(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-521615
(P2025-521615A)
(43)公表日　令和7年7月10日(2025.7.10)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C07C 229/12	*(2006.01)*	C07C	229/12		4C076
C12N 15/113	*(2010.01)*	C12N	15/113	Z	4C084
C12N 15/88	*(2006.01)*	C12N	15/88	Z	4C086
C12N 15/12	*(2006.01)*	C12N	15/12		4H006
A61K 47/69	*(2017.01)*	A61K	47/69		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全259頁）　最終頁に続く

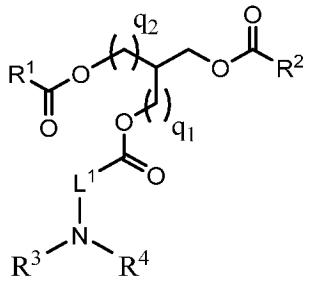
(21)出願番号　特願2024-575681(P2024-575681)
(86)(22)出願日　令和5年6月23日(2023.6.23)
(85)翻訳文提出日　令和7年2月25日(2025.2.25)
(86)国際出願番号　PCT/US2023/026160
(87)国際公開番号　WO2023/250197
(87)国際公開日　令和5年12月28日(2023.12.28)
(31)優先権主張番号　63/355,024
(32)優先日　令和4年6月23日(2022.6.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/386,482
(32)優先日　令和4年12月7日(2022.12.7)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/464,022
最終頁に続く

(71)出願人　524471588
ターン バイオテクノロジーズ，インク．
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ９４０４３，マウンテンビュー，ノース バーナード アベニュー ３１９
(74)代理人　110000659
弁理士法人広江アソシエイツ特許事務所
(72)発明者　ジュムア，ムハンナド
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ９５１３８，サンノゼ，トローブリッジ ウェイ ５６６９
(72)発明者　カマル，ジーシャーン
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ９４５８３，サンラモン，ダボナ ドライブ ９５８３
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　脂質構造及びそれを含む組成物

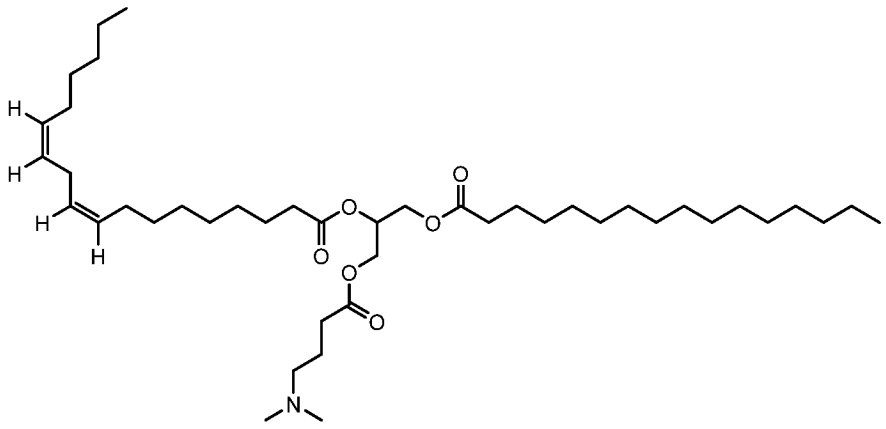
(57)【要約】
本開示は、イオン化可能な脂質と、イオン化可能な脂質を含む組成物とに関する。哺乳動物の細胞又は器官への送達のための、イオン化可能な脂質であって、任意選択で、ヘルパー脂質、安定化脂質、及び構造的脂質などの他の脂質成分と組み合わせたイオン化可能な脂質と、核酸などの治療剤と、から構成される脂質－ナノ粒子組成物が記載される。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
式（Ｉ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：
【化１】

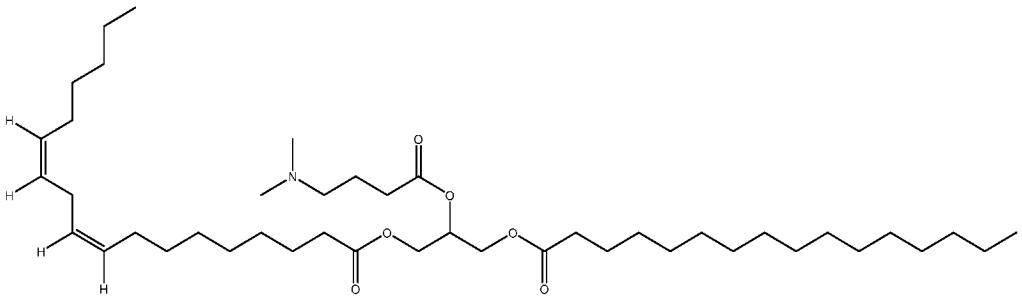


(I)

式中、
L^1が、C_1-C_6アルキレンであり、
R^1が、C_6-C_{20}アルケニルであり、
R^2が、C_6-C_{20}アルキルであり、
R^3及びR^4が、各々独立して、Ｈ又はC_1-C_3アルキルであり、
q_1が、不在か、又は１であり、
q_2が、不在か、又は１である。
【請求項２】
以下の構造：
【化２】

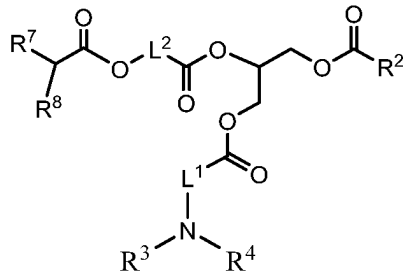


，又は



のうちの１つを有する、請求項１に記載のイオン化可能な脂質。
【請求項３】
式（Ｉ－Ａ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

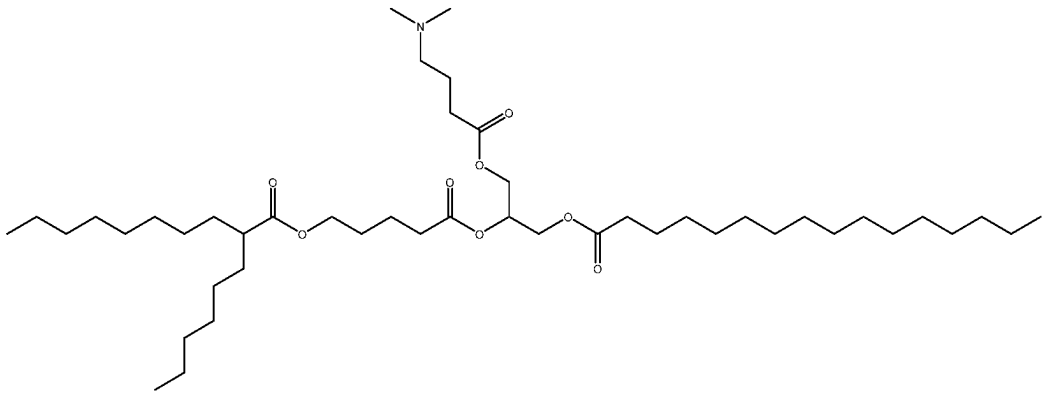
【化３】



(I-A)

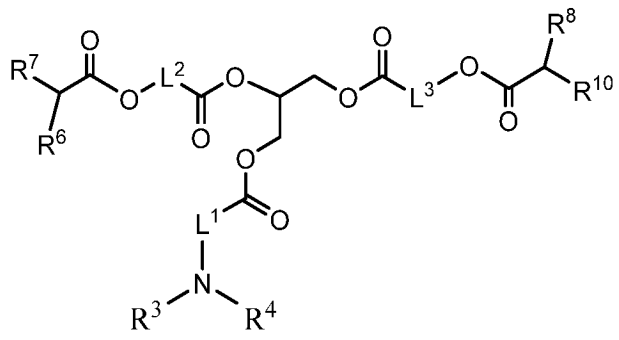
式中、
L^1が、C_1-C_6アルキレンであり、
L^2が、C_1-C_8アルキレンであり、
R^2が、C_6-C_{20}アルキルであり、
R^3及びR^4が、各々独立して、H又はC_1-C_3アルキルであり、
R^7が、C_4-C_{20}アルキルであり、
R^8が、C_4-C_{20}アルキルである。

【請求項４】
以下の構造：
【化４】



を有する、請求項３に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項５】
式（Ｉ－Ｂ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：
【化５】



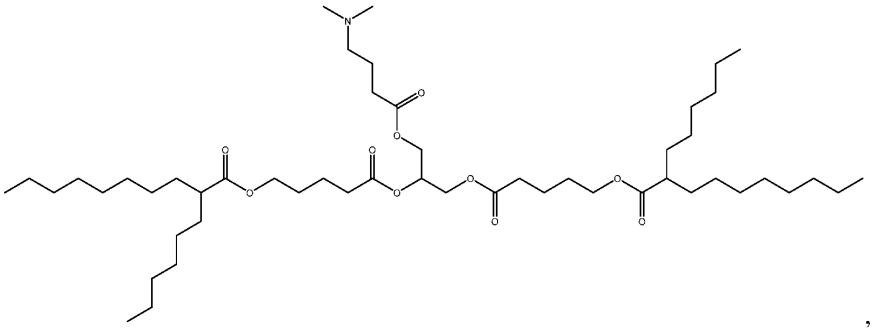
(I-B)

式中、

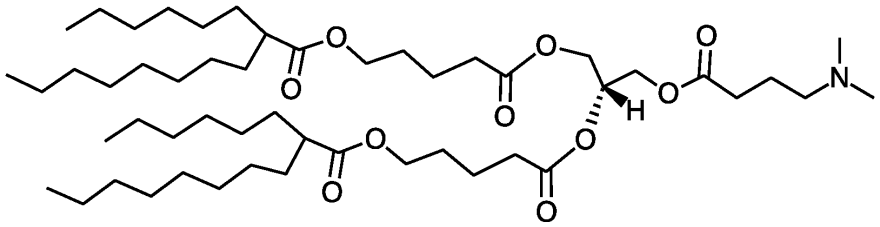
L^1が、C_1－C_6アルキレンであり、
L^2が、C_1－C_8アルキレンであり、
L^3が、C_1－C_8アルキレンであり、
R^3及びR^4が、各々独立して、H、C_1－C_4アルキル、－CH_2－シクロプロピル、－（CH_2）$_n$OHであるか、又はR^3及びR^4が、一緒にN－ヘテロシルクルを形成し、
R^6が、C_4－C_{20}アルキルであり、
R^7が、C_4－C_{20}アルキルであり、
R^8が、C_4－C_{20}アルキルであり、
R^{10}が、C_4－C_{20}アルキルであり、
nが、２、３、又は４である。

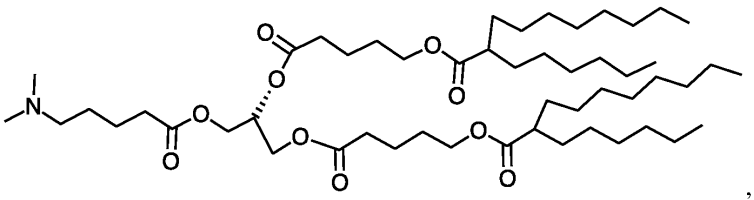
【請求項６】
前記イオン化可能な脂質が、以下の構造：

【化６】

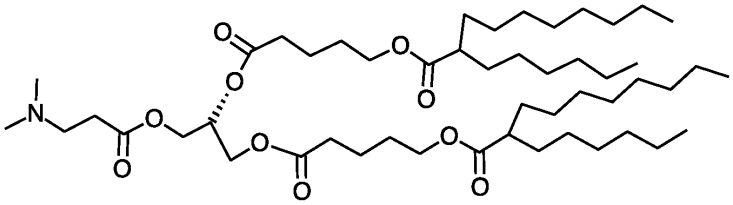


,

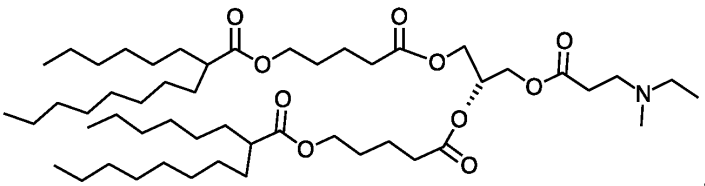




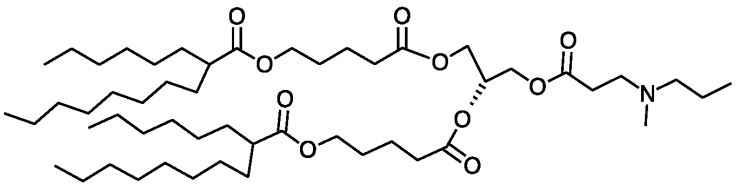
,



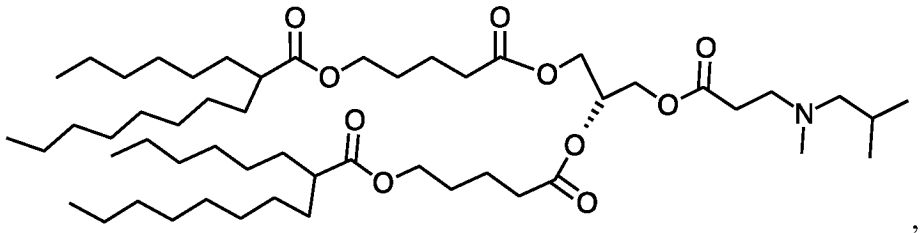
,

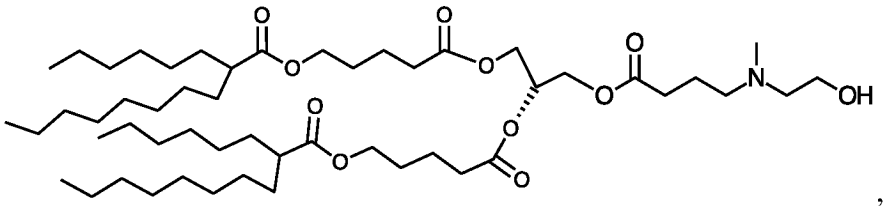


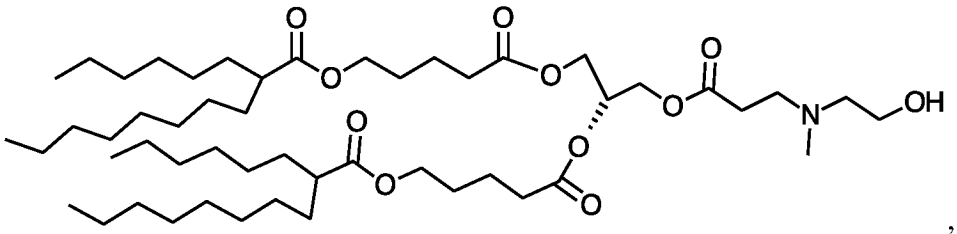
,

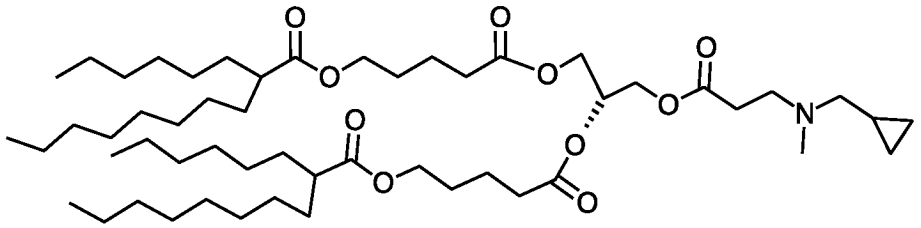


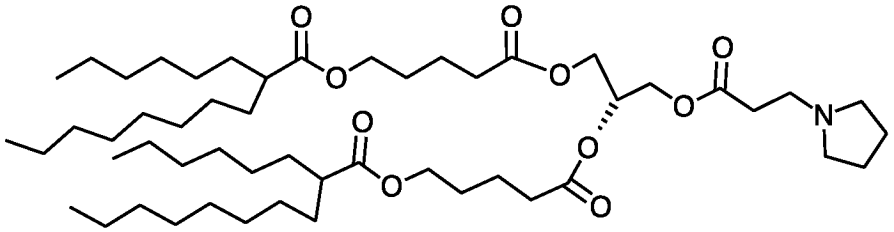
,

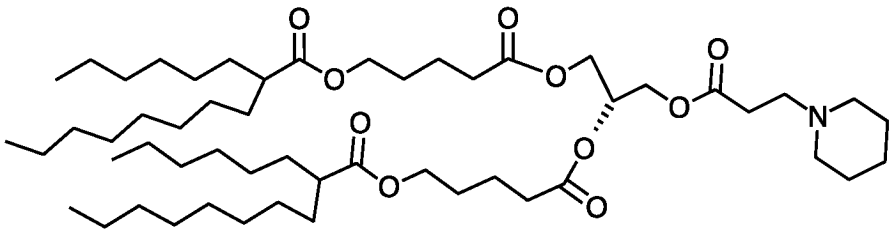

,


,


,


,


,又は

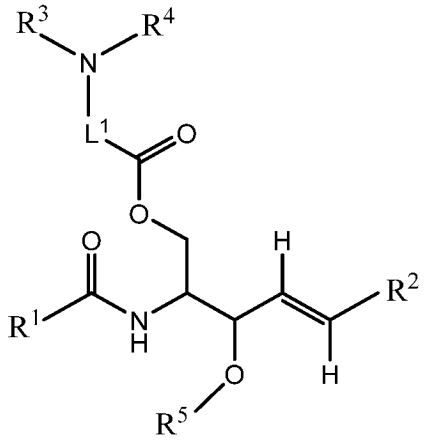


のうちの１つを有する、請求項５に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項７】

式（ＩＩ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

【化７】

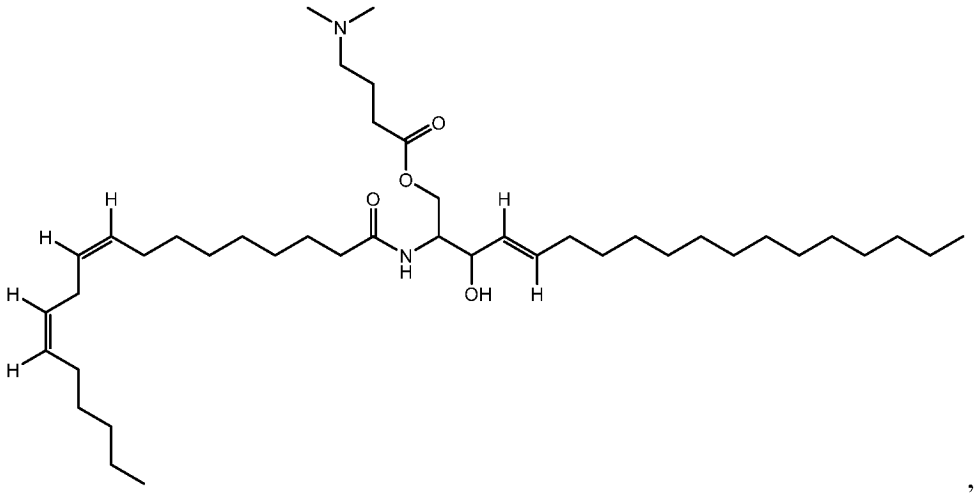


(II)

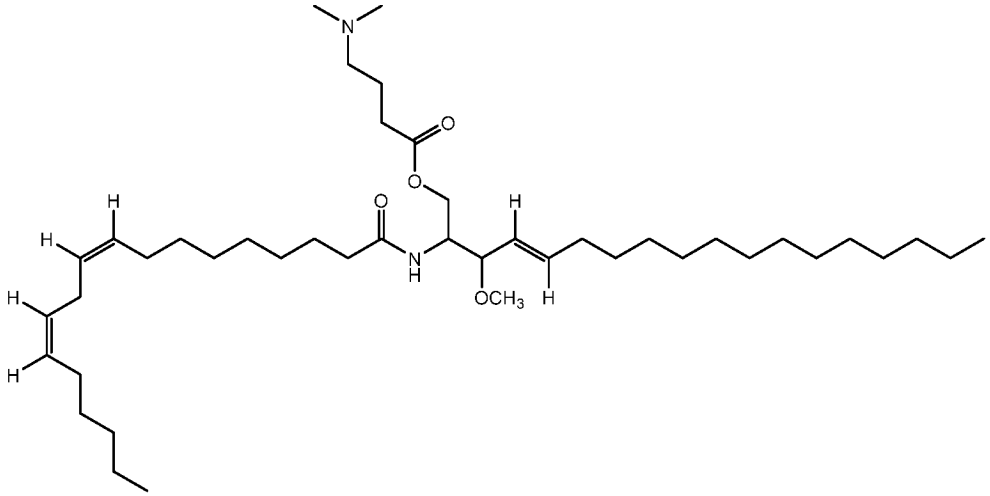
式中、
L^1が、C_1－C_6アルキレンであり、
R^1が、C_6－C_{20}アルケニルであり、
R^2が、C_6－C_{20}アルキルであり、
R^3及びR^4が、各々独立して、H又はC_1－C_3アルキルであり、
R^5が、H又はC_1－C_3アルキルである。

【請求項８】
以下の構造：

【化８】



, 又は

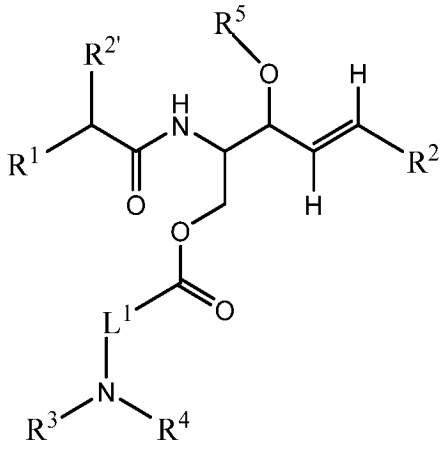


のうちの１つを有する、請求項７に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項９】

式（ＩＩＩ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

【化９】



(III)

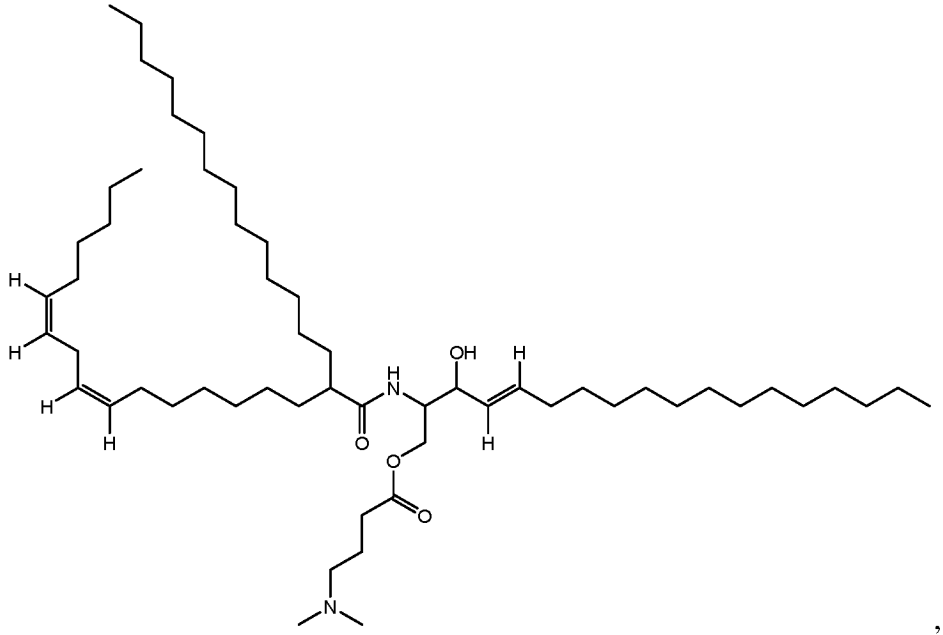
式中、

Ｌ^{1}が、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、
Ｒ^{1}が、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、
Ｒ^{2}が、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、
Ｒ$^{2'}$が、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、
Ｒ^{3}及びＲ^{4}が、各々独立して、Ｈ又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{3}$アルキルであり、
Ｒ^{5}が、Ｈ又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{3}$アルキルである。

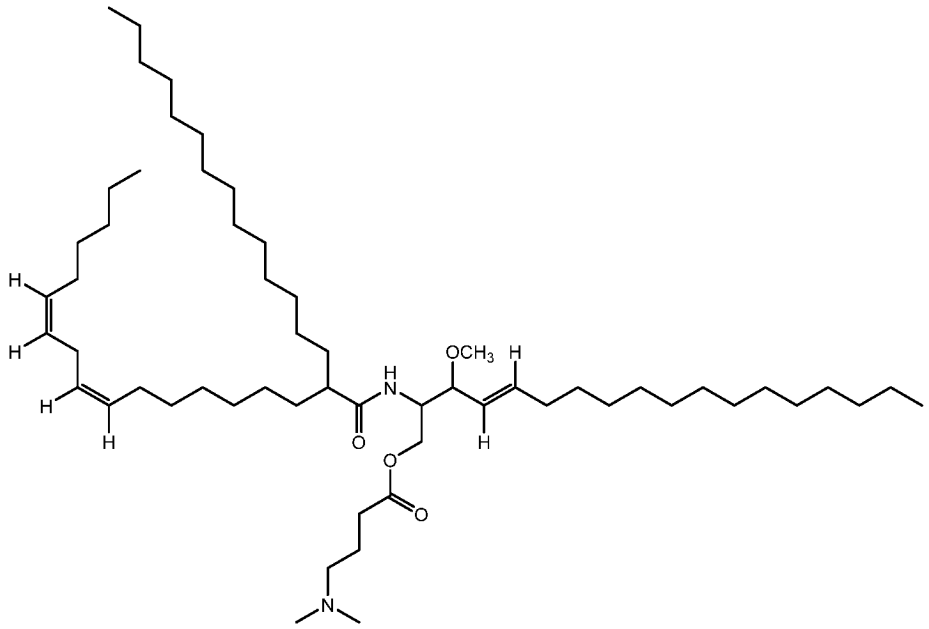
【請求項１０】

以下の構造：

【化１０】



, 又は

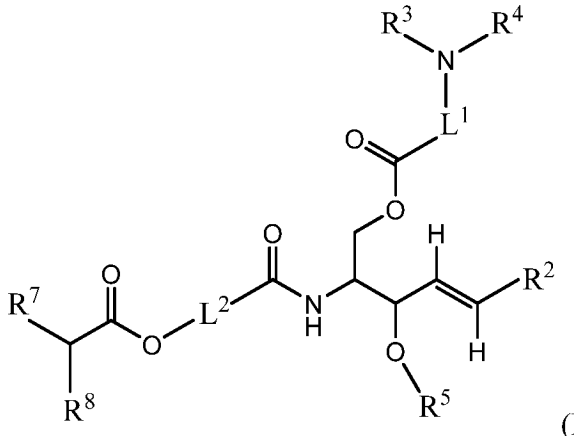


のうちの１つを有する、請求項９に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項１１】

式（ＩＶ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

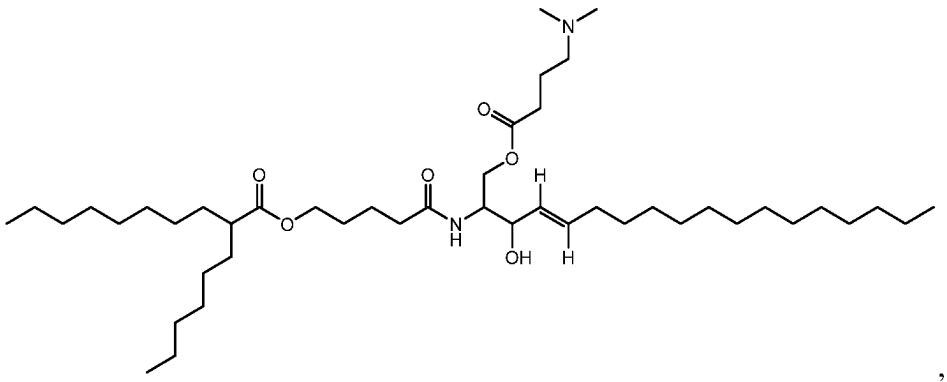
【化１１】



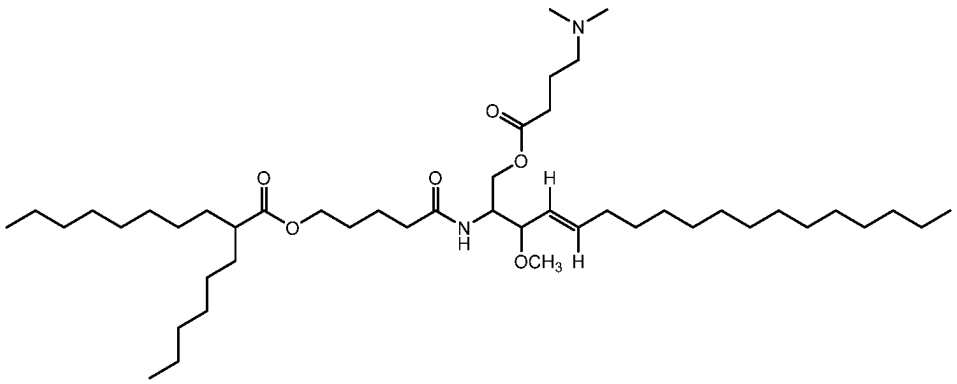
(IV)

式中、
L^1が、C_1－C_6アルキレンであり、
L^2が、C_1－C_8アルキレンであり、
R^2が、C_6－C_{20}アルキルであり、
R^3及びR^4が、各々独立して、H又はC_1－C_3アルキルであり、
R^5が、H又はC_1－C_3アルキルであり、
R^7が、C_4－C_{20}アルキルであり、
R^8が、C_4－C_{20}アルキルである。

【請求項１２】
以下の構造：
【化１２】



, 又は

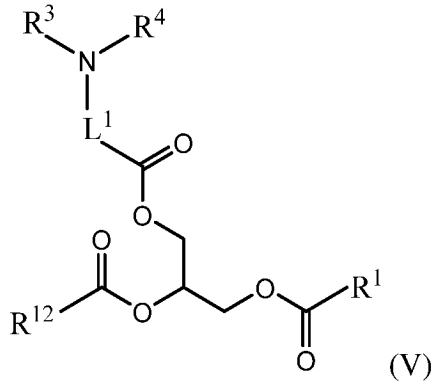


のうちの１つを有する、請求項１１に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項１３】

式（Ｖ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

【化１３】



(V)

式中、

Ｌ^{1}が、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、

Ｒ^{1}が、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、

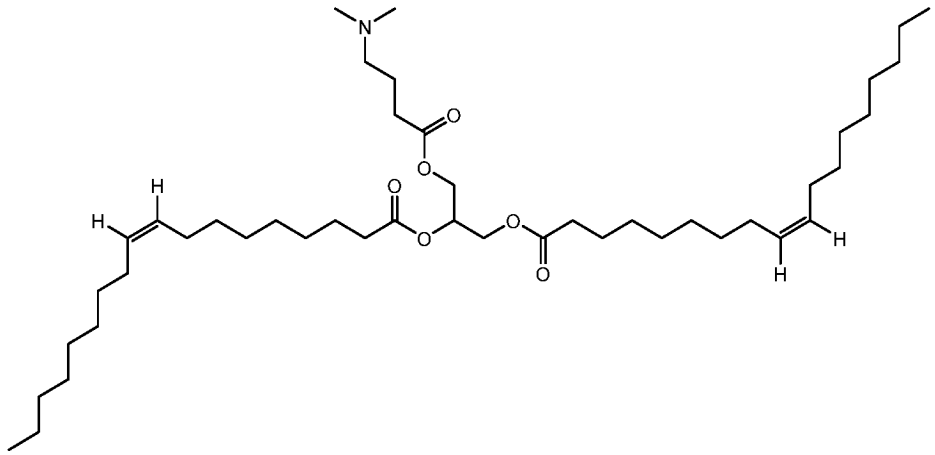
Ｒ^{3}及びＲ^{4}が、各々独立して、Ｈ又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{3}$アルキルであり、

Ｒ^{12}が、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルである。

【請求項１４】

以下の構造：

【化１４】

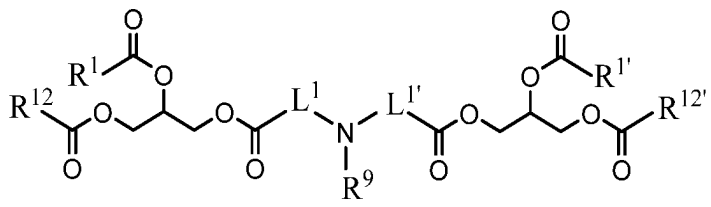


を有する、請求項１３に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項１５】

式（ＶＩ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

【化１５】

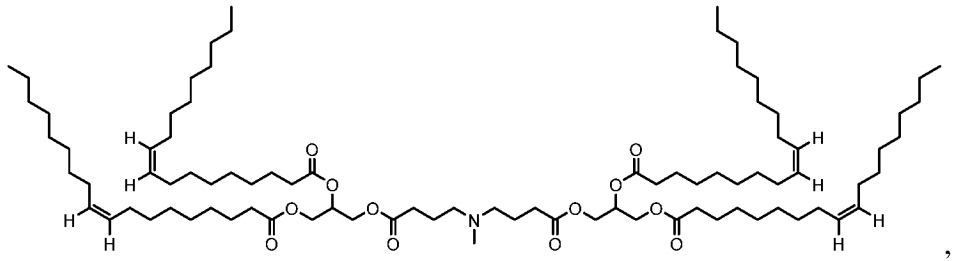


(VI)

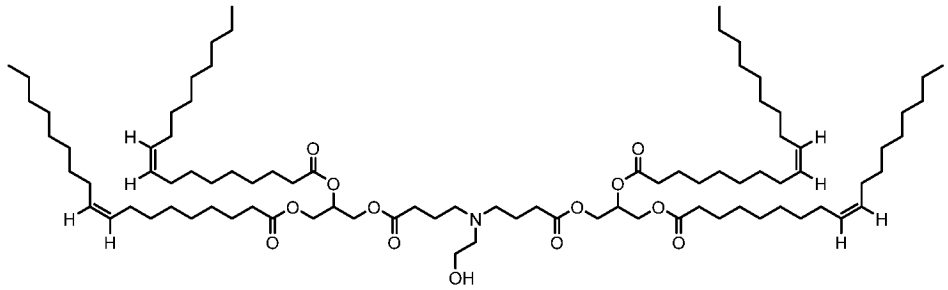
式中、

L^1が、C_1-C_6アルキレンであり、
$L^{1'}$が、C_1-C_6アルキレンであり、
R^1が、C_6-C_{20}アルケニルであり、
$R^{1'}$が、C_6-C_{20}アルケニルであり、
R^9が、H、C_1-C_6アルキル、又は－$(CH_2)_nOH$であり、
R^{12}が、C_6-C_{20}アルケニルであり、
$R^{12'}$が、C_6-C_{20}アルケニルであり、
nが、２、３、又は４である。

【請求項１６】
以下の構造：
【化１６】



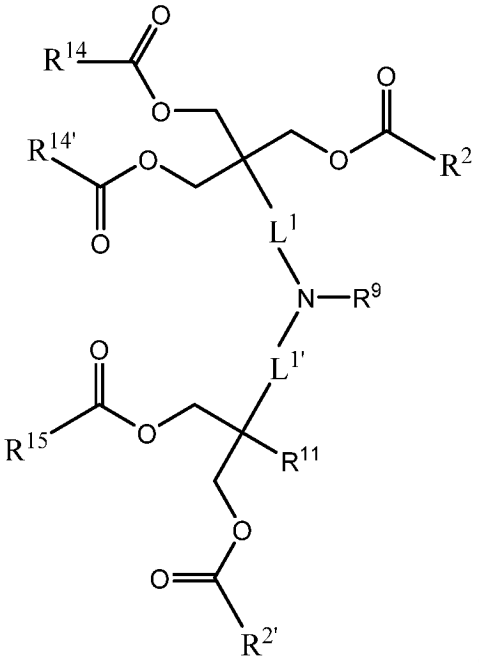
，又は



のうちの１つを有する、請求項１５に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項１７】
式（ＶＩＩ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

【化１７】

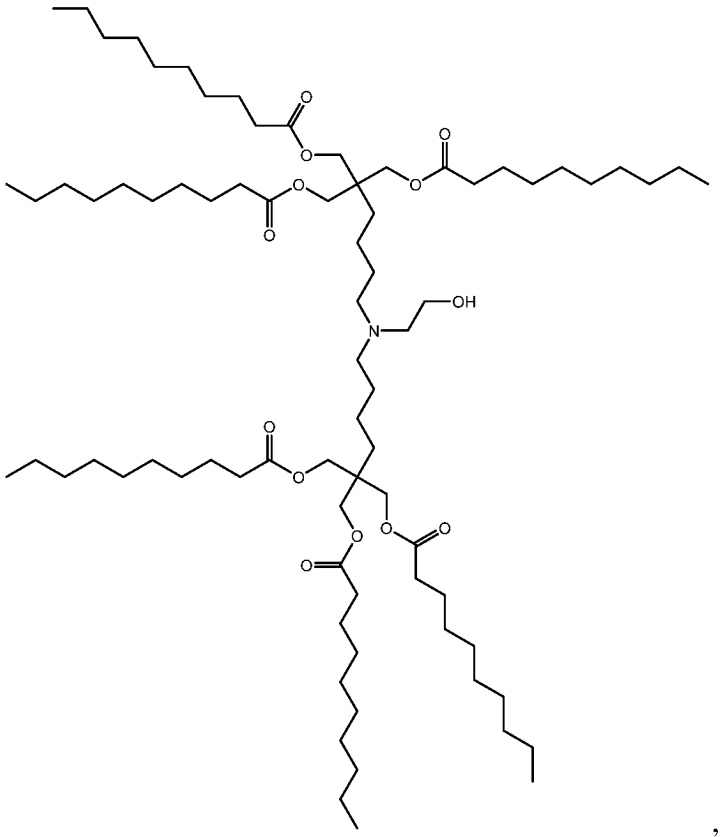


(VII)

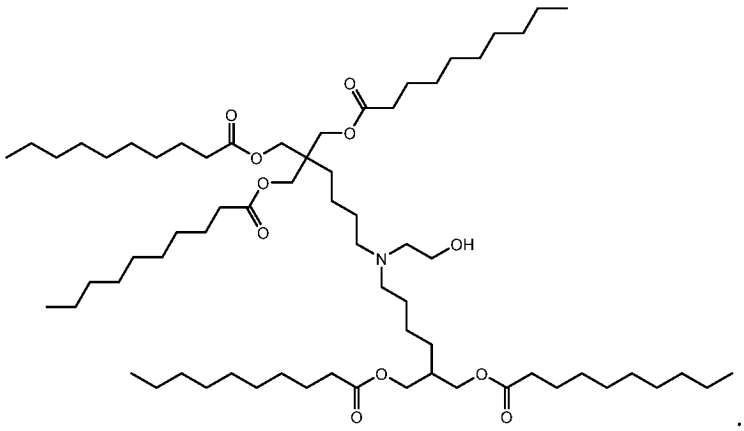
式中、
Ｌ１が、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、
Ｌ１’が、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、
Ｒ２が、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、
Ｒ２’が、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、
Ｒ９が、Ｈ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、又は－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、
Ｒ１１が、Ｈ又は－（ＣＨ２）ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ１６であり、
Ｒ１４が、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、
Ｒ１４’が、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、
Ｒ１５が、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、
Ｒ１６が、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、
ｎが、２、３、又は４である。

【請求項１８】
以下の構造：

【化１８】



, 又は



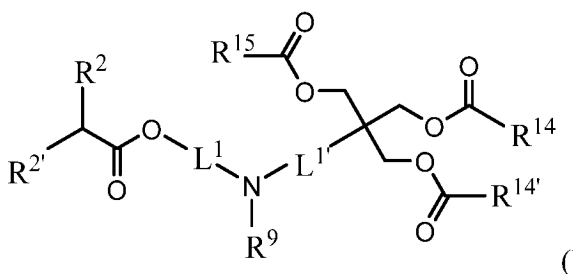
.

のうちの１つを有する、請求項１７に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項１９】

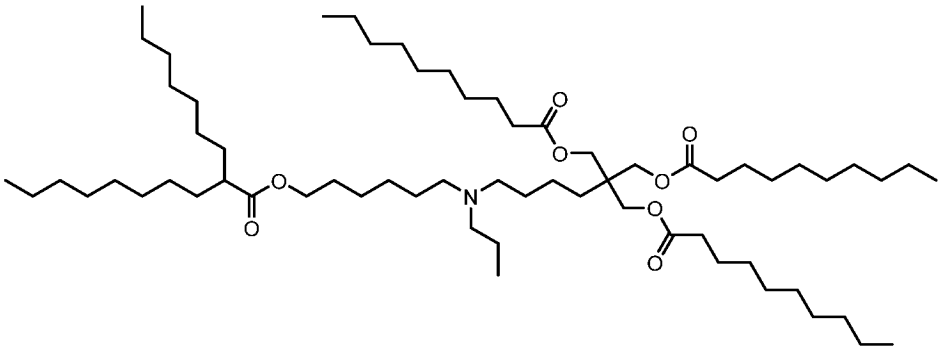
式（ＶＩＩＩ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

【化１９】

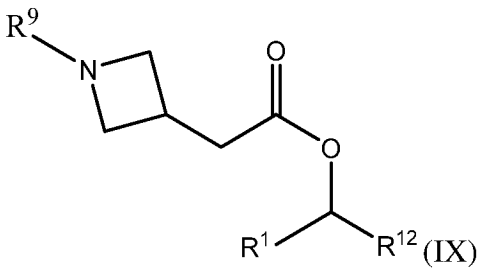


(VIII)

式中、
L^1が、C_1-C_6アルキレンであり、
$L^{1'}$が、C_1-C_6アルキレンであり、
R^2が、C_6-C_{20}アルキルであり、
$R^{2'}$が、C_6-C_{20}アルキルであり、
R^9が、H、C_1-C_6アルキル、又は－$(CH_2)_nOH$であり、
R^{14}が、C_6-C_{20}アルキルであり、
$R^{14'}$が、C_6-C_{20}アルキルであり、
R^{15}が、C_6-C_{20}アルキルであり、
nが、２、３、又は４である。
【請求項２０】
以下の構造：
【化２０】

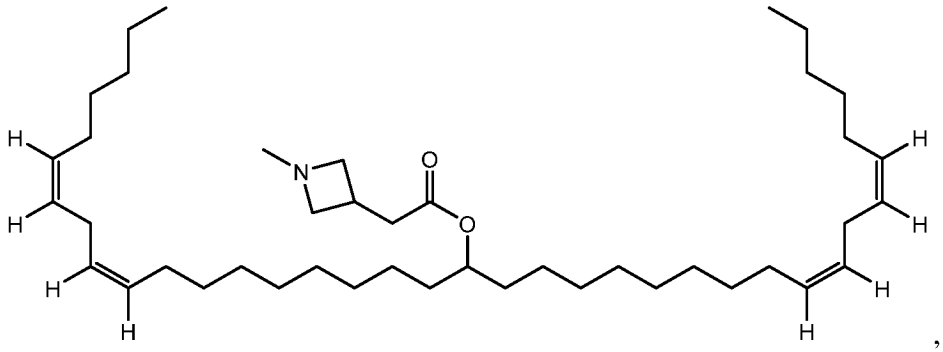


を有する、請求項１９に記載のイオン化可能な脂質。
【請求項２１】
式（ＩＸ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：
【化２１】

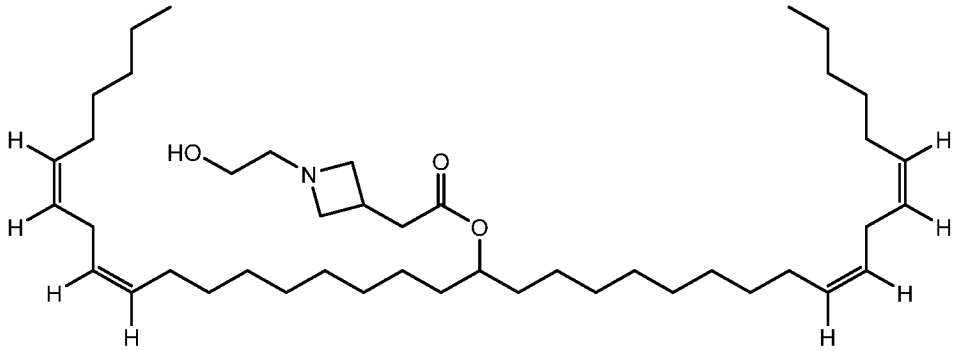


式中、
R^1が、C_6-C_{20}アルケニルであり、
R^9が、H、C_1-C_6アルキル、又は－$(CH_2)_nOH$であり、
R^{12}が、C_6-C_{20}アルケニルであり、
nが、２、３、又は４である。
【請求項２２】
以下の構造：

【化２２】



, 又は

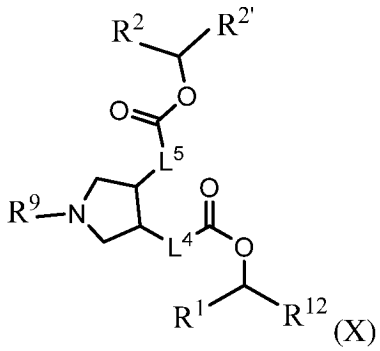


のうちの１つを有する、請求項２１に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項２３】

式（Ｘ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

【化２３】



式中、

Ｌ^{4}が、不在か、又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、

Ｌ^{5}が、不在か、又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、

Ｒ^{1}が、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、

Ｒ^{2}が、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、

Ｒ$^{2'}$が、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、

Ｒ^{9}が、Ｈ、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキル、又は－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨであり、

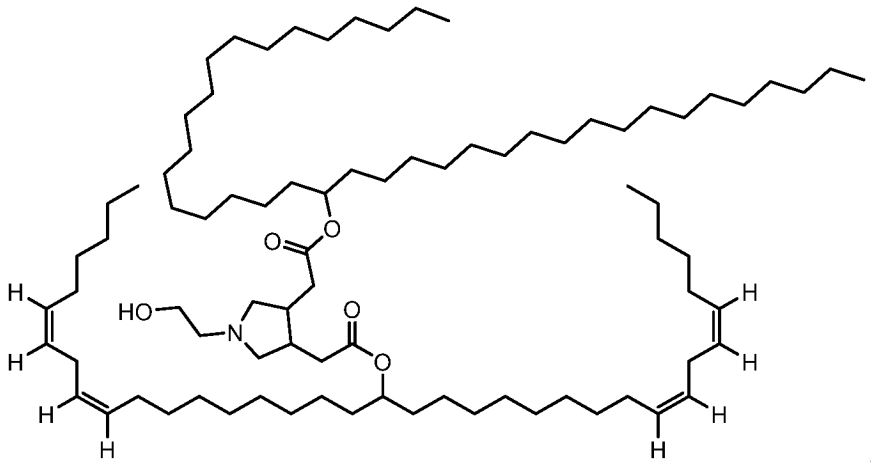
Ｒ^{12}が、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、

ｎが、２、３、又は４である。

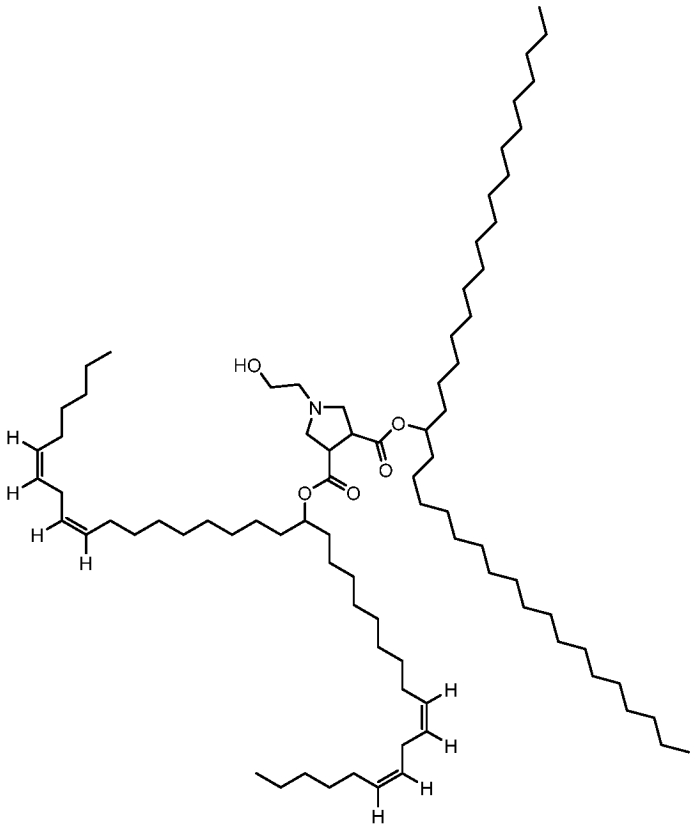
【請求項２４】

以下の構造：

【化２４】



, 又は

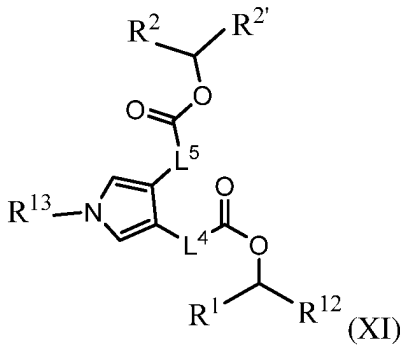


のうちの１つを有する、請求項２３に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項２５】

式（ＸＩ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

【化２５】

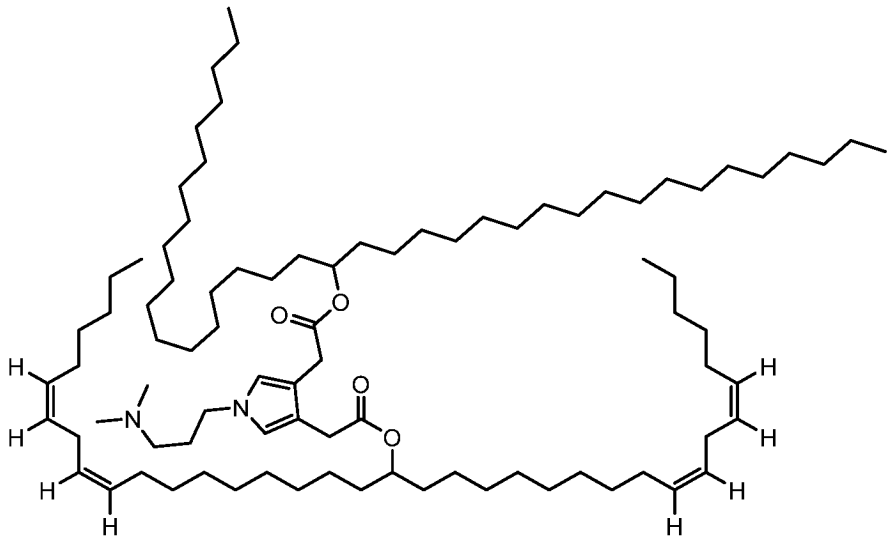


(XI)

式中、
Ｌ^{4}が、不在か、又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、
Ｌ^{5}が、不在か、又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、
Ｒ^{1}が、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、
Ｒ^{2}が、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、
Ｒ$^{2'}$が、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、
Ｒ^{12}が、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、
Ｒ^{13}が、Ｈ、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキル、－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨ、又は－（ＣＨ$_{2}$）$_{q}$Ｎ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$であり、
ｎが、２、３、又は４であり、
ｑが、２、３、又は４である。

【請求項２６】
以下の構造：

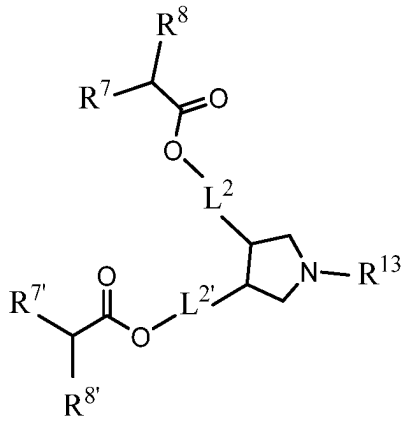
【化２６】



を有する、請求項２５に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項２７】
式（ＸＩＩ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

【化２７】

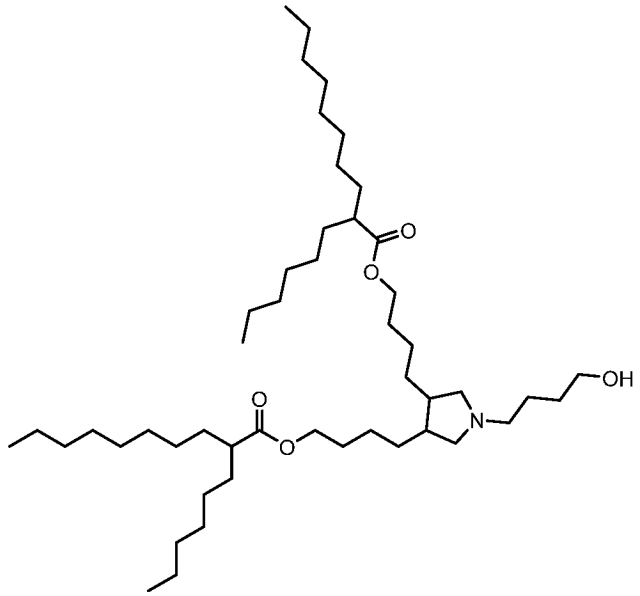


(XII)

式中、
Ｌ２が、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、
Ｌ２’が、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、
Ｒ７が、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、
Ｒ７’が、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、
Ｒ８が、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、
Ｒ８’が、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、
Ｒ１３が、Ｈ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、－（ＣＨ２）ｎＯＨ、又は－（ＣＨ２）ｑＮ（ＣＨ３）２であり、
ｎが、２、３、又は４であり、
ｑが、２、３、又は４である。

【請求項２８】
以下の構造：

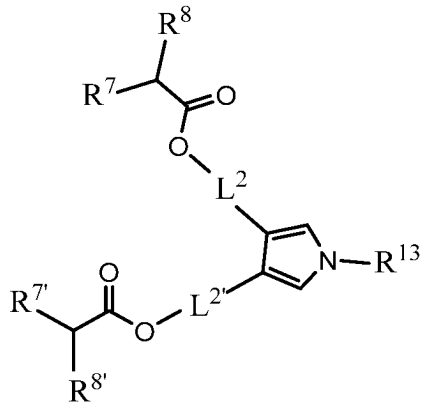
【化２８】



を有する、請求項２７に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項２９】
式（ＸＩＩＩ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

