成中描述之程序A製備。分離出呈無色油狀之化合物L4-2(T11) (4.5 g，90%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.54 (t, 1H), 3.60-3.55 (m, 2H), 3.45-3.40 (m, 2H), 2.41 (t, 2H), 1.96-1.90 (m, 2H), 1.58-1.53 (m, 4H), 1.39-1.15 (m, 32H), 0.87 (t, 6H); CIMS m/z [M+H]$^+$ 410。

合成4,4-雙(己氧基)丁酸(L4-3(T11))

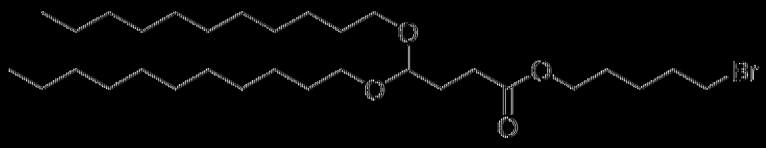


L4-3(T11)

[1292] 按照化合物'7合成中描述之程序B製備。分離出呈白色固體狀之化合物L4-3(T11) (11.8 g，98%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.50 (t, 1H), 3.82-3.52 (m, 2H), 3.41-3.38 (m, 2H), 2.41 (t, 2H), 1.95-1.88

(m, 2H), 1.57–1.50 (m, 4H), 1.39–1.18 (m, 32H), 0.87 (t, 6H); CIMS m/z [M+H]+ 426.7。

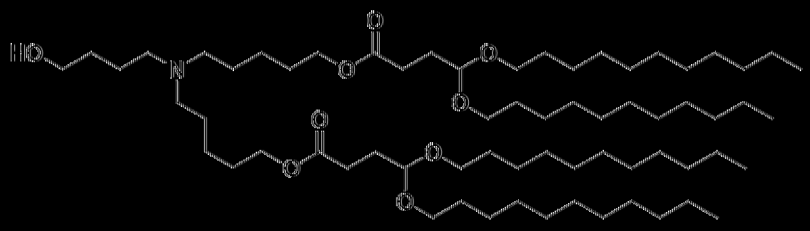
合成(4,4-雙(十一烷氧基)丁酸5-溴戊酯) (L4(B5/T11)-1)



L4(B5/T11)-1

[1293] 按照化合物77合成中描述之程序C製備。分離出呈無色油狀之L4-4(B5/T11)-1 (1.1 g，82%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.48 (t, 1H), 4.05 (t, 2H), 3.54–3.37 (m, 6H), 2.37 (t, 2H), 1.92–1.86 (m, 3H), 1.59–1.36 (m, 8H), 1.35–1.15 (m, 33H), 0.87 (t, 6H); CIMS m/z [M+H]+ 578.6。

合成雙(4,4-雙(十一烷氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮烷二基)雙(戊烷-5,1-二基酯)) (74)

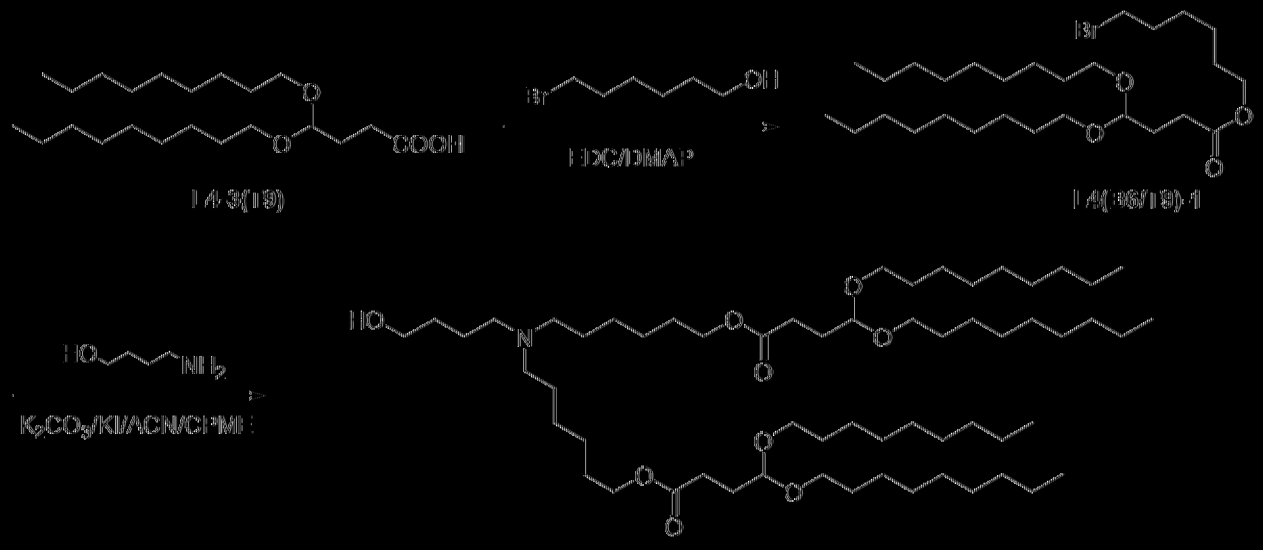


化合物74

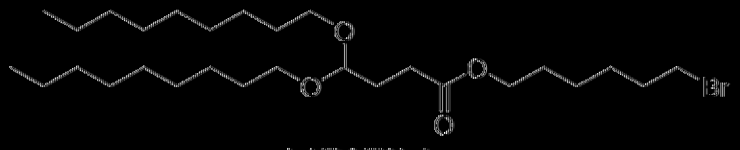
[1294] 按照化合物77合成中描述之程序D製備。分離出呈無色油狀之化合物74 (0.35 g，41%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.47 (t, 2H), 4.04 (t, 4H), 3.56–3.37 (m, 9H), 2.42–2.34 (m, 9H), 1.94–1.90 (m, 3H), 1.63–1.49 (m, 18H), 1.40–1.10 (m, 73H), 0.86 (t, 12H); CIMS m/z 1082.9 [M+H]。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6x150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：ELSD，t_R：13.1 min，純度：> 99%；UPLC管柱：

Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：16.5 min，純度：92.2%。

化合物67之合成流程

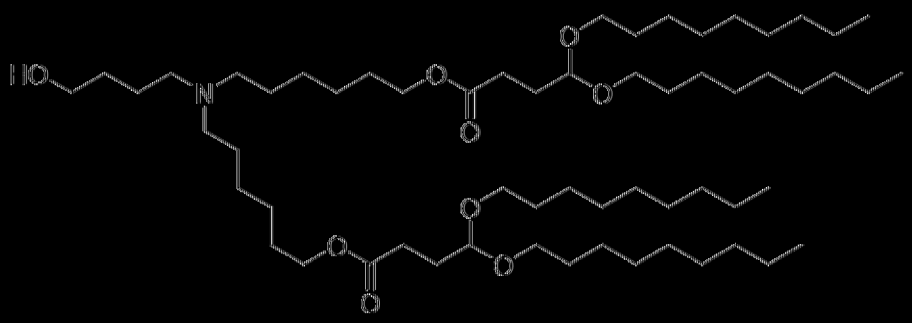


合成4,4-雙(庚氧基)丁酸6-溴己酯(L4(B6/T9)-1)：



[1295] 按照化合物77合成中描述之程序C製備。分離出呈無色油狀之L4(B6/T9)-1 (1.4 g，49%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.49 (t, 1H), 4.06 (t, 2H), 3.58-3.50 (m, 2H), 3.42-3.38 (m, 4H), 2.38 (t, 2H), 1.93-1.80 (m, 4H), 1.68-1.10 (m, 34H), 0.87 (t, 6H)。

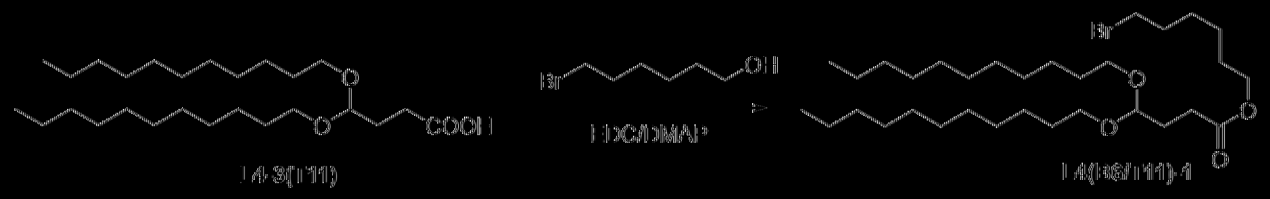
合成雙(4,4-雙(庚氧基)丁酸)((4-(羥基)丁基)氮烷二基)雙(己烷-6,1-二基酯)(67)：



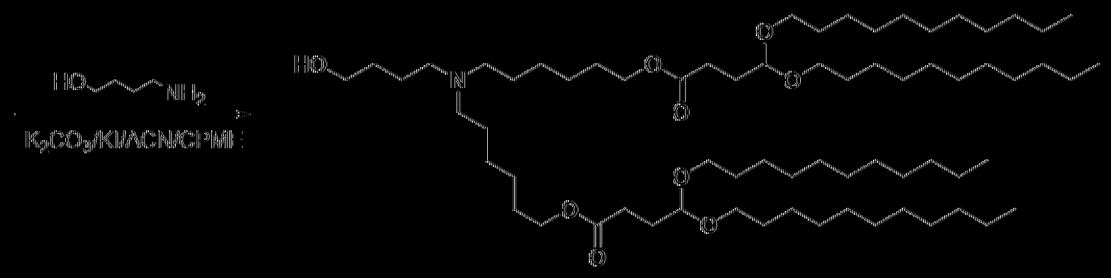
化合物 67

[1296] 按照化合物77合成中描述之程序D製備。分離出呈無色油狀之化合物67 (0.8 g，61%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.49 (t, 2H), 4.04 (t, 4H), 3.60-3.50 (m, 6H), 3.43-3.36 (m, 4H), 2.45-2.35 (m, 10H), 1.95-1.88 (m, 4H), 1.68-1.42 (m, 26H), 1.40-1.10 (m, 62H), 0.87 (t, 12H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 999.2；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：ELSD，t_R：11.95 min，純度：>99 %; UPLC column: Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：CAD，t_R：15.27 min，純度：97.54 %。

化合物75之合成流程

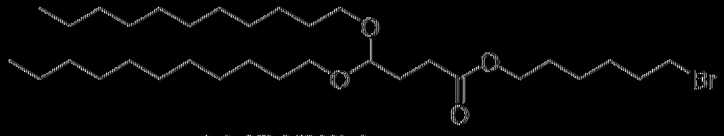


L4-3(T11)　　EDC/DMAP　　L4(B6/T11)-1



化合物 75

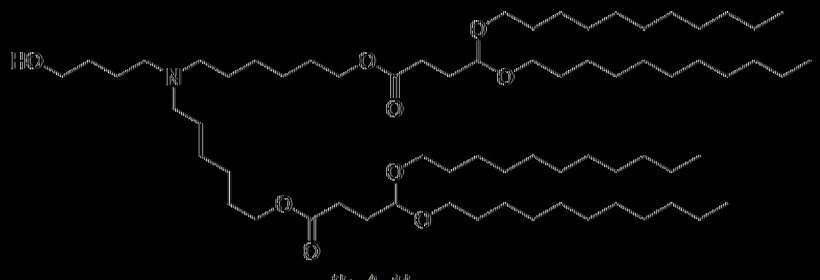
合成(4,4-雙(十一烷氧基)丁酸6-溴己酯) (L4(B6/T11)-1



L4-4(B6/T11)-1

[129']　按照化合物77合成中描述之程序C製備。分離出呈無色油狀之L4-4(B6/T11)-1 (1.08 g，78%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.47 (t, 1H), 4.07 (t, 2H), 3.53-3.36 (m, 6H), 2.35 (t, 2H), 1.91-1.84 (m, 3H), 1.57-1.35 (m, 9H), 1.33-1.17 (m, 34H), 0.87 (t, 6H); CIMS m/z 591.6 [M+H]。

合成雙(4,4-雙(十一烷氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮烷二基)雙(1-烷-6,1-二基酯)) (75)

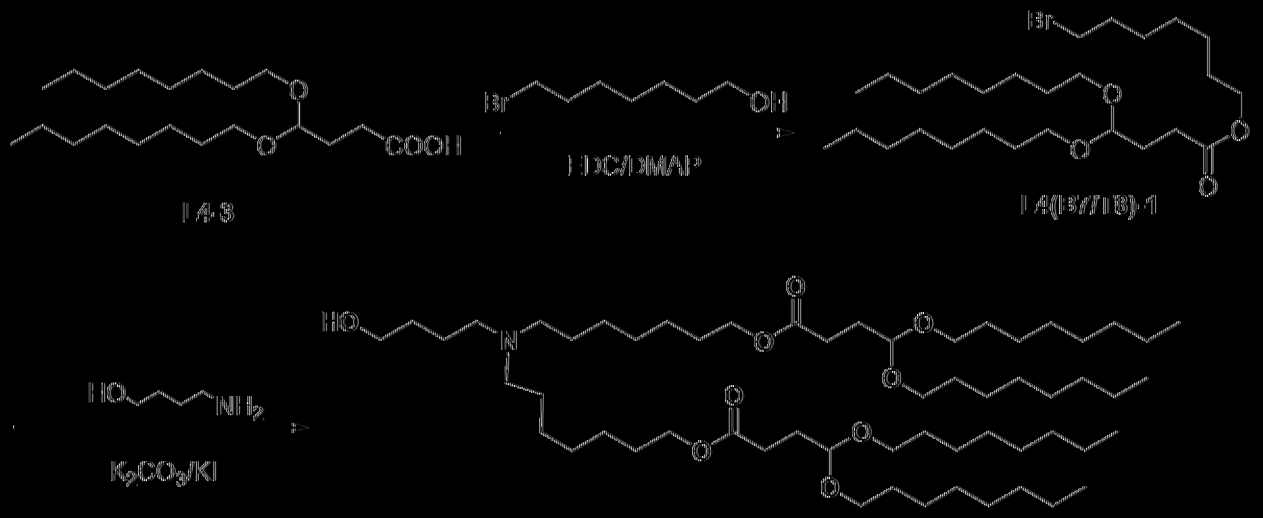


化合物 75

[1298]　按照化合物77合成中描述之程序D製備。分離出呈無色油狀之化合物75 (0.5 g，57%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.48 (t, 2H), 4.03 (t, 4H), 3.57-3.37 (m, 9H), 2.41-2.34 (m, 9H), 1.94-1.90 (m, 3H),

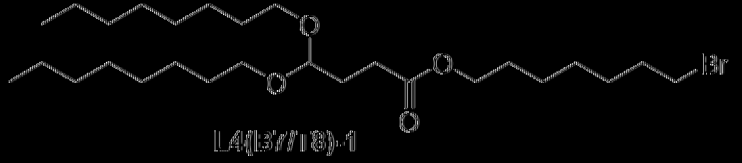
1.63-1.52 (m, 18H), 1.37-1.15 (m, 77H), 0.86 (t, 12H); CIMS m/z 1110.9 [M+H]。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：ELSD，t_R：13.0 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：CAD，t_R：16.7 min，純度：93.5%。

化合物64之合成流程



化合物 64

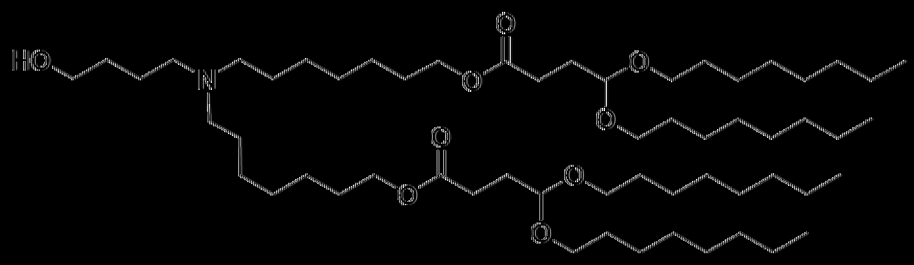
合成4,4-雙(辛氧基)丁酸7-溴庚酯[L4(B7/T8)-1]



[1299] 按照化合物77合成中描述之程序C製備，分離出呈淺黃色油狀之產量為1.95 g (86%)的化合物L4(B7/T8)-1。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.49 (t, 1H), 4.05 (t, 2H), 3.62-3.49 (m, 2H), 3.42-3.31 (m, 4H),

2.38 (t, 2H), 1.97-1.78 (m, 4H), 1.69-1.49 (m, 8H), 1.44-1.18 (m, 24H), 0.87 (t, 6H)。

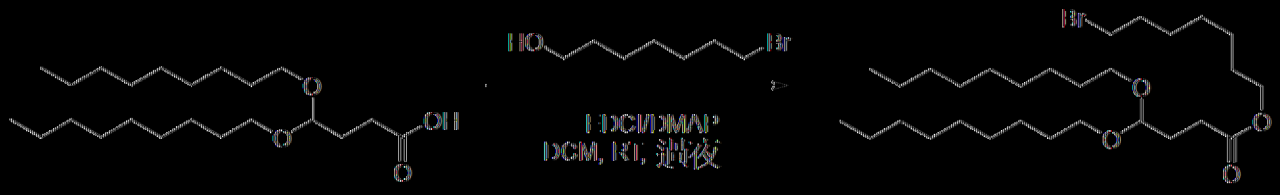
合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(庚烷-7,1-二基酯)(64)



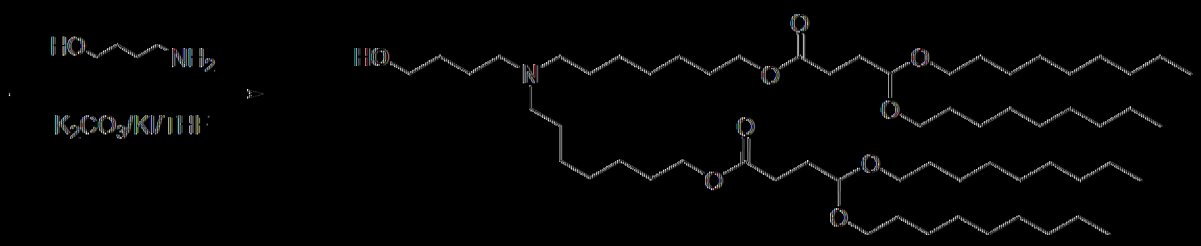
化合物 64

[1300] 按照化合物77合成中描述之程序D製備。分離出呈淺黃色油狀之產量為940 mg (59%)的化合物64。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.49 (t, 2H), 4.05 (t, 4H), 3.66-3.49 (m, 6H), 3.45-3.34 (m, 4H), 2.92-2.46 (m, 6H), 2.38 (t, 4H), 1.97-1.86 (m, 4H), 1.79-1.42 (m, 22H), 1.40-1.12 (m, 51H), 0.87 (t, 12H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 971.9。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，70%至100%，5 min；接著100%，10 min。流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：ELSD，t_R：6.70 min，純度：>99.9%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，70%至100%，5 min；接著100%，15 min。流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：CAD，t_R：6.68 min，純度：99.8%。

化合物68之合成流程

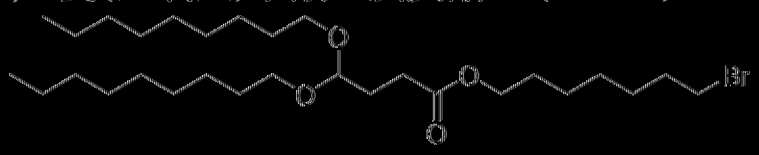


I-3(ID)　　I4(B'//T9)-1



化合物68

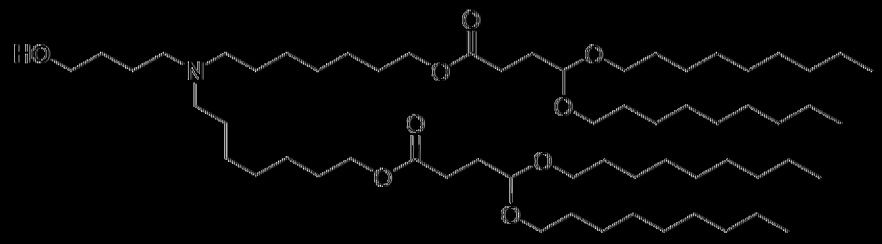
合成4,4-雙(己氧基)丁酸7-溴庚酯I4(B'//T9)-1



I4(B'//T9)-1

[1301] 按照化合物'//合成中描述之程序C製備。分離出呈無色油狀之I4(B'//T9)-1 (960 mg，65%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 4.48 (t, J = 5.49 Hz, 1H), 4.05 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.56 (m, 2H), 3.4 (m, 4H), 2.37 (t, J = 7.41 Hz, 2H), 1.82-1.95 (m, 4H), 1.52-1.62 (m, 6H), 1.43 (m, 2H), 1.25-1.35 (m, 28H), 0.87 (m, 6H)。

合成雙(4,4-雙(己氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(庚烷-7,1-二基酯) (68)

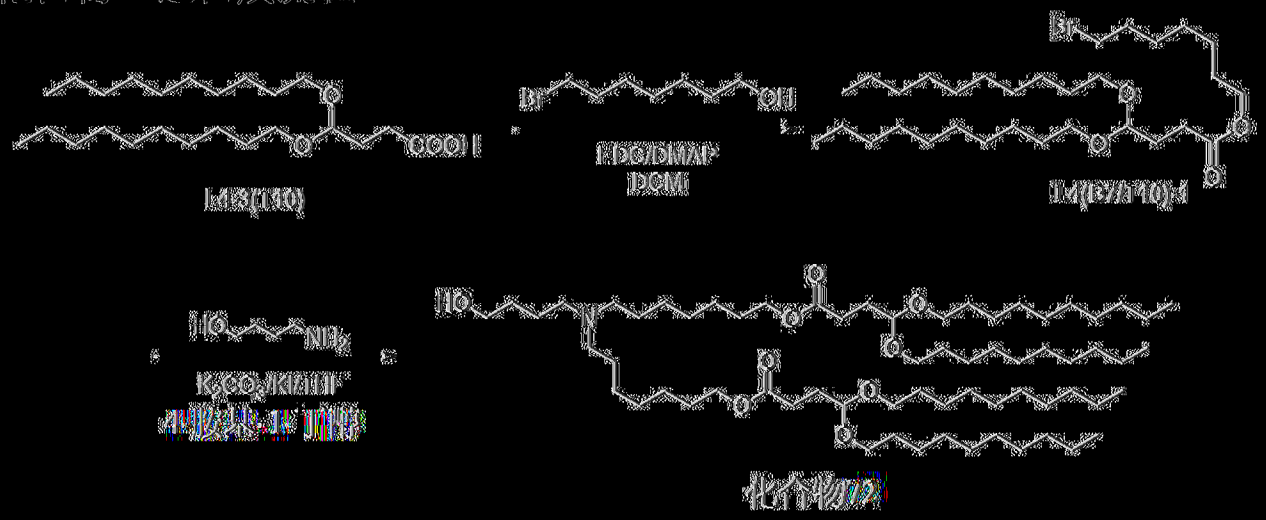


化合物 68

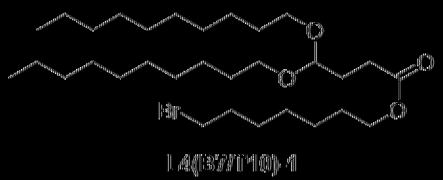
[1302] 按照化合物'//合成中描述之程序D製備。分離出呈無色油狀之化合物68 (425 mg，52%)。^{1}H-NMR (300 MHz, ^{1}H-NMR (300 MHz,

$CDCl_3$) δ: 4.48 (t, *J* = 5.76 Hz, 2H), 4.04 (t, *J* = 6.5 Hz, 4H), 3.56 (m, 6H), 3.38 (m, 4H), 2.46 (br, 2H), 2.38 (t, *J* = 7.4 Hz, 4H), 1.92 (m, 4H), 1.5-1.65 (m, 20H), 1.25 (m, 60H), 0.87 (m, 12H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 1026.9。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 8.7 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 15.5 min，純度：97.9 %。

化合物72之合成流程：



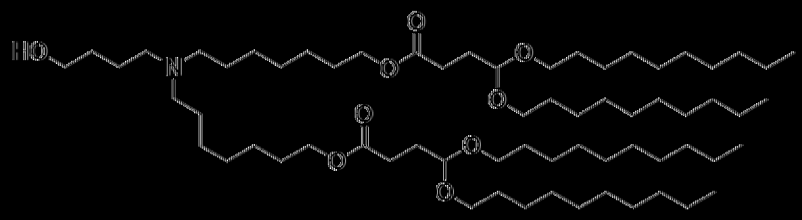
合成4,4-雙(癸氧基)丁酸7-溴庚酯(L4(B7/T10)-1):



[1303] 按照化合物77合成中描述之程序C製備，分離出略微黃色油狀之化合物L4(B7/T10)-1 (1.37 g，95%)。^{1}H NMR (300 MHz,

$CDCl_3$)：δ ppm 4.49 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 4.05 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 3.65-3.50 (m, 2H), 3.42-3.37 (m, 4H), 2.35 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 1.95-1.82 (m, 4H), 1.61-1.19 (m, 40H), 0.87 (s, 6H). CIMS m/z [M+H]+ 578.77。

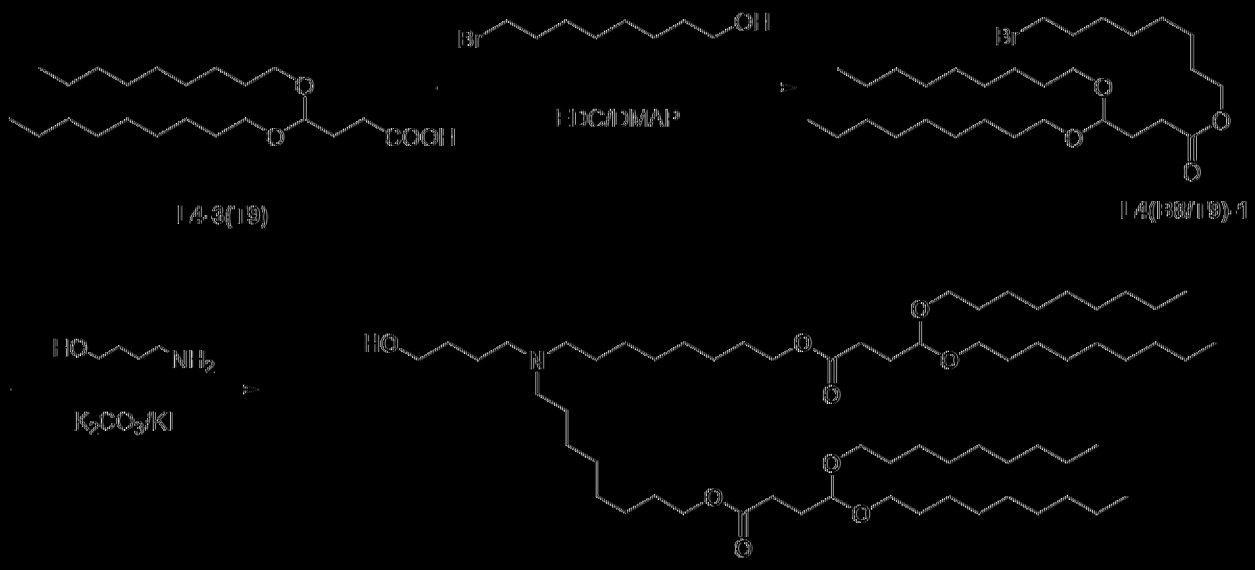
合成雙(4,4-雙(癸氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(庚烷-7,1-二基酯)(72)：



化合物72

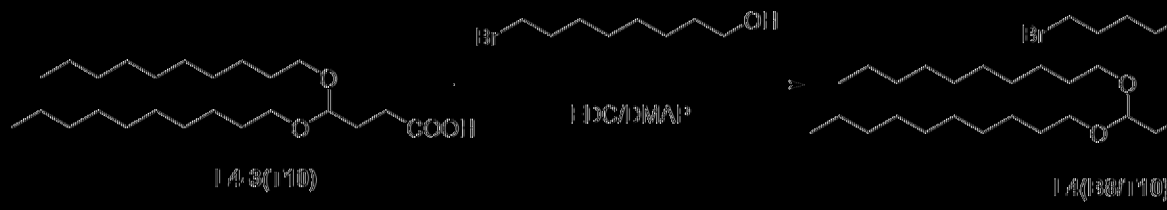
[1304] 按照化合物77合成中描述之程序D製備。化合物72 (950 mg，78%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.49 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 4.04 (t, J = 7.0 Hz, 4H), 3.75-3.350 (m, 10H), 2.42-2.30 (m, 10H), 1.95-1.82 (m, 4H), 1.61-1.35 (m, 20H), 1.26 (bs, 69H), 0.87 (t, J = 6.0 Hz, 12H).; CIMS m/z [M+H]+ 1083.77。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1 mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 10.7 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1 mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 16.1 min，純度：> 99%。

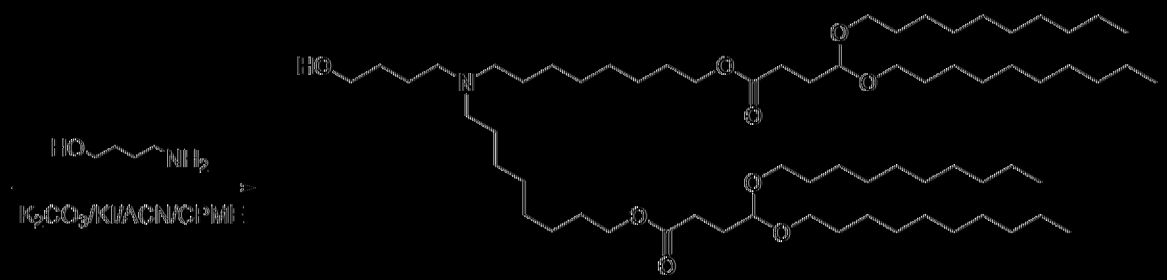
化合物69之合成流程


Br
OH
EDC/DMAP
COOH
O
O
O

6.70 (s, 1H), 4.48 (t, 2H), 4.03 (t, 4H), 3.57-3.37 (m, 10H), 2.40-2.36 (m, 9H), 1.92-1.89 (m, 3H), 1.56-1.52 (m, 19H), 1.41-1.12 (m, 67H), 0.86 (t, 12H); CIMS m/z 1054.8 [M+H]。分析型UPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6x150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：8.8 min，純度：94.9%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0x150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：15.6 min，純度：82.9%。

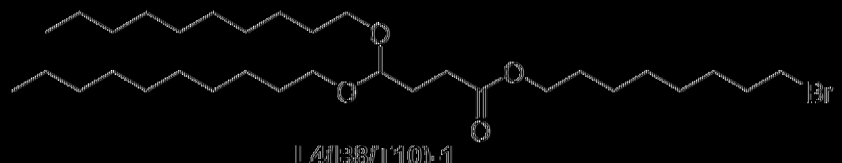
化合物13之合成流程





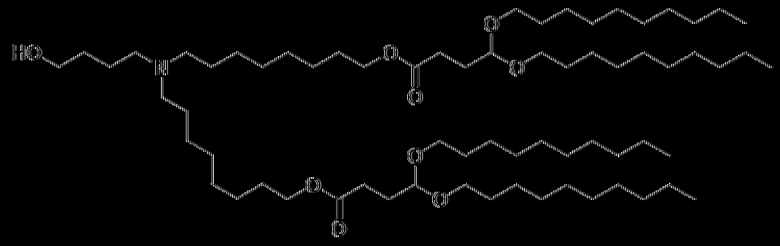
化合物 13

合成4,4-雙(癸氧基)丁酸8-溴辛酯(L4(B8/T10)-1)



[0130] 按照化合物77合成中描述之程序C製備。分離出呈無色油狀之產出為980 mg (67%)的化合物L4(B8/T10)-1。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.49 (t, 1H), 4.05 (t, 2H), 3.62-3.49 (m, 2H), 3.42-3.31 (m, 4H), 2.38 (t, 2H), 1.97-1.78 (m, 4H), 1.69-1.49 (m, 8H), 1.44-

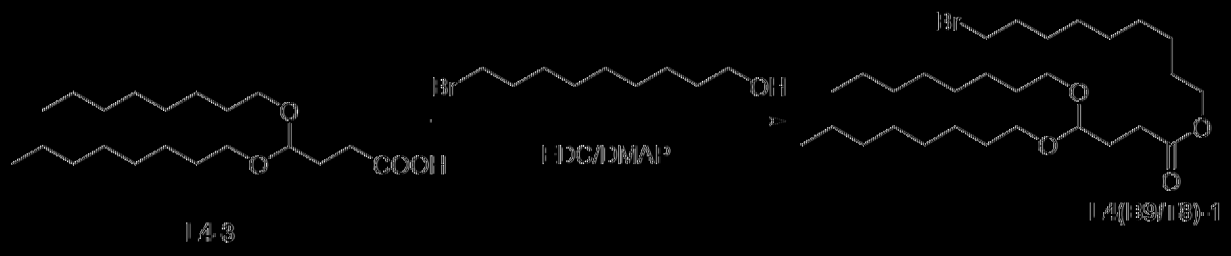
合成雙(4,4-雙(癸氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(辛烷-8,1-二基酯) (73)

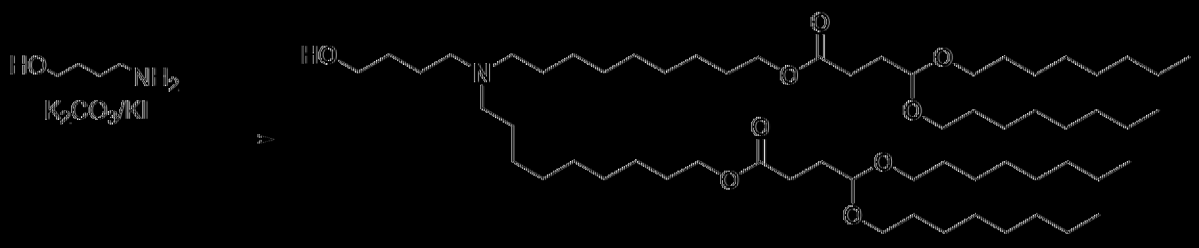


化合物73

[0130] 按照化合物77合成中描述之程序D製備。分離出呈淺黃色油狀之產出為442 mg (63%)的化合物73。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.49 (t, 2H), 4.05 (t, 4H), 3.67 (m, 2H), 3.59-3.49 (m, 4H), 3.44-3.31 (m, 4H), 3.18-2.51 (m, 6H), 2.36 (t, 4H), 1.97-1.78 (m, 6H), 1.74-1.44 (m, 24H), 1.38-1.12 (m, 78H), 0.87 (t, 12H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 1111.9。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，70%至100%，5 min；接著100%，10 min。流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：ELSD，t_R：7.48 min，純度：>99.9%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，70%至100%，5 min；接著100%，15 min。流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：CAD，t_R：7.72 min，純度：99.6%。

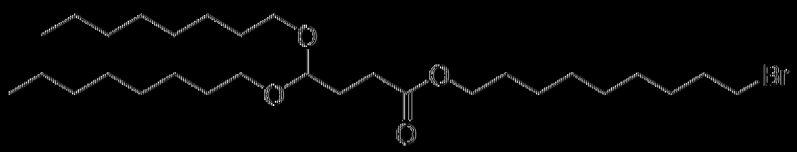
化合物65之合成流程





化合物 65

合成4,4-雙(辛氧基)丁酸9-溴壬酯(L4(B9/T8)-1



L4(B9/T8)-1

[1309] 按照化合物77合成中描述之程序C製備，分離出呈淺黃色油狀之產量為2.0 g (83%)的化合物L4(B9/T8)-1。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.49 (t, 1H), 4.05 (t, 2H), 3.62-3.49 (m, 2H), 3.42-3.31 (m, 4H), 2.38 (t, 2H), 1.97-1.78 (m, 4H), 1.69-1.49 (m, 6H), 1.44-1.18 (m, 30H), 0.87 (t, 6H)。

合成雙(4,4-雙(辛氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮烷二基)雙(壬烷-9,1-二基酯) (65)

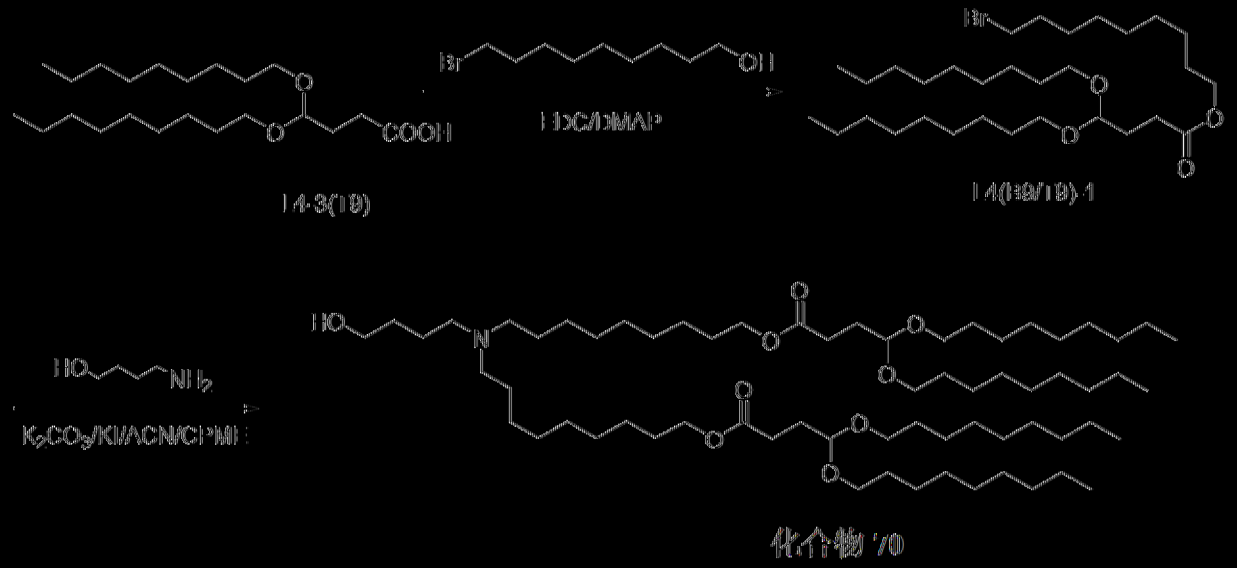


化合物 65

[1310] 按照化合物77合成中描述之程序D製備，分離出呈淺黃色

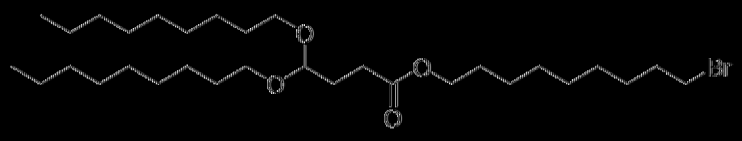
油狀之產出為880 mg (52%)的化合物65。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.49 (t, 2H), 4.05 (t, 4H), 3.68-3.49 (m, 6H), 3.45-3.34 (m, 4H), 2.96-2.46 (m, 6H), 2.37 (t, 4H), 1.97-1.86 (m, 4H), 1.84-1.42 (m, 24H), 1.40-1.12 (m, 57H), 0.87 (t, 12H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 1027.9。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，70%至100%，5 min；接著100%，10 min。流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：ELSD，t_R：6.78 min，純度：>99.9%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，70%至100%，5 min；接著100%，15 min。流速：1mL/min管柱溫度：20+2℃，偵測器：CAD，t_R：7.17 min，純度：99.1%。