【化２９】

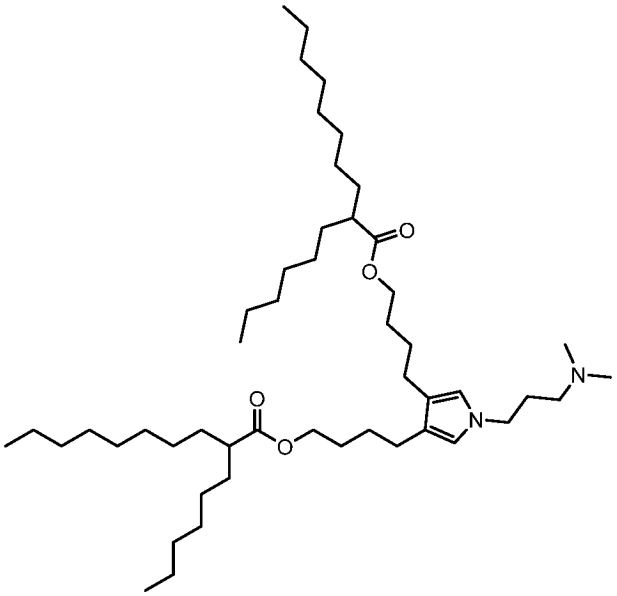


(XIII)

式中、
Ｌ２が、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、
Ｌ２’が、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、
Ｒ７が、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、
Ｒ７’が、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、
Ｒ８が、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、
Ｒ８’が、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、
Ｒ１３が、Ｈ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、－（ＣＨ２）ｎＯＨ、又は－（ＣＨ２）ｑＮ（ＣＨ３）２であり、
ｎが、２、３、又は４であり、
ｑが、２、３、又は４である。

【請求項３０】
以下の構造：

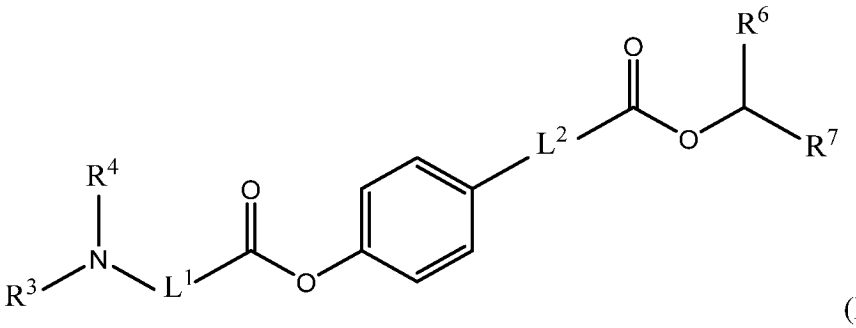
【化３０】



を有する、請求項２９に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項３１】
式（ＸＩＶ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

【化３１】

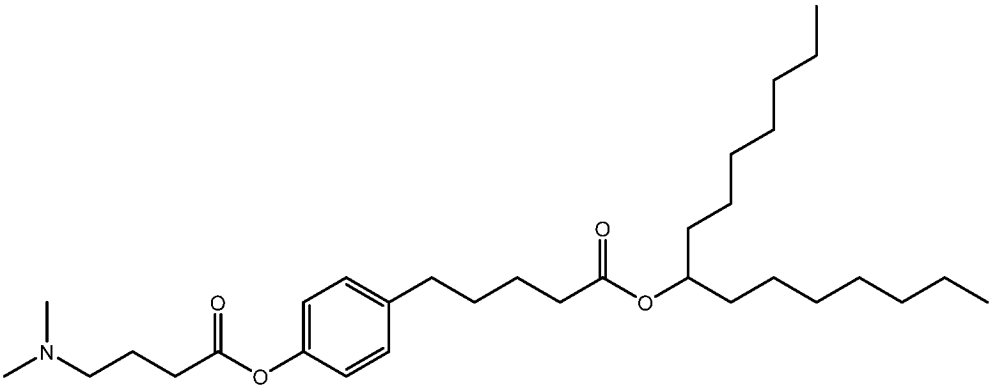


(XIV)

式中、
L^1が、C_1-C_6アルキレンであり、
L^2が、C_1-C_8アルキレンであり、
R^3及びR^4が、各々独立して、H又はC_1-C_3アルキルであり、
R^6が、C_4-C_{20}アルキルであり、
R^7が、C_4-C_{20}アルキルである。

【請求項３２】
以下の構造：

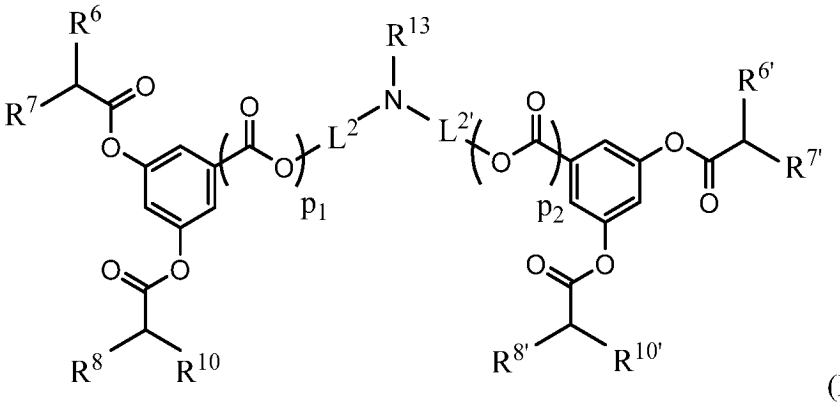
【化３２】



を有する、請求項３１に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項３３】
式（ＸＶ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

【化３３】



(XV)

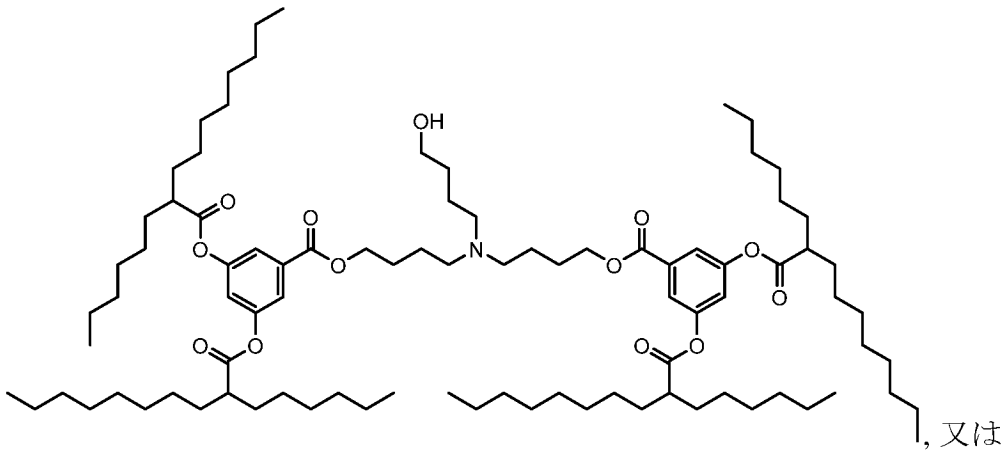
式中、

L^2が、C_1-C_8アルキレンであり、
$L^{2'}$が、C_1-C_8アルキレンであり、
R^6が、C_4-C_{20}アルキルであり、
$R^{6'}$が、C_4-C_{20}アルキルであり、
R^7が、C_4-C_{20}アルキルであり、
$R^{7'}$が、C_4-C_{20}アルキルであり、
R^8が、C_4-C_{20}アルキルであり、
$R^{8'}$が、C_4-C_{20}アルキルであり、
R^{10}が、C_4-C_{20}アルキルであり、
$R^{10'}$が、C_4-C_{20}アルキルであり、
R^{13}が、H、C_1-C_6アルキル、$-(CH_2)_nOH$、又は$-(CH_2)_qN(CH_3)_2$であり、
nが、2、3、又は4であり、
p_1が、不在か、又は1であり、
p_2が、不在か、又は1であり、
qが、2、3、又は4である。

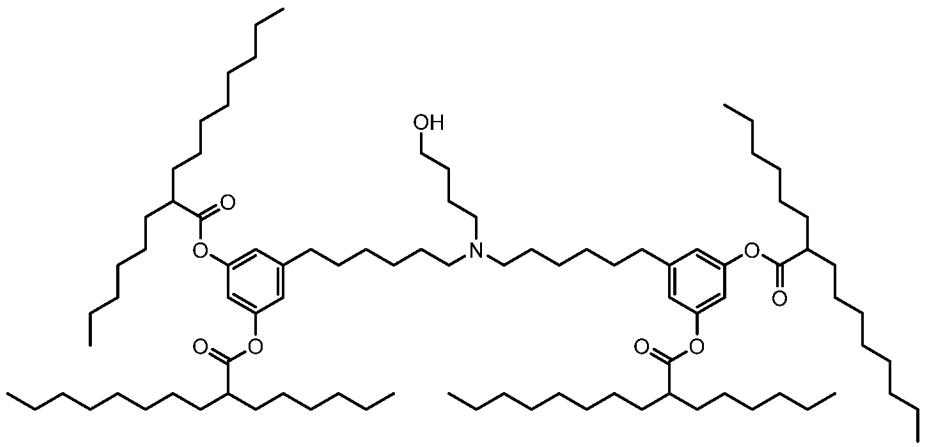
【請求項34】

以下の構造：

【化34】



, 又は

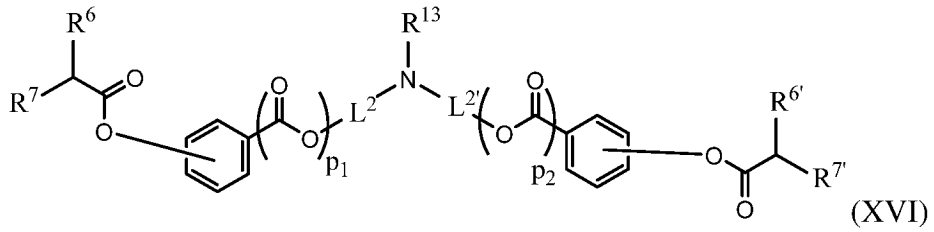


のうちの1つを有する、請求項33に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項35】

式（XVI）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

【化３５】

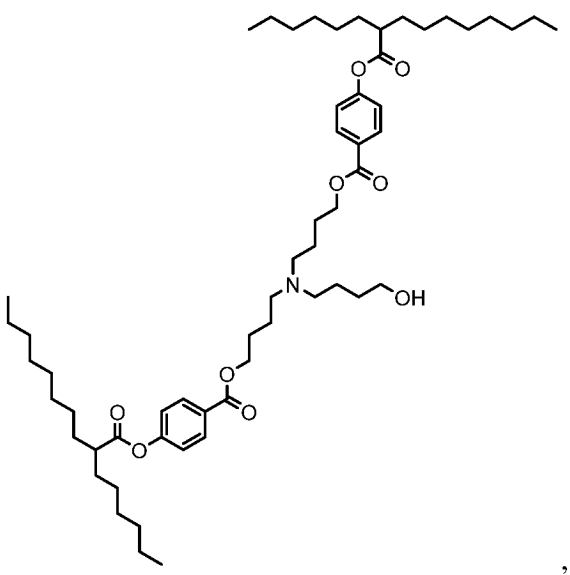


(XVI)

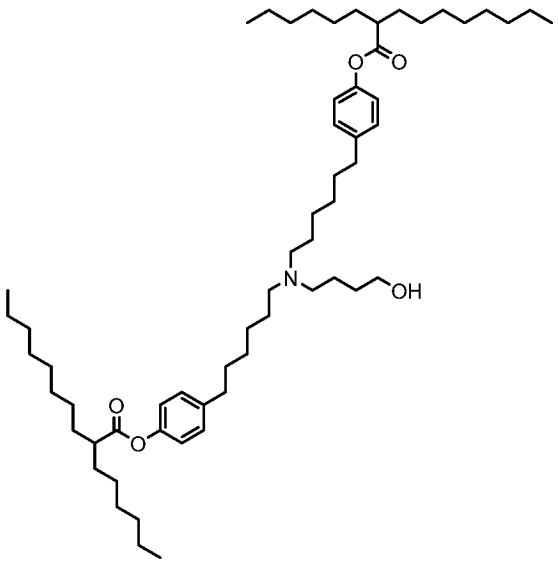
式中、
Ｌ^{2}が、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、
Ｌ$^{2'}$が、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、
Ｒ^{6}が、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、
Ｒ$^{6'}$が、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、
Ｒ^{7}が、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、
Ｒ$^{7'}$が、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、
Ｒ^{13}が、Ｈ、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキル、－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨ、又は－（ＣＨ$_{2}$）$_{q}$Ｎ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$であり、
ｎが、２、３、又は４であり、
ｐ$_{1}$が、不在か、又は１であり、
ｐ$_{2}$が、不在か、又は１であり、
ｑが、２、３、又は４である。

【請求項３６】
以下の構造：

【化３６】



, 又は

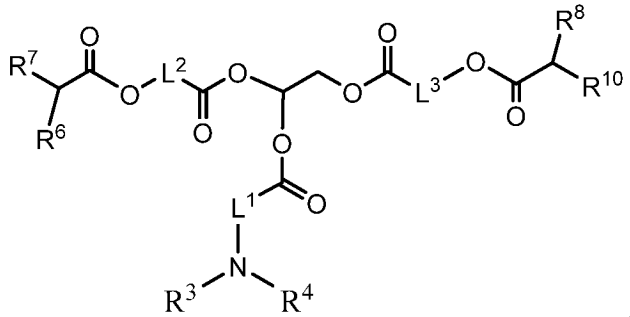


のうちの１つを有する、請求項３５に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項３７】

式（Ｉ－Ｃ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

【化３７】



(I-C)

式中、

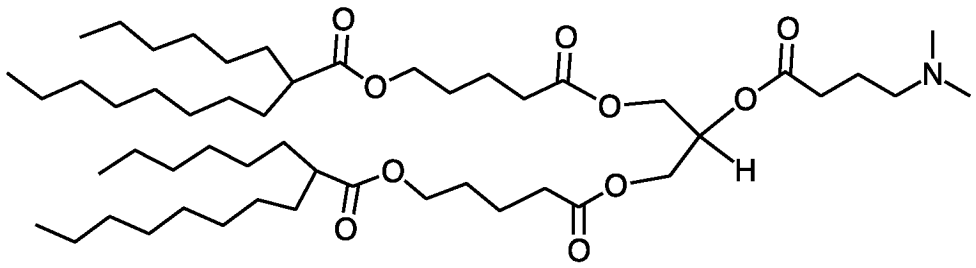
L^1が、C_1－C_6アルキレンであり、

Ｌ^{2}が、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、
Ｌ^{3}が、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、
Ｒ^{3}及びＲ^{4}が、各々独立して、Ｈ、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{4}$アルキル、又は－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨであり、
Ｒ^{6}が、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、
Ｒ^{7}が、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、
Ｒ^{8}が、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、
Ｒ^{10}が、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、
ｎが、２、３、又は４である。

【請求項３８】

前記イオン化可能な脂質が、以下の構造：

【化３８】

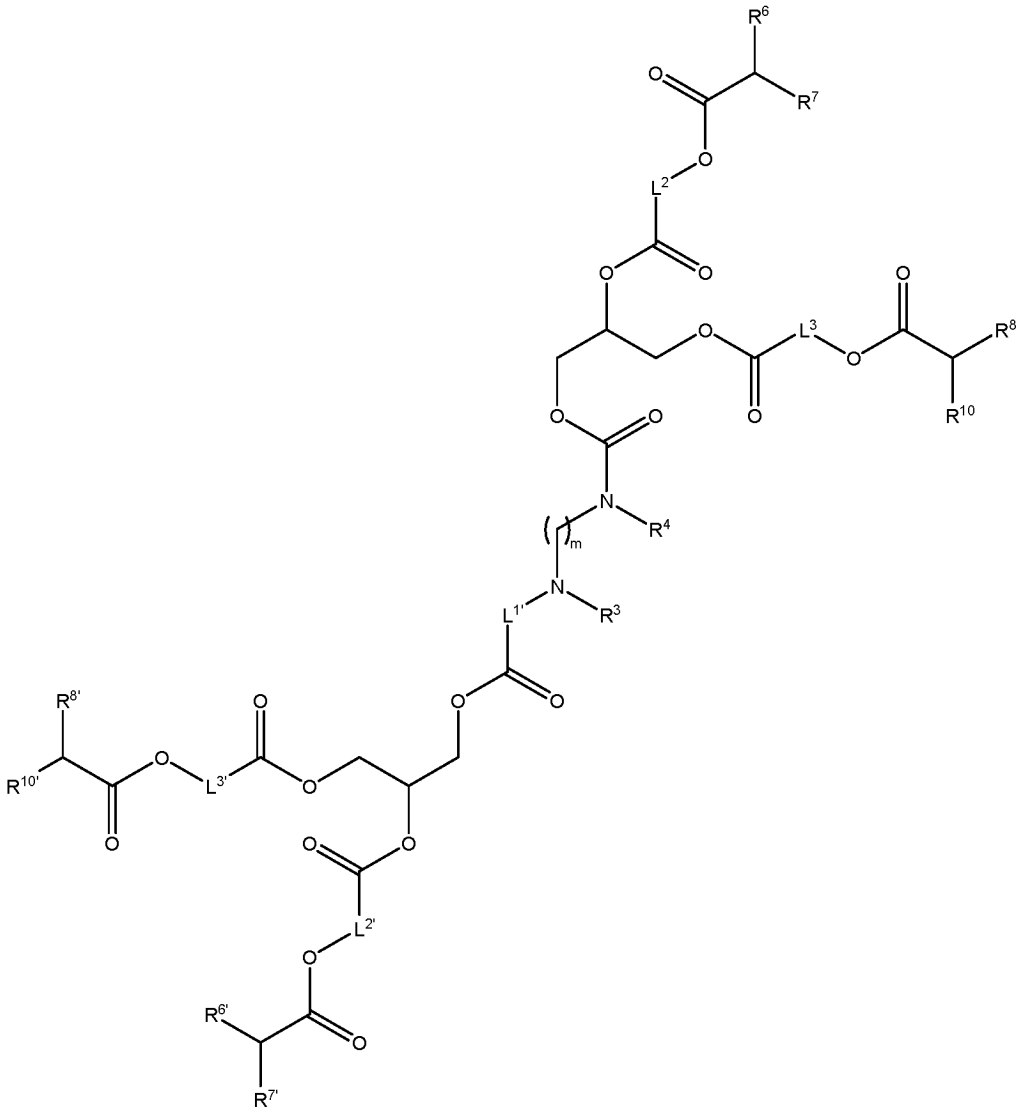


を有する、請求項３７に記載のイオン化可能な脂質。

【請求項３９】

式（ＸＸＩＩ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

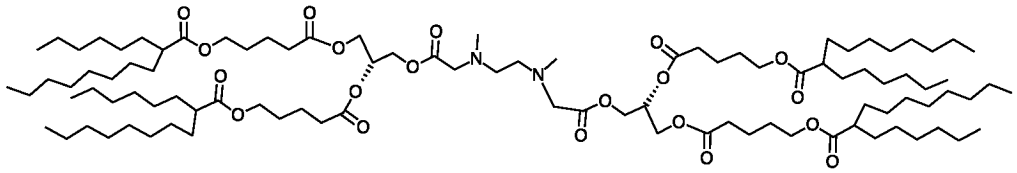
【化３９】



(XXII)

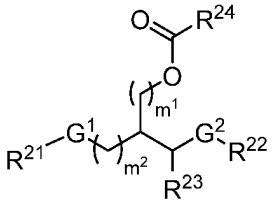
式中、
L^1が、C_1-C_6アルキレンであり、
$L^{1'}$が、C_1-C_6アルキレンであり、
L^2が、C_1-C_8アルキレンであり、
$L^{2'}$が、C_1-C_8アルキレンであり、
L^3が、C_1-C_8アルキレンであり、
$L^{3'}$が、C_1-C_8アルキレンであり、
R^3及びR^4が、各々独立して、H、C_1-C_4アルキル、$-CH_2-$シクロプロピル、又は$-(CH_2)_nOH$であり、
R^6が、C_4-C_{20}アルキルであり、
$R^{6'}$が、C_4-C_{20}アルキルであり、
R^7が、C_4-C_{20}アルキルであり、
$R^{7'}$が、C_4-C_{20}アルキルであり、
R^8が、C_4-C_{20}アルキルであり、
$R^{8'}$が、C_4-C_{20}アルキルであり、
R^{10}が、C_4-C_{20}アルキルであり、

Ｒ１０’が、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、
ｎが、２、３、又は４であり、
ｍが、１、２、３、４、又は５である。
【請求項４０】
前記イオン化可能な脂質が、以下の構造：
【化４０】



を有する、請求項３９に記載のイオン化可能な脂質。
【請求項４１】
請求項１～４０のいずれか一項に記載のイオン化可能な脂質を含む、脂質－ナノ粒子組成物。
【請求項４２】
ヘルパー脂質、安定化脂質、構造的脂質、及び核酸を更に含む、請求項４１に記載の脂質－ナノ粒子組成物。
【請求項４３】
前記ヘルパー脂質が、１，２－ジリノレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＬＰＣ）、１，２－ジミリストイル－ｓｎ－グリセロ－ホスホコリン（ＤＭＰＣ）、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＯＰＣ）、１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＰＰＣ）、１，２－ジステアロイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＳＰＣ）、１，２－ジウンデカノイル－ｓｎ－グリセロ－ホスホコリン（ＤＵＰＣ）、１－パルミトイル－２－オレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＰＯＰＣ）、１，２－ジ－Ｏ－オクタデセニル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（１８：０ジエーテルＰＣ）、ｌ－オレオイル－２－コレステリルヘミスクシノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＯＣｈｅｍｓＰＣ）、１－ヘキサデシル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（Ｃ１６　Ｌｙｓｏ　ＰＣ）、１，２－ジリノレノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン、１，２－ジアラキドノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン、１，２－ジドコサヘキサエノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン（ＤＯＰＥ）、１，２－ジフィタノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン（ＭＥ　１６．０　ＰＥ）、１，２－ジステアロイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジリノレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジリノレノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジアラキドノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジドコサヘキサエノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホ－ｒａｃ－（１－グリセロール）ナトリウム塩（ＤＯＰＧ）、及びそれらの混合物からなる群から選択される、請求項４２に記載の脂質－ナノ粒子組成物。
【請求項４４】
前記安定化脂質が、２０００の平均ＰＥＧ分子量を有する、１－（モノメトキシ－ポリエチレングリコール）－２，３－ジミリストイルグリセロール（ＰＥＧ－ＤＭＧ）である、請求項４２に記載の脂質－ナノ粒子組成物。
【請求項４５】
前記構造的脂質が、コレステロール、コレステロール誘導体、フェコステロール、シトステロール、エルゴステロール、カンペステロール、スチグマステロール、ブラシカステロール、トマチジン、ウルソール酸、アルファトコフェロール、及びそれらの混合物からなる群から選択される、請求項４２に記載の脂質－ナノ粒子組成物。

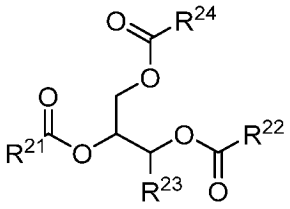
【請求項４６】
前記核酸が、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、非対称干渉ＲＮＡ（ａｉＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ダイサー基質ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）、小ヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、及びそれらの混合物からなる群から選択される、請求項４２に記載の脂質－ナノ粒子組成物。
【請求項４７】
請求項４２～４６のいずれか一項に記載の脂質－ナノ粒子組成物と、その薬学的に許容され得る担体と、を含む、薬学的組成物。
【請求項４８】
以下の式（ＸＶＩＩ）の構造を有する化合物又はその立体異性体、塩、若しくは互変異性体：
【化４１】



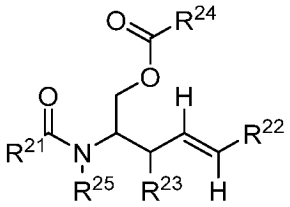
(XVII)

式中、
G^1及びG^2が、各々独立して、－ＯＣ（＝Ｏ）－、－ＮＲ^{25}Ｃ（＝Ｏ）－、又は－ＣＨ＝ＣＨ－であり、
R^{21}及びR^{22}が、各々独立して、C_1－C_6アルキル、直鎖C_{10}－C_{20}アルキル、直鎖C_{10}－C_{20}アルケニル、又は分岐C_{10}－C_{35}アルケニルであり、前記C_1－C_6アルキルが、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{26}で置換されており、
R^{23}が、Ｈ、ＯＨ、又はOCH_3であり、
R^{24}が、C_1－C_8ヘテロアルキルであり、
R^{25}が、Ｈ又はC_1－C_4アルキルであり、
R^{26}が、分岐C_{10}－C_{30}アルキルであり、
m^1及びm^2が、各々独立して、０又は１の整数である。
【請求項４９】
G^1及びG^2が、各々－ＯＣ（＝Ｏ）－である、請求項４８に記載の化合物。
【請求項５０】
G^1又はG^2のうちの一方が、－ＮＲ^{25}Ｃ（＝Ｏ）－であり、G^1又はG^2のうちの他方が、－ＣＨ＝ＣＨ－である、請求項４８又は４９に記載の化合物。
【請求項５１】
m^2が、０である、請求項４８～５０のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項５２】
前記化合物が、以下の式（ＸＶＩＩＡ）～（ＸＶＩＩＢ）の構造、又はその立体異性体、塩、若しくは互変異性体のうちの１つを有する、請求項４８～５１のいずれか一項に記載の化合物：

【化４２】

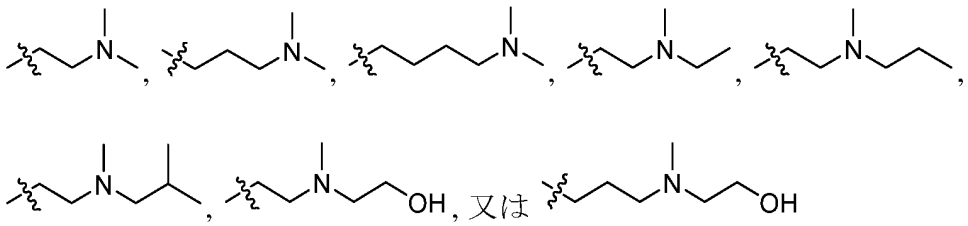


(XVIIA)

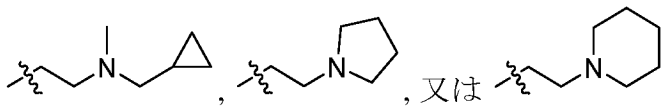


(XVIIB)

【請求項５３】
Ｒ２４が、Ｃ３－Ｃ７ヘテロアルキルである、請求項４８～５２のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項５４】
Ｒ２４が、Ｃ４ヘテロアルキル、Ｃ５ヘテロアルキル、Ｃ６ヘテロアルキル、又はＣ７ヘテロアルキルである、請求項４８～５３のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項５５】
Ｒ２４が、Ｃ４アルキルアミン、Ｃ５アルキルアミン、Ｃ６アルキルアミン、又はＣ７アルキルアミンである、請求項４８～５４のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項５６】
Ｒ２４が、
【化４３】

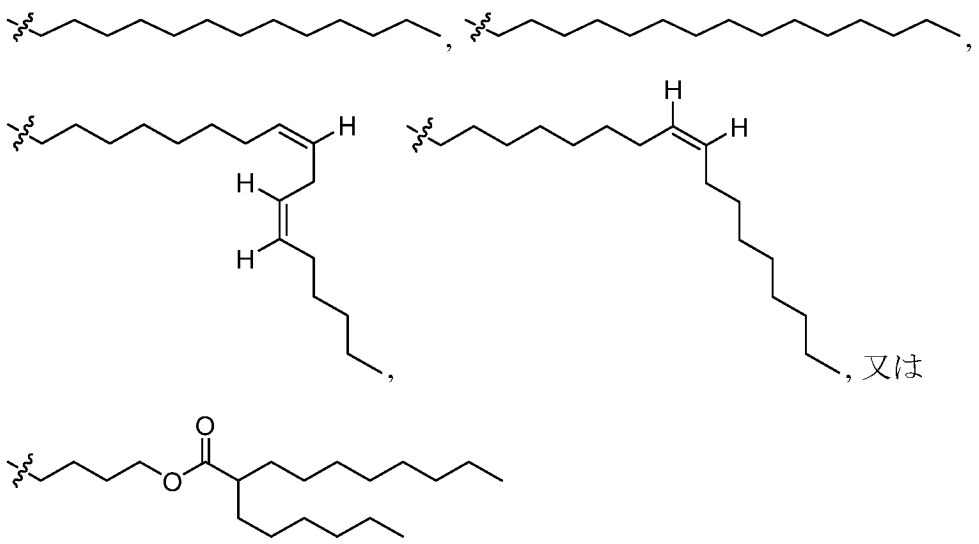


である、請求項４８～５５のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項５７】
Ｒ２４のＣ１－Ｃ８ヘテロアルキルが、シクロアルキルで更に置換されている、請求項４８～５２のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項５８】
Ｒ２４が、
【化４４】



である、請求項５７に記載の化合物。
【請求項５９】
R^{25}が、Ｈである、請求項４８～５８のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項６０】
R^{25}が、C_1－C_4アルキルである、請求項４８～５９のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項６１】
R^{25}が、－CH_3である、請求項４８～６０のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項６２】
R^{25}が、－CH_2CH_3である、請求項４８～６１のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項６３】
R^{21}及びR^{22}が、各々独立して、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{26}で置換されたC_2－C_5アルキル、直鎖C_{12}－C_{18}アルキル、直鎖C_{12}－C_{18}アルケニル、又は分岐C_{14}－C_{32}アルケニルである、請求項４８～６２のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項６４】
R^{21}又はR^{22}のうちの一方が、直鎖C_{12}－C_{18}アルキルであり、R^{21}又はR^{22}のうちの他方が、直鎖C_{12}－C_{18}アルケニルである、請求項４８～６３のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項６５】
R^{21}又はR^{22}のうちの一方が、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{26}で置換されたC_2－C_5アルキルであり、R^{21}又はR^{22}のうちの他方が、直鎖C_{12}－C_{18}アルキルである、請求項４８～６４のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項６６】
R^{21}又はR^{22}のうちの一方が、直鎖C_{12}－C_{18}アルキルであり、R^{21}又はR^{22}のうちの他方が、分岐C_{14}－C_{32}アルケニルである、請求項４８～６５のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項６７】
R^{21}及びR^{22}が、各々、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{26}で置換されたC_2－C_5アルキルである、請求項４８～６６のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項６８】
R^{21}及びR^{22}が、各々、直鎖C_{12}－C_{18}アルケニルである、請求項４８～６７のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項６９】
R^{26}が、分岐C_{10}－C_{20}アルキルである、請求項４８～６８のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項７０】
R^{26}が、分岐C_{12}－C_{18}アルキルである、請求項４８～６９のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項７１】
R^{21}及びR^{22}が、各々独立して、以下の構造：

【化４５】

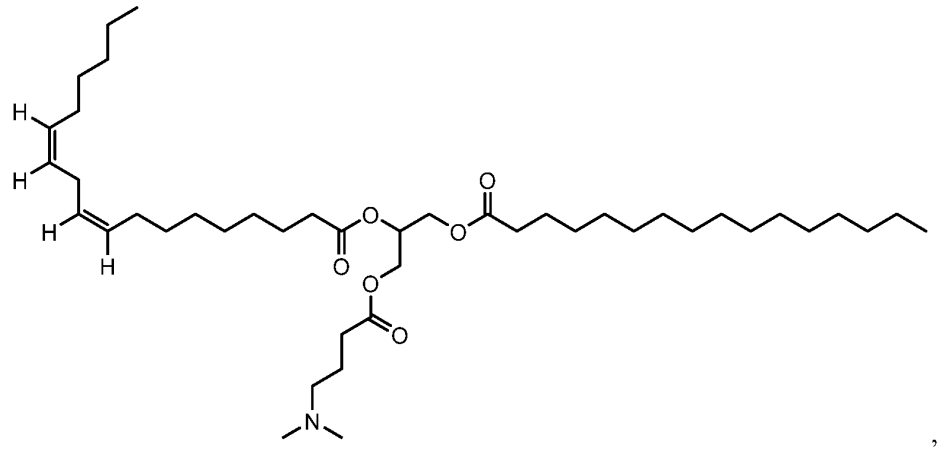
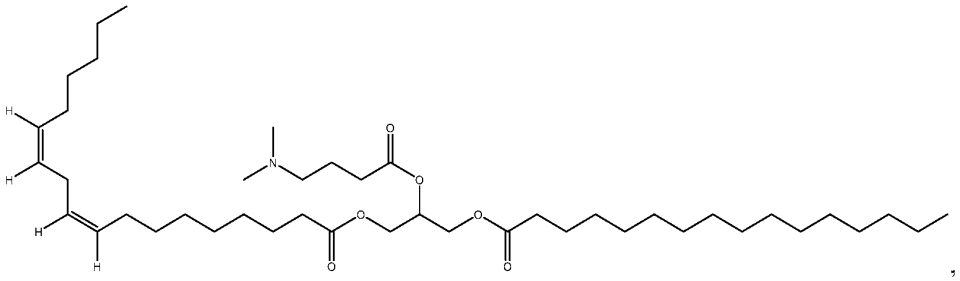
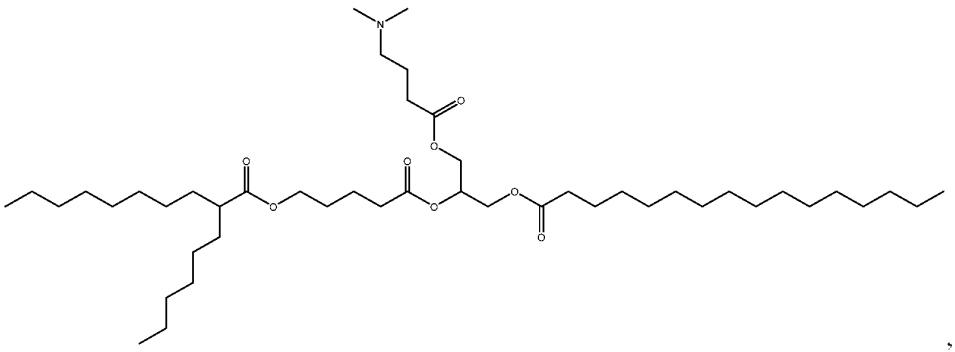
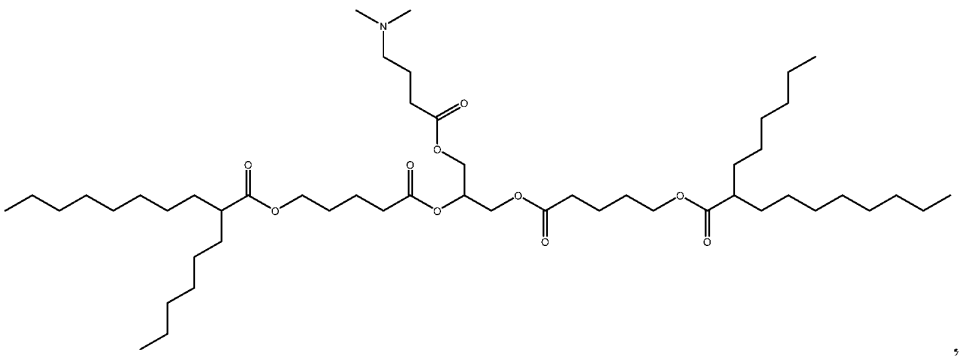


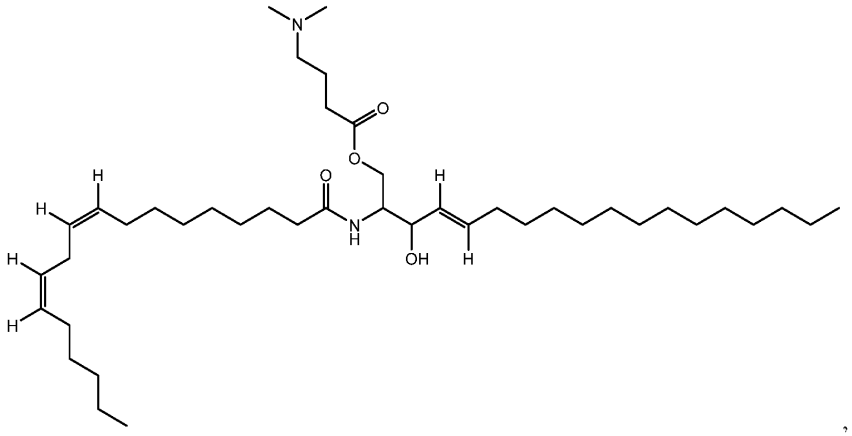
のうちの１つを有する、請求項４８～７０のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項７２】

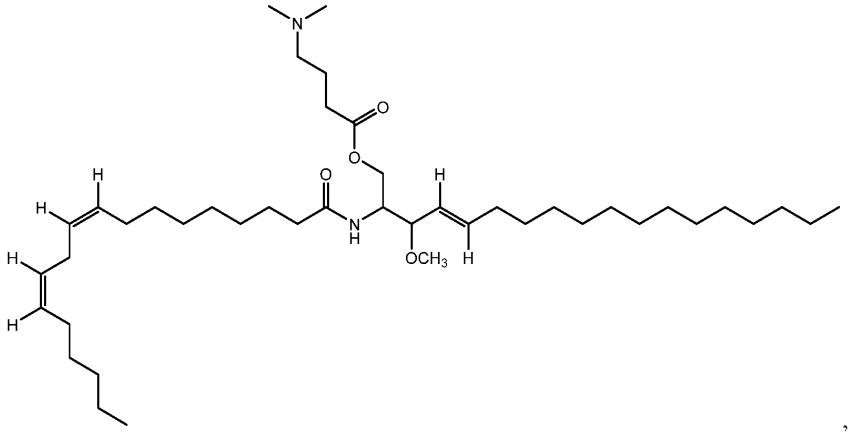
前記化合物が、以下の構造：

【化４６】

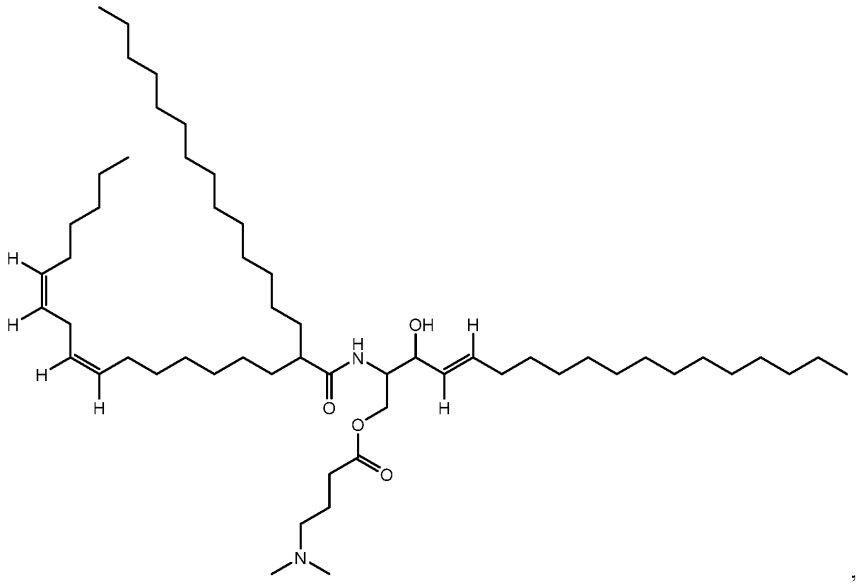

,

,

,

,



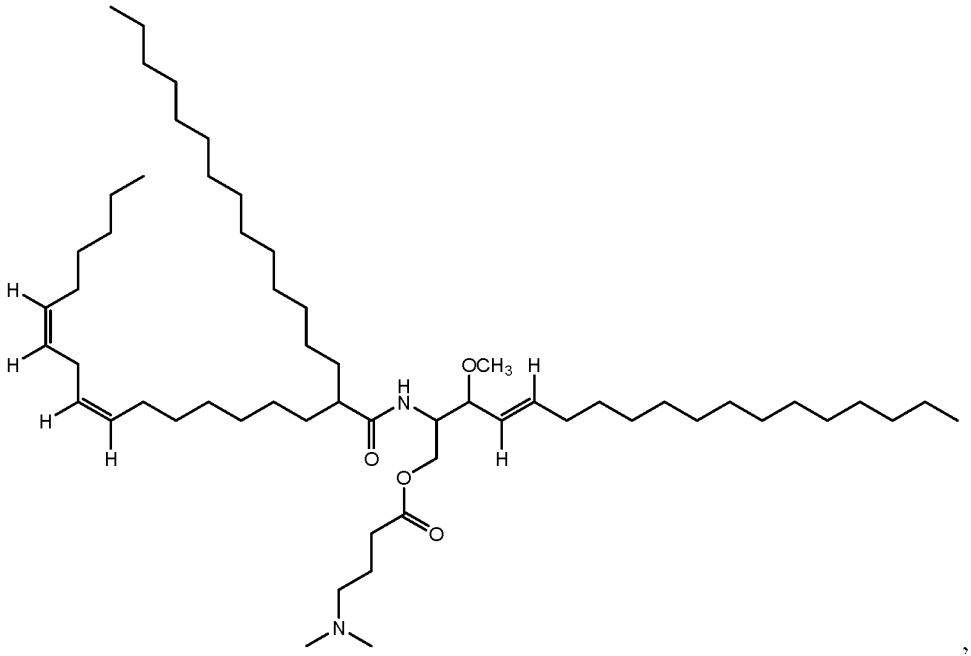
,



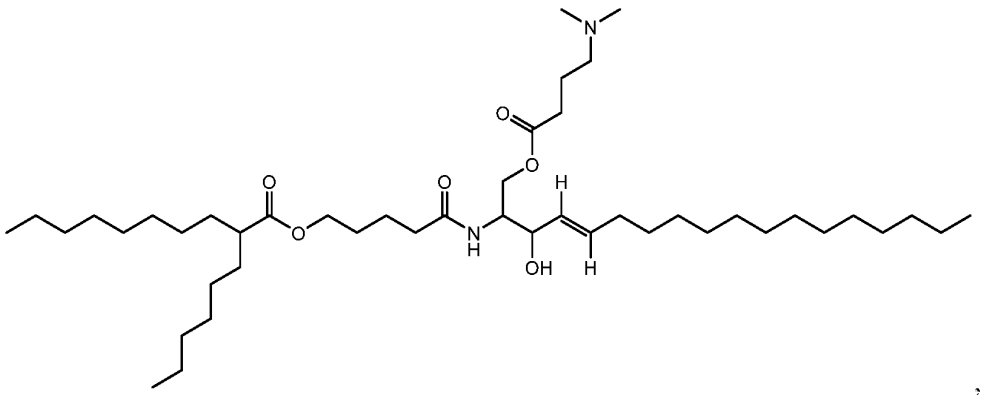
,



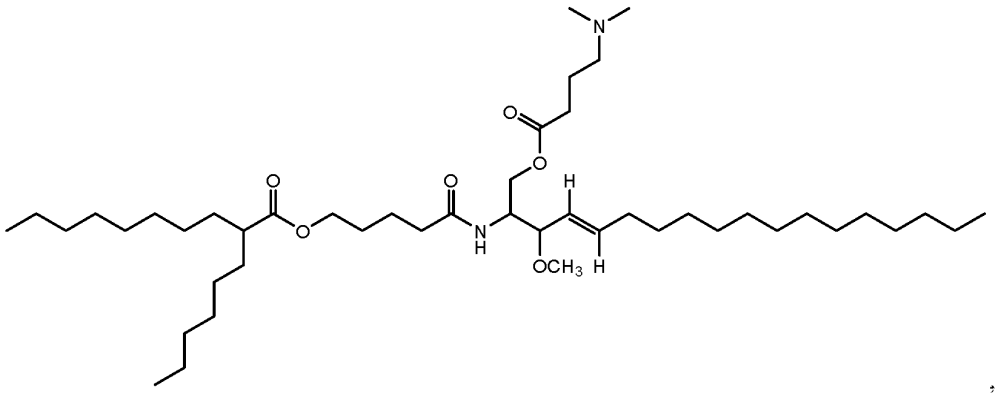
,



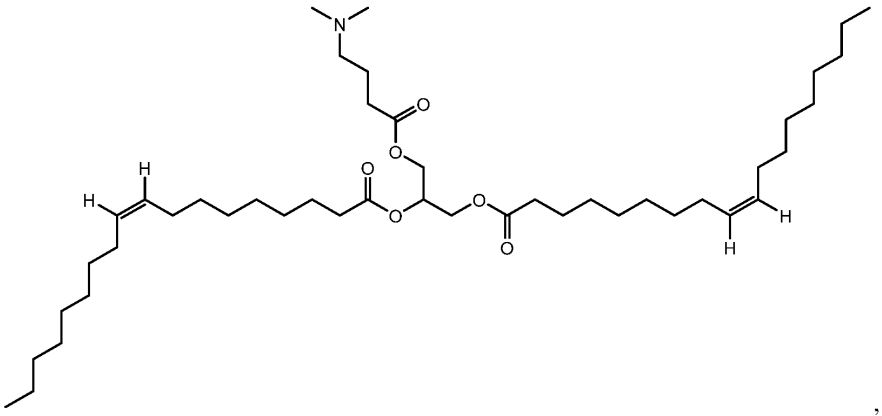
,



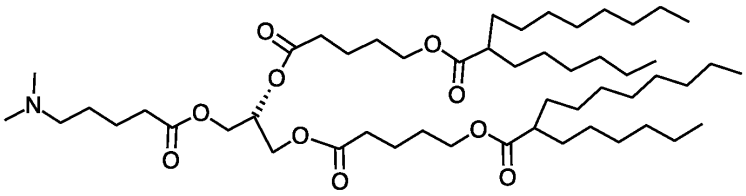
,



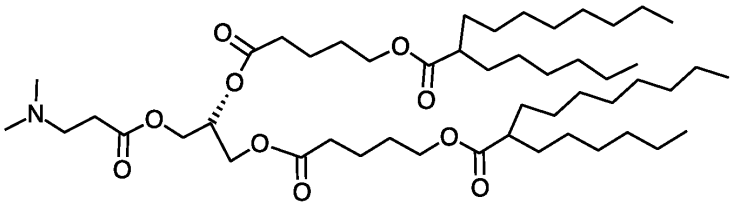
,



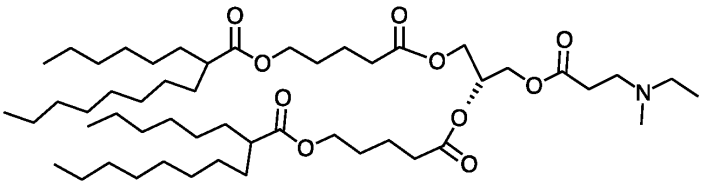
,



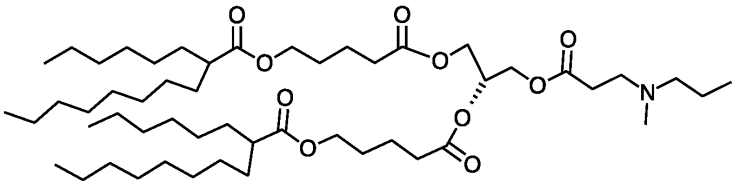
,



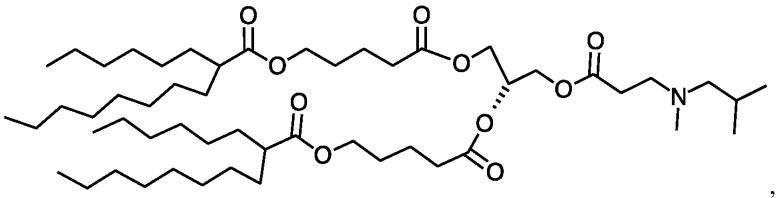
,



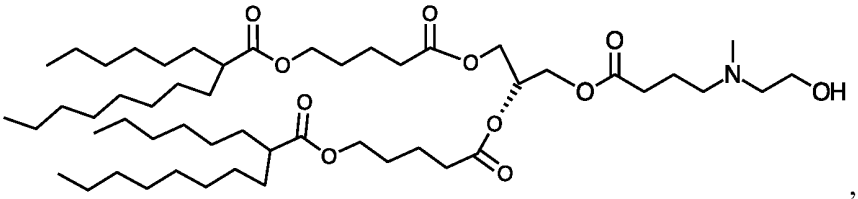
,

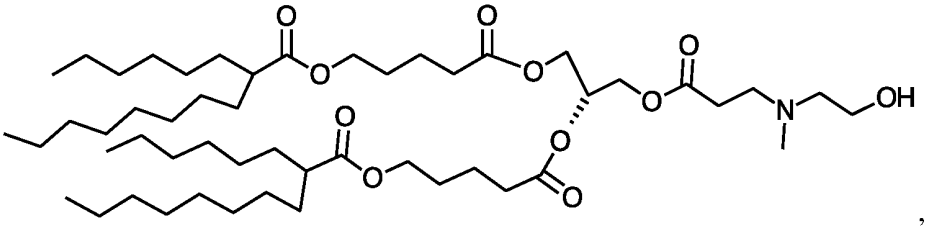


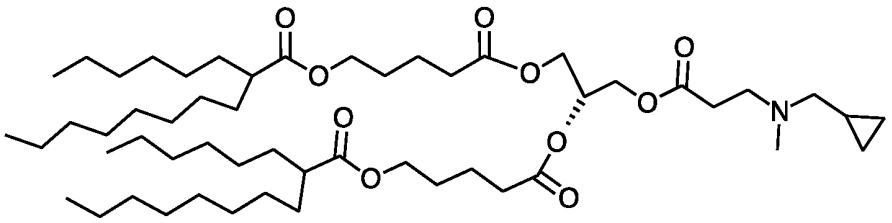
,

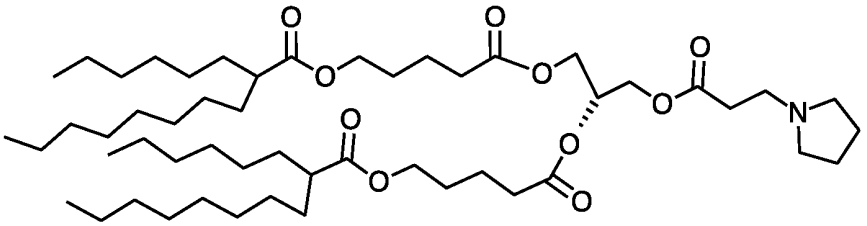


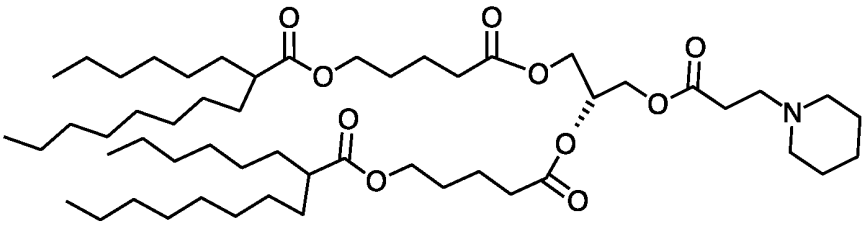
,

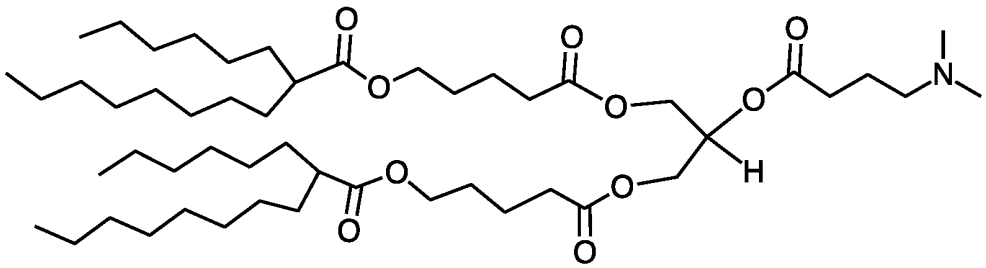

,


,


,


,


, 又は

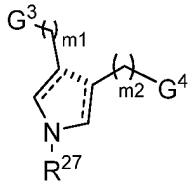


のうちの１つを有する、請求項４８に記載の化合物。

【請求項７３】

以下の式（ＸＶＩＩＩ）の構造を有する化合物又はその立体異性体、塩、若しくは互変異性体：

【化４７】



(XVIII)

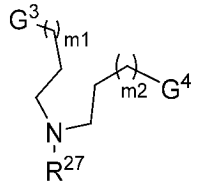
式中、
　G^3及びG^4が、各々独立して、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{28}、－Ｃ（＝Ｏ）ＯR^{28}、－ＣＨ（CH_2ＯＣ（＝Ｏ）R^{28}）$_2$、－Ｃ（CH_2ＯＣ（＝Ｏ）R^{28}）$_3$、－ＰｈＯＣ（＝Ｏ）R^{28}、－Ｐｈ（ＯＣ（＝Ｏ）R^{28}）$_2$、－ＯＣ（＝Ｏ）Ｐｈ（ＯＣ（＝Ｏ）R^{28}）$_2$、又は－Ｃ（＝Ｏ）ＯCH_2Ｃ（ＯＣ（＝Ｏ）R^{28}）（CH_2ＯＣ（＝Ｏ）R^{28}）であり、
　R^{27}が、Ｈ、C_1－C_6アルキル、又はC_1－C_6ヘテロアルキルであり、
　R^{28}が、各々独立して、直鎖C_6－C_{12}アルキル、分岐C_{10}－C_{40}アルキル、直鎖C_{15}－C_{20}アルケニル、又は分岐C_{20}－C_{40}アルケニルであり、
　m^1及びm^2が、各々独立して、１～６の整数であり、
【化４８】



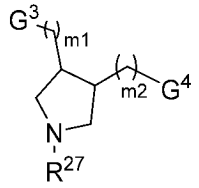
が、直接結合であるか、又は不在であり、
【化４９】

が、単結合又は二重結合である。
【請求項７４】
　前記化合物が、以下の式（ＸＶＩＩＩＡ）～（ＸＶＩＩＩＣ）の構造又はその立体異性体、塩、若しくは互変異性体のうちの１つを有する、請求項７３に記載の化合物：