化合物70之合成流程：



化合物 70

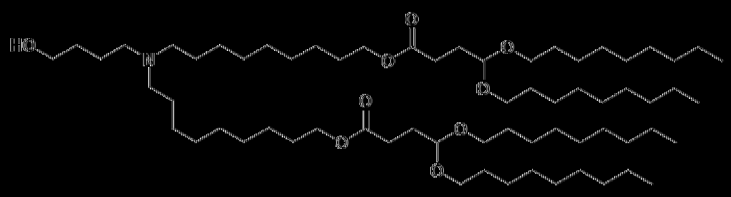
合成4,4-雙(己氧基)丁酸9-溴壬酯(L4(B9/T9)-1)：



L4(B9/T9)-1

[1311] 按照化合物77合成中描述之程序C製備，呈透明油狀之化合物L4(B9/T9)-1 (810 mg，52.25%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ 4.48 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 4.05 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 3.78-3.34 (m, 8H), 2.37 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 1.93-1.80 (m, 4H), 1.65-1.52 (m, 8H), 1.44-1.25 (m, 46H), 0.94-0.83 (m, 6H); CIMS m/z [M+H]$^+$ 578.87。

合成雙(4,4-雙(庚氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(庚烷-9,1-二基酯) (70)：

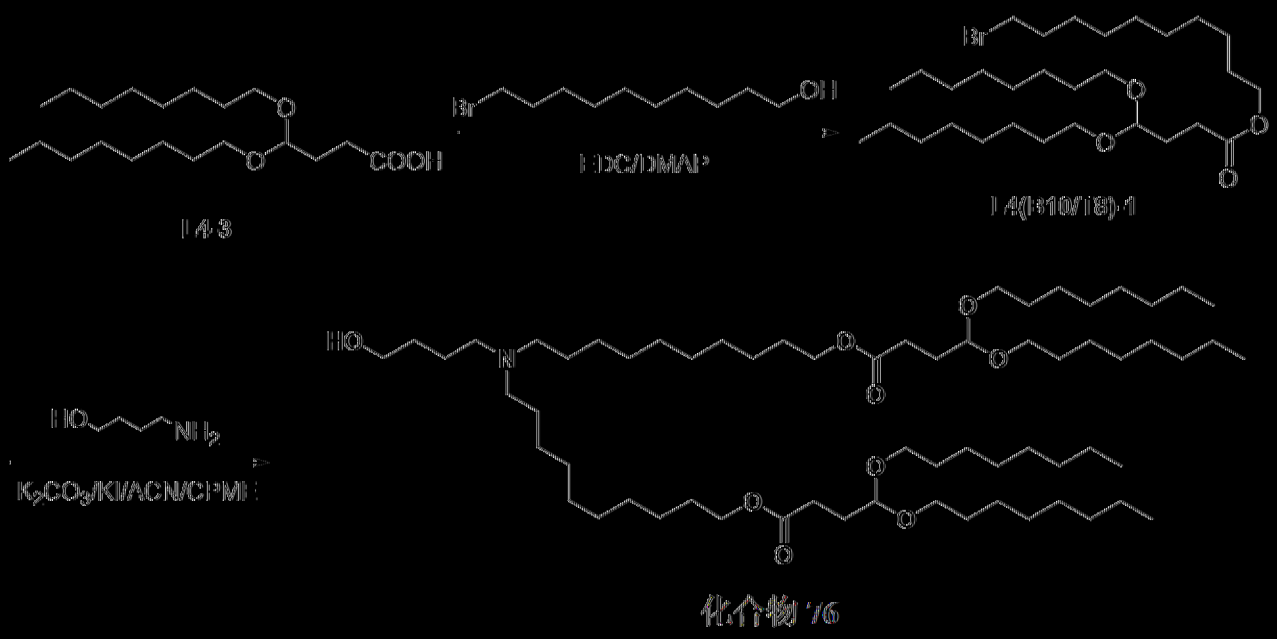


化合物70

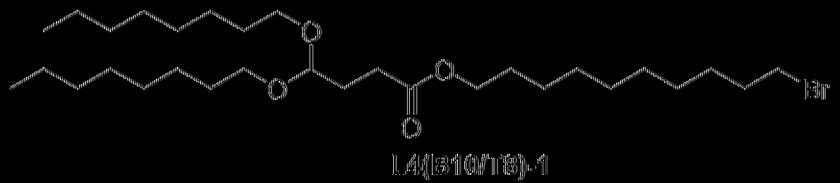
[1312] 按照化合物77合成中描述之程序D製備。化合物70 (1.1 g，89%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ 4.48 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 4.05 (t, J = 7.0 Hz, 4H), 3.70-3.34 (m, 10H), 2.42-2.34(m, 10H), 1.93-1.80 (m, 4H), 1.65-1.52 (m, 20H), 1.42-1.23 (m, 71H), 0.90-0.83 (m, 12H); CIMS m/z [M+H]$^+$ 1083.77。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1 mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R : 10.7 min，純度：> 99%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1

mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：15.9 min，純度：98.08%。

化合物L4 (B10/T8)之合成流程

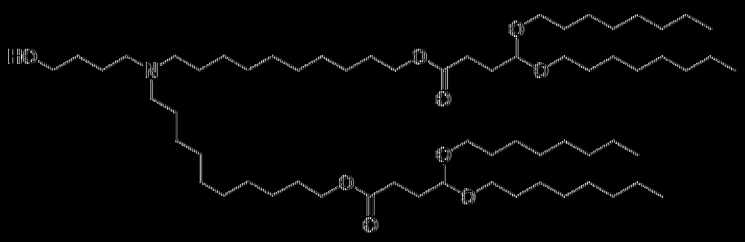


合成4,4-雙(1-氧基)-庚酸6-溴-己酯(化合物L4(B10/T8)-1)：



[1313] 按照化合物77合成中描述之程序C製備，分離出呈淺黃色油狀之化合物L4(B10/T8)-1 (1.6 g，68%)。^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$)：δ ppm 4.48 (t, 1H), 4.04 (t, 2H), 3.54-3.37 (m, 6H), 2.39-2.34 (m, 2H), 1.92-1.84 (m, 4H), 1.61-1.51 (m, 6H), 1.51-0.99 (m, 32H), 0.88-0.84 (m, 6H)。

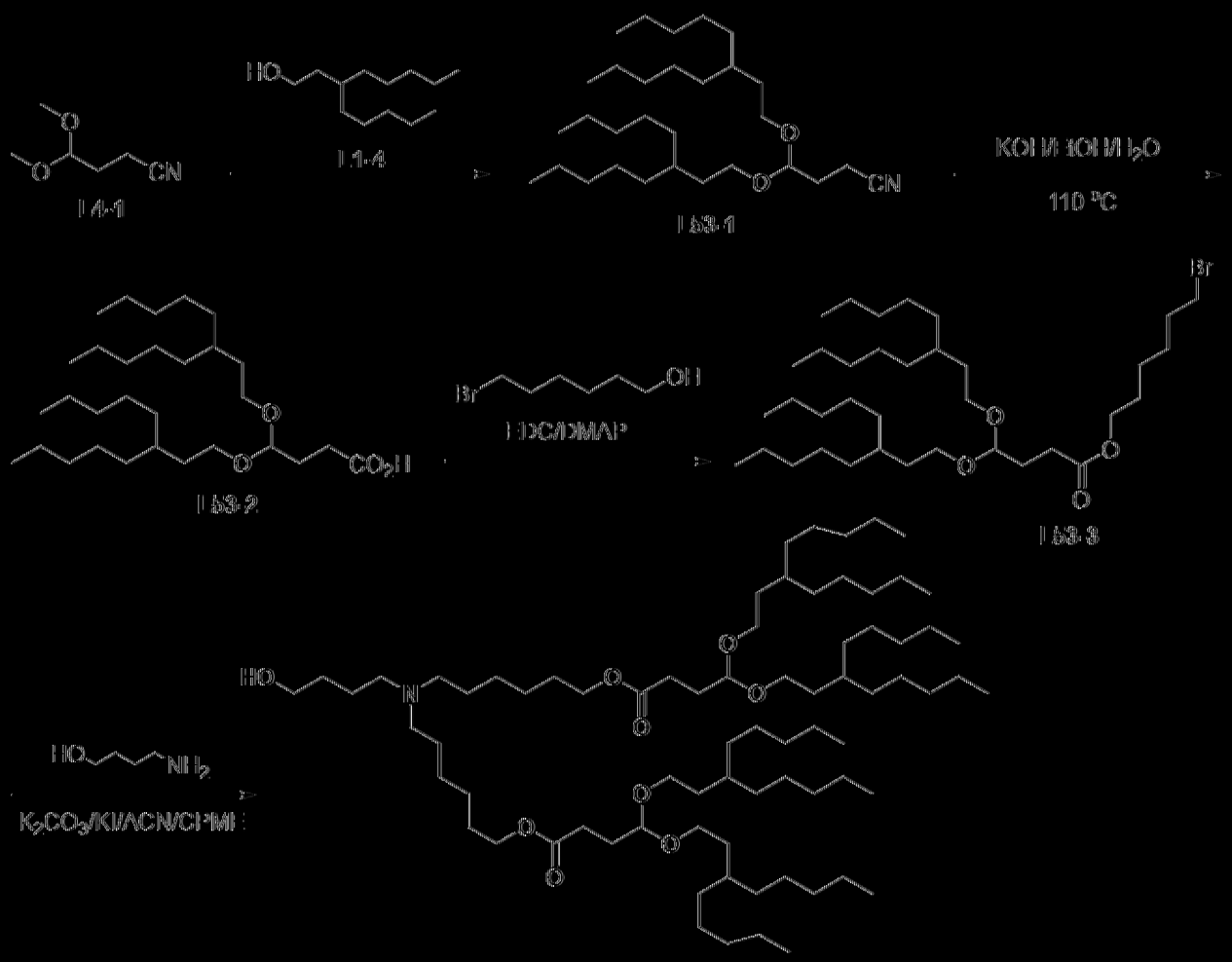
合成雙(4,4-雙(辛氧基)-庚酸)((4-羥基-丁基)氮-二基)雙(癸烷-10,1-二基酯) (76)：



化合物76

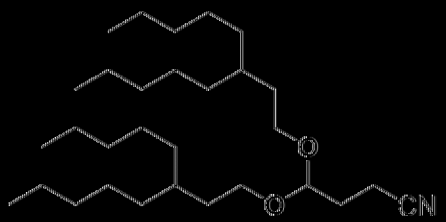
[1314] 按照化合物77合成中描述之程序D製備，分離出呈淺黃色油狀之化合物76 (322 mg，32%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.48 (t, 2H), 4.01-4.06 (m, 4H), 3.57-3.40 (m, 10H), 2.39-2.34 (m, 10H), 1.92-1.90 (m, 4H), 1.65-1.51(m, 18H), 1.30-0.99(m, 66H), 0.86 (t, 12H); APCI-MS: m/z [M+H]$^+$ 1055；分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1 mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R：11.6 min，純度：> 99 %；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，5%至95%，15 min，流速：1 mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R：13.8 min，純度：> 99%。

化合物83之合成流程



化合物 83

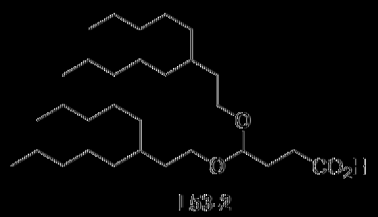
合成4,4-雙((3-戊基辛基)氧基)丁腈(L53-1)



L53-1

[1315] 按照化合物77合成中描述之程序A製備，分離出呈淺黃色油狀之L53-1 (3.66 g，95%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.54 (t, 1H), 3.64-3.52 (m, 2H), 3.48-3.37 (m, 2H), 2.42 (t, 2H), 1.97-1.84 (m, 2H), 1.61-1.44 (m, 4H), 1.44-1.08 (m, 28H), 0.87 (m, 12H)。

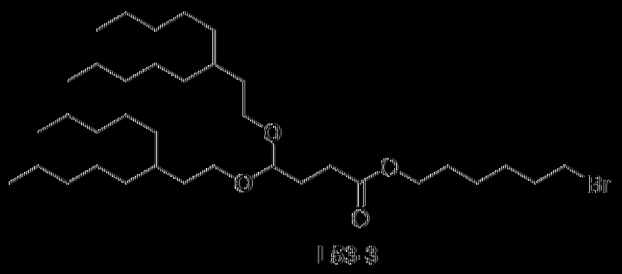
合成4,4-雙((3-戊基辛基)氧基)丁酸(L53-2)



L53-2

[1316] 按照化合物77合成中描述之程序B製備，分離出呈淺黃色油狀之L53-2 (3.2 g，84%)。CIMS m/z [M-H]⁻ 683。

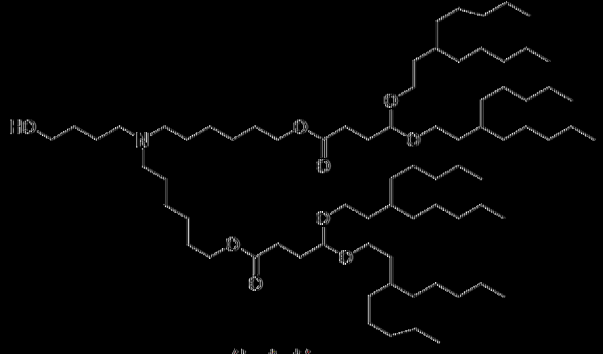
合成4,4-雙((3-戊基辛基)氧基)丁酸6-溴己酯(L53-3)



L53-3

[1317] 按照化合物77合成中描述之程序C製備，分離出呈淺黃色油狀之L53-3 (400 mg，32%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.49 (t, 1H), 4.06 (t, 2H), 3.63-3.51 (m, 2H), 3.50-3.31 (m, 4H), 2.42 (t, 2H), 1.97-1.81 (m, 2H), 1.57-1.43 (m, 8H), 1.43-1.08 (m, 38H), 0.87 (m, 12H)。

合成雙(4,4-雙((3-戊基辛基)氧基)丁酸)((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基酯) (83)



化合物 83

[1318] 按照化合物77合成中描述之程序D製備，分離出呈淺黃色油狀之化合物83 (252 mg，74%)。^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.48 (t, 2H), 4.05 (t, 4H), 3.71-3.62 (m, 2H), 3.62-3.51 (m, 4H), 3.47-3.36 (m,

4H), 3.08-2.58 (m, 6H), 2.37 (t, 4H), 1.97-1.86 (m, 4H), 1.74-1.56 (m, 10H), 1.55-1.46 (m, 8H), 1.44-1.06 (m, 80H), 0.87 (m, 24H); CIMS m/z $[M+H]^+$ 1223.2。分析型HPLC管柱：Agilent Zorbax SB-C18，5 μm，4.6×150 mm，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，70%至100%，5 min；接著100%，10 min。流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：ELSD，t_R = 8.33 min，純度：>99.9%；UPLC管柱：Waters Aquity UPLC® CSHTM，C18，1.7 μm，3.0×150 mm，(零件編號186005302)，移動相A：乙腈+0.1%三氟乙酸，移動相B：水+0.1%三氟乙酸，使用梯度：A於B中，80%至100%，15 min；接著100%，5 min。流速：1mL/min管柱溫度：20±2℃，偵測器：CAD，t_R = 16.4 min，純度：99.7%。

實例5

脂質奈米粒子之製備-通用程序

【1319】以48.5:10:40:1.5 (IM投與)或48.5:10:39:2.5 (IV投與)之莫耳比，將本發明之代表性脂質、二硬脂醯基磷脂醯膽鹼(DSPC)、膽固醇及1,2-二肉豆蔻醯基-rac-甘油基-3-甲氧基聚乙二醇-2000 (DMG-PEG2000)溶解於純乙醇中，其中總脂質濃度為10.8 mM。參見例如Qiu等人, *PNAS 118*:e2020401118 (2021)。接著，藉由使用NanoAssemblr微流體系統，將脂質溶液與含有mRNA (0.10 mg/mL)之酸性乙酸鈉緩衝液(pH 4.0)或檸檬酸鈉緩衝液(pH 4.0)混合。以12 mL/min總流速，以3:1之mRNA溶液與脂質溶液比率，將mRNA溶液及脂質溶液各自注射至NanoAssemblr微流體裝置中，且該裝置使兩種組分快速混合且因此自組裝LNP。使調配物在透析盒中在4℃下進一步相對於具有8%蔗糖溶液之

PBS (pH 7.4)或20 mM Tris (pH 7.4)透析過夜。使用Zetasizer Ultra (Malvern Panalytical)，藉由動態光散射(DLS)，來量測調配物之粒徑。藉由Ribogreen分析表徵RNA包封效率。

實例5-A

LNP調配物A

【1320】以48.5:10:39:2.5 mol%比率，將可離子化脂質、DSPC、膽固醇及PEG2K-DMG溶解於純乙醇中，其中總脂質濃度為10.8 mM。使用含有編碼人類紅血球生成素(hEPO)及螢火蟲螢光素酶(fLuc) (1:2比率)之mRNA之酸性緩衝液(pH 4.0-5.0)製備0.10 mg/mL mRNA溶液。使用NanoAssemblr微流體系統，以12 mL/min總流速，以3:1體積比混合核苷酸及脂質溶液，引起快速混合及LNP之自組裝。使調配物在4℃下相對於PBS (pH 7.4)進一步透析過夜，使用離心式過濾濃縮且過濾(0.2 μm孔徑)。使用Zetasizer Ultra (Malvern Panalytical)，藉由動態光散射(DLS)來量測調配物之粒徑及多分散性指數(PDI)。藉由Ribogreen分析測定RNA包封效率(EE%)。

表5A：非環狀LNP調配物

調配物	可離子化脂質	酸性緩衝液	尺寸(nm)	PDI	EE%
F-1	14	A	74.4	0.13	91.4
F-2*	14	A	59.3	0.07	90.9
F-3	14	B	86.0	0.03	98.0
F-4	50	A	76.7	0.15	93.1
F-5	51	A	76.7	0.13	94.6
F-6	52	A	81.5	0.22	88.9
F-7	53	A	102.3	0.08	80.7
F-8	54	B	64.8	0.08	96.5
F-9	55	A	76.7	0.12	93.2
F-10	56	B	94.1	0.15	95.5
F-11	57	A	76.0	0.09	94.2
F-12	58	A	114.4	0.09	86.4
F-13	59	A	109.7	0.08	87.0
F-14	60	A	93.2	0.09	48.6

F-15	61	A	70.1	0.24	94.7
F-16	62	B	86.9	0.13	93.0
F-19	64	B	85.9	0.05	98.0
F-20	65	B	80.7	0.03	98.0
F-21	66	B	83.2	0.05	89.0
F-22	67	B	90.7	0.05	92.0
F-23	68	B	88.0	0.03	90.0
F-24	69	B	73.4	0.04	92.3
F-25	70	B	90.1	0.03	86.0
F-26	71	B	97.5	0.03	98.0
F-27	72	B	86.8	0.00	99.0
F-28	73	B	84.6	0.02	98.0
F-29	74	B	91.3	0.02	98.0
F-30	75	B	94.0	0.03	86.0
F-31	76	B	93.4	0.04	83.0
F-32	77	B	72.2	0.06	96.0
F-33	78	B	72.1	0.05	97.5
F-34	79	B	67.7	0.10	96.0
F-35	81	B	79.7	0.07	91.0
F-36	82	B	72.1	0.11	97.1
F-37	83	B	81.5	0.11	93.9
F-38	84	B	96.1	0.11	94.5
F-39	85	B	69.9	0.07	94.8

緩衝液A：25 mM乙酸鈉，pH 5.0；緩衝液B：50 mM檸檬酸鹽，pH 4.0

實例5-B

LNP調配物B

【1321】 以48.5:10:40:1.5 mol%比率，將可離子化脂質、DSPC、膽固醇及PEG2K-DSPE溶解於純乙醇中，其中總脂質濃度為10.8 mM。使用含有編碼螢火蟲螢光素酶(fLuc)之mRNA之酸性緩衝液(pH 4.0-5.0)製備0.10 mg/mL mRNA溶液。使用NanoAssemblr微流體系統，以12 mL/min總流速，以3:1體積比混合核苷酸及脂質溶液，引起快速混合及LNP之自組裝。使調配物在4℃下相對於PBS (pH 7.4)進一步透析過夜，使用離心式過濾濃縮且過濾(0.2 μm孔徑)。使用Zetasizer Ultra (Malvern Panalytical)，藉由動態光散射(DLS)來量測調配物之粒徑及多分散性指數

(PDI)。藉由Ribogreen分析測定RNA包封效率(EE%)。

表5B：非環狀LNP調配物

調配物	可離子化脂質	酸性緩衝液	尺寸(nm)	PDI	EE%
F-40	68	B	91.4	0.032	86.0%

緩衝液A：25 mM乙酸鈉，pH 5.0；緩衝液B：50 mM檸檬酸鹽，pH 4.0

實例5-C

LNP調配物C

【1322】以48.5:10:40:1.5 mol%比率(包含本發明之可離子化脂質之調配物)或50:10:38.5:1.5 mol%比率(SM102調配物)，將可離子化脂質、DSPC、膽固醇及PEG2K-DMG溶解於純乙醇中，其中總脂質濃度為10.8 mM。使用含有編碼COVID刺突蛋白之環狀RNA (oRNA)或線性mRNA之酸性緩衝液(pH 4.0-5.0)製備0.10 mg/mL RNA溶液，如表5C中所指示。使用NanoAssemblr微流體系統，以12 mL/min總流速，以3:1體積比混合核苷酸及脂質溶液，引起快速混合及LNP之自組裝。使調配物在4℃下進一步相對於低溫緩衝液透析過夜，使用離心式過濾濃縮且過濾(0.2 μm孔徑)。接著，將調配物儲存在-80℃下直至使用。使用Zetasizer Ultra (Malvern Panalytical)，藉由動態光散射(DLS)來量測調配物之粒徑及多分散性指數(PDI)。藉由Ribogreen分析測定RNA包封效率(EE%)。

表5C：非環狀LNP調配物

調配物	可離子化脂質	刺突RNA	緩衝液	尺寸(nm)	PDI	EE%
F-41	68	oRNA	B	89.29	0.28	97.7
F-42	59	oRNA	A	90.37	0.082	96.7
F-43	Moderna SM102	oRNA	A	73.39	0.041	98.5
F-44	Moderna SM102	線性mRNA	A	76.15	0.091	98.1

緩衝液A：25 mM乙酸鈉，pH 5.0；緩衝液B：50 mM檸檬酸鹽，pH

4.0

實例6

hEPO及fLUC活體內報導子分析

【1323】 藉由靜脈內注射，向Balb/cAnNCrl (雌性，6-8週)投與LNP (用0.1 mg/kg EPO及0.2 mg/kg Luc調配，參見實例5-A)。在給藥後5、23及47小時處收集血漿樣品用於hEPO分析。在注射D-螢光素溶液(150 mg/kg，腹膜內注射(IP))之後，使用IVIS Lumina III LT系統(PerkinElmer)，在給藥後6、24及48小時處對小鼠進行生物發光成像(BLI)以進行測定。使用ELISA套組(DEP00，R&D Systems)來量測hEPO濃度。使用非隔室分析(non-compartment analysis；NCA)程式(WinNonlin®, 8.3.4版[Pharsight Corp (Mountain View, CA, USA)])，計算個別小鼠血漿hEPO或全身BLI資料之最大濃度或BLI訊號(Cmax)以及濃度相對於時間曲線下面積(AUC)。

【1324】 表6報導對於各測試調配物，在給藥後5小時處之hEPO濃度及歷經48小時時段之AUC，整個實驗中均為總體及相對於內標物。表6亦報導對於各測試調配物，在給藥後6小時處量測之螢光素酶生物發光成像以及歷經48小時時段之AUC。

資料圖例(Data key)：

hEPO C5hr (IU/μL)：+ = <10 IU/μL；10 IU/μL ≤ ++ < 100 IU/μL；100 ≤ +++ < 1,000 IU/μL

hEPO AUC (hr*IU/μL)：+ = <10 hr*IU/μL；10 hr*IU/μL ≤ ++ < 100 hr*IU/μL；100 hr*IU/μL ≤ +++ < 1,000 hr*IU/μL；1,000 hr*IU/μL ≤ ++++ < 10,000 hr*IU/μL

相對於標準之AUC比率： * = < 0.1；0.1 ≤ ** < 0.5；0.5 ≤ *** < 1.0；1.0 ≤ **** < 1.5；1.5 ≤ ***** < 2.0；****** ≥ 2.0

螢光素酶BLI C6hr (光子/秒)： # = <1億p/s；1億p/s ≤ ## <10億p/s；10億p/s ≤ ### < 100億p/s；100億p/s ≤ #### < 1000億p/s；1000億p/s ≤ ##### < 1萬億p/s

螢光素酶BLI AUC48hr (hr*光子/秒)： $ < 100億hr*p/s；100億hr*p/s ≤ $$ < 1000億hr*p/s；1000億hr*p/s ≤ $$$ < 1萬億hr*p/s；1萬億hr*p/s ≤ $$$$ < 10萬億hr*p/s

表6：非環狀活體內分析資料

	hEPO			**螢光素酶BLI活性**	
調配物	**C_{5hr}**	**AUC_{0-48hr}**	**AUC比率**	**C_{6hr}**	**AUC_{0-48hr}**
F-1	+++	++++	****	####	$$$$
F-2	++	++++	**	####	$$$
F-3	++	++++	****	####	$$$
F-4	+++	++++	***	####	$$$
F-5	+++	++++	***	####	$$$$
F-6	+++	++++	***	####	$$$$
F-7	+++	++++	*****	####	$$$$
F-8	+++	++++	****	####	$$$
F-9	+++	++++	***	####	$$$
F-10	+	++	*	##	$
F-11	+++	++++	***	####	$$$$
F-12	++	++++	**	####	$$$
F-13	++	++++	**	####	$$$
F-14	+	+++	*	##	$$
F-15	+	++	*	#	$
F-16	+	+++	*	###	$$
F-19	+++	++++	*****	####	$$$
F-20	++	++++	****	####	$$$
F-21	+++	++++	******	####	$$$$
F-22	+++	++++	******	####	$$$$
F-23	+++	++++	******	####	$$$$
F-24	+++	++++	*****	####	$$$$
F-25	++	++++	***	####	$$$
F-26	++	++++	***	####	$$$
F-27	++	++++	***	####	$$$
F-28	++	+++	***	###	$$$
F-29	++	+++	**	###	$$$
F-30	+++	++++	*****	####	$$$

F-31	++	++++	****	####	$$$
F-32	+++	++++	****	####	$$$$
F-33	+++	++++	******	####	$$$$
F-34	++	+++	**	####	$$$
F-35	+++	++++	*****	####	$$$
F-36	+++	++++	*****	####	$$$$
F-37	++	+++	**	####	$$$
F-38	+++	++++	*****	#####	$$$$
F-39	+++	++++	****	####	$$$$

實例7

活體內器官向性分析

【1325】 藉由IV注射，向Balb/cAnNCrl (雌性，6-8週)給藥LNP調配物(用0.2 mg/kg Luc mRNA調配，參見實例5B)。在LNP給藥後6小時處，向小鼠注射D-螢光素溶液(150 mg/kg，腹膜內(IP))。在D-螢光素給藥後10分鐘，將小鼠處死，且收集器官(肝臟、脾臟、肺、心臟、腎臟)。使用IVIS Lumina III LT系統(PerkinElmer)，同時對來自各給藥組之器官進行生物發光成像。

【1326】 將來自各個別小鼠之所有器官之生物發光之總和求和作為總通量(光子/秒)。計算各個別器官之生物發光之百分比以確定LNP調配物之向性。

【1327】 **螢光素酶BLI C6hr (光子/秒)**：# = <1億p/s；1億p/s ≤ ## < 10億p/s

表7.器官之總通量及各器官中之百分比通量[非環狀]

調配物	總通量 (p/s)	在給藥後6小時處總通量之%				
		肝臟	脾臟	肺	腎臟	心臟
F-40	#	78.8	18.3	1.7	0.8	0.3

實例8-A

對於編碼刺突蛋白之RNA的活體內T細胞反應-鼠類

給藥方案

【1328】 如實例5-C中所描述來製備LNP調配物。在第0及21天，以0.02 mg/ml編碼COVID刺突蛋白之oRNA或線性mRNA，以0.5 mL之總體積，將各調配物肌肉內注射於5隻BALB/c小鼠中。在給藥之前，將BALB/c小鼠置放於預填充有異氟醚，流速為0.4-0.8公升/分鐘之室中，直至鎮靜，以使得在注射期間不會進行運動。在兩個給藥之後，監測注射部位之刺激。在第35天，藉由CO_2吸入將所有小鼠進行人道安樂死，且收集脾臟並儲存於潤濕冰上直至處理。此研究中之所有活體內實驗均係在經批准之動物照護指南下進行。

分析

【1329】 收集脾臟，且使用70 μm過濾器(Miltenyi 130-098-462)，藉由過濾人工地分離為單細胞懸浮液，且用含有2mM EDTA (ThermoFisher 15575-020)及0.5% BSA (Miltenyi 130-091-376)之1×PBS (Fisher 10010049)洗滌。紅血球使用ACK溶解緩衝液(ThermoFisher A1049201)溶解，且用1×PBS + 2mM EDTA + 0.5% BSA洗滌兩次。在最後一次洗滌之後，將細胞再懸浮於1×PBS中且計數(ViCell XR，Beckman Coulter 731196)。將細胞再懸浮於含有在適當濃度下之1×GlutaMAX (ThermoFisher TP-050122)及1× Pen/Strep (ThermoFisher 15-140-122)之CTL Test Plus培養基(C.T.L. CTLTP-005)中，且塗鋪，以用於下游功能分析。

【1330】 根據製造商之方案，使用小鼠IFN-γ ELISpotPLUS套組(Mabtech 3321-4HST-10)進行ELISpot分析。簡言之，培養盤用1×PBS洗滌，且在37℃下用含有10% FBS (ThermoFisher A38400-01)之RPMI (ThermoFisher 72400-047)阻斷1 h。在阻斷之後，以200,000個細胞/孔

(對於DMSO及肽刺激的孔)或25,000個細胞/孔(對於PMA/離子黴素(Ionomycin)處理)塗鋪細胞。將細胞與1% DMSO (ThermoFisher D12345)、7.5 μg/mL之跨越SARS-CoV-2之刺突蛋白的S1或S2肽池(JPT PM-WCPV-S-1)或1× PMA/離子黴素(ThermoFisher 00-4970-93)一起培育，三個重複。在37℃、5% CO_2下培育培養盤過夜。在培育之後，洗滌培養盤，且在室溫下添加1 μg/mL偵測抗體持續2 h。重複洗滌，且添加1×鏈黴抗生物素蛋白-HRP，且在室溫下培育1小時。最後，洗滌培養盤且添加TMB受質，在暗處培育以用於產生色點，接著使用自來水洗掉。使培養盤進行乾燥，且藉由ELISpot分析儀(ZellNet Consulting)計數。

【1331】 對於胞內染色(ICS)，將5,000,000個細胞/孔塗鋪在96孔圓底盤(Costar 3799)中，且使用如上文所描述之相同ELISpot條件刺激，且在37℃與5% CO_2下培育總共5.5 h。將高基氏體塞(BD 555029)添加至所有孔中以進行最後一個4.5 h刺激。在培育之後，使用下表中列出之表面或胞內抗體對細胞進行染色以用於流式細胞分析技術。簡言之，細胞用1×PBS洗滌，且在室溫下用活/死可固定水(Live/Dead Fixable Aqua) (Invitrogen L34966)染色20 min。接著，細胞用細胞染色緩衝液(BioLegend 420201)洗滌兩次，且與Fc阻斷(Biolegend 156604)一起在4℃下培育5min，隨後在4℃下進行表面抗體染色30 min。其後，細胞用細胞染色緩衝液洗滌兩次，在4℃下在IC固定緩衝液(ThermoFisher 88-8824-00)中固定30 min，且在1×滲透緩衝液(ThermoFisher 88-8824-00)中滲透，且在4℃下進行胞內染色過夜。其後，細胞用1×滲透緩衝液洗滌兩次，再懸浮於1×PBS中，且在配備有高通量自動進樣器(ThermoFisher CytKick)之細胞計數器(具有藍(3)/紅(3)/紫(4)/黃(4)之雷射組態的

ThermoFisher Attune NXT)上獲取。使用UltraComp eBeads (ThermoFisher 01-3333-41)及ArC胺無功補償珠粒套組(ThermoFisher A10346)進行補償。

*結果*非環狀

【1332】給藥新的LNP調配物F-41及F-42之小鼠展現與Moderna SM102 LNP調配物F-43及F-44相當的刺突蛋白特異性多功能CD4 T細胞反應。

實例8-B

對於編碼刺突蛋白之RNA的活體內T細胞反應-非人類靈長類動物

給藥方案

【1333】如實例5-C中所描述來製備LNP調配物。在第1天(一次)及第22天(一次)，經由肌肉內注射，以100 μg之劑量水準，將各調配物注射於3隻非未經處理之石蟹獼猴中。暫時限制所有NHP以用於劑量投與，且不鎮靜。在給藥之前，對給藥部位刮毛且視需要標記以用於臨床觀測。使用注射器/針，在分界區域內投與各劑量。在整個研究期間收集樣品以用於臨床病理學參數、藥物動力學分析及免疫原性分析。

分析

【1334】冷凍保存的PBMC在37℃水浴中解凍，且將細胞轉移至含有完全RPMI (RPMI [ThermoFisher 72400-047])之錐形管中，該完全RPMI含有10% FBS [ThermoFisher A38400-01]及1× Pen/Strep [ThermoFisher 15-140-122]。將細胞離心，再懸浮於含有50 U/mL全能核酸酶(Benzonase) (EMD 70664-10KUN)之完全RPMI中，且在37℃下培育15 min。將細胞離心，再懸浮於完全RPMI中，且靜置3小時。將細胞離心

且再懸浮於含有1× GlutaMAX (ThermoFisher TP-050122)及1× Pen/Strep之CTL Test Plus培養基(C.T.L. CTLTP-005)中，且計數(ViCell XR，Beckman Coulter 731196)。調整濃度，且塗鋪細胞以用於下游功能分析。

【1335】根據製造商之方案，使用猴IFN-γ ELISpotPLUS套組(Mabtech 3421M-4HST-10)進行ELISpot分析。簡言之，培養盤用1×PBS洗滌，且在37℃下用含有10% FBS (ThermoFisher A38400-01)之RPMI (ThermoFisher 72400-047)阻斷1 h。在阻斷之後，塗鋪細胞，重複三次，且在以下條件下進行刺激：無肽(1% DMSO (ThermoFisher D12345))、0.5μg/mL之跨越SARS-CoV-2之刺突蛋白的S1+S2肽池(JPT PM-WCPV-S-1)及1× PMA/離子黴素(ThermoFisher 00-4970-93)。塗鋪200,000個細胞/孔(對於DMSO及肽池刺激)，且塗鋪來自各組之合併樣品之10,000個/孔(對於PMA/離子黴素刺激)。

【1336】在37℃、5% CO_2下培育培養盤過夜。在培育之後，洗滌培養盤，且在室溫下添加1 μg/mL偵測抗體持續2 h。重複洗滌，且添加1×鏈黴抗生物素蛋白-HRP，且在室溫下培育1 h。最後，洗滌培養盤且添加TMB受質，在暗處培育以用於產生色點，接著使用自來水洗掉。使培養盤進行乾燥，且使用ELISpot分析儀(ZellNet Consulting)計數。

【1337】對於胞內染色(ICS)，將來自各動物之大致2,000,000個細胞/孔塗鋪在96孔圓底盤(Costar 3799)中，且使用上文描述之相同ELISpot條件進行刺激。在一小時刺激之後，將高基氏體塞(BD 555029)添加至所有孔中，且在37℃與5% CO_2下培育培養盤過夜。其後，洗滌細胞且染色以用於流式細胞分析技術。簡言之，細胞用1×PBS洗滌，且在室溫下用活

/死可固定水(Live/Dead Fixable Aqua) (Invitrogen L34966)染色20 min。接著，細胞用細胞染色緩衝液(BioLegend 420201)洗滌兩次，且與Fc阻斷(Biolegend 156604)一起在4℃下培育5min，隨後在4℃下進行表面抗體染色30 min。在表面染色之後，接著，細胞用細胞染色緩衝液洗滌兩次，且在4℃下在IC固定緩衝液中固定30 min，且在1×滲透緩衝液(ThermoFisher 88-8824-00)中滲透。在4℃下進行胞內染色1小時。其後，細胞用1×滲透緩衝液洗滌兩次，再懸浮於1×PBS中，且在配備有高通量自動進樣器(ThermoFisher CytKick)之細胞計數器(具有藍(3)/紅(3)/紫(4)/黃(4)之雷射組態的ThermoFisher Attune NXT)上獲取。使用UltraComp eBeads (ThermoFisher 01-3333-41)及ArC胺無功補償珠粒套組(ThermoFisher A10346)進行補償。

*結果*非環狀

【1338】藉由ICS分析評定，給藥新的LNP調配物F-41及F-42之NHP展現比Moderna SM102 LNP調配物更大或與其相當的刺突蛋白特異性多功能CD4 T細胞反應。增強後兩週(第36天)，LNP調配物F-41展現分別與調配物F-43及F-44比較，大30及~2.6倍的刺突蛋白特異性CD4 T細胞反應。由F-42調配物誘導之刺突蛋白特異性CD4 T細胞反應比F-43高16倍且與F-44調配物相當。藉由ELISpot分析測定，在第36天，由新的LNP調配物F-41及F-42誘導之NHP中之抗原特異性T細胞反應大於Moderna SM102 LNP調配物。給藥F-41之NHP引發之刺突蛋白特異性IFNγ產生T細胞比分別由F-43及F-44調配物誘導之T細胞反應高16及6倍。F-42 LNP調配物誘導之NHP中之刺突蛋白特異性IFNγ產生T細胞增加亦比分別由F-43及F-44調配物引發之彼等者高11及4倍。

XIII. 等效物及範疇

【1339】 熟習此項技術者將認識到或能夠僅使用常規實驗便確定根據本文所描述之揭示內容之特定實施例之許多等效物。本發明之範疇不意欲受限於以上描述，而實際上如隨附申請專利範圍中所闡述。

【1340】 在申請專利範圍中，除非相反地指示或另外自上下文顯而易見，否則諸如「一(a/an)」及「該(the)」之冠詞可意謂一個或超過一個。除非相反地指示或以其他方式自上下文顯而易見，否則若一個、超過一個或所有群組成員存在於、用於既定產物或方法中或以其他方式與其相關，則視為滿足在群組的一或多個成員之間包括「或」之主張或描述。本發明包括其中恰好群組之一個成員存在於、用於既定產物或方法中或以其他方式與其相關之實施例。本發明包括超過一個或全部群組成員存在於、用於既定產物或方法中或以其他方式與其相關之實施例。

【1341】 亦應注意，術語「包含」意欲為開放的且容許但不要求包括額外元件或步驟。當本文使用術語「包含」時，亦因此涵蓋及揭示術語「由……組成」。

【1342】 如本文所用，術語「約」意謂在給定值或範圍之10%內。因此，「約10」意謂9至11。

【1343】 當給出範圍時，包括端點。此外，應理解，除非另有指示或以其他方式自上下文及一般熟習此項技術者之理解顯而易見，否則表示為範圍之值可在本發明之不同實施例中採用所陳述範圍內之任何特定值或子範圍，除非上下文另外明確規定，否則達到該範圍下限之單位的十分之一。