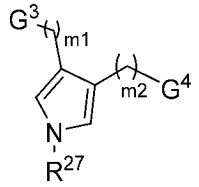
【化５０】



（ＸＶＩＩＩＡ）



（ＸＶＩＩＩＢ）



（ＸＶＩＩＩＣ）

【請求項７５】

Ｒ２７が、Ｈ、Ｃ１－Ｃ３アルキル、又はＣ１－Ｃ５ヘテロアルキルである、請求項７３又は７４に記載の化合物。

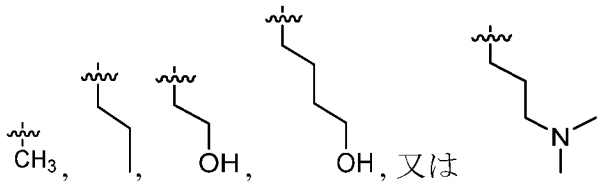
【請求項７６】

Ｒ２７が、Ｃ１－Ｃ３アルキル、Ｃ２－Ｃ４アルキルアルコール、又はＣ５アルキルアミンである、請求項７３～７５のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項７７】

Ｒ２７が、以下の構造：

【化５１】

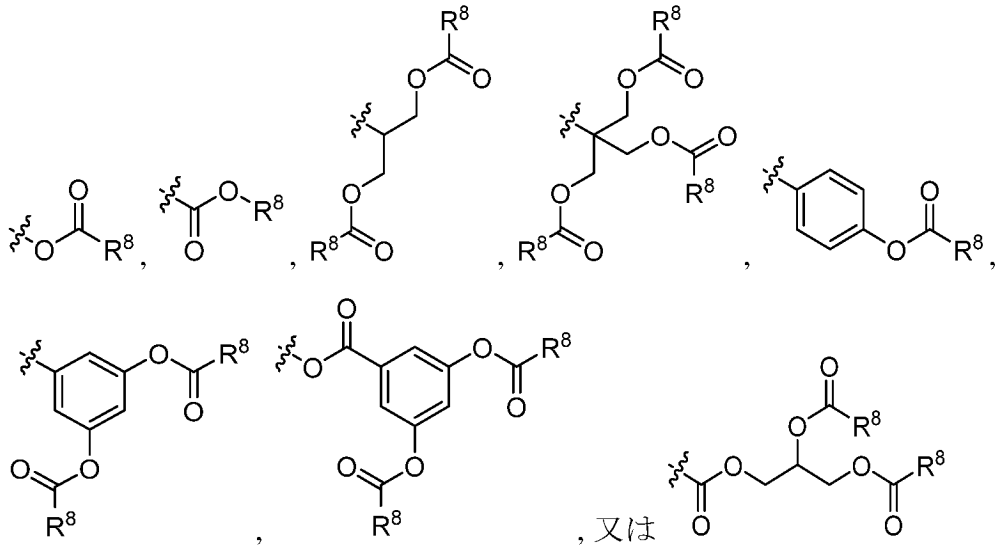


のうちの１つを有する、請求項７３～７６のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項７８】

Ｇ３及びＧ４が、各々、以下の構造：

【化５２】



のうちの１つを有する、請求項７３～７７のいずれか一項に記載の化合物。

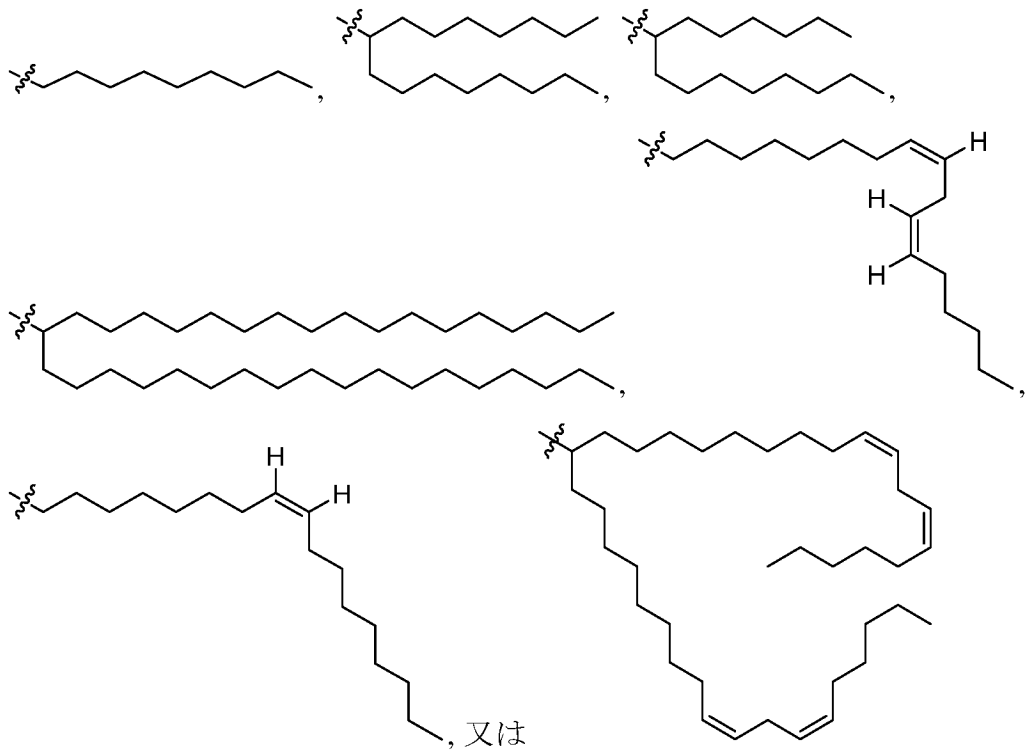
【請求項７９】

Ｒ２８が、各々独立して、直鎖Ｃ７－Ｃ１０アルキル、分岐Ｃ１４－Ｃ４０アルキル、直鎖Ｃ１５－Ｃ２０アルケニル、又は分岐Ｃ３０－Ｃ４０アルケニルである、請求項７３～７８のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項８０】

Ｒ２８が、各々独立して、以下の構造：

【化５３】

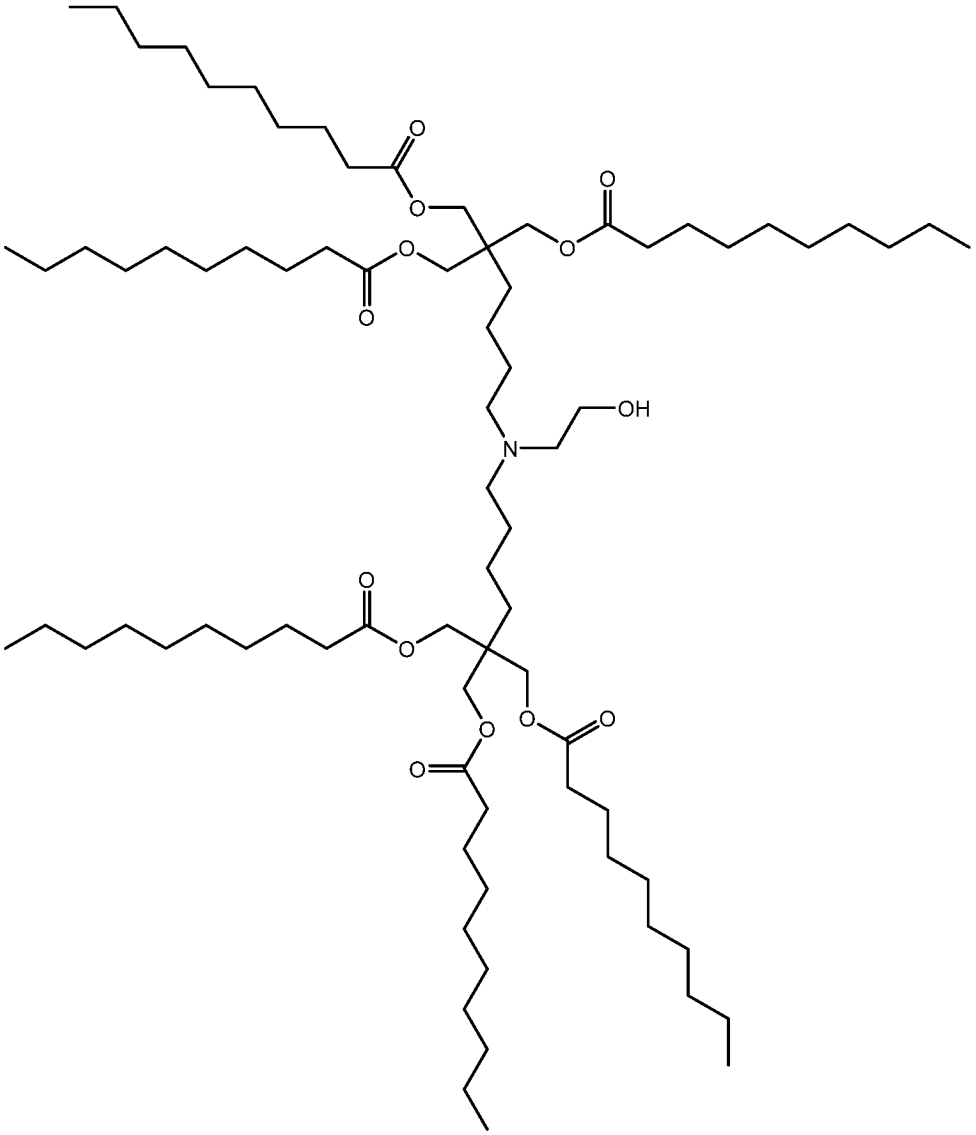


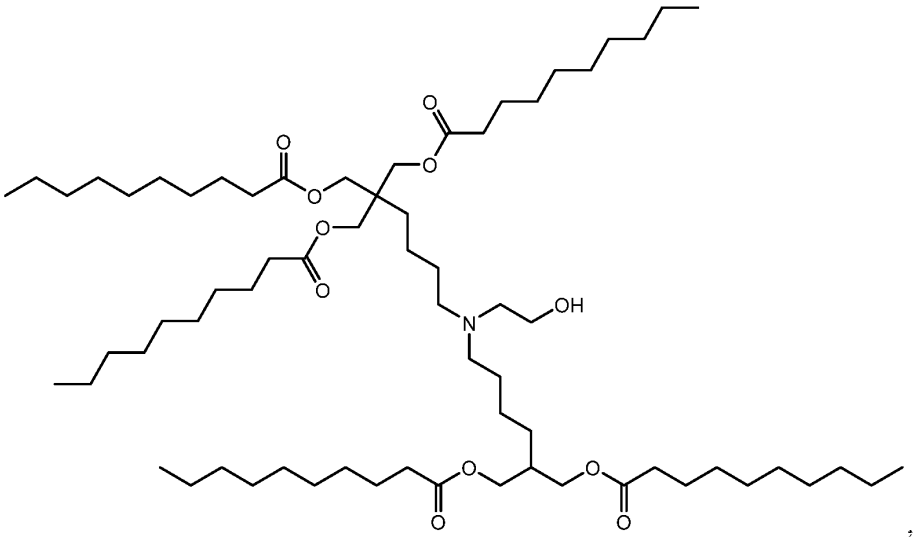
のうちの１つを有する、請求項７３～７９のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項８１】

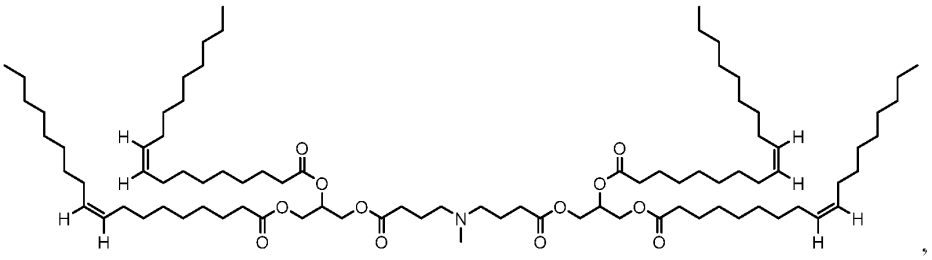
ｍ１及びｍ２が、各々独立して、１～４の整数である、請求項７３～８０のいずれか一

項に記載の化合物。
【請求項８２】
前記化合物が、以下の構造：
【化５４】

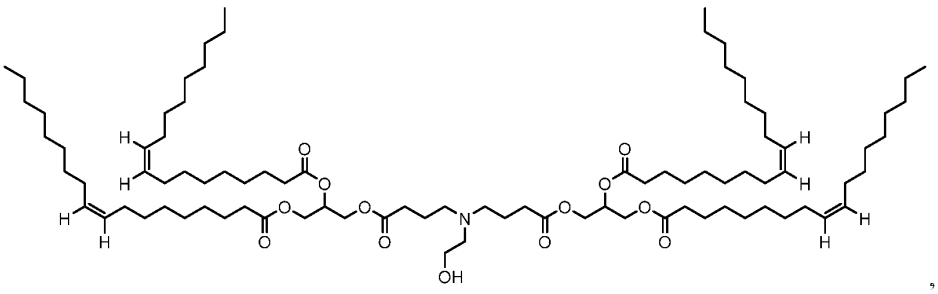




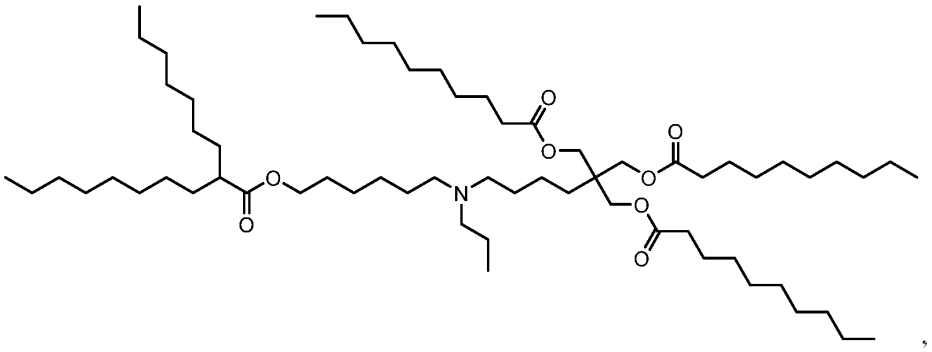
,



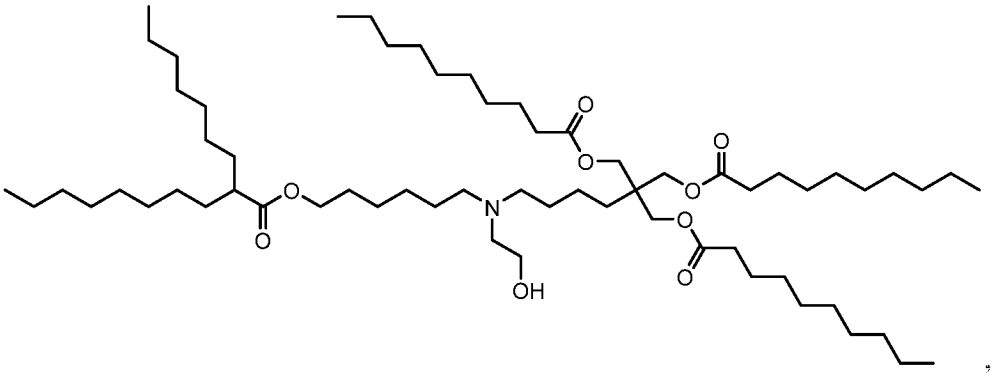
,



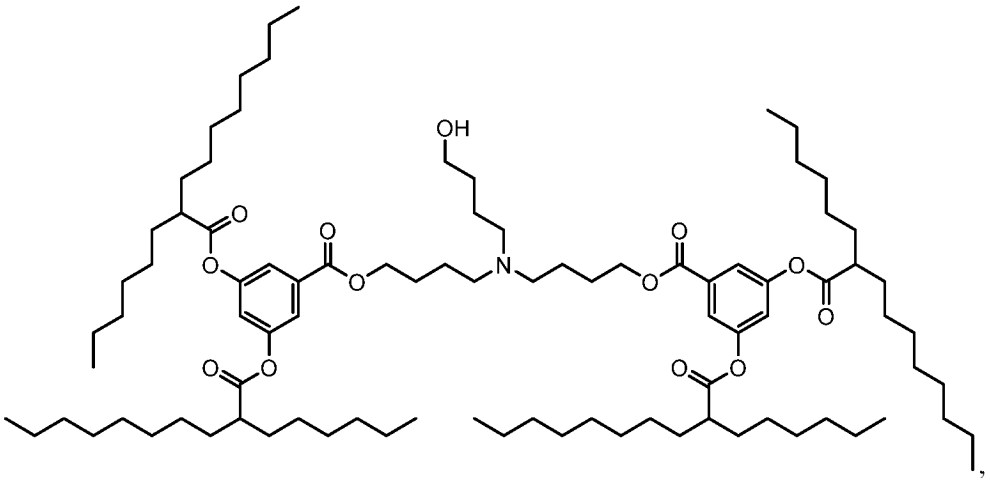
,



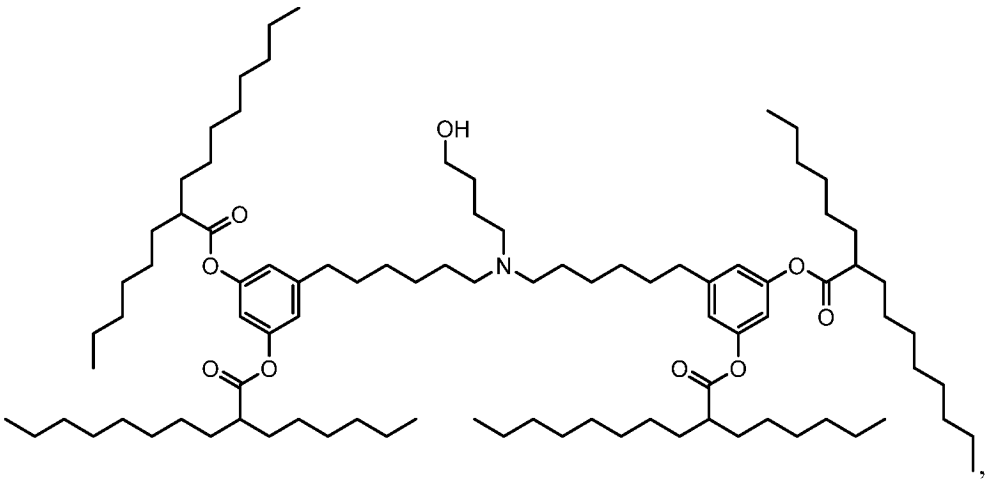
,



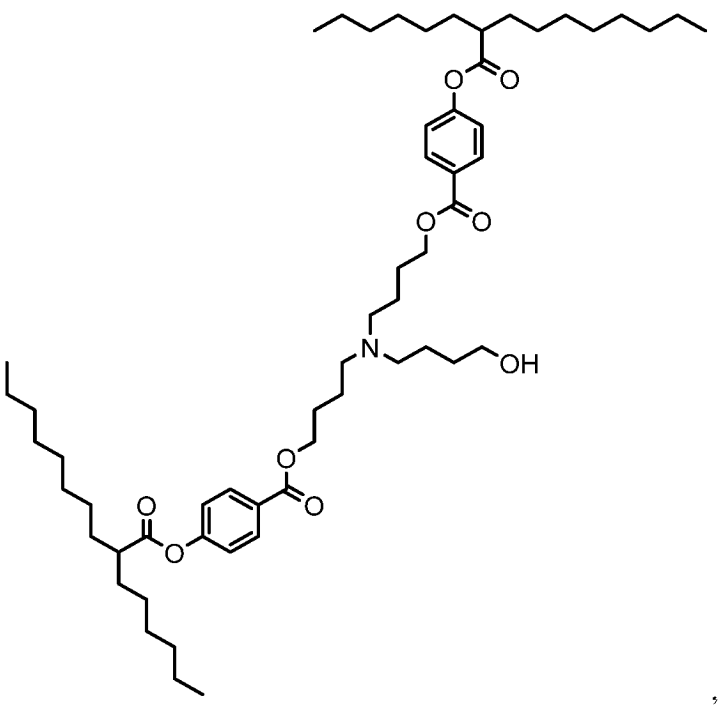
,



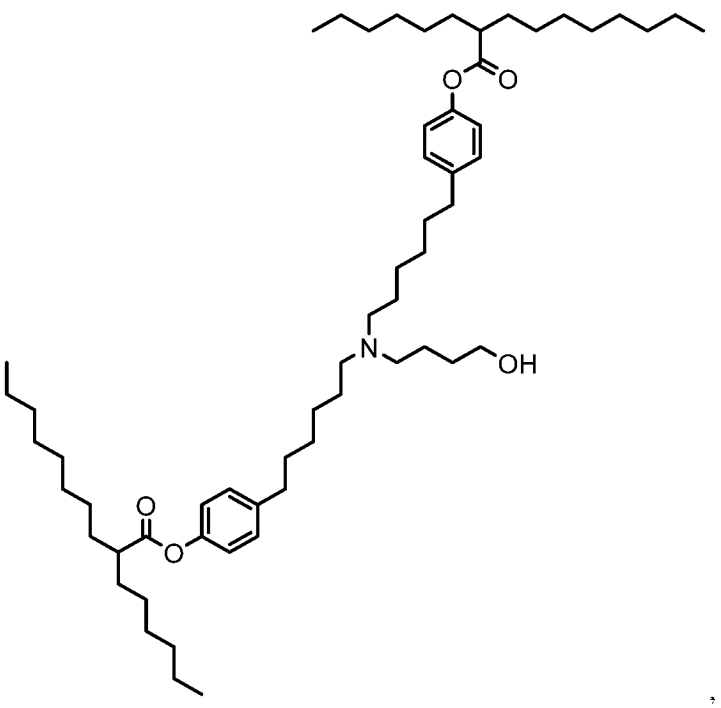
,



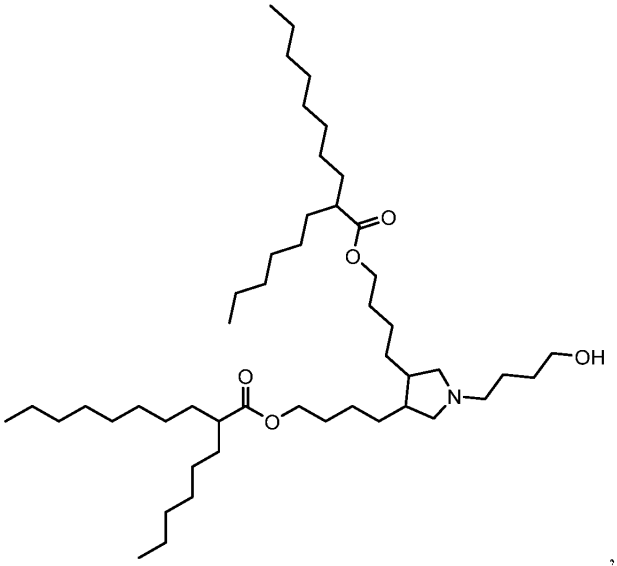
,



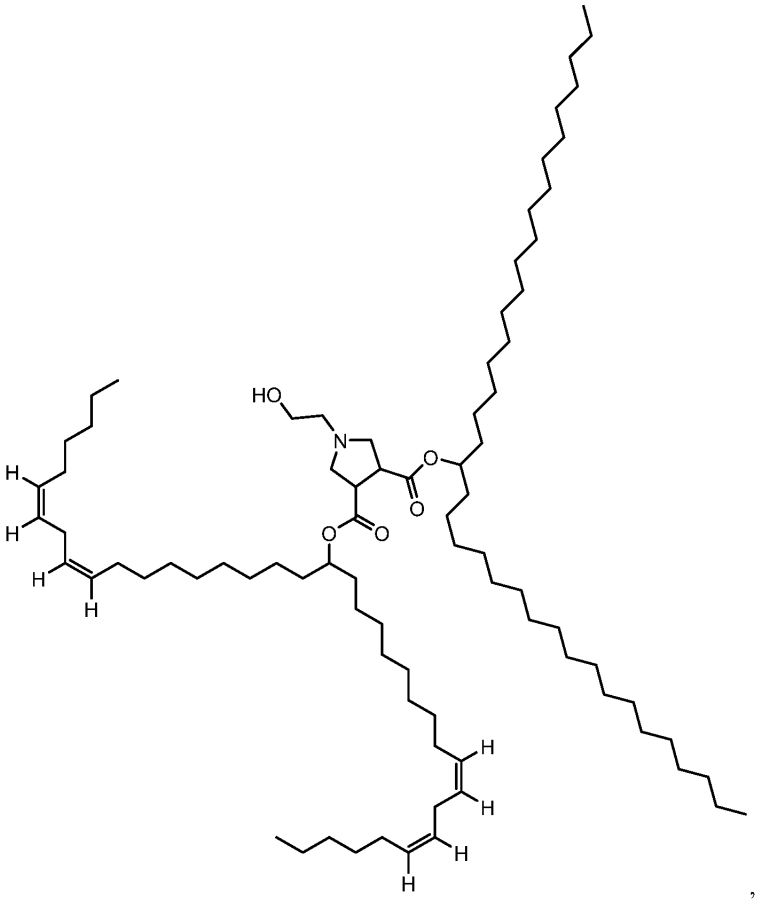
,



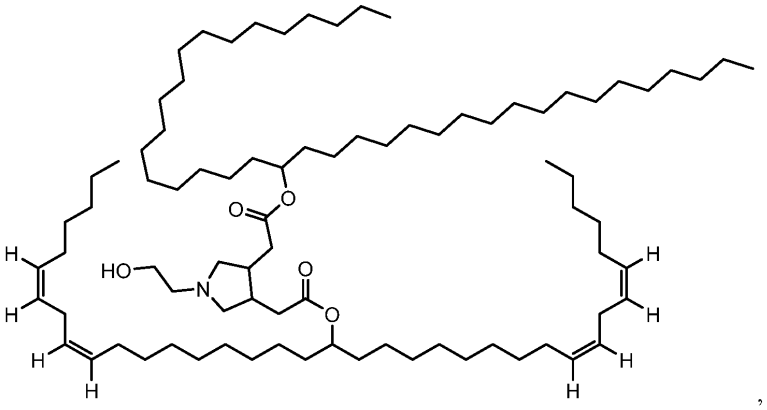
,


O
O
O
O
N
OH

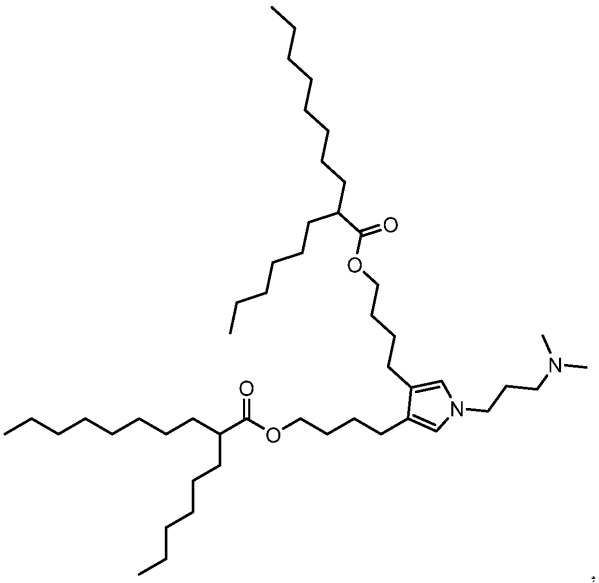
,


HO
N
O
O
O
O
O
H
H
H
H
H
H
H
H

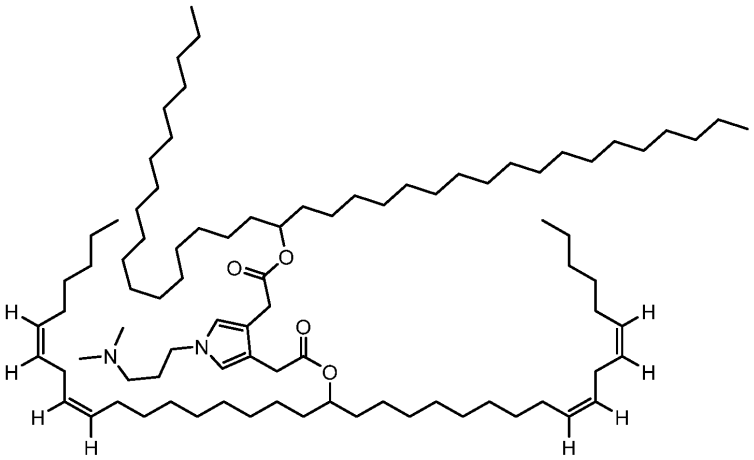
,



,



,又は

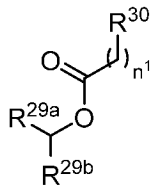


のうちの１つを有する、請求項７３に記載の化合物。

【請求項８３】

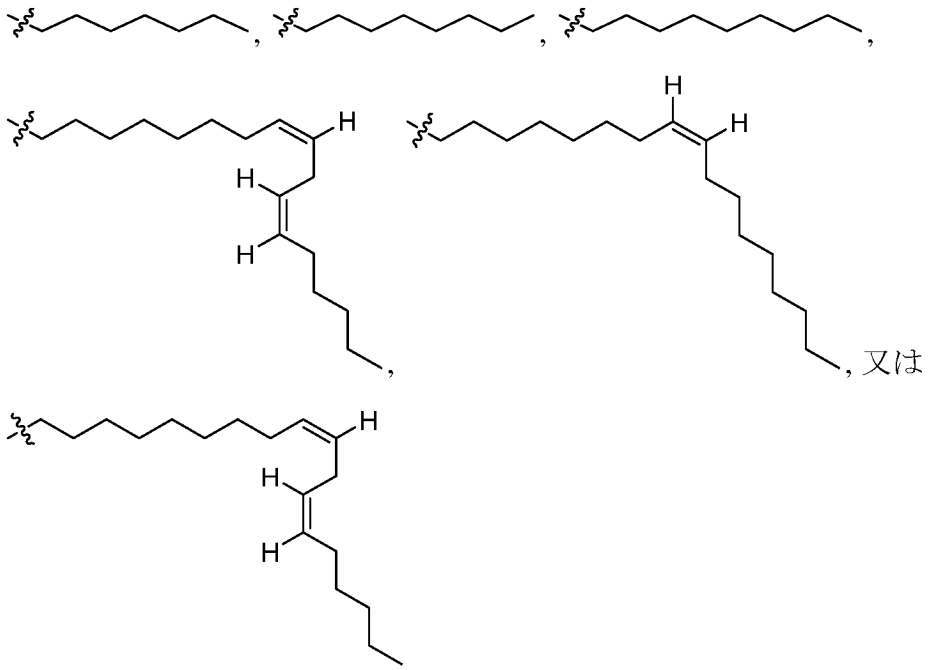
以下の式（ＸＩＸ）の構造を有する化合物又はその立体異性体、塩、若しくは互変異性体：

【化５５】



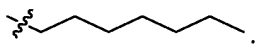
(XIX)

式中、
　Ｒ２９ａ及びＲ２９ｂが、各々独立して、直鎖Ｃ６－Ｃ１０アルキル又は直鎖Ｃ１２－Ｃ２０アルキレンであり、
　Ｒ３０が、アリール又はＣ３－Ｃ６複素環であり、前記アリール又はＣ３－Ｃ６複素環が、－ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ３１、Ｃ１－Ｃ４アルキル、又はＣ１－Ｃ４ヘテロアルキルで置換されており、
　Ｒ３１が、Ｃ１－Ｃ６ヘテロアルキルであり、
　ｎ１が、１～６の整数である。
【請求項８４】
　Ｒ２９ａ及びＲ２９ｂが、各々直鎖Ｃ６－Ｃ１０アルキルである、請求項８３に記載の化合物。
【請求項８５】
　Ｒ２９ａ及びＲ２９ｂが、各々直鎖Ｃ１２－Ｃ２０アルキレンである、請求項８３又は８４に記載の化合物。
【請求項８６】
　Ｒ２９ａ及びＲ２９ｂが、各々独立して、以下の構造：
【化５６】

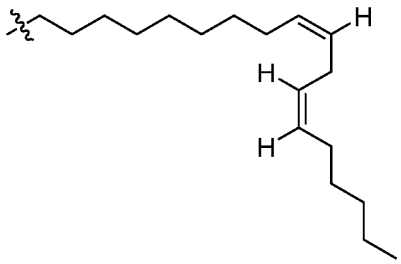


のうちの１つを有する、請求項８３～８５のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項８７】
　Ｒ２９ａ及びＲ２９ｂが、各々

【化５７】

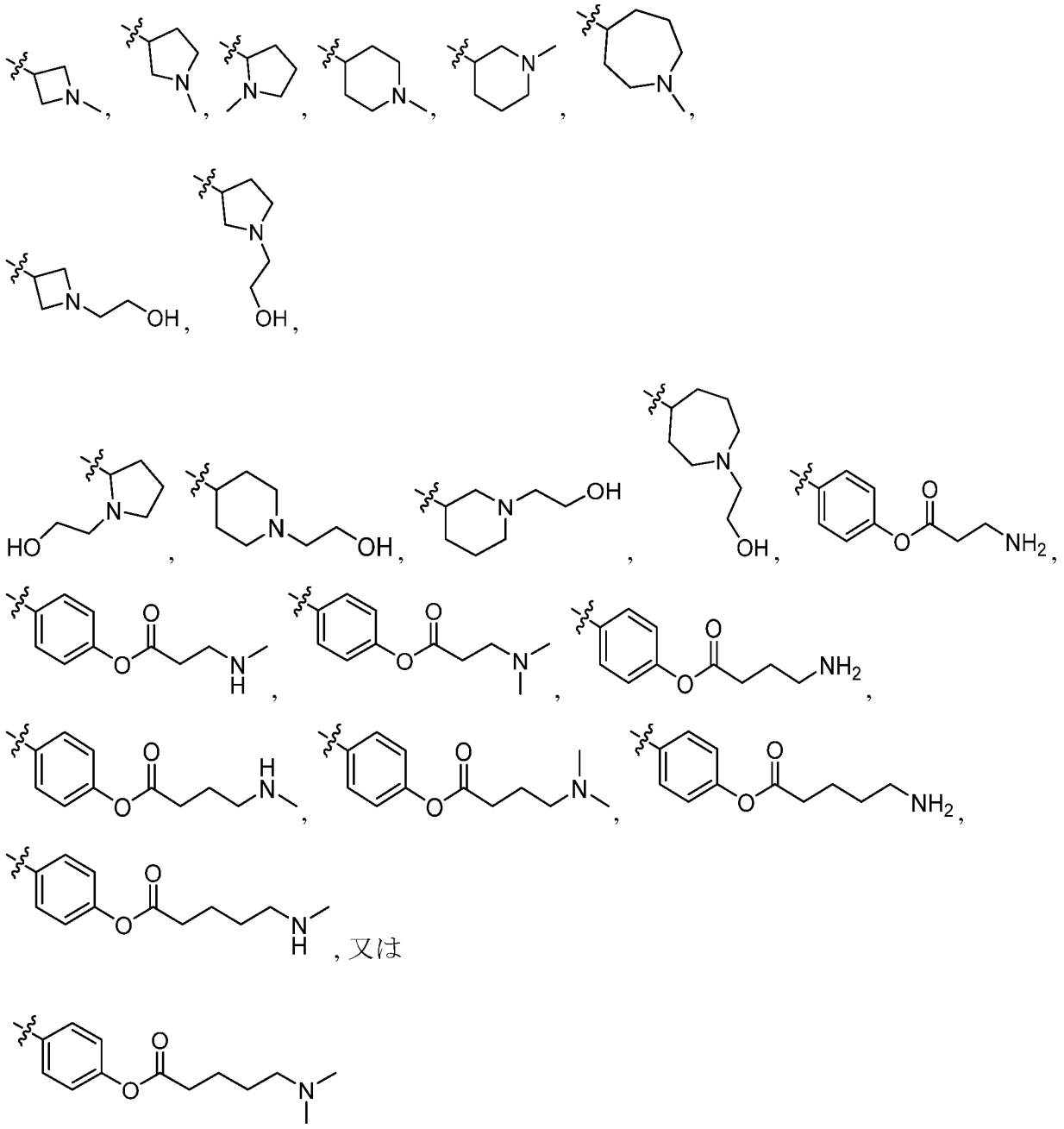


である、請求項８３～８６のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項８８】
R^{29a}及びR^{29b}が、各々
【化５８】



である、請求項８３～８７のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項８９】
R^{30}の前記アリールが、フェニル又はナフタレンである、請求項８３～８８のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項９０】
R^{30}の前記C_3－C_6複素環が、アゼチジン、ピロリジン、イミダゾリジン、ピラゾリジン、ピペリジン、ジアジナン、トリアジナン、又はアゼパンである、請求項８３～８９のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項９１】
R^{30}が、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{31}で置換されたアリール、又はC_1－C_4アルキルで置換されたC_3－C_6複素環、又はC_1－C_4ヘテロアルキルである、請求項８３～９０のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項９２】
R^{30}が、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{31}で置換されたフェニル、又はC_1－C_4アルキルで置換されたC_3－C_6Ｎ－複素環、又はC_1－C_4ヘテロアルキルである、請求項８３～９１のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項９３】
R^{30}が、以下の構造：

【化５９】



のうちの１つを有する、請求項８３～９２のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項９４】

ｎ[1]が、１～４の整数である、請求項８３～９３のいずれか一項に記載の化合物。

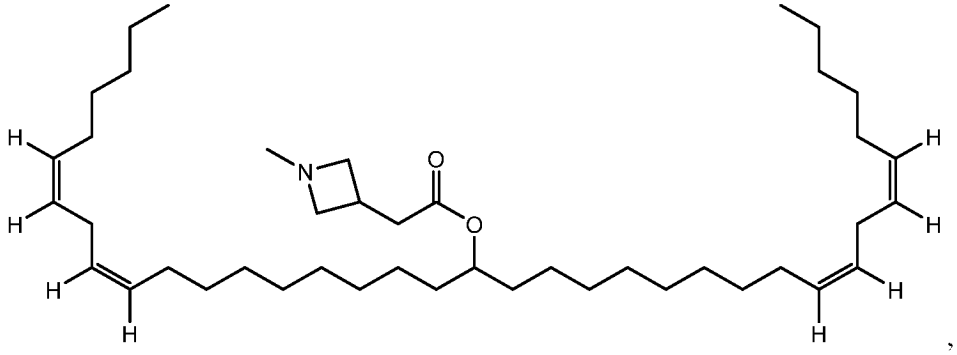
【請求項９５】

ｎ[1]が、１又は４の整数である、請求項８３～９４のいずれか一項に記載の化合物。

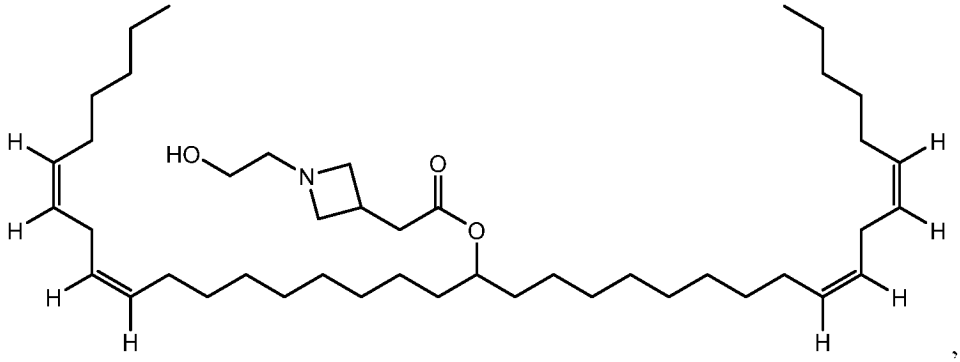
【請求項９６】

前記化合物が、以下の構造：

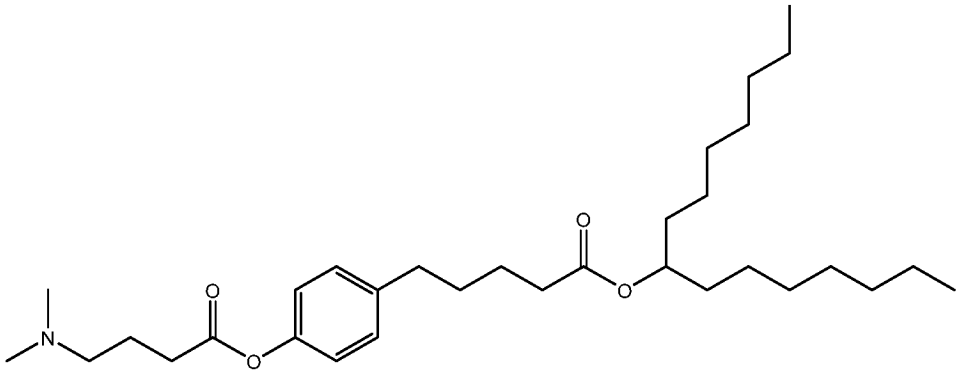
【化６０】



、



、又は

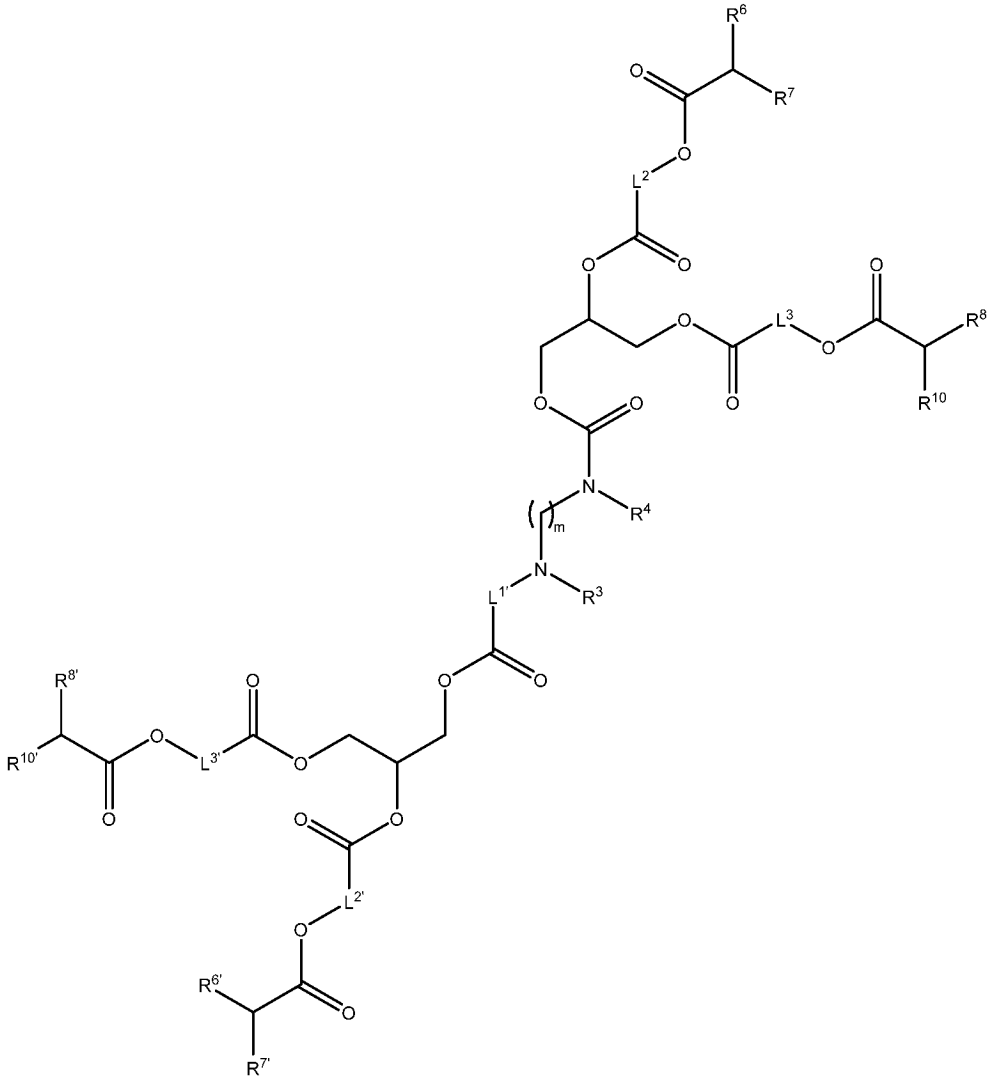


のうちの１つを有する、請求項８３に記載の化合物。

【請求項９７】

式（ＸＸＩ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体：

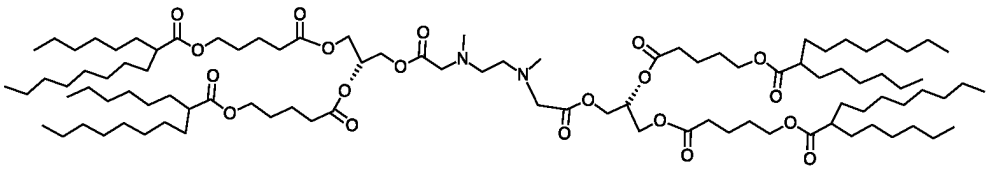
【化６１】



(XXI)

式中、
L^1が、C_1-C_6アルキレンであり、
$L^{1'}$が、C_1-C_6アルキレンであり、
L^2が、C_1-C_8アルキレンであり、
$L^{2'}$が、C_1-C_8アルキレンであり、
L^3が、C_1-C_8アルキレンであり、
$L^{3'}$が、C_1-C_8アルキレンであり、
R^3及びR^4が、各々独立して、H、C_1-C_4アルキル、$-CH_2-$シクロプロピル、又は$-(CH_2)_nOH$であり、
R^6が、C_4-C_{20}アルキルであり、
$R^{6'}$が、C_4-C_{20}アルキルであり、
R^7が、C_4-C_{20}アルキルであり、
$R^{7'}$が、C_4-C_{20}アルキルであり、
R^8が、C_4-C_{20}アルキルであり、
$R^{8'}$が、C_4-C_{20}アルキルであり、
R^{10}が、C_4-C_{20}アルキルであり、
$R^{10'}$が、C_4-C_{20}アルキルであり、

ｎが、２、３、又は４であり、
ｍが、１、２、３、４、又は５である。
【請求項９８】
前記イオン化可能な脂質が、以下の構造：
【化６２】



を有する、請求項９７に記載のイオン化可能な脂質。
【請求項９９】
請求項４８～９８のいずれか一項に記載の化合物と、核酸を含む治療剤と、を含む、薬学的組成物。
【請求項１００】
ヘルパー脂質、安定化脂質、又は構造的脂質を更に含む、請求項９９に記載の薬学的組成物。
【請求項１０１】
前記ヘルパー脂質が、１，２－ジリノレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＬＰＣ）、１，２－ジミリストイル－ｓｎ－グリセロ－ホスホコリン（ＤＭＰＣ）、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＯＰＣ）、１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＰＰＣ）、１，２－ジステアロイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＳＰＣ）、１，２－ジウンデカノイル－ｓｎ－グリセロ－ホスホコリン（ＤＵＰＣ）、１－パルミトイル－２－オレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＰＯＰＣ）、１，２－ジ－Ｏ－オクタデセニル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（１８：０ジエーテルＰＣ）、ｌ－オレオイル－２－コレステリルヘミスクシノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＯＣｈｅｍｓＰＣ）、１－ヘキサデシル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（Ｃ１６　Ｌｙｓｏ　ＰＣ）、１，２－ジリノレノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン、１，２－ジアラキドノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン、１，２－ジドコサヘキサエノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン（ＤＯＰＥ）、１，２－ジフィタノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン（ＭＥ　１６．０　ＰＥ）、１，２－ジステアロイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジリノレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジリノレノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジアラキドノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジドコサヘキサエノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホ－ｒａｃ－（１－グリセロール）ナトリウム塩（ＤＯＰＧ）、及びそれらの混合物からなる群から選択される、請求項１００に記載の薬学的組成物。
【請求項１０２】
前記安定化脂質が、２０００の平均ＰＥＧ分子量を有する、１－（モノメトキシ－ポリエチレングリコール）－２，３－ジミリストイルグリセロール（ＰＥＧ－ＤＭＧ）である、請求項１００に記載の薬学的組成物。
【請求項１０３】
前記構造的脂質が、コレステロール、コレステロール誘導体、フェコステロール、シトステロール、エルゴステロール、カンペステロール、スチグマステロール、ブラシカステロール、トマチジン、ウルソール酸、アルファトコフェロール、及びそれらの混合物からなる群から選択される、請求項１００に記載の薬学的組成物。
【請求項１０４】

前記核酸が、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、非対称干渉ＲＮＡ（ａｉＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ダイサー基質ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）、小ヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、又はメッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）から選択される、請求項９９に記載の薬学的組成物。

【請求項１０５】

前記核酸が、ｍＲＮＡである、請求項１０４に記載の薬学的組成物。

【請求項１０６】

核酸を含む治療剤を、それを必要とする患者に投与するための方法であって、前記方法が、前記患者に、請求項９９に記載の組成物を投与することを含む、方法。

【請求項１０７】

請求項４８～９８のいずれか一項に記載の化合物と、核酸を含む治療剤と、を含む、脂質ナノ粒子。

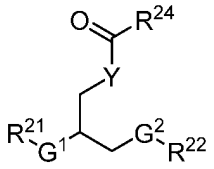
【請求項１０８】

前記治療剤が、ｍＲＮＡである、請求項１０７に記載の脂質ナノ粒子。

【請求項１０９】

以下の式（ＸＸ）の構造を有する化合物又はその立体異性体、塩、若しくは互変異性体：

【化６３】



(XX)

式中、

G^1及びG^2が、各々独立して、－ＯＣ（＝Ｏ）－又は－ＮＲ^{25}Ｃ（＝Ｏ）－であり、

R^{21}及びR^{22}が、各々独立して、C_1－C_6アルキル、直鎖C_{10}－C_{20}アルキル、直鎖C_{10}－C_{20}アルケニル、又は分岐C_{10}－C_{35}アルケニルであり、前記C_1－C_6アルキルが、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{26}で置換されており、

R^{24}が、C_1－C_6ヘテロアルキル、アリール、又は４～８員ヘテロシクロアルキルで置換されたC_1－C_4アルキルであり、

R^{25}が、Ｈ又はC_1－C_4アルキルであり、

R^{26}が、分岐C_{10}－C_{30}アルキルであり、

Ｙが、Ｏ又はＮR^{32}であり、R^{32}が、Ｈ又はC_1－C_4アルキルである。

【請求項１１０】

G^1及びG^2が、各々－ＯＣ（＝Ｏ）－である、請求項１０９に記載の化合物。

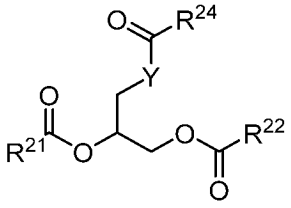
【請求項１１１】

G^1及びG^2が、各々－ＮＲ^{25}Ｃ（＝Ｏ）－である、請求項１０９に記載の化合物。

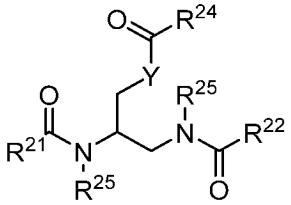
【請求項１１２】

前記化合物が、以下の式（ＸＸＡ）～（ＸＸＢ）の構造、又はその立体異性体、塩、若しくは互変異性体のうちの１つを有する、請求項１０９～１１１のいずれか一項に記載の化合物：

【化６４】



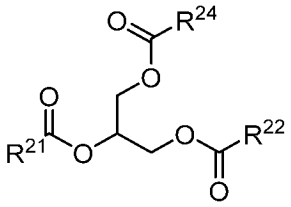
(XXA)



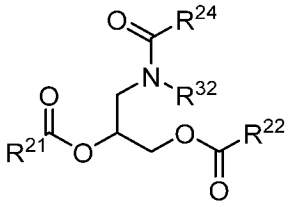
(XXB)

【請求項１１３】
Ｙが、Ｏである、請求項１１２に記載の化合物。
【請求項１１４】
Ｙが、ＮＲ^{32}である、請求項１１２に記載の化合物。
【請求項１１５】
前記化合物が、以下の（ＸＸＡ－１）～（ＸＸＢ－２）の構造、又はその立体異性体、塩若しくは互変異性体のうちの１つを有する、請求項１０９～１１４のいずれか一項に記載の化合物：

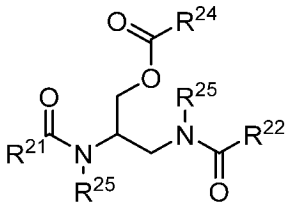
【化６５】



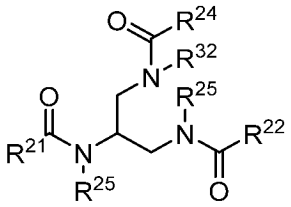
(XXA-1)



(XXA-2)



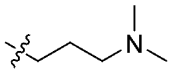
(XXB-1)



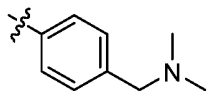
(XXB-2)

【請求項１１６】
Ｒ２４が、Ｃ３－Ｃ６ヘテロアルキルである、請求項１０９～１１５のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１１７】
Ｒ２４が、Ｃ５ヘテロアルキルである、請求項１０９～１１６のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１１８】
Ｒ２４が、Ｃ５アルキルアミンである、請求項１０９～１１７のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１１９】
Ｒ２４が、

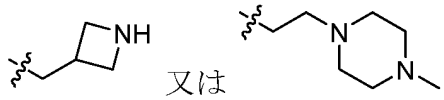
【化６６】



である、請求項１０９～１１８のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１２０】
Ｒ^{24}が、アリールである、請求項１０９～１１５のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１２１】
Ｒ^{24}の前記アリールが、Ｃ$_1$－Ｃ$_6$ヘテロアルキルで置換されている、請求項１２０に記載の化合物。
【請求項１２２】
Ｒ^{24}が、
【化６７】

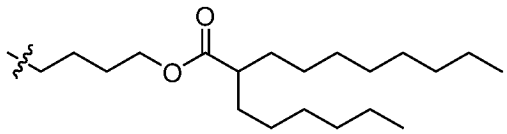


である、請求項１２１に記載の化合物。
【請求項１２３】
Ｒ^{24}が、４～８員ヘテロシクロアルキルで置換されたＣ$_1$－Ｃ$_4$アルキルである、請求項１０９～１１５のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１２４】
Ｒ^{24}が、４～６員ヘテロシクロアルキルで置換されたＣ$_1$－Ｃ$_3$アルキルである、請求項１２３に記載の化合物。
【請求項１２５】
Ｒ^{24}が、以下の構造：
【化６８】