【1344】 另外，應理解，屬於先前技術內之本發明之任何特定實施

例可自任何一或多個技術方案中明確排除。因為認為此類實施例為一般熟習此項技術者已知的，所以可排除該等實施例，即使未在本文中明確地闡述該排除。出於任何原因，無論是否與先前技術之存在有關，本發明之組合物之任何特定實施例(例如任何抗生素、治療或活性成分；任何產生方法；任何使用方法；等)可自任何一或多個技術方案中排除。

【1345】 應理解，已使用之字語係描述性而非限制性字語，且可在不脫離本發明在其較廣泛態樣中之真實範疇及精神的情況下，在隨附申請專利範圍之範圍內作出改變。

【1346】 儘管已經相對於所描述之若干實施例以一定的長度及一些特殊性描述了本發明，但並非意欲本發明應受限於任何此類細節或實施例或任何特定實施例，而是應該參考隨附申請專利範圍進行解釋，以便鑒於先前技術提供對此類申請專利範圍之儘可能最廣泛的解釋，並因此有效地涵蓋本發明之預期範疇。

【符號說明】

【1347】

10: 有效負載區域

20: 側接區域

30: 調節區域

40: 標識符區域

100: 初始聚核苷酸構築體

BC: 條碼區域

CB: 反向條碼區域

P: 有效負載區域

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing  nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3"
fileName="C250556SEQA.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.2.0"
productionDate="2023-01-09">
 <ApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>WO</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText></ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2022-09-02</FilingDate>
 </ApplicationIdentification>
 <ApplicantFileReference>RNG7-WO1</ApplicantFileReference>
 <EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>63/244,152</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2021-09-14</FilingDate>
 </EarliestPriorityApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="zh">美商雷納嘉德醫療管理公司(RENAGADE THERAPEUTICS
MANAGEMENT INC.)</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>RENAGADE THERAPEUTICS MANAGEMENT INC.</ApplicantNameLatin>
 <InventorName languageCode="zh">穆瑟薩米 賈亞拉曼(MUTHUSAMY
JAYARAMAN)</InventorName>
 <InventorNameLatin>MUTHUSAMY JAYARAMAN</InventorNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="zh">非環狀脂質及其使用方法</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>54</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>575</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..575</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q1">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Campylobacter jejuni</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>空腸彎曲桿菌</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MGFRINTNVAALNAKANADLNSKSLDASLSRLSSGLRINSAADDASGMAIKDSLRSQANTLG
QAISNGNDALGILQTADKAMDEQLKILDTIKTKATQAAQDGQSLKTRTMLQADINRLMEELDNIANTTSFNGKQLLSGNF
INQEFQIGASSNQTVKASIGATQSSKIGLTRFETGSRISVGGEVQFTLKNYNGIDDFKFQKVVISTSVGTGLGALADEIN
KNADKTGVRATFTVETRGMGAVRAGATSDDFAINGVKIGKVDYKDGDANGALVSAINSVKDTTGVEASIDENGKLLLTSR
EGRGIKIEGNIGRGAFINPNMLENYGRLSLVKNDGKDILISGTNLSAIGFGTGNMISQASVSLRESKGQIDANVADAMGF
NSANKGNILGGYSSVSAYMSSTGSGFSSGSGFSVGSGKNYSTGFANTIAISAASQLSAVYNVSAGSGFSSGSNLSQFATM
KTSAGNTLGVKDETAGVTTLKGAMAVMDIAETAITNLDQIRADIGSVQNQVTSTINNITVTQVNVKAAESQIRDVDFAAE
SANYSKANILAQSGSYAMAQANSVQQNVLRLLQ</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>2710</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..2710</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q2">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Clostridioides difficile</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>艱難梭菌</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
```

</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTTNNNENKYLQLKKLNESIDVFMNKY
KTSSRNRALSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFVWIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLWYDSEAFLVNTLKK
AIVESSTTEALQLLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPTIDDIIKSHLVSEYNRDETVLES
YRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQELLNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGVYLDVDMLPGIHSDLFKTISR
PSSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIESKSEKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVI
NQALISKQGSYLTNLVIEQVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFTDTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIAPYLQVGFMPEAR
STISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKASDLIEFKFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSL
SEDNGVDFNKNTALDKNYLLNNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLFSKNPKNSIIIQRNMNESAKSYF
LSDDGESILELNKYRIPERLKNKEKVKVTFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGCNM
FSYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKNSITIGANQYEVRINSEGRKELLAHSGKWINKEEAIMSDLSSKEYIFF
DSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFN
LLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDV
NGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTIN
VLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGIS
AGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTV
TGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPG
KFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKD
DLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLV
AKSYSLLLSGDKNYLISNLSNTIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLE
FNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFM
NLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPD
TGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTE
GSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYY
YDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALTSYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGF
EYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTA
IISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLT
LNGKKYYFDNNSKAVTGLQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTG
YTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKY
YFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAI
VYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNT
NTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGL
RTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDAN
NIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGF
EYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDG
VKAPGIYG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">

<INSDSeq>
<INSDSeq_length>2366</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..2366</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q3">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Clostridioides difficile</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>艱難梭菌</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MSLVNRKQLEKMANVRFRTQEDEYVAILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLKDINSLTDIYIDT
YKKSGRNKALKKFKEYLVTEVLELKNNNLTPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKDVNSDYNVNVFYDSNAFLINTLK
KTVVESAINDTLESFRENLNDPRFDYNKFFRKRMEIIYDKQKNFINYYKAQREENPELIIDDIVKTYLSNEYSKEIDELN
TYIEESLNKITQNSGNDVRNFEEFKNGESFNLYEQELVERWNLAAASDILRISALKEIGGMYLDVDMLPGIQPDLFESIE
KPSSVTVDFWEMTKLEAIMKYKEYIPEYTSEHFDMLDEEVQSSFESVLASKSDKSEIFSSLGDMEASPLEVKIAFNSKGI
INQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNPAISEDNDFNTTTNTFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDV
KTTINLSGPEAYAAAYQDLLMFKEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKRNYFEGS
LGEDDNLDFSQNIVVDKEYLLEKISSLARSSERGYIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAKTPYDSVLFQKNIEDSEIAYYYN
PGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNTDIFAGFDVDSLSTEIEAAIDLAKEDISPKSIEINLLGCNMFS
YSINVEETYPGKLLLKVKDKISELMPSISQDSIIVSANQYEVRINSEGRRELLDHSGEWINKEESIIKDISSKEYISFNP
KENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLI
ESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNG
KLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLL
PTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAG
IPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTD
DIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEF
YWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESD
VWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLS
KSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDS

KPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLM
SFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYD
LDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVW
SNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEK
FYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTE
DGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSD
GVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNF
NNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQ
NIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKY
YFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGF
KYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE</INSDSeq_sequen
ce>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>233</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..233</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q4">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Entamoeba histolytica</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>痢疾內阿米巴</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MFAFLLFIAFTSATNIILDLDQEVKDTNIYGVFLKNEASPEKLEEAEEKEKSSSAKPESSSN
EDNEDDEDEKASSSDNSESSSSDKPDNKPEASSSDKPEASSSDKPDNKPEASSSDKPDNKPEASSSDKPDNKPEASSSDK
PDNKPEASSSDKPDNKPEASSTNKPEASSTNKPEASSTNKPEASSTNKPEASSTSNSNDKSGSSSDNDNNNLDAASSPFI
VFCAIIIAIIF</INSDSeq_sequence>

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>233</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..233</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q5">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Entamoeba histolytica</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>痢疾內阿米巴</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MSCNQQKECCKKECQEKECCKECCCPRIKAFKKFINTFEKAQIGKEAPEFKAPAYCPCGSIK
EIDINEYRGKYVVLLFYPLDWTFVCPTEMIGYSELAGQLKEINCEVIGVSVDSVYCHQAWCEADKSKGGVGKLTFPLVSD
IKRCISIKYGMLNVEAGIARRGYVIIDDKGKVRYIQMNDDGIGRSTEETIRIVKAIQFSDEHGAVCPLNWKPGKDTIEPT
PDGIKKYLTAH</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>266</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..266</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q6">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Staphylococcus aureus</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>金黃色葡萄球菌</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MYKRLFISHVILIFALILVISTPNVLAESQPDPKPDELHKSSKFTGLMENMKVLYDDNHVSA
INVKSIDQFLYFDLIYSIKDTKLGNYDNVRVEFKNKDLADKYKDKYVDVFGANYYYQCYFSKKTNDINSHQTDKRKTCMY
GGVTEHNGNQLDKYRSITVRVFEDGKNLLSFDVQTNKKKVTAQELDYLTRHYLVKNKKLYEFNNSPYETGYIKFIENENS
FWYDMMPAPGDKFDQSKYLMMYNDNKMVDSKDVKIEVYLTTKKK</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="7">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>530</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..530</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q7">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Caliciviridae</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>杯狀病毒科</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MMMASKDATSSVDGASGAGQLVPEVNASDPLAMDPVAGSSTAVATAGQVNPIDPWIINNFVQ
APQGEFTISPNNTPGDVLFDLSLGPHLNPFLLHLSQMYNGWVGNMRVRIMLAGNAFTAGKIIVSCIPPGFGSHNLTIAQA
TLFPHVIADVRTLDPIEVPLEDVRNVLFHNNDRNQQTMRLVCMLYTPLRTGGGTGDSFVVAGRVMTCPSPDFNFLFLVPP
TVEQKTRPFTLPNLPLSSLSNSRAPLPISSMGISPDNVQSVQFQNGRCTLDGRLVGTTPVSLSHVAKIRGTSNGTVINLT
ELDGTPFHPFEGPAPIGFPDLGGCDWHINMTQFGHSSQTQYDVDTTPDTFVPHLGSIQANGIGSGNYVGVLSWISPPSHP
SGSQVDLWKIPNYGSSITEATHLAPSVYPPGFGEVLVFFMSKMPGPGAYNLPCLLPQEYISHLASEQAPTVGEAALLHYV
DPDTGRNLGEFKAYPDGFLTCVPNGASSGPQQLPINGVFVFVSWVSRFYQLKPVGTASSARGRLGLRR</INSDSeq_se
quence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="8">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>569</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..569</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q8">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Helicobacter pylori</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>幽門螺旋桿菌</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MKKISRKEYVSMYGPTTGDKVRLGDTDLIAEVEHDYTIYGEELKFGGGKTLREGMSQSNNPS
KEELDLIITNALIVDYTGIYKADIGIKDGKIAGIGKGGNKDMQDGVKNNLSVGPATEALAGEGLIVTAGGIDTHIHFISP
QQIPTAFASGVTTMIGGGTGPADGTNATTITPGRRNLKWMLRAAEEYSMNLGFLAKGNASNDASLADQIEAGAIGFKIHE
DWGTTPSAINHALDVADKYDVQVAIHTDTLNEAGCVEDTMAAIAGRTMHTFHTEGAGGGHAPDIIKVAGEHNILPASTNP
TIPFTVNTEAEHMDMLMVCHHLDKSIKEDVQFADSRIRPQTIAAEDTLHDMGIFSITSSDSQAMGRVGEVITRTWQTADK
NKKEFGRLKEEKGDNDNFRIKRYLSKYTINPAIAHGISEYVGSVEVGKVADLVLWSPAFFGVKPNMIIKGGFIALSQMGD
```

ANASIPTPQPVYYREMFAHHGKAKYDANITFVSQAAYDKGIKEELGLERQVLPVKNCRNITKKDMQFNDTTAHIEVNPET
YHVFVDGKEVTSKPANKVSLAQLFSIF</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>247</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..247</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q9">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Reoviridae</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>呼腸孤病毒科</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MASPFYRQLLSNSYVTNISDEVSEIGTRKATNVTVNPGPFAQTRYAPVNWGHGELSDSTLVQ
PTIDGPYQPTTFNLPIDYWMLIAPTQIGRVAEGTNTTDRWFASVLVEPNVSNTQREYVLDGQTVQLQVSNDSSTLWKFIL
FIKLEKNGTYSQYSTLSTSNKLCAWMKREGRVYWYAGTTPNASESYYLTINNDNSNVSCDAEFYLIPRSQTDLCAQYINN
GLPPIQNTRNVVPVSIASREIRHTR</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>710</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..710</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q10">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Candida albicans</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>白色念珠菌</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MTKRDRTIYSCDACRSRKIKCNRQTPCASCHKSKRDCVYTVSRQRDAQITNRKLDKKTYHQI
SAIEKKISALEGKKGLLQVETINFNKSFTDQTPLVELQSLFPYLLLSKQDPGCVLVRHHCHHLLEKDPRYFEYSQLLADL
SLTKRHHLTARAKALLGEAYIPSPQEGHTIDQLKHVLSLNPNFRFAGNFADPLTSFFSLIPPAWANKQLVDTFFQHIYPV
IPIIDETDFNTSINRVLGPQIDGHYINSFPSIGSADDLPFLALFLLVLRISYMYTPGACPVSYDTLRAAETIMKEFDITK
THSLTALQAEIMLRFYKIVAPESYTQSNYVQVSVGVLIQNCYSLALHRDPEYIGEHNPKQQHLRRKIWHLLLRMEVIDSA
IFQTILSSNPDASDTKLPQLIDQAPPMEQSIVKHIWRSTDLFVSLRKLVEINSKTSEDTPLETVLELLVEVETKLQAFLA
TIDSEASTVFYNDLVIFSVNFLLVYMYYSLYLFKGPTPLGNKYLLKSAQILFVDLARTRSTSLFLAYFNLNYIHLVLMIT
NFLRMRVDCIIHRHLRAQDSSVQDLQCCRYFLKIIFFSHVKELGNYSSSHKYAWQMRKVYLTLAKIMERSSDVLISNDPE
LVKSAAVDIPVKEINKLLEQYINFKGFTPTTLFDPTDNELIDEMQHENLWNAMENIEYSEKVYSGWIDAIKNVPSNWDWD
YWDFLKIS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="11">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>1255</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1255</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q11">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Severe acute respiratory syndrome related coronavirus</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>嚴重急性呼吸道症候群相關冠狀病毒</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MFIFLLFLTLTSGSDLDRCTTFDDVQAPNYTQHTSSMRGVYYPDEIFRSDTLYLTQDLFLPF
YSNVTGFHTINHTFGNPVIPFKDGIYFAATEKSNVVRGWVFGSTMNNKSQSVIIINNSTNVVIRACNFELCDNPFFAVSK
PMGTQTHTMIFDNAFNCTFEYISDAFSLDVSEKSGNFKHLREFVFKNKDGFLYVYKGYQPIDVVRDLPSGFNTLKPIFKL
PLGINITNFRAILTAFSPAQDIWGTSAAAYFVGYLKPTTFMLKYDENGTITDAVDCSQNPLAELKCSVKSFEIDKGIYQT
SNFRVVPSGDVVRFPNITNLCPFGEVFNATKFPSVYAWERKKISNCVADYSVLYNSTFFSTFKCYGVSATKLNDLCFSNV
YADSFVVKGDDVRQIAPGQTGVIADYNYKLPDDFMGCVLAWNTRNIDATSTGNYNYKYRYLRHGKLRPFERDISNVPFSP
DGKPCTPPALNCYWPLNDYGFYTTTGIGYQPYRVVVLSFELLNAPATVCGPKLSTDLIKNQCVNFNFNGLTGTGVLTPSS
KRFQPFQQFGRDVSDFTDSVRDPKTSEILDISPCSFGGVSVITPGTNASSEVAVLYQDVNCTDVSTAIHADQLTPAWRIY
STGNNVFQTQAGCLIGAEHVDTSYECDIPIGAGICASYHTVSLLRSTSQKSIVAYTMSLGADSSIAYSNNTIAIPTNFSI
SITTEVMPVSMAKTSVDCNMYICGDSTECANLLLQYGSFCTQLNRALSGIAAEQDRNTREVFAQVKQMYKTPTLKYFGGF
NFSQILPDPLKPTKRSFIEDLLFNKVTLADAGFMKQYGECLGDINARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDDMIAAYTAALVSG
TATAGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKQIANQFNKAISQIQESLTTTSTALGKLQDVVNQNAQALN
TLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRV
DFCGKGYHLMSFPQAAPHGVVFLHVTYVPSQERNFTTAPAICHEGKAYFPREGVFVFNGTSWFITQRNFFSPQIITTDNT
FVSGNCDVVIGIINNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDL
QELGKYEQYIKWPWYVWLGFIAGLIAIVMVTILLCCMTSCCSCLKGACSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT</INSDS
eq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1273</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..1273</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q12">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Severe acute respiratory syndrome related coronavirus</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>嚴重急性呼吸道症候群相關冠狀病毒</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNV
TWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLG
VYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSA
LEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCT
LKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGV
SPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLK
PFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFN
FNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPV
AIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLGAE
NSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVF
AQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLP
PLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTA
SALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASA
NLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHW
FVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKE
IDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSE
PVLKGVKLHYT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1353</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1353</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q13">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Middle East respiratory syndrome-related coronavirus</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>中東呼吸道症候群相關冠狀病毒</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MIHSVFLLMFLLTPTESYVDVGPDSVKSACIEVDIQQTFFDKTWPRPIDVSKADGIIYPQGR
TYSNITITYQGLFPYQGDHGDMYVYSAGHATGTTPQKLFVANYSQDVKQFANGFVVRIGAAANSTGTVIISPSTSATIRK
IYPAFMLGSSVGNFSDGKMGRFFNHTLVLLPDGCGTLLRAFYCILEPRSGNHCPAGNSYTSFATYHTPATDCSDGNYNRN
ASLNSFKEYFNLRNCTFMYTYNITEDEILEWFGITQTAQGVHLFSSRYVDLYGGNMFQFATLPVYDTIKYYSIIPHSIRS
IQSDRKAWAAFYVYKLQPLTFLLDFSVDGYIRRAIDCGFNDLSQLHCSYESFDVESGVYSVSSFEAKPSGSVVEQAEGVE
CDFSPLLSGTPPQVYNFKRLVFTNCNYNLTKLLSLFSVNDFTCSQISPAAIASNCYSSLILDYFSYPLSMKSDLSVSSAG
PISQFNYKQSFSNPTCLILATVPHNLTTITKPLKYSYINKCSRFLSDDRTEVPQLVNANQYSPCVSIVPSTVWEDGDYYR
KQLSPLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMGFGITVQYGTDTNSVCPKLEFANDTKIASQLGNCVEYSLYGVSGRGVFQNCTA
VGVRQQRFVYDAYQNLVGYYSDDGNYYCLRACVSVPVSVIYDKETKTHATLFGSVACEHISSTMSQYSRSTRSMLKRRDS
TYGPLQTPVGCVLGLVNSSLFVEDCKLPLGQSLCALPDTPSTLTPRSVRSVPGEMRLASIAFNHPIQVDQLNSSYFKLSI
PTNFSFGVTQEYIQTTIQKVTVDCKQYVCNGFQKCEQLLREYGQFCSKINQALHGANLRQDDSVRNLFASVKSSQSSPII
PGFGGDFNLTLLEPVSISTGSRSARSAIEDLLFDKVTIADPGYMQGYDDCMQQGPASARDLICAQYVAGYKVLPPLMDVN
MEAAYTSSLLGSIAGVGWTAGLSSFAAIPFAQSIFYRLNGVGITQQVLSENQKLIANKFNQALGAMQTGFTTTNEAFHKV
QDAVNNNAQALSKLASELSNTFGAISASIGDIIQRLDVLEQDAQIDRLINGRLTTLNAFVAQQLVRSESAALSAQLAKDK
VNECVKAQSKRSGFCGQGTHIVSFVVNAPNGLYFMHVGYYPSNHIEVVSAYGLCDAANPTNCIAPVNGYFIKTNNTRIVD
EWSYTGSSFYAPEPITSLNTKYVAPQVTYQNISTNLPPPLLGNSTGIDFQDELDEFFKNVSTSIPNFGSLTQINTTLLDL
TYEMLSLQQVVKALNESYIDLKELGNYTYYNKWPWYIWLGFIAGLVALALCVFFILCCTGCGTNCMGKLKCNRCCDRYEE
YDLEPHKVHVH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>

```
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>2193</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..2193</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q14">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Enterovirus A</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>腸病毒A</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MGSQVSTQRSGSHENSNSATEGSTINYTTINYYKDSYAATAGKQSLKQDPDKFANPVKDIFT
EMAAPLKSPSAEACGYSDRVAQLTIGNSTITTQEAANIIVGYGEWPSYCSDDDATAVDKPTRPDVSVNRFYTLDTKLWEK
SSKGWYWKFPDVLTETGVFGQNAQFHYLYRSGFCIHVQCNASKFHQEALLVAILPEYVIGTVAGGTGTEDSHPPYKQTQP
GADGFELQHPYVLDAGIPISQLTVCPHQWINLRTNNCATIIVPYMNTLPFDSALNHCNFGLLVVPISPLDFDQGATPVIP
ITITLAPMCSEFAGLRQAVTQGFPTEPKPGTNQFLTTDDGVSAPILPNFHPTPCIHIPGEVRNLLELCQVETILEVNNVP
TNATSLMERLRFPVSAQAGKGELCAVFRADPGRDGPWQSTMLGQLCGYYTQWSGSLEVTFMFTGSFMATGKMLIAYTPPG
GPLPKDRATAMLGTHVIWDFGLQSSVTLVIPWISNTHYRAHARDGVFDYYTTGLVSIWYQTNYVVPIGAPNTAYIIALAA
AQKNFTTKLCKDTSHILQTASIQGDRVADVIESSIGDSVSRALTQALPAPTGQNTQVSSHRLDTGEVPALQAAEIGASSN
TSDESMIETRCVLNSHSTAETTLDSFFSRAGLVGEIDLPLKGTTNPNGYANWDIDITGYAQMRRKVELFTYMRFDAEFTF
AACTPTGEVVPQLLQYMFVPPGAPKPESRESLAWQTATNPSVFVKLTDPPAQVSVPFMSPASAYQWFYDGYPTFGEHKQE
KDLEYGACPNNMMGTFSVRTVGSSKSKYPLVVRIYMRMKHVRAWIPRPMRNQNYLFKANPNYAGNSIKPTGTSRTAITTL
GKFGQQSGAIYVGNFRVVNRHLATHNDWANLVWEDSSRDLLVSSTTAQGCDTIARCDCQTGVYYCNSKRKHYPVSFSKPS
LIYVEASEYYPARYQSHLMLAAGHSEPGDCGGILRCQHGVVGIVSTGGNGLVGFADVRDLLWLDEEAMEQGVSDYIKGLG
DAFGTGFTDAVSREVEALKNHLIGSEGAVEKILKNLIKLISALVIVIRSDYDMVTLTATLALIGCHGSPWAWIKAKTASI
LGIPIAQKQSASWLKKFNDMANAAKGLEWISSKISKFIDWLKEKIIPAARFKVEFLNNLKQLPLLESQISNLEQSAASQE
DLEAMFGNVSYLAHFCRKFQPLYATEAKRVYALEKRMNNYMQFKSKHRIEPVCLIIRGSPGTGKSLATGIIARAIADKYH
SSVYSLPPDPDHFDGYKQQVVTVMDDLCQNPDGKDMSLFCQMVSTVDFIPPMASLEEKGVSFTSKFVIASTNSSNIIVPT
```

VSDSDAIRRRFYMDCDIEVTDSYKTDLGRLDAGRAAKLCSENNTANFKRCSPLVCGKAIQLRDRKSKVRYSVDTVVSELI
REYNNRSAIGNTIEALFQGPPKFRPIRISLEEKPAPDAISDLLASVDSEEVRQYCRDQGWIIPETPTNVERHLNRAVLVM
QSIATVVAVVSLVYVIYKLFAGFQGAYSGAPKQILKKPVLRTATVQGPSLDFALSLLRRNIRQVQTDQGHFTMLGVRDRL
AVLPRHSQPGKTIWVEHKLVNILDAVELVDEQGVNLELTLITLDTNEKFRDITKFIPESISAASDATLVINTEHMPSMFV
PVGDVVQYGFLNLSGKPTHRTMMYNFPTKAGQCGGVVTSVGKVIGIHIGGNGRQGFCAGLKRSYFASEQGEIQWVKPNKE
TGRLNINGPTRTKLEPSVFHDVFEGNKEPAVLHSKDPRLEVDFEQALFSKYVGNTLYEPDEYIKEAALHYANQLKQLDID
TSQMSMEEACYGTENLEAIDLHTSAGYPYSALGIKKRVILDSTTRDVSKMKFYMDKYGLDLPYSTYVKDELRSIDKIKKG
KSRLIEASSLNDSVYLRMTFGHLYETFHANPGTVTGSAVGCNPDTFWSKLPILLPGSLFAFDYSGYDASLSPVWFRALEL
VLREIGYSEEAVSLVEGINHTHHVYRNKTYCVLGGMPSGCSGTSIFNSMINNIIIRALLIKTFKGIDLDELNMVAYGDDV
LASYPFPIDCLELARTGKEYGLTMTPADKSPCFNEVNWDNATFLKRGFLPDEQFPFLIHPTMLMKEIHESIRWTKDARNT
QDHVRSLCLLAWHNGKQEYEKFVSAIRSVPVGKALAIPNYENLRRNWLELF</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>907</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..907</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q15">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Human gammaherpesvirus 4</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>人類γ疱疹病毒4</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MEAALLVCQYTIQSLIHLTGEDPGFFNVEIPEFPFYPTCNVCTADVNVTINFDVGGKKHQLD
LDFGQLTPHTKAVYQPRGAFGGSENATNLFLLELLGAGELALTMRSKKLPINVTTGEEQQVSLESVDVYFQDVFGTMWCH
HAEMQNPVYLIPETVPYIKWDNCNSTNITAVVRAQGLDVTLPLSLPTSAQDSNFSVKTEMLGNEIDIECIMEDGEISQVL
PGDNKFNITCSGYESHVPSGGILTSTSPVATPIPGTGYAYSLRLTPRPVSRFLGNNSILYVFYSGNGPKASGGDYCIQSN
IVFSDEIPASQDMPTNTTDITYVGDNATYSVPMVTSEDANSPNVTVTAFWAWPNNTETDFKCKWTLTSGTPSGCENISGA

FASNRTFDITVSGLGTAPKTLIITRTATNATTTTHKVIFSKAPESTTTSPTLNTTGFADPNTTTGLPSSTHVPTNLTAPA
STGPTVSTADVTSPTPAGTTSGASPVTPSPSPWDNGTESKAPDMTSSTSPVTTPTPNATSPTPAVTTPTPNATSPTPAVT
TPTPNATSPTLGKTSPTSAVTTPTPNATSPTLGKTSPTSAVTTPTPNATSPTLGKTSPTSAVTTPTPNATGPTVGETSPQ
ANATNHTLGGTSPTPVVTSQPKNATSAVTTGQHNITSSSTSSMSLRPSSNPETLSPSTSDNSTSHMPLLTSAHPTGGENI
TQVTPASISTHHVSTSSPAPRPGTTSQASGPGNSSTSTKPGEVNVTKGTPPQNATSPQAPSGQKTAVPTVTSTGGKANST
TGGKHTTGHGARTSTEPTTDYGGDSTTPRPRYNATTYLPPSTSSKLRPRWTFTSPPVTTAQATVPVPPTSQPRFSNLSML
VLQWASLAVLTLLLLLVMADCAFRRNLSTSHTYTTPPYDDAETYV</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>269</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..269</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q16">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Bordetella pertussis</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>百日咳桿菌</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MRCTRAIRQTARTGWLTWLAILAVTAPVTSPAWADDPPATVYRYDSRPPEDVFQNGFTAWGN
NDNVLDHLTGRSCQVGSSNSAFVSTSSSRRYTEVYLEHRMQEAVEAERAGRGTGHFIGYIYEVRADNNFYGAASSYFEYV
DTYGDNAGRILAGALATYQSEYLAHRRIPPENIRRVTRVYHNGITGETTTTEYSNARYVSQQTRANPNPYTSRRSVASIV
GTLVRMAPVIGACMARQAESSEAMAAWSERAGEAMVLVYYESIAYSF</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>

```
    <INSDSeq_length>1315</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..1315</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q17">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Clostridium tetani</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>破傷風梭菌</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MPITINNFRYSDPVNNDTIIMMEPPYCKGLDIYYKAFKITDRIWIVPERYEFGTKPEDFNPP
SSLIEGASEYYDPNYLRTDSDKDRFLQTMVKLFNRIKNNVAGEALLDKIINAIPYLGNSYSLLDKFDTNSNSVSFNLLEQ
DPSGATTKSAMLTNLIIFGPGPVLNKNEVRGIVLRVDNKNYFPCRDGFGSIMQMAFCPEYVPTFDNVIENITSLTIGKSK
YFQDPALLLMHELIHVLHGLYGMQVSSHEIIPSKQEIYMQHTYPISAEELFTFGGQDANLISIDIKNDLYEKTLNDYKAI
ANKLSQVTSCNDPNIDIDSYKQIYQQKYQFDKDSNGQYIVNEDKFQILYNSIMYGFTEIELGKKFNIKTRLSYFSMNHDP
VKIPNLLDDTIYNDTEGFNIESKDLKSEYKGQNMRVNTNAFRNVDGSGLVSKLIGLCKKIIPPTNIRENLYNRTASLTDL
GGELCIKIKNEDLTFIAEKNSFSEEPFQDEIVSYNTKNKPLNFNYSLDKIIVDYNLQSKITLPNDRTTPVTKGIPYAPEY
KSNAASTIEIHNIDDNTIYQYLYAQKSPTTLQRITMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQGILFLQWVRDIIDD
FTNESSQKTTIDKISDVSTIVPYIGPALNIVKQGYEGNFIGALETTGVVLLLEYIPEITLPVIAALSIAESSTQKEKIIK
TIDNFLEKRYEKWIEVYKLVKAKWLGTVNTQFQKRSYQMYRSLEYQVDAIKKIIDYEYKIYSGPDKEQIADEINNLKNKL
EEKANKAMININIFMRESSRSFLVNQMINEAKKQLLEFDTQSKNILMQYIKANSKFIGITELKKLESKINKVFSTPIPFS
YSKNLDCWVDNEEDIDVILKKSTILNLDINNDIISDISGFNSSVITYPDAQLVPGINGKAIHLVNNESSEVIVHKAMDIE
YNDMFNNFTVSFWLRVPKVSASHLEQYGTNEYSIISSMKKHSLSIGSGWSVSLKGNNLIWTLKDSAGEVRQITFRDLPDK
FNAYLANKWVFITITNDRLSSANLYINGVLMGSAEITGLGAIREDNNITLKLDRCNNNNQYVSIDKFRIFCKALNPKEIE
KLYTSYLSITFLRDFWGNPLRYDTEYYLIPVASSSKDVQLKNITDYMYLTNAPSYTNGKLNIYYRRLYNGLKFIIKRYTP
NNEIDSFVKSGDFIKLYVSYNNNEHIVGYPKDGNAFNNLDRILRVGYNAPGIPLYKKMEAVKLRDLKTYSVQLKLYDDKN
ASLGLVGTHNGQIGNDPNRDILIASNWYFNHLKDKILGCDWYFVPTDEGWTND</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="18">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>438</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..438</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q18">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Francisella tularensis</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>土拉熱法蘭西斯氏菌</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MLKSISRVLVAGFALAKVSPVFSMEIYTVKSNDYLYKIAKNHAVTGVSISELTDAIKGINKS
EIPGIIDNRIRIGDKLAIPTTKAEVEDGLTLMRNQIIQSSYQQPSSDTTSQQPSTPAANLGDNTAAANDADDSSTPSVVS
QDKIPVLIPTDDNSTPETYKSNLDTQINSDNIQETASYEQQPTQSSSTWGSLFRFIIYVIILAVVVVVGKRFWETRNSKK
EQELELISKKKRDHLMSRISPVVSDNEFYRSDKVNNSPQEEFDFFGAAKSSRSEVTTVDEKIQSQQESEDTFEQPAQNEE
DLFAQRDKNIIVKTEKGVVFETNTDDTLVNSTADETKVEEIDSQQQAEQELQYINELIEQFLDSEKYVEASITIQDSLEK
DPNNIDLRYKLLEVYARAGDEIAFEGEVHFIKSKNIVSMFDPLHQKIAKLRDKYFE</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>398</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..398</INSDFeature_location>

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q19">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Streptococcus pneumoniae</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>肺炎鏈球菌</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MNKKKLGIRLLSLLALGGFVLANPVFADQNFARNEKEAKDSAITFIQKSAAIKAGARSAEDI
KLDKVNLGGELSGSNMYVYNISTGGFVIVSGDKRSPEILGYSTSGSFDANGKENIASFMESYVEQIKENKKLDTTYAGTA
EIKQPVVKSLLDSKGIHYNQGNPYNLLTPVIEKVKPGEQSFVGQHAATGCVATATAQIMKYHNYPNKGLKDYTYTLSSNN
PYFNHPKNLFAAISTRQYNWNNILPTYSGRESNVQKMAISELMADVGISVDMDYGPSSGSAGSSRVQRALKENFGYNQSV
HQINRSDFSKQDWEAQIDKELSQNQPVYYQGVGKVGGHAFVIDGADGRNFYHVNWGWGGVSDGFFRLDALNPSALGTGGG
AGGFNGYQSAVVGIKP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="20">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>350</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..350</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q20">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Staphylococcus aureus</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>金黃色葡萄球菌</NonEnglishQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MTKHYLNSKYQSEQRSSAMKKITMGTASIILGSLVYIGADSQQVNAATEATNATNNQSTQVS
QATSQPINFQVQKDGSSEKSHMDDYMQHPGKVIKQNNKYYFQTVLNNASFWKEYKFYNANNQELATTVVNDNKKADTRTI
NVAVEPGYKSLTTKVHIVVPQINYNHRYTTHLEFEKAIPTLADAAKPNNVKPVQPKPAQPKTPTEQTKPVQPKVEKVKPT
VTTTSKVEDNHSTKVVSTDTTKDQTKTQTAHTVKTAQTAQEQNKVQTPVKDVATAKSESNNQAVSDNKSQQTNKVTKHNE
TPKQASKAKELPKTGLTSVDNFISTVAFATLALLGSLSLLLFKRKESK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="21">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>645</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..645</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q21">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Staphylococcus aureus</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>金黃色葡萄球菌</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MNKQQKEFKSFYSIRKSSLGVASVAISTLLLLMSNGEAQAAAEETGGTNTEAQPKTEAVASP
TTTSEKAPETKPVANAVSVSNKEVEAPTSETKEAKEVKEVKAPKETKAVKPAAKATNNTYPILNQELREAIKNPAIKDKD
HSAPNSRPIDFEMKKENGEQQFYHYASSVKPARVIFTDSKPEIELGLQSGQFWRKFEVYEGDKKLPIKLVSYDTVKDYAY
IRFSVSNGTKAVKIVSSTHFNNKEEKYDYTLMEFAQPIYNSADKFKTEEDYKAEKLLAPYKKAKTLERQVYELNKIQDKL
PEKLKAEYKKKLEDTKKALDEQVKSAITEFQNVQPTNEKMTDLQDTKYVVYESVENNESMMDTFVKHPIKTGMLNGKKYM
VMETTNDDYWKDFMVEGQRVRTISKDAKNNTRTIIFPYVEGKTLYDAIVKVHVKTIDYDGQYHVRIVDKEAFTKANTDKS
NKKEQQDNSAKKEATPATPSKPTPSPVEKESQKQDSQKDDNKQLPSVEKENDASSESGKDKTPATKPTKGEVESSSTTPT
```

KVVSTTQNVAKPTTASSKTTKDVVQTSAGSSEAKDSAPLQKANIKNTNDGHTQSQNNKNTQENKAKSLPQTGEESNKDMT
LPLMALLALSSIVAFVLPRKRKN</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1349</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1349</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q22">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Staphylococcus aureus</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>金黃色葡萄球菌</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MLNRENKTAITRKGMVSNRLNKFSIRKYTVGTASILVGTTLIFGLGNQEAKAAESTNKELNE
ATTSASDNQSSDKVDMQQLNQEDNTKNDNQKEMVSSQGNETTSNGNKLIEKESVQSTTGNKVEVSTAKSDEQASPKSTNE
DLNTKQTISNQEALQPDLQENKSVVNVQPTNEENKKVDAKTESTTLNVKSDAIKSNDETLVDNNSNSNNENNADIILPKS
TAPKRLNTRMRIAAVQPSSTEAKNVNDLITSNTTLTVVDADKNNKIVPAQDYLSLKSQITVDDKVKSGDYFTIKYSDTVQ
VYGLNPEDIKNIGDIKDPNNGETIATAKHDTANNLITYTFTDYVDRFNSVQMGINYSIYMDADTIPVSKNDVEFNVTIGN
TTTKTTANIQYPDYVVNEKNSIGSAFTETVSHVGNKENPGYYKQTIYVNPSENSLTNAKLKVQAYHSSYPNNIGQINKDV
TDIKIYQVPKGYTLNKGYDVNTKELTDVTNQYLQKITYGDNNSAVIDFGNADSAYVVMVNTKFQYTNSESPTLVQMATLS
STGNKSVSTGNALGFTNNQSGGAGQEVYKIGNYVWEDTNKNGVQELGEKGVGNVTVTVFDNNTNTKVGEAVTKEDGSYLI
PNLPNGDYRVEFSNLPKGYEVTPSKQGNNEELDSNGLSSVITVNGKDNLSADLGIYKPKYNLGDYVWEDTNKNGIQDQDE
KGISGVTVTLKDENGNVLKTVTTDADGKYKFTDLDNGNYKVEFTTPEGYTPTTVTSGSDIEKDSNGLTTTGVINGADNMT
LDSGFYKTPKYNLGNYVWEDTNKDGKQDSTEKGISGVTVTLKNENGEVLQTTKTDKDGKYQFTGLENGTYKVEFETPSGY
TPTQVGSGTDEGIDSNGTSTTGVIKDKDNDTIDSGFYKPTYNLGDYVWEDTNKNGVQDKDEKGISGVTVTLKDENDKVLK
TVTTDENGKYQFTDLNNGTYKVEFETPSGYTPTSVTSGNDTEKDSNGLTTTGVIKDADNMTLDSGFYKTPKYSLGDYVWY
DSNKDGKQDSTEKGIKDVKVTLLNEKGEVIGTTKTDENGKYCFDNLDSGKYKVIFEKPAGLTQTVTNTTEDDKDADGGEV

DVTITDHDDFTLDNGYFEEDTSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDS
DSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDS
DSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDSDAGKHTPVKPMSTTKDHHNKAKALPETGSENNGSNNATLFGGLFAALGSLLLFG
RRKKQNK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="23">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1166</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1166</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q23">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Staphylococcus aureus</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>金黃色葡萄球菌</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MINRDNKKAITKKGMISNRLNKFSIRKYTVGTASILVGTTLIFGLGNQEAKAAENTSTENAK
QDDATTSDNKEVVSETENNSTTENNSTNPIKKETNTDSQPEAKKESTSSSTQKQQNNVTATTETKPQNIEKENVKPSTDK
TATEDTSVILEEKKAPNNTNNDVTTKPSTSEPSTSEIQTKPTTPQESTNIENSQPQPTPSKVDNQVTDATNPKEPVNVSK
EELKNNPEKLKELVRNDSNTDHSTKPVATAPTSVAPKRVNAKMRFAVAQPAAVASNNVNDLIKVTKQTIKVGDGKDNVAA
AHDGKDIEYDTEFTIDNKVKKGDTMTINYDKNVIPSDLTDKNDPIDITDPSGEVIAKGTFDKATKQITYTFTDYVDKYED
IKSRLTLYSYIDKKTVPNETSLNLTFATAGKETSQNVTVDYQDPMVHGDSNIQSIFTKLDEDKQTIEQQIYVNPLKKSAT
NTKVDIAGSQVDDYGNIKLGNGSTIIDQNTEIKVYKVNSDQQLPQSNRIYDFSQYEDVTSQFDNKKSFSNNVATLDFGDI
NSAYIIKVVSKYTPTSDGELDIAQGTSMRTTDKYGYYNYAGYSNFIVTSNDTGGGDGTVKPEEKLYKIGDYVWEDVDKDG
VQGTDSKEKPMANVLVTLTYPDGTTKSVRTDANGHYEFGGLKDGETYTVKFETPTGYLPTKVNGTTDGEKDSNGSSVTVK
INGKDDMSLDTGFYKEPKYNLGDYVWEDTNKDGIQDANEPGIKDVKVTLKDSTGKVIGTTTTDASGKYKFTDLDNGNYTV
EFETPAGYTPTVKNTTADDKDSNGLTTTGVIKDADNMTLDRGFYKTPKYSLGDYVWYDSNKDGKQDSTEKGIKDVTVTLQ
NEKGEVIGTTKTDENGKYRFDNLDSGKYKVIFEKPAGLTQTVTNTTEDDKDADGGEVDVTITDHDDFTLDNGYFEEDTSD

SDSDSDS

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..448</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q25">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Human alphaherpesvirus 2</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>人類α疱疹病毒2</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MDVRRPIREAVNNRRKPKFLSVSFNQDDSCFSVALENGFRIFNTDPLTSKLSKTFKESATNQ
SRGTGIGYTRMLYRTNYIALVGGGKRPRHALNKLIIWDDLLQKETITLKFMSSIKDVFLSRIHIVVVLENTIEIFQFQTN
PQRICPILDIPPNGSVDYVVCSSKHLQSQASQSQSKILEIIAFPSNKCVGQIQVADLSQIKYNSQNPKESALLPTSIIKA
HKNPIKLVRLNRQGTMVATCSVQGTLIRIFSTHNGTLIKEFRRGVDKADIYEMSFSPNGSKLAVLSNKQTLHIFQIFETT
NTETNTPDHSRANGSSHPLKNYIPKGLWRPKYLDSVWSICNAHLKNPIFDAHRNDNSGDVTHDNEFYKDRCRIGWCQDSN
NREQDDSLVLVWQNSGIWEKFVILEKEQQDSSKTHYSLNESLRNEDTKSAGEPTRWELVRESWREL</INSDSeq_sequ
ence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="26">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>361</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..361</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q26">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Human Cytomegalovirus</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>人類巨細胞病毒</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MWVLTPAAFAGKLLSVFRQPLSSLWRSLVPLFCWLRATFWLLATKRRKQQLVLRGPDETKEE
EEDPPLPTTPTSVNYHFTRQCNYKCGFCFHTAKTSFVLPLEEAKRGLLLLKEAGMEKINFSGGEPFLQDRGEYLGKLVRF
CKVELRLPSVSIVSNGSLIRERWFQNYGEYLDILAISCDSFDEEVNVLIGRGQGKKNHVENLQKLRRWCRDYRVAFKINS
VINRFNVEEDMTEQIKALNPVRWKVFQCLLIEGENCGEDALREAERFVIGDEEFERFLERHKEVSCLVPESNQKMKDSYL
ILDEYMRFLNCRKGRKDPSKSILDVGVEEAIKFSGFDEKMFLKRGGKYIWSKADLKLDW</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="27">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>242</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..242</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q27">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Human immunodeficiency virus 1</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>人類免疫缺乏病毒1</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

<INSDSeq_sequence>MAETEALSKLREDFRMQNKSVFILGASGETGRVLLKEILEQGLFSKVTLIGRRKLTFDEEAY
KNVNQEVVDFEKLDDYASAFQGHDVGFCCLGTTRGKAGAEGFVRVDRDYVLKSAELAKAGGCKHFNLLSSKGADKSSNFL
YLQVKGEVEAKVEELKFDRYSVFRPGVLLCDRQESRPGEWLVRKFFGSLPDSWASGHSVPVVTVVRAMLNNVVRPRDKQM
ELLENKAIHDLGKAHGSLKP</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="28">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>505</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..505</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q30">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Papillomaviridae</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>乳頭瘤病毒科</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MSLWLPSEATVYLPPVPVSKVVSTDEYVARTNIYYHAGTSRLLAVGHPYFPIKKPNNNKILV
PKVSGLQYRVFRIHLPDPNKFGFPDTSFYNPDTQRLVWACVGVEVGRGQPLGVGISGHPLLNKLDDTENASAYAANAGVD
NRECISMDYKQTQLCLIGCKPPIGEHWGKGSPCTNVAVNPGDCPPLELINTVIQDGDMVDTGFGAMDFTTLQANKSEVPL
DICTSICKYPDYIKMVSEPYGDSLFFYLRREQMFVRHLFNRAGAVGENVPDDLYIKGSGSTANLASSNYFPTPSGSMVTS
DAQIFNKPYWLQRAQGHNNGICWGNQLFVTVVDTTRSTNMSLCAAISTSETTYKNTNFKEYLRHGEEYDLQFIFQLCKIT
LTADVMTYIHSMNSTILEDWNFGLQPPPGGTLEDTYRFVTSQAIACQKHTPPAPKEDPLKKYTFWEVNLKEKFSADLDQF
PLGRKFLLQAGLKAKPKFTLGKRKATPTTSSTSTTAKRKKRKL</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="29">
<INSDSeq>

```
    <INSDSeq_length>498</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..498</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q31">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Influenza</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>流感</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MASQGTKRSYEQMETDGERQNATEIRASVGKMIGGIGRFYIQMCTELKLSDYEGRLIQNSLT
IERMVLSAFDERRNKYLEEHPSAGKDPKKTGGPIYRRVNGKWMRELILYDKEEIRRIWRQANNGDDATAGLTHMMIWHSN
LNDATYQRTRALVRTGMDPRMCSLMQGSTLPRRSGAAGAAVKGVGTMVMELVRMIKRGINDRNFWRGENGRKTRIAYERM
CNILKGKFQTAAQKAMMDQVRESRNPGNAEFEDLTFLARSALILRGSVAHKSCLPACVYGPAVASGYDFEREGYSLVGID
PFRLLQNSQVYSLIRPNENPAHKSQLVWMACHSAAFEDLRVLSFIKGTKVLPRGKLSTRGVQIASNENMETMESSTLELR
SRYWAIRTRSGGNTNQQRASAGQISIQPTFSVQRNLPFDRTTIMAAFNGNTEGRTSDMRTEIIRMMESARPEDVSFQGRG
VFELSDEKAASPIVPSFDMSNEGSYFFGDNAEEYDN</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="30">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>252</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..252</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q32">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Influenza</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>流感</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MSLLTEVETYVLSIVPSGPLKAEIAQRLEDVFAGKNTDLEVLMEWLKTRPILSPLTKGILGF
VFTLTVPSERGLQRRRFVQNALNGNGDPNNMDKAVKLYRKLKREITFHGAKEIALSYSAGALASCMGLIYNRMGAVTTEV
AFGLVCATCEQIADSQHRSHRQMVTTTNPLIRHENRMVLASTTAKAMEQMAGSSEQAAEAMDIASQARQMVQAMRTIGTH
PSSSAGLKDDLLENLQAYQKRMGVQMQRFK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="31">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>565</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..565</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q33">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Influenza</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>流感</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
```

```
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MKANLLVLLCALAAADADTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDSHNGKLCRLK
GIAPLQLGKCNIAGWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGDFIDYEELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPN
HNTNGVTAACSHEGKSSFYRNLLWLTEKEGSYPKLKNSYVNKKGKEVLVLWGIHHPPNSKEQQNLYQNENAYVSVVTSNY
NRRFTPEIAERPKVRDQAGRMNYYWTLLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRGFGSGIITSNASMHECNTKCQTPLGAI
NSSLPYQNIHPVTIGECPKYVRSAKLRMVTGLRNIPSIQSRGLFGAIAGFIEGGWTGMIDGWYGYHHQNEQGSGYAADQK
STQNAINGITNKVNTVIEKMNIQFTAVGKEFNKLEKRMENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLLENERTLDFHDSNVKNLY
EKVKSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPKYSEESKLNREKVDGVKLESMGIYQILAIYSTVASSLVL
LVSLGAISFWMCSNGSLQCRICI</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="32">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>354</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..354</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q34">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>human polyomavirus</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>人類多瘤病毒</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MAPTKRKGERKDPVQVPKLLIRGGVEVLEVKTGVDSITEVECFLTPEMGDPDEHLRGFSKSI
SISDTFESDSPNRDMLPCYSVARIPLPNLNEDLTCGNILMWEAVTLKTEVIGVTSLMNVHSNGQATHDNGAGKPVQGTSF
HFFSVGGEALELQGVLFNYRTKYPDGTIFPKNATVQSQVMNTEHKAYLDKNKAYPVECWVPDPTRNENTRYFGTLTGGEN
VPPVLHITNTATTVLLDEFGVGPLCKGDNLYLSAVDVCGMFTNRSGSQQWRGLSRYFKVQLRKRRVKNPYPISFLLTDLI
NRRTPRVDGQPMYGMDAQVEEVRVFEGTEELPGDPDMMRYVDKYGQLQTKML</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
```

```
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="33">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>95</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..95</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q35">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Mycobacterium tuberculosis</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>結核分枝桿菌</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MTEQQWNFAGIEAAASAIQGNVTSIHSLLDEGKQSLTKLAAAWGGSGSEAYQGVQQKWDATA
TELNNALQNLARTISEAGQAMASTEGNVTGMFA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="34">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>317</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..317</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q36">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Variola virus</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>天花病毒</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MTEQMTLRGTLKGHNGWVTQIATTPQFPDMILSASRDKTIIMWKLTRDETNYGIPQRALRGH
SHFVSDVVISSDGQFALSGSWDGTLRLWDLTTGTTTRRFVGHTKDVLSVAFSSDNRQIVSGSRDKTIKLWNTLGVCKYTV
QDESHSEWVSCVRFSPNSSNPIIVSCGWDKLVKVWNLANCKLKTNHIGHTGYLNTVTVSPDGSLCASGGKDGQAMLWDLN
EGKHLYTLDGGDIINALCFSPNRYWLCAATGPSIKIWDLEGKIIVDELKQEVISTSSKAEPPQCTSLAWSADGQTLFAGY
TDNLVRVWQVTIGTR</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="35">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>83</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..83</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q37">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Pseudomonas aeruginosa</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>銅綠假單胞菌</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

<INSDSeq_sequence>MNNVLKFSALALAAVLATGCSSHSKETEARLTATEDAAARAQARADEAYRKADEALGAAQKA
QQTADEANERALRMLEKASRK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="36">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>574</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..574</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q38">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Human orthopneumovirus</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>人類正肺病毒</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELS
NIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPPTNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKRRFLGFLL
GVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNKQSCSISNIETVIE
FQQKNNRLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQ
LPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEINLC
NVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIIKTFSNGCDYVSNKGMDTVSVGNTLYYVNKQ
EGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSTTNIMITTIIIVIIVILLSLI
AVGLLLYCKARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="37">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>246</INSDSeq_length>

```
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..246</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q39">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Rubivirus rubellae</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>德國麻疹病毒</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>FHTETRTVWQLSVAGVSCNVTTEHPFCNTPHGQLEVQVPPDPGDLVEYIMNYTGNQQSRWGL
GSPNCHGPDWASPVCQRHSPDCSRLVGATPERPRLRLVDADDPLLRTAPGPGEVWVTPVIGSQARKCGLHIRAGPYGHAT
VEMPEWIHAHTTSDPWHPPGPLGLKFKTVRPVTLPRALAPPRNVRVTGCYQCGTPALVEGLAPGGGNCHLTVNGEDVGAF
PPGKFVTAALLNTPPPYQVSCGGE</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="38">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>230</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..230</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q40">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Toxoplasma gondii</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>剛地弓形蟲</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MAHGGIHLRQKRNFCPVTVSTVAVVFVVFMGVLVNSLGGVAVAADSGGVKQTPSETGSSGGQ
QEAVGTTEDYVNSSAMGGGQGDSLAEDDTTSEAAEGDVDPFPVLANEGKSEARGPSLEERIEEQGTRRRYSSVQEPQAKV
PSKRTQKRHRLIGAVVLAVSVAMLTAFFLRRTGRRSPQEPSGDGGGNDAGNNAGNGGNEGRGYGGRGEGGAEDDRRPLHP
ERVNVFDY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="39">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>623</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..623</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q41">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Human alphaherpesvirus 3</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>人類α疱疹病毒3</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MGTVNKPVVGVLMGFGIITGTLRITNPVRASVLRYDDFHIDEDKLDTNSVYEPYYHSDHAES
SWVNRGESSRKAYDHNSPYIWPRNDYDGFLENAHEHHGVYNQGRGIDSGERLMQPTQMSAQEDLGDDTGIHVIPTLNGDD
RHKIVNVDQRQYGDVFKGDLNPKPQGQRLIEVSVEENHPFTLRAPIQRIYGVRYTETWSFLPSLTCTGDAAPAIQHICLK
HTTCFQDVVVDVDCAENTKEDQLAEISYRFQGKKEADQPWIVVNTSTLFDELELDPPEIEPGVLKVLRTEKQYLGVYIWN
```

MRGSDGTSTYATFLVTWKGDEKTRNPTPAVTPQPRGAEFHMWNYHSHVFSVGDTFSLAMHLQYKIHEAPFDLLLEWLYVP
IDPTCQPMRLYSTCLYHPNAPQCLSHMNSGCTFTSPHLAQRVASTVYQNCEHADNYTAYCLGISHMEPSFGLILHDGGTT
LKFVDTPESLSGLYVFVVYFNGHVEAVAYTVVSTVDHFVNAIEERGFPPTAGQPPATTKPKEITPVNPGTSPLLRYAAWT
GGLAAVVLLCLVIFLICTAKRMRVKAYRVDKSPYNQSMYYAGLPVDDFEDSESTDTEEEFGNAIGGSHGGSSYTVYIDKT
R</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="40">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>2474</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..2474</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q42">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Chikungunya virus</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>屈公病毒</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MDPVYVDIDADSAFLKALQRAYPMFEVEPRQVTPNDHANARAFSHLAIKLIEQEIDPDSTIL
DIGSAPARRMMSDRKYHCVCPMRSAEDPERLANYARKLASAAGKVLDRNISGKIGDLQAVMAVPDTETPTFCLHTDVSCR
QRADVAIYQDVYAVHAPTSLYHQAIKGVRLAYWVGFDTTPFMYNAMAGAYPSYSTNWADEQVLKAKNIGLCSTDLTEGRR
GKLSIMRGKKLEPCDRVLFSVGSTLYPESRKLLKSWHLPSVFHLKGKLSFTCRCDTVVSCEGYVVKRITMSPGLYGKTTG
YAVTHHADGFLMCKTTDTVDGERVSFSVCTYVPATICDQMTGILATEVTPEDAQKLLVGLNQRIVVNGRTQRNTNTMKNY
MIPVVAQAFSKWAKECRKDMEDEKLLGVRERTLTCCCLWAFKKQKTHTVYKRPDTQSIQKVQAEFDSFVVPSLWSSGLSI
PLRTRIKWLLSKVPKTDLTPYSGDAQEARDAEKEAEEEREAELTLEALPPLQAAQEDVQVEIDVEQLEDRAGAGIIETPR
GAIKVTAQPTDHVVGEYLVLSPQTVLRSQKLSLIHALAEQVKTCTHSGRAGRYAVEAYDGRVLVPSGYAISPEDFQSLSE
SATMVYNEREFVNRKLHHIAMHGPALNTDEESYELVRAERTEHEYVYDVDQRRCCKKEEAAGLVLVGDLTNPPYHEFAYE
GLKIRPACPYKIAVIGVFGVPGSGKSAIIKNLVTRQDLVTSGKKENCQEITTDVMRQRGLEISARTVDSLLLNGCNRPVD
VLYVDEAFACHSGTLLALIALVRPRQKVVLCGDPKQCGFFNMMQMKVNYNHNICTQVYHKSISRRCTLPVTAIVSSLHYE

GKMRTTNEYNKPIVVDTTGSTKPDPGDLVLTCFRGWVKQLQIDYRGHEVMTAAASQGLTRKGVYAVRQKVNENPLYASTS
EHVNVLLTRTEGKLVWKTLSGDPWIKTLQNPPKGNFKATIKEWEVEHASIMAGICSHQMTFDTFQNKANVCWAKSLVPIL
ETAGIKLNDRQWSQIIQAFKEDKAYSPEVALNEICTRMYGVDLDSGLFSKPLVSVYYADNHWDNRPGGKMFGFNPEAASI
LERKYPFTKGKWNINKQICVTTRRIEDFNPTTNIIPANRRLPHSLVAEHRPVKGERMEWLVNKINGHHVLLVSGCSLALP
TKRVTWVAPLGVRGADYTYNLELGLPATLGRYDLVVINIHTPFRIHHYQQCVDHAMKLQMLGGDSLRLLKPGGSLLIRAY
GYADRTSERVICVLGRKFRSSRALKPPCVTSNTEMFFLFSNFDNGRRNFTTHVMNNQLNAAFVGQATRAGCAPSYRVKRM
DIAKNDEECVVNAANPRGLPGDGVCKAVYKKWPESFKNSATPVGTAKTVMCGTYPVIHAVGPNFSNYSESEGDRELAAAY
REVAKEVTRLGVNSVAIPLLSTGVYSGGKDRLTQSLNHLFTAMDSTDADVVIYCRDKEWEKKISEAIQMRTQVELLDEHI
SIDCDVVRVHPDSSLAGRKGYSTTEGALYSYLEGTRFHQTAVDMAEIYTMWPKQTEANEQVCLYALGESIESIRQKCPVD
DADASSPPKTVPCLCRYAMTPERVTRLRMNHVTSIIVCSSFPLPKYKIEGVQKVKCSKVMLFDHNVPSRVSPREYRPSQE
SVQEASTTTSLTHSQFDLSVDGKILPVPSDLDADAPALEPALDDGAIHTLPSATGNLAAVSDWVMSTVPVAPPRRRRGRN
LTVTCDEREGNITPMASVRFFRAELCPVVQETAETRDTAMSLQAPPSTATELSHPPISFGAPSETFPITFGDFNEGEIES
LSSELLTFGDFLPGEVDDLTDSDWSTCSDTDDELRLDRAGGYIFSSDTGPGHLQQKSVRQSVLPVNTLEEVHEEKCYPPK
LDEAKEQLLLKKLQESASMANRSRYQSRKVENMKATIIQRLKRGCRLYLMSETPKVPTYRTTYPAPVYSPPINVRLSNPE
SAVAACNEFLARNYPTVSSYQITDEYDAYLDMVDGSESCLDRATFNPSKLRSYPKQHAYHAPSIRSAVPSPFQNTLQNVL
AAATKRNCNVTQMRELPTLDSAVFNVECFKKFACNQEYWEEFAASPIRITTENLTTYVTKLKGPKAAALFAKTHNLLPLQ
EVPMDRFTVDMKRDVKVTPGTKHTEERPKVQVIQAAEPLATAYLCGIHRELVRRLNAVLLPNVHTLFDMSAEDFDAIIAA
HFKPGDTVLETDIASFDKSQDDSLALTALMLLEDLGVDHSLLDLIEAAFGEISSCHLPTGTRFKFGAMMKSGMFLTLFVN
TLLNITIASRVLEDRLTKSACAAFIGDDNIIHGVVSDELMAARCATWMNMEVKIIDAVVSQKAPYFCGGFILHDIVTGTA
CRVADPLKRLFKLGKPLAAGDEQDEDRRRALADEVVRWQRTGLIDELEKAVYSRYEVQGISVVVMSMATFASSRSNFEKL
RGPVVTLYGGPK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="41">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>3391</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..3391</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q43">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>Dengue virus</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>登革熱病毒</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MNNQRKKARNTPFNMLKRERNRVSTVQQLTKRFSLGMLQGRGTLKLFMALVAFLRFLTIPPT
AGILKRWGTIKKSKAINVLRGFRKEIGRMLNILNRRRRTAGIIIMMIPTVMAFHLTTRNGEPHMIVSRQEKGKSLLFKTE
NGVNMCTLMAMDLGELCEDTITYNCPLLRQNEPEDIDCWCNSTSTWVTYGTCTATGEHRREKRSVALVPHVGMGLETRTE
TWMSSEGAWKHAQRIETWILRHPGFTIMAAILAYTIGTTYFQRVLIFILLTAVTPSMAMRCIGISNRDFVEGVSGGSWVD
IVLEHGSCVTTMAKNKPTLDFELIKTEAKHLATLRKYCVEAKLTNTTTASRCPTQGEPSLNEEQDKRFVCKHSMVDRGWG
NGCGLFGKGGIVTCAMFTCKKNMEGKVVQPENLEYTIVITPHSGEENAVGNDTGKHGKEIKVTPQSSITEAELTGYGTVT
MECSPRTGLDFNEMVLLQMENKAWLVHRQWFLDLPLPWLPGADTQGSNWIQKETLVTFKNPHAKKQDVVVLGSQEGAMHT
ALTGATEIQMSSGNLLFTGHLKCRLRMDKLQLKGMSYSMCTGKFKVVKEIAETQHGTIVIRVQYEGDGSPCKIPFEIMDL
EKRHVLGRLITVNPIVTEKDSPVNIEAEPPFGDSYIIIGVEPGQLKLSWFKKGSSIGQMFETTMRGAKRMAILGDTAWDF
GSLGGVFTSIGKALHQVFGAIYGAAFSGVSWTMKILIGVVITWIGMNSRSTSLSVSLVLVGVVTLYLGVMVQADSGCVVS
WKNKELKCGSGIFITDNVHTWTEQYKFQPESPSKLASAIQKAHEEGICGIRSVTRLENLMWKQITPELNHILTENEVKLT
IMTGDIKGIMQAGKRTLRPQPTELKYSWKAWGKAKMLSTELHNHTFLIDGPETAECPNTNRAWNSLEVEDYGFGVFTTNI
WLKLKERQDVFCDSKLMSAAIKDNRAVHADMGYWIESALNDTWKIEKASFIEVKSCHWPKSHTLWSNGVLESEMIIPKNF
AGPVSQHNYRPGYHTQTAGPWHLGRLEMDFDFCEGTTVVVTEDCGNRGPSLRTTTASGKLITEWCCRSCTLPPLRYRGED
GCWYGMEIRPLKEKEENLVNSLVTAGHGQIDNFSLGVLGMALFLEEMLRTRVGTKHAILLVAVSFVTLITGNMSFRDLGR
VMVMVGATMTDDIGMGVTYLALLAAFKIRPTFAAGLLLRKLTSKELMMTTIGIVLLSQSTIPESILELTDALALGMMVLK
IVRNMEKYQLAVTIMAILCVPNAVILQNAWKVSCTTLAVVSVSPLLLTSSQQKADWIPLALTIKGLNPTAIFLTTLSRTS
KKRSWPLNEAIMAVGMVSILASSLLKNDIPMTGPLVAGGLLTVCYVLTGRSADLELERAADVRWEEQAEISGSSPILSIT
ISEDGSMSIKNEEEEQTLTILIRTGLLVISGLFPVSIPITAAAWYLWEVKKQRAGVLWDVPSPPPVGKAELEDGAYRIKQ
KGILGYSQIGAGVYKEGTFHTMWHVTRGAVLMHKGKRIEPSWADVKKDLISYGGGWKLEGEWKEGEEVQVLALEPGKNPR
AVQTKPGLFKTNTGTIGAVSLDFSPGTSGSPIVDKKGKVVGLYGNGVVTRSGTYVSAIAQTEKSIEDNPEIEDDIFRKKR
LTIMDLHPGAGKTKRYLPAIVREAIKRGLRTLILAPTRVVAAEMEEALRGLPIRYQTPAIRAEHTGREIVDLMCHATFTM
RLLSPIRVPNYNLIIMDEAHFTDPASIAARGYISTRVEMGEAAGIFMTATPPGSRDPFPQSNAPIMDEEKEIPERSWNSG
HEWVTDFKGKTVWFVPSIKAGNDIAACLRKNGKKVIQLSRKTFDSEYIKTRTNDWDFVVTTDISEMGANFKAERVIDPRR
CMKPVILTDGEERVILAGPMPVTHSSAAQRRGRVGRNPKNENDQYIYMGEPLENDEDCAHWKEAKMLLDNINTPEGIIPS
MFEPEREKVDAIDGEYRLRGEARKTFVDLMRRGDLPVWLAYRVAAEGINYADRRWCFDGVKNNQILEENVEVEIWTKEGE
RKKLKPRWLDARIYSDPLALKEFKEFAAGRKSLTLNLITEMGRLPTFMTQKAKNALDNLAVLHTAEAGGRAYNHALSELP
ETLETLLLLTLLATVTGGIFLFLMSGKGIGKMTLGMCCIITASILLWYAQIQPHWIAASIILEFFLIVLLIPEPEKQRTP
QDNQLTYVVIAILTVVAATMANEMGFLEKTKKDFGLGSITTQQPESNILDIDLRPASAWTLYAVATTFITPMLRHSIENS
SVNVSLTAIANQATVLMGLGKGWPLSKMDIGVPLLAIGCYSQVNPITLTAALLLLVAHYAIIGPGLQAKATREAQKRAAA
GIMKNPTVDGMTVIDLDPIPYDPKFEKQLGQVMLLVLCVTQVLMMRTTWALCEALTLATGPISTLWEGNPGRFWNTTIAV
SMANIFRGSYLAGAGLLFSIMKNTANTRRGTGNTGETLGEKWKNRLNALGKSEFQIYKKSGIQEVDRTLAKEGIKRGETD
HHAVSRGSAKLRWFVERNLVTPEGKVVDLGCGRGGWSYYCGGLKNVKEVKGLTKGGPGHEEPIPMSTYGWNLVRLQSGVD
VFFTPPEKCDTLLCDIGESSPNPTVEAGRTLRVLNLVENWLNNNTQFCIKVLNPYMPSVIEKMEALQRKYGGALVRNPLS

RNSTHEMYWVSNASGNIVSSVNMISRMLINRFTMRHKKATYEPDVDLGSGTRNIGIESETPNLDIIGKRIEKIKQEHETS
WHYDQDHPYKTWAYHGSYETKQTGSASSMVNGVVRLLTKPWDVIPMVTQMAMTDTTPFGQQRVFKEKVDTRTQEPKEGTK
KLMKITAEWLWKELGKKKTPRMCTREEFTRKVRSNAALGAIFTDENKWKSAREAVEDSGFWELVDKERNLHLEGKCETCV
YNMMGKREKKLGEFGKAKGSRAIWYMWLGARFLEFEALGFLNEDHWFSRENSLSGVEGEGLHKLGYILRDVSKKEGGAMY
ADDTAGWDTRITLEDLKNEEMVTNHMEGEHKKLAEAIFKLTYQNKVVRVQRPTPRGTVMDIISRRDQRGSGQVVTYGLNT
FTNMEAQLIRQMEGEGVFKSIQQLTVKEEIAVKNWLIRVGRERLSRMAISGDDCVVKPLDDRFASALTALNDMGKVRKDI
QQWEPSRGWNDWTQVPFCSHHFHELIMKDGRVLVVPCRNQDELIGRARISQGAGWSLRETACLGKSYAQMWSLMYFHRRD
LRLAANAICSAVPSHWIPTSRTTWSIHATHEWMTTEDMLTVWNRVWIQENPWMEDKTPVESWEEIPYLGKREDQWCGSLI
GLTSRATWAKNIQTAINQVRSLIGNEEYTDYMPSMKRFRREEEEAGVLW</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="42">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>524</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..524</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q44">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Rabies lyssavirus</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>狂犬病毒</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MVPQALLFVPLLVFPLCFGKFPIYTILDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSY
MELKVGYILAIKMNGFTCTGVVTEAETYTNFVGYVTTTFKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYPDYRWLR
TVKTTKESLVIISPSVADLDPYDRSLHSRVFPSGKCSGVAVSSTYCSTNHDYTIWMPENPRLGMSCDIFTNSRGKRASKG
SETCGFVDERGLYKSLKGACKLKLCGVLGLRLMDGTWVAMQTSNETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVRKREEC
LDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEILPSKGCLRVGGRCHPHVNGVFFNGI
ILGPDGNVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLVHPLADPSTVFKDGDEAEDFVEVHLPDVHNQVSGVDLGLPNWGKYVLL
SAGALTALMLIIFLMTCCRRVNRSEPTQHNLRGTGREVSVTPQSGKIISSWESHKSGGETRL</INSDSeq_sequence

```
>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="43">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>835</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..835</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q45">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Trypanosoma cruzi</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>克氏錐蟲</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MSRRHFYSAVLLLLLVVMVCGGSGAAHAVERNSGDLQLPQEIAMLVPNKTQVVPKSGGEGKV
KDIFASPALVRAGGVMIAFVEGRTKNKLFPEVIDLSSSDIVAGYIKAPETWQSLVAEVTKEYWQAHTVLESANNSNHRVG
VARLPTGITRGNKVFLLVGSYEERREIDDYIWKAEAWNIKVIEGEATQSTEVQPTQPINWSEPKPLFQTDSPNNKGDLKE
FLGGGGSGIVMGNGTLVFPLTAKDESNKVFSLITYSTDDGQKWEIPGGVSSVACRSPRVTEWEEGTLLMVTYCEDGRKVF
ESRDMGKTWTEAFGTLPGVWLKSGPELPEVSLRVDALITATIEGRKVMLYTQKVRHFLEVDEPNALHLWVTDNNRTFHLG
PFSVDCAENKTFANTLLYSDDALHLLQAKGDHESTAVSLARLTEELNTINSVLSTWVQLDASFSESSIPTAGLVGFLSNT
TSSGDTWIDGYRCMNATVTKAAKVENGFKFTGPGSRATWPVNSRWDIKQYGFVDYNFTIVAMATIHQVPSESTPLLGASL
RGNKRTKLIGLSYGAGGKWETVYDGTKTVQGGTWEPGREYQVALMLQDGNKGFVYVDGVLVGNPAMLPTPEERWTEFSHF
YFGGDEGDSGSDATLTDVFLYNRPLSVGELKMIKEVEDKKEKGSGDSEDKKESGDSEDKKESGDSEDKKGSGDSEDKKES
GDSEDKKESGDSEDKKGSGDGAFTPAVSNATTHTAEEETVNQSASGTFSITDSTEGDVSSDENGETTGGADGQEEDIQPQ
DGEANAAALGLALKSSLGTSSQWDGSVAGTMRESRVLLPSLFLLLGLWGFAAL</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="44">
```

```
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>676</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..676</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q46">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Zaire ebolavirus</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>紮伊爾伊波拉病毒</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MGVTGILQLPRDRFKRTSFFLWVIILFQRTFSIPLGVIHNSTLQVSDVDKLVCRDKLSSTNQ
LRSVGLNLEGNGVATDVPSATKRWGFRSGVPPKVVNYEAGEWAENCYNLEIKKPDGSECLPAAPDGIRGFPRCRYVHKVS
GTGPCAGDFAFHKEGAFFLYDRLASTVIYRGTTFAEGVVAFLILPQAKKDFFSSHPLREPVNATEDPSSGYYSTTIRYQA
TGFGTNETEYLFEVDNLTYVQLESRFTPQFLLQLNETIYTSGKRSNTTGKLIWKVNPEIDTTIGEWAFWETKKNLTRKIR
SEELSFTVVSNGAKNISGQSPARTSSDPGTNTTTEDHKIMASENSSAMVQVHSQGREAAVSHLTTLATISTSPQSLTTKP
GPDNSTHNTPVYKLDISEATQVEQHHRRTDNDSTASDTPSATTAAGPPKAENTNTSKSTDFLDPATTTSPQNHSETAGNN
NTHHQDTGEESASSGKLGLITNTIAGVAGLITGGRRTRREAIVNAQPKCNPNLHYWTTQDEGAAIGLAWIPYFGPAAEGI
YIEGLMHNQDGLICGLRQLANETTQALQLFLRATTELRTFSILNRKAIDFLLQRWGGTCHILGPDCCIEPHDWTKNITDK
IDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWWTGWRQWIPAGIGVTGVIIAVIALFCICKFVF</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="45">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>1639</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
```

<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1639</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q47">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>plasmodium falciparum</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>鐮狀瘧原蟲</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MKIIFFLCSFLFFIINTQCVTHESYQELVKKLEALEDAVLTGYSLFQKEKMVLNEGTSGTAV
TTSTPGSKGSVASGGSGGSVASGGSVASGGSVASGGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKEL
KYPQLFDLTNHMLTLCDNIHGFKYLIDGYEEINELLYKLNFYFDLLRAKLNDVCANDYCQIPFNLKIRANELDVLKKLVF
GYRKPLDNIKDNVGKMEDYIKKNKKTIENINELIEESKKTIDKNKNATKEEEKKKLYQAQYDLSIYNKQLEEAHNLISVL
EKRIDTLKKNENIKELLDKINEIKNPPPANSGNTPNTLLDKNKKIEEHEKEIKEIAKTIKFNIDSLFTDPLELEYYLREK
NKNIDISAKVETKESTEPNEYPNGVTYPLSYNDINNALNELNSFGDLINPFDYTKEPSKNIYTDNERKKFINEIKEKIKI
EKKKIESDKKSYEDRSKSLNDITKEYEKLLNEIYDSKFNNNIDLTNFEKMMGKRYSYKVEKLTHHNTFASYENSKHNLEK
LTKALKYMEDYSLRNIVVEKELKYYKNLISKIENEIETLVENIKKDEEQLFEKKITKDENKPDEKILEVSDIVKVQVQKV
LLMNKIDELKKTQLILKNVELKHNIHVPNSYKQENKQEPYYLIVLKKEIDKLKVFMPKVESLINEEKKNIKTEGQSDNSE
PSTEGEITGQATTKPGQQAGSALEGDSVQAQAQEQKQAQPPVPVPVPEAKAQVPTPPAPVNNKTENVSKLDYLEKLYEFL
NTSYICHKYILVSHSTMNEKILKQYKITKEEESKLSSCDPLDLLFNIQNNIPVMYSMFDSLNNSLSQLFMEIYEKEMVCN
LYKLKDNDKIKNLLEEAKKVSTSVKTLSSSSMQPLSLTPQDKPEVSANDDTSHSTNLNNSLKLFENILSLGKNKNIYQEL
IGQKSSENFYEKILKDSDTFYNESFTNFVKSKADDINSLNDESKRKKLEEDINKLKKTLQLSFDLYNKYKLKLERLFDKK
KTVGKYKMQIKKLTLLKEQLESKLNSLNNPKHVLQNFSVFFNKKKEAEIAETENTLENTKILLKHYKGLVKYYNGESSPL
KTLSEESIQTEDNYASLENFKVLSKLEGKLKDNLNLEKKKLSYLSSGLHHLIAELKEVIKNKNYTGNSPSENNTDVNNAL
ESYKKFLPEGTDVATVVSESGSDTLEQSQPKKPASTHVGAESNTITTSQNVDDEVDDVIIVPIFGESEEDYDDLGQVVTG
EAVTPSVIDNILSKIENEYEVLYLKPLAGVYRSLKKQLENNVMTFNVNVKDILNSRFNKRENFKNVLESDLIPYKDLTSS
NYVVKDPYKFLNKEKRDKFLSSYNYIKDSIDTDINFANDVLGYYKILSEKYKSDLDSIKKYINDKQGENEKYLPFLNNIE
TLYKTVNDKIDLFVIHLEAKVLNYTYEKSNVEVKIKELNYLKTIQDKLADFKKNNNFVGIADLSTDYNHNNLLTKFLSTG
MVFENLAKTVLSNLLDGNLQGMLNISQHQCVKKQCPQNSGCFRHLDEREECKCLLNYKQEGDKCVENPNPTCNENNGGCD
ADAKCTEEDSGSNGKKITCECTKPDSYPLFDGIFCSSSNFLGISFLLILMLILYSFI</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="46">

```
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>303</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..303</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q48">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Marburg marburgvirus</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>馬堡病毒</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MASSSNYNTYMQYLNPPPYADHGANQLIPADQLSNQQGITPNYVGDLNLDDQFKGNVCHAFT
LEAIIDISAYNERTVKGVPAWLPLGIMSNFEYPLAHTVAALLTGSYTITQFTHNGQKFVRVNRLGTGIPAHPLRMLREGN
QAFIQNMVIPRNFSTNQFTYNLTNLVLSVQKLPDDAWRPSKDKLIGNTMHPAVSIHPNLPPIVLPTVKKQAYRQHKNPNN
GPLLAISGILHQLRVEKVPEKTSLFRISLPADMFSVKEGMMKKRGENSPVVYFQAPENFPLNGFNNRQVVLAYANPTLSA
V</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="47">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>3432</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..3432</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
```