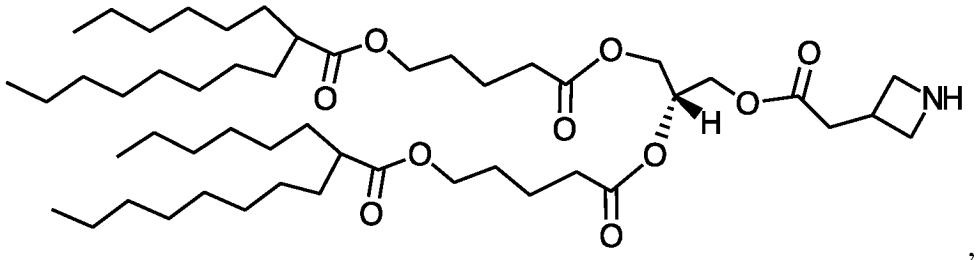
のうちの１つを有する、請求項１２３又は１２４に記載の化合物。
【請求項１２６】
Ｒ^{25}が、Ｈである、請求項１０９～１２５のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１２７】
Ｒ^{25}が、Ｃ$_1$－Ｃ$_4$アルキルである、請求項１０９～１２５のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１２８】
Ｒ^{25}が、－ＣＨ$_3$である、請求項１０９～１２５のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１２９】
Ｒ^{25}が、－ＣＨ$_2$ＣＨ$_3$である、請求項１０９～１２５のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１３０】
Ｒ^{21}及びＲ^{22}が、各々独立して、－ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ^{26}で置換されたＣ$_2$－Ｃ$_5$アルキル、直鎖Ｃ$_{12}$－Ｃ$_{18}$アルキル、直鎖Ｃ$_{12}$－Ｃ$_{18}$アルケニル、又は分岐Ｃ$_{14}$－Ｃ$_{32}$アルケニルである、請求項１０９～１２９のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１３１】
Ｒ^{21}又はＲ^{22}のうちの一方が、直鎖Ｃ$_{12}$－Ｃ$_{18}$アルキルであり、Ｒ^{21}又はＲ^{2}

^{2}のうちの他方が、直鎖C_{12}－C_{18}アルケニルである、請求項１０９～１３０のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１３２】
R^{21}又はR^{22}のうちの一方が、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{26}で置換されたC_{2}－C_{5}アルキルであり、R^{21}又はR^{22}のうちの他方が、直鎖C_{12}－C_{18}アルキルである、請求項１０９～１３１のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１３３】
R^{21}又はR^{22}のうちの一方が、直鎖C_{12}－C_{18}アルキルであり、R^{21}又はR^{22}のうちの他方が、分岐C_{14}－C_{32}アルケニルである、請求項１０９～１３２のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１３４】
R^{21}及びR^{22}が、各々、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{26}で置換されたC_{2}－C_{5}アルキルである、請求項１０９～１３３のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１３５】
R^{21}及びR^{22}が、各々、直鎖C_{12}－C_{18}アルケニルである、請求項１０９～１３４のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１３６】
R^{26}が、分岐C_{10}－C_{20}アルキルである、請求項１０９～１３５のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１３７】
R^{26}が、分岐C_{12}－C_{18}アルキルである、請求項１０９～１３６のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１３８】
R^{21}及びR^{22}が、各々独立して、以下の構造：
【化６９】

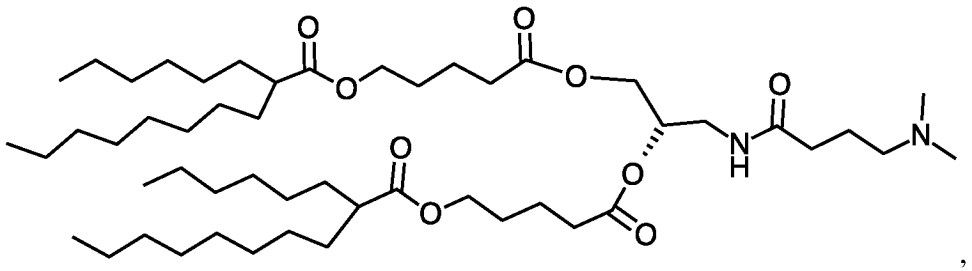


を有する、請求項１０９～１３７のいずれか一項に記載の化合物。
【請求項１３９】
前記化合物が、以下の構造：

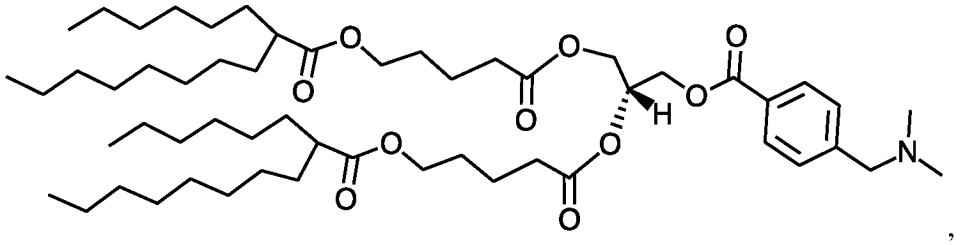
【化７０】



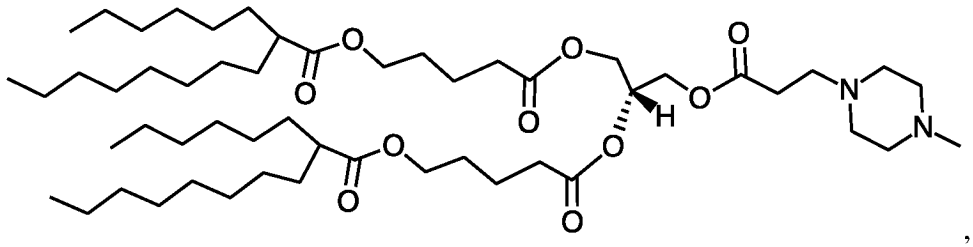
,



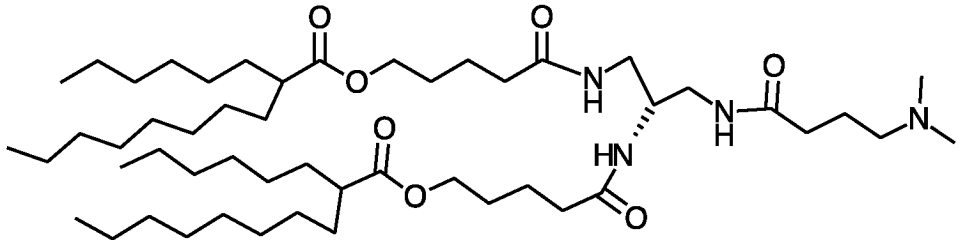
,



,



,又は



のうちの１つを有する、請求項１０９に記載の化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願の相互参照

本出願は、２０２２年６月２３日に出願された米国仮出願第６３／３５５，０２４号、２０２２年１２月７日に出願された米国仮出願第６３／３８６，４８２号、及び２０２３年５月４日に出願された米国仮出願第６３／４６４，０２２号の利益を主張するものであり、これらの各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０００２】

本開示は、安定化脂質及び構造的脂質などの他の脂質成分と組み合わせて使用することができるイオン化可能な脂質及びヘルパー脂質に関する。本開示はまた、治療用分子、特

に治療用核酸の送達に向けた当該脂質を含む脂質－ナノ粒子組成物を提供する。

【背景技術】

【０００３】

核酸ベースの療法は、それらの遺伝子ブループリントをインビボで標的とすることによって疾患を治療する非常に大きな可能性があるため、近年注目を集めている。核酸ベースの治療薬は、遺伝子阻害、付加、置き換え、又は編集を介して、長期的な効果、又は治癒的な効果さえ達成することができる。しかしながら、核酸薬剤及び他の治療用分子の両方の臨床的な転換は、安定性を改善し、内在化を促進し、かつ／又は標的親和性を増加する送達技術に依存する。

【０００４】

脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）などに限定されないが、脂質ベースの送達システムは、核酸及び他の治療用分子を安定化及び送達するためのアプローチを提供し得、この技術の進化に向けた重要な必要性が依然として存在する。最適な粒子サイズ、封入効率、堅牢な製造プロセス、異なる脂質親和性、及び適切な表面電荷などの設計特性を更に進めて、核酸及び他の治療用分子のための効率的な脂質ベースの送達システムを提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【０００５】

【図１】ヒト成人皮膚線維芽細胞の若返りに関する実験設計の概略図である。

【図２】脂質式（ＩＩ）と、各ｍＲＮＡ分子がＯＣＴ４（Ｏ）、ＳＯＸ２（Ｓ）、ＫＬＦ４（Ｋ）、Ｌｉｎ２８（Ｌ）、ｃＭｙｃ（Ｍ）、又はＮａｎｏｇ（Ｎ）をコードしたｍＲＮＡカクテルと、を含有する脂質ナノ粒子を使用したヒト成人皮膚線維芽細胞の一過性リプログラミング処理後の、皮膚加齢及び低下した肌質のマーカーである、ＳＯＤ２及びＭＭＰ１の下方調節を実証する免疫細胞化学実験からのデータを示す。

【図３】脂質式（ＩＩ）と、各ｍＲＮＡ分子がＯ、Ｓ、Ｋ、Ｌ、Ｍ、又はＮをコードしたｍＲＮＡカクテルと、を含有する脂質ナノ粒子を使用したヒト成人皮膚線維芽細胞の一過性リプログラミング処理後の、ＳＯＤ２、ＭＭＰ１、ＭＭＰ２、及びｐ１６ＩＮＫ４Ａ（皮膚加齢、低下した肌質、及び老化のマーカー）の下方調節を実証する免疫細胞化学実験からのデータを示す。

【図４】脂質式（ＩＩ）と、各ｍＲＮＡ分子がＯ、Ｓ、Ｋ、Ｌ、Ｍ、又はＮをコードしたｍＲＮＡカクテルと、を含有する脂質ナノ粒子を使用した一過性リプログラミング処理後のヒト成人皮膚線維芽細胞の増加した増殖を実証するデータを示す。

【図５】齢のエピジェネティックリプログラミング（ＥＲＡ）のための本明細書における組成物及び方法を使用した、ヒト加齢皮膚外植片の若返りに関する実験設計の概略図である。

【図６】未処理状態と比較した、脂質式（ＩＩ）と、各ｍＲＮＡ分子がＯ、Ｓ、Ｋ、Ｌ、Ｍ、又はＮをコードしたｍＲＮＡカクテルと、を含有する脂質ナノ粒子を使用したヒト成人皮膚線維芽細胞の一過性リプログラミング処理後の、ＳＯＤ２（皮膚加齢及び酸化ストレスのマーカー）の下方調節及びコラーゲンＶＩＩ（肌質のマーカー）の上方調節を実証する免疫組織化学実験からのデータを示す。

【図７Ａ】式（Ｉ）又は（ＩＩ）の脂質を含む脂質ナノ粒子製剤についてトランスフェクション効率データ及びトランスフェクション能を示す。

【図７Ｂ】式（Ｉ）又は（ＩＩ）の脂質を含む脂質ナノ粒子製剤についてトランスフェクション効率データ及びトランスフェクション能を示す。

【図８Ａ】脂質ナノ粒子組成物中の増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）ｍＲＮＡを用いた、エレクトロポレーション（ＥＰ、１３５０Ｖ及び１６００Ｖでの）を介したか、又はＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ（商標）を介した、汎Ｔ細胞（図８Ａ及び８Ｃ）のトランスフェクション後２４時間のトランスフェクション効率（図８Ａ～８Ｂ）を示す棒グラフである。

【図８Ｂ】脂質ナノ粒子組成物中の増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）ｍＲＮＡを用いた、エレクトロポレーション（ＥＰ、１３５０Ｖ及び１６００Ｖでの）を介したか、又は

Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ（商標）を介した、ジャーカット細胞（図８Ｂ及び８Ｄ）のトランスフェクション後２４時間のトランスフェクション効率（図８Ａ～８Ｂ）を示す棒グラフである。

【図８Ｃ】脂質ナノ粒子組成物中の増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）ｍＲＮＡを用いた、エレクトロポレーション（ＥＰ、１３５０Ｖ及び１６００Ｖでの）を介したか、又はＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ（商標）を介した、汎Ｔ細胞（図８Ａ及び８Ｃ）のトランスフェクション後２４時間の細胞生存率（図８Ｃ～８Ｄ）を示す棒グラフである。

【図８Ｄ】脂質ナノ粒子組成物中の増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）ｍＲＮＡを用いた、エレクトロポレーション（ＥＰ、１３５０Ｖ及び１６００Ｖでの）を介したか、又はＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ（商標）を介した、ジャーカット細胞（図８Ｂ及び８Ｄ）のトランスフェクション後２４時間の細胞生存率（図８Ｃ～８Ｄ）を示す棒グラフである。

【図９Ａ】脂質ナノ粒子組成物中の増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）ｍＲＮＡを用いた、エレクトロポレーション（ＥＰ）を介したか、又はＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ（商標）を介した、汎Ｔ細胞のトランスフェクション後２４時間の結果を示す棒グラフであり、トランスフェクション効率がｅＧＦＰの蛍光強度中央値として図９Ａに示される。

【図９Ｂ】脂質ナノ粒子組成物中の増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）ｍＲＮＡを用いた、エレクトロポレーション（ＥＰ）を介したか、又はＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ（商標）を介した、汎Ｔ細胞のトランスフェクション後２４時間の結果を示す棒グラフであり、細胞生存率パーセントが図９Ｂに示される。

【図１０Ａ】本明細書に開示されるイオン化可能な脂質を含む脂質ナノ粒子組成物中の増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）ｍＲＮＡを用いた汎Ｔ細胞のトランスフェクション後１８～２４時間の結果を示す棒グラフであり、細胞生存率が図１０Ａに示される。

【図１０Ｂ】本明細書に開示されるイオン化可能な脂質を含む脂質ナノ粒子組成物中の増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）ｍＲＮＡを用いた汎Ｔ細胞のトランスフェクション後１８～２４時間の結果を示す棒グラフであり、細胞トランスフェクション能が図１０Ｂに示される。

【図１０Ｃ】本明細書に開示されるイオン化可能な脂質を含む脂質ナノ粒子組成物中の増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）ｍＲＮＡを用いた汎Ｔ細胞のトランスフェクション後１８～２４時間の結果を示す棒グラフであり、トランスフェクション効率が図１０Ｃに示される。

【発明を実施するための形態】

【０００６】

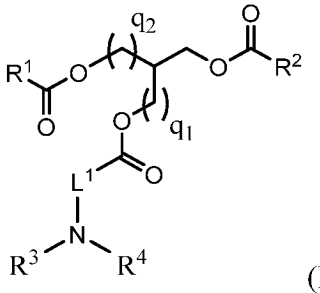
発明の概要

以下の態様及び以下に記載されるそれらの実施形態は、例示的かつ例証的なものであることを意味し、範囲を限定するものではない。

【０００７】

一態様では、本開示は、式（Ｉ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、

【化１】



(I)

式中、

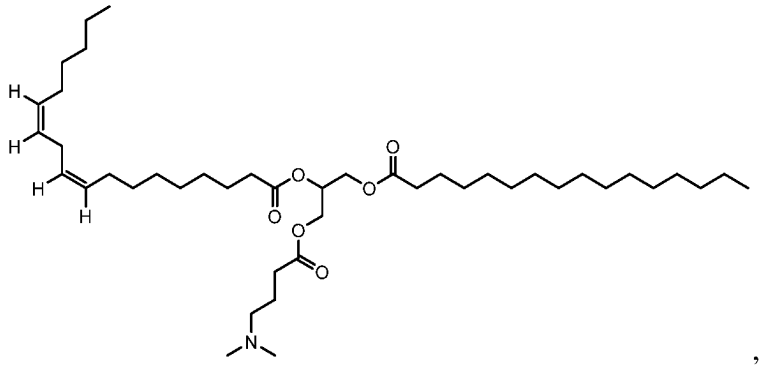
L^1は、C_1-C_6アルキレンであり、R^1は、C_6-C_{20}アルケニルであり、R^2は

、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ３及びＲ４は、各々独立して、Ｈ又はＣ１－Ｃ３アルキルであり、ｑ１は、不在か、又は１であり、ｑ２は、不在か、又は１である。

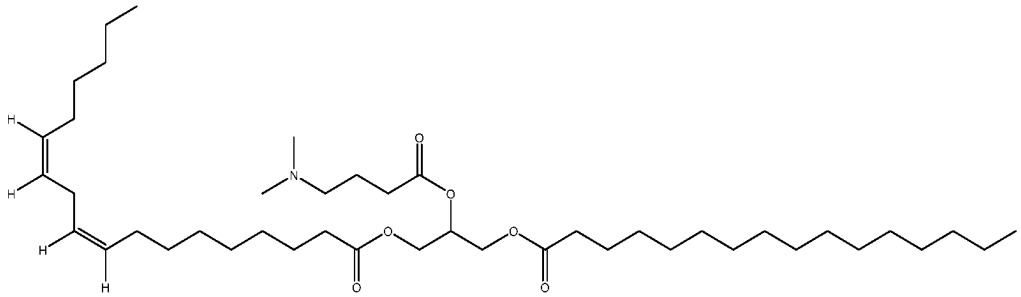
【０００８】

他の態様では、式（Ｉ）のイオン化可能な脂質は、以下の構造のうちの１つを有する：

【化２】



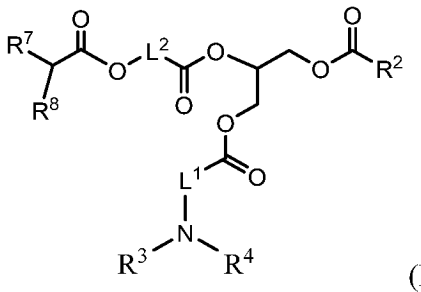
, 又は



【０００９】

一態様では、本開示は、式（Ｉ－Ａ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、

【化３】



(I-A)

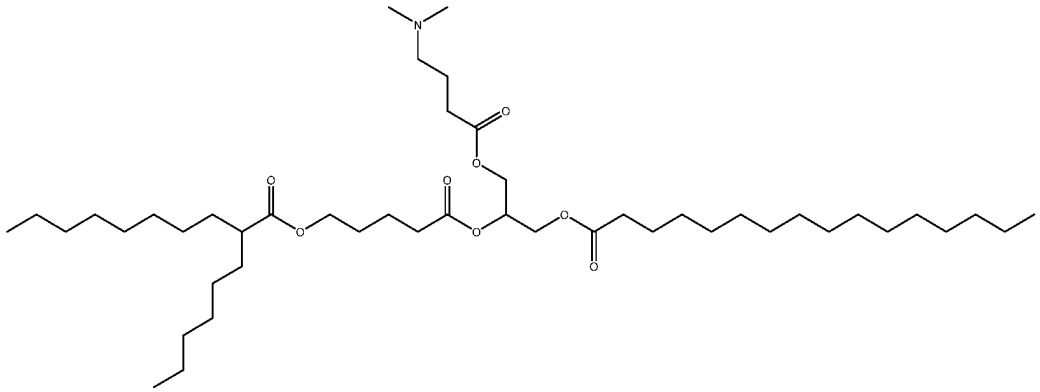
式中、

Ｌ１は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ３及びＲ４は、各々独立して、Ｈ又はＣ１－Ｃ３アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルである。

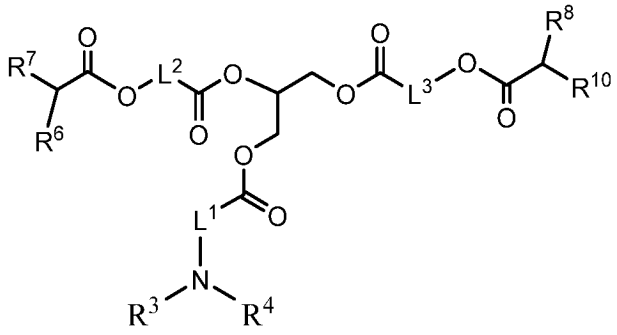
【００１０】

他の態様では、式（Ｉ－Ａ）のイオン化可能な脂質は、以下の構造を有する：

【化４】

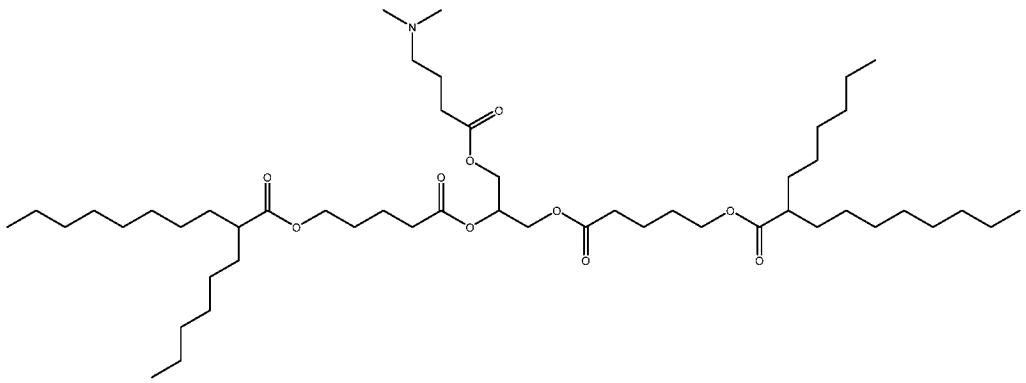


【００１１】
一態様では、本開示は、式（Ｉ－Ｂ）のイオン化可能な脂質又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、
【化５】



(I-B)

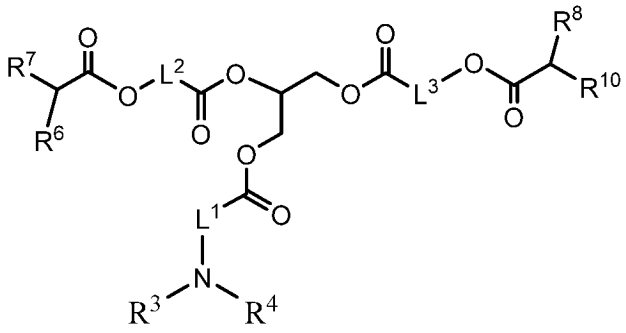
式中、
Ｌ^{1}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｌ^{2}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｌ^{3}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｒ^{3}及びＲ^{4}は、各々独立して、Ｈ又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{3}$アルキルであり、Ｒ^{6}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{7}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{8}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{10}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルである。
【００１２】
他の態様では、式（Ｉ－Ｂ）のイオン化可能な脂質は、以下の構造を有する：
【化６】



【００１３】
一態様では、本開示は、式（Ｉ－Ｂ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容さ

れ得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、

【化７】



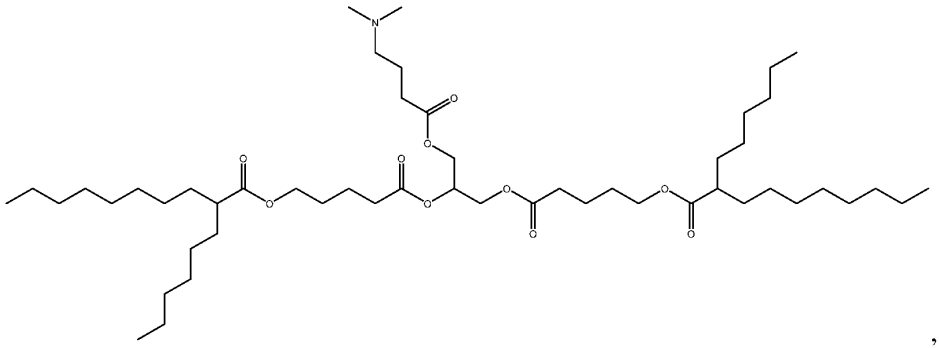
(I-B)

式中、

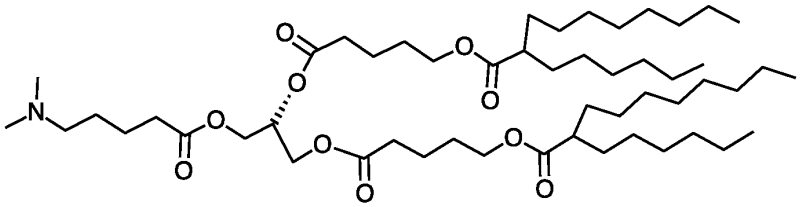
L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、L^3は、C_1－C_8アルキレンであり、R^3及びR^4は、各々独立して、Ｈ、C_1－C_4アルキル、－CH_2－シクロプロピル、－（CH_2）$_n$ＯＨであるか、又はR^3及びR^4は、一緒にＮ－ヘテロシルクルを形成し、R^6は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^7は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^8は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^{10}は、C_4－C_{20}アルキルであり、ｎは、２、３、又は４である。

他の態様では、式（Ｉ－Ｂ）のイオン化可能な脂質は、以下の構造のうちの１つを有する：

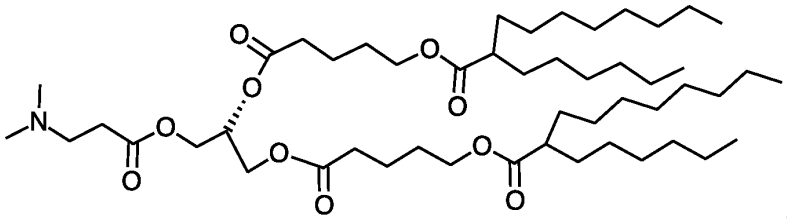
【化８】



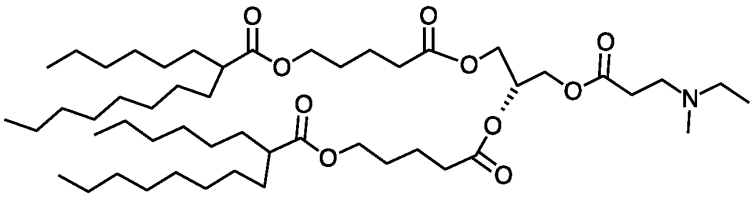
,



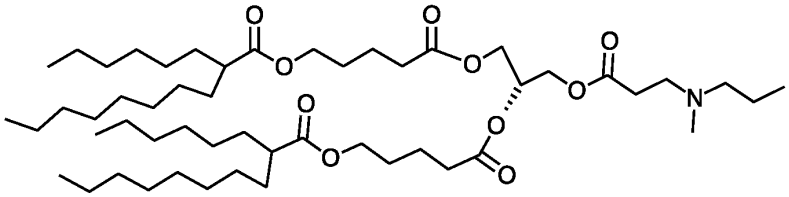
,



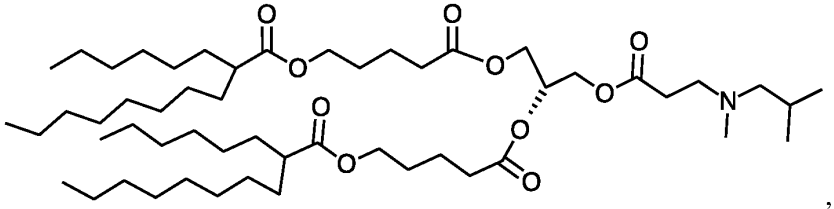
,



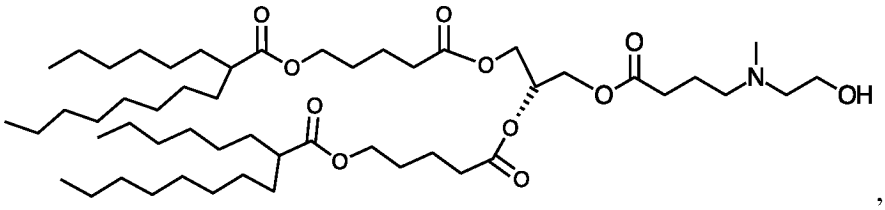
,

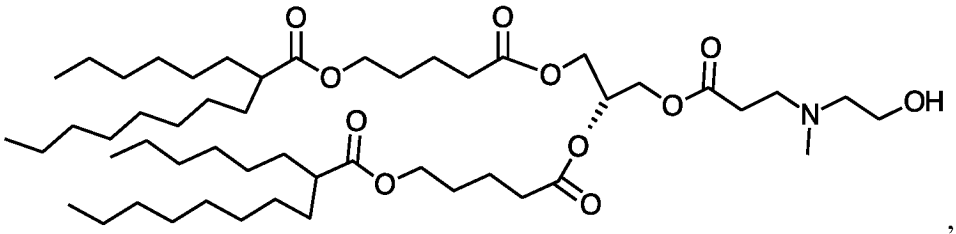


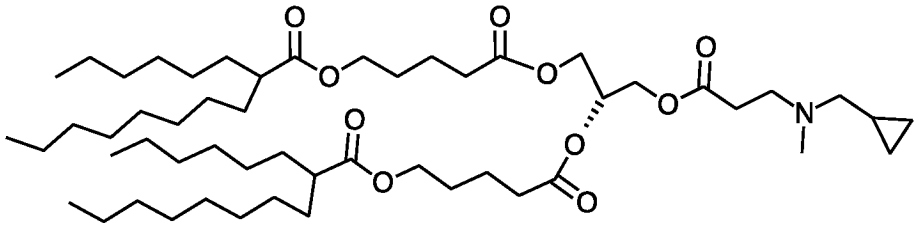
,

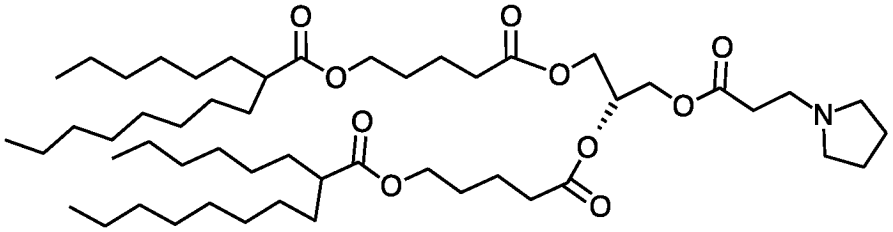


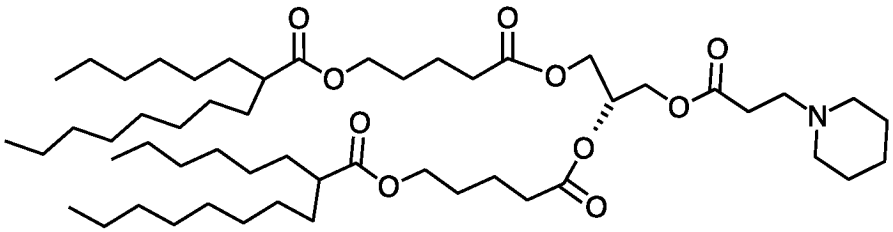
,


,


,


,

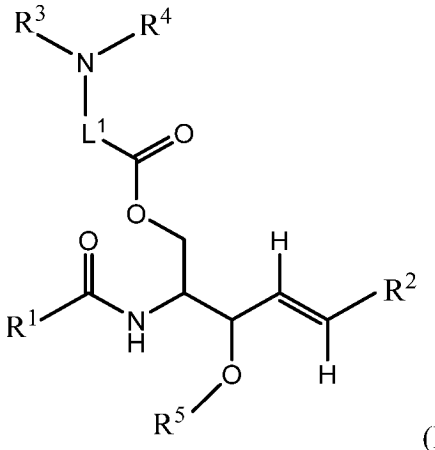

, 又は



【００１４】

一態様では、本開示は、式（ＩＩ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、

【化９】

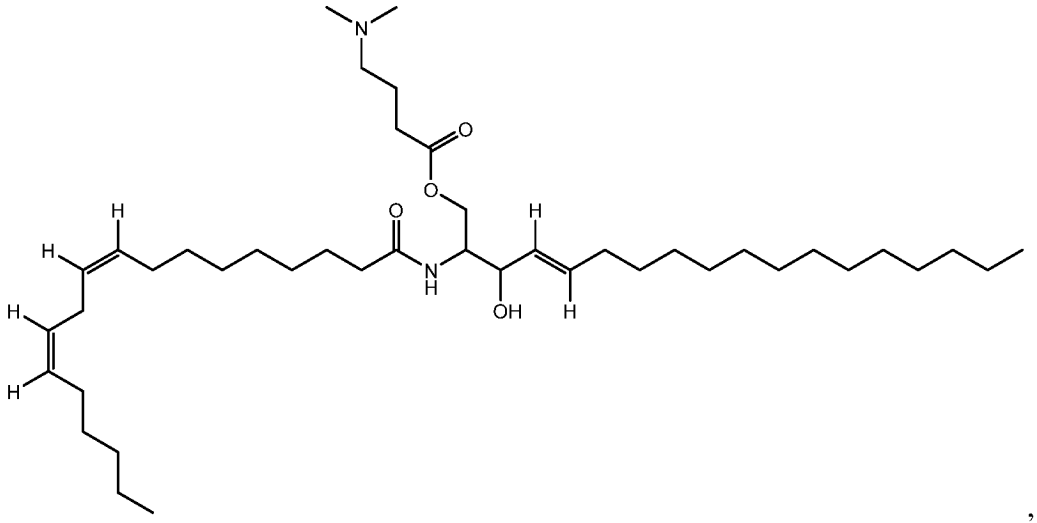


(II)

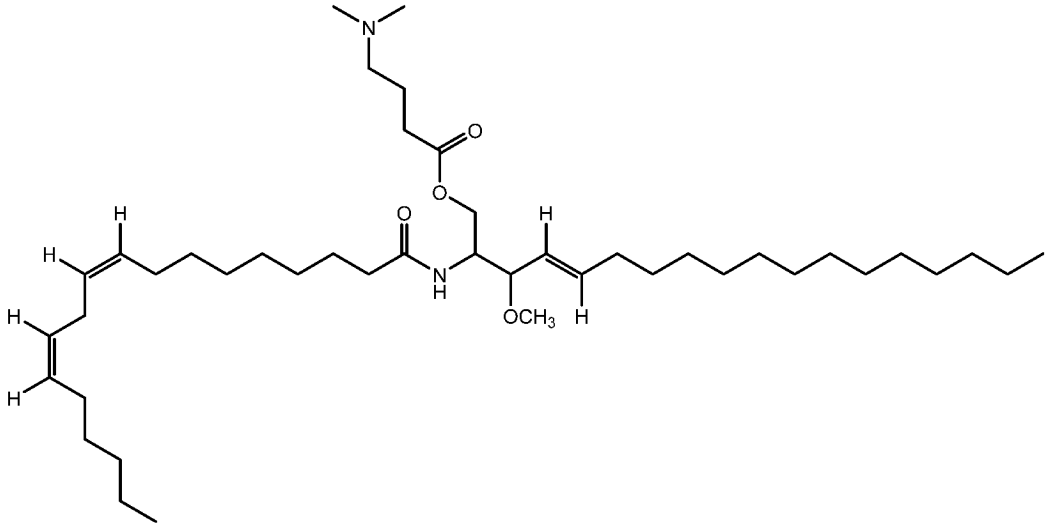
式中、
L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、R^1は、C_6－C_{20}アルケニルであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^3及びR^4は、各々独立して、H又はC_1－C_3アルキルであり、R^5は、H又はC_1－C_3アルキルである。

【００１５】
他の態様では、式（ＩＩ）のイオン化可能な脂質は、以下の構造のうちの１つを有する：

【化１０】



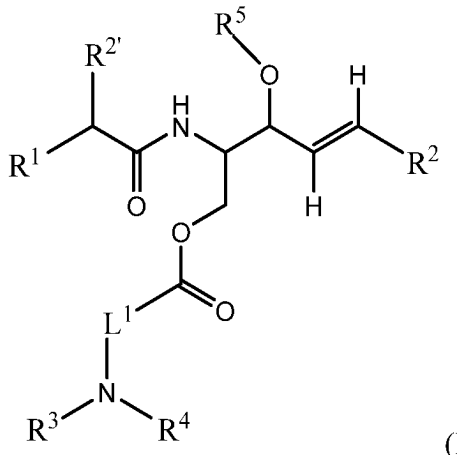
, 又は



【００１６】

一態様では、本開示は、式（ＩＩＩ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、

【化１１】



(III)

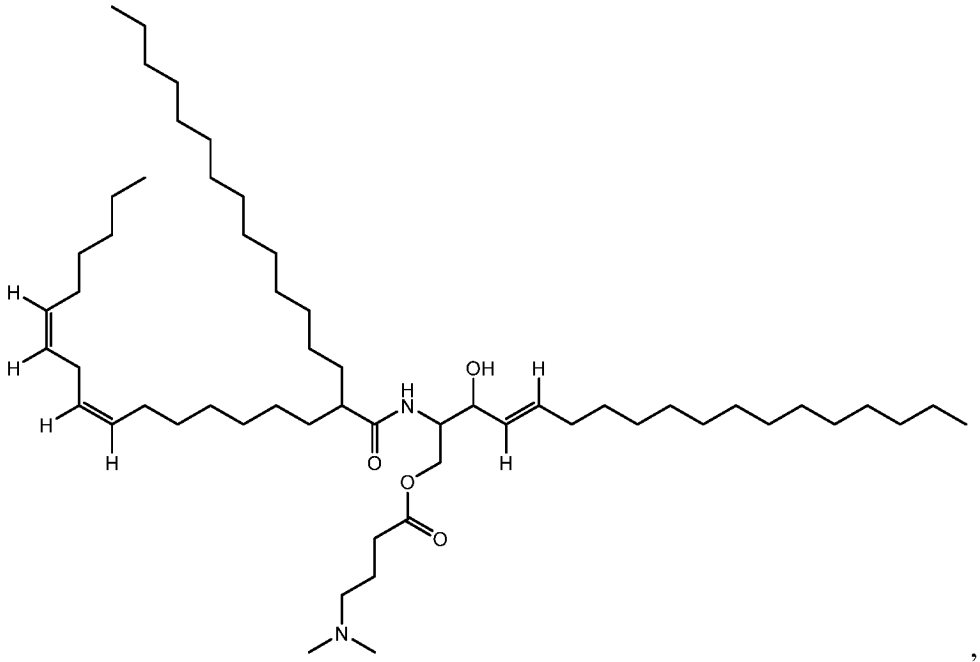
式中、

Ｌ^{1}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｒ^{1}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、Ｒ^{2}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{2}’は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{3}及びＲ^{4}は、各々独立して、Ｈ又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{3}$アルキルであり、Ｒ^{5}は、Ｈ又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{3}$アルキルである。

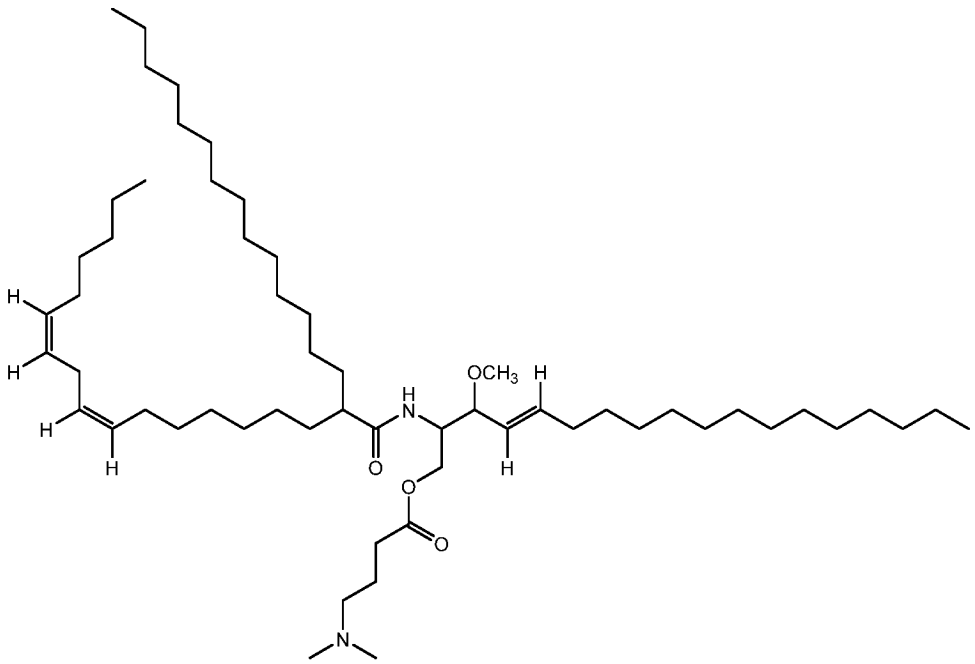
【００１７】

他の態様では、式（ＩＩＩ）のイオン化可能な脂質は、以下の構造のうちの１つを有する：

【化１２】



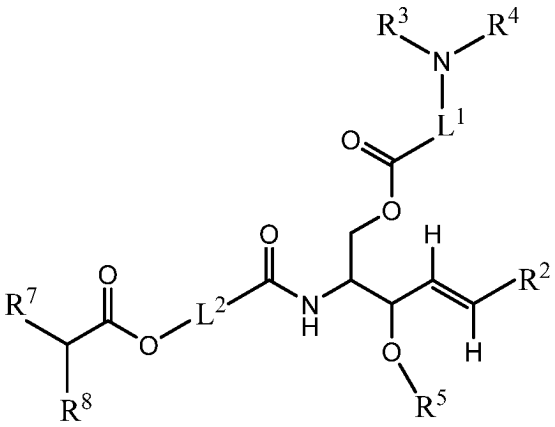
，又は



【００１８】

一態様では、本開示は、式（ＩＶ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、

【化１３】



(IV)

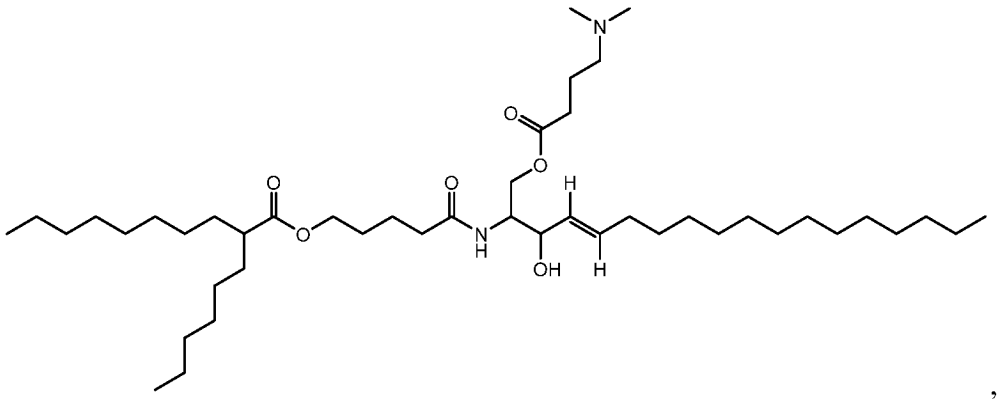
式中、

Ｌ^{1}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｌ^{2}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｒ^{2}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{3}及びＲ^{4}は、各々独立して、Ｈ又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{3}$アルキルであり、Ｒ^{5}は、Ｈ又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{3}$アルキルであり、Ｒ^{7}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{8}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルである。

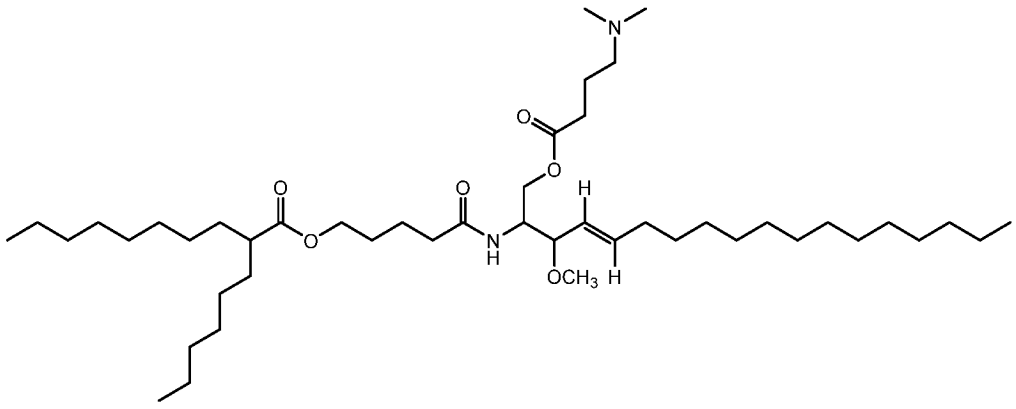
【００１９】

他の態様では、式（ＩＶ）のイオン化可能な脂質は、以下の構造のうちの１つを有する：

【化１４】



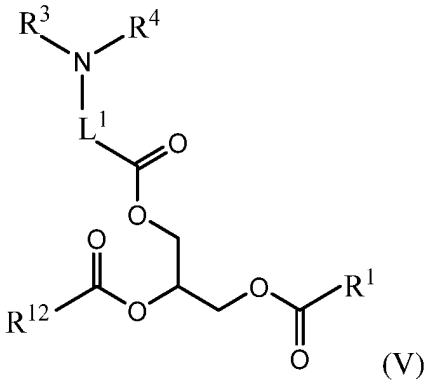
, 又は



【００２０】

一態様では、本開示は、式（Ｖ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、

【化１５】



(V)

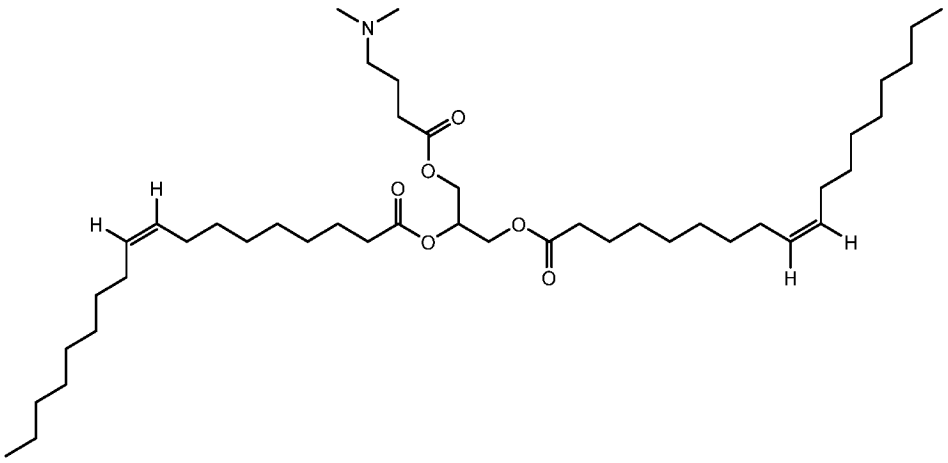
式中、

Ｌ^{1}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｒ^{1}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、Ｒ^{3}及びＲ^{4}は、各々独立して、Ｈ又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{3}$アルキルであり、Ｒ^{12}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルである。

【００２１】

他の態様では、式（Ｖ）のイオン化可能な脂質は、以下の構造を有する：

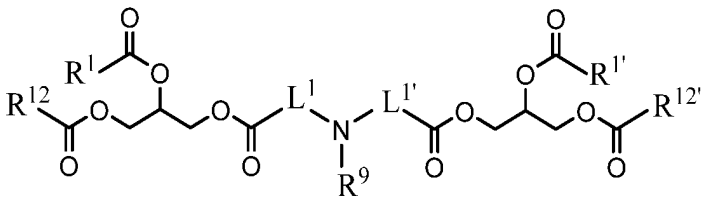
【化１６】



【００２２】

一態様では、本開示は、式（ＶＩ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、

【化１７】



(VI)

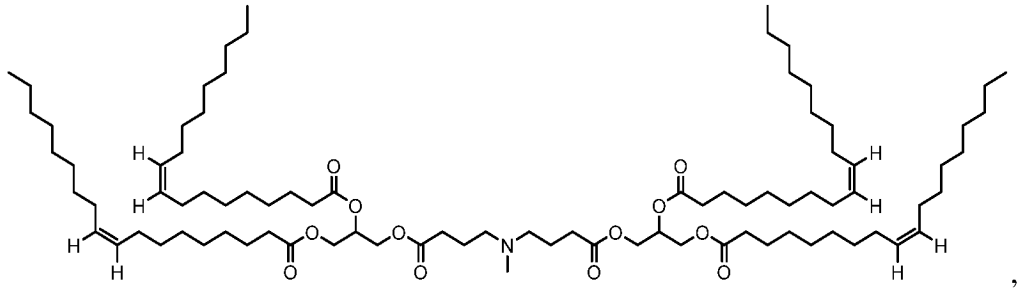
式中、

Ｌ^{1}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｌ^{1}'は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｒ^{1}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、Ｒ^{1}'は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、Ｒ^{9}は、Ｈ、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキル、又は－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨであり、Ｒ^{12}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、Ｒ^{12}'は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、ｎは、２、３、又は４である。

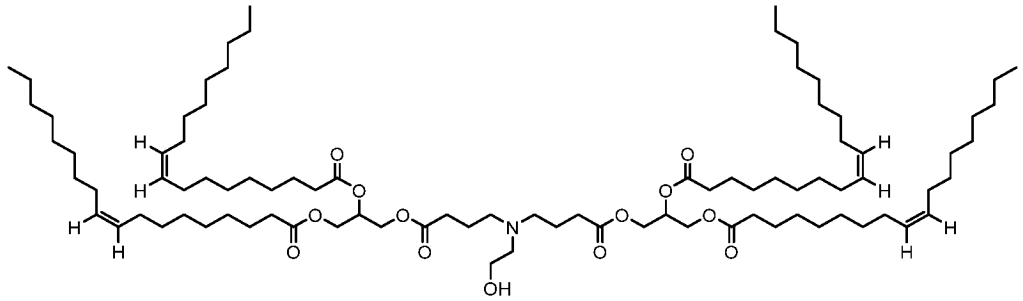
【００２３】

他の態様では、式（ＶＩ）のイオン化可能な脂質は、以下の構造のうちの１つを有する：

【化１８】



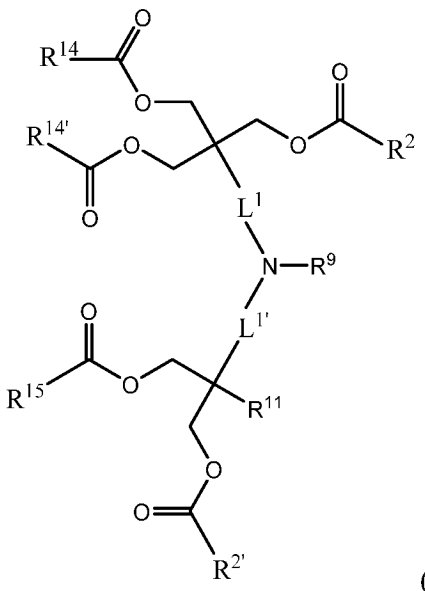
，又は



【００２４】

一態様では、本開示は、式（ＶＩＩ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、

【化１９】



(VII)

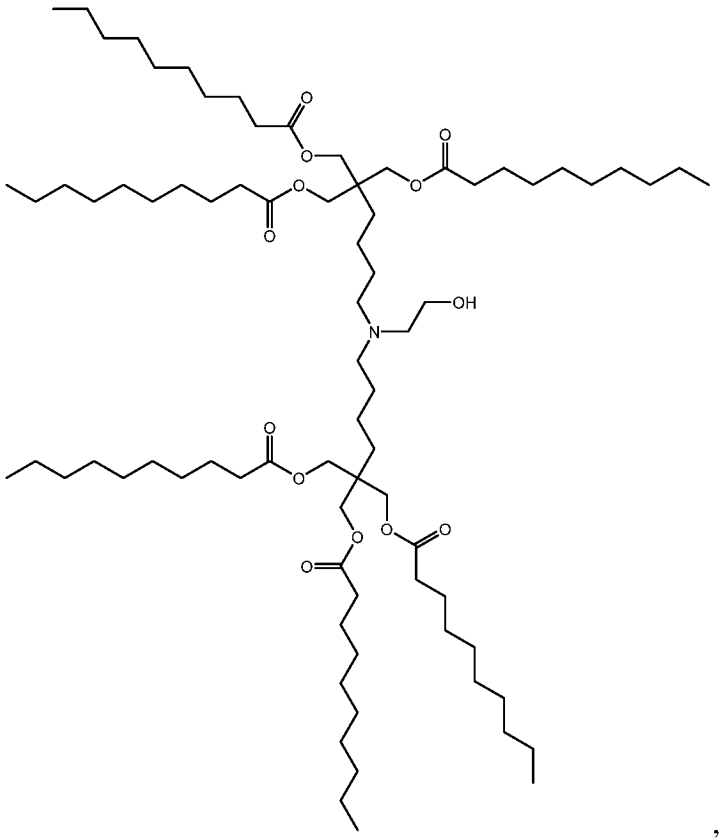
式中、

L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、$L^{1'}$は、C_1－C_6アルキレンであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、$R^{2'}$は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^9は、Ｈ、C_1－C_6アルキル、又は－（CH_2）$_n$ＯＨであり、R^{11}は、Ｈ又は－CH_2）ＯＣ（＝Ｏ）R^{16}であり、R^{14}は、C_6－C_{20}アルキルであり、$R^{14'}$は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^{15}は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^{16}は、C_6－C_{20}アルキルであり、ｎは、２、３、又は４である。