```
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q49">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Japanese encephalitis virus</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>日本腦炎病毒</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MTKKPGGPGKNRAINMLKRGLPRVFPLVGVKRVVMSLLDGRGPVRFVLALITFFKFTALAPT
KALLGRWKAVEKSVAMKHLTSFKRELGTLIDAVNKRGRKQNKRGGNEGSIMWLASLAVVIACAGAMKLSNFQGKLLMTIN
NTDIADVIVIPTSKGENRCWVRAIDVGYMCEDTITYECPKLTMGNDPEDVDCWCDNQEVYVQYGRCTRTRHSKRSRRSVS
VQTHGESSLVNKKEAWLDSTKATRYLMKTENWIIRNPGYAFLAAVLGWMLGSNNGQRVVFTILLLLVAPAYSFNCLGMGN
RDFIEGASGATWVDLVLEGDSCLTIMANDKPTLDVRMINIEASQLAEVRSYCYHASVTDISTVARCPTTGEAHNEKRADS
SYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSIDTCAKFSCTSKAIGRTIQPENIKYEVGIFVHGTTTSENHGNYSAQVGASQAAKFT
VTPNAPSITLKLGDYGEVTLDCEPRSGLNTEAFYVMTVGSKSFLVHREWFHDLALPWTSPSSTAWRNRELLMEFEGAHAT
KQSVVALGSQEGGLHQALAGAIVVEYSSSVKLTSGHLKCRLKMDKLALKGTTYGMCTEKFSFAKNPVDTGHGTVVIELSY
SGSDGPCKIPIVSVASLNDMTPVGRLVTVNPFVATSSANSKVLVEMEPPFGDSYIVVGRGDKQINHHWHKAGSTLGKAFS
TTLKGAQRLAALGDTAWDFGSIGGVFNSIGRAVHQVFGGAFRTLFGGMSWITQGLMGALLLWMGVNARDRSIALAFLATG
GVLVFLATNVHADTGCAIDITRKEMRCGSGIFVHNDVEAWVDRYKYLPETPRSLAKIVHKAHKEGVCGVRSVTRLEHQMW
EAVRDELNVLLKENAVDLSVVVNKPVGRYRSAPKRLSMTQEKFEMGWKAWGKSILFAPELANSTFVVDGPETKECPDEHR
AWNSMQIEDFGFGITSTRVWLKIREESTDECDGAIIGTAVKGHVAVHSDLSYWIESRYNDTWKLERAVFGEVKSCTWPET
HTLWGDDVEESELIIPHTIAGPKSKHNRREGYKTQNQGPWDENGIVLDFDYCPGTKVTITEDCSKRGPSVRTTTDSGKLI
TDWCCRSCSLPPLRFRTENGCWYGMEIRPVMHDETTLVRSQVDAFKGEMVDPFQLGLLVMFLATQEVLRKRWTARLTIPA
VLGVLLVLMLGGITYTDLARYVVLVAAAFAEANSGGDVLHLALIAVFKIQPAFLVMNMLSTRWTNQENVILVLGAAFFQL
ASVDLQIGVHGILNAAAIAWMIVRAITFPTTSSVTMPVLALLTPGMRALYLDTYRIILLVIGICSLLHERKKTMAKKKGA
VLLGLALTSTGWFSPTTIAAGLMVCNPNKKRGWPATEFLSAVGLMFAIVGGLAELDIESMSIPFMLAGLMAVSYVVSGKA
TDMWLERAADISWEMDAAITGSSRRLDVKLDDDGDFHLIDDPGVPWKVWVLRMSCIGLAALTPWAIVPAAFGYWLTLKTT
KRGGVFWDTPSPKPCSKGDTTTGVYRIMARGILGTYQAGVGVMYENVFHTLWHTTRGAAIMSGEGKLTPYWGSVREDRIA
YGGPWRFDRKWNGTDDVQVIVVEPGKAAVNIQTKPGVFRTPFGEVGAVSLDYPRGTSGSPILDSNGDIIGLYGNGVELGD
GSYVSAIVQGDRQEEPVPEAYTPNMLRKRQMTVLDLHPGSGKTRKILPQIIKDAIQQRLRTAVLAPTRVVAAEMAEALRG
LPVRYQTSAVQREHQGNEIVDVMCHATLTHRLMSPNRVPNYNLFVMDEAHFTDPASIAARGYIATKVELGEAAAIFMTAT
PPGTTDPFPDSNAPIHDLQDEIPDRAWSSGYEWITEYAGKTVWFVASVKMGNEIAMCLQRAGKKVIQLNRKSYDTEYPKC
KNGDWDFVITTDISEMGANFGASRVIDCRKSVKPTILEEGEGRVILGNPSPITSASAAQRRGRVGRNPNQVGDEYHYGGA
TSEDDSNLAHWTEAKIMLDNIHMPNGLVAQLYGPEREKAFTMDGEYRLRGEEKKNFLELLRTADLPVWLAYKVASNGIQY
TDRKWCFDGPRTNAILEDNTEVEIVTRMGERKILKPRWLDARVYADHQALKWFKDFAAGKRSAVSFIEVLGRMPEHFMGK
TREALDTMYLVATAEKGGKAHRMALEELPDALETITLIVAITVMTGGFFLLMMQRKGIGKMGLGALVLTLATFFLWAAEV
PGTKIAGTLLIALLLMVVLIPEPEKQRSQTDNQLAVFLICVLTVVGVVAANEYGMLEKTKADLKSMFGGKTQASGLTGLP
```

SMALDLRPATAWALYGGSTVVLTPLLKHLITSEYVTTSLASINSQAGSLFVLPRGVPFTDLDLTVGLVFLGCWGQITLTT
FLTAMVLATLHYGYMLPGWQAEALRAAQRRTAAGIMKNAVVDGMVATDVPELERTTPLMQKKVGQVLLIGVSVAAFLVNP
NVTTVREAGVLVTAATLTLWDNGASAVWNSTTATGLCHVMRGSYLAGGSIAWTLIKNADKPSLKRGRPGGRTLGEQWKEK
LNAMSREEFFKYRREAIIEVDRTEARRARRENNIVGGHPVSRGSAKLRWLVEKGFVSPIGKVIDLGCGRGGWSYYAATLK
KVQEVRGYTKGGAGHEEPMLMQSYGWNLVSLKSGVDVFYKPSEPSDTLFCDIGESSPSPEVEEQRTLRVLEMTSDWLHRG
PREFCIKVLCPYMPKVIEKMEVLQRRFGGGLVRLPLSRNSNHEMYWVSGAAGNVVHAVNMTSQVLLGRMDRTVWRGPKYE
EDVNLGSGTRAVGKGEVHSNQEKIKKRIQKLKEEFATTWHKDPEHPYRTWTYHGSYEVKATGSASSLVNGVVELMSKPWD
AIANVTTMAMTDTTPFGQQRVFKEKVDTKAPEPPAGAKEVLNETTNWLWAHLSREKRPRLCTKEEFIKKVNSNAALGAVF
AEQNQWSTAREAVDDPRFWEMVDEERENHLRGECHTCIYNMMGKREKKPGEFGKAKGSRAIWFMWLGARYLEFEALGFLN
EDHWLSRENSGGGVEGSGVQKLGYILRDIAGKQGGKMYADDTAGWDTRITRTDLENEAKVLELLDGEHRMLARAIIELTY
RHKVVKVMRPAAEGKTVMDVISREDQRGSGQVVTYALNTFTNIAVQLVRLMEAEGVIGPQHLEQLPRKTKIAVRTWLFEN
GEERVTRMAISGDDCVVKPLDDRFATALHFLNAMSKVRKDIQEWKPSHGWHDWQQVPFCSNHFQEIVMKDGRSIVVPCRG
QDELIGRARISPGAGWNVKDTACLAKAYAQMWLLLYFHRRDLRLMANAICSAVPVDWVPTGRTSWSIHSKGEWMTTEDML
QVWNRVWIEENEWMMDKTPITSWTDVPYVGKREDIWCGSLIGTRSRATWAENIYAAINQVRAVIGKENYVDYMTSLRRYE
DVLIQEDRVI</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="48">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>767</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..767</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q50">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Saint Louis encephalitis virus</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>聖路易腦炎病毒</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>AVDKRTALKHLNGFKRDLGSMLDTINRRPSKKRGGTGSLLGLAMLIGLASSLQLSTHQGKVL
ISINKTDAQSAINIPSANGVNTCIVRALDVGVMCKDDITYLCPVLSAGNDPEDIDCWCDAEEVWVHYGRCTRMGHSRRSR
RSISVQHHGDSTLATKNTPWLDTIKTTKYLTKVENWVLRNPGYALVALAIGWMLGSNNTQKVVFVIMLMLIAPAYSFNCL
GTSNRDFVEGASGATWIDLVLEGGGCVTVMAPEKPTLDFKVMKMEATELATVREYCYEATLNTLSTVARCPTTGEAHNTK
RSDPTFVCKRDVVDRGWGNGCGLFGKGSIDTCAKFTCKNKATGKTILRENIKYEVAIFVHGSTDSTSHGNYAEQIGKNQA
ARFTISPQAPSFTANMGEYGTVTIDCEARSGINTEDYYVFTAKEKSWLVNRDWFHDLNLPWTSPATTDWRNRETLVEFEE
PHATKQTVVALGSQEGALHTALAGAIPATVSSSTLTLQSGHLKCRAKLDKVKIKGTTYGMCDSAFIFSKNPTDTGHGTVI
VELQYTGSNGPCRVPISVTANLMDLTPVGRLVTVNPFISTGGANNKVMIEVEPPFGDSYVVVGRGTTQINYHWHKEGSSI
GKALATTWKGAQRLAVLGDTAWDFGSIGGVFNSIGKAVHQVFGGAFRTLFGGMSWITQGLLGALLLWMGLQARDRSISLT
LLATGGILIFLATSVQADSGCAIDLQRRELKCGGGIFVYNDVEKWKSGYKYFPLTPTGLARVIKG</INSDSeq_seque
nce>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="49">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>3433</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..3433</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q51">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>West Nile virus</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>西尼羅河病毒</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MSKKPGGPGKSRAVNMLKRGMPRVLSLIGLKRAMLSLIDGKGPIRFVLALLAFFRFTAIAPT
RAVLDRWRGVNKQTAMKHLLSFKKELGTLTSAINRRSSKQKKRGGKTGIAVMIGLIASVGAVTLSNFQGKVMMTVNATDV
TDVITIPTAAGKNLCIVRAMDVGYMCDDTITYECPVLSAGNDPEDIDCWCTKSAVYVRYGRCTKTRHSRRSRRSLTVQTH
GESTLANKKGAWMDSTKATRYLVKTESWILRNPGYALVAAVIGWMLGSNTMQRVVFVVLLLLVAPAYSFNCLGMSNRDFL
EGVSGATWVDLVLEGDSCVTIMSKDKPTIDVKMMNMEAANLAEVRSYCYLATVSDLSTKAACPTMGEAHNDKRADPAFVC

RQGVVDRGWGNGCGLFGKGSIDTCAKFACSTKAIGRTILKENIKYEVAIFVHGPTTVESHGNYSTQVGATQAGRFSITPA
APSYTLKLGEYGEVTVDCEPRSGIDTNAYYVMTVGTKTFLVHREWFMDLNLPWSSAGSTVWRNRETLMEFEEPHATKQSV
IALGSQEGALHQALAGAIPVEFSSNTVKLTSGHLKCRVKMEKLQLKGTTYGVCSKAFKFLGTPADTGHGTVVLELQYTGT
DGPCKVPISSVASLNDLTPVGRLVTVNPFVSVATANAKVLIELEPPFGDSYIVVGRGEQQINHHWHKSGSSIGKAFTTTL
KGAQRLAALGDTAWDFGSVGGVFTSVGKAVHQVFGGAFRSLFGGMSWITQGLLGALLLWMGINARDRSIALTFLAVGGVL
LFLSVNVHADTGCAIDISRQELRCGSGVFIHNDVEAWMDRYKYYPETPQGLAKIIQKAHKEGVCGLRSVSRLEHQMWEAV
KDELNTLLKENGVDLSVVVEKQEGMYKSAPKRLTATTEKLEIGWKAWGKSILFAPELANNTFVVDGPETKECPTQNRAWN
SLEVEDFGFGLTSTRMFLKVRESNTTECDSKIIGTAVKNNLAIHSDLSYWIESRLNDTWKLERAVLGEVKSCTWPETHTL
WGDGILESDLIIPVTLAGPRSNHNRRPGYKTQNQGPWDEGRVEIDFDYCPGTTVTLSESCGHRGPATRTTTESGKLITDW
CCRSCTLPPLRYQTDSGCWYGMEIRPQRHDEKTLVQSQVNAYNADMIDPFQLGLLVVFLATQEVLRKRWTAKISMPAILI
ALLVLVFGGITYTDVLRYVILVGAAFAESNSGGDVVHLALMATFKIQPVFMVASFLKARWTNQENILLMLAAVFFQMAYH
DARQILLWEIPDVLNSLAVAWMILRAITFTTTSNVVVPLLALLTPGLRCLNLDVYRILLLMVGIGSLIREKRSAAAKKKG
ASLLCLALASTGLFNPMILAAGLIACDPNRKRGWPATEVMTAVGLMFAIVGGLAELDIDSMAIPMTIAGLMFAAFVISGK
STDMWIERTADISWESDAEITGSSERVDVRLDDDGNFQLMNDPGAPWKIWMLRMVCLAISAYTPWAILPSVVGFWITLQY
TKRGGVLWDTPSPKEYKKGDTTTGVYRIMTRGLLGSYQAGAGVMVEGVFHTLWHTTKGAALMSGEGRLDPYWGSVKEDRL
CYGGPWKLQHKWNGQDEVQMIVVEPGKNVKNVQTKPGVFKTPEGEIGAVTLDFPTGTSGSPIVDKNGDVIGLYGNGVIMP
NGSYISAIVQGERMDEPIPAGFEPEMLRKKQITVLDLHPGAGKTRRILPQIIKEAINRRLRTAVLAPTRVVAAEMAEALR
GLPIRYQTSAVPREHNGNEIVDVMCHATLTHRLMSPHRVPNYNLFVMDEAHFTDPASIAARGYISTKVELGEAAAIFMTA
TPPGTSDPFPESNSPISDLQTEIPDRAWNSGYEWITEYTGKTVWFVPSVKMGNEIALCLQRAGKKVVQLNRKSYETEYPK
CKNDDWDFVITTDISEMGANFKASRVIDSRKSVKPTIITEGEGRVILGEPSAVTAASAAQRRGRIGRNPSQVGDEYCYGG
HTNEDDSNFAHWTEARIMLDNINMPNGLIAQFYQPEREKVYTMDGEYRLRGEERKNFLELLRTADLPVWLAYKVAAAGVS
YHDRRWCFDGPRTNTILEDNNEVEVITKLGERKILRPRWIDARVYSDHQALKAFKDFASGKRSQIGLIEVLGKMPEHFMG
KTWEALDTMYVVATAEKGGRAHRMALEELPDALQTIALIALLSVMTMGVFFLLMQRKGIGKIGLGGAVLGVATFFCWMAE
VPGTKIAGMLLLSLLLMIVLIPEPEKQRSQTDNQLAVFLICVMTLVSAVAANEMGWLDKTKSDISSLFGQRIEVKENFSM
GEFLLDLRPATAWSLYAVTTAVLTPLLKHLITSDYINTSLTSINVQASALFTLARGFPFVDVGVSALLLAAGCWGQVTLT
VTVTAATLLFCHYAYMVPGWQAEAMRSAQRRTAAGIMKNAVVDGIVATDVPELERTTPIMQKKVGQIMLILVSLAAVVVN
PSVKTVREAGILITAAAVTLWENGASSVWNATTAIGLCHIMRGGWLSCLSITWTLIKNMEKPGLKRGGAKGRTLGEVWKE
RLNQMTKEEFTRYRKEAIIEVDRSAAKHARKEGNVTGGHPVSRGTAKLRWLVERRFLEPVGKVIDLGCGRGGWCYYMATQ
KRVQEVRGYTKGGPGHEEPQLVQSYGWNIVTMKSGVDVFYRPSECCDTLLCDIGESSSSAEVEEHRTIRVLEMVEDWLHR
GPREFCVKVLCPYMPKVIEKMELLQRRYGGGLVRNPLSRNSTHEMYWVSRASGNVVHSVNMTSQVLLGRMEKRTWKGPQY
EEDVNLGSGTRAVGKPLLNSDTSKIKNRIERLRREYSSTWHHDENHPYRTWNYHGSYDVKPTGSASSLVNGVVRLLSKPW
DTITNVTTMAMTDTTPFGQQRVFKEKVDTKAPEPPEGVKYVLNETTNWLWAFLAREKRPRMCSREEFIRKVNSNAALGAM
FEEQNQWRSAREAVEDPKFWEMVDEEREAHLRGECHTCIYNMMGKREKKPGEFGKAKGSRAIWFMWLGARFLEFEALGFL
NEDHWLGRKNSGGGVEGLGLQKLGYILREVGTRPGGKIYADDTAGWDTRITRADLENEAKVLELLDGEHRRLARAIIELT
YRHKVVKVMRPAADGRTVMDVISREDQRGSGQVVTYALNTFTNLAVQLVRMMEGEGVIGPDDVEKLTKGKGPKVRTWLFE
NGEERLSRMAVSGDDCVVKPLDDRFATSLHFLNAMSKVRKDIQEWKPSTGWYDWQQVPFCSNHFTELIMKDGRTLVVPCR
GQDELVGRARISPGAGWNVRDTACLAKSYAQMWLLLYFHRRDLRLMANAICSAVPVNWVPTGRTTWSIHAGGEWMTTEDM
LEVWNRVWIEENEWMEDKTPVEKWSDVPYSGKREDIWCGSLIGTRARATWAENIQVAINQVRAIIGDEKYVDYMSSLKRY
EDTTLVEDTVL</INSDSeq_sequence>

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="50">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>3173</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..3173</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q52">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Yellow fever virus</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>黃熱病病毒</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SEDLGKTFSVGTGNCTTNILEAKYWCPDSMEYNCPNLSPREEPDDIDCWCYGVENVRVAYGK
CDSAGRSRRSRRAIDLPTHENHGLKTRQEKWMTGRMGERQLQKIERWLVRNPFFAATALAIAYLVGSNMTQRVVIALLVL
AVGPAYSAHCIGITDRDFIEGVXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXAKFTCAKSMSLFEVDQTKIQYVIRAQLHVGAKQENWN
TDIKTLKFDALSGSQEAEFTGYGRATLECQVQTAVDFSNSYIAEMEKESWIVDKQWAQDLTLPWQSGSGGVWREMHHLVE
FEPPHAATIKVLALGNQEGSLKTALTGAMRVTKXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXASTNDDEVLIEVNPPFGDSYIIVGTGDSRLTYQWHKEG
SSIGKLFTQTMKGAERLAVMGDAAWDFGSAGGFFTSVGKGIHTVFGSAFQGLFGGLSWITKVIMGVVLIWVGINTRNMTM
SMSMILVGVIMMFLSLGVGADQGCAINFGKRELKCXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXQYGWKTWGKNLVFSPGRKNGSFIIDGKSR
KECPFSNRVWNSFQIEEFGTGVFTTRVYMDAVFEYTMDCDGSILGAAVNGKKSAHGSPTFWMGSHEVNGTWMIHTLETLD
YKECEWPLTHTIGTSVEESDMFMPRSIGGPVSSHNHIPGYKVQTNGPWMQVPLEVKREACXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXVGGMVLLGAMLVGQVTILDLLKLTVAVGLHFHEMNNGGDAMYMALIAAFSIRPGLLIGFGLRTLWSPRERLVLTLGA
AMVEIALGGMMGGLWKYLNAVSLCILTINAVASRKASNVILPLMALLTPVTMAEVRLATMLFCTVVIIGVLHQNSKDTSM
QKTIPXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
```

XXXXXXXXXXXXXXXXWEEEAEISGSSARYDVTLSEQGEFKLLSEEKVPWDQVVMTSLALVGAAIHPFALLLVLAGWLFH
VKGARRSGDVLWDIPTPKIIEECEYLEDGIYGIFQSTFLGASQRGVGVAQGGVFHTMWHVTRGAFLVRNGKKLVPSWASV
KEDLVAYGGSWKLEGRWDGXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXTEVKEEGKEELQEIPTMLKKGMTTILDFHPGAGKTRRFLPQILAECARRRLRTLVLAPTRVVLS
EMKEAFHGLDVKFHTQAFSAHGSGKEVIDAMCHATLTYRMLEPTRVVNWEVIIMDEAHFLDPASIAARGWAAHRARANES
ATILMTATPXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXLATDIAEMGANLCVERVLDCRTAFKPVLVDEGRKVAIKGPLRISASSAAQRRGRIGRNPNRDGD
SYYYSEPTSEDNAHHVCWLEASMLLDNMEVRGGMVAPLYGIEGTKTPVSPGEMRLRDDQRRVFRELVRNCDLPVWLSWQV
AKAGLKTNDRKWCFEXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXLLHSEEGSRAYRNALSMMPEAMTTVMLFVLAGLLTSGMVIFFMSPKGISRMSMAMGTMAGCG
YLMFLGGVKPTHISYIMLIFFVLMVVVVPEPGQQRTIQDNQVAYLIIGILTLISVVAANELGMLEKTKEDLFGKKNLIPS
SAAPWSWPDFDLKPGAXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXLAQRRVFHGVAKNPVVDGNPTVDIEEAPEMPALYEKKLALYLLLALSLA
SVAMCRTPFSLAEGIVLASAALGPLIEGNTSLLWNGPMAVSMTGVMRGNYYAFVGVMYNLWKMKTGRRGRANGKTLGEVW
KRELNLLDKQQFELYKRTDIVEVDXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXLGWNIITFKDKTDVHRLEPIKCDTLLCDIGESSPSSVTEGERTMRVLDTVEKWL
SCGVESFCVKVLAPYMPDVLEKLELLQRRFGGTVIRNPLSRNSTHEMYYVSGARSNITFTVNQTSRLLMRRMRRPTGKVT
LEADVILPIGTRSVETXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXVDTRAKDPPAGTRKIMKVVNRWLFRHLAREKNPRLCTKEEFIAKVRSHAAIGA
FLEEQEQWKTANEAVQDPKFWELVDEERRLHQQGRCRTCVYNMMGKREKKLSEFGKAKGSRAIWYMWLGARYLEFEALGF
LNEDHWASRENSGGGVEGIGLQYLGYVIRDLAALEGGGFYXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXVIHHQHVQDCDDTALTKLEAWLA
EHGCDRLKRMAVSGDDCVVRPIDDRFGLALSHLNAMSKVRKDISEWQPSKGWDDWESVPFCSHHFHELQLKDGRRIVVPC
RDQDELVGRGRVSPGNGWMIKETACLSKAYANMWSLMYFHKRDMRLLSLAVSSAVPTSWVPQGRTTWSVHG</INSDSeq
_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="51">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>809</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..809</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q53">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Bacillicus anthracis</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>炭疽芽孢桿菌</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MNIKKEFIKVISMSCLVTAITLSGPVFIPLVQGAGGHGDVGMHVKEKEKNKDENKRKDEERN
KTQEEHLKEIMKHIVKIEVKGEEAVKKEAAEKLLEKVPSDVLEMYKAIGGKIYIVDGDITKHISLEALSEDKKKIKDIYG
KDALLHEHYVYAKEGYEPVLVIQSSEDYVENTEKALNVYYEIGKILSRDILSKINQPYQKFLDVLNTIKNASDSDGQDLL
FTNQLKEHPTDFSVEFLEQNSNEVQEVFAKAFAYYIEPQHRDVLQLYAPEAFNYMDKFNEQEINLSLEELKDQRMLARYE
KWEKIKQHYQHWSDSLSEEGRGLLKKLQIPIEPKKDDIIHSLSQEEKELLKRIQIDSSDFLSTEEKEFLKKLQIDIRDSL
SEEEKELLNRIQVDSSNPLSEKEKEFLKKLKLDIQPYDINQRLQDTGGLIDSPSINLDVRKQYKRDIQNIDALLHQSIGS
TLYNKIYLYENMNINNLTATLGADLVDSTDNTKINRGIFNEFKKNFKYSISSNYMIVDINERPALDNERLKWRIQLSPDT
RAGYLENGKLILQRNIGLEIKDVQIIKQSEKEYIRIDAKVVPKSKIDTKIQEAQLNINQEWNKALGLPKYTKLITFNVHN
RYASNIVESAYLILNEWKNNIQSDLIKKVTNYLVDGNGRFVFTDITLPNIAEQYTHQDEIYEQVHSKGLYVPESRSILLH
GPSKGVELRNDSEGFIHEFGHAVDDYAGYLLDKNQSDLVTNSKKFIDIFKEEGSNLTSYGRTNEAEFFAEAFRLMHSTDH
AERLKVQKNAPKTFQFINDQIKFIINS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="52">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>576</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..576</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q54">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>Clostridium botulinum</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>肉毒桿菌</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MKPGGNTIVIWMYAVATWLCFGSTSGWSFTLEDNNIFPKQYPIINFTTAGATVQSYTNFIRA
VRGRLTTGADVRHEIPVLPNRVGLPINQRFILVELSNHAELSVTLALDVTNAYVVGYRAGNSAYFFHPDNQEDAEAITHL
FTDVQNRYTFAFGGNYDRLEQLAGNLRENIELGNGPLEEAISALYYYSTGGTQLPTLARSFIICIQMISEAARFQYIEGE
MRTRIRYNRRSAPDPSVITLENSWGRLSTAIQESNQGAFASPIQLQRRNGSKFSVYDVSILIPIIALMVYRCAPPPSSQF
SLLIRPVVPNFNADVCMDPEPIVRIVGRNGLCVDVRDGRFHNGNAIQLWPCKSNTDANQLWTLKRDNTIRSNGKCLTTYG
YSPGVYVMIYDCNTAATDATRWQIWDNGTIINPRSSLVLAATSGNSGTTLTVQTNIYAVSQGWLPTNNTQPFVTTIVGLY
GLCLQANSGQVWIEDCSSEKAEQQWALYADGSIRPQQNRDNCLTSDSNIRETVVKILSCGPASSGQRWMFKNDGTILNLY
SGLVLDVRASDPSLKQIILYPLHGDPNQIWLPLF</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="53">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>576</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..576</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q55">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Ricinus communis</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>篦麻</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MKPGGNTIVIWMYAVATWLCFGSTSGWSFTLEDNNIFPKQYPIINFTTAGATVQSYTNFIRA
VRGRLTTGADVRHEIPVLPNRVGLPINQRFILVELSNHAELSVTLALDVTNAYVVGYRAGNSAYFFHPDNQEDAEAITHL

FTDVQNRYTFAFGGNYDRLEQLAGNLRENIELGNGPLEEAISALYYYSTGGTQLPTLARSFIICIQMISEAARFQYIEGE
MRTRIRYNRRSAPDPSVITLENSWGRLSTAIQESNQGAFASPIQLQRRNGSKFSVYDVSILIPIIALMVYRCAPPPSSQF
SLLIRPVVPNFNADVCMDPEPIVRIVGRNGLCVDVRDGRFHNGNAIQLWPCKSNTDANQLWTLKRDNTIRSNGKCLTTYG
YSPGVYVMIYDCNTAATDATRWQIWDNGTIINPRSSLVLAATSGNSGTTLTVQTNIYAVSQGWLPTNNTQPFVTTIVGLY
GLCLQANSGQVWIEDCSSEKAEQQWALYADGSIRPQQNRDNCLTSDSNIRETVVKILSCGPASSGQRWMFKNDGTILNLY
SGLVLDVRASDPSLKQIILYPLHGDPNQIWLPLF</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="54">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>315</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..315</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q56">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Shigella dysenteriae</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>志賀桿菌</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MKIIIFRVLTFFFVIFSVNVVAKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLM
IDSGTGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNNLRLIVERNNLYVTGFVNRTNNVFYRFADFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQRV
AGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQIQRGFRTTLDDLSGRSYVMTAEDVDLT
LNWGRLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASRVARMASDEFPSMCPADGRVRGITHNKILWDSS
TLGAILMRRTISS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
</ST26SequenceListing>

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種具有式(VII-A)之結構之化合物：



(VII-A)，

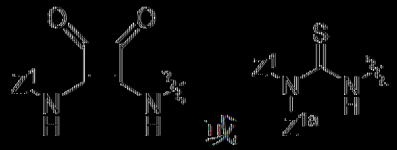
或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

A為N(-X¹R¹)、C(R')(-L¹-N(R")R⁶)、C(R')(-OR⁷ᵃ)、C(R')(-N(R")R⁸ᵃ)、C(R')(-C(=O)OR⁹ᵃ)、C(R')(-C(=O)N(R")R¹⁰ᵃ)或C(=N-R¹¹ᵃ)；

T為-X²ᵃ-Y¹ᵃ-Q¹ᵃ或-X³-C(=O)OR⁴；

X¹為視情況經取代之C₂-C₆伸烷基；

R¹為-OH、-R¹ᵃ，



，

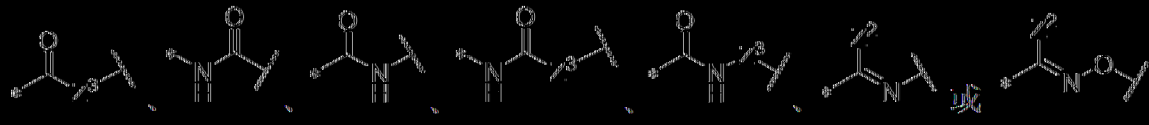
Z¹為視情況經取代之C₁-C₆烷基；

Z¹ᵃ為氫或視情況經取代之C₁-C₆烷基；

X²及X²ᵃ獨立地為視情況經取代之C₂-C₁₄伸烷基或視情況經取代之C₂-C₁₄伸烯基；

X³為視情況經取代之C₂-C₁₄伸烷基或視情況經取代之C₂-C₁₄伸烯基；

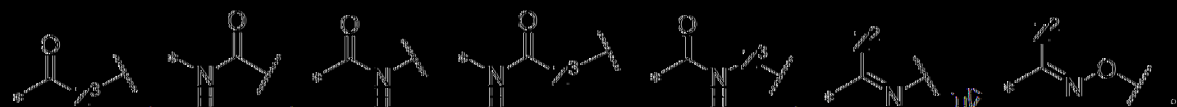
(i) Y¹為



；

其中用「*」標記之鍵與X²連接；

Y^{1a}為



其中用「*」標記之鍵與X^{2a}連接；

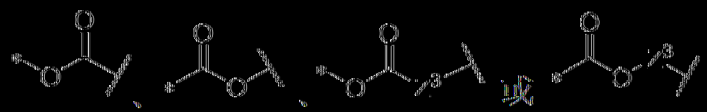
各Z^2獨立地為H或視情況經取代之C_1-C_8烷基；

各Z^3獨立地為視情況經取代之C_1-C_6伸烷基；

Q^1為$-NR^2R^3$、$-CH(OR^2)(OR^3)$、$-CR^2=C(R^3)(R^{12})$或$-C(R^2)(R^3)(R^{12})$；

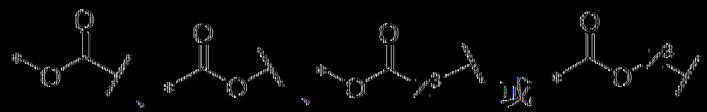
Q^{1a}為$-NR^{2'}R^{3'}$、$-CH(OR^{2'})(OR^{3'})$、$-CR^{2'}=C(R^{3'})(R^{12'})$或$-C(R^{2'})(R^{3'})(R^{12'})$；或

(ii)Y^1為



其中用「*」標記之鍵與X^2連接；

Y^{1a}為



其中用「*」標記之鍵與X^{2a}連接；

各Z^2獨立地為H或視情況經取代之C_1-C_8烷基；

各Z^3獨立地為視情況經取代之C_1-C_6伸烷基；

Q^1為$-NR^2R^3$；

Q^{1a}為$-NR^{2'}R^{3'}$；

R^2、R^3及R^{12}獨立地為氫、視情況經取代之C_1-C_{14}烷基、視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基或$-(CH_2)_m-G-(CH_2)_nH$；

$R^{2'}$、$R^{3'}$及$R^{12'}$獨立地為氫、視情況經取代之C_1-C_{14}烷基、視情況

經取代之C_2-C_{14}伸烯基或-$(CH_2)_m$-G-$(CH_2)_n$H；

G為C_3-C_8伸環烷基；

各m獨立地為0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12；

各n獨立地為0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12；

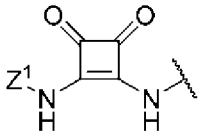
X^3為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

R^4為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

L^1為C_1-C_8伸烷基；

R^6為C_1-C_6烷基、(羥基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

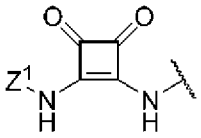
R^{7a}為 -C(=O)N(R'")R^{7b} 、 -C(=S)N(R'")R^{7b} 、 -N=C(R^{7b})(R^{7c}) 或


；

R^{7b}為C_1-C_6烷基、(羥基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R^{7c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{8a}為 -C(=O)N(R'")R^{8b} 、 -C(=S)N(R'")R^{8b} 、 -N=C(R^{8b})(R^{8c}) 或


，

R^{8b}為C_1-C_6烷基、(羥基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R^{8c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{9a}為-N=C(R^{9b})(R^{9c})；

R^{9b}為C_1-C_6烷基、(羥基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R^{9c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{10a}為-N=C(R^{10b})(R^{10c})；

R^{10b}為C_1-C_6烷基、(羥基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R^{10c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{11a}為 $-OR^{11b}$、$-N(R'')R^{11b}$、$-OC(=O)R^{11b}$或 $-N(R'')C(=O)R^{11b}$；

R^{11b}為C_1-C_6烷基、(鹵基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

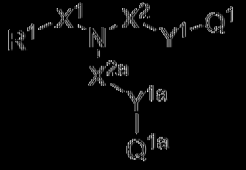
R'為氫或C_1-C_6烷基；

R''為氫或C_1-C_6烷基；及

R'''為氫或C_1-C_6烷基。

[請求項2]

如請求項1之化合物，其具有式(VIII-A)之結構：

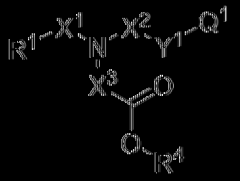


(VIII-A)，

或其醫藥學上可接受之鹽。

[請求項3]

如請求項1之化合物，其具有式(IX-A)之結構：



(IX-A)，

或其醫藥學上可接受之鹽。

[請求項4]

如請求項1之化合物，其中A為$-N(-X^1R^1)-$。

[請求項5]

如請求項1之化合物，其中T為$-X^{2a}-Y^{1a}-Q^{1a}$。

[請求項6]

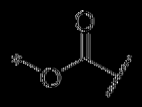
如請求項1之化合物，其中T為$-X^3-C(=O)OR^4$。

[請求項7]

如請求項1至6中任一項之化合物，其中X^2及/或X^{2a}為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基(例如C_4-C_{10}伸烷基、C_5-C_7伸烷基、C_5、C_6或C_7伸烷基)。

[請求項8]

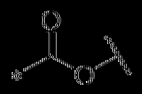
如請求項1至7中任一項之化合物，其中Y^1及/或Y^{1a}為



。

[請求項9]

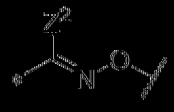
如請求項1至7中任一項之化合物，其中Y^1及/或Y^{1a}為



。

[請求項10]

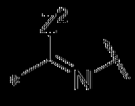
如請求項1至7中任一項之化合物，其中Y^1及/或Y^{1a}為



，其中Z^2為氫。

[請求項11]

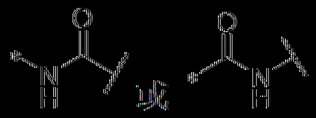
如請求項1至7中任一項之化合物，其中Y^1及/或Y^{1a}為



，其中Z^2為氫。

[請求項12]

如請求項1至7中任一項之化合物，其中Y^1及Y^{1a}獨立地為



或

。

[請求項13]

如請求項1至12中任一項之化合物，其中Q^1及/或Q^{1a}為$-NR^2R^3$。

[請求項14]

如請求項1至12中任一項之化合物，其中Q^1及/或Q^{1a}為$-CH(OR^2)(OR^3)$。

【請求項15】

如請求項1至12中任一項之化合物，其中Q^1及/或Q^{1a}為-$CR^2=C(R^3)(R^{12})$。

【請求項16】

如請求項1至12中任一項之化合物，其中Q^1及/或Q^{1a}為-$C(R^{2'})(R^{3'})(R^{12'})$。

【請求項17】

如請求項1及3至16中任一項之化合物，其中X^3為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基(例如C_4-C_{10}伸烷基、C_5-C_7伸烷基、C_5、C_6或C_7伸烷基)。

【請求項18】

如請求項1至17中任一項之化合物，其中R^2、R^3、R^{12}、$R^{2'}$、$R^{3'}$及/或$R^{12'}$為氫。

【請求項19】

如請求項1至17中任一項之化合物，其中R^2、R^3、R^{12}、$R^{2'}$、$R^{3'}$及/或$R^{12'}$為視情況經取代之C_1-C_{14}烷基(例如C_5-C_{14}、C_5-C_{10}、C_6-C_9、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}烷基)。

【請求項20】

如請求項1及3至19中任一項之化合物，其中R^4為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基(例如C_6-C_{12}、C_8-C_{12}、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}烷基)。

【請求項21】

如請求項1至20中任一項之化合物，其中R^1為OH。

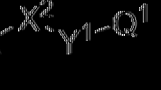
【請求項22】

如請求項1至21中任一項之化合物，其中X^1為C_{2-4}伸烷基(例如C_2、

C_3或C_4伸烷基)。

[請求項23]

一種具有式(VII-B)之結構之化合物：



(VII-B)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

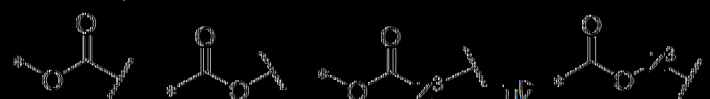
A為$-C(R')(-L^1-N(R'')R^6)-$、$-C(R')(-OR^{7a})-$、$-C(R')(-N(R'')R^{8a})-$、$-C(R')(-C(=O)OR^{9a})-$、$-C(R')(-C(=O)N(R'')R^{10a})-$或$-C(=N-R^{11a})-$；

T為$-X^{2a}-Y^{1a}-Q^{1a}$或$-X^3-C(=O)OR^4$；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

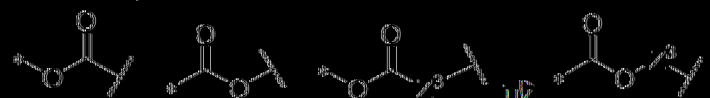
X^3為視情況經取代之C_1-C_{14}伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

Y^1為



其中用「*」標記之鍵與X^2連接；

Y^{1a}為



其中用「*」標記之鍵與X^{2a}連接；

各R^3獨立地為視情況經取代之C_1-C_6伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

Q^1為$-NR^2R^3$、$-CH(OR^2)(OR^3)$、$-CR^2=C(R^3)(R^{12})$或$-C(R^2)(R^3)(R^{12})$；

Q^{1a} 為 $-NR^{2'}R^{3'}$ 、 $-CH(OR^{2'})(OR^{3'})$ 、 $-CR^{2}=C(R^{3})(R^{12})$ 或 $-C(R^{2'})(R^{3'})(R^{12'})$；

R^{2}、R^{3}及R^{12}獨立地為氫、視情況經取代之C_1-C_{14}烷基、視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基或$-(CH_2)_m-G-(CH_2)_nH$；

$R^{2'}$、$R^{3'}$及$R^{12'}$獨立地為氫、視情況經取代之C_1-C_{14}烷基、視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基或$-(CH_2)_m-G-(CH_2)_nH$；

G為C_3-C_8伸環烷基；

各m獨立地為0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12；

各n獨立地為0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12；

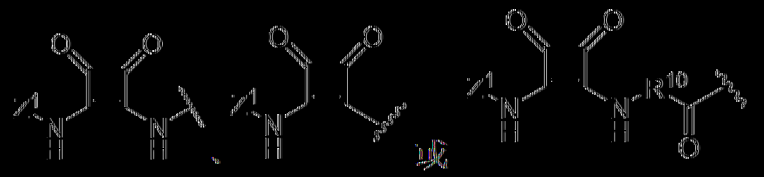
X^3為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

R^1為視情況經取代之C_1-C_{14}烷基；

L^1為C_1-C_8伸烷基；

R^6為(無基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R'^{a}為$-C(=O)N(R'')R'^{b}$、$-C(=S)N(R'')R'^{b}$、$-N=C(R'^{b})(R'^{c})$，



；

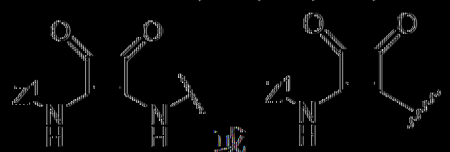
Z^1為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

R^{10}為C_1-C_6伸烷基；

R'^{b}為C_1-C_6烷基、(無基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R'^{c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{8a}為$-C(=O)N(R'')R^{8b}$、$-C(=S)N(R'')R^{8b}$、$-N=C(R^{8b})(R^{8c})$，



；

R^{8b}為C_1-C_6烷基、(羥基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R^{8c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{9a}為-N=C(R^{9b})(R^{9c})；