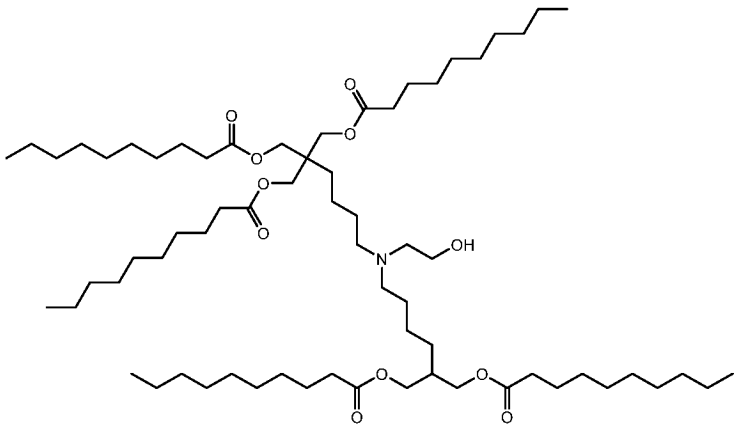
【００２５】

他の態様では、式（ＶＩＩ）のイオン化可能な脂質は、以下の構造のうちの１つを有する：

【化２０】



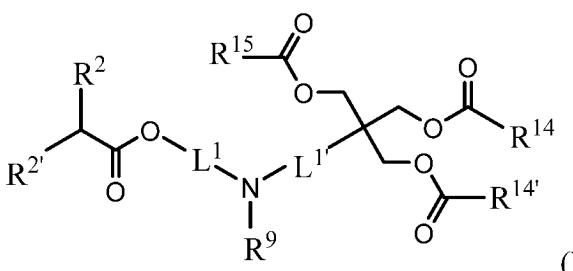
, 又は



【００２６】

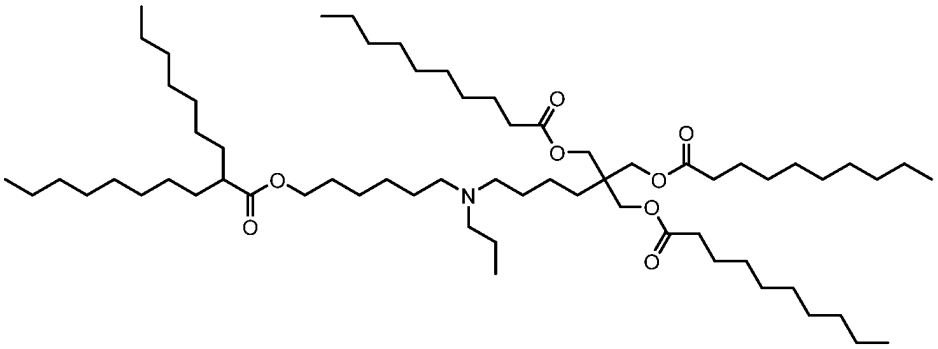
一態様では、本開示は、式（ＶＩＩＩ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、

【化２１】

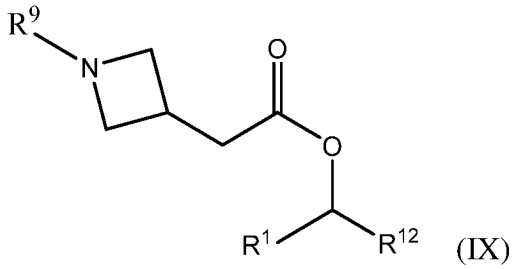


(VIII)

式中、
L^1は、C_1-C_6アルキレンであり、$L^{1'}$は、C_1-C_6アルキレンであり、R^2は、C_6-C_{20}アルキルであり、$R^{2'}$は、C_6-C_{20}アルキルであり、R^9は、H、C_1-C_6アルキル、又は－（CH_2）$_n$OHであり、R^{14}は、C_6-C_{20}アルキルであり、$R^{14'}$は、C_6-C_{20}アルキルであり、R^{15}は、C_6-C_{20}アルキルであり、nは、２、３、又は４である。
【００２７】
他の態様では、式（ＶＩＩＩ）のイオン化可能な脂質は、以下の構造を有する：
【化２２】

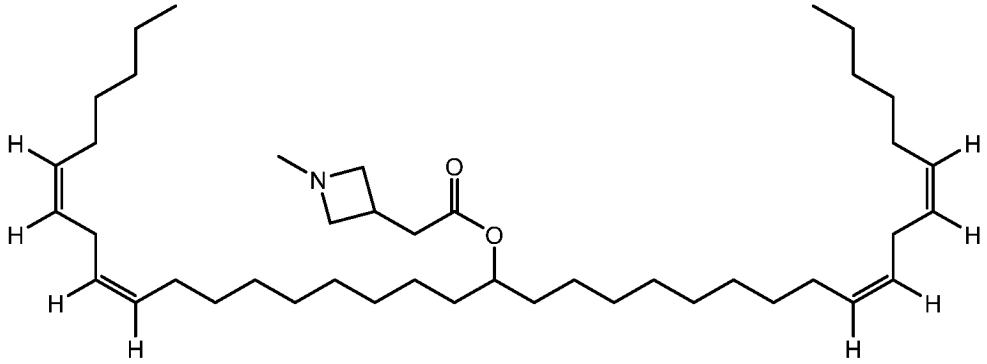


一態様では、本開示は、式（ＩＸ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、
【化２３】

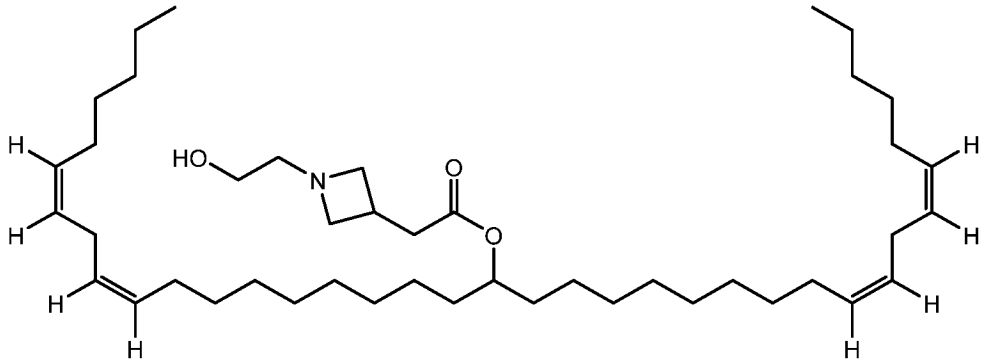


式中、
R^1は、C_6-C_{20}アルケニルであり、R^9は、H、C_1-C_6アルキル、又は－（CH_2）$_n$OHであり、R^{12}は、C_6-C_{20}アルケニルであり、nは、２、３、又は４である。
【００２８】
他の態様では、式（ＩＸ）のイオン化可能な脂質は、以下の構造のうちの１つを有する：

【化２４】



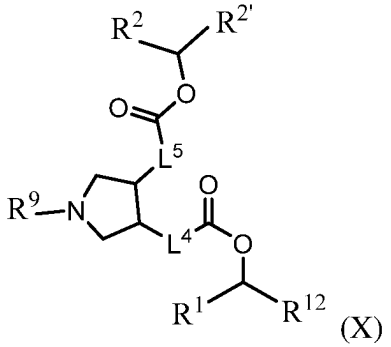
, 又は



【００２９】

一態様では、本開示は、式（Ｘ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、

【化２５】



(X)

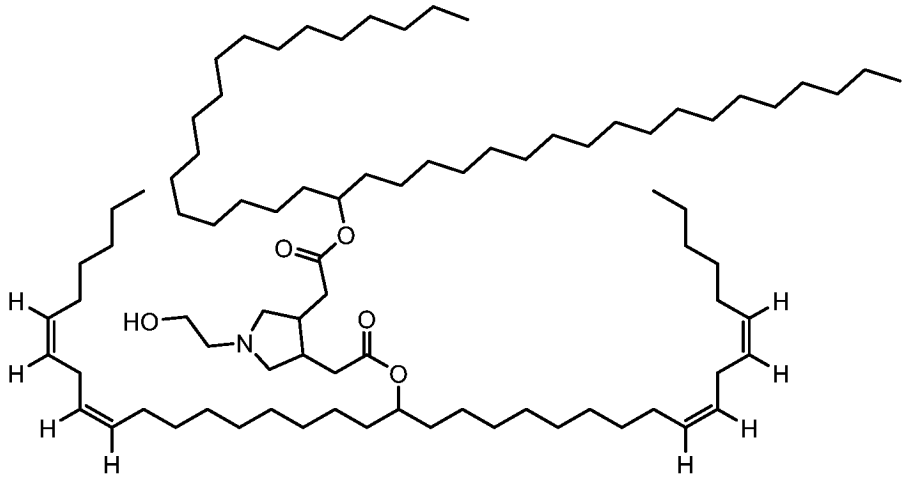
式中、

L^4は、不在か、又はC_1-C_6アルキレンであり、L^5は、不在か、又はC_1-C_6アルキレンであり、R^1は、C_6-C_{20}アルケニルであり、R^2は、C_6-C_{20}アルキルであり、$R^{2'}$は、C_6-C_{20}アルキルであり、R^9は、Ｈ、C_1-C_6アルキル、又は－（CH_2）$_n$ＯＨであり、R^{12}は、C_6-C_{20}アルケニルであり、ｎは、２、３、又は４である。

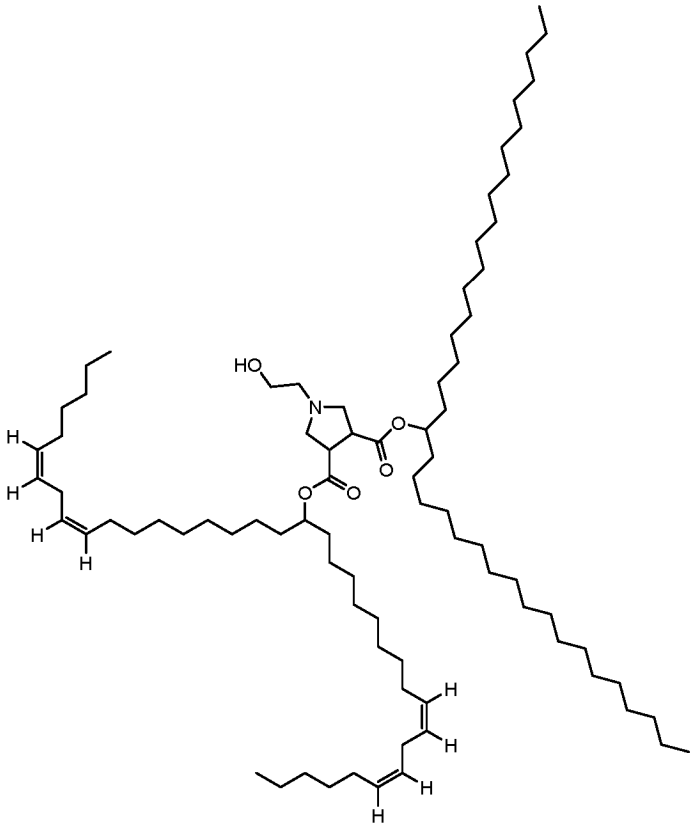
【００３０】

他の態様では、式（Ｘ）のイオン化可能な脂質は、以下の構造のうちの１つを有する：

【化２６】



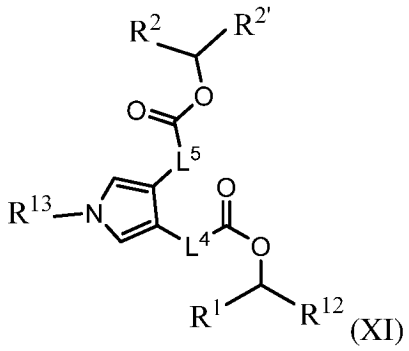
, 又は



【００３１】

一態様では、本開示は、式（ＸＩ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、

【化２７】



(XI)

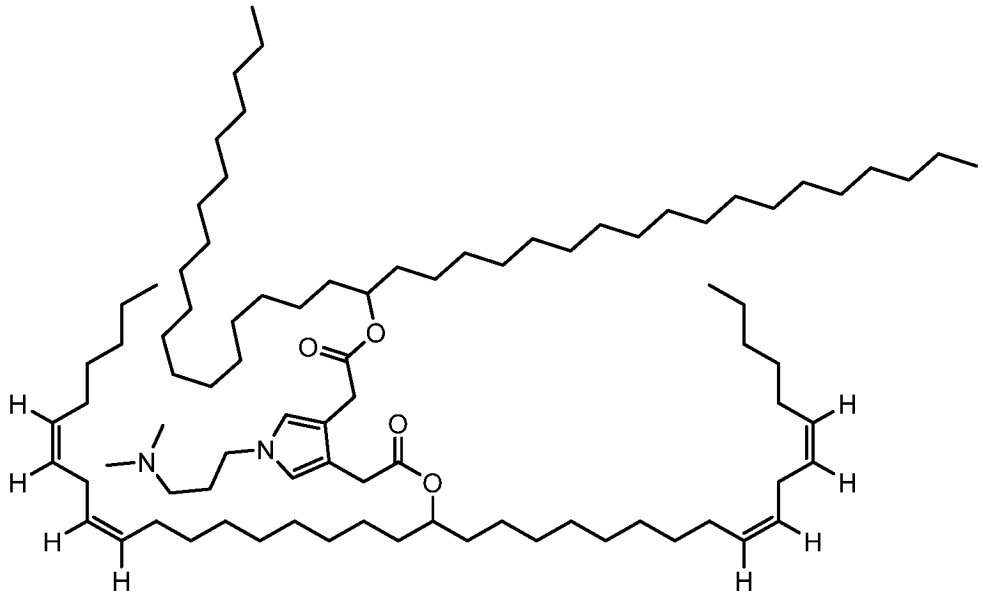
式中、

Ｌ^{4}は、不在か、又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｌ^{5}は、不在か、又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｒ^{1}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、Ｒ^{2}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ$^{2'}$は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{12}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、Ｒ^{13}は、Ｈ、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキル、－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨ、又は－（ＣＨ$_{2}$）$_{q}$Ｎ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$であり、ｎは、２、３、又は４であり、ｑは、２、３、又は４である。

【００３２】

他の態様では、式（ＸＩ）のイオン化可能な脂質は、以下の構造を有する：

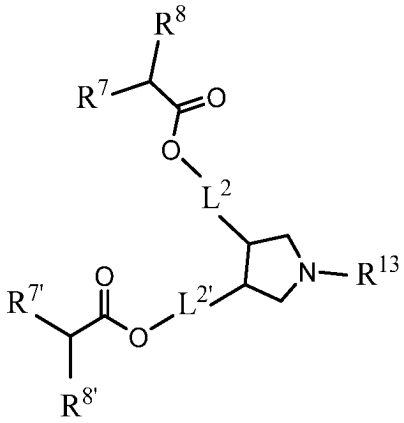
【化２８】



【００３３】

一態様では、本開示は、式（ＸＩＩ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、

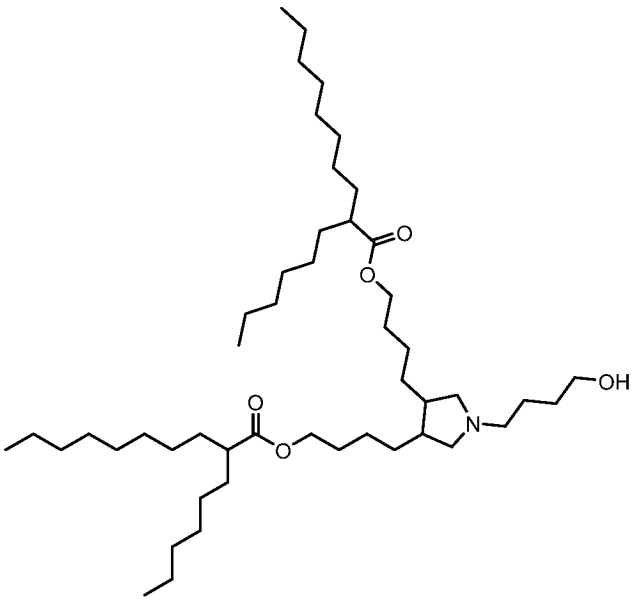
【化２９】



(XII)

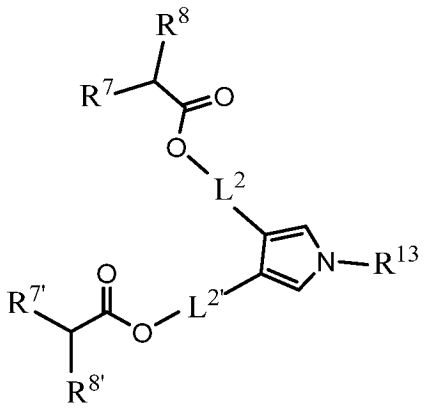
式中、
Ｌ^{2}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｌ^{2}'は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｒ^{7}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{7}'は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{8}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{8}'は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{13}は、Ｈ、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキル、－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨ、又は－（ＣＨ$_{2}$）$_{q}$Ｎ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$であり、ｎは、２、３、又は４であり、ｑは、２、３、又は４である。

【００３４】
他の態様では、式（ＸＩＩ）のイオン化可能な脂質は、以下の構造を有する：
【化３０】



【００３５】
一態様では、本開示は、式（ＸＩＩＩ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体に関するものであり、

【化３１】



(XIII)

式中、
Ｌ^{2}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｌ^{2}’は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｒ^{7}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{7}’は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{8}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{8}’は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{13}は、Ｈ、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキル、－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨ、又は－（ＣＨ$_{2}$）$_{q}$Ｎ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$であり、ｎは、２、３、又は４であり、ｑは、２、３、又は４である。

【００３６】
いくつかの実施形態では、式（ＸＩＩＩ）において、Ｌ^{2}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｌ^{2}’は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｒ^{7}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{7}’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、Ｈである。

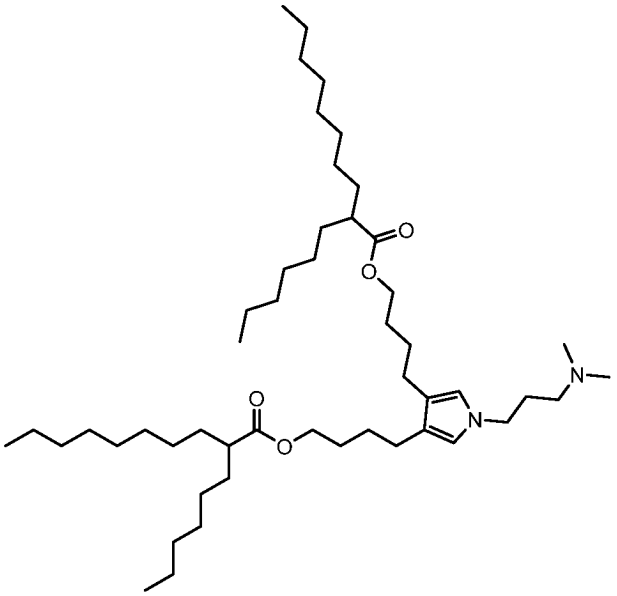
【００３７】
いくつかの実施形態では、式（ＸＩＩＩ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、メチルである。

【００３８】
いくつかの実施形態では、式（ＸＩＩＩ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、２である。

【００３９】
いくつかの実施形態では、式（ＸＩＩＩ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、－（ＣＨ２）ｑＮ（ＣＨ３）２であり、ｑは、３である。

【００４０】
式（ＸＩＩＩ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これに限定されない：

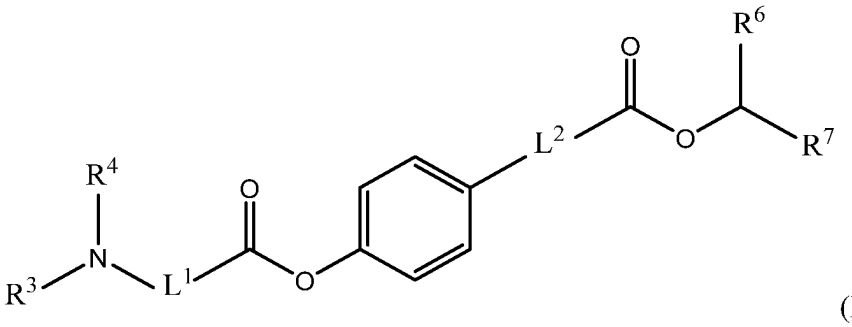
【化３２】



【００４１】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＸＩＶ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体のものであり、

【化３３】



(XIV)

式中、

Ｌ１は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ３及びＲ４は、各々独立して、Ｈ又はＣ１－Ｃ３アルキルであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルである。

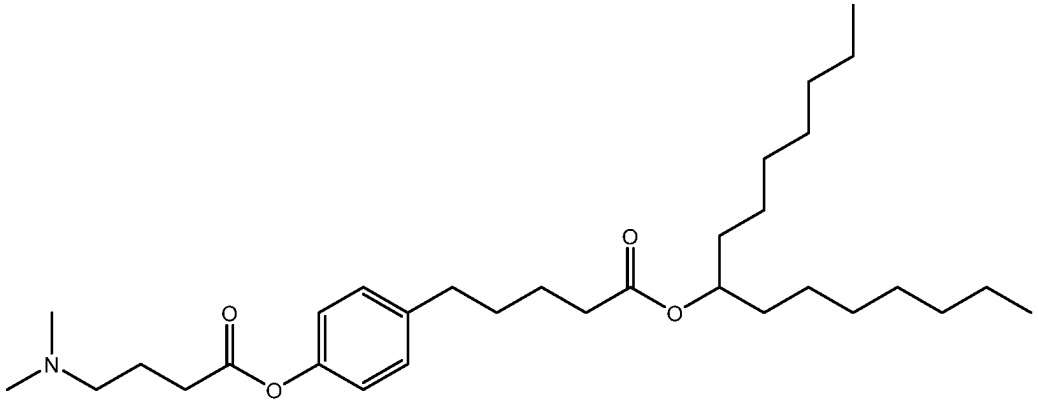
【００４２】

いくつかの実施形態では、式（ＸＩＶ）において、L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、R^3は、メチルであり、R^4は、メチルであり、R^6は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^7は、C_4－C_{20}アルキルである。

【００４３】

式（ＸＩＶ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これに限定されない：

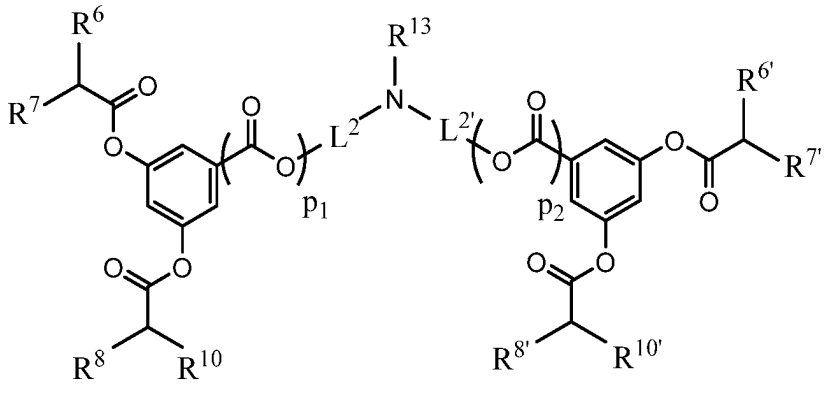
【化３４】



【００４４】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＸＶ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体のものであり、

【化３５】



(XV)

式中、

Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、Ｈ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、－（ＣＨ２）ｎＯＨ、又は－（ＣＨ２）ｑＮ（ＣＨ３）２であり、ｎは、２、３又は４であり、ｐ１は、不在か、又は１であり、ｐ２は、不在か、又は１であり、ｑは、２、３、又は４である。

【００４５】

いくつかの実施形態では、式（ＸＶ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、Ｈであり、ｐ１は、不在であり、ｐ２は、不在である。

【００４６】

いくつかの実施形態では、式（ＸＶ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ

２０アルキルであり、Ｒ１０は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、Ｈであり、ｐ１は、１であり、ｐ２は、１である。

【００４７】

いくつかの実施形態では、式（ＸＶ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、メチルであり、ｐ１は、不在であり、ｐ２は、不在である。

【００４８】

いくつかの実施形態では、式（ＸＶ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、メチルであり、ｐ１は、１であり、ｐ２は、１である。

【００４９】

いくつかの実施形態では、式（ＸＶ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、４であり、ｐ１は、不在であり、ｐ２は、不在である。

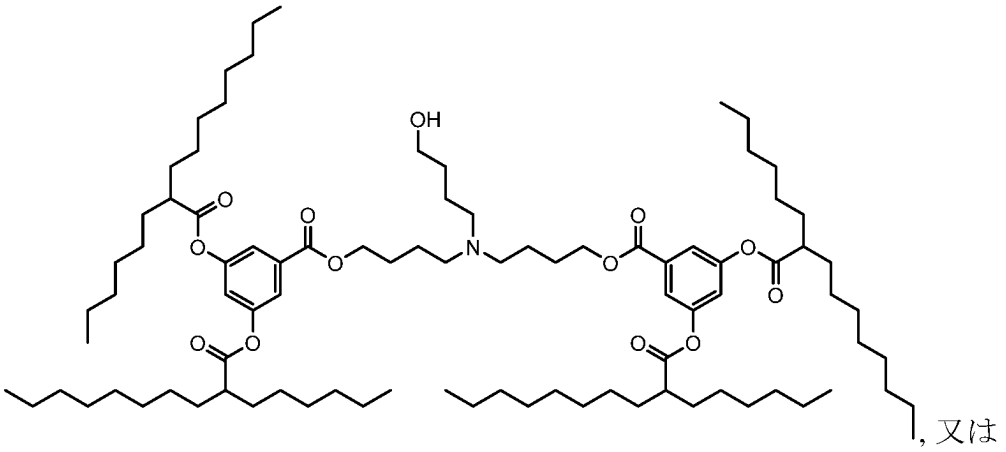
【００５０】

いくつかの実施形態では、式（ＸＶ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、４であり、ｐ１は、１であり、ｐ２は、１である。

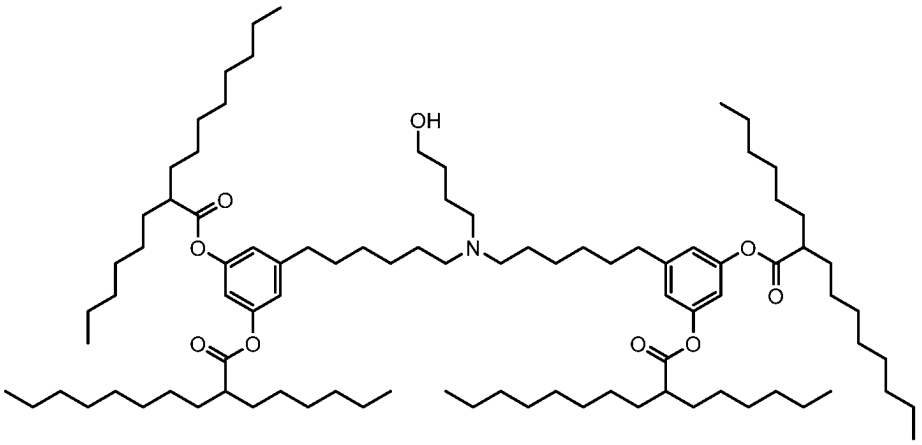
【００５１】

式（ＸＶ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これらに限定されない：

【化３６】



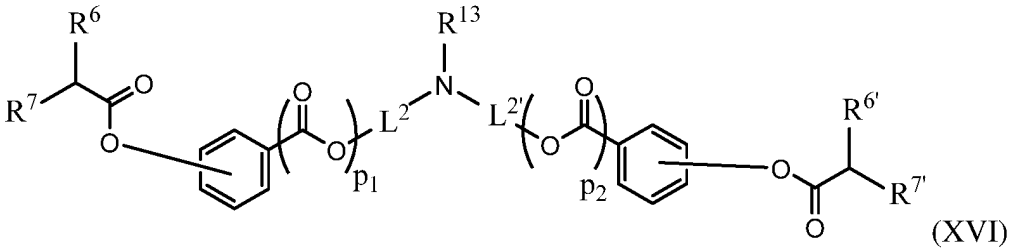
, 又は



【００５２】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＸＶＩ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体のものであり、

【化３７】



(XVI)

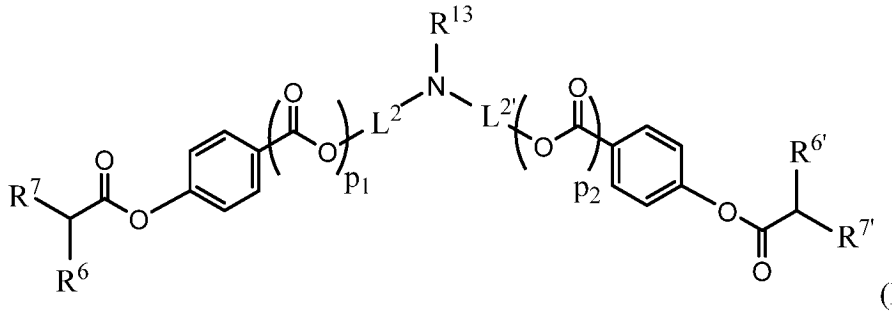
式中、

Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、Ｈ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、－（ＣＨ２）ｎＯＨ、又は－（ＣＨ２）ｑＮ（ＣＨ３）２であり、ｎは、２、３、又は４であり、ｐ１は、不在か、又は１であり、ｐ２は、不在か、又は１であり、ｑは、２、３、又は４である。

【００５３】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＸＶＩ－Ａ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化３８】



(XVI-A)

式中、
L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、$L^{2'}$は、C_1－C_8アルキレンであり、R^6は、C_4－C_{20}アルキルであり、$R^{6'}$は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^7は、C_4－C_{20}アルキルであり、$R^{7'}$は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^{13}は、H、C_1－C_6アルキル、－（CH_2）$_n$OH、又は－（CH_2）$_q$N（CH_3）$_2$であり、nは、２、３、又は４であり、p_1は、不在か、又は１であり、p_2は、不在か、又は１であり、qは、２、３、又は４である。

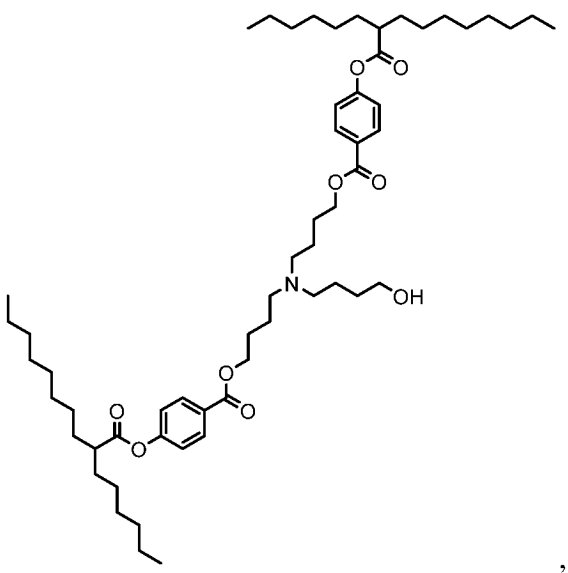
【００５４】
いくつかの実施形態では、式（ＸＶＩ）及び式（ＸＶＩ－Ａ）において、L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、$L^{2'}$は、C_1－C_8アルキレンであり、R^6は、C_4－C_{20}アルキルであり、$R^{6'}$は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^7は、C_4－C_{20}アルキルであり、$R^{7'}$は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^{13}は、Hであり、p_1は、不在か、又は１であり、p_2は、不在か、又は１である。

【００５５】
いくつかの実施形態では、式（ＸＶＩ）及び式（ＸＶＩ－Ａ）において、L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、$L^{2'}$は、C_1－C_8アルキレンであり、R^6は、C_4－C_{20}アルキルであり、$R^{6'}$は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^7は、C_4－C_{20}アルキルであり、$R^{7'}$は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^{13}は、メチルであり、p_1は、不在か、又は１であり、p_2は、不在か、又は１である。他の実施形態では、式（ＸＶＩ）及び式（ＸＶＩ－Ａ）において、L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、$L^{2'}$は、C_1－C_8アルキレンであり、R^6は、C_4－C_{20}アルキルであり、$R^{6'}$は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^7は、C_4－C_{20}アルキルであり、$R^{7'}$は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^{13}は、－（CH_2）$_n$OHであり、nは、４であり、p_1は、不在であり、p_2は、不在である。

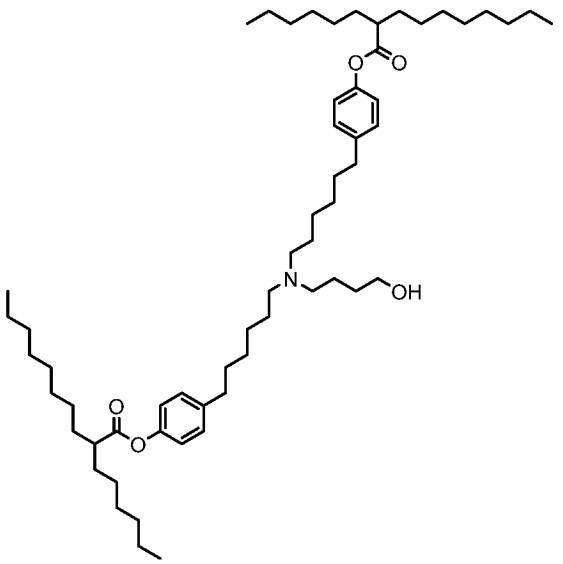
【００５６】
いくつかの実施形態では、式（ＸＶＩ）及び式（ＸＶＩ－Ａ）において、L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、$L^{2'}$は、C_1－C_8アルキレンであり、R^6は、C_4－C_{20}アルキルであり、$R^{6'}$は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^7は、C_4－C_{20}アルキルであり、$R^{7'}$は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^{13}は、－（CH_2）$_n$OHであり、nは、４であり、p_1は、１であり、p_2は、１である。

【００５７】
式（ＸＶＩ）及び式（ＸＶＩ－Ａ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これらに限定されない：

【化３９】



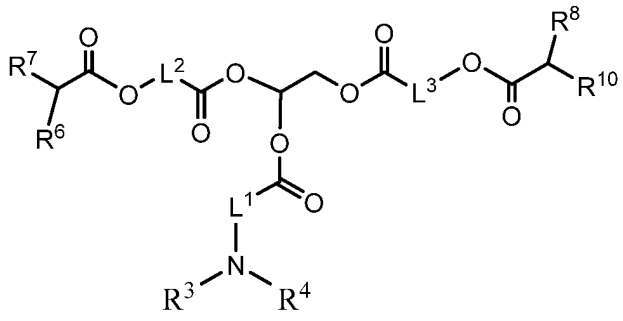
, 又は



【００５８】

一実施形態では、式（Ｉ－Ｃ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であって：

【化４０】



(I-C)

式中、

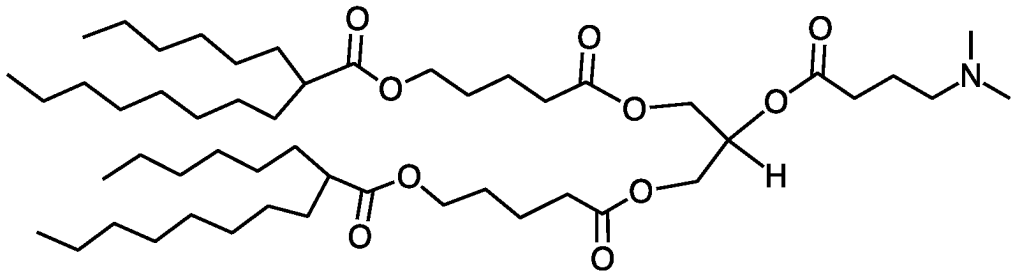
L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、L^3は、C_1－C_8アルキレンであり、R^3及びR^4は、各々独立して、Ｈ、C_1－C_4アルキ

ル、又は－（ＣＨ$_2$）$_n$ＯＨであり、Ｒ^{6}は、Ｃ$_4$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{7}は、Ｃ$_4$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{8}は、Ｃ$_4$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{10}は、Ｃ$_4$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、ｎは、２、３、又は４である。

【００５９】

いくつかの実施形態では、イオン化可能な脂質は、以下の構造を有する：

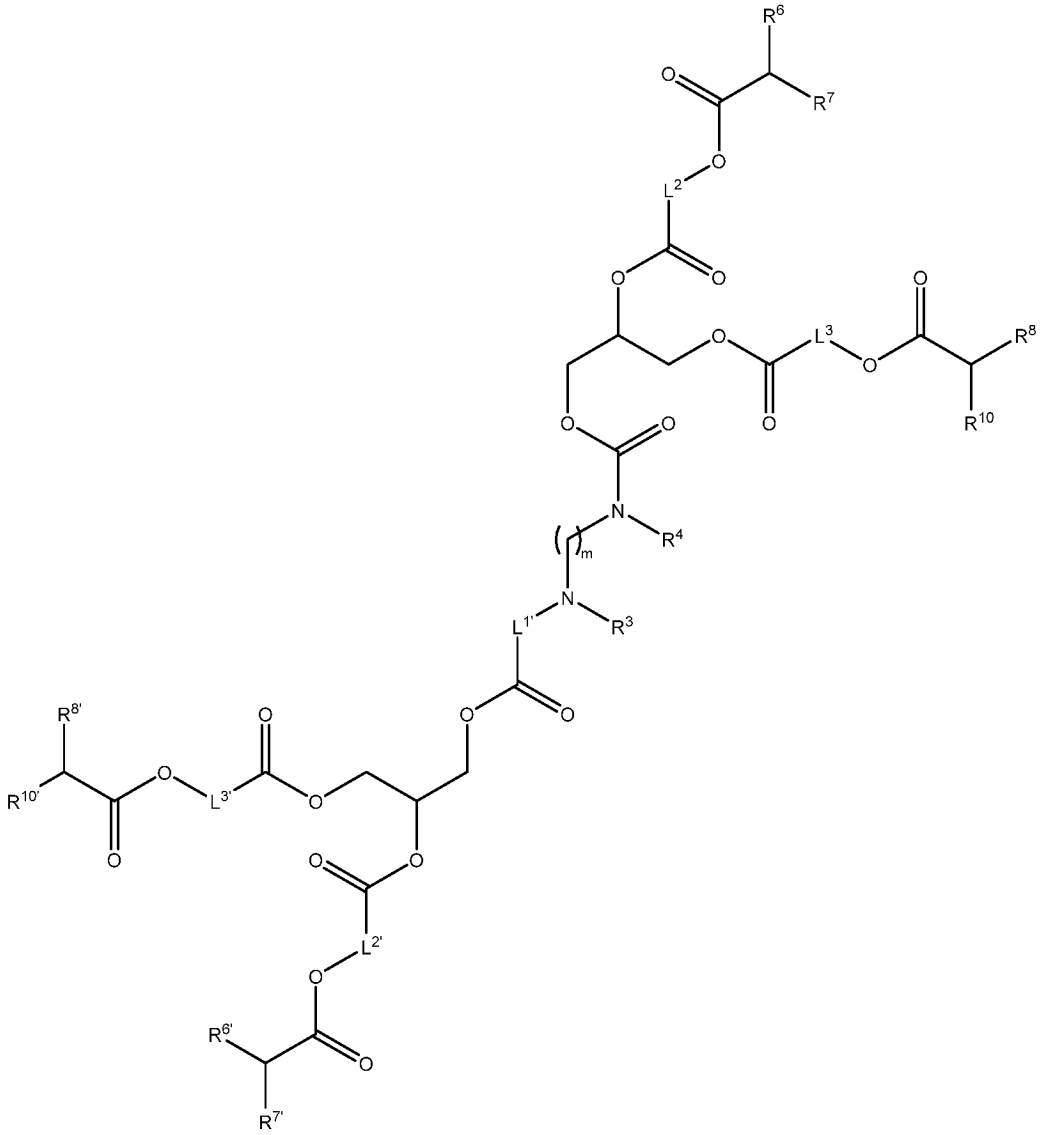
【化４１】



【００６０】

一実施形態では、式（ＸＸＩＩ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であって：

【化４２】

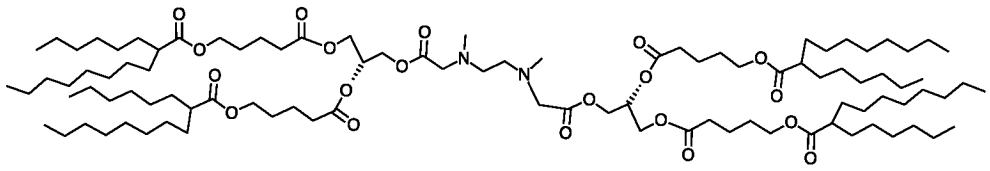


(XXII)

式中、
Ｌ^{1}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｌ^{1}'は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｌ^{2}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｌ^{2}'は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｌ^{3}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｌ^{3}'は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｒ^{3}及びＲ^{4}は、各々独立して、Ｈ、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{4}$アルキル、－ＣＨ$_{2}$－シクロプロピル、又は－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨであり、Ｒ^{6}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{6}'は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{7}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{7}'は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{8}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{8}'は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{10}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{10}'は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、ｎは、２、３、又は４であり、ｍは、１、２、３、４、又は５である。

【００６１】
いくつかの実施形態では、イオン化可能な脂質は、以下の構造を有する：

【化４３】



【００６２】

一態様では、本開示は、式（Ｉ）～式（ＸＸＩＩ）のうちのいずれか１つのイオン化可能な脂質を含む脂質－ナノ粒子組成物に関する。本明細書における開示全体を通して、「脂質－ナノ粒子組成物」は、脂質ナノ粒子を含む組成物又は脂質ナノ粒子自体を指すことができる。脂質－ナノ粒子組成物は、ヘルパー脂質、安定化脂質、構造的脂質、及び活性剤を更に含むことができ、活性剤は、核酸、小分子、タンパク質若しくはペプチド、又はそれらの組み合わせである。実施形態では、脂質－ナノ粒子組成物は、安定化脂質を除外する。実施形態では、脂質－ナノ粒子組成物は、ポリエチレングリコールにコンジュゲートされた脂質（ＰＥＧ－脂質）を除外する。

【００６３】

いくつかの態様では、脂質ナノ粒子組成物中のヘルパー脂質は、１，２－ジリノレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＬＰＣ）、１，２－ジミリストイル－ｓｎ－グリセロ－ホスホコリン（ＤＭＰＣ）、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＯＰＣ）、１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＰＰＣ）、１，２－ジステアロイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＳＰＣ）、１，２－ジウンデカノイル－ｓｎ－グリセロ－ホスホコリン（ＤＵＰＣ）、１－パルミトイル－２－オレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＰＯＰＣ）、１，２－ジ－Ｏ－オクタデセニル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（１８：０ジエーテルＰＣ）、ｌ－オレオイル－２－コレステリルヘミスクシノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＯＣｈｅｍｓＰＣ）、１－ヘキサデシル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（Ｃ１６　Ｌｙｓｏ　ＰＣ）、１，２－ジリノレノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン、１，２－ジアラキドノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン、１，２－ジドコサヘキサエノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン（ＤＯＰＥ）、１，２－ジフィタノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン（ＭＥ　１６．０　ＰＥ）、１，２－ジステアロイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジリノレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジリノレノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジアラキドノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジドコサヘキサエノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホ－ｒａｃ－（１－グリセロール）ナトリウム塩（ＤＯＰＧ）、及びそれらの混合物からなる群から選択される。

【００６４】

いくつかの態様では、脂質－ナノ粒子組成物における安定化脂質は、１－（モノメトキシ－ポリエチレングリコール）－２，３－ジミリストイルグリセロール（ＰＥＧ－ＤＭＧ）であり、約２０００ダルトンの平均ＰＥＧ分子量を有する。いくつかの態様では、安定化脂質は、ポリサルコシン－脂質コンジュゲートである。いくつかの実施形態では、ポリサルコシン－脂質コンジュゲートは、脂質－ナノ粒子組成物中でＲＮＡと会合しない。いくつかの実施形態では、ポリサルコシン－脂質コンジュゲートは、脂質－ナノ粒子組成物中でＲＮＡ粒子を形成しない。いくつかの実施形態では、ポリサルコシン－脂質コンジュゲートは、脂質－ナノ粒子組成物中でＲＮＡと会合せずにＲＮＡ粒子を形成する。

【００６５】

いくつかの態様では、脂質－ナノ粒子組成物中の構造的脂質は、コレステロール、コレステロール誘導体、フェコステロール、シトステロール、エルゴステロール、カンペステ

ロール、スチグマステロール、ブラシカステロール、トマチジン、ウルソール酸、アルファトコフェロール、及びそれらの混合物からなる群から選択される。

【００６６】

いくつかの態様では、核酸は、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、非対称干渉ＲＮＡ（ａｉＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ダイサー基質ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）、小ヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、ガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）、プラスミドＤＮＡ（ｐＤＮＡ）、アンチセンスオリゴデオキシヌクレオチド（ＯＤＮ）、ＲＮＡ又はＤＮＡワクチン、及びそれらの混合物からなる群から選択される。

【００６７】

いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡは、自己増幅ＲＮＡである。いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡは、ポリシストロンＲＮＡである。いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡは、自己増幅ポリシストロンＲＮＡである。いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡは、環状ＲＮＡである。いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡは、タンパク質又はペプチドを発現する。いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡから発現するタンパク質又はペプチドは、抗体、ヒト抗体、ラクダ科抗体、ナノボディ、ヒト化抗体、二重特異性抗体、酵素、ゲノム編集酵素若しくはヌクレアーゼ、成長因子、サイトカイン、ケモカイン、低分子模倣ペプチド、転写因子、構造分子、シグナル伝達分子、リプログラミング因子、ワクチン抗原、又はそれらの組み合わせである。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは、細胞内で作用するタンパク質又はペプチドをコードする。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードする。

【００６８】

いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡから発現するタンパク質又はペプチドは、少なくとも１つの細胞外マトリックスタンパク質である。いくつかの実施形態では、細胞外マトリックスタンパク質は、コラーゲン、ラミニン、エラスチン、フィブロネクチン、インテグリン、テナシン、プロテオグリカン、フィブリン、又はそれらの組み合わせである。いくつかの実施形態では、コラーゲンは、コラーゲンＩ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩ、ＸＩＩ、ＸＩＩＩ、ＸＩＶ、ＸＶ、ＸＶＩ、ＸＶＩＩ、ＸＶＩＩＩ、ＸＩＸ、ＸＸ、ＸＸＩ、ＸＸＩＩ、ＸＸＩＩＩ、ＸＸＩＶ、ＸＸＶ、ＸＸＶＩ、ＸＸＶＩＩ、ＸＸＶＩＩＩ、又はそれらの組み合わせである。いくつかの実施形態では、コラーゲンはコラーゲンＶＩＩである。いくつかの実施形態では、コラーゲンＶＩＩは、皮膚又は細胞外マトリックスを若返らせるか、治療するか、リモデリングするか、又は改善する方法に使用される。いくつかの実施形態では、コラーゲンＶＩＩは、創傷治癒の方法に使用される。

【００６９】

いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡから発現するタンパク質又はペプチドは、成長因子、サイトカイン、又はそれらの組み合わせである。いくつかの実施形態では、成長因子は、ＥＧＦ、ＦＧＦ、ＮＧＦ、ＣＮＴＦ、ＰＤＧＦ、ＶＥＧＦ、ＩＧＦ、ＧＭＣＳＦ、ＧＣＳＦ、ＴＧＦ、エリスロポエチン、エフリン、ＧＤＮＦ、ＧＤＦ９、ＫＧＦ、アンジオポエチン、ＴＰＯ、ＢＭＰ、ＨＧＦ、ＢＤＮＦ、ＧＤＦ、ＨＧＨ（ソマトトロピン）、ニューロトロフィン、ＭＳＦ、ＳＧＦ、ＧＤＦ（ＧＤＦ１１を含む）、ＴＧＦ（ＴＧＦ－ｂを含む）、又はそれらの組み合わせである。いくつかの実施形態では、サイトカインは、ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１１、ＴＮＦ－α、ＩＬ－１２、ＩＬ－１３、ＩＬ－１４、ＩＬ－１５、ＩＬ－１６、ＩＬ－１７、ＣＸＣＬ８（以前はＩＬ－１８）、ＩＬ－１９、ＩＬ－２０、ＩＬ－２１、ＩＬ－２２、ＩＬ－２３、ＩＬ－２４、ＩＬ－２５、ＩＬ－２６、ＩＬ－２７、ＩＬ－２８、ＩＬ－２９、ＩＬ－３０、ＩＬ－３１、ＩＬ－３２、ＩＬ－３３、又はそれらの組み合わせである。

【００７０】

いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡから発現するタンパク質又はペプチドは、ヒト抗体、ヒト化抗体、ラクダ科抗体、愛玩動物抗体、又はナノボディである。いくつかの実

施形態では、核酸又はｍＲＮＡから発現するタンパク質又はペプチドは、ヌクレアーゼなどの酵素、例えば、ゲノム編集に使用されるヌクレアーゼである。いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡから発現するタンパク質又はペプチドは、細胞内で作用する。いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡから発現するタンパク質又はペプチドは、分泌される。いくつかの実施形態では、抗体は、トラスツズマブ、グロフィタマブ、ミリキズマブ、ミルベツキシマブ、ニルセビマブ、トレメリムマブ、テクリスタマブ、ドナネマブ、スペソリマブ、レカネマブ、チスレリズマブ、ペンプリマブ、シンチリマブ、テプリズマブ、トリパリマブ、オムブルタマブ、レチファンリマブ、ウブリツキシマブ、イノリモマブ、オポルツズマブ、ナルソプリマブ、モスネツズマブ、チキサゲビマブ、シルガビマブ、レラトリマブ、テベンタフスプ、ファリシマブ、スチムリマブ、ソトロビマブ、レグダンビマブ、カシリビマブ、イムデビマブ、テゼペルマブ、チソツマブ、アミバンタマブ、アニフロルマブ、ロンカツキシマブ、ビメキズマブ、トラロキヌマブ、エビナクマブ、サシツズマブ、テプロツムマブ、イサツキシマブ、エプチネズマブ、ドスタルリマブ、アンスビマブ、マルゲツキシマブ、ナキシタマブ、アトルチビマブ、マフティビマル、オデシビマブ、ベランタマブ、タファシタマブ、サトラリズマブ、イネビリズマブ、エンフォルツマブ、クリザンリズマブ、ブロルシズマブ、ポラツズマブ、リサンキズマブ、ロモソズマブ、カプラシズマブ、ラブリズマブ、エマパルマブ、セミプリマブ、フレマネズマブ、モキセツモマブ、ガルカネズマブ、ラナデルマブ、モガムリズマブ、エレヌマブ、チルドラキズマブ、イバリズマブ、ブロスマブ、デュルバルマブ、エミシズマブ、ベンラリズマブ、オクレリズマブ、グセルクマブ、イノツズマブ、サリルマブ、デュピルマブ、アベルマブ、ブロダルマブ、アテゾリズマブ、ベズロトキスマブ、オララツマブ、レスリズマブ、オビルトキサキシマブ、イキセキズマブ、ダラツムマブ、エロツズマブ、ネシツムマブ、イダルシズマブ、アリロクマブ、メポリズマブ、エボロクマブ、ジヌツキシマブ、セクキヌマブ、ニボルマブ、ブリナツモマブ、ペンブロリズマブ、ラムシルマブ、ベドリズマブ、シルツキシマブ、オビヌツズマブ、ラキシバクマブ、ペルツズマブ、ブレンツキシマブ、ベリムマブ、イピリムマブ、デノスマブ、トシリズマブ、オファツムマブ、カナキヌマブ、ゴリムマブ、ウステキヌマブ、セルトリズマブ、カツマキソマブ、エクリズマブ、ラニビズマブ、パニツムマブ、ナタリズマブ、ベバシズマブ、セツキシマブ、エファリズマブ、オマリズマブ、トシツモマブ、イブリツモマブ、アダリムマブ、アレムツズマブ、ゲムツズマブ、インフリキシマブ、パリビズマブ、バシリキシマブ、ダクリズマブ、リツキシマブ、アブシキシマブ、エドレコロマブ、ネバクマブ、又はムロモナブのうちの少なくとも１つであるか又はそれらに実質的に類似している。いくつかの実施形態では、タンパク質又はペプチドは、ヒト疾患又は獣医学的疾患を治療する方法に使用される。

【００７１】

いくつかの態様では、小分子は、化学療法剤、ＧＰＣＲアゴニスト又はアンタゴニスト、転写調節剤、又はＲＮＡスプライシング調節剤である。いくつかの態様では、小分子は、細胞内で作用する。

【００７２】

いくつかの態様では、タンパク質又はペプチドは、抗体、ヒト化抗体、二重特異性抗体、酵素、ゲノム編集酵素若しくはヌクレアーゼ、成長因子、サイトカイン、ケモカイン、低分子模倣ペプチド、転写因子、構造分子、シグナル伝達分子、リプログラミング因子、ワクチン抗原、又はそれらの組み合わせである。いくつかの態様では、タンパク質又はペプチドは、細胞内で作用する。

【００７３】

いくつかの態様では、脂質ナノ粒子に組み込まれ、かつ／又は脂質ナノ粒子組成物によって送達される、小分子、タンパク質、又はペプチドは、前駆細胞の静止を維持するために使用される「人工ニッチ」の成分である。いくつかの実施形態では、人工ニッチ成分は、エルカトニン、ＭＧＣＤ－２６５、ＪＮＪ－７７０６６２１、フォルスコリン、フォマトスタチン、ＳＢ２０３５８０、ＳＵ５４０２、ＴＧＦ－β、インスリン－トランスフェリン－セレン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される。これら及び他の人工

ニッチ成分は、米国特許第１０，６８８，１３６号に開示され、参照により本明細書に組み込まれる。

【００７４】

いくつかの態様では、本開示は、脂質－ナノ粒子組成物及びその薬学的に許容され得る担体を含む、薬学的組成物に関する。

【００７５】

態様では、本明細書に提供される方法及び組成物は、神経系、筋肉系、呼吸器系、心臓血管系、骨格系、生殖器系、外皮系、リンパ系、排泄系、免疫系、内分泌系（例えば、内分泌及び外分泌）、又は消化器系の細胞、組織、又は器官に適用される。本明細書に記載のように、任意のタイプの細胞を潜在的に若返らせることができ、これら細胞には、上皮細胞（例えば、扁平上皮細胞、立方体状上皮細胞、柱状上皮細胞、及び偽分化上皮細胞）、内皮細胞（例えば、静脈内皮細胞、動脈内皮細胞、及びリンパ管内皮細胞）、並びに結合組織、筋肉、及び神経系の細胞が含まれるが、これらに限定されない。当該細胞には、表皮細胞、線維芽細胞、軟骨細胞、骨格筋細胞、衛星細胞、心筋細胞、平滑筋細胞、ケラチノサイト、基底細胞、エナメル芽細胞、外分泌細胞、筋上皮細胞、骨芽細胞、破骨細胞、ニューロン（例えば、感覚ニューロン、運動ニューロン、及び介在ニューロン）、グリア細胞（例えば、乏突起膠細胞、アストロサイト、上皮細胞、ミクログリア、シュワン細胞、及び衛星細胞）、柱状細胞、脂肪細胞、ペリサイト、星状細胞、肺細胞、血液及び免疫系細胞（例えば、赤血球、単球、樹状細胞、マクロファージ、好中球、好酸球、肥満細胞、Ｔ細胞、Ｂ細胞、ナチュラルキラー細胞）、ホルモン分泌細胞、生殖細胞、間質細胞、水晶体細胞、光受容体細胞、味覚受容体細胞、及び嗅細胞；並びに腎臓、肝臓、膵臓、胃、脾臓、胆嚢、腸、膀胱、肺、前立腺、乳房、泌尿生殖管、下垂体細胞、口腔、食道、皮膚、毛髪、爪、甲状腺、副甲状腺、副腎、眼、鼻、又は脳からの細胞及び／又は組織が含まれ得るが、これらに限定されない。

【００７６】

いくつかの態様では、細胞は、線維芽細胞、内皮細胞、軟骨細胞、骨格筋幹細胞、ケラチノサイト、間葉系幹細胞、及び角膜上皮細胞から選択される。実施形態では、細胞は、線維芽細胞である。実施形態では、細胞は、内皮細胞である。実施形態では、細胞は、軟骨細胞である。実施形態では、細胞は、骨格筋幹細胞である。実施形態では、細胞は、ケラチノサイトである。実施形態では、細胞は、間葉系幹細胞である。実施形態では、細胞は、角膜上皮細胞である。

【００７７】

いくつかの態様では、本技術の方法及び組成物は、限定されないがリンパ球、顆粒球、単球、マクロファージ、ミクログリア、又は樹状細胞を含む免疫細胞に適用される。いくつかの実施形態では、リンパ球は、Ｔ細胞、Ｂ細胞、又はナチュラルキラー（ＮＫ）細胞である。いくつかの実施形態では、リンパ球は、腫瘍浸潤リンパ球である。

【００７８】

いくつかの実施形態では、リンパ球は、Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞は、細胞傷害性Ｔ細胞（ＣＤ８＋）、ヘルパーＴ細胞（ＣＤ４＋）、サプレッサー若しくは調節Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）、メモリーＴ細胞、ナチュラルキラーＴ細胞（ＮＫＴ細胞）、又はガンマデルタＴ細胞である。他の実施形態では、ヘルパーＴ細胞は、Ｔｈ１、Ｔｈ２、Ｔｈ１７、Ｔｈ９、又はＴｆｈ　Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、メモリーＴ細胞は、セントラルメモリーＴ細胞、エフェクターメモリーＴ細胞、組織常在メモリーＴ細胞、又はバーチャルメモリーＴ細胞である。いくつかの実施形態では、本技術のサプレッサー又は調節Ｔ細胞は、ＦＯＸＰ３＋Ｔ細胞又はＦＯＸＰ３－Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、ＮＫＴ細胞は、ＣＤ１ｄ拘束性Ｔ細胞のサブセットである。

【００７９】

いくつかの実施形態では、本技術の顆粒球は、好中球、好酸球、好塩基球、又は肥満細胞である。

【００８０】

他の実施形態では、本技術のリンパ球は、Ｂ細胞である。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞は、メモリーＢ細胞又は形質細胞である。

【００８１】

他の実施形態では、免疫細胞は、単球、マクロファージ、ミクログリア細胞、又は樹状細胞である。

【００８２】

いくつかの実施形態では、細胞が天然免疫細胞又は操作された免疫細胞などの免疫細胞である、本明細書に記載の方法及び組成物が使用され得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法及び組成物は、方法が細胞の操作の前、その期間中、及び／又はその後に行われるように、操作された免疫細胞を含む、細胞を操作する方法と並行して、又は連続して使用される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法及び組成物は、操作された免疫細胞を含む、細胞を操作するために使用される。いくつかの実施形態では、かかる操作は、細胞がキメラ抗原を発現する免疫細胞などのキメラ抗原受容体を発現するように、操作することを含む。いくつかの実施形態では、かかるキメラ抗原受容体は、ＣＤ１９、ＣＤ３０、ＣＤ３３、ＣＤ１２３、ＦＬＴ３、ＢＣＭＡ、ＧＤ２、又は免疫療法に好適な任意の他の抗原を標的とする。いくつかの実施形態では、かかる操作は、免疫細胞を含む細胞を、成長因子及びサイトカインなどの他のタンパク質又はペプチドを発現するように操作することを含む。いくつかの実施形態では、当該サイトカインは、ＩＬ－１５を含む。いくつかの実施形態では、免疫細胞などの細胞のかかる操作は、例えば、自己又は同種異系キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）－Ｔ、ＣＡＲ－ＮＫ、ＣＡＲ－Ｍ、又はＣＡＲ－ＮＫＴ細胞などの細胞療法生成物の製造において、エクスビボで行われる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるＣＡＲ－ＮＫＴ細胞は、キメラ抗原受容体によってＧＤ２を標的とし、ＩＬ－１５を発現するように操作される。かかる実施形態では、本明細書に記載の免疫細胞若返り方法は、細胞療法生成物の製造中又は製造後にエクスビボで行われる。他の実施形態では、細胞、及び／又は免疫細胞のかかる操作は、エクスビボで、例えば、ＣＡＲ操作細胞のいわゆる「インサイチュ」生成で行われる。かかる実施形態では、本開示の脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物に含有されるＣＡＲ又は成長因子若しくはサイトカインをコードするＲＮＡ及び／又はｍＲＮＡは、例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞、マクロファージ、腫瘍浸潤リンパ球、樹状細胞、及び／又はＮＫＴ細胞などの患者の免疫細胞の「インサイチュ」、すなわち、エクスビボでのトランスフェクションのために細胞を取り出す必要なく患者の体内でのＣＡＲ操作のために、対象又は患者にインビボで注射される。かかる実施形態では、本明細書に記載の免疫細胞若返り方法はまたインビボで行われ、リプログラミング因子又は複数の因子をコードするｍＲＮＡは、ＣＡＲ又は他の細胞操作分子をコードするｍＲＮＡの前、それと同時、又はその後に患者に注射される。いくつかの実施形態では、本開示の脂質及び脂質－ナノ粒子は、インビボでのＴ細胞、ＮＫ細胞、マクロファージ、腫瘍浸潤細胞、樹状細胞、及び／又はＮＫＴ細胞などの免疫細胞を含む、任意の細胞へのインビボでの標的化送達のために選択される。更に他の実施形態では、インビボ治療は、任意の他のインビボ細胞操作の不在下で行われて、免疫系の効力を増強又は回復し、がん若しくは感染症に対する免疫系の効果を改善するか、又は炎症を低減するなどの免疫機能障害又は調節障害に関連する疾患を治療する。

【００８３】

いくつかの実施形態では、若返らせる免疫細胞は、非接着免疫細胞などの非接着細胞である。いくつかの実施形態では、非接着免疫細胞を含む非接着細胞は、組織培養基材に接着することなく、又は組織培養基材に接着する細胞若しくは細胞のコロニーを形成しないか若しくは生じさせることなく、細胞が非接着性のままである方法で、処理され、一過性にリプログラミングされ、若返り、又は製造される。いくつかの実施形態では、リプログラミング間隔及び因子は、組織培養基材に接着することなく、又は組織培養基材に接着する細胞若しくは細胞のコロニーを形成若しくは生じさせることなく、細胞が非接着性のままであるように、細胞が細胞同一性の保持を有して若返るように選択される。したがって、いくつかの実施形態では、本技術は、細胞若返りのための少なくとも１つのリプログラ

ミング因子をコードするｍＲＮＡを送達するために使用される脂質含有組成物及び脂質－ナノ粒子組成物を提供し、任意の非接着細胞及び／又は非接着免疫細胞（例えば、非接着Ｔ細胞、ＮＫ細胞、マクロファージ、腫瘍浸潤細胞、樹状細胞、及び／又はＮＫＴ細胞）を含む細胞は、細胞が細胞同一性を保持して若返る方法でリプログラミングされ、細胞は、懸濁液中に留まり、接着性ではなく、またそれらは、接着性であり、接着性となり、若しくは接着コロニーを形成する細胞にはならず、またそのような細胞を生じさせない。

【００８４】

いくつかの実施形態では、免疫細胞を若返らせる方法、免疫細胞における疲弊を逆転させるか、防止するか、若しくは阻害する方法、又は免疫細胞の増殖を誘導する方法を含む、本明細書に記載の方法は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０日の期間にわたって、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０回、免疫細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む、本開示の脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。例えば、ｍＲＮＡは、５日又は６日の期間の１日目若しくは２日目に１回投与され得るか、又はそれは、５日又は６日の期間の１日目及び３日目に１回投与され得るか、又はそれは、１日の期間で１回投与され得る。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、免疫細胞に１、２、３、４、５、又は６日の期間にわたって１、２、３、４、５、又は６回投与される。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、免疫細胞活性化ステップの後に投与される。いくつかの実施形態では、免疫細胞活性化ステップは、免疫細胞を１、２、又は３日間活性化することを含む。いくつかの実施形態では、免疫細胞活性化ステップは、ＣＤ３、ＣＤ２８、及びＩＬ－２のうちの少なくとも１つを使用して免疫細胞を活性化することを含む。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、ＣＤ３及びＣＤ２８で活性化される。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡ投与期間は、免疫細胞活性化ステップの直後に生じる。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡ投与期間は、免疫細胞活性化ステップの１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、又は１４日後に生じる。いくつかの実施形態では、リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡの投与は、免疫細胞活性化ステップによって引き起こされた免疫細胞疲弊を逆転する。いくつかの実施形態では、リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡの投与は、高齢の患者又はドナーからの免疫細胞における免疫細胞疲弊を逆転する。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡの投与は、製造プロセス中に行われて、移植のための免疫細胞、例えば、ＣＡＲ－Ｔ、ＣＡＲ－Ｍ、又はＣＡＲ－ＮＫ細胞を製造する。

【００８５】

いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡの送達のための本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子の使用は、ｍＲＮＡのための異なる送達機序を使用するのと比較して、本明細書における方法及び組成物を使用して治療するか、又は若返らせる細胞における、増強した若返り、増殖、疲弊からの回復若しくはその防止、治療効果、抗病原性効果、抗がん効果、抗免疫原性効果、又は抗炎症効果をもたらす。いくつかの実施形態では、かかる増強した若返り、増殖、疲弊からの回復若しくはその防止、治療効果、抗病原性効果、抗がん効果、抗免疫原性効果、又は抗炎症効果は、異なる送達機序と比較した場合、細胞に対するより低い毒性、免疫原性、及び／又はより低い生理学的影響に起因する。いくつかの実施形態では、異なる送達機序は、エレクトロポレーションを使用する場合と比較して、ｍＲＮＡの送達のための本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物の使用が、治療したか又は若返らせた細胞における増強した若返り、増殖、疲弊からの回復若しくはその防止、治療効果、抗病原性効果、抗がん効果、抗免疫原性効果、又は抗炎症効果をもたらすようなエレクトロポレーションである。エレクトロポレーションと比較したこの改善は、エレクトロポレーションと比較して細胞に対する低減した毒性又は低減した生理学的影響に起因し得る。

【００８６】

いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、少なくとも１つの治療剤又は診断剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む、治療剤又は診断剤の皮膚への送達方法に使用される。いくつかの実施形態では、本技術の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚細胞又は免疫細胞などの細胞の一過性リプログラ

ミングを達成する方法で、リプログラミング因子などの治療剤又は診断剤の送達を提供する。いくつかの実施形態では、細胞の一過性リプログラミングは、リプログラミング因子などの治療剤又は診断剤の一過性発現を提供し、薬剤は、細胞の同一性を変更することなくリプログラミングし、かつ／又は若返らせるのに十分な期間、細胞で発現し、すなわち、皮膚又は免疫細胞の同一性を保持しながら、皮膚又は免疫細胞を若返らせて、特徴又はより若い皮膚細胞若しくは免疫細胞を示す。

【００８７】

いくつかの態様では、治療剤は、本明細書に開示されるｍＲＮＡである。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚科疾患若しくは病態を治療若しくは予防すること、皮膚の疾患若しくは病態を治療若しくは予防すること、又は皮膚における化粧品適用のための方法において使用され、少なくとも１つの治療剤又は診断剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚科疾患若しくは病態又は皮膚の疾患若しくは病態を治療又は予防する方法に使用され、少なくとも１つの治療剤又は診断剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。いくつかの態様では、治療剤は、本明細書に開示されるｍＲＮＡである。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードする。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚における化粧品適用のために使用され、少なくとも１つの治療剤又は診断剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。いくつかの態様では、治療剤は、本明細書に開示されるｍＲＮＡである。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードする。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚を若返らせる方法に使用され、治療剤又は診断剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚を若返らせる方法に使用され、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。かかる方法では、ｍＲＮＡは、脂質に結合するか、又は脂質－ナノ粒子に含有され得る。いくつかの態様では、かかる方法は、皮膚細胞を脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物でトランスフェクトして、ｍＲＮＡを送達することを更に含む。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚を若返らせる方法に使用され、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、細胞同一性を保持しながら皮膚の若返りを達成することを含む。かかる方法では、ｍＲＮＡは、脂質に結合するか、又は脂質－ナノ粒子に含有され得る。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚を若返らせる方法に使用され、皮膚細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含み、皮膚細胞における少なくとも１つのリプログラミング因子の発現は、皮膚細胞同一性を保持した線維芽細胞増殖の増加をもたらす。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚厚さを増加する方法に使用され、治療剤又は診断剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡである。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚厚さを増加する方法に使用され、皮膚細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含み、皮膚細胞における少なくとも１つのリプログラミング因子の発現は、皮膚細胞同一性を保持した皮膚厚さの増加をもたらす。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚弾力性を増加する方法に使用され、治療剤又は診断剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡである。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚弾力性を増加する方法に使用され、皮膚細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含み、皮膚細胞における少な

くとも１つのリプログラミング因子の発現は、皮膚細胞同一性を保持した皮膚弾力性の増加をもたらす。かかる方法では、ｍＲＮＡは、脂質に結合するか、又は脂質－ナノ粒子に含有され得る。

【００８８】

いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷治癒の方法に使用され、治療剤又は診断剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷治癒の方法に使用され、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。かかる方法では、ｍＲＮＡは、脂質に結合するか、又は脂質－ナノ粒子に含有され得る。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷治癒の方法に使用され、脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物は、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを送達して、細胞同一性を維持しながら創傷治癒を達成する。かかる方法では、ｍＲＮＡは、脂質に結合するか、又は脂質－ナノ粒子に含有され得る。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷治癒の方法に使用され、皮膚細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含み、皮膚細胞における少なくとも１つのリプログラミング因子の発現は、皮膚細胞同一性を保持した線維芽細胞増殖の増加をもたらす。かかる方法では、ｍＲＮＡは、脂質に結合するか、又は脂質－ナノ粒子に含有され得る。

【００８９】

いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚科疾患若しくは病態を治療若しくは予防するか、皮膚の疾患若しくは病態を治療若しくは予防するか、又は皮膚における化粧品適用のための方法に使用され、治療剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転を達成することを含む。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚を若返らせる方法に使用され、脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、皮膚細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを送達して、細胞同一性を保持しながら、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転を達成することを含む。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷治癒の方法に使用され、脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、皮膚細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを送達し、細胞同一性を保持しながら、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転を達成することを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーを、加齢皮膚細胞と比較して若年性皮膚細胞に認められる当該マーカーの発現と同様の手段で発現する若返った細胞を産生することを指す。

【００９０】

いくつかの態様では、マーカーは、ＩＬ６、ＣＸＣＬ８、ＣＳＦ３、ＣＸＣＬ１、ＳＥＲＰＩＮＢ２、ＬＩＦ、ＩＬ１１、ＣＸＣＬ２、ＩＬ２４、ＰＴＧＳ２、ＭＭＰ３、ＣＣＬ２、ＴＦＰＩ２、ＩＥＲ３、ＡＣＫＲ３、ＰＴＧＥＳ、ＳＬＣ１６Ａ６、ＴＮＦＡＩＰ６、ＰＴＰＲＮ、ＩＬ１ＲＮ、ＩＬ１Ｂ、ＣＸＣＬ５、ＣＸＣＬ６、ＨＡＳ１、ＨＳＤ１１Ｂ１、ＣＨ２５Ｈ、ＡＤＧＲＤ１、Ｃ３、ＲＡＳＤ１、ＮＲ４Ａ３、ＳＴＣ１、ＴＣＩＭ、ＳＲＧＮ、ＡＣ００３０９２．１、ＬＲＲＮ３、ＣＨＩ３Ｌ１、ＮＲ４Ａ２、ＮＡＭＰＴ、ＰＲＳＳ２３、ＭＭＰ１、ＳＯＤ２、ＬＯＸＬ４、ＭＭＰ１１、ＥＬＮ、ＣＲＥＧ１、Ｃ１５ｏｒｆ４８、ＮＦＫＢＩＺ、ＰＩＤ１、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＩＬ６、ＣＸＣＬ８、ＣＳＦ３、ＣＸＣＬ１、ＳＥＲＰＩＮＢ２、ＬＩＦ、ＩＬ１１、ＣＸＣＬ２、ＩＬ２４、ＰＴＧＳ２、ＭＭＰ３、ＣＣＬ２、ＴＦＰＩ２、ＩＥＲ３、ＡＣＫＲ３、ＰＴＧＥＳ、ＳＬＣ１６Ａ６、ＴＮＦＡＩＰ６、ＰＴＰＲＮ、ＩＬ１ＲＮ、ＩＬ１Ｂ、ＣＸＣＬ５、ＣＸＣＬ６、ＨＡＳ１、ＨＳＤ１１Ｂ１、ＣＨ２５Ｈ、ＡＤＧＲＤ１、Ｃ３、ＲＡＳＤ１、ＮＲ４Ａ３、ＳＴＣ１、ＴＣＩＭ、ＳＲＧＮ、ＡＣ００

３０９２．１、ＬＲＲＮ３、ＣＨＩ３Ｌ１、ＮＲ４Ａ２、ＮＡＭＰＴ、ＭＭＰ１、ＳＯＤ２、ＣＲＥＧ１、Ｃ１５ｏｒｆ４８、ＮＦＫＢＩＺ、ＰＩＤ１、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＰＲＳＳ２３、ＬＯＸＬ４、ＭＭＰ１１、ＥＬＮ、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＰＲＳＳ２３のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＬＯＸＬ４のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＭＭＰ１１のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＥＬＮのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＭＭＰ３、ＭＭＰ１、ＳＯＤ２、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＭＭＰ３のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＭＭＰ１のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＳＯＤ２のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＰＲＳＳ２３、ＬＯＸＬ４、ＭＭＰ１１、若しくはＥＬＮのうちの少なくとも１つのｍＲＮＡ若しくはタンパク質発現の上方調節；ＭＭＰ３、ＭＭＰ１、ＳＯＤ２のうちの少なくとも１つのｍＲＮＡ若しくはタンパク質発現の下方調節；又はそれらの任意の組み合わせである。

【００９１】

いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚科疾患若しくは病態を治療若しくは予防するか、皮膚の疾患若しくは病態を治療若しくは予防するか、又は皮膚における化粧品適用のための方法に使用され、治療剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、少なくとも１つの肌質マーカーの改善を達成することを含む。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚厚さを増加する方法に使用され、皮膚細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含み、皮膚細胞における少なくとも１つのリプログラミング因子の発現は、皮膚細胞同一性を保持した皮膚厚さの増加をもたらす。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚弾力性を増加する方法に使用され、皮膚細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含み、皮膚細胞における少なくとも１つのリプログラミング因子の発現は、皮膚細胞同一性を保持した皮膚弾力性の増加をもたらす。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚を若返らせる方法に使用され、皮膚細胞に、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、少なくとも１つの肌質マーカーの改善を達成することを含む。いくつかの実施形態では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚を若返らせる方法に使用され、皮膚細胞に、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、細胞同一性を保持しながら、少なくとも１つの肌質マーカーの改善を達成することを含む。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーは、皮膚厚さを含む。いくつかの態様では、皮膚厚さが、増加される。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーは、皮膚弾力性である。いくつかの態様では、皮膚弾力性が、増加される。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーは、経表皮水分喪失である。皮膚厚さ、皮膚弾力性、及び経表皮水分喪失は、当業者に既知の任意の方法に従って測定することができる。

【００９２】

いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷治癒の方法に使

用され、皮膚細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、少なくとも１つの肌質マーカーの改善を達成することを含む。いくつかの態様では、マーカーは、Ｉ型コラーゲン、ＩＩＩ型コラーゲン、Ｖ型コラーゲン、ＶＩ型コラーゲン、ＸＩ型コラーゲン、エラスチン、マイクロフィブリル関連タンパク質５、ペリオスチン、バーシカン、結合組織成長因子、リシルオキシダーゼ、ＳＰＡＲＣ、分泌リンタンパク質１、軟骨オリゴマーマトリックスタンパク質、ＭＭＰ１、ＭＭＰ３、ＭＭＰ１２、ＳＯＤ２、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＭＭＰ１、ＭＭＰ３、ＭＭＰ１２、ＳＯＤ２、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカー改善は、Ｉ型コラーゲン、ＩＩＩ型コラーゲン、ＩＶ型コラーゲン、Ｖ型コラーゲン、ＶＩ型コラーゲン、ＸＩ型コラーゲン、エラスチン、マイクロフィブリル関連タンパク質５、ペリオスチン、バーシカン、結合組織成長因子、リシルオキシダーゼ、ＳＰＡＲＣ、分泌リンタンパク質１、軟骨オリゴマーマトリックスタンパク質、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、Ｉ型コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＩＩＩ型コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＩＶ型コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、Ｖ型コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＶＩ型コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＸＩ型コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＸＩ型コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、エラスチンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、マイクロフィブリル関連タンパク質５のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ペリオスチンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、バーシカンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、結合組織成長因子のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、リシルオキシダーゼのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＳＰＡＲＣのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、分泌リンタンパク質１のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、軟骨オリゴマーマトリックスタンパク質のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＭＭＰ３、ＭＭＰ１、ＳＯＤ２、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＭＭＰ３のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＭＭＰ１のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＳＯＤ２のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、コラーゲンＶＩＩ及びエラスチンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、コラーゲンＶＩＩ及びエラスチンのうちの少なくとも１つのｍＲＮＡ若し

くはタンパク質発現の上方調節；ＭＭＰ３、ＭＭＰ１、ＳＯＤ２のうちの少なくとも１つのｍＲＮＡ若しくはタンパク質発現の下方調節；又はそれらの任意の組み合わせである。

【００９３】

いくつかの態様では、本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は本開示の脂質を含有する組成物は、皮膚に局所的に投与される。いくつかの態様では、本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は本開示の脂質を含有する組成物は、軟膏、クリーム、又は膏薬で皮膚に投与される。いくつかの態様では、本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は本開示の脂質を含有する組成物は、皮膚、皮内、又は皮下注射を介して皮膚に投与される。いくつかの態様では、本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は本開示の脂質を含有する組成物は、ゲルを介して皮膚に投与される。いくつかの態様では、本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は本開示の脂質を含有する組成物は、インビボ、インビトロ、又はエクスビボで投与される。いくつかの態様では、本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は本開示の脂質を含有する組成物は、インビボで投与される。いくつかの態様では、本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は本開示の脂質を含有する組成物は、ヒト又は動物対象に対するものである。

【００９４】

いくつかの態様では、本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は開示の脂質を含有する組成物は、皮膚細胞をトランスフェクトして、少なくとも１つの治療剤又は診断剤を皮膚細胞に送達する。いくつかの態様では、治療剤は、核酸である。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡ及びｓｉＲＮＡの組み合わせである。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡ及びｍｉＲＮＡの組み合わせである。いくつかの態様では、皮膚細胞は、ケラチノサイト、メラノサイト、ランゲルハンス細胞、卵胞細胞、線維芽細胞、内皮細胞、平滑筋細胞、メルケル細胞、基底細胞、扁平上皮細胞、アポクリン腺細胞、エクリン腺細胞、皮脂腺細胞、リンパ系内皮細胞、又はそれらの組み合わせである。いくつかの態様では、脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、特定の細胞型又は複数の細胞型への選択的トランスフェクションを提供するように選択される。いくつかの態様では、脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚内又は皮膚の少なくとも１つの層内に拡散を提供するように選択される。

【００９５】

いくつかの態様では、本開示の脂質組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を使用して治療又は予防される、皮膚科疾患若しくは病態又は治療される皮膚の疾患又は病態は、皮膚粗鬆症又は慢性創傷である。いくつかの態様では、皮膚粗鬆症又は慢性創傷は、糖尿病性、虚血性、及び圧迫性潰瘍である。いくつかの態様では、本開示の脂質組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を使用して治療又は予防される、皮膚科疾患若しくは病態又は皮膚の疾患若しくは病態は、炎症性皮膚疾患である。いくつかの態様では、炎症性皮膚疾患は、乾癬、アトピー性皮膚炎、白斑、斑状脱毛症、又は化膿性汗腺炎である。いくつかの態様では、本開示の脂質組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を使用して治療又は予防される、皮膚科疾患若しくは病態又は皮膚の疾患若しくは病態は、毛髪障害である。いくつかの態様では、毛髪障害は、非瘢痕性又は瘢痕性脱毛症、毛髪灰色化、多毛症である。いくつかの態様では、毛髪障害は、アンドロゲン性脱毛症である非瘢痕性脱毛症である。いくつかの態様では、瘢痕性脱毛症は扁平毛孔性苔癬である。いくつかの態様では、本開示の脂質組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を使用して治療又は予防される、皮膚科疾患若しくは病態又は皮膚の疾患若しくは病態は、皮膚がんである。いくつかの態様では、皮膚がんは、基底細胞がん、扁平上皮がん、又は光線性角化症である。いくつかの態様では、本開示の脂質組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を使用して治療又は予防される、皮膚科疾患若しくは病態又は皮膚の疾患若しくは病態は、結節性痒疹、ざ瘡、酒さ、又は日光性黒子である。いくつかの態様では、上記皮膚科疾患若しくは病態又は疾患のいずれかを治療する方法は、治療剤を含む本開示の脂質含有組成物又は本開示の脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、ナノボディ、ラクダ科抗体、二重特異性抗体、酵素、ゲノム編集酵素又はヌクレアーゼ、成長因子、サイトカイン、ケモカイン、転写因子、構造分子

、シグナル伝達分子、リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、細胞内で作用するタンパク質又はペプチドをコードするｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡである。

【００９６】

いくつかの態様では、本開示の脂質組成物又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷が皮膚粗鬆症又は慢性創傷である創傷治癒の方法に使用される。いくつかの態様では、皮膚粗鬆症又は慢性創傷は、糖尿病性、虚血性、及び圧迫性潰瘍である。いくつかの態様では、本開示の脂質組成物又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷が皮膚がんからの病変である創傷治癒の方法に使用される。いくつかの態様では、皮膚がんは、基底細胞がん、扁平上皮がん、又は光線性角化症である。いくつかの態様では、上記創傷治癒方法のうちのいずれかは、治療剤を含む本開示の脂質含有組成物又は本開示の脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、ナノボディ、ラクダ科抗体、二重特異性抗体、酵素、ゲノム編集酵素又はヌクレアーゼ、成長因子、サイトカイン、ケモカイン、転写因子、構造分子、シグナル伝達分子、リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、細胞内で作用するタンパク質又はペプチドをコードするｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡである。

【００９７】

いくつかの態様では、脂質式（ＩＩ）を含有する本開示のいくつかの脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（ＩＩ）を含有する他の脂質－ナノ粒子組成物又は本開示の他の脂質を含有する他の脂質－ナノ粒子組成物と比較して、皮膚細胞におけるより高いトランスフェクション効率を有し、少なくとも１つのリプログラミング因子をトランスフェクトするために使用される場合、少なくとも１つの肌質マーカーのより大きな改善を生じる。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーは、皮膚厚さ、皮膚弾力性、経表皮水分喪失、又はそれらの任意の組み合わせである。

【００９８】

いくつかの態様では、本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は開示の脂質を含有する組成物は、皮膚細胞をトランスフェクトして、少なくとも１つの治療剤又は診断剤を眼細胞に送達する。いくつかの態様では、治療剤は、核酸である。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡ及びｓｉＲＮＡの組み合わせである。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡ及びｍｉＲＮＡの組み合わせである。いくつかの態様では、眼細胞は、網膜色素上皮細胞、神経節細胞、光受容体細胞、桿体細胞、錐体細胞、脈絡細胞、角膜細胞、結膜細胞、角膜上皮細胞、眼筋細胞、又はそれらの組み合わせである。いくつかの態様では、脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、特定の細胞型又は複数の細胞型への選択的トランスフェクションを提供するように選択される。いくつかの態様では、脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、硝子体液内又は網膜内などの眼内の拡散を提供するように選択される。

【００９９】

いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、眼疾患若しくは病態を治療若しくは予防するか、又は眼の疾患若しくは病態を治療若しくは予防する方法に使用され、治療剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を眼に投与することを含む。

【０１００】

いくつかの態様では、本開示の脂質組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を使用して治療又は予防される、眼疾患若しくは病態又は治療される眼の疾患若しくは病態は、加齢性黄斑変性症、緑内障、白内障、ドライアイ、糖尿病性網膜症、視力喪失、近視、老視、乾性黄斑変性症、又は滲出型黄斑変性症である。いくつかの態様では、上記眼疾患若しくは病態又は疾患のいずれかを治療する方法は、治療剤を含む本開示の脂質含有組成物又は本開示

の脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、ナノボディ、ラクダ科抗体、二重特異性抗体、酵素、ゲノム編集酵素又はヌクレアーゼ、成長因子、サイトカイン、ケモカイン、転写因子、構造分子、シグナル伝達分子、リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、細胞内で作用するタンパク質又はペプチドをコードするｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡである。

【０１０１】

本明細書に提供される方法は、脂質又は脂質－ナノ粒子組成物を使用して、細胞を１つ以上の細胞リプログラミング因子をコードする１つ以上の非組み込みメッセンジャーＲＮＡでトランスフェクトし、それによって若返った細胞を産生することを含む。若返らせる細胞は、任意の細胞型であり得る。実施形態では、細胞は、約２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、ｍＲＮＡと接触させるか、それに曝露するか、又はそれでトランスフェクトする。実施形態では、細胞は、約１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、ｍＲＮＡと接触させるか、それに曝露するか、又はそれでトランスフェクトする。実施形態では、細胞は、約１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、ｍＲＮＡと接触させるか、それに曝露するか、又はそれでトランスフェクトする。実施形態では、細胞は、約７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、ｍＲＮＡと接触させるか、それに曝露するか、又はそれでトランスフェクトする。実施形態では、細胞は、約５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、ｍＲＮＡと接触させるか、それに曝露するか、又はそれでトランスフェクトする。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、あるいは細胞は、約２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、あるいは細胞は、約１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、又は細胞は、少なくとも約２日かつ約１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２日を超えない間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、あるいは細胞は、約１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、又は細胞は、少なくとも約２日かつ約１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２日を超えない間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、あるいは細胞は、約７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、又は細胞は、少なくとも約２日かつ約７、６、５、４、３、若しくは２日を超えない間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミ

ング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、あるいは細胞は、約５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、又は細胞は、少なくとも約２日かつ約５、４、３、若しくは２日を超えない間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、若返った細胞は、若い細胞と同様の表現型又は活性プロファイルを有する。表現型又は活性プロファイルは、トランスクリプトームプロファイル、１つ以上の核マーカー及び／又はエピジェネティックマーカーの遺伝子発現、タンパク質分解活性、ミトコンドリアの健全性及び機能、ＳＡＳＰサイトカイン発現、並びにメチル化ランドスケープのうちの１つ以上を含む。

【０１０２】

いくつかの実施形態では、若返った細胞は、若い細胞のトランスクリプトームプロファイルに更に類似したトランスクリプトームプロファイルを有する。実施形態では、若返った細胞のトランスクリプトームプロファイルは、ＲＰＬ３７、ＲＨＯＡ、ＳＲＳＦ３、ＥＰＨＢ４、ＡＲＨＧＡＰ１８、ＲＰＬ３１、ＦＫＢＰ２、ＭＡＰ１ＬＣ３Ｂ２、Ｅｌｆｌ、Ｐｈｆ８、Ｐｏｌ２ｓ２、Ｔａｆｌ、及びＳｉｎ３ａから選択される１つ以上の遺伝子の遺伝子発現における増加を含む。

【０１０３】

いくつかの実施形態では、若返った細胞は、参照値と比較して、１つ以上の核マーカー及び／又はエピジェネティックマーカーの増加した遺伝子発現を示す。実施形態では、１つ以上の核マーカー及び／又はエピジェネティックマーカーは、Ｈｐｌガンマ、Ｈ３Ｋ９ｍｅ３、ラミナサポートタンパク質ＬＡＰ２アルファ、及びＳＩＲＴｌタンパク質から選択される。実施形態では、若返った細胞は、若い細胞のタンパク質分解活性により類似したタンパク質分解活性を有する。実施形態では、タンパク質分解活性は、増加した細胞オートファゴソーム形成、増加したキモトリプシン様プロテアソーム活性、又はそれらの組み合わせとして測定される。実施形態では、若返った細胞は、参照値と比較して改善したミトコンドリア健全性及び機能を示す。実施形態では、改善したミトコンドリア健全性及び機能は、増加したミトコンドリア膜電位、減少した反応性酸素種（ＲＯＳ）、又はそれらの組み合わせとして測定される。

【０１０４】

いくつかの実施形態では、若返った細胞は、参照値と比較して、１つ以上のＳＡＳＰサイトカインの減少した発現を示す。実施形態では、１つ以上のＳＡＳＰサイトカインは、ＩＬ１８、ＩＬＩＡ、ＧＲＯＡ、ＩＬ２２、及びＩＬ９を含む。実施形態では、若返った細胞は、メチル化ランドスケープの反転を示す。実施形態では、メチル化ランドスケープの反転は、Ｈｏｒｖａｔｈクロック推定によって測定される。いくつかの実施形態では、参照値は、加齢細胞から得られる。

【０１０５】

実施形態では、細胞は、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物を使用して細胞にトランスフェクトされた１つ以上の細胞リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡによる一過性リプログラミングによって若返る。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、約２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞を非組み込みｍＲＮＡでトランスフェクトすることによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、約１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞を非組み込みｍＲＮＡでトランスフェクトすることによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、約９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞を非組み込みｍＲＮＡでトランスフェクトすることによって達成さ

れる。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、約６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞を非組み込みｍＲＮＡでトランスフェクトすることによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、あるいは約２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、又は少なくとも２日かつ約２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２日を超えない間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、あるいは約１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、又は少なくとも２日かつ約１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２日を超えない間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、あるいは約１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、又は少なくとも２日かつ約１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２日を超えない間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、あるいは約７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、又は少なくとも２日かつ約７、６、５、４、３、若しくは２日を超えない間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、あるいは約５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、又は少なくとも２日かつ約５、４、３、若しくは２日を超えない間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミ

ング因子に細胞を曝露することによって達成される。実施形態では、細胞の一過性リプログラミングは、細胞の幹細胞への完全な脱分化を回避しながら、加齢の様々な特徴を排除する。

【０１０６】

本明細書に提供される方法及び組成物の実施形態では、細胞齢逆転、又は若返りは、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物によって送達される、細胞リプログラミング因子をコードする１つ以上のｍＲＮＡの一過性過剰発現によって達成される。かかる細胞リプログラミング因子としては、ミトコンドリア機能、タンパク質分解活性、ヘテロクロマチンレベル、ヒストンメチル化、核ラミナポリペプチド、サイトカイン分泌、又は老化に影響を及ぼす、転写因子、エピジェネティックリモデラー、又は小分子が挙げられ得る。実施形態では、細胞リプログラミング因子は、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、ｃ－ＭＹＣ、ＬＩＮ２８、及びＮＡＮＯＧのうちの１つ以上を含む。実施形態では、細胞リプログラミング因子は、異なるモル比、例えば、ａ：ｂ：ｃ：ｄ：ｅ：ｆのモル比でのＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、ｃ－ＭＹＣ、ＬＩＮ２８、及びＮＡＮＯＧであって、式中、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、ｅ、及びｆは、全て同じ数（例えば、１：１：１：１：１：１）、いくつかの同じ数及びいくつかの異なる数（例えば、３：１：１：１：１：１、２：１：１：１：１：１、２：２：１：１：１：１、２：２：２：１：１：１、２：２：２：２：１：１、２：２：２：２：２：１、３：３：３：３：２：２）、又は全て異なる数（例えば、６：４：５：３：２：１）であることができ、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、ｅ、及びｆは、各々１～７、すなわち、１～７：１～７：１～７：１～７：１～７：１：７（又は６つの因数よりも少ない組み合わせの場合、１～７：１～７：１～７：１～７：１～７、１～７：１～７：１～７：１～７、１～７：１～７：１～７、１～７：１～７、又は１～７：１）である、ａ：ｂ：ｃ：ｄ：ｅ：ｆのモル比でのＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、ｃ－ＭＹＣ、ＬＩＮ２８、及びＮＡＮＯＧで適用される。

【０１０７】

実施形態では、本明細書に提供される方法及び組成物は、若返りを必要とする任意のタイプの細胞、組織、又は器官に適用され得る。本開示の方法及び組成物は、培養（例えば、エクスビボ又はインビトロ）中で細胞を若返らせるために使用して、細胞療法における使用のために機能及び効力を改善することができる。患者の治療に使用される細胞は、自己又は同種異系であり得る。細胞は、患者若しくは適合したドナーに由来することができるか、又はそれらは細胞バンクから得るか、若しくはｉＰＳ細胞に由来することができる。例えば、自己エクスビボ療法では、細胞は、治療される患者から直接得て、本明細書に記載の細胞リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡでトランスフェクトし、患者に再移植することができる。かかる細胞は、例えば、患者で行われる生検又は外科的処置から得ることができる。代替的に、同種異系エクスビボ療法において、細胞は、細胞バンク又はｉＰＳ細胞に由来する細胞株から得、本明細書に記載のように、細胞リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡでトランスフェクトし、患者に再移植することができる。代替的に、若返りを必要とする細胞は、細胞リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを用いてインビボで直接的にトランスフェクトすることができる。

【０１０８】

別の態様では、細胞を、１つ以上の細胞リプログラミング因子をコードする１つ以上の非組み込みメッセンジャーＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物で、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、又は１４日の連続した日を超えない間、トランスフェクトして、細胞を若返りのために一過性にリプログラミングすることによって得られた若返った細胞を含む、薬学的組成物が本明細書に提供される。別の態様では、細胞を、１つ以上の細胞リプログラミング因子をコードする１つ以上の非組み込みメッセンジャーＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物で、４、５、６、又は７日の連続した日を超えない間、トランスフェクトして、細胞を若返りのために一過性にリプログラミングすることによって得られた若返った細胞を含む、薬学的組成物が本明細書に提供される。

【０１０９】
いくつかの実施形態では、本開示の脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物は、リプログラミング因子が、タンパク質／ポリペプチドに対する任意の誘発免疫応答を減少させ、タンパク質／ポリペプチドの安定性を増加するように最適化されており、野生型リプログラミング因子と比較した場合に増加した活性など、タンパク質／ポリペプチド活性を変化させているため、より堅牢な細胞若返りを提供するリプログラミング因子を発現するｍＲＮＡの送達のために使用される。
【０１１０】
いくつかの実施形態では、本開示の方法は、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物を細胞若しくは対象に投与すること、又は細胞を、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物で、投与間隔が２５、２４、２３、２２、２１、２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、又は３日を超えない連続した日の間、処理若しくはトランスフェクトすることを含む。いくつかの実施形態では、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物の投与は、投与間隔期間中に少なくとも１日１回行われる。いくつかの実施形態では、投与は、投与間隔中に１日当たり１回未満のより少ない頻度、例えば、２日ごとに１回、３日ごとに１回、４日ごとに１回、ｘ日ごとに１回（ｘは４～２５の数である）で行われる。したがって、かかる実施形態では、例えば、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を５日間の投与間隔で５日ごとに１回投与することは、ＲＮＡが間隔中に１回、すなわち、５日間の総治療期間中に１回投与されることを意味するが、ＲＮＡを５日間の投与間隔で１日２回投与することは、ＲＮＡが間隔中に１０回、すなわち、５日間で１０回投与されることを意味する。いくつかの実施形態では、本開示の方法は、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物を細胞若しくは対象に投与すること、又は細胞を、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物で、投与間隔が２１、１８、１４、１０、７、又は５日を超えない連続した日の間、処理若しくはトランスフェクトすることを含む。いくつかの実施形態では、本開示の方法は、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物を細胞若しくは対象に投与すること、又は細胞を、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物で、１８日を超えない連続した日の間、処理若しくはトランスフェクトすることを含む　いくつかの実施形態では、本開示の方法は、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物を細胞若しくは対象に投与すること、又は細胞に、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物を、１４日を超えない連続した日の間、処理若しくはトランスフェクトすることを含む。いくつかの実施形態では、本開示の方法は、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物を細胞若しくは対象に投与すること、又は細胞を、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物で、投与間隔が１０日を超えない連続した日の間、処理若しくはトランスフェクトすることを含む。いくつかの実施形態では、本開示の方法は、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物を細胞若しくは対象に投与すること、又は細胞を、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物で、投与間隔が７日を超えない連続した日の間、処理若しくはトランスフェクトすることを含む。いくつかの実施形態では、本開示の方法は、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物を細胞若しくは対象に投与すること、又は細胞を、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物で、投与間隔が５日を超えない連続した日の間、処理若しくはトランスフェクトすることを含む。他の実施形態では、当該曝露することは、当該曝露することを中断すること、及び当該中断することの後に当該曝露することを繰り返すことを含む。いくつかの実施形態では、当該曝露すること、処理すること、トランスフェクトすること、発現させること、又は投与することは、免疫細胞を、連続した約２～５日、連続した約５～７日、連続した約７～１０日、連続した約１０～１２日、連続した約１２～１４日、連続した約１４～１７日、連続した約１７～１９日、又は連続した約１９～２１日

の間、曝露すること、処理すること、トランスフェクトすること、発現させること、又は投与することを含み、いくつかの実施形態では、当該曝露することを中断すること、及び当該中断の後に、当該曝露することを繰り返すことを更に含む。

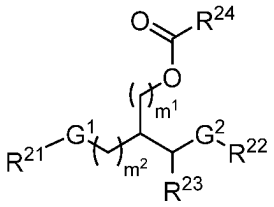
【０１１１】

いくつかの実施形態では、曝露の持続時間は、自己増幅ＲＮＡ、環状ＲＮＡ、Ｂ１８Ｒ及び他のデコイ、並びに／又はＬ７Ａｅ若しくはそのファミリーメンバーなどのオン／オフスイッチなどの機序によって制御される。いくつかの実施形態では、当該繰り返すことは、任意の回数、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、若しくは１０回、又は最大２０回、又は最大３０回、又はそれ以上行われる。インビボ適用では、当該繰り返すことは、例えば、疾患が成功裏に治療若しくは治癒されるまで、又は対象若しくは患者の生涯を通して、任意の期間継続し得る。いくつかの実施形態では、当該繰り返すことは、当該中断することの後の任意の時期、例えば、当該中断することの後、０、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０日、最大２０日、最大３０日、最大３か月、最大６か月、又は最大１年行われる。１つの曝露期間は、１つの投与間隔と考えられており、例えば、曝露－中断－繰り返し曝露のひと続きは、２つの投与間隔を含むことになる。

【０１１２】

一実施形態では、式（ＸＶＩＩ）の構造を有する化合物：

【化４４】



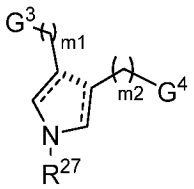
(XVII)

又はその立体異性体、塩、若しくは互変異性体が提供され、G^1、G^2、R^{21}、R^{22}、R^{23}、R^{24}、m_1、及びm_2は、本明細書に定義される通りである。

【０１１３】

一実施形態では、式（ＸＶＩＩＩ）の構造を有する化合物：

【化４５】



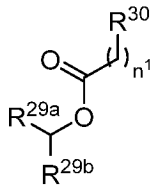
(XVIII)

又はその立体異性体、塩、若しくは互変異性体が提供され、G^3、G^4、R^{27}、m_1、及びm_2は、本明細書に定義される通りである。

【０１１４】

一実施形態では、式（ＸＩＸ）の構造を有する化合物：

【化４６】



(XIX)

又はその立体異性体、塩、若しくは互変異性体が提供され、Ｒ２９ａ、Ｒ２９ｂ、Ｒ３０、及びｎは、本明細書に定義される通りである。

【０１１５】

前述の式（ＸＶＩＩ）～（ＸＩＸ）の化合物のうちの１つ以上と、治療剤と、を含む薬学的組成物もまた、提供される。

【０１１６】

他の実施形態では、前述の式（Ｉ）の化合物、又は式（ＸＶＩＩ）～（ＸＩＸ）の化合物を含む薬学的組成物を、それを必要とする対象に投与して疾患を治療することによる治療の方法が提供される。

【０１１７】

一実施形態では、前述の式（ＸＶＩＩ）～（ＸＩＸ）の化合物のうちの１つ以上と、核酸を含む治療剤と、を含む脂質ナノ粒子も提供される。

【０１１８】

ここでは、様々な態様及び実施形態が、以下でより完全に記載される。かかる態様及び実施形態は、多くの異なる形態をとり、本明細書に開示される例示的なものは、限定されるものとして解釈されるべきではなく、むしろ、これらの実施形態は、本開示が徹底的かつ完全なものとなり、その範囲が当業者に十分に伝わるように提供されるものである。

【０１１９】

本開示は、少なくとも部分的に、核酸などの活性剤又は治療剤を細胞に送達するためのナノ粒子組成物に使用される場合に、特定の利点を提供することができるイオン化可能な脂質に関する。

【０１２０】

詳細な記述

本開示のイオン化可能な脂質は、イオン化可能な基、１つ以上のエステル基、及び１つ以上の疎水性尾部基を含む。イオン化可能な基は、７を超える酸解離定数（ｐＫａ）を有する頭部基を含むアミンである。いかなる理論にも拘束されることを望むものではないが、高いｐＫａは、イオン化可能な脂質が酸性ｐＨ（＜６．０）で正荷電され、生理学的ｐＨ（７．４）で中性であることを可能にすると考えられる。これは、次いで、酸性ｐＨでの核酸の高い封入効率をもたらす。イオン化可能な脂質及び他のヘルパー脂質はまた、エンドソームの負荷電膜と相互作用して、その膜破壊をもたらし、それによって核酸の放出を促進する。

【０１２１】

本開示のイオン化可能な脂質における１つ以上のエステル基は、生分解性を付与し、それはイオン化可能な脂質の臨床的な転換のための重要な特徴である。イオン化可能な基へのエステル結合の包含は、蓄積及び潜在的な副作用を低減し、それによって、核酸、小分子、又はペプチド若しくはタンパク質などの細胞内カーゴの送達成功後、イオン化可能な脂質の非毒性代謝産物への分解につながる。

【０１２２】

１つ以上の疎水性尾部基は、脂肪族炭素鎖を構成する。脂肪族炭素鎖は、二重結合又は三重結合などの不飽和結合を更に含むことができる。疎水性尾部は、分岐した尾部を更に

含むことができる。尾部の長さ及び尾部の飽和は、イオン化可能な脂質の流動性及び送達効率に大きく影響を及ぼすことができると考えられる。分子的仮説は、本開示のイオン化可能な脂質は、尾部領域の増加した断面に起因して、増強したエンドソーム破壊能力を有する円錐形の構造を生成することが期待されるということである。これは次に、エンドソームｐＨでのイオン化可能な脂質のプロトン化に起因してエンドソーム放出を促進する。イオン化可能な脂質を含む本開示のナノ粒子組成物は、全身送達適用に極めて有用であり、それらは、延長した循環寿命を示すことができ、トランスフェクトされた遺伝子の発現又は標的遺伝子発現のサイレンシングをインビボで媒介することができる。イオン化可能な脂質を含む本開示のナノ粒子組成物は、局所送達適用に極めて有用であり、イオン化定数、サイズ、及び表面電荷などに限定されないそれらの特性を、特定の組織への送達及びトランスフェクションのために調整することができる。

【０１２３】

イオン化可能な脂質の設計は、より良好なインビボ送達及びその後のクリアランスを目標とするために、セファリン及びスフィンゴミエリンなどの脂質ベースの天然産物、並びにグリセリドなどの他の一般的な化合物によって鼓舞される。かかる脂質はまた、より高いトランスフェクション効率及び細胞選択性に役立ち得ると考えられている。

【０１２４】

疎水性鎖における芳香族環の導入は、パイスタッキングのおかげでより組織化したアーキテクチャを導入することができ、ＬＮＰのより良好な充填及び安定性をもたらすことができる。芳香族環はまた、より多くの脂肪族鎖を導入することによって、及び／又は異なる位置に結合点を変更することによって、円錐形状を変化させる更なる構造改善のための容易な取り扱いを提供する。

【０１２５】

脂質頭部基における複素環の使用は、より定義された円錐形の脂質及びより良好な核酸封入を提供することが意図されている。

【０１２６】

Ｉ．定義

便宜上、本明細書、実施例、及び特許請求の範囲で用いられる特定の用語がここに集められている。別途定義されない限り、本開示において使用される全ての技術用語及び科学用語は、本開示が属する技術分野における当業者によって一般に理解されるものと同一の意味を有する。

【０１２７】

値の範囲が提供される場合、その範囲の上限と下限との間の各介在値、及びその記載された範囲内の任意の他の記載された値又は介在値が、本開示に包含されることが意図される。例えば、１ｍｇ～８ｍｇの範囲が明言される場合、２ｍｇ、３ｍｇ、４ｍｇ、５ｍｇ、６ｍｇ、及び７ｍｇ、並びに１ｍｇ以上の値の範囲かつ８ｍｇ以下の値の範囲も明示的に開示されることが意図される。

【０１２８】

本明細書で使用される場合、「Ｃｎ－ｍアルキル」という用語は、直鎖又は分岐であり得る飽和炭化水素基を指す。アルキル基は、正式には、化合物の残りへのアルキル基の結合点によって置き換えられた１つのＣ－Ｈ結合を有するアルカンに対応する。「Ｃｎ－ｍアルキル」という用語は、ｎ～ｍ個の炭素原子を有するアルキル基を指す。アルキル基の例としては、限定されないが、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソ－プロピル、ｎ－ブチル、ｔｅｒｔ－ブチル、イソ－ブチル、ｓｅｃ－ブチルなどの化学基、２－メチル－１－ブチル、ｎ－ペンチル、３－ペンチル、ｎ－ヘキシル、１，２，２－トリメチルプロピルなどのより高いホモログが挙げられる。いくつかの実施形態では、アルキル基は、１～６個の炭素原子、１～４個の炭素原子、１～３個の炭素原子、又は１～２個の炭素原子を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、６～２０個の炭素原子、６～１８個の炭素原子、６～１７個の炭素原子、６～１５個の炭素原子、６～１４個の炭素原子、６～１３個の炭素原子、６～９個の炭素原子、６～８個の炭素原子、又は６～７個の炭素原

子を含有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、任意選択で、１、２、３個又はそれ以上のハロ基で置換される。いくつかの実施形態では、アルキル基は、任意選択で、１、２、３個、又はそれ以上のヘテロ基で置換される。

【０１２９】

本明細書で使用される場合、「Ｃｎ－ｍアルケニル」という用語は、１つ以上の炭素－炭素二重結合を有するアルキル基に対応する直鎖又は分岐であり得る不飽和炭化水素基を指す。アルケニル基は、正式には、１つのＣ－Ｈ結合が化合物の残りへのアルケニル基の結合点によって置き換えられたアルケンに対応する。「Ｃｎ－ｍアルケニル」という用語は、ｎ～ｍ個の炭素を有するアルケニル基を指す。アルケニル基の例としては、エテニル、プロペニル、イソ－プロペニル、ｎ－ブテニル、ｓｅｃ－ブテニルなどの化学基が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、アルケニル基は、６～２０個の炭素原子、６～１８個の炭素原子、６～１７個の炭素原子、６～１５個の炭素原子、６～１４個の炭素原子、６～１３個の炭素原子、６～９個の炭素原子、６～８個の炭素原子、又は６～７個の炭素原子を含有する。いくつかの実施形態では、アルケニル基は、任意選択で、１、２、３個、又はそれ以上のハロ基で置換される。いくつかの実施形態では、アルケニル基は、任意選択で、１、２、３個、又はそれ以上のヘテロ基で置換される。

【０１３０】

本明細書で使用される「Ｃｎ－ｍアルキレン」という用語は、二価のアルキル結合基を指す。アルキレン基は、正式には、化合物の残りへのアルキレン基の結合点によって置き換えられた２つのＣ－Ｈ結合を有するアルカンに対応する。「Ｃｎ－ｍアルキレン」という用語は、ｎ～ｍ個の炭素原子を有するアルキレン基を指す。アルキレン基の例としては、エタン－１，２－ジイル、プロパン－１，３－ジイル、プロパン－１，２－ジイル、ブタン－１，４－ジイル、ブタン－１，３－ジイル、ブタン－１，２－ジイル、２－メチル－プロパン－１，３－ジイルなどが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、アルキレン基は、任意選択で、１、２、３個、又はそれ以上のハロ基で置換される。いくつかの実施形態では、アルキレン基は、任意選択で、１、２、３個、又はそれ以上のヘテロ基で置換される。

【０１３１】

本明細書で使用される場合、「およそ」及び「約」という用語は、記載される参照値と同様の値を指す。特定の実施形態では、「およそ」又は「約」という用語は、別途記載されない限り、又は別途文脈から明らかでない限り、記載された参照値のいずれかの方向（より大きいか、又はより小さい）で２５％、２０％、１９％、１８％、１７％、１６％、１５％、１４％、１３％、１２％、１１％、１０％、９％、８％、７％、６％、５％、４％、３％、２％、１％又はそれ未満内に収まる値の範囲を指す（かかる数値が可能な値の１００％を超える場合を除く）。例えば、ナノ粒子組成物の脂質成分の量の文脈で使用される場合、「約」は、列挙された値の＋／－１０％を意味し得る。例えば、約４０％の所与の脂質を有する脂質成分を含むナノ粒子組成物は、３０～５０％の脂質を含み得る。

【０１３２】

本明細書で使用される場合、「疾患」及び「病態」という用語は、互換的に使用され得るか、又は特定の疾病若しくは病態が、既知の原因となる物質を有し得ない（したがって病因が未だ解明されていない）、それ故疾患として未だ認識されておらず、ただ望ましくない状態又は症候群としてのみ認識されている、という点において異なり得るが、多かれ少なかれ症状の特定のセットは臨床医によって特定されている。