R^{9b}為C_1-C_6烷基、(羥基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R^{9c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{10a}為-N=C(R^{10b})(R^{10c})；

R^{10b}為C_1-C_6烷基、(羥基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R^{10c}為氫或C_1-C_6烷基；

R^{11a}為-OR^{11b}、-N(R")R^{11b}、-OC(=O)R^{11b}或-N(R")C(=O)R^{11b}；

R^{11b}為C_1-C_6烷基、(羥基)C_1-C_6烷基或(胺基)C_1-C_6烷基；

R'為氫或C_1-C_6烷基；

R"為氫或C_1-C_6烷基；及

R'"為氫或C_1-C_6烷基。

【請求項24】

如請求項23之化合物，其中A為-C(R')(-L^1-N(R")R^6)-。

【請求項25】

如請求項23之化合物，其中A為-C(R')(-OR^{7a})-。

【請求項26】

如請求項23之化合物，其中A為-C(R')(-N(R")R^{8a})。

【請求項27】

如請求項23之化合物，其中A為-C(R')(-C(=O)OR^{9a})。

【請求項28】

如請求項23之化合物，其中A為-C(R')(-C(=O)N(R")R^{10a})-。

【請求項29】

如請求項23之化合物，其中A為-C(=N-R^{11a})-。

【請求項30】

如請求項23至29中任一項之化合物，其中T為-X^{2a}-Y^{1a}-Q^{1a}。

【請求項31】

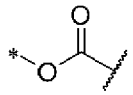
如請求項23至29中任一項之化合物，其中T為-X^{3}-C(=O)OR^{4}。

【請求項32】

如請求項23至31中任一項之化合物，其中X^{2}及/或X^{2a}為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基(例如C_2-C_{10}伸烷基、C_2-C_8伸烷基、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_7或C_8伸烷基)。

【請求項33】

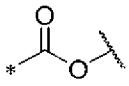
如請求項23至32中任一項之化合物，其中Y^{1}及/或Y^{1a}為



。

【請求項34】

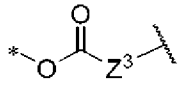
如請求項23至32中任一項之化合物，其中Y^{1}及/或Y^{1a}為



。

【請求項35】

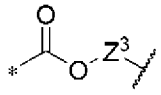
如請求項23至32中任一項之化合物，其中Y^{1}及/或Y^{1a}為



。

【請求項36】

如請求項23至32中任一項之化合物，其中Y^{1}及/或Y^{1a}為



。

【請求項37】

如請求項23至36中任一項之化合物，其中Q^1及/或Q^{1a}為-$C(R^{2'})(R^{3'})(R^{12'})$。

【請求項38】

如請求項23至37中任一項之化合物，其中X^3為視情況經取代之C_1-C_{14}伸烷基(例如C_1-C_6、C_1-C_4伸烷基)。

【請求項39】

如請求項23至38中任一項之化合物，其中R^2、R^3、R^{12}、$R^{2'}$、$R^{3'}$及/或$R^{12'}$為氫。

【請求項40】

如請求項23至38中任一項之化合物，其中R^2、R^3、R^{12}、$R^{2'}$、$R^{3'}$及/或$R^{12'}$為視情況經取代之C_1-C_{14}烷基(例如C_4-C_{10}烷基、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9烷基)。

【請求項41】

如請求項23至40中任一項之化合物，其中R^4為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基(例如C_8-C_{14}烷基、直鏈C_8-C_{14}烷基、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}或C_{14}烷基)。

【請求項42】

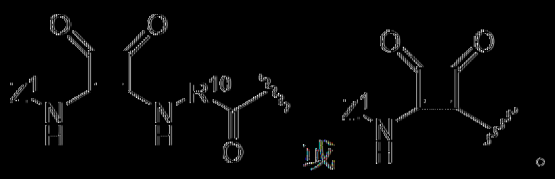
如請求項23至41中任一項之化合物，其中L^1為C_1-C_3伸烷基。

【請求項43】

如請求項23至42中任一項之化合物，其中R^6為(羥基)C_1-C_6烷基。

【請求項44】

如請求項23至43中任一項之化合物，其中R^{7a}為



或

。

[請求項45]

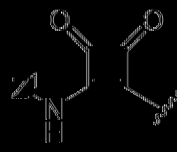
如請求項23至43中任一項之化合物，其中R^{7a}選自由以下組成之群：$-C(=O)N(R'')R^{7b}$、$-C(=S)N(R'')R^{7b}$及$-N=C(R^{7b})(R^{7c})$。

[請求項46]

如請求項23至45中任一項之化合物，其中R^{8a}選自由以下組成之群：$-C(=O)N(R'')R^{8b}$、$-C(=S)N(R'')R^{8b}$及$-N=C(R^{8b})(R^{8c})$。

[請求項47]

如請求項23至45中任一項之化合物，其中R^{8a}為



。

[請求項48]

如請求項23至47中任一項之化合物，其中R^{9b}為(經取)C_1-C_6烷基。

[請求項49]

如請求項23至48中任一項之化合物，其中R^{10b}為(經取)C_1-C_6烷基。

[請求項50]

如請求項23至49中任一項之化合物，其中R^{11a}為$-OR^{11b}$或$-OC(=O)R^{11b}$。

[請求項51]

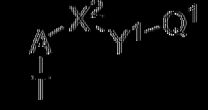
如請求項23至49中任一項之化合物，其中R^{11a}為$-N(R'')R^{11b}$或$-N(R'')C(=O)R^{11b}$。

[請求項52]

如請求項23至51中任一項之化合物，其中R^{11b}為(胺基)C_1-C_6烷基。

[請求項53]

一種具有式(VII-C)之結構之化合物：



(VII-C)，

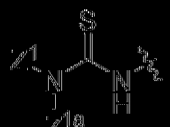
或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

A為$-N(-X^1R^1)-$；

T為$-X^{2a}-Y^{1a}-Q^{1a}$或$-X^3-C(=O)OR^4$；

(i) X^1為視情況經取代之C_2-C_3伸烷基；

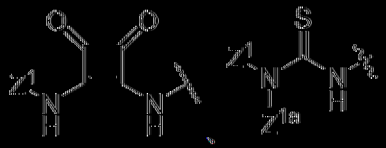
R^1為



、$-NR''C(O)OR^{20}$或$-NR''R^{21}$；或

(ii) X^1為C_4-C_6伸烷基，及

R^1為



、$-NR''C(O)OR^{20}$或$-NR''R^{21}$；

Z^1為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

Z^{1a}為氫或視情況經取代之C_1-C_6烷基；

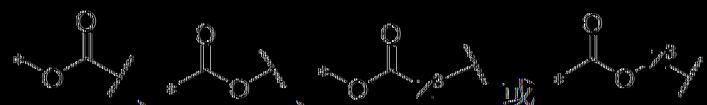
R^{20}為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

R^{21}為-(C_2伸烷基)-OH；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

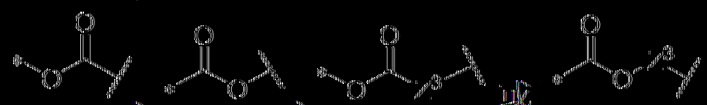
X^3為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

Y^1為鍵，

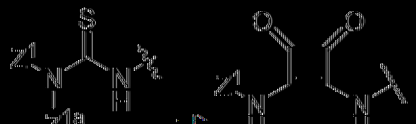
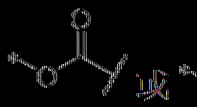


其中用「*」標記之鍵與X^2連接；

Y^{1a}為



其中用「*」標記之鍵與X^{2a}連接；

其中當R^1為  時，Y^1及Y^{1a}為  ；

各Z^2獨立地為H或視情況經取代之C_1-C_8烷基；

各Z^3獨立地為視情況經取代之C_1-C_6伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

Q^1為 $-NR^2R^3$、$-CH(OR^2)(OR^3)$、$-CR^2=C(R^3)(R^{12})$或$-C(R^2)(R^3)(R^{12})$；

Q^{1a}為 $-NR^{2'}R^{3'}$、$-CH(OR^{2'})(OR^{3'})$、$-CR^{2'}=C(R^{3'})(R^{12'})$或$-C(R^{2'})(R^{3'})(R^{12'})$；

其中當R^1為$-NR''C(O)OR^{20}$時，Q^1為$-CH(OR^2)(OR^3)$，且Q^{1a}為$-CH(OR^{2'})(OR^{3'})$；

R^2、R^3及R^{12}獨立地為氫、視情況經取代之直鏈C_1-C_{14}烷基、視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基、或$-(CH_2)_m-G-(CH_2)_nH$；

$R^{2'}$、$R^{3'}$及$R^{12'}$獨立地為氫、視情況經取代之直鏈C_1-C_{14}烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

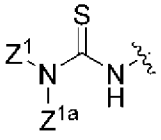
X^3為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

R^4為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；及

R"為氫或C_1-C_6烷基。

【請求項54】

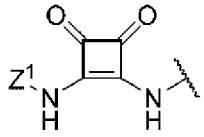
如請求項53之化合物，其中R^1為



，其中Z^1為甲基且Z^{1a}為氫或甲基。

【請求項55】

如請求項53之化合物，其中R^1為



，其中Z^1為甲基。

【請求項56】

如請求項53之化合物，其中R^1為-NR"C(O)OR^{20}。

【請求項57】

如請求項53之化合物，其中R^1為-NR"R^{21}。

【請求項58】

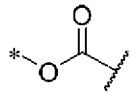
如請求項53或56之化合物，其中R^{20}為三級丁基或苯甲基。

【請求項59】

如請求項53至58中任一項之化合物，其中X^2及/或X^{2a}為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基(例如C_4-C_8伸烷基、C_4、C_5、C_6、C_7、C_8伸烷基)。

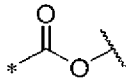
【請求項60】

如請求項53至59中任一項之化合物，其中Y^1及/或Y^{1a}為

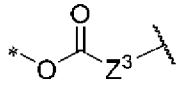


。

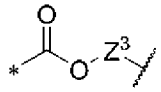
【請求項61】

如請求項53至59中任一項之化合物，其中Y^1及/或Y^{1a}為  。

【請求項62】

如請求項53至59中任一項之化合物，其中Y^1及/或Y^{1a}為  ，其中Z^3為C_2伸烷基。

【請求項63】

如請求項53至59中任一項之化合物，其中Y^1及/或Y^{1a}為  ，其中Z^3為C_2伸烷基。

【請求項64】

如請求項53至63中任一項之化合物，其中Q^1及/或Q^{1a}為-$CH(OR^2)(OR^3)$。

【請求項65】

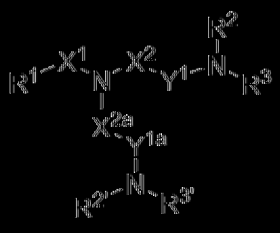
如請求項53至63中任一項之化合物，其中Q^1及/或Q^{1a}為-$C(R^{2'})(R^{3'})(R^{12'})$。

【請求項66】

如請求項53至65中任一項之化合物，其中R^2、R^3、R^{12}、$R^{2'}$、$R^{3'}$及$R^{12'}$獨立地為氫、視情況經取代之直鏈C_1-C_{14}烷基(例如C_4-C_{10}烷基、C_6-C_8烷基、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9烷基)。

【請求項67】

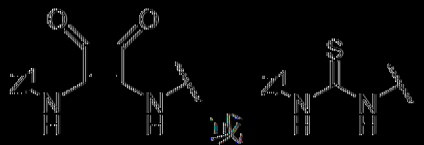
一種具有式(I-A)之結構之化合物：



(I-A)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

R^1為-OH、-R^{1a}，



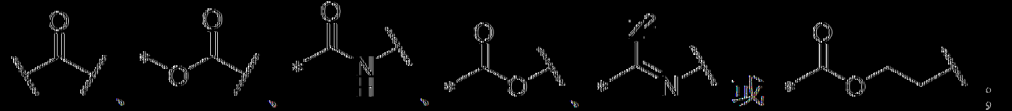
；

Z^1為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

X^1為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1及Y^{1a}獨立地為鍵，



；

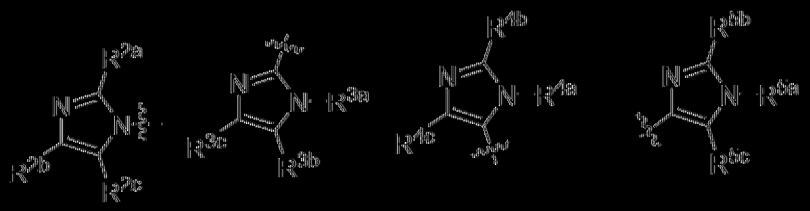
其中用「*」標記之鍵與X^2或X^{2a}連接；

Z^2為H或視情況經取代之C_1-C_8烷基；

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

R^{1a}為：



R^{1a}-1、R^{1a}-2、R^{1a}-3或R^{1a}-4；

R^{2a}、R^{2b}及R^{2c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基；

R^{3a}、R^{3b}及R^{3c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基；

R^{4a}、R^{4b}及R^{4c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基；及

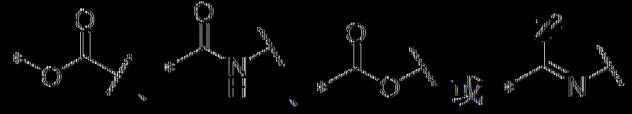
R^{5a}、R^{5b}及R^{5c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基。

[請求項68]

如請求項67之化合物，其中R^1為OH。

[請求項69]

如請求項67或68之化合物，其中Y^1及Y^{1a}獨立地為



[請求項70]

如請求項67至69中任一項之化合物，其中Z^2為H。

[請求項71]

如請求項67至70中任一項之化合物，其中X^1為視情況經取代之C_2或C_4伸烷基。

[請求項72]

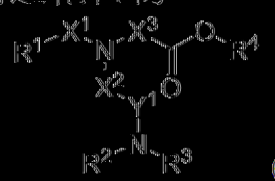
如請求項67至71中任一項之化合物，其中X^2及X^{2a}獨立地為C_4-C_8伸烷基(例如C_6伸烷基)。

[請求項73]

如請求項67至72中任一項之化合物，其中R^2、R^3、$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為C_4-C_{14}烷基(例如C_6-C_8烷基、C_6、C_7、C_8烷基)。

[請求項74]

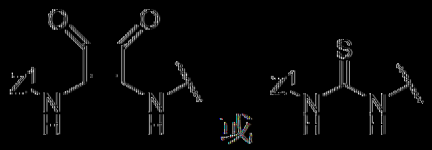
一種具有式(II)之結構之化合物，



(II)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

R^1為-OH、-R^{1a}，

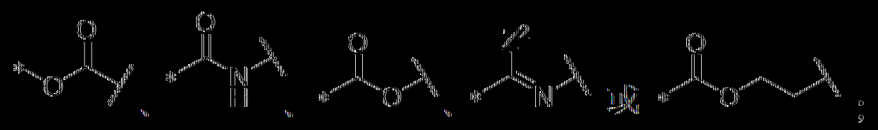

；

Z^1為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

X^1為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

X^2為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1為鍵，


；

其中用「*」標記之鍵與X^2連接；

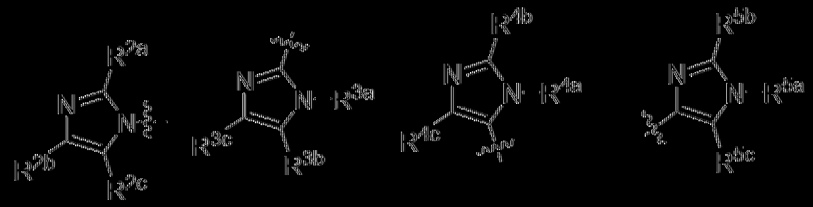
Z^2為H或視情況經取代之C_1-C_8烷基；

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

X^3為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

R^4為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

R^{1a}為：


R^{1a}-1、R^{1a}-2、R^{1a}-3或R^{1a}-4；

R^{2a}、R^{2b}及R^{2c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基；

R^{3a}、R^{3b}及R^{3c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基；

R^{4a}、R^{4b}及R^{4c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基；及

R^{5a}、R^{5b}及R^{5c}獨立地為氫或C_1-C_6烷基。

|(請求項5)|

如請求項74之化合物，其中R^1為-OH。

[請求項76]

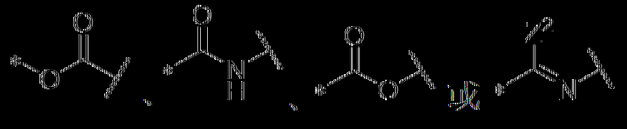
如請求項74或75之化合物，其中X^1為C_2-C_4伸烷基(例如C_2伸烷基)。

[請求項77]

如請求項74至76中任一項之化合物，其中X^2為C_4-C_{10}伸烷基(例如C_5、C_6、C_7、C_8、C_9烷基)。

[請求項78]

如請求項74至77中任一項之化合物，其中Y^1為



，其中Y^2為氫。

[請求項79]

如請求項74至78中任一項之化合物，其中R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{10}烷基(例如C_8烷基)。

[請求項80]

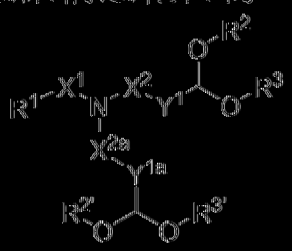
如請求項74至79中任一項之化合物，其中X^3為視情況經取代之C_4-C_{10}伸烷基(例如C_5伸烷基)。

[請求項81]

如請求項74至79中任一項之化合物，其中R^4為視情況經取代之C_6-C_{12}烷基(例如C_{11}烷基)。

[請求項82]

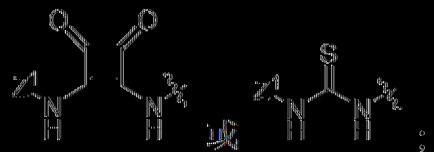
一種具有式(III-B)之結構之化合物：



(III-B)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R^1為



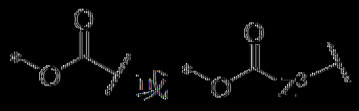
；

Z^1為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

X^1為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1及Y^{1a}獨立地為



，

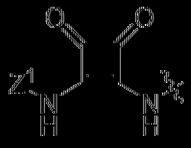
Z^3獨立地為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基。

[請求項83]

如請求項82之化合物，其中R^1為



，其中Z^1為甲基。

[請求項84]

如請求項82或83之化合物，其中X^1為C_2-C_4伸烷基(例如C_3伸烷基)。

[請求項85]

如請求項82至84中任一項之化合物，其中X^2為C_4-C_{10}伸烷基(例如C_6烷基)。

[請求項86]

如請求項82至85中任一項之化合物，其中R^2及R^3獨立地為視情況經

取代之C_1-C_{10}烷基(例如C_8烷基)。

[請求項87]

一種具有式(III-C)之結構之化合物：



(III-C)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R^{20}為C_1-C_6伸烷基-$NR^{20'}C(O)OR^{20''}$；

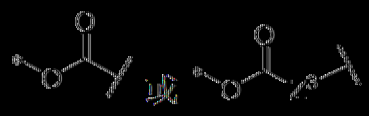
$R^{20'}$為氫或視情況經取代之C_1-C_6烷基；

$R^{20''}$為視情況經取代之C_1-C_6烷基、苯基或苯甲基；

Y^1為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1及Y^{1a}獨立地為



；

其中用「*」標記之鍵與X^2或X^{2a}連接；

Y^3獨立地為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；及

$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基。

[請求項88]

如請求項87之化合物，其中R^{20}為-$CH_2CH_2CH_2NHC(O)O$-[級]-苯或-$CH_2CH_2CH_2NHC(O)O$-苯甲基。

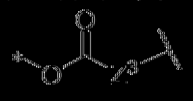
[請求項89]

如請求項87或88之化合物，其中X^2及X^{2a}獨立地為C_4-C_8伸烷基(例如

C_5、C_6、C_7伸烷基)。

[請求項90]

如請求項87至89中任一項之化合物，其中Y^1及Y^{1a}為



，其中Z^3為C_2-C_4伸烷基(例如C_2伸烷基)。

[請求項91]

如請求項87至90中任一項之化合物，其中R^2、R^3、$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為視情況經取代之C_4-C_{10}烷基(例如C_6-C_9烷基、C_6、C_7、C_8、C_9烷基)。

[請求項92]

一種具有式(III-D)之結構之化合物：



(III-D)，

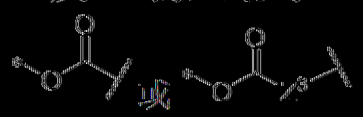
或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R^1為-OH；

X^1為視情況經取代之C_1伸烷基；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1及Y^{1a}獨立地為



；

Z^3獨立地為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基或經視情況經取代之環內其取代的C_1-C_2烷基；或

$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基或經視情況經取代之環

內其取代的C_1-C_2烷其。

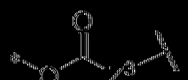
[請求項93]

如請求項92之化合物，其中X^1為C_4伸烷其。

[請求項94]

如請求項92或93之化合物，其中X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_4-C_{10}伸烷其(例如C_5、C_6、C_7、C_8、C_9或C_{10}伸烷其)。

[請求項95]

如請求項92至94中任一項之化合物，其中Y^1及Y^{1a}獨立地為  ，其中Y^3獨立地為C_2-C_4伸烷其(例如C_2、C_4伸烷其)。

[請求項96]

如請求項92至95中任一項之化合物，其中R^2、R^3、$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為C_6-C_{14}烷其(例如C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}或C_{14}烷其)或經視情況經取代之環內其取代的C_1-C_2烷其。

[請求項97]

如請求項92至95中任一項之化合物，其中R^2、R^3、$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為經伸環內其(視情況經被C_1-C_6烷其取代之伸環內其取代的C_1-C_6伸烷其)取代的C_1-C_2烷其。

[請求項98]

一種具有式(III-E)之結構之化合物：



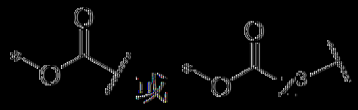
(III-E)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R^1為-OH；

X^1為分支鏈C_2-C_8伸烷基；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1及Y^{1a}獨立地為  ；

Z^3獨立地為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基。

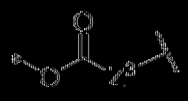
[請求項99]

如請求項98之化合物，其中X^1為分支鏈C_6伸烷基。

[請求項100]

如請求項98或99之化合物，其中X^2及X^{2a}獨立地為C_4-C_{10}伸烷基(例如C_6、C_7、C_8伸烷基)。

[請求項101]

如請求項98至100中任一項之化合物，其中Y^1及Y^{1a}為  ，其中Z^3獨立地為視情況經取代之C_2伸烷基。

[請求項102]

如請求項98至101中任一項之化合物，其中R^2、R^3、$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為C_6-C_{12}烷基(例如C_9烷基)或視情況經C_2-C_8伸烯基(例如C_4、C_6伸烯基)取代之C_4-C_{10}烷基(例如C_4、C_6烷基)。

[請求項103]

一種具有式(III-E)之結構結構化合物：



(III-F)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R^1為-OH；

X^1為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

X^2及X^{2a}獨立地為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1及Y^{1a}各自為鍵；

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；及

$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基。

[請求項104]

如請求項103之化合物，其中X^1為C_4伸烷基。

[請求項105]

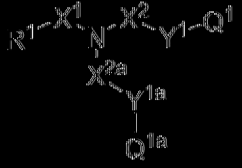
如請求項103或104之化合物，其中X^2及X^{2a}獨立地為C_4-C_{10}伸烷基(例如C_6-C_8伸烷基、C_6、C_7、C_8伸烷基)。

[請求項106]

如請求項103至105中任一項之化合物，其中R^2、R^3、$R^{2'}$及$R^{3'}$獨立地為C_6-C_{10}烷基(例如C_7、C_8烷基)。

[請求項107]

一種具有式(VIII-B)之結構之化合物：



(VIII-B)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

X^1為鍵，

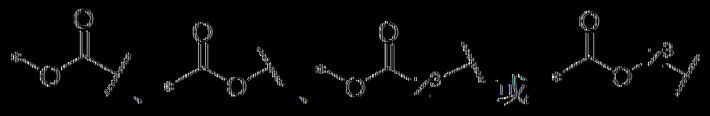
R^1為C_1-C_6烷基，

X^2為C_2-C_6伸烷基，

X^{2a}為C_2-C_{14}伸烷基，

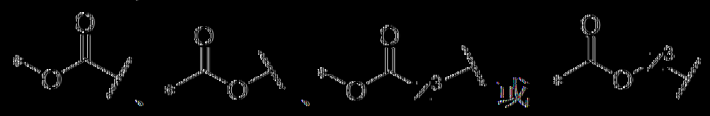
其中X^2或X^{2a}經OH或C_{1-4}伸烷基-OH取代，

Y^1為



其中用「*」標記之鍵與X^2連接；

Y^{1a}為



其中用「*」標記之鍵與X^{2a}連接；

各Z^3獨立地為視情況經取代之C_1-C_6伸烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基；

Q^1為-C(R^2)(R^3)(R^{12})；

Q^{1a}為-C($R^{2'}$)($R^{3'}$)($R^{12'}$)；

R^2、R^3及R^{12}獨立地為氫、視情況經取代之C_1-C_{14}烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基，及

$R^{2'}$、$R^{3'}$及$R^{12'}$獨立地為氫、視情況經取代之C_1-C_{14}烷基或視情況經取代之C_2-C_{14}伸烯基。

[請求項108]

如請求項107之化合物，其中R^1為甲基。

[請求項109]

如請求項107或108之化合物，其中X^2為C_4、C_5或C_6伸烷基。

[請求項110]

如請求項107至109中任一項之化合物，其中X^{2a}為C_4-C_8伸烷基(例如C_5、C_6或C_7伸烷基)。

[請求項111]

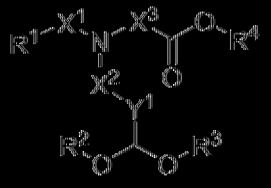
如請求項107至110中任一項之化合物，其中Y^1為  或  ，且Y^{1a}為或  。

[請求項112]

如請求項107至111中任一項之化合物，其中R^2、R^3、R^{12}、$R^{2'}$、$R^{3'}$及$R^{12'}$獨立地為氫或C_5-C_{12}烷基(例如C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}烷基)。

[請求項113]

一種具有式(IV)之化合物：

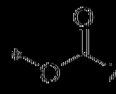


(IV)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R^1為-OH、-R^{1a}，

X^1為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

(i) Y^1為  ；

Y^3為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；及

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

X^2及X^3為C_5伸烷基；或

(ii) Y^1為鍵；

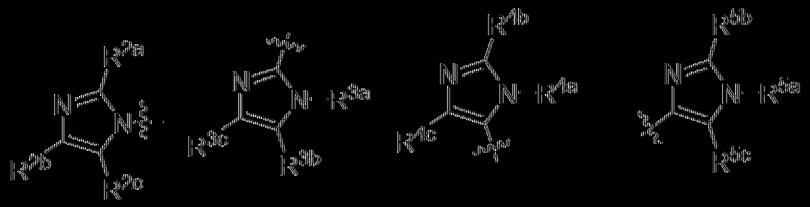
R^2及R^3獨立地為C_4-C_7烷基；

X^2為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

X^3為視情況經取代之C_5伸烷基；

R^4為視情況經取代之C_4-C_{14}烷基；

R^{1a}為：



R^{1a}-1、R^{1a}-2、R^{1a}-3或R^{1a}-4；

R^{2a}、R^{2b}及R^{2c}獨立地為氫及C_1-C_6烷基；

R^{3a}、R^{3b}及R^{3c}獨立地為氫及C_1-C_6烷基；

R^{4a}、R^{4b}及R^{4c}獨立地為氫及C_1-C_6烷基；及

R^{5a}、R^{5b}及R^{5c}獨立地為氫及C_1-C_6烷基。

[請求項114]

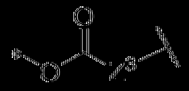
如請求項113之化合物，其中R^1為OH。

[請求項115]

如請求項113或114之化合物，其中X^1為C_2伸烷基。

[請求項116]

如請求項113至115中任一項之化合物，其中Y^1為



，其中Z^3為C_2伸烷基。

[請求項117]

如請求項113至116中任一項之化合物，其中R^2及R^3獨立地為C_6-C_{12}

烷基(C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}烷基)。

[請求項118]

如請求項113至117中任一項之化合物，其中Y^1為鍵。

[請求項119]

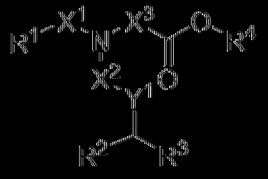
如請求項113至118中任一項之化合物，其中R^2及R^3為C_4-C_7烷基(例如C_7烷基)。

[請求項120]

如請求項113至119中任一項之化合物，其中X^2為C_6-C_{12}伸烷基(例如C_7、C_8、C_9、C_{10}伸烷基)。

[請求項121]

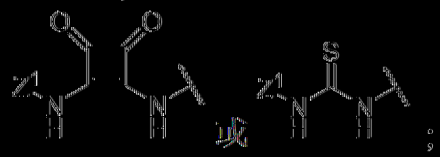
一種具有式(VI)之結構之化合物：



(VI)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R^1為-OH，



；

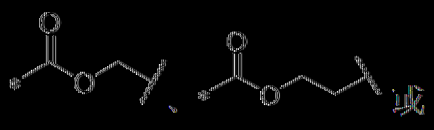
Z^1為視情況經取代之C_1-C_6烷基；

X^1為視情況經取代之C_2-C_6伸烷基；

X^2為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

X^3為視情況經取代之C_2-C_{14}伸烷基；

Y^1為



其中用「*」標記之鍵與X^2連接；

Z^2為H或視情況經取代之C_1-C_8烷基；

R^2及R^3獨立地為視情況經取代之C_3-C_{14}烷基；及

(i) R^4為直鏈C_4-C_{14}烷基；或

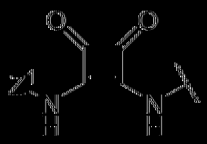
(ii) R^4為經1或2個其內其取代之直鏈C_4-C_{14}烷基。

[請求項122]

如請求項121之化合物，其中R^1為-OH。

[請求項123]

如請求項121之化合物，其中R^1為



，其中Z^1為C_1-C_6烷基(例如甲基)。

[請求項124]

如請求項121至123中任一項之化合物，其中X^1為視情況之C_2-C_4伸烷基(例如C_2、C_3、C_4伸烷基)。

[請求項125]

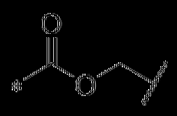
如請求項121至124中任一項之化合物，其中X^2為C_4-C_8伸烷基(例如C_5、C_6、C_7、C_8伸烷基)。

[請求項126]

如請求項121至125中任一項之化合物，其中X^3為C_4-C_8伸烷基(例如C_5、C_6、C_7、C_8伸烷基)。

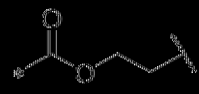
[請求項127]

如請求項121至126中任一項之化合物，其中Y^1為

 。

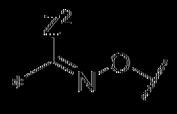
[請求項128]

如請求項121至126中任一項之化合物，其中Y^1為

 。

[請求項129]

如請求項121至126中任一項之化合物，其中Y^1為

 ，其中Z^2為氫。

[請求項130]

如請求項121至129中任一項之化合物，其中R^2及R^3獨立地為C_3-C_8烷基(例如C_3烷基、C_5烷基、C_8烷基)。

[請求項131]

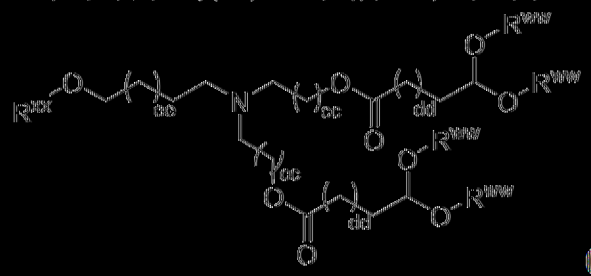
如請求項121至130中任一項之化合物，其中R^4為直鏈C_8-C_{14}烷基(例如C_{10}、C_{11}、C_{12}烷基)。

[請求項132]

如請求項121至130中任一項之化合物，其中R^4為經1或2個異丙基取代之直鏈C_4-C_8烷基(例如C_4烷基)。

[請求項133]

一種具有式(X)之結構之化合物：



(X)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

各cc獨立地選自3至9；

R^{xx}選自氫及視情況經取代之C_1-C_6烷基；及

(i) cc為1，

各dd獨立地選自1至4；及

各R^{ww}獨立地選自由以下組成之群：C_4-C_{14}烷基、分支鏈C_4-C_{12}烯基、包含至少兩個雙鍵之C_4-C_{12}烯基、以及C_9-C_{12}烯基，其中該C_4-C_{14}烷基之任何-$(CH_2)_2$-可視情況經C_2-C_6伸環烷基置換；

(ii) cc為0，

各dd為1；及

各R^{ww}為直鏈C_4-C_{12}烷基。

[請求項134]

如請求項133之化合物，其中各cc獨立地選自3至7。

[請求項135]

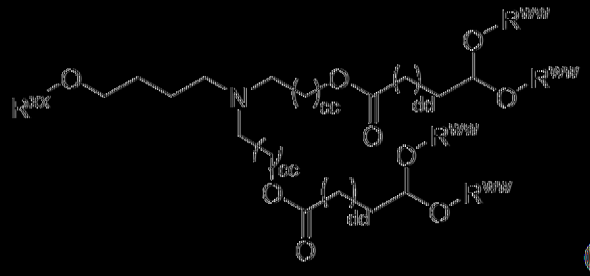
如請求項133或134之化合物，其中cc為1。

[請求項136]

如請求項133至135中任一項之化合物，其中cc為0。

[請求項137]

如請求項133之化合物，其中該化合物為式(X-A)之化合物：



(X-A)，

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

各cc獨立地選自3至7；

各dd獨立地選自1至4；

R^{xx}選自氫及視情況經取代之C_1-C_6烷基；及

各R^{ww}獨立地選自由以下組成之群：C_4-C_{14}烷基或(直鏈或分支鏈C_3-C_5伸烷基)-(分支鏈C_5-C_7烯基)。

【請求項138】

如請求項133至137中任一項之化合物，其中R^{xx}為氫。

【請求項139】

如請求項133至138中任一項之化合物，其中各cc為4、5、6或7。

【請求項140】

如請求項133至139中任一項之化合物，其中各dd為1或3。

【請求項141】

如請求項133至136中任一項之化合物，其中各R^{ww}獨立地選自由以下組成之群：C_6-C_{14}烷基、分支鏈C_8-C_{12}烯基、包含至少兩個雙鍵之C_8-C_{12}烯基、以及C_9-C_{12}烯基，其中該C_6-C_{14}烷基之任何-$(CH_2)_2$-可視情況經伸環丙基置換。

【請求項142】

如請求項133至136中任一項之化合物，其中各R^{ww}獨立地選自由以下組成之群：C_6-C_{14}烷基(例如C_6、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{13}烷基)，其中該C_6-C_{14}烷基之任何-$(CH_2)_2$-可視情況經伸環丙基置換。

【請求項143】

如請求項133至136中任一項之化合物，其中各R^{ww}獨立地為分支鏈C_8-C_{12}烯基(例如分支鏈C_{10}烯基)。

【請求項144】

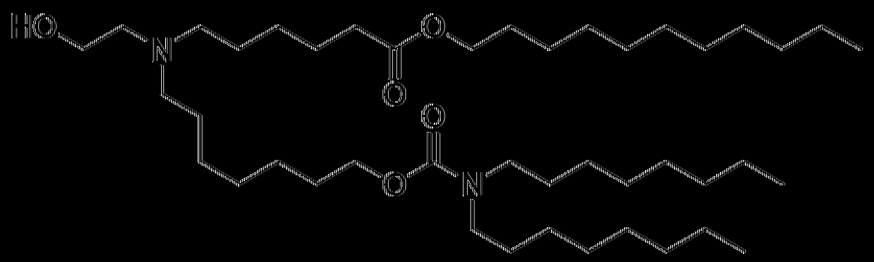
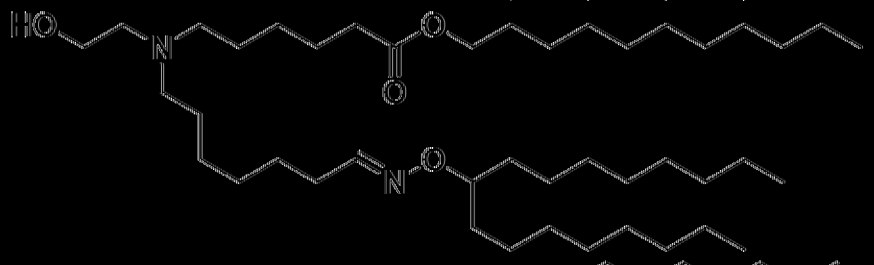
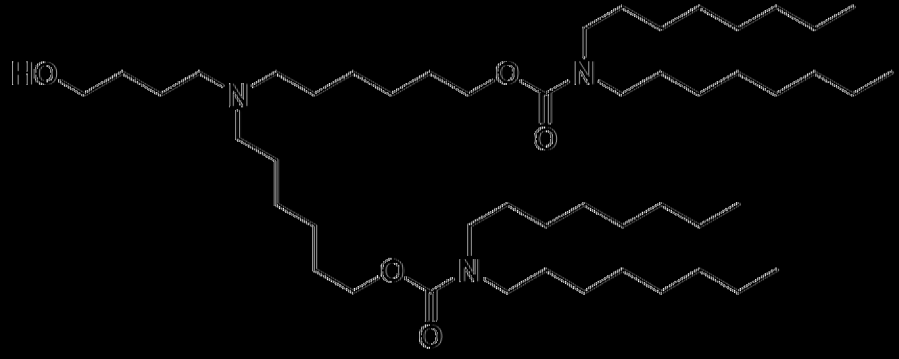
如請求項133至136中任一項之化合物，其中各R^{ww}獨立地為包含至少兩個雙鍵之C_8-C_{12}烯基(例如包含兩個雙鍵之C_9或C_{10}烯基)。

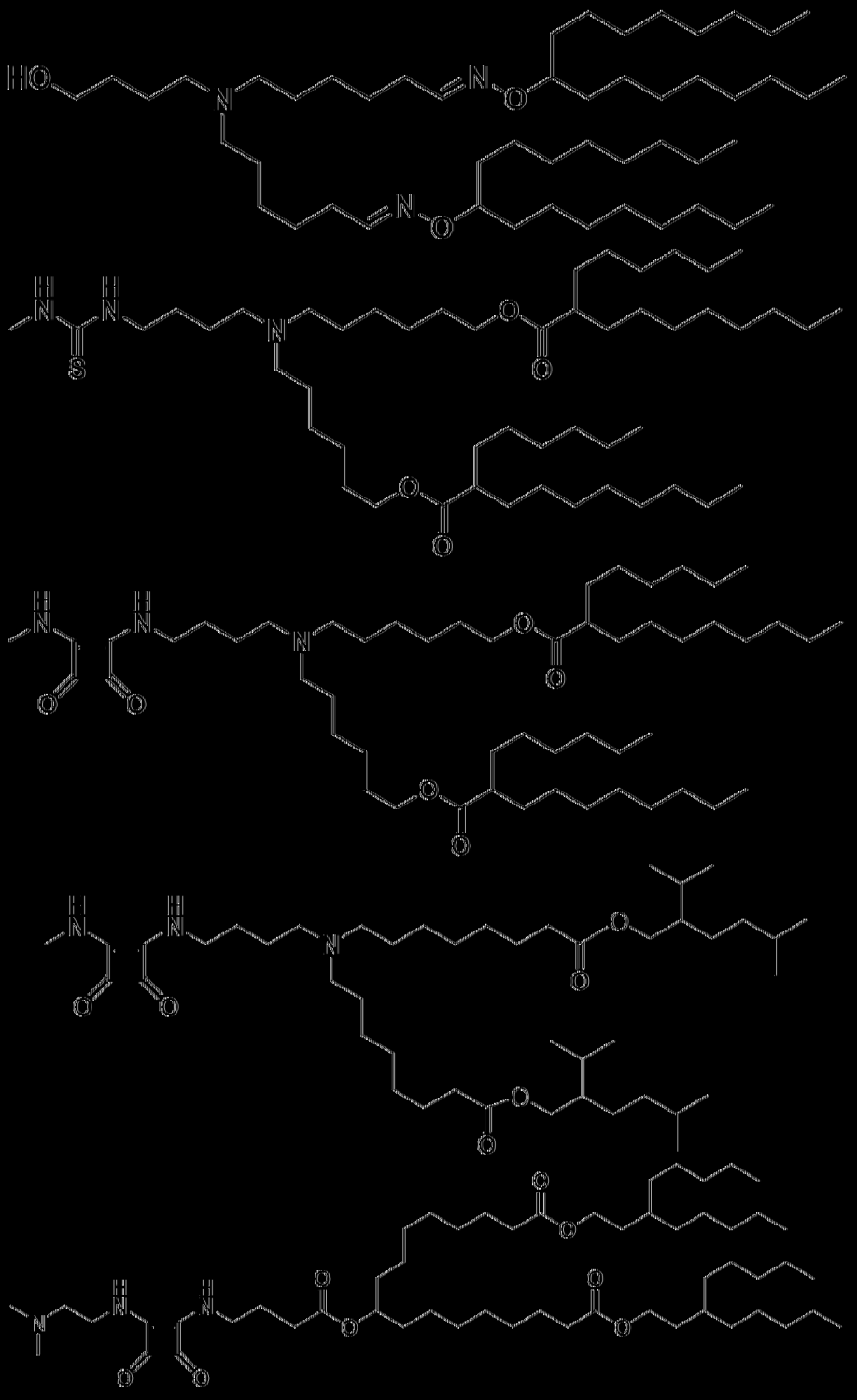
[請求項145]

如請求項133至136中任一項之化合物，其中各R^{ww}獨立地為(C_1伸烷基)-(伸環丙基-C_6烷基)或(C_2伸烷基)-(伸環丙基-C_2烷基)。

[請求項146]