【０１３３】

本明細書で使用される場合、「封入された」という用語は、完全な封入、部分的な封入、又はその両方を有する、核酸（例えば、干渉ＲＮＡ、プラスミド若しくはオリゴヌクレオチドＤＮＡ、又はｍＲＮＡ）などのペイロードを提供する脂質粒子を指すことができる。一実施形態では、核酸は、脂質粒子に完全に封入されて、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）を形成する。「完全に封入された」という用語は、脂質粒子内の核酸が、遊離ＲＮＡ又はタンパク質を著しく分解するであろう血清又はヌクレアーゼ若しくはプロテアーゼアッセイへ

の曝露後に著しく分解されないことを示す。完全な封入は、Ｏｌｉｇｒｅｅｎ（登録商標）アッセイによって決定され得る。Ｏｌｉｇｒｅｅｎ（登録商標）は、溶液中のＲＮＡを定量化するための超高感度蛍光核酸染色である（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ；Ｃａｒｌｓｂａｄ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａから入手可能）。「完全に封入された」はまた、脂質粒子が血清に安定であること、すなわち、それがインビボ投与でその成分部分に急速に分解しないことを示す。一実施形態では、核酸は、脂質中に少なくとも５０％封入される。一実施形態では、核酸は、脂質中に少なくとも７５％封入される。一実施形態では、核酸は、脂質中に少なくとも９０％封入される。一実施形態では、核酸は、脂質中に完全に封入される。

【０１３４】

本明細書で使用される場合、「ハロ」又は「ハロゲン」という用語は、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、又はＩを指す。

【０１３５】

本明細書で使用される場合、「ヘテロ」という用語は、酸素、窒素、及び硫黄から選択されるヘテロ原子を指す。

【０１３６】

本明細書で使用される場合、「干渉ＲＮＡ」という用語は、一本鎖ＲＮＡ（例えば、成熟ｍｉＲＮＡ、環状ＲＮＡ、ガイドＲＮＡ）若しくは二本鎖ＲＮＡ（すなわち、ｓｉＲＮＡ、ａｉＲＮＡ、若しくはｐｒｅ－ｍｉＲＮＡなどの二本鎖ＲＮＡ）、又は干渉ＲＮＡが標的遺伝子若しくは配列と同じ細胞内にある場合に、標的遺伝子若しくは配列の発現を低減若しくは阻害することができる（例えば、干渉ＲＮＡ配列に相補的であるｍＲＮＡの分解を媒介するか、又はその翻訳の阻害することによって）ＲＮＡベクターを指す。したがって、干渉ＲＮＡは、標的ｍＲＮＡ配列に対して、又は２本の相補的鎖若しくは一本の自己相補的鎖によって形成される二本鎖ＲＮＡに対して、相補的である一本鎖ＲＮＡを指す。干渉ＲＮＡは、標的遺伝子又は配列に対して実質的若しくは完全な同一性を有し得るか、又はミスマッチ領域（すなわち、ミスマッチモチーフ）を含み得る。干渉ＲＮＡの配列は、全長標的遺伝子、又はその部分配列に対応することができる。

【０１３７】

干渉ＲＮＡは、「低分子干渉ＲＮＡ」又は「ｓｉＲＮＡ」、例えば、長さが約１５～６０、１５～５０、又は１５～４０（二本鎖）ヌクレオチド、より典型的には長さが約１５～３０、１５～２５、又は１９～２５（二本鎖）ヌクレオチドの干渉ＲＮＡを含み、好ましくは長さが約２０～２４、２１～２２、又は２１～２３（二本鎖）ヌクレオチドである（例えば、二本鎖ｓｉＲＮＡの各相補配列は、長さが１５～６０、１５～５０、１５～４０、１５～３０、１５～２５、又は１９～２５ヌクレオチド、好ましくは長さが約２０～２４、２１～２２、又は２１～２３ヌクレオチドであり、二本鎖ｓｉＲＮＡは、長さが約１５～６０、１５～５０、１５～４０、１５～３０、１５～２５、又は１９～２５塩基対、好ましくは長さが約１８～２２、１９～２０、又は１９～２１塩基対である）。ｓｉＲＮＡ二本鎖は、約１～約４ヌクレオチド又は約２～約３の３’オーバーハング、及び５’リン酸末端を含み得る。ｓｉＲＮＡの例としては、２つの別個の鎖状分子から組み立てられた二本鎖ポリヌクレオチド分子であって、一方の鎖がセンス鎖であり、他方が相補的アンチセンス鎖である、二本鎖ポリヌクレオチド分子；一本鎖分子から組み立てられた二本鎖ポリヌクレオチド分子であって、センス及びアンチセンス領域が、核酸ベース又は非核酸ベースのリンカーによって連結されている、二本鎖ポリヌクレオチド分子；自己相補性センス及びアンチセンス領域を有するヘアピン二次構造を有する二本鎖ポリヌクレオチド分子；並びに２つ以上のループ構造と、自己相補性センス及びアンチセンス領域を有するステムと、を有する環状一本鎖ポリヌクレオチド分子であって、環状ポリヌクレオチドがインビボ又はインビトロで処理されて活性二本鎖ｓｉＲＮＡ分子を生成することができる、環状一本鎖ポリヌクレオチド分子が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１３８】

ｓｉＲＮＡはまた、化学的に合成することができる。ｓｉＲＮＡはまた、Ｅ．ｃｏｌｉ

ＲＮａｓｅ　ＩＩＩ又はダイサーによる、より長いｄｓＲＮＡ（例えば、長さが約２５ヌクレオチドを超えるｄｓＲＮＡ）の切断によって生成することができる。これらの酵素は、ｄｓＲＮＡを生物学的に活性なｓｉＲＮＡに処理する（例えば、Ｙａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９９：９９４２－９９４７（２００２）、Ｃａｌｅｇａｒｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９９：１４２３６（２００２）、Ｂｙｒｏｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｍｂｉｏｎ　ＴｅｃｈＮｏｔｅｓ，１０（ｌ）：４－６（２００３）、Ｋａｗａｓａｋｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．，３１：９８１－９８７（２００３）、Ｋｎｉｇｈｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２９３：２２６９－２２７１（２００１）、及びＲｏｂｅｒｔｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２４３：８２（１９６８）を参照されたい）。好ましくは、ｄｓＲＮＡは、長さが少なくとも５０ヌクレオチド～約１００、２００、３００、４００、又は５００ヌクレオチドである。ｄｓＲＮＡは、長さが１０００、１５００、２０００、５０００ヌクレオチド、又はそれ以上程度であり得る。ｄｓＲＮＡは、全体的な遺伝子転写物又は部分的な遺伝子転写物をコードすることができる。特定の事例では、ｓｉＲＮＡは、プラスミドによってコードされ得る（例えば、ヘアピンループを有する二本鎖に自動的に折り畳まれる配列として転写される）。

【０１３９】

本明細書で使用される場合、「インビトロ」という用語は、生物（例えば、動物、植物、又は微生物）内ではなく、人工環境、例えば、試験管又は反応容器中、細胞培養中、ペトリ皿中などで生じる事象を指す。

【０１４０】

本明細書で使用される場合、「インビボ」という用語は、生物（例えば、動物、植物、若しくは微生物、又はそれらの細胞若しくは組織）内で生じる事象を指す。

【０１４１】

本明細書で使用される場合、「若返った細胞（複数可）」という用語は、細胞が、１つ以上の細胞同一性マーカーを依然として保持しながら、より若い細胞のトランスクリプトームプロファイルを有するように、１つ以上の細胞リプログラミング因子で処理又は一過性にリプログラミングされている加齢細胞を指す。いくつかの実施形態では、処理された細胞は、若返り、リプログラミングされ、リプログラミングされている若返った細胞は、未処理細胞と比較した少なくとも１つの若返りマーカーの発現における少なくとも１％、２％、３％、４％、５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、７５％、又は７５％超の増加／改善を発現するように、依然として細胞同一性マーカーを保持しながら、より若い細胞のマーカー及びトランスクリプトームプロファイルを発現する。

【０１４２】

本明細書で使用される場合、「対象」、「個体」、及び「患者」という用語は、本明細書において互換的に使用され、ヒト、並びにチンパンジー及び他の類人猿及びサル種などの非ヒト霊長類を含む他の霊長類、ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、及びウマなどの家畜動物、イヌ及びネコなどの愛玩哺乳動物、マウス、ラット、ウサギ、ハムスター、及びモルモットなどのげっ歯類、ニワトリ、シチメンチョウ及び他の大型鳥類、アヒル、ガチョウなどの愛玩、野生、及び猟鳥含む鳥類を含むが、これらに限定されない。いくつかの場合では、本開示の方法は、実験動物における、獣医学的適用における、及び疾患のための動物モデルの開発における使用を見出す。用語は、特定の年齢を示すものではない。したがって、成体、若年、及び新生個体を網羅することが意図される。

【０１４３】

本明細書で使用される場合、「トランスフェクション」という用語は、細胞による外因性ＤＮＡ又はＲＮＡの取り込みを指す。外因性ＤＮＡ又はＲＮＡが細胞膜内に導入されている場合、細胞は「トランスフェクト」されている。

【０１４４】

本明細書で使用される、「トランスフェクション効率」という用語は、外因性ＤＮＡ又

はＲＮＡがトランスフェクトされる細胞によって取り込まれる程度を指す。トランスフェクション効率は、例えば、トランスフェクトされた外来性ＤＮＡ又はＲＮＡの遺伝子産物を発現する試料中の細胞のパーセンテージとして測定することができる。トランスフェクトされた外来性ＤＮＡ又はＲＮＡの遺伝子産物を発現する試料中の細胞のパーセンテージは、当業者に周知の方法に従って、フローサイトメトリーを使用して、トランスフェクション後１８～２４時間で、緑色蛍光タンパク質などのレポーター遺伝子を発現する試料中の細胞のパーセンテージを決定することによって測定することができる。

【０１４５】

本明細書で使用される場合、「トランスフェクション能」という用語は、試料中の細胞当たりのトランスフェクトされた外来性ＤＮＡ又はＲＮＡの遺伝子産物の平均発現レベルを指す。試料中の細胞当たりのトランスフェクトされた外来性ＤＮＡ又はＲＮＡの遺伝子産物の平均発現レベルは、当業者に周知の方法に従って、トランスフェクション後１８～２４時間で、フローサイトメトリーを使用して測定し、緑色蛍光タンパク質のようなレポーター遺伝子を発現する試料中の細胞の総蛍光強度を試料中の細胞数で除することによって決定することができる。

【０１４６】

本明細書で使用される場合、「生存率」という用語は、トランスフェクション後に細胞が生存し続けている程度を指し、トランスフェクションに供された試料中で生存し続けている細胞のパーセンテージとして測定される。生存率は、トランスフェクション後１８～２４時間で、当業者に周知の方法に従ってフローサイトメトリーを使用して、ヨウ化プロピウムを陽性に染色する試料中の細胞のパーセンテージとして測定することができる。

【０１４７】

本明細書で使用される場合、「一過性リプログラミング」という用語は、細胞を若返らせるのには十分（すなわち、加齢の全て又はいくつかの特徴を除去する）だが、幹細胞への脱分化を引き起こすほど長くない期間にわたる、細胞リプログラミング因子への細胞の曝露を指す。かかる一過性リプログラミングは、その同一性（すなわち、分化した細胞型）を保持する若返った細胞をもたらす。

【０１４８】

「治療すること」という用語は、例えば、細胞、組織、又は対象を治療する方法に関して本明細書で使用され、一般に、化合物又は組成物を受けていない対象と比較して、対象における加齢又は医学的状態の症状の頻度を低減するか、又はその発症を遅らせる化合物又は組成物の投与を含む。これは、対象の病態を改善又は安定させる手段で、病態の症状、臨床徴候、及び根底にある病理を逆転、軽減、又は停止することを含む。

【０１４９】

本明細書で使用される場合、「異性体」という用語は、化合物の任意の幾何異性体、互変異性体、両性イオン、立体異性体、エナンチオマー、又はジアステレオマーを意味する。化合物は、１つ以上のキラル中心及び／又は二重結合を含み得、したがって、二重結合異性体（すなわち、幾何Ｅ／Ｚ異性体）又はジアステレオマー（例えば、エナンチオマー（すなわち、（＋）若しくは（－）、又はシス／トランス異性体）などの立体異性体として存在し得る。本開示は、本明細書に記載の化合物の任意及び全ての異性体を包含し、立体異性体的に純粋な形態（例えば、幾何学的に純粋、エナンチオマー的に純粋、又はジアステレオマー的に純粋）、並びにエナンチオマー的及び立体異性体的な混合物、例えば、ラセミ体を含む。化合物のエナンチオマー的及び立体異性体的な混合物、並びにそれらを、それらの成分であるエナンチオマー又は立体異性体に分割する手段は、周知である。

【０１５０】

本開示では、脂質の構造式は、いくつかの場合では、便宜上、特定の異性体を表し得るが、本開示は、幾何異性体、不斉炭素に基づく光学異性体、立体異性体、互変異性体などの全ての異性体を含み、全ての異性体が同じレベルの活性を有し得るわけではないことが理解される。加えて、結晶多形が、式によって表される脂質に存在し得る。任意の結晶形態、結晶形態混合物、又はそれらの無水物若しくは水和物は、本開示の範囲に含まれるこ

とに留意されたい。

【０１５１】

本明細書で使用される場合、「脂質ベースの送達システム」という用語は、核酸を含むがこれに限定されない、本明細書に記載の任意のペイロードの送達に向けたリポソーム、ポリプレックス、リポプレックス、及び脂質ナノ粒子を含むが、これらに限定されない。

【０１５２】

本明細書で使用される場合、「脂質ナノ粒子」又は「ＬＮＰ」という用語は、少なくとも１つの脂質、又は少なくとも１つの脂質を含むナノ粒子から形成されたナノ粒子を指す。「脂質－ナノ粒子組成物」は、脂質ナノ粒子を含む組成物、又は脂質ナノ粒子それら自体を指す。いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子は、脂質－核酸粒子又は核酸－脂質粒子（例えば、安定な核酸－脂質粒子）である。ＬＮＰは、本開示のイオン化可能な脂質から形成されるか、又はそれを含む粒子、及び脂質内に封入されるカーゴであることができる。いくつかの実施形態では、カーゴは、核酸である。

【０１５３】

ＬＮＰは、典型的には、約１０ｎｍ～約２００ｎｍ、約１５ｎｍ～約１５０ｎｍ、約２０ｎｍ～約１５０ｎｍ、約４０ｎｍ～約１５０ｎｍ、約５０ｎｍ～約１５０ｎｍ、約６０ｎｍ～約１３０ｎｍ、約７０ｎｍ～約１１０ｎｍ、約７０ｎｍ～約１００ｎｍ、約８０ｎｍ～約１００ｎｍ、約９０ｎｍ～約１００ｎｍ、約７０～約９０ｎｍ、約８０ｎｍ～約９０ｎｍ、約７０ｎｍ～約８０ｎｍ、又は約３０ｎｍ、３５ｎｍ、４０ｎｍ、４５ｎｍ、５０ｎｍ、５５ｎｍ、６０ｎｍ、６５ｎｍ、７０ｎｍ、７５ｎｍ、８０ｎｍ、８５ｎｍ、９０ｎｍ、９５ｎｍ、１００ｎｍ、１０５ｎｍ、１１０ｎｍ、１１５ｎｍ、１２０ｎｍ、１２５ｎｍ、１３０ｎｍ、１３５ｎｍ、１４０ｎｍ、１４５ｎｍ、若しくは１５０ｎｍの平均直径を有することができる。

【０１５４】

本明細書で使用される場合、「哺乳動物」という用語は、ヒト、並びに実験動物及び家庭用愛玩動物（例えば、ネコ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ウサギ）などの飼育動物、及び野生動物などの非飼育動物の両方を含む。

【０１５５】

本明細書で使用される場合、「ナノ粒子組成物」という用語は、１つ以上の脂質を含む組成物を指す。ナノ粒子組成物は、典型的には、マイクロメートル以下のオーダーでサイズ化され、脂質二重層を含み得る。ナノ粒子組成物は、脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）、リポソーム（例えば、脂質ベシクル）、ポリプレックス、及びリポプレックスを包含する。例えば、ナノ粒子組成物は、５００ｎｍ以下の直径を有する脂質ナノ粒子であり得る。

【０１５６】

本明細書で使用される場合、「核酸」という用語は、少なくとも２つのデオキシリボヌクレオチド又はリボヌクレオチドを一本鎖又は二本鎖のいずれかの形態で含有するポリマーを指し、ＤＮＡ及びＲＮＡを含む。ＤＮＡは、例えば、アンチセンス分子、プラスミドＤＮＡ、前縮合ＤＮＡ、ＰＣＲ産物、ベクター（ＰＩ、ＰＡＣ、ＢＡＣ、ＹＡＣ、人工染色体）、発現カセット、キメラ配列、染色体ＤＮＡ、又はこれらの基の誘導体及び組み合わせの形態にあり得る。ＲＮＡは、ｓｉＲＮＡ、非対称干渉ＲＮＡ（ａｉＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ｍＲＮＡ、ｔＲＮＡ、ｒＲＮＡ、ｔＲＮＡ、ウイルスＲＮＡ（ｖＲＮＡ）、自己増幅ＲＮＡ、ポリシストロンＲＮＡ、自己増幅ポリシストロンＲＮＡ、環状ＲＮＡ、及びそれらの組み合わせの形態にあり得る。核酸は、既知のヌクレオチド類似体又は修飾骨格残基若しくは結合を含有する核酸を含み、これらは、合成、天然に存在、及び非天然に存在し、参照核酸と同様の結合特性を有する。かかる修飾又は類似体の例としては、５－メチルシチジン、５－メチルウリジン、２－チオウリジン、Ｎ６－メチルアデノシン、プソイドウリジン、及びＮ１－メチルプソイドウリジンが挙げられるが、これらに限定されない。かかる類似体の例としては、ホスホロチオエート、ホスホロアミデート、メチルホスホネート、キラル－メチルホスホネート、２’－０－メチルリボヌクレオチド、及びペプチド核酸（ＰＮＡ）が挙げられるが、これらに限定されない。特に限

定しない限り、用語は、参照核酸と同様の結合特性を有する天然ヌクレオチドの既知の類似体を含有する核酸を包含する。別途指示されない限り、特定の核酸配列はまた、その保存的に改変されたバリアント（例えば、縮重コドン置換）、対立遺伝子、オルソログ、ＳＮＰ、及び相補配列、並びに明示的に示される配列を暗黙的に包含する。具体的には、縮重コドン置換は、１つ以上の選択された（又は全ての）コドンの第３の位置が混合塩基及び／又はデオキシイノシン残基で置換されている配列を生成することによって達成され得る（Ｂａｔｚｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｒｅｓ．，１９：５０８１（１９９１）、Ｏｈｔｓｕｋａ ｅｔ ａｈ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２６０：２６０５－２６０８（１９８５）、Ｒｏｓｓｏｌｉｎｉ ｅｔ ａｈ．，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｐｒｏｂｅｓ，８：９１－９８（１９９４））。「ヌクレオチド」は、糖デオキシリボース（ＤＮＡ）又はリボース（ＲＮＡ）、塩基、及びリン酸基を含有する。ヌクレオチドは、リン酸基を介して一緒に連結される。「塩基」には、プリン及びピリミジンが含まれ、天然化合物であるアデニン、チミン、グアニン、シトシン、ウラシル、イノシン、及び天然類似体、並びにプリン及びピリミジンの合成誘導体が更に含まれ、限定されないが、新しい反応性基（これらに限定されないが、アミン、アルコール、チオール、カルボキシレート、及びアルキルハライドなど）を配置する修飾が含まれる。

【０１５７】

本明細書で使用される場合、「任意選択で置換された」という用語は、非置換又は置換を意味する。本明細書で使用される場合、「置換」という用語は、水素原子が除去され、置換基によって置き換えられることを意味する。所与の原子における置換は、価数によって制限されることを理解されたい。

【０１５８】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容され得る」という用語は、本明細書において、健全な医学的判断の範囲内で、合理的な利益／リスク比に見合った、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、又は他の問題若しくは合併症を伴わずにヒト及び／又は他の哺乳動物の組織に接触して使用するのに好適な、化合物、塩、組成物、投与形態などを指すために使用される。いくつかの態様では、「薬学的に許容され得る」は、連邦若しくは州政府の規制機関によって承認されているか、又は米国薬局方、若しくは哺乳動物（例えば、動物）、より特定的にはヒトにおける使用のために他の一般に認められた薬局方に列挙されていることを意味する。

【０１５９】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容され得る担体」という用語は、ヒト又は家畜における使用が許容され得るものとして米国食品医薬品局によって認可されている、任意のアジュバント、担体、賦形剤、流動促進剤、甘味剤、希釈剤、防腐剤、色素／着色剤、風味増強剤、界面活性剤、湿潤剤、分散剤、懸濁剤、安定剤、等張剤、溶媒、又は乳化剤を含むが、これらに限定されない。いくつかの態様では、「薬学的に許容され得る担体」、又はそこにおける担体、アジュバント、賦形剤は、前駆細胞の静止を維持するために使用される「人工ニッチ」の成分である。いくつかの実施形態では、人工ニッチ成分は、エルカトニン、ＭＧＣＤ－２６５、ＪＮＪ－７７０６６２１、フォルスコリン、フォマトスタチン、ＳＢ２０３５８０、ＳＵ５４０２、ＴＧＦ－■、インスリン－トランスフェリン－セレン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される。これら及び他の「人工ニッチ」成分は、米国特許第１０，６８８，１３６号に開示されており、参照により本明細書に組み込まれる。賦形剤として使用される場合、かかる人工ニッチ成分は、脂質ナノ粒子によって封入され得るか、脂質ナノ粒子のシェル内に存在し得るか、又は脂質ナノ粒子とは別に製剤に含まれ得る。

【０１６０】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容され得る塩」という用語は、酸付加塩及び塩基付加塩の両方を含む。

【０１６１】

本明細書で使用される場合、「薬学的組成物」という用語は、ナノ粒子組成物と、薬学

的に許容され得る担体などの哺乳動物への生物学的に活性な化合物の送達のために当技術分野で一般に許容される媒体と、を指す。

【０１６２】

本明細書で使用される場合、「対象」又は「患者」という用語は、例えば、実験、診断、予防、及び／又は治療の目的で、本開示による組成物が投与され得る任意の生物を指す。典型的な対象としては、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、及びヒトなどに限定されない哺乳動物が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１６３】

本明細書で使用される場合、「全身送達」という用語は、生物内で活性剤の広範な曝露をもたらすことができる治療用生成物の送達を指す。いくつかの投与技法は、特定の薬剤の全身送達をもたらすことができるが、他の薬剤はもたらし得ない。全身送達は、有用な、好ましくは治療的な量の薬剤が、体のほとんどの部分に曝露されることを意味する。本開示の組成物、例えば、脂質ナノ粒子の全身送達は、例えば、静脈内、動脈内、皮下、及び腹膜内送達を含む、当技術分野で既知の任意の手段によることができる。いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子の全身送達は、静脈内送達によるものである。

【０１６４】

本明細書で使用される場合、「局所送達」という用語は、生物内の特定の部位、組織、器官、又は細胞型内で活性剤の局所曝露をもたらすことができる治療用生成物の送達を指す。いくつかの脂質ナノ粒子を含む、いくつかのイオン化脂質組成物は、特定の薬剤の局所送達をもたらすことができるが、他の薬剤はもたらし得ない。局所送達は、有用な、好ましくは治療的な量の薬剤が、生物内の特定の部位、組織、器官、又は細胞型に曝露されることを意味する。本開示の組成物、例えば、脂質ナノ粒子の局所送達は、例えば、静脈内、動脈内、皮下、皮内、皮膚、局部、組織内、器官内、及び腹膜内送達を含む、当技術分野で既知の任意の手段によるものであることができる。いくつかの実施形態では、本開示の組成物、例えば、脂質ナノ粒子の局所送達は、静脈内送達によって行われ、サイズ、形状、イオン化定数、及び表面電荷などのナノ粒子の特性は、ＬＮＣによって標的とされる特定の部位、組織、器官、又は細胞型を決定する。いくつかの実施形態では、本開示の組成物、例えば、脂質ナノ粒子の局所送達は、標的化された部位、組織、又は器官への局所注射によって生じ、本開示の組成物、例えば、脂質ナノ粒子は、次いで、その局所環境におけるトランスフェクションを可能にする。いくつかの実施形態では、本開示の組成物、例えば、脂質ナノ粒子の局所送達は、皮膚、皮内、又は皮下注射によって生じ、本開示の組成物、例えば、脂質ナノ粒子は、次いで、その局所環境におけるトランスフェクションを可能にする。いくつかの実施形態では、本開示の組成物、例えば、脂質ナノ粒子の局所送達は、局所投与によって生じ、本開示の組成物、例えば、脂質ナノ粒子は、次いで、その局所環境におけるトランスフェクションを可能にする。

【０１６５】

本明細書で使用される場合、「治療剤」又は「予防剤」という用語は、対象に投与されたときに、治療、診断、及び／又は予防効果を有する、及び／又は所望の生物学的及び／若しくは薬理学的効果を誘発する任意の薬剤を指す。治療薬はまた、「活性物質」又は「活性剤」と称される。

【０１６６】

本明細書で使用される場合、「有効量」又は「治療有効量」という用語は、哺乳動物、好ましくはヒトに投与されたときに、哺乳動物、好ましくはヒトにおける治療を実行するために十分なナノ粒子組成物の量を指す。「治療有効量」を構成する本開示の脂質ナノ粒子の量は、本開示の組成物の特質、例えば、使用される特定の脂質ナノ粒子、病態及びその重症度、投与の方法、及び治療される対象の年齢に応じて変動するが、当業者自身の知識及び本開示を考慮して、当業者によって常套的に決定することができる。

【０１６７】

本明細書で使用される場合、本明細書で使用される「治療すること」又は「治療」という用語は、対象、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトにおける目的の疾患又は病態

の治療を包含し、特に、当該対象が病態に対する素因を有するが、未だそれを有すると診断されていない場合に、疾患若しくは病態が生じるのを防止すること、疾患若しくは病態を阻害すること、すなわち、その発症を阻止すること、疾患若しくは病態を軽減すること、すなわち、疾患若しくは病態の退行を引き起こすこと、又は疾患若しくは病態に起因する症状を軽減すること、例えば、根底にある疾患若しくは病態に対処することなく疼痛を軽減することを含む。

【０１６８】

本明細書で使用される場合、「ゼータ電位」という用語は、ナノ粒子組成物における脂質の界面動電位又はナノ粒子の界面動電位、例えば、脂質ナノ粒子のものを指す。

【０１６９】

本開示の組成物は、開示される成分を含むか、それから本質的になるか、又はそれからなることができる。

【０１７０】

全てのパーセンテージ、分量、及び比は、別途明記されない限り、組成物の総重量に基づいており、行われる全ての測定は、約２５℃である。

【０１７１】

群内の任意の部分的範囲又は部分的範囲の組み合わせを含む、任意のかかる群の任意の個々のメンバーを例外とするか又は除外し、部分に従って又は任意の同様な手段で請求することができる権利を留保することによって、本開示の全手段を満たさずに、任意の理由で請求することができる。更に、任意の個々の置換要素、類似体、化合物、リガンド、構造、若しくはそれらの群、又は請求された群の任意のメンバーを例外とするか、又は除外する権利を留保することによって、本開示の全手段を満たさずに、任意の理由で特許請求することができる。

【０１７２】

本開示全体にわたって、様々な特許、特許出願、及び刊行物が参照される。本開示の日付の当業者に既知の最新技術をより完全に記載するために、これらの特許、特許出願、及び刊行物のそれら全体での開示が、参照により本開示に組み込まれる。本開示は、引用される特許、特許出願、及び刊行物と本開示との間に矛盾がある事例において優先される。

【０１７３】

便宜上、本明細書、実施例、及び特許請求の範囲で用いられる特定の用語がここに集められている。別途定義されない限り、本開示において使用される全ての技術用語及び科学用語は、本開示が属する技術分野における当業者によって一般に理解されるものと同一の意味を有する。

【０１７４】

ＩＩ．イオン化可能な脂質

本開示のイオン化可能な脂質は、酸性ｐＨで正荷電され、ＲＮＡなどの核酸を脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）に縮合させる。イオン化可能な脂質は、生理学的ｐＨで中性であり、毒性を最小限に抑える。それらは、細胞の取り込み後に酸性エンドソームにおいてプロトン化され、アニオン性エンドソームリン脂質と相互作用して、二重層とは適合しない円錐形のイオン対を形成することができる。これらのカチオン性－アニオン性脂質対は、二重層構造から反転六角形ＨＩＩ相への移行を駆動し、これは、膜の融合／破壊、エンドソーム脱出、及び細胞質へのカーゴ放出を促進する（Ｓｅｍｐｌｅ，Ｓ．Ｃ．ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２０１０，２８，１７２－１７６）。

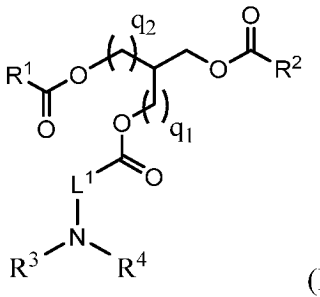
【０１７５】

本明細書に開示されるイオン化可能な脂質のｐＫａは、約８．５～約９．５である。本明細書に記載のイオン化可能な脂質のうちの１つ以上を含む脂質ナノ粒子は、約６．５～約７．５のｐＫａを有することができる。

【０１７６】

本開示は、式（Ｉ）～式（ＸＶＩ）のイオン化可能な脂質を提供する。これらの脂質は、生理学的ｐＨで正電荷又は部分的な正電荷を有し得る。

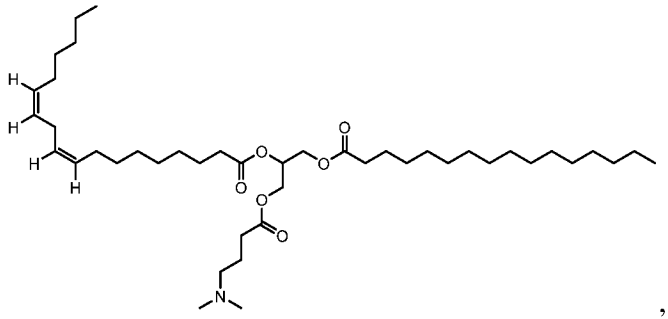
【０１７７】
一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（Ｉ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり、：
【化４７】



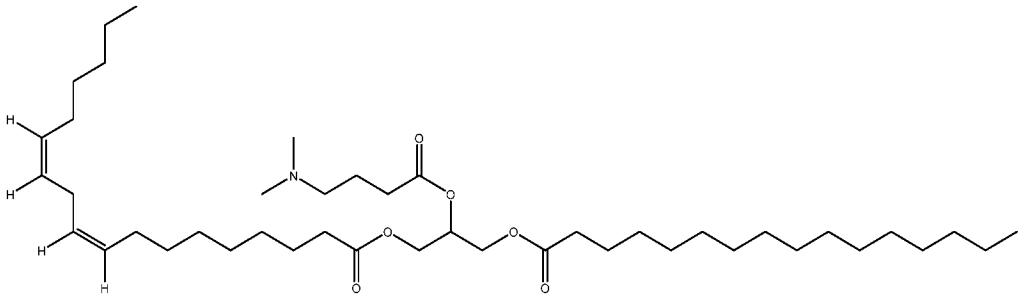
(I)

式中、
L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、R^1は、C_6－C_{20}アルケニルであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^3及びR^4は、各々独立して、Ｈ又はC_1－C_3アルキルであり、q_1は、不在か、又は１であり、q_2は、不在か、又は１である。
【０１７８】
いくつかの実施形態では、式（Ｉ）において、Ｌ１は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ３は、メチルであり、Ｒ４は、メチルであり、ｑ１は、不在であり、ｑ２は、不在である。
【０１７９】
いくつかの実施形態では、式（Ｉ）において、Ｌ１は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ３は、メチルであり、Ｒ４は、メチルであり、ｑ１は、１であり、ｑ２は、１である。
【０１８０】
いくつかの実施形態では、式（Ｉ）において、Ｌ１は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ３は、メチルであり、Ｒ４は、メチルであり、ｑ１は、不在であり、ｑ２は、１である。
【０１８１】
いくつかの実施形態では、式（Ｉ）において、Ｌ１は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ３は、メチルであり、Ｒ４は、メチルであり、ｑ１は、１であり、ｑ２は、不在である。
【０１８２】
式（Ｉ）のイオン化可能な脂質の例示的な例として、以下を含むことができるが、これらに限定されない：

【化４８】



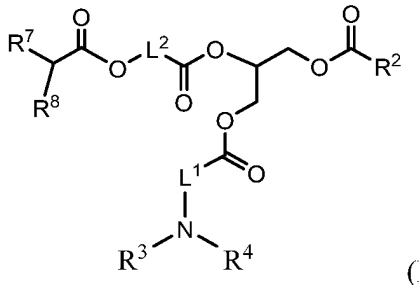
，又は



【０１８３】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（Ｉ－Ａ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化４９】



(I-A)

式中、

L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^3及びR^4は、各々独立して、Ｈ又はC_1－C_3アルキルであり、R^7は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^8は、C_4－C_{20}アルキルである。

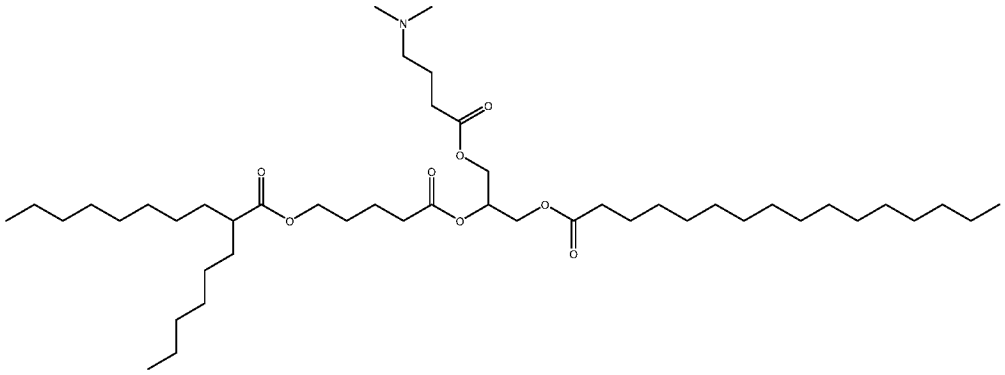
【０１８４】

いくつかの実施形態では、式（Ｉ－Ａ）において、L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^3は、メチルであり、R^4は、メチルであり、R^7は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^8は、C_4－C_{20}アルキルである。

【０１８５】

式（Ｉ－Ａ）のイオン化可能な脂質の例示的な例として、以下を含むことができるが、これに限定されない：

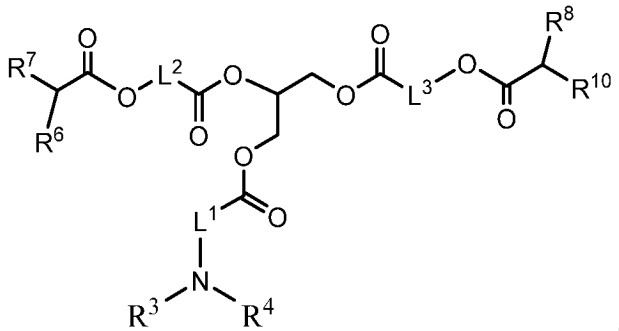
【化５０】



【０１８６】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（Ｉ－Ｂ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化５１】



(I-B)

式中、

L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、L^3は、C_1－C_8アルキレンであり、R^3及びR^4は、各々独立して、H又はC_1－C_3アルキルであり、R^6は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^7は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^8は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^{10}は、C_4－C_{20}アルキルである。

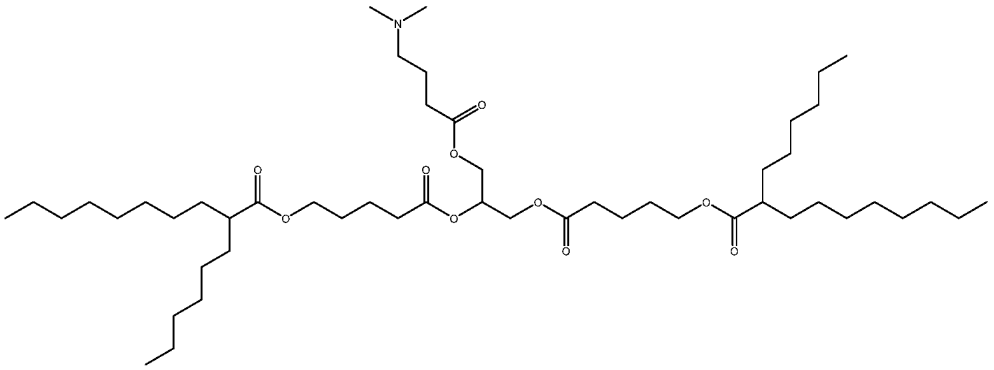
【０１８７】

いくつかの実施形態では、式（Ｉ－Ｂ）において、L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、L^3は、C_1－C_8アルキレンであり、R^3は、メチルであり、R^4は、メチルであり、R^6は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^7は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^8は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^{10}は、C_4－C_{20}アルキルである。

【０１８８】

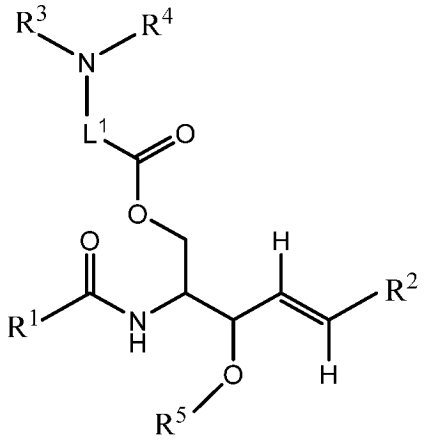
式（Ｉ－Ｂ）のイオン化可能な脂質の例示的な例として、以下を含むことができるが、これに限定されない：

【化５２】



【０１８９】
一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＩＩ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化５３】



(II)

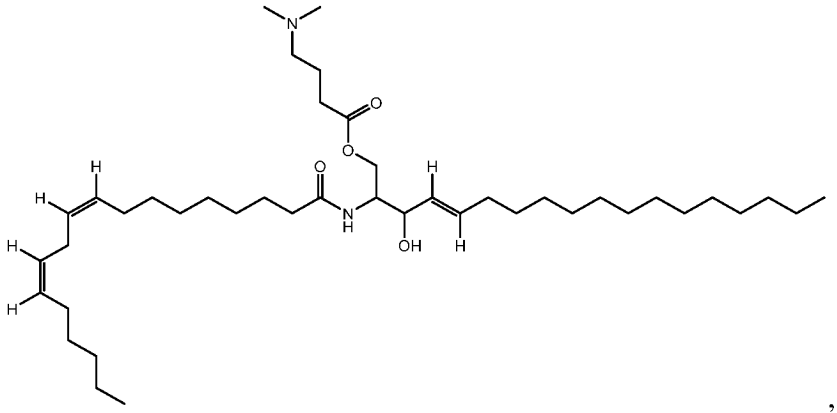
式中、
L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、R^1は、C_6－C_{20}アルケニルであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^3及びR^4は、各々独立して、Ｈ又はC_1－C_3アルキルであり、R^5は、Ｈ又はC_1－C_3アルキルである。

【０１９０】
いくつかの実施形態では、式（ＩＩ）において、L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、R^1は、C_6－C_{20}アルケニルであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^3は、メチルであり、R^4は、メチルであり、R^5は、Ｈである。

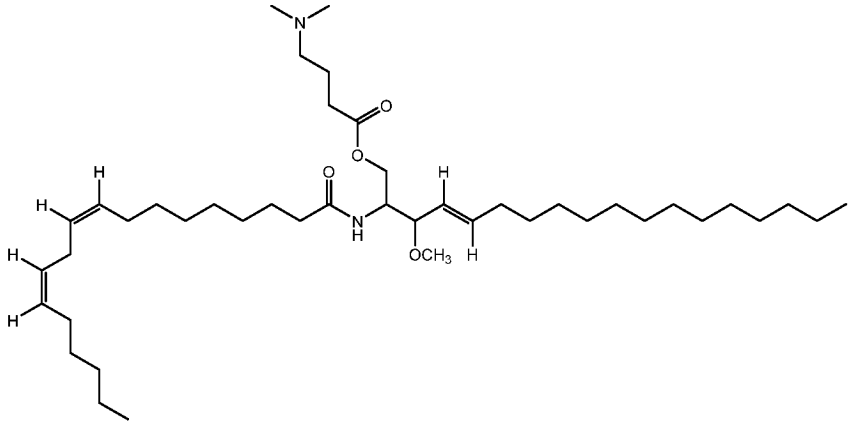
【０１９１】
いくつかの実施形態では、式（ＩＩ）において、L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、R^1は、C_6－C_{20}アルケニルであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^3は、メチルであり、R^4は、メチルであり、R^5は、メチルである。

【０１９２】
式（ＩＩ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これらに限定されない：

【化５４】



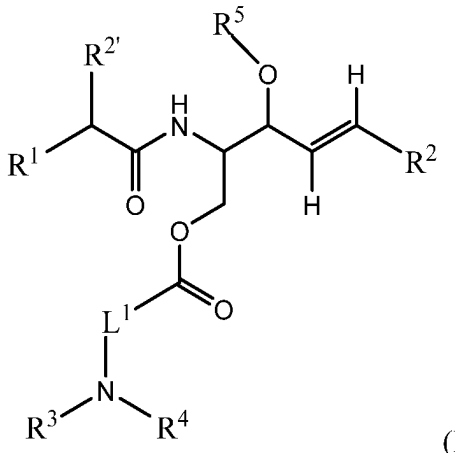
, 又は



【０１９３】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＩＩＩ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化５５】



(III)

式中、

L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、R^1は、C_6－C_{20}アルケニルであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、$R^{2'}$は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^3及びR^4は、各々独立して、Ｈ又はC_1－C_3アルキルであり、R^5は、Ｈ又はC_1－C_3アルキルである。

【０１９４】

いくつかの実施形態では、式（ＩＩＩ）において、Ｌ^{1}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｒ^{1}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、Ｒ^{2}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{2}'は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{3}は、メチルであり、Ｒ^{4}は、メチルであり、Ｒ^{5}は、Ｈである。

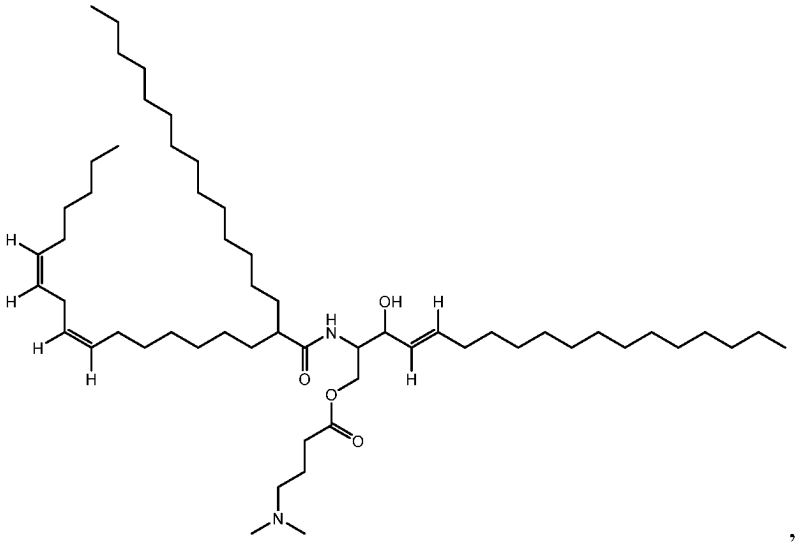
【０１９５】

いくつかの実施形態では、式（ＩＩＩ）において、Ｌ^{1}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｒ^{1}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、Ｒ^{2}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{2}'は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{3}は、メチルであり、Ｒ^{4}は、メチルであり、Ｒ^{5}は、メチルである。

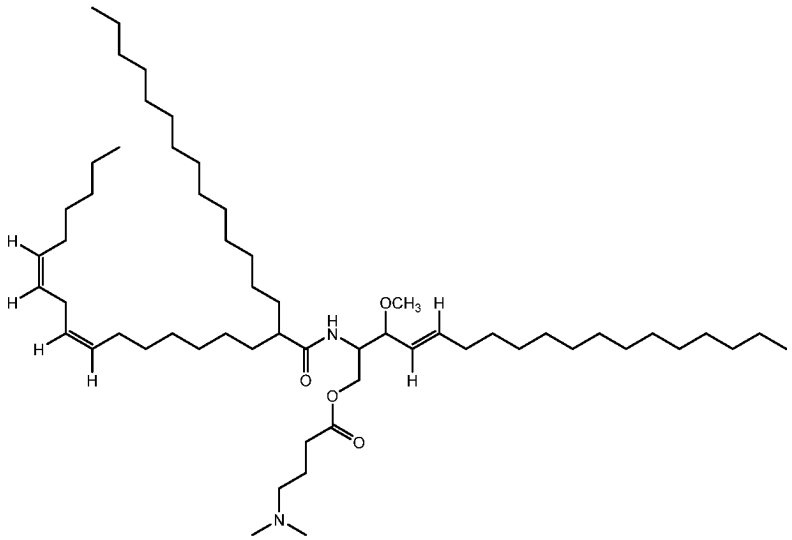
【０１９６】

式（ＩＩＩ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これらに限定されない：

【化５６】



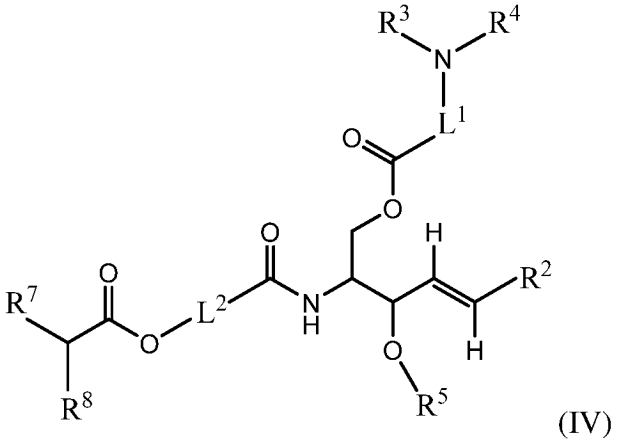
, 又は



【０１９７】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＩＶ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化５７】



(IV)

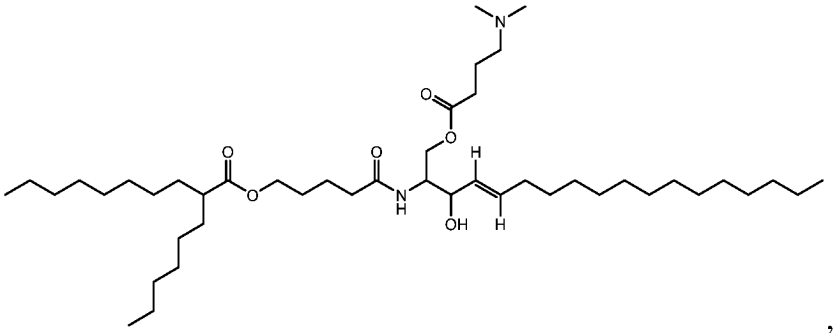
式中、
L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^3及びR^4は、各々独立して、H又はC_1－C_3アルキルであり、R^5は、H又はC_1－C_3アルキルであり、R^7は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^8は、C_4－C_{20}アルキルである。

【０１９８】
いくつかの実施形態では、式（ＩＶ）において、L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^3は、メチルであり、R^4は、メチルであり、R^5は、Ｈであり、R^7は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^8は、C_4－C_{20}アルキルである。

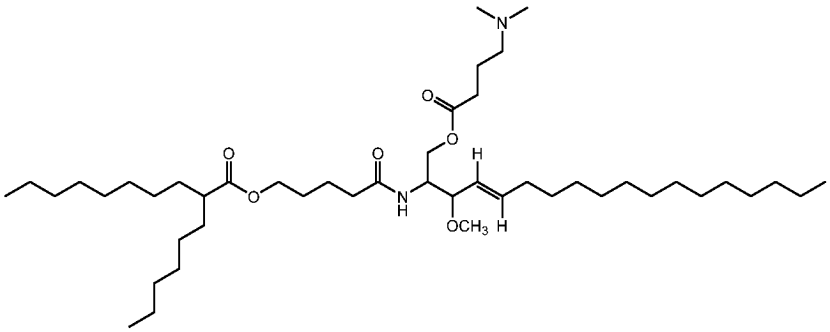
【０１９９】
いくつかの実施形態では、式（ＩＶ）において、L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^3は、メチルであり、R^4は、メチルであり、R^5は、メチルであり、R^7は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^8は、C_4－C_{20}アルキルである。

【０２００】
式（ＩＶ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これらに限定されない：

【化５８】



,又は

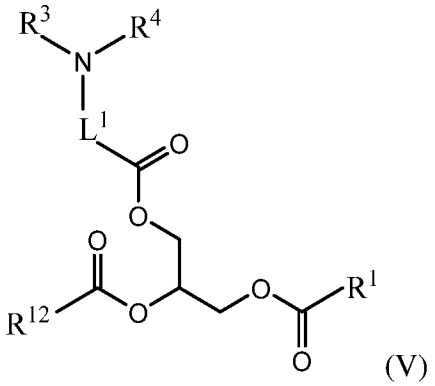


.