一種化合物，其選自由以下組成之群：

結構	化合物
	1
	2
	3



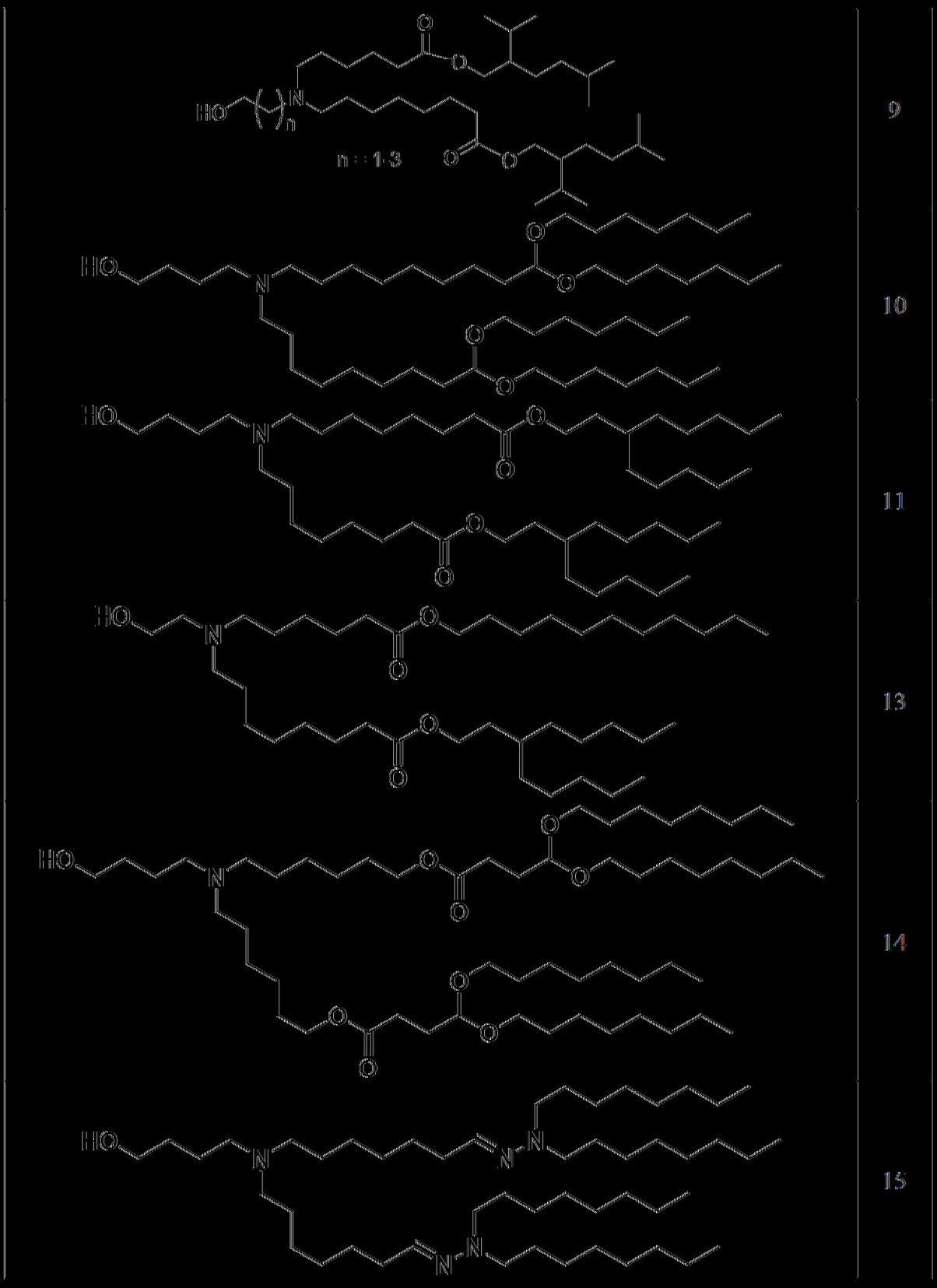
4

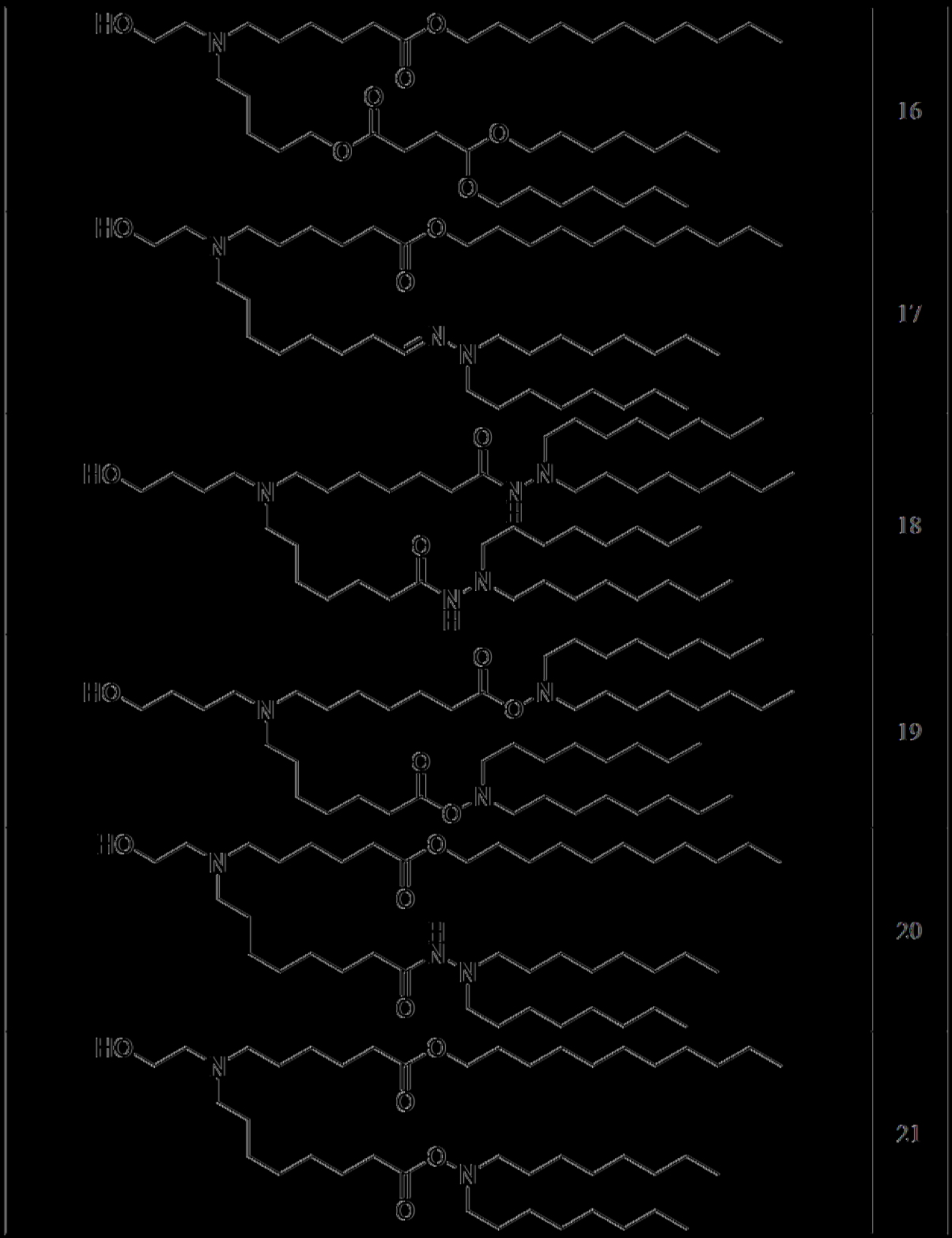
5

6

7

8


9
n = 1-3
10
11
13
14
15



16

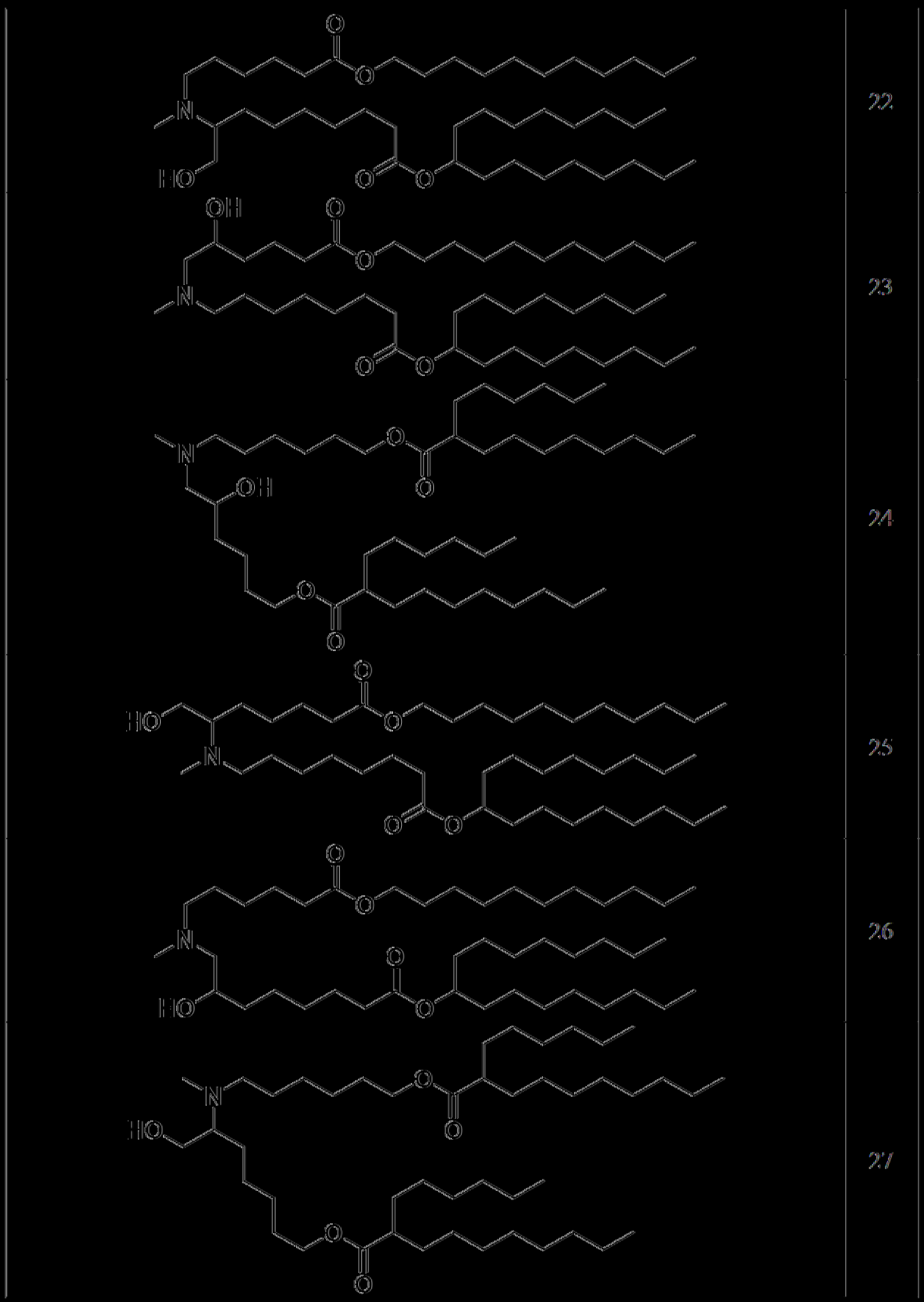
17

18

19

20

21



22

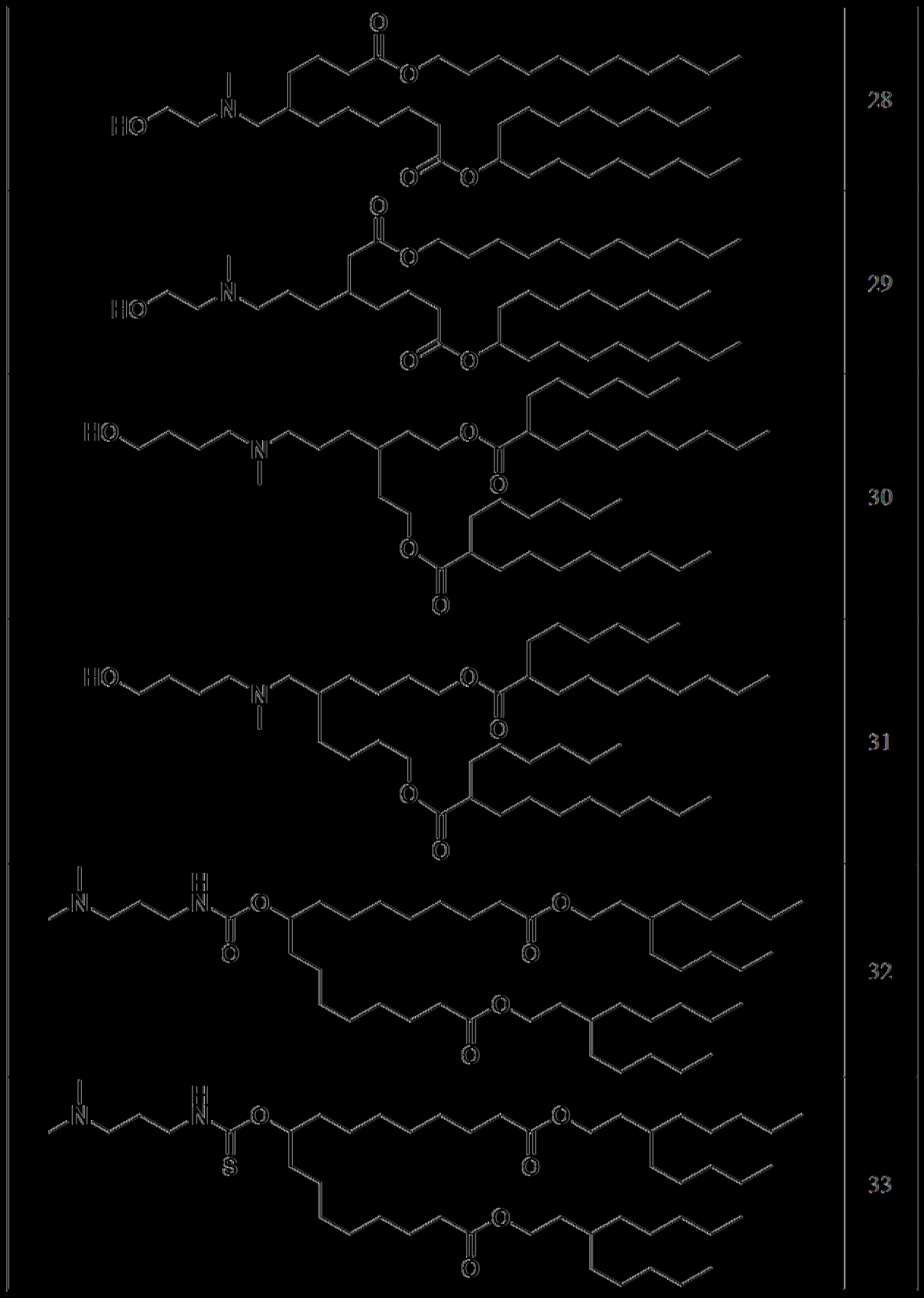
23

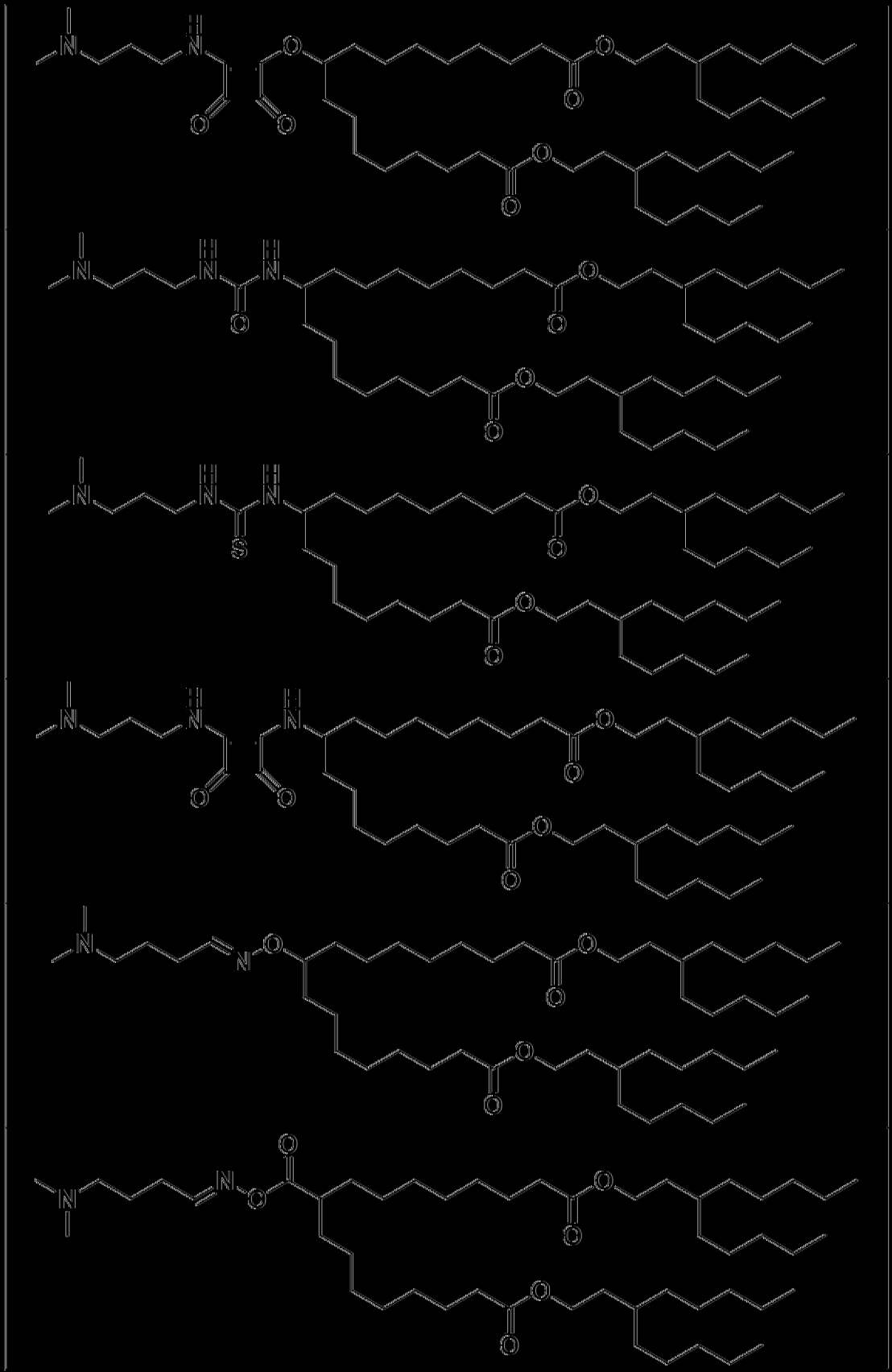
24

25

26

27


28
29
30
31
32
33



34

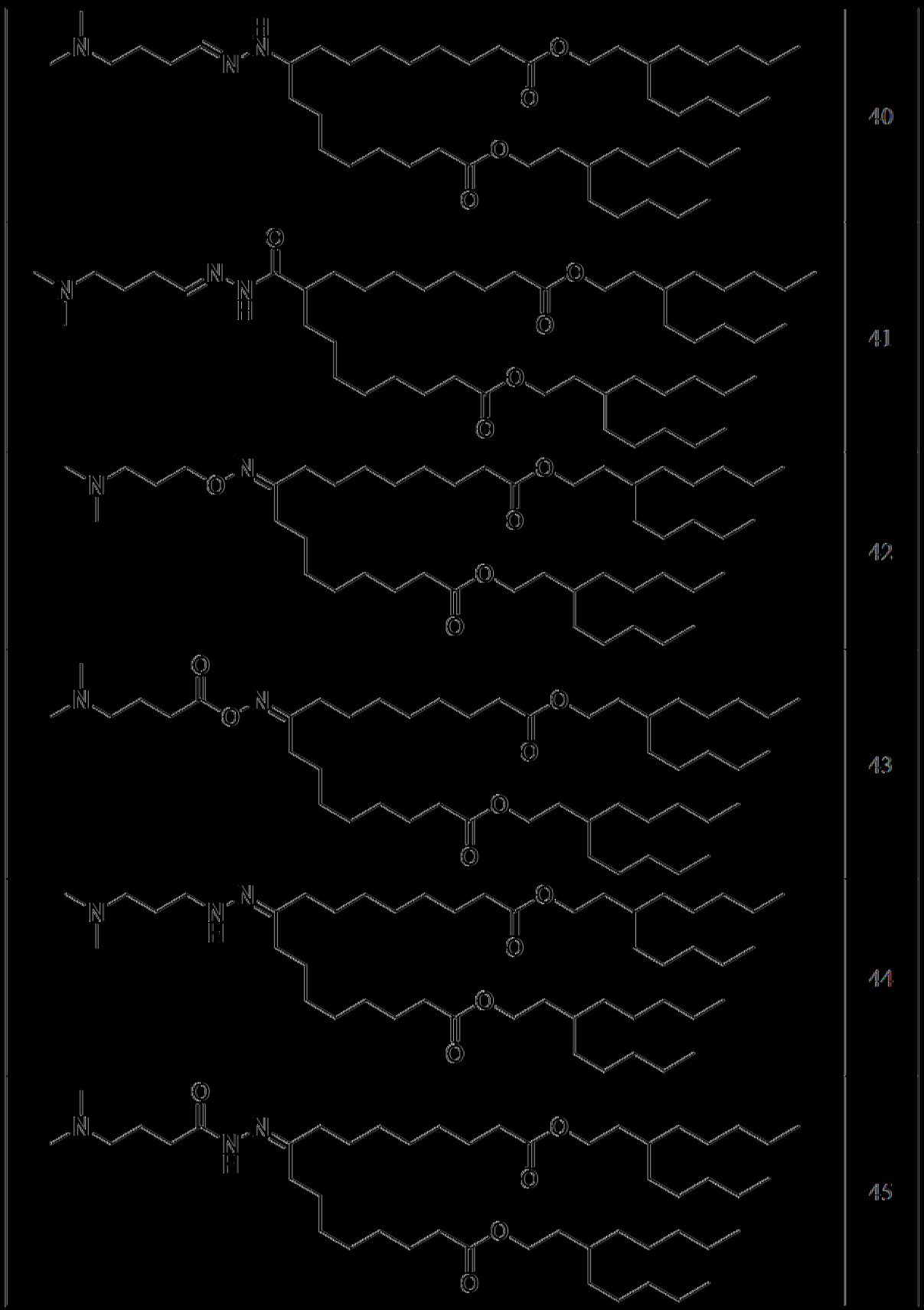
35

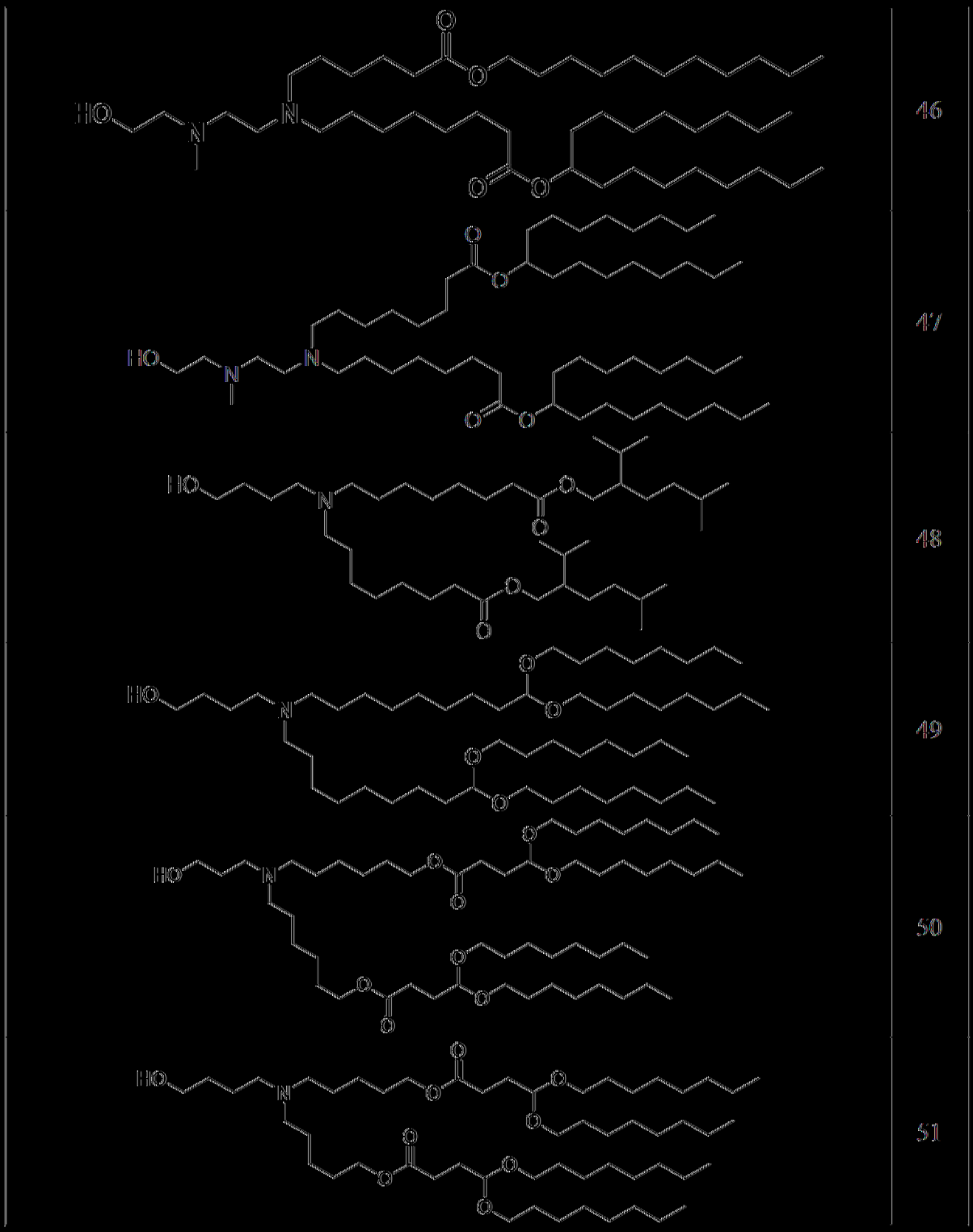
36

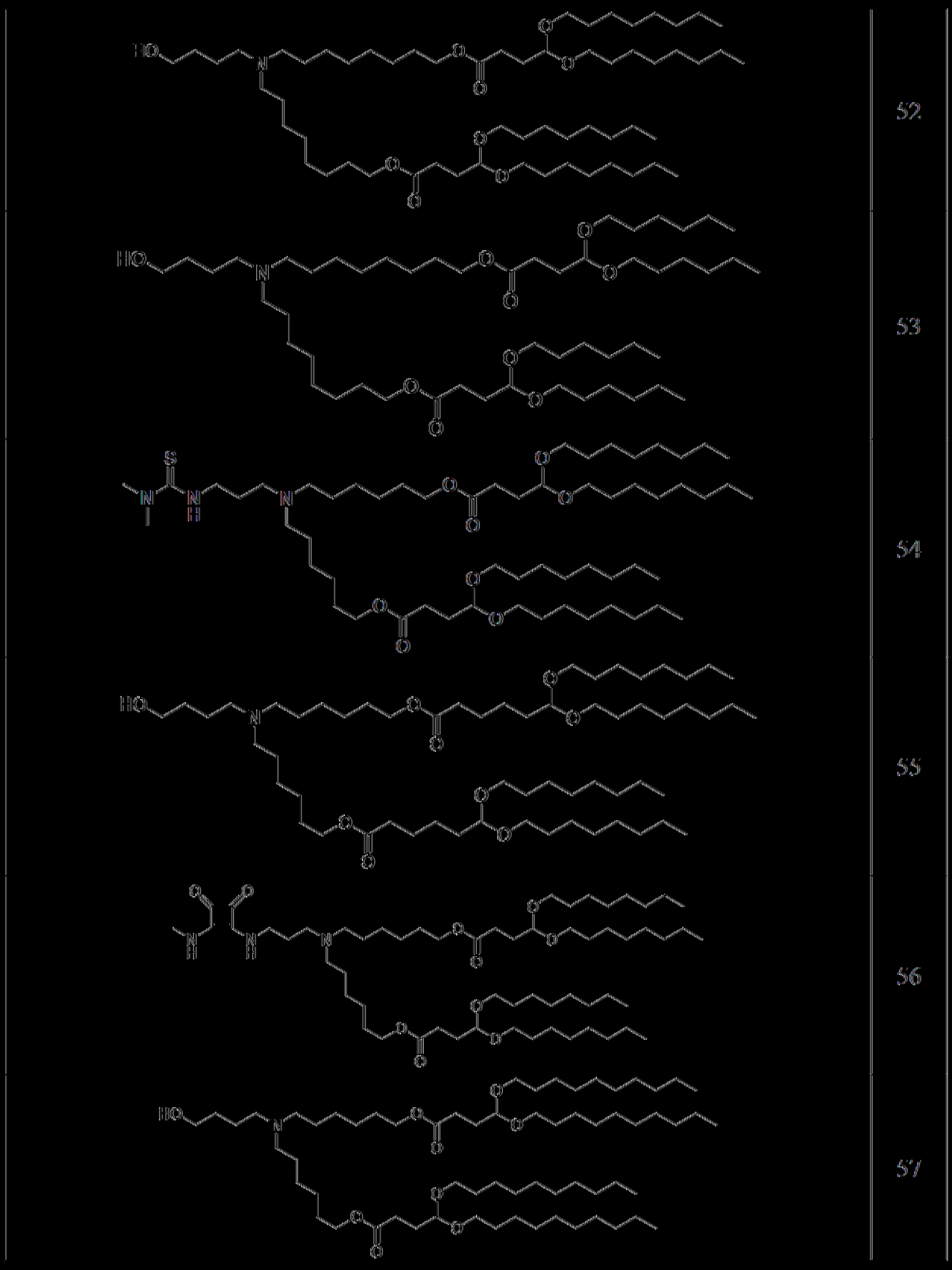
37

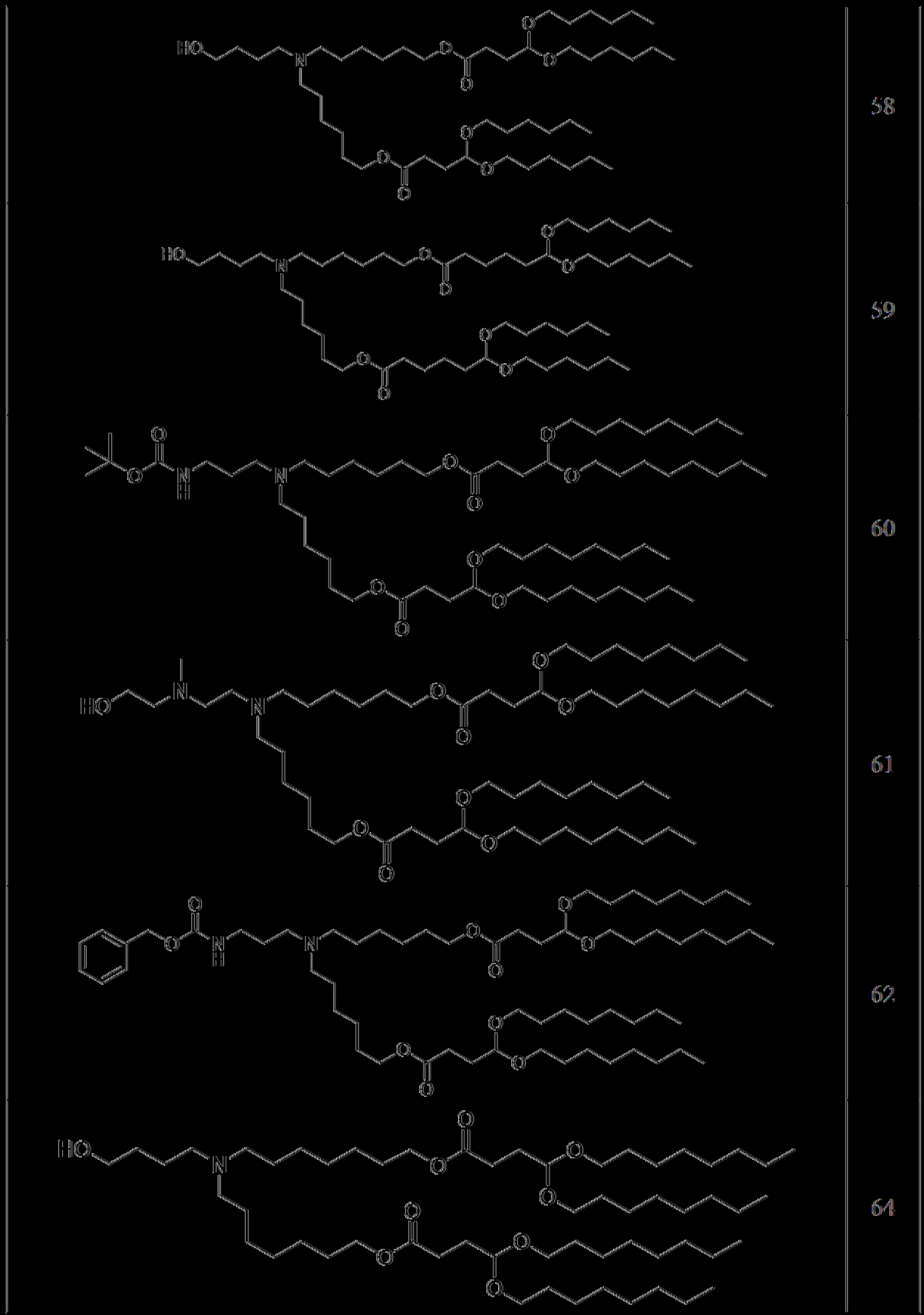
38

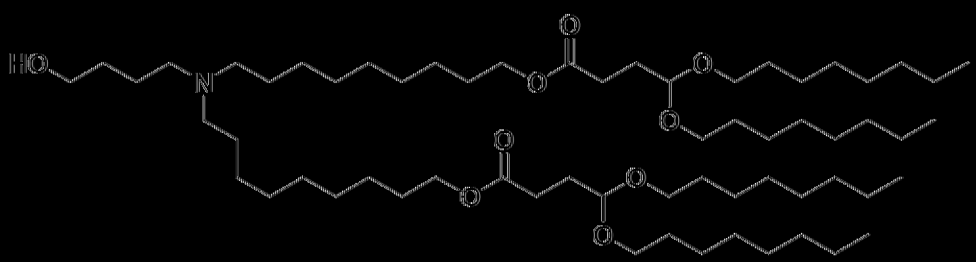
39


40
41
42
43
44
45

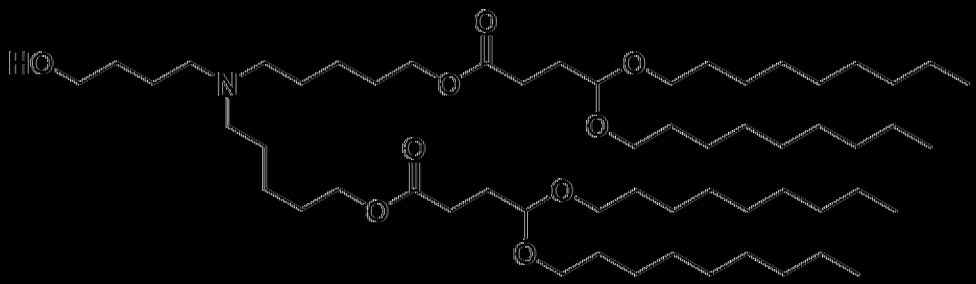

46
47
48
49
50
51


52
53
54
55
56
57

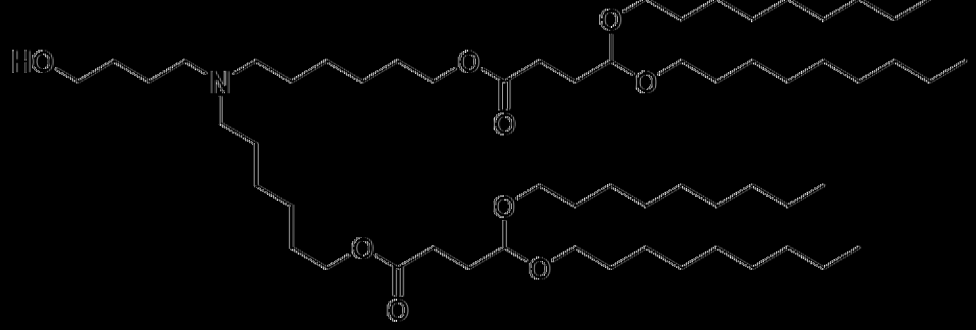

58
59
60
61
62
64



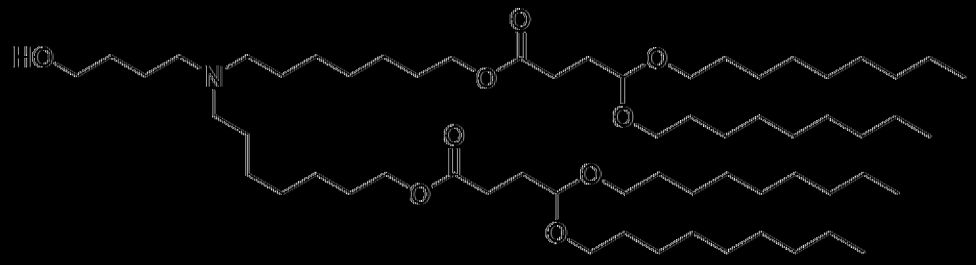
65



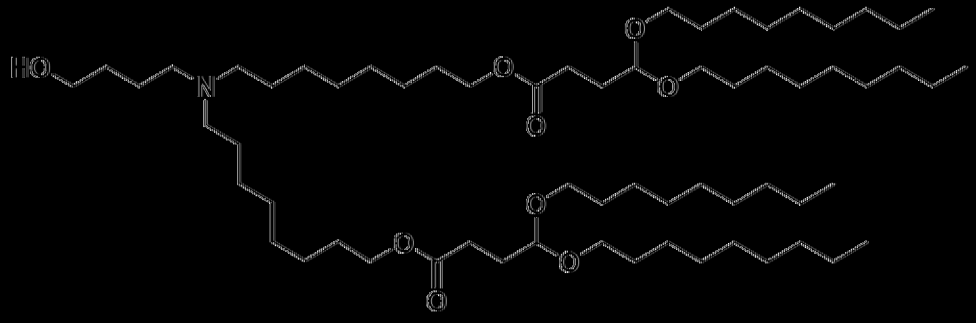
66



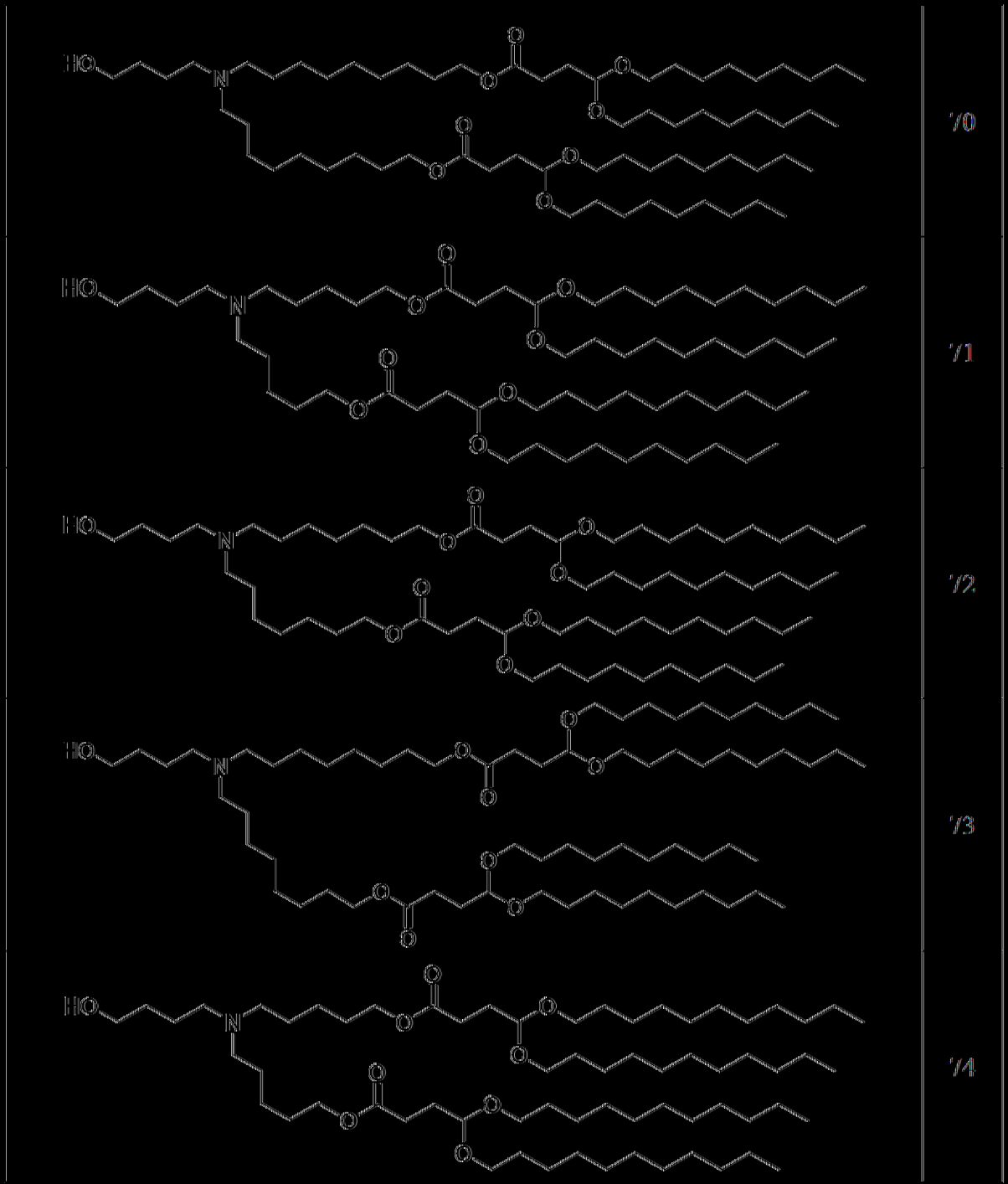
67

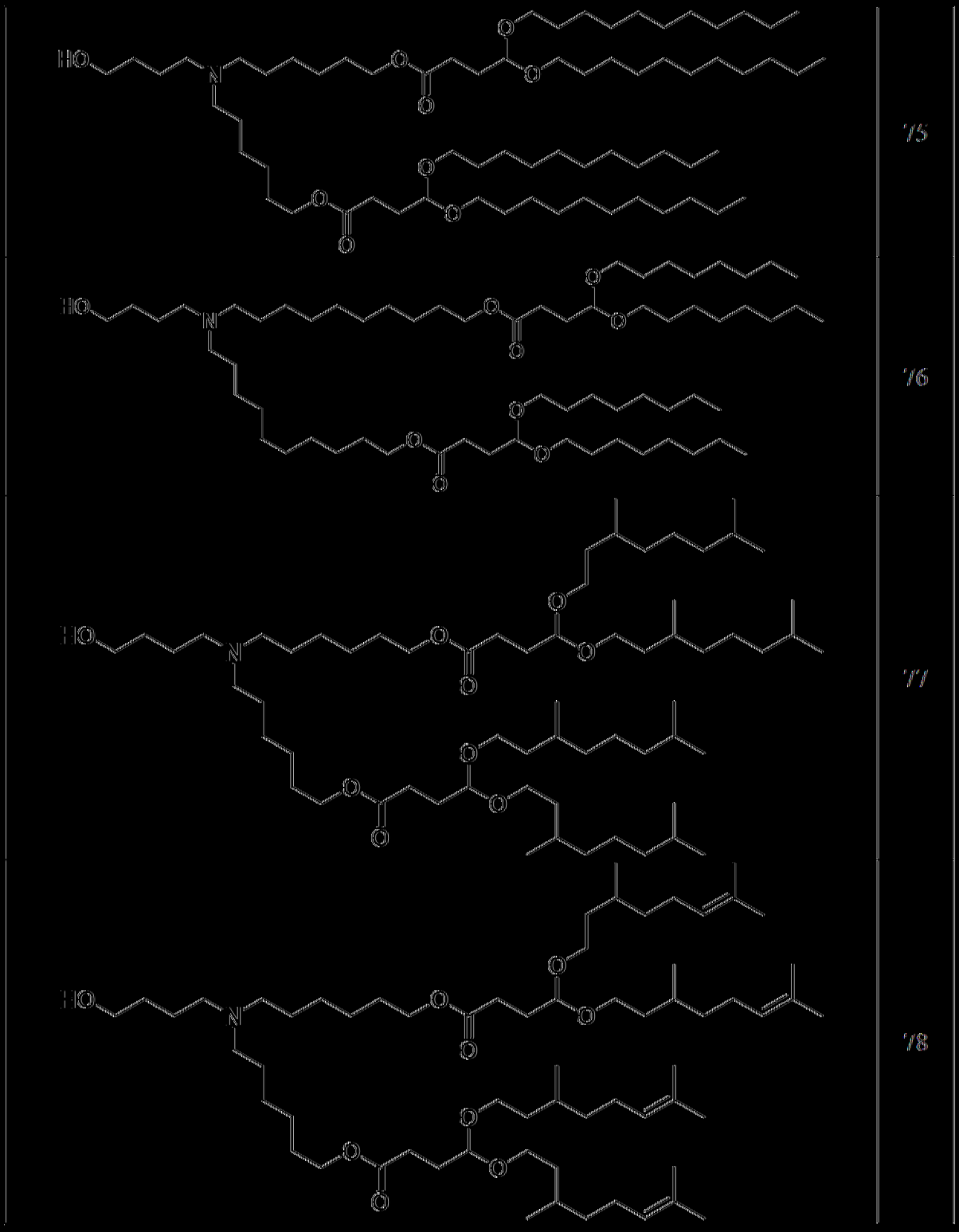


68

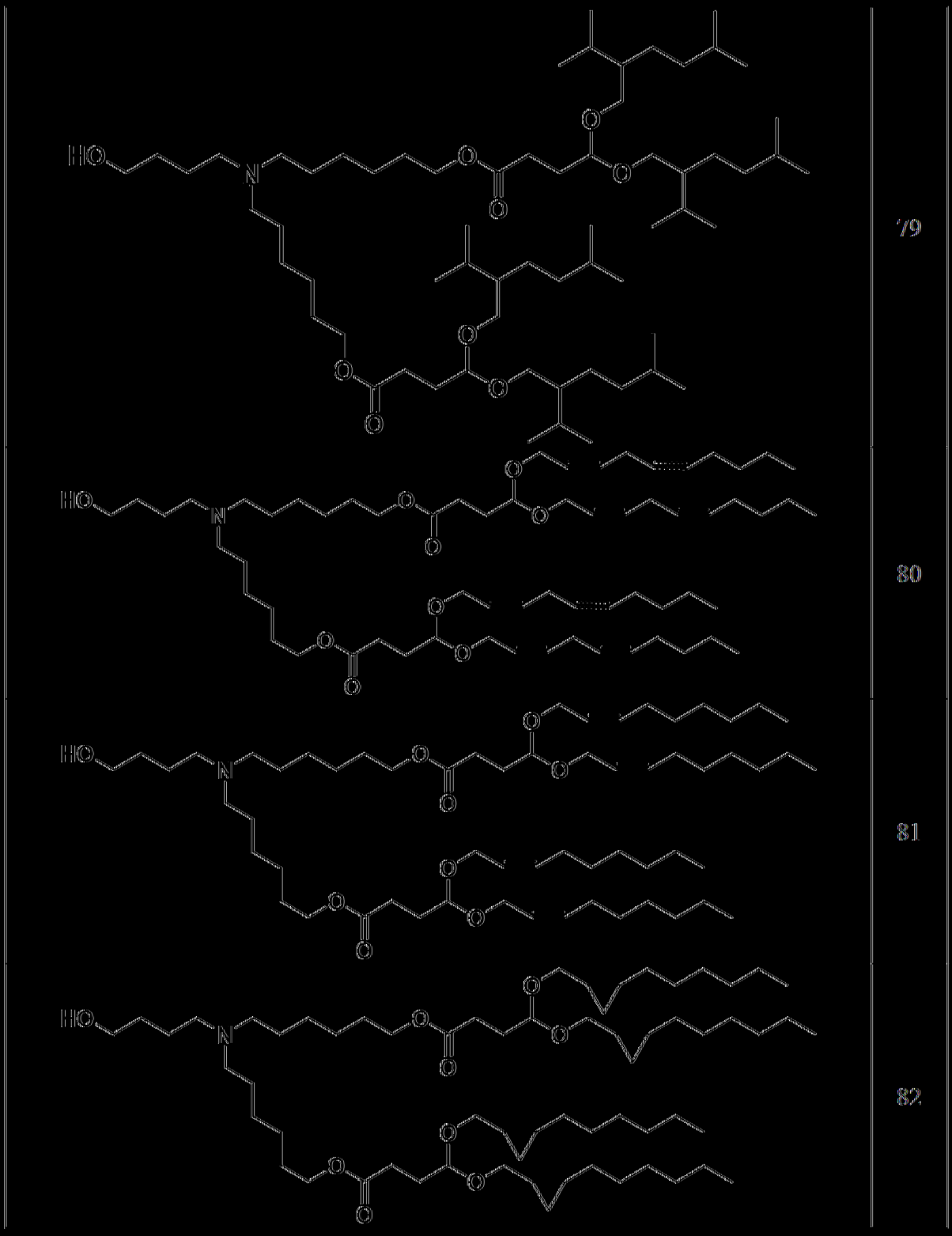


69


HO
N
O
O
O



第 48 頁(發明申請專利範圍)

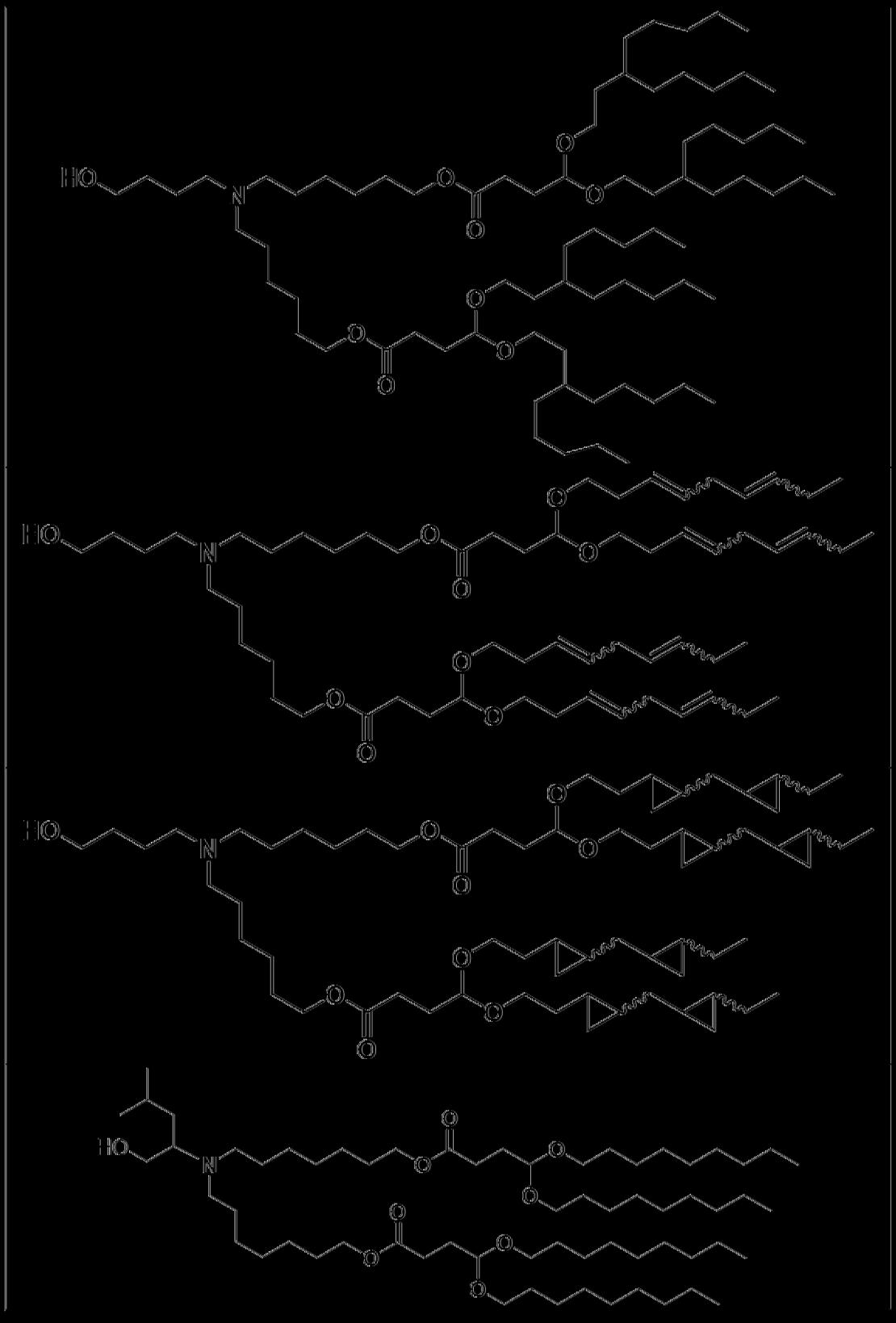


79

80

81

82



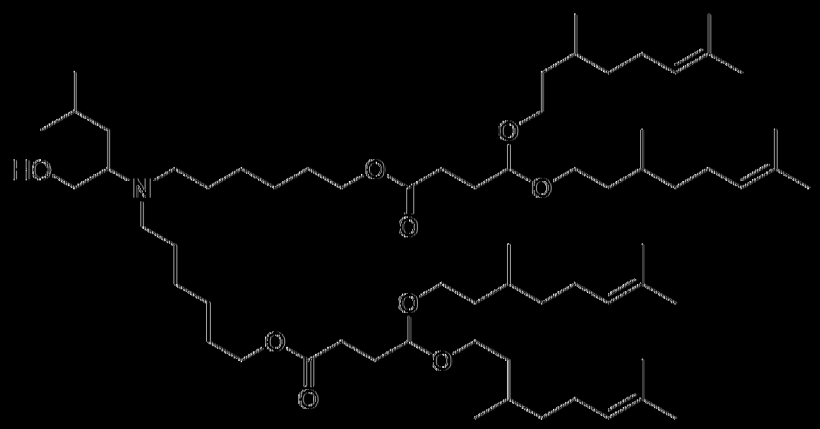
83

84

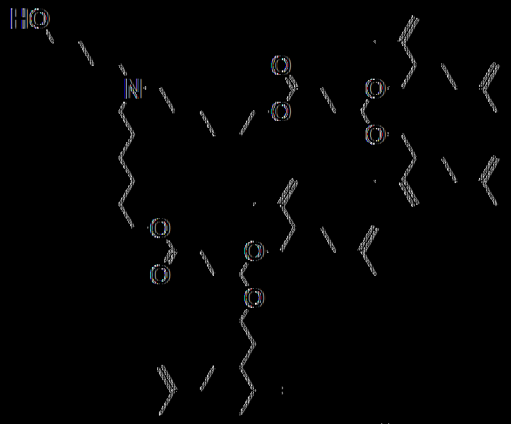
85

86

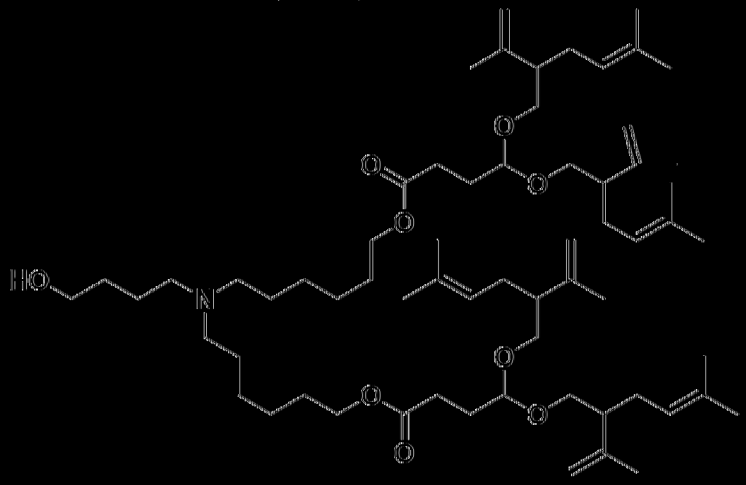
87



88



89



或其醫藥學上可接受之鹽。

[請求項147]

一種醫藥組合物，其包含：

a)炎核苷酸；及

b)包含如請求項1至146中任一項之化合物的遞送載體。

[請求項148]

如請求項147之醫藥組合物，其中該炎核苷酸為DNA。

【請求項149】

如請求項147之醫藥組合物，其中該聚核苷酸為RNA。

【請求項150】

如請求項149之醫藥組合物，其中該RNA為短干擾RNA (siRNA)。

【請求項151】

如請求項150之醫藥組合物，其中該siRNA抑制或抑止細胞中所關注目標之表現。

【請求項152】

如請求項147至151中任一項之醫藥組合物，其中該聚核苷酸包含至少一個修飾。

【請求項153】

如請求項147至152中任一項之醫藥組合物，其進一步包含額外陽離子脂質。

【請求項154】

如請求項147至153中任一項之醫藥組合物，其進一步包含中性脂質。

【請求項155】

如請求項147至154中任一項之醫藥組合物，其進一步包含陰離子脂質。

【請求項156】

如請求項147至155中任一項之醫藥組合物，其進一步包含輔助脂質。

【請求項157】

如請求項147至156中任一項之醫藥組合物，其進一步包含隱形脂質。

【請求項158】

如請求項147至157中任一項之醫藥組合物，其中該等脂質與該等聚核苷酸之重量比為約100:1至約1:1。

【請求項159】

一種疫苗調配物，其包含如請求項147至158中任一項之醫藥組合物。

【請求項160】

一種疫苗製劑，其包含如請求項147至158中任一項之醫藥組合物。

【請求項161】

一種針對傳染原對個體疫苗接種之方法，其包含：

a)使個體與如請求項159之疫苗調配物或如請求項160之疫苗製劑接觸，及

b)引發免疫反應。

【請求項162】

一種將編碼至少一種所關注蛋白質之聚核苷酸遞送至有需要之個體之免疫細胞中之方法，該方法包含向該個體投與如請求項147至158中任一項之醫藥組合物。

【請求項163】

如請求項162之方法，其中該免疫細胞為T細胞。

【請求項164】

如請求項163之方法，其中該T細胞為CD8+ T細胞。

【請求項165】

如請求項163之方法，其中該T細胞為T調節細胞。

【請求項166】

如請求項163之方法，其中該T細胞為CD4+ T細胞。

【請求項167】

如請求項162之方法，其中該免疫細胞為巨噬細胞、樹突狀細胞或肝臟免疫細胞。

【請求項168】

一種脂質奈米粒子(LNP)，其包含如請求項1至146中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項169】

如請求項168之LNP，其進一步包含：

(a) PEG-脂質；

(b)結構性脂質；及

(c)非可離子化脂質及/或兩性離子脂質。

【請求項170】

如請求項169之LNP，其中該可離子化脂質包含可離子化胺基脂質。

【請求項171】

如請求項169或170之LNP，其中該PEG-脂質選自由以下組成之群：PEG-c-DOMG、PEG-DMG、PEG-DLPE、PEG-DMPE、PEG-DPPC及PEG-DSPE。

【請求項172】

如請求項169至171中任一項之LNP，其中該結構性脂質選自由以下

組成之群：膽固醇、糞甾醇、穀甾醇、麥角固醇、菜油固醇、豆固醇、菜子固醇、番茄次鹼、熊果酸、α-生育酚。

【請求項173】

如請求項169至172中任一項之LNP，其中該非可離子化脂質為選自由以下組成之群之磷脂：1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DSPC)、1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、1,2-二亞油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DLPC)、1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-磷酸膽鹼(DMPC)、1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DOPC)、1,2-二軟脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DPPC)、1,2-雙十一烷醯基-sn-甘油基-磷酸膽鹼(DUPC)、1-軟脂醯基-2-油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(POPC)、1,2-二-O-十八烯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(18:0二醚PC)、1-油醯基-2-膽固醇基半琥珀醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(OChemsPC)、1-十六基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(C16 Lyso PC)、1,2-二亞麻醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼、1,2-二花生四烯醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼、1,2-雙二十二碳六烯醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼、1,2-二植醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(ME 16.0 PE)、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亞油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亞麻醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二花生四烯醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-雙二十二碳六烯醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺、1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸基-rac-(1-甘油)鈉鹽(DOPG)、(S)-2-銨基-3-((((R)-2-(油醯基氧基)-3-(硬脂醯基氧基)丙氧基)氧化磷醯基)氧基)丙酸鈉(L-α-磷脂醯絲胺酸；腦PS)、二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼(DMPC)、二肉豆蔻醯基磷酸乙醇胺(DMPE)、二肉豆蔻醯基磷脂醯甘油(DMPG)、二油醯基-磷脂醯乙醇胺4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)-環己烷-

1-甲酸鹽(DOPE-mal)、二油醯基磷脂醯甘油(DOPG)、1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-(磷酸基-L-絲胺酸) (DOPS)、細胞融合磷脂(acell-fusogenicphospholipid)(DPhPE)、二軟脂醯基磷脂醯乙醇胺(DPPE)、二軟脂醯基磷脂醯甘油(DPPG)、二軟脂醯基磷脂醯絲胺酸(DPPS)、二硬脂醯基磷脂醯膽鹼(DSPC)、二硬脂醯基-磷脂醯基-乙醇胺(DSPE)、二硬脂醯基磷酸乙醇胺咪唑(DSPEI)、1,2-雙十一烷醯基-sn-甘油基-磷酸膽鹼(DUPC)、卵磷脂醯膽鹼(EPC)、1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸酯(18:1 PA；DOPA)、雙((S)-2-羥基-3-(油醯基氧基)丙基)磷酸銨(18:1 DMP；LBPA)、1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸基-(1'-肌醇) (DOPI；18:1 PI)、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸基-L-絲胺酸(18:0 PS)、1,2-二亞油醯基-sn-甘油基-3-磷酸基-L-絲胺酸(18:2 PS)、1-軟脂醯基-2-油醯基-sn-甘油基-3-磷酸基-L-絲胺酸(16:0-18:1 PS；POPS)、1-硬脂醯基-2-油醯基-sn-甘油基-3-磷酸基-L-絲胺酸(18:0-18:1 PS)、1-硬脂醯基-2-亞油醯基-sn-甘油基-3-磷酸基-L-絲胺酸(18:0-18:2 PS)、1-油醯基-2-羥基-sn-甘油基-3-磷酸基-L-絲胺酸(18:1 Lyso PS)、1-硬脂醯基-2-羥基-sn-甘油基-3-磷酸基-L-絲胺酸(18:0 Lyso PS)及鞘磷脂。

【請求項174】

如請求項169至173中任一項之LNP，其進一步包含靶向部分。

【請求項175】

如請求項174之LNP，其中該靶向部分為抗體或其片段。

【請求項176】

如請求項169至175中任一項之LNP，其進一步包含活性劑。

【請求項177】

如請求項176之LNP，其中該活性劑為核酸。

【請求項178】

如請求項177之LNP，其中該核酸為核糖核酸。

【請求項179】

如請求項178之LNP，其中該核糖核酸為選自由以下組成之群之至少一種核糖核酸：小干擾RNA (siRNA)、不對稱干擾RNA (aiRNA)、微小RNA (miRNA)、Dicer-受質RNA (dsRNA)、小髮夾RNA (shRNA)、信使RNA (mRNA)及長非編碼RNA (lncRNA)。

【請求項180】

如請求項177之LNP，其中該核酸為信使RNA (mRNA)或環狀RNA。

【請求項181】

如請求項180之LNP，其中該mRNA包括編碼癌症抗原之開讀框。

【請求項182】

如請求項180之LNP，其中該mRNA包括編碼免疫檢查點調節劑之開讀框。

【請求項183】

如請求項180至182中任一項之LNP，其中該mRNA包括選自由以下組成之群之至少一個基序：莖環、鏈終止核苷、聚A序列、聚腺苷酸化訊號及5'帽結構。

【請求項184】

如請求項177之LNP，其中該核酸為編碼選自SEQ ID NO: 1-54之蛋白質之聚核苷酸。

【請求項185】

如請求項177之LNP，其中該核酸適合於基因體編輯技術。

【請求項186】

如請求項185之LNP，其中該基因體編輯技術為成簇規律間隔短回文重複序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeats；CRISPR)或轉錄活化子樣效應物核酸酶(transcription activator-like effector nuclease；TALEN)。

【請求項187】

如請求項177之LNP，其中該核酸為選自由以下組成之群之適合於基因體編輯技術的至少一種核酸：CRISPR RNA (crRNA)、反式激活crRNA (tracrRNA)、單導引RNA (sgRNA)及DNA修復模板。

【請求項188】

如請求項180之LNP，其中該mRNA之長度為至少30個核苷酸。

【請求項189】

如請求項180之LNP，其中該mRNA之長度為至少300個核苷酸。

【請求項190】

一種醫藥組合物，其包含如請求項168至189中任一項之LNP及醫藥學上可接受之載劑。

【請求項191】

如請求項190之醫藥組合物，其經調配用於靜脈內或肌肉內投與。

【請求項192】

如請求項191之醫藥組合物，其經調配以用於靜脈內投與。

【請求項193】

一種用於將核酸遞送至細胞之方法，其包含使該細胞與如請求項168

至189中任一項之LNP或如請求項190至192中任一項之醫藥組合物接觸。

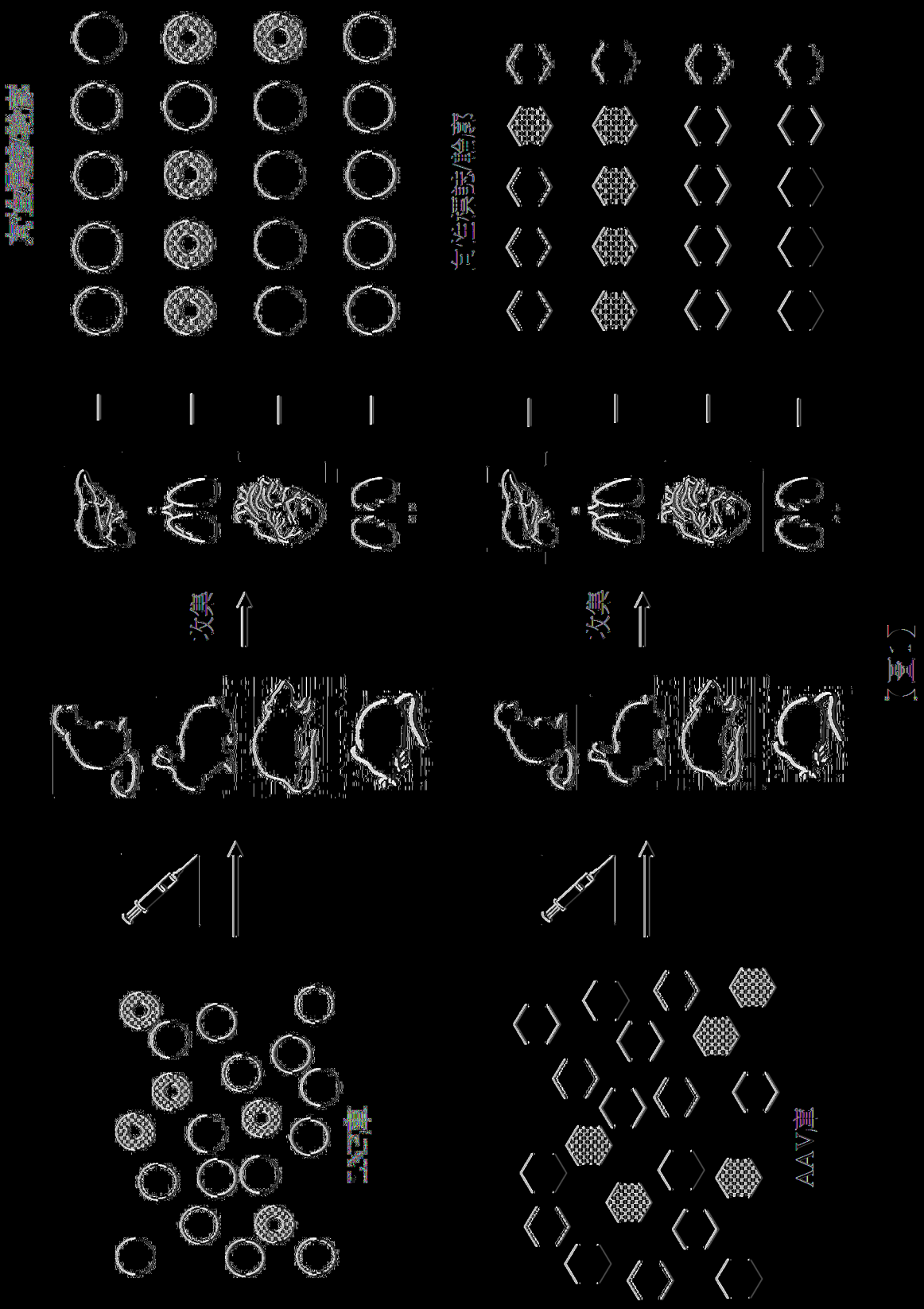
【請求項194】

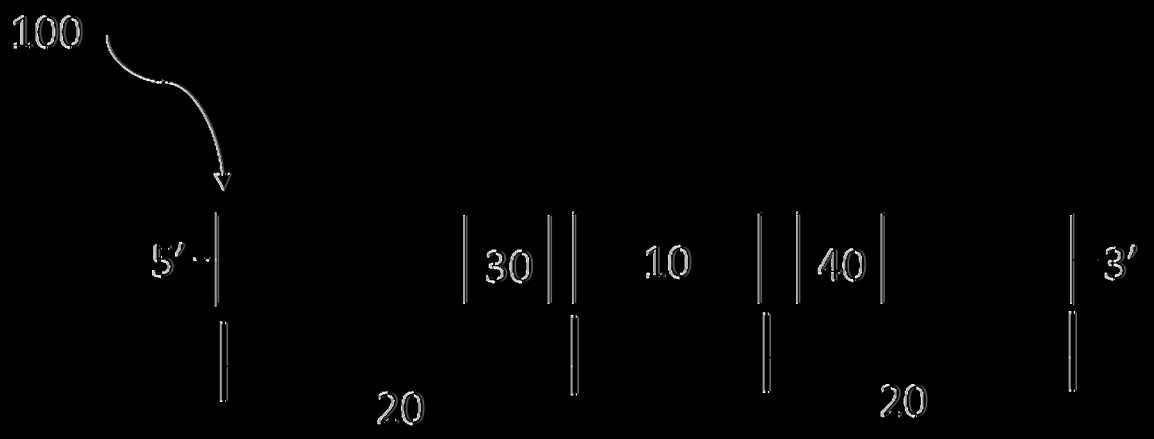
一種用於治療特徵在於缺乏功能蛋白之疾病之方法，該方法包含向患有該疾病之個體投與包含如請求項168至189中任一項之LNP的LNP調配物，其中mRNA編碼該功能蛋白或與該功能蛋白具有相同生物活性的蛋白質。

【請求項195】

一種用於治療特徵在於多肽過度表現之疾病之方法，其包含向患有該疾病之個體投與包含如請求項168至189中任一項之LNP以及siRNA的LNP調配物，其中該siRNA靶向該過度表現多肽之表現。

(發明圖式)





圖(圖2)

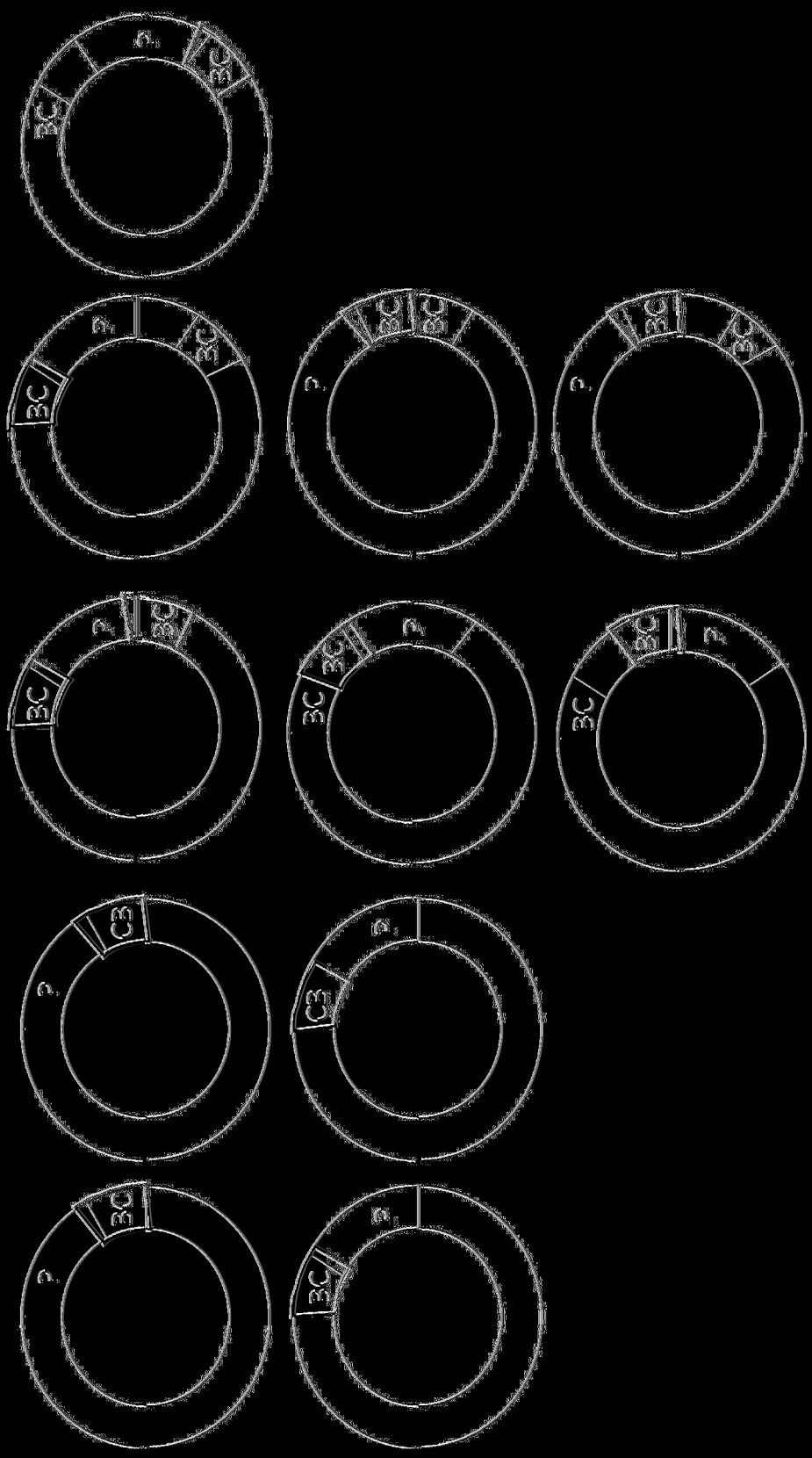

6
6
6

圖 7C7C1

式
分子
AAV