【０２０１】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（Ｖ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化５９】



(V)

式中、

L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、R^1は、C_6－C_{20}アルケニルであり、R^3及びR^4は、各々独立して、H又はC_1－C_3アルキルであり、R^{12}は、C_6－C_{20}アルケニルである。

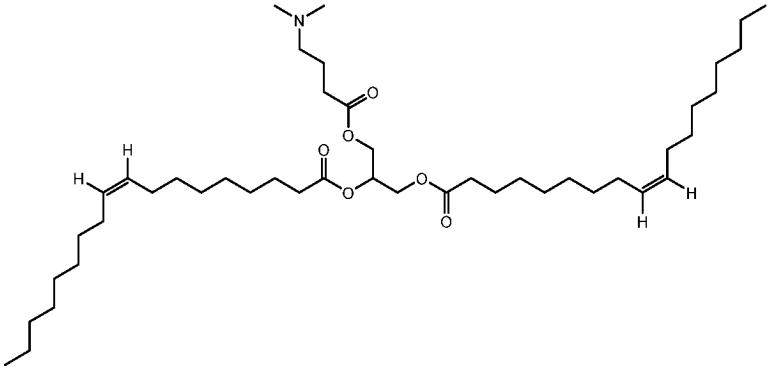
【０２０２】

いくつかの実施形態では、式（Ｖ）において、L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、R^1は、C_6－C_{20}アルケニルであり、R^3は、メチルであり、R^4は、メチルであり、R^{12}は、C_6－C_{20}アルケニルである。

【０２０３】

式（Ｖ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これに限定されない：

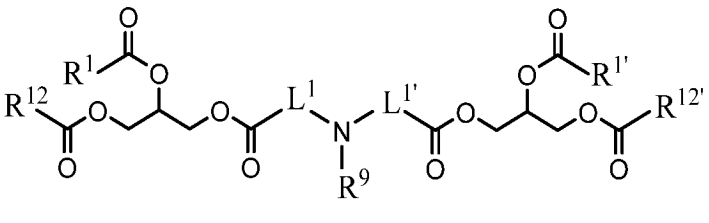
【化６０】



【０２０４】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＶＩ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化６１】



(VI)

式中、

L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、$L^{1'}$は、C_1－C_6アルキレンであり、R^1は、C_6－C_{20}アルケニルであり、$R^{1'}$は、C_6－C_{20}アルケニルであり、R^9は、Ｈ、C_1－C_6アルキル、又は－（CH_2）$_n$ＯＨであり、R^{12}は、C_6－C_{20}アルケニルであり、$R^{12'}$は、C_6－C_{20}アルケニルであり、ｎは、２、３、又は４である。

いくつかの実施形態では、式（ＶＩ）において、L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、$L^{1'}$は、C_1－C_6アルキレンであり、R^1は、C_6－C_{20}アルケニルであり、$R^{1'}$は、C_6－C_{20}アルケニルであり、R^9は、Ｈであり、R^{12}は、C_6－C_{20}アルケニルであり、$R^{12'}$は、C_6－C_{20}アルケニルである。

【０２０５】

いくつかの実施形態では、式（ＶＩ）において、L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、$L^{1'}$は、C_1－C_6アルキレンであり、R^1は、C_6－C_{20}アルケニルであり、$R^{1'}$は、C_6－C_{20}アルケニルであり、R^9は、メチルであり、R^{12}は、C_6－C_{20}アルケニルであり、$R^{12'}$は、C_6－C_{20}アルケニルである。

【０２０６】

いくつかの実施形態では、式（ＶＩ）において、L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、$L^{1'}$は、C_1－C_6アルキレンであり、R^1は、C_6－C_{20}アルケニルであり、$R^{1'}$は、C_6－C_{20}アルケニルであり、R^9は、－（CH_2）$_n$ＯＨであり、R^{12}は、C_6－C_{20}アルケニルであり、$R^{12'}$は、C_6－C_{20}アルケニルであり、ｎは、２、３、又は４である。

【０２０７】

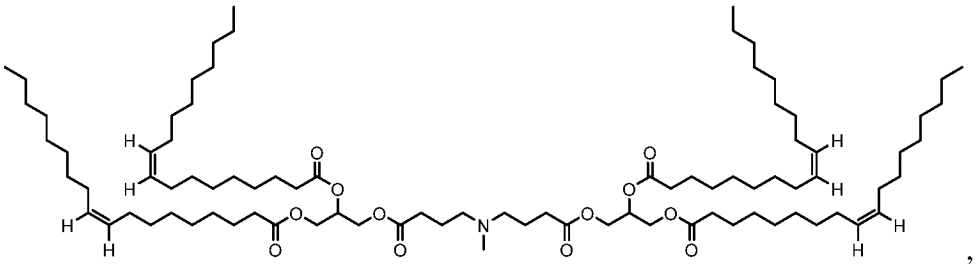
いくつかの実施形態では、式（ＶＩ）において、L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、$L^{1'}$は、C_1－C_6アルキレンであり、R^1は、C_6－C_{20}アルケニルであり、$R^{1'}$は、C_6－C_{20}アルケニルであり、R^9は、－（CH_2）$_n$ＯＨであり、R^{12}は、C_6－C_{20}アルケニルであり、$R^{12'}$は、C_6－C_{20}アルケニルであり、ｎは、２である

。

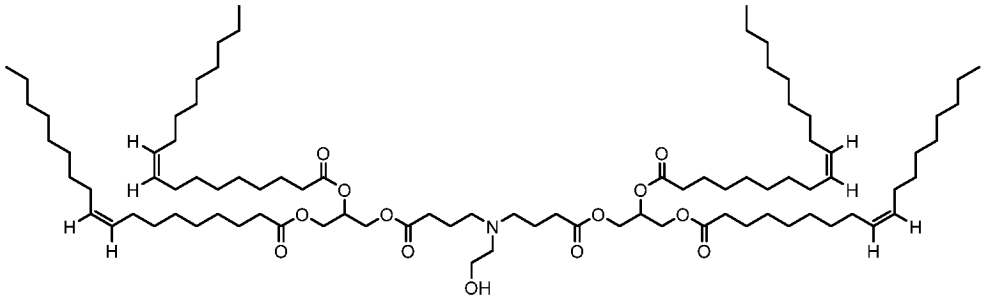
【０２０８】

式（ＶＩ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これらに限定されない：

【化６２】



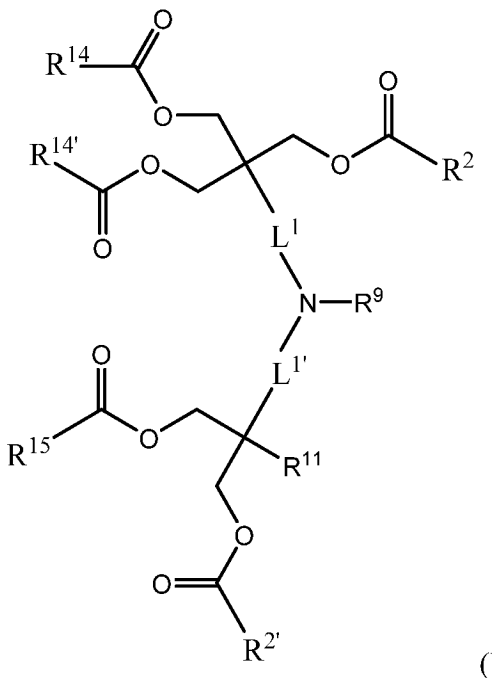
, 又は



【０２０９】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＶＩＩ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化６３】



(VII)

式中、

L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、$L^{1'}$は、C_1－C_6アルキレンであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、$R^{2'}$は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^9は、Ｈ、C_1－C_6アルキル、又は－（CH_2）$_n$ＯＨであり、R^{11}は、Ｈ又は－CH_2）ＯＣ（

＝Ｏ）Ｒ^{16}であり、Ｒ^{14}は、Ｃ$_6$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ$^{14'}$は、Ｃ$_6$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{15}は、Ｃ$_6$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{16}は、Ｃ$_6$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、ｎは、２、３、又は４である。

【０２１０】

いくつかの実施形態では、式（ＶＩＩ）において、Ｌ^{1}は、Ｃ$_1$－Ｃ$_6$アルキレンであり、Ｌ$^{1'}$は、Ｃ$_1$－Ｃ$_6$アルキレンであり、Ｒ^{2}は、Ｃ$_6$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ$^{2'}$は、Ｃ$_6$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{9}は、Ｈであり、Ｒ^{11}は、Ｈであり、Ｒ^{14}は、Ｃ$_6$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ$^{14'}$は、Ｃ$_6$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{15}は、Ｃ$_6$－Ｃ$_{20}$アルキルである。

【０２１１】

いくつかの実施形態では、式（ＶＩＩ）において、Ｌ^{1}は、Ｃ$_1$－Ｃ$_6$アルキレンであり、Ｌ$^{1'}$は、Ｃ$_1$－Ｃ$_6$アルキレンであり、Ｒ^{2}は、Ｃ$_6$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ$^{2'}$は、Ｃ$_6$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{9}は、メチルであり、Ｒ^{11}は、Ｈであり、Ｒ^{14}は、Ｃ$_6$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ$^{14'}$は、Ｃ$_6$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{15}は、Ｃ$_6$－Ｃ$_{20}$アルキルである。

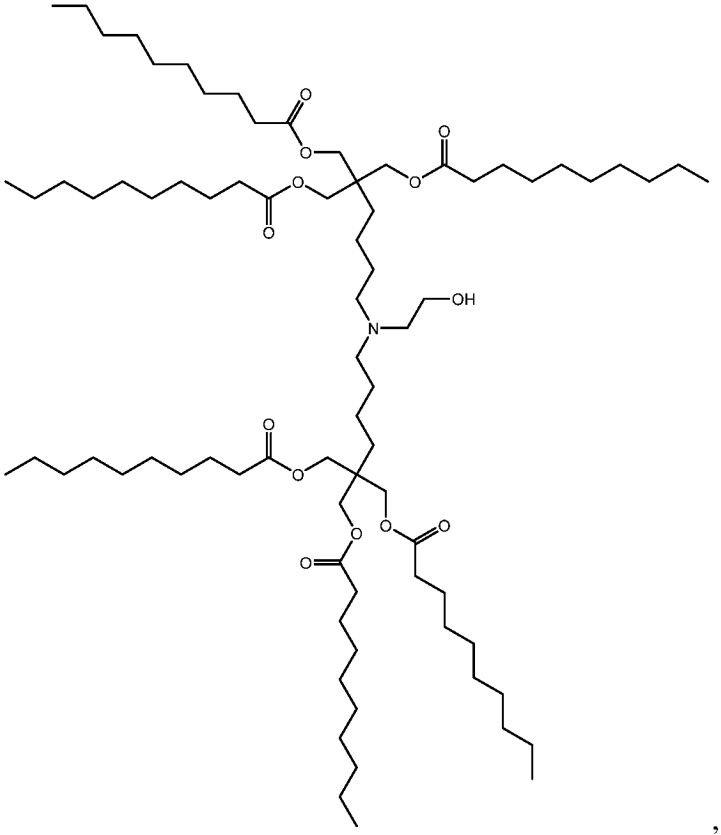
【０２１２】

いくつかの実施形態では、式（ＶＩＩ）において、Ｌ１は、Ｃ１～Ｃ６アルキレンであり、Ｌ１’は、Ｃ１～Ｃ６アルキレンであり、Ｒ２は、Ｃ６～Ｃ２０アルキルであり、Ｒ２’は、Ｃ６～Ｃ２０アルキルであり、Ｒ９は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、Ｒ１１は、Ｈであり、Ｒ１４は、Ｃ６～Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１４’は、Ｃ６～Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１５は、Ｃ６～Ｃ２０アルキルであり、ｎは、２である。

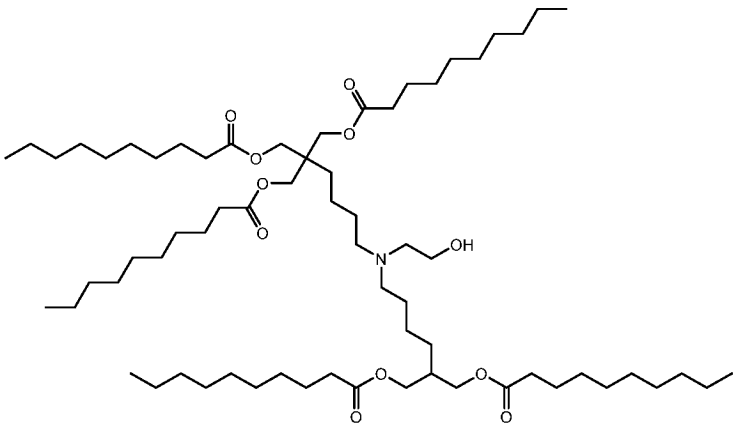
【０２１３】

式（ＶＩＩ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これらに限定されない：

【化６４】



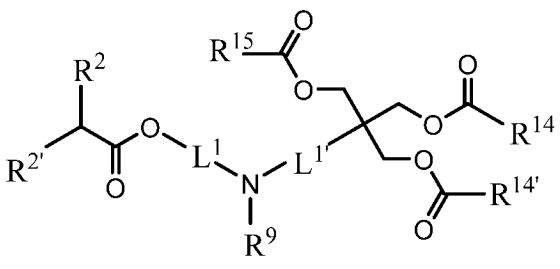
, 又は



【０２１４】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＶＩＩＩ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化６５】



(VIII)

式中、
L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、$L^{1'}$は、C_1－C_6アルキレンであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、$R^{2'}$は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^9は、H、C_1－C_6アルキル、又は－（CH_2）$_n$OHであり、R^{14}は、C_6－C_{20}アルキルであり、$R^{14'}$は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^{15}は、C_6－C_{20}アルキルであり、nは、２、３、又は４である。

【０２１５】

いくつかの実施形態では、式（ＶＩＩＩ）において、L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、$L^{1'}$は、C_1－C_6アルキレンであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、$R^{2'}$は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^9は、Ｈであり、R^{14}は、C_6－C_{20}アルキルであり、$R^{14'}$は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^{15}は、C_6－C_{20}アルキルである。

【０２１６】

いくつかの実施形態では、式（ＶＩＩＩ）において、Ｌ１は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｌ１’は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ２’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ９は、メチルであり、Ｒ１４は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１４’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１５は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルである。

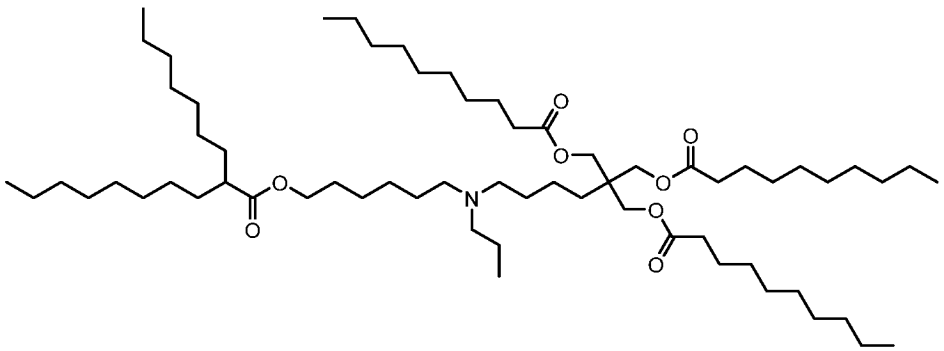
【０２１７】

いくつかの実施形態では、式（ＶＩＩＩ）において、Ｌ１は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｌ１’は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ２’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ９は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、Ｒ１４は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１４’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１５は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、ｎは、２である。

【０２１８】

式（ＶＩＩＩ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これに限定されない：

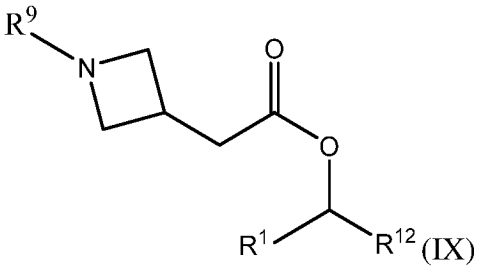
【化６６】



【０２１９】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＩＸ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化６７】



(IX)

式中、

Ｒ^{1}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、Ｒ^{9}は、Ｈ、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキル、又は－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨであり、Ｒ^{12}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、ｎは、２、３、又は４である。

【０２２０】

いくつかの実施形態では、式（ＩＸ）において、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ９は、Ｈであり、Ｒ１２は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルである。

【０２２１】

いくつかの実施形態では、式（ＩＸ）において、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ９は、メチルであり、Ｒ１２は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルである。

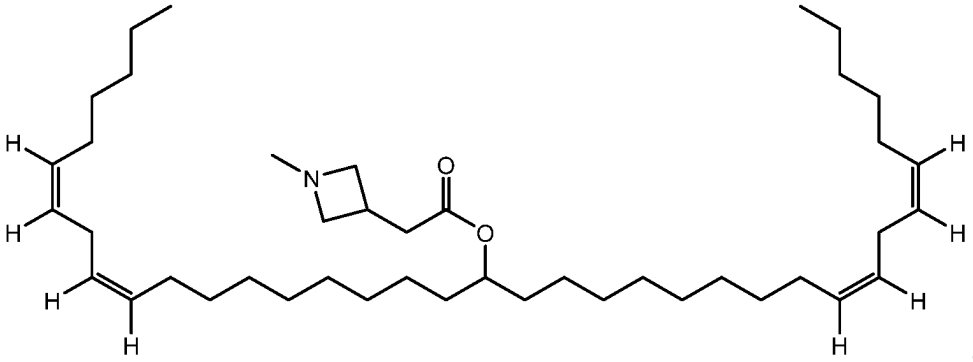
【０２２２】

いくつかの実施形態では、式（ＩＸ）において、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ９は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、Ｒ１２は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、ｎは、２である。

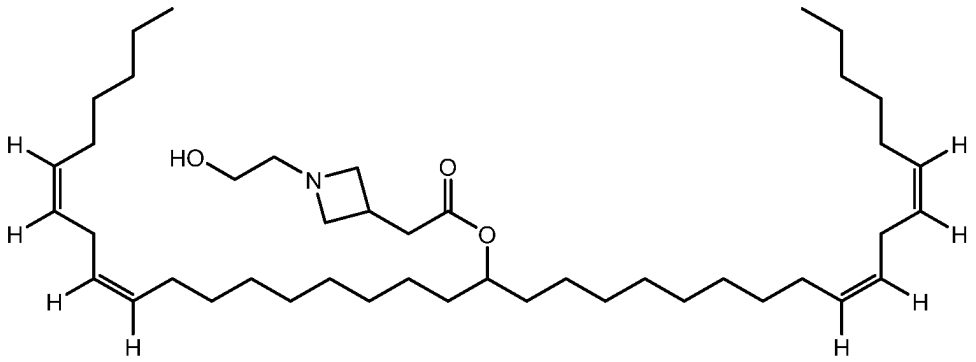
【０２２３】

式（ＩＸ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これらに限定されない：

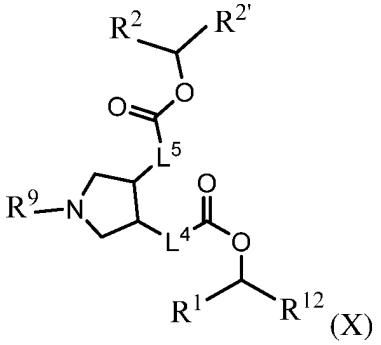
【化６８】



, 又は



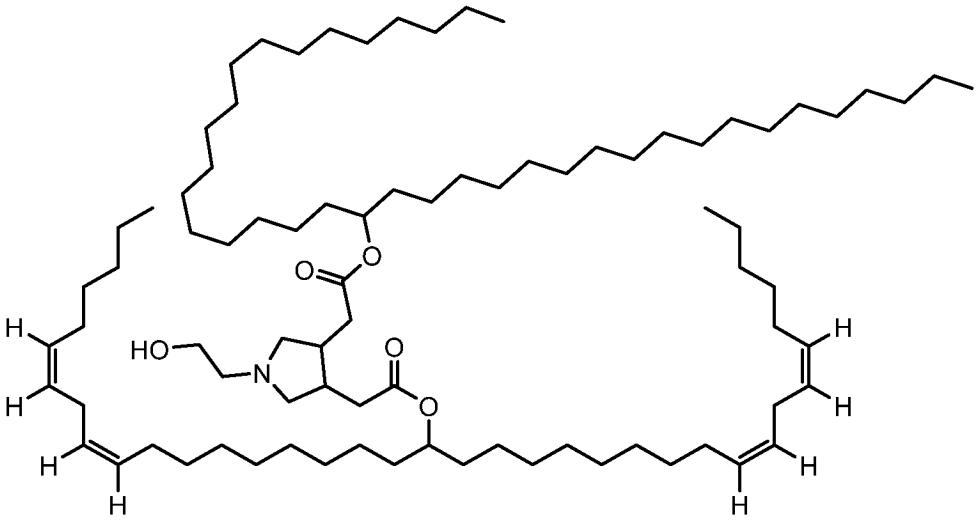
【０２２４】
一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（Ｘ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：
【化６９】



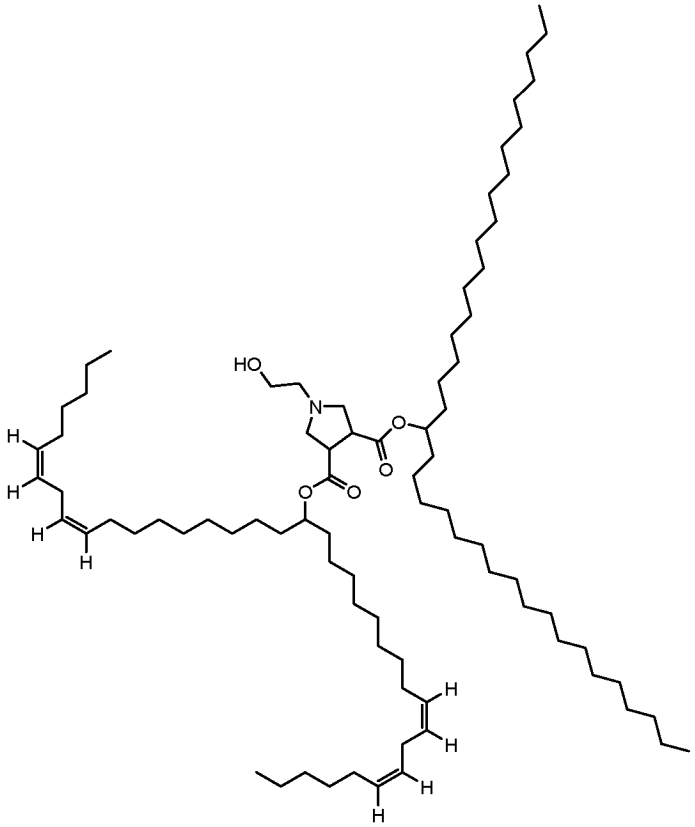
式中、
L^4は、不在か、又はC_1－C_6アルキレンであり、L^5は、不在か、又はC_1－C_6アルキレンであり、R^1は、C_6－C_{20}アルケニルであり、R^2は、C_6－C_{20}アルキルであり、$R^{2'}$は、C_6－C_{20}アルキルであり、R^9は、Ｈ、C_1－C_6アルキル、又は－（CH_2）$_n$ＯＨであり、R^{12}は、C_6－C_{20}アルケニルであり、ｎは、２、３、又は４である。
【０２２５】
いくつかの実施形態では、式（Ｘ）において、Ｌ４は、不在であり、Ｌ５は、不在であり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ２’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ９は、Ｈ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、又は－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、Ｒ１２は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、ｎは、２、３、又は４である。
【０２２６】
いくつかの実施形態では、式（Ｘ）において、Ｌ４は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｌ５は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ２’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ９は、Ｈ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、又は－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、Ｒ１２は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、ｎは、２、３又は４である。
【０２２７】
いくつかの実施形態では、式（Ｘ）において、Ｌ４は、不在であり、Ｌ５は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ２’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ９は、Ｈ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、又は－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、Ｒ１２は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、ｎは、２、３、又は４である。
【０２２８】
いくつかの実施形態では、式（Ｘ）において、Ｌ４は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｌ５は、不在であり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ２’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ９は、Ｈ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、又は－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、Ｒ１２は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、ｎは、２、３、又は４である。
【０２２９】
いくつかの実施形態では、式（Ｘ）において、Ｌ４は、不在か、又はＣ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｌ５は、不在か、又はＣ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ２’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ９は、Ｈであり、Ｒ１２は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルである。

【０２３０】
いくつかの実施形態では、式（Ｘ）において、Ｌ^{4}は、不在か、又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｌ^{5}は、不在か、又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｒ^{1}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、Ｒ^{2}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ$^{2'}$は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{9}は、メチルであり、Ｒ^{12}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルである。
【０２３１】
いくつかの実施形態では、式（Ｘ）において、Ｌ^{4}は、不在か、又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｌ^{5}は、不在か、又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｒ^{1}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、Ｒ^{2}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ$^{2'}$は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{9}は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨであり、Ｒ^{12}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、ｎは、２である。
【０２３２】
式（Ｘ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これらに限定されない：

【化７０】



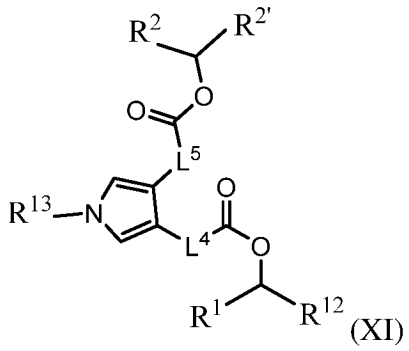
, 又は



【０２３３】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＸＩ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化７１】



(XI)

式中、
Ｌ^{4}は、不在か、又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｌ^{5}は、不在か、又はＣ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｒ^{1}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、Ｒ^{2}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{2}’は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{12}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、Ｒ^{13}は、Ｈ、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキル、－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨ、又は－（ＣＨ$_{2}$）$_{q}$Ｎ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$であり、ｎは、２、３、又は４であり、ｑは、２、３、又は４である。

【０２３４】
いくつかの実施形態では、式（ＸＩ）において、Ｌ３は、不在であり、Ｌ４は、不在であり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ２’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１２は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ１３は、Ｈ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、－（ＣＨ２）ｎＯＨ、又は－（ＣＨ２）ｑＮ（ＣＨ３）２であり、ｎは、２、３又は４であり、ｑは、２、３、又は４である。

【０２３５】
いくつかの実施形態では、式（ＸＩ）において、Ｌ３は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｌ４は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ２’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１２は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ１３は、Ｈ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、－（ＣＨ２）ｎＯＨ、又は－（ＣＨ２）ｑＮ（ＣＨ３）２であり、ｎは、２、３、又は４であり、ｑは、２、３、又は４である。

【０２３６】
いくつかの実施形態では、式（ＸＩ）において、Ｌ３は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｌ４は、不在であり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ２’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１２は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ１３は、Ｈ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、－（ＣＨ２）ｎＯＨ、又は－（ＣＨ２）ｑＮ（ＣＨ３）２であり、ｎは２、３、又は４であり、ｑは２、３、又は４である。

【０２３７】
いくつかの実施形態では、式（ＸＩ）において、Ｌ３は、不在であり、Ｌ４は、Ｃ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ２’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１２は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ１３は、Ｈ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、－（ＣＨ２）ｎＯＨ、又は－（ＣＨ２）ｑＮ（ＣＨ３）２であり、ｎは２、３、又は４であり、ｑは２、３、又は４である。

【０２３８】
いくつかの実施形態では、式（ＸＩ）において、Ｌ３は、不在か、又はＣ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｌ４は、不在か、又はＣ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ２’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１２は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ１３は、Ｈである。

【０２３９】
いくつかの実施形態では、式（ＸＩ）において、Ｌ３は、不在か、又はＣ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｌ４は、不在か、又はＣ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２

０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ$^{2'}$は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{12}は、Ｃ$_{6}$－Ｃ$_{20}$アルケニルであり、Ｒ^{13}は、メチルである。

【０２４０】

いくつかの実施形態では、式（ＸＩ）において、Ｌ３は、不在か、又はＣ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｌ４は、不在か、又はＣ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ２’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１２は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ１３は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、２である。

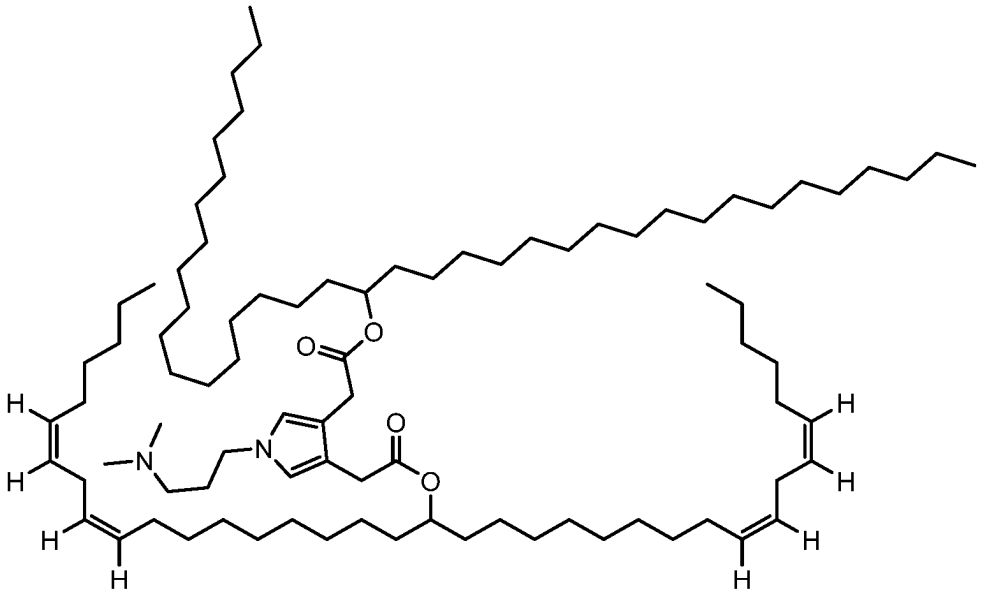
【０２４１】

いくつかの実施形態では、式（ＸＩ）において、Ｌ３は、不在か、又はＣ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｌ４は、不在か、又はＣ１－Ｃ６アルキレンであり、Ｒ１は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ２は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ２’は、Ｃ６－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１２は、Ｃ６－Ｃ２０アルケニルであり、Ｒ１３は、－（ＣＨ２）ｑＮ（ＣＨ３）２であり、ｑは、３である。

【０２４２】

式（ＸＩ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これに限定されない：

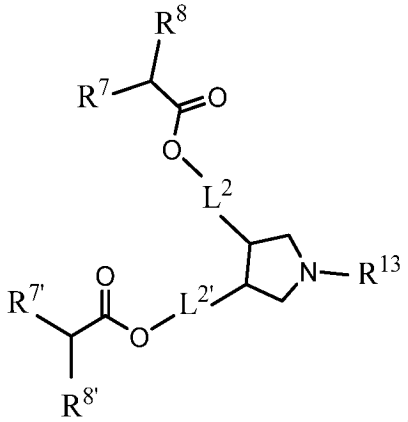
【化７２】



【０２４３】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＸＩＩ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化７３】



(XII)

式中、
Ｌ^{2}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｌ^{2}’は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｒ^{7}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{7}’は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{8}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{8}’は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{13}は、Ｈ、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキル、－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨ、又は－（ＣＨ$_{2}$）$_{q}$Ｎ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$であり、ｎは、２、３、又は４であり、ｑは、２、３、又は４である。

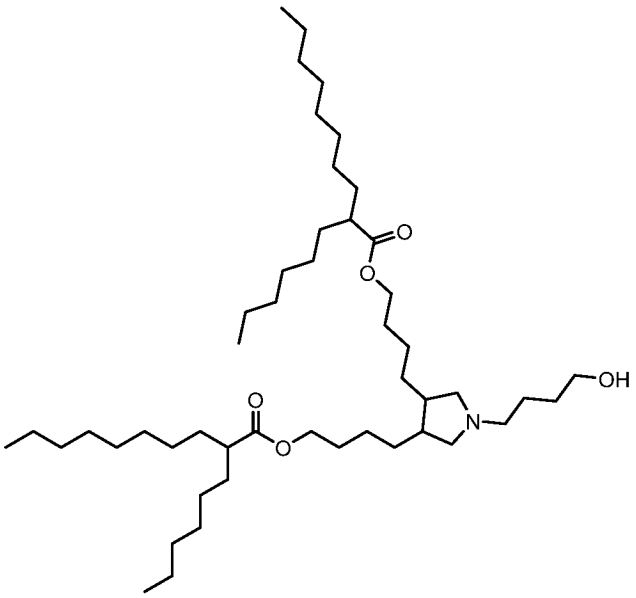
【０２４４】
いくつかの実施形態では、式（ＸＩＩ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、Ｈである。

【０２４５】
いくつかの実施形態では、式（ＸＩＩ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、メチルである。

【０２４６】
いくつかの実施形態では、式（ＸＩＩ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、４である。

【０２４７】
式（ＸＩＩ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これに限定されない：

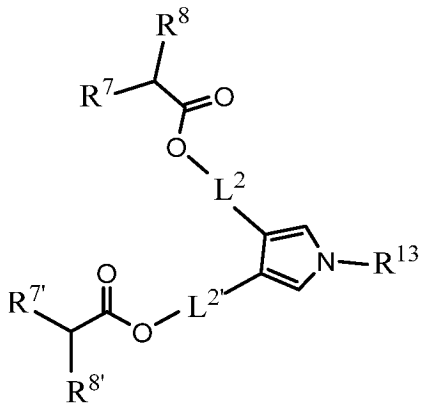
【化７４】



【０２４８】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＸＩＩＩ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化７５】



(XIII)

式中、

L^2は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、$L^{2'}$は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、R^7は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、$R^{7'}$は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、R^8は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、$R^{8'}$は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、R^{13}は、Ｈ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、－（CH_2）$_n$ＯＨ、又は－（CH_2）$_q$Ｎ（CH_3）$_2$であり、ｎは、２、３、又は４であり、ｑは、２、３、又は４である。

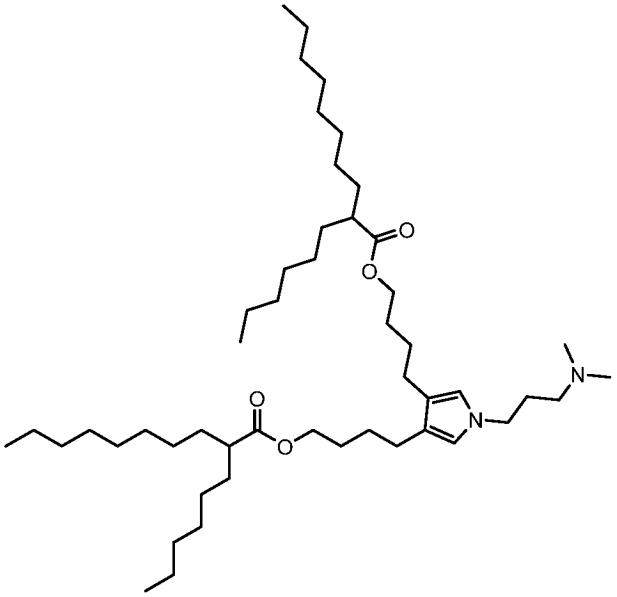
【０２４９】

いくつかの実施形態では、式（ＸＩＩＩ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、Ｈである。

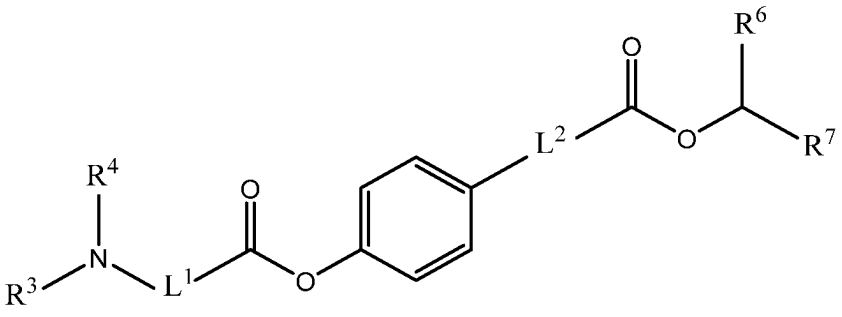
【０２５０】

いくつかの実施形態では、式（ＸＩＩＩ）において、L^2は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、$L^{2'}$は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、R^7は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、$R^{7'}$は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、R^8は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、$R^{8'}$は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、R^{13}は、メチルである。

【０２５１】
いくつかの実施形態では、式（ＸＩＩＩ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、２である。
【０２５２】
いくつかの実施形態では、式（ＸＩＩＩ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、－（ＣＨ２）ｑＮ（ＣＨ３）２であり、ｑは、３である。
【０２５３】
式（ＸＩＩＩ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これに限定されない：
【化７６】



【０２５４】
一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＸＩＶ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：
【化７７】



(XIV)

式中、
L^1は、C_1－C_6アルキレンであり、L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、R^3及びR^4は、各々独立して、Ｈ又はC_1－C_3アルキルであり、R^6は、C_4－C_{20}アル

キルであり、R^7は、C_4-C_{20}アルキルである。

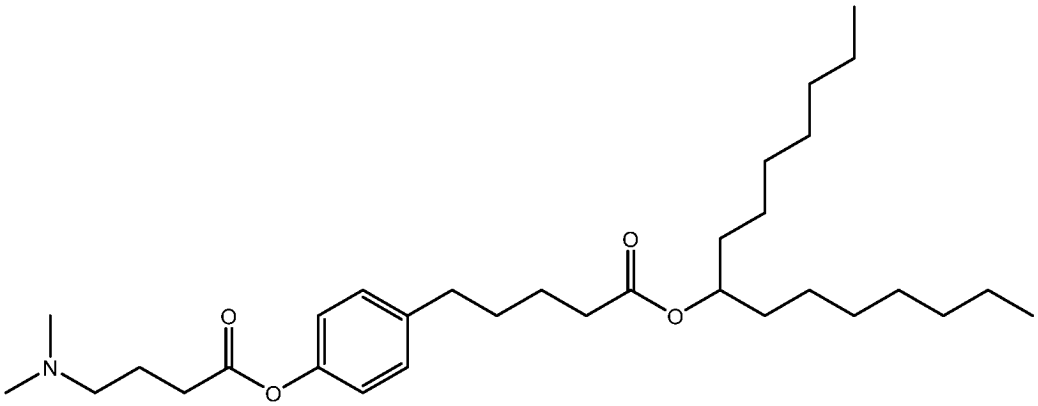
【０２５５】

いくつかの実施形態では、式（ＸＩＶ）について、L^1は、C_1-C_6アルキレンであり、L^2は、C_1-C_8アルキレンであり、R^3は、メチルであり、R^4は、メチルであり、R^6は、C_4-C_{20}アルキルであり、R^7は、C_4-C_{20}アルキルである。

【０２５６】

式（ＸＩＶ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これに限定されない：

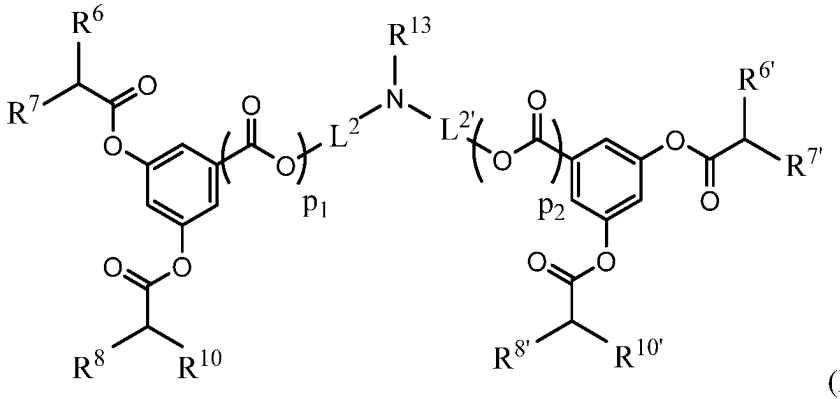
【化７８】



【０２５７】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＸＶ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化７９】



(XV)

式中、

L^2は、C_1-C_8アルキレンであり、$L^{2'}$は、C_1-C_8アルキレンであり、R^6は、C_4-C_{20}アルキルであり、$R^{6'}$は、C_4-C_{20}アルキルであり、R^7は、C_4-C_{20}アルキルであり、$R^{7'}$は、C_4-C_{20}アルキルであり、R^8は、C_4-C_{20}アルキルであり、$R^{8'}$は、C_4-C_{20}アルキルであり、R^{10}は、C_4-C_{20}アルキルであり、$R^{10'}$は、C_4-C_{20}アルキルであり、R^{13}は、Ｈ、C_1-C_6アルキル、$-(CH_2)_nOH$、又は$-(CH_2)_qN(CH_3)_2$であり、ｎは、２、３、又は４であり、p_1は、不在か、又は１であり、p_2は、不在か、又は１であり、ｑは、２、３、又は４である。

【０２５８】

いくつかの実施形態では、式（ＸＶ）において、L^2は、C_1-C_8アルキレンであり、$L^{2'}$は、C_1-C_8アルキレンであり、R^6は、C_4-C_{20}アルキルであり、$R^{6'}$は、C_4-C_{20}アルキルであり、R^7は、C_4-C_{20}アルキルであり、$R^{7'}$は、C_4-

Ｃ２０アルキルであり、Ｒ^{8}は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ^{8}’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ^{10}は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ^{10}’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ^{13}は、Ｈであり、ｐ１は、不在であり、ｐ２は、不在である。

【０２５９】

いくつかの実施形態では、式（ＸＶ）において、Ｌ^{2}は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ^{2}’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ^{6}は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ^{6}’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ^{7}は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ^{7}’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ^{8}は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ^{8}’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ^{10}は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ^{10}’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ^{13}は、Ｈであり、ｐ１は、１であり、ｐ２は、１である。

【０２６０】

いくつかの実施形態では、式（ＸＶ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、メチルであり、ｐ１は、不在であり、ｐ２は、不在である。

【０２６１】

いくつかの実施形態では、式（ＸＶ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、メチルであり、ｐ１は、１であり、ｐ２は、１である。

【０２６２】

いくつかの実施形態では、式（ＸＶ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、４であり、ｐ１は、不在であり、ｐ２は、不在である。

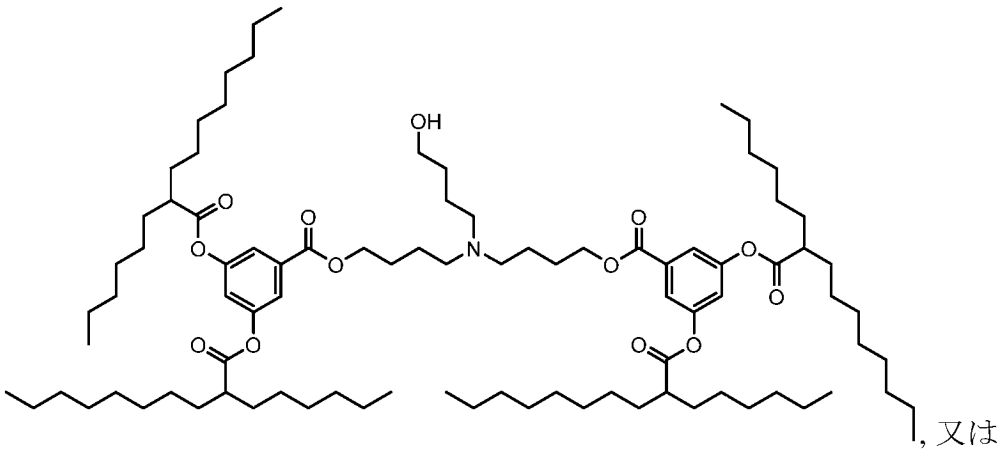
【０２６３】

いくつかの実施形態では、式（ＸＶ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ８’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１０’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、４であり、ｐ１は、１であり、ｐ２は、１である。

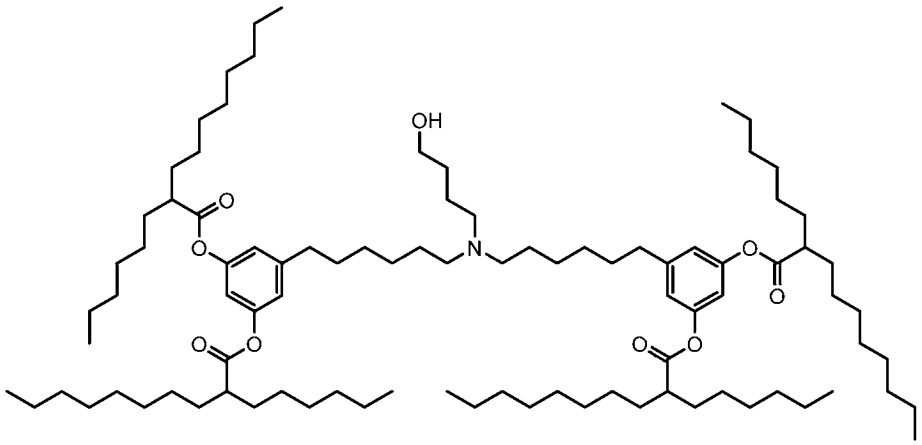
【０２６４】

式（ＸＶ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これらに限定されない：

【化８０】



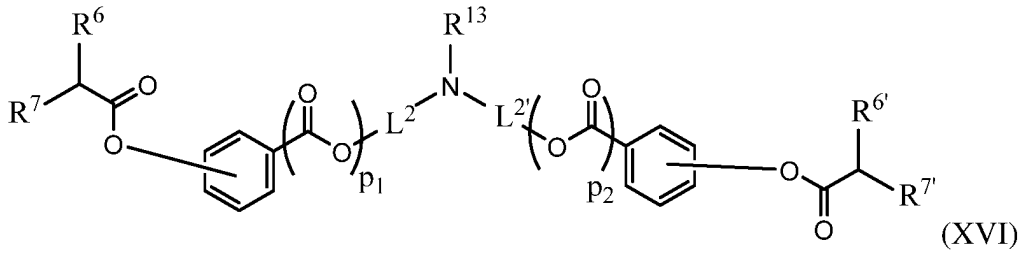
, 又は



【０２６５】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＸＶＩ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化８１】



(XVI)

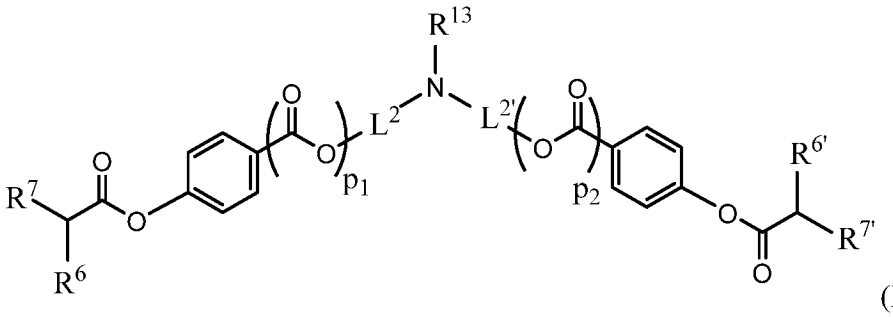
式中、

L^2は、C_1－C_8アルキレンであり、$L^{2'}$は、C_1－C_8アルキレンであり、R^6は、C_4－C_{20}アルキルであり、$R^{6'}$は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^7は、C_4－C_{20}アルキルであり、$R^{7'}$は、C_4－C_{20}アルキルであり、R^{13}は、Ｈ、C_1－C_6アルキル、－（CH_2）$_n$ＯＨ、又は－（CH_2）$_q$Ｎ（CH_3）$_2$であり、ｎは、２、３、又は４であり、p_1は、不在か、又は１であり、p_2は、不在か、又は１であり、ｑは、２、３、又は４である。

【０２６６】

一実施形態では、イオン化可能な脂質は、式（ＸＶＩ－Ａ）、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であり：

【化８２】



(XVI-A)

式中、
Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、Ｈ、Ｃ１－Ｃ６アルキル、－（ＣＨ２）ｎＯＨ、又は－（ＣＨ２）ｑＮ（ＣＨ３）２であり、ｎは、２、３、又は４であり、ｐ１は、不在か、又は１であり、ｐ２は、不在か、又は１であり、ｑは、２、３、又は４である。

【０２６７】

いくつかの実施形態では、式（ＸＶＩ）及び式（ＸＶＩ－Ａ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、Ｈであり、ｐ１は、不在か、又は１であり、ｐ２は、不在か、又は１である。

【０２６８】

いくつかの実施形態では、式（ＸＶＩ）及び式（ＸＶＩ－Ａ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、メチルであり、ｐ１は、不在か、又は１であり、ｐ２は、不在か、又は１である。

式（ＸＶＩ）及び式（ＸＶＩ－Ａ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、４であり、ｐ１は、不在であり、ｐ２は、不在である。

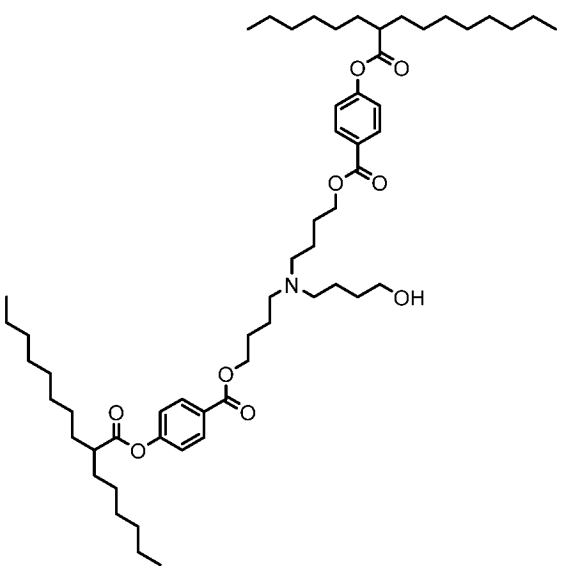
【０２６９】

いくつかの実施形態では、式（ＸＶＩ）及び式（ＸＶＩ－Ａ）において、Ｌ２は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｌ２’は、Ｃ１－Ｃ８アルキレンであり、Ｒ６は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ６’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ７’は、Ｃ４－Ｃ２０アルキルであり、Ｒ１３は、－（ＣＨ２）ｎＯＨであり、ｎは、４であり、ｐ１は、１であり、ｐ２は、１である。

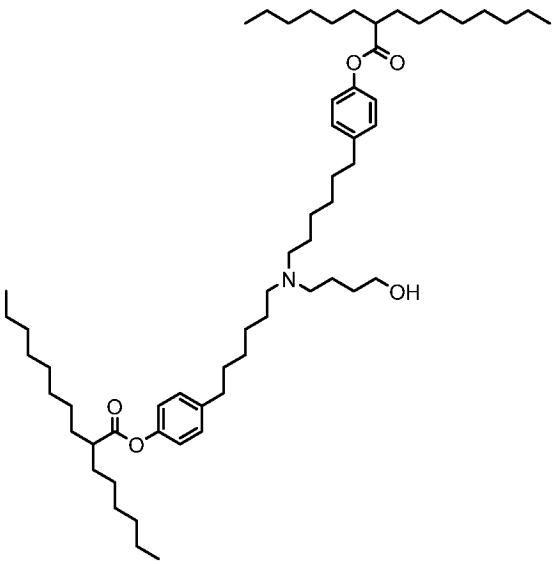
【０２７０】

式（ＸＶＩ）及び式（ＸＶＩ－Ａ）のイオン化可能な脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これらに限定されない：

【化８３】



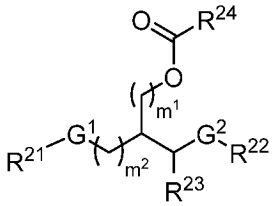
, 又は



【０２７１】

一実施形態では、化合物は、以下の式（ＸＶＩＩ）の構造、又はその立体異性体、塩、若しくは互変異性体を有し：

【化８４】



(XVII)

式中、

G^1及びG^2は、各々独立して、－ＯＣ（＝Ｏ）－、－ＮＲ^{25}Ｃ（＝Ｏ）－、又は－ＣＨ＝ＣＨ－であり、R^{21}及びR^{22}は、各々独立して、Ｃ$_1$－Ｃ$_6$アルキル、直鎖Ｃ$_{10}$－Ｃ$_{20}$アルキル、直鎖Ｃ$_{10}$－Ｃ$_{20}$アルケニル、又は分岐Ｃ$_{10}$－Ｃ$_{35}$アルケニ

ルであり、C_1－C_6アルキルは、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{26}で置換されており、R^{23}は、Ｈ、ＯＨ、又はＯＣH_3であり、R^{24}は、C_1－C_8ヘテロアルキルであり、R^{25}は、Ｈ又はC_1－C_4アルキルであり、R^{26}は、分岐C_{10}－C_{30}アルキルであり、m^1及びm^2は、各々独立して、０又は１の整数である。

【０２７２】

一実施形態では、G^1及びG^2は、各々独立して、－ＯＣ（＝Ｏ）－、－ＮR^{25}Ｃ（＝Ｏ）－、又は－ＣＨ＝ＣＨ－である。いくつかの実施形態では、G^1及びG^2は、各々－ＯＣ（＝Ｏ）－である。いくつかの実施形態では、G^1又はG^2のうちの一方は、－ＮR^{25}Ｃ（＝Ｏ）－であり、G^1又はG^2のうちの他方は、－ＣＨ＝ＣＨ－である。

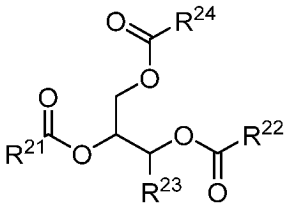
【０２７３】

一実施形態では、m^2は、０である。いくつかの実施形態では、m^2は、１である。

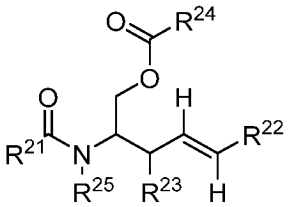
【０２７４】

一実施形態では、化合物は、式（ＸＶＩＩＡ）～（ＸＶＩＩＢ）の以下の構造のうちの１つ：

【化８５】



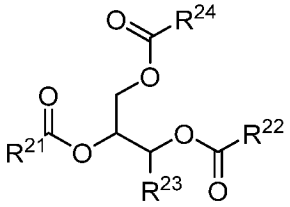
(XVIIA)



(XVIIB)

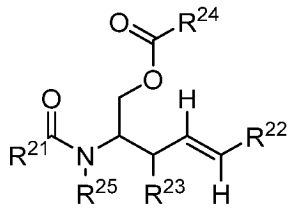
又はその立体異性体、塩若しくは互変異性体を有する。いくつかの実施形態では、化合物は、

【化８６】



である。いくつかの実施形態では、化合物は、

【化８７】

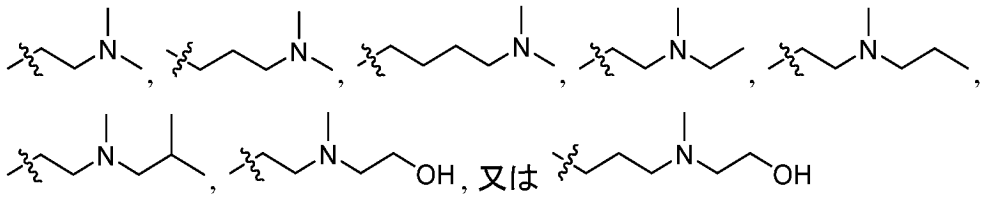


である。

【０２７５】

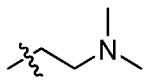
一実施形態では、Ｒ２４は、Ｃ１－Ｃ８ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、Ｃ３－Ｃ７ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、Ｃ３ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、Ｃ４ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、Ｃ５ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、Ｃ６ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、Ｃ７ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、Ｃ４アルキルアミンである。いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、Ｃ５アルキルアミンである。いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、Ｃ６アルキルアミンである。いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、Ｃ７アルキルアミンである。いくつかの特定の実施形態では、Ｒ２４は、

【化８８】



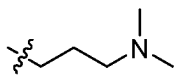
である。いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、

【化８９】



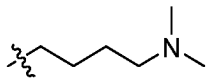
である。いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、

【化９０】



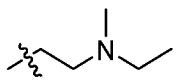
である。いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、

【化９１】

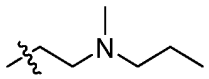


である。いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、

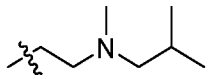
【化９２】



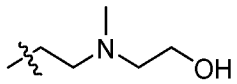
である。いくつかの実施形態では、R^{24}は、
【化９３】



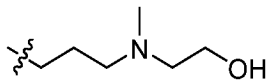
である。いくつかの実施形態では、R^{24}は、
【化９４】



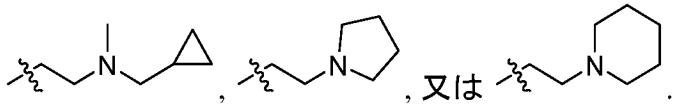
である。いくつかの実施形態では、R^{24}は、
【化９５】



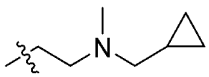
である。いくつかの実施形態では、R^{24}は、
【化９６】



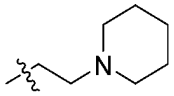
である。
【０２７６】
いくつかの実施形態では、R^{24}のC_1-C_8ヘテロアルキルは、シクロアルキルで更に置換される。いくつかの特定の実施形態では、R^{24}は、
【化９７】



である。いくつかの実施形態では、R^{24}は、
【化９８】

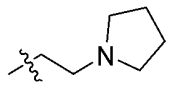


である。
【化９９】



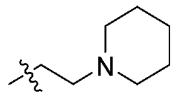
いくつかの実施形態では、R^{24}は、

【化１００】



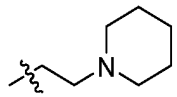
である。

【化１０１】



いくつかの実施形態では、R^{24}は、

【化１０２】



である。

【０２７７】

一実施形態では、R^{25}は、H又はC_1－C_4アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{25}は、Hである。いくつかの実施形態では、R^{25}は、C_1－C_4アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{25}は、C_1アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{25}は、C_2アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{25}は、C_3アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{25}は、C_4アルキルである。いくつかの特定の実施形態では、R^{25}は、－CH_3である。いくつかの他の特定の実施形態では、R^{25}は、－CH_2CH_3である。

【０２７８】

一実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々独立して、C_1－C_6アルキル、直鎖C_{10}－C_{20}アルキル、直鎖C_{10}－C_{20}アルケニル、又は分岐C_{10}－C_{35}アルケニルであり、C_1－C_6アルキルは、－OC（＝O）R^{26}で置換されている。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々独立して、－OC（＝O）R^{26}で置換されたC_2－C_5アルキル、直鎖C_{12}－C_{18}アルキル、直鎖C_{12}－C_{18}アルケニル、又は分岐C_{14}－C_{32}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}又はR^{22}のうちの一方は、直鎖C_{12}－C_{18}アルキルであり、R^{21}又はR^{22}のうちの他方は、直鎖C_{12}－C_{18}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}又はR^{22}のうちの一方は、－OC（＝O）R^{26}で置換されたC_2－C_5アルキルであり、R^{21}又はR^{22}のうちの他方は、直鎖C_{12}－C_{18}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{21}又はR^{22}のうちの一方は、直鎖C_{12}－C_{18}アルキルであり、R^{21}又はR^{22}のうちの他方は、分岐C_{14}－C_{32}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々、－OC（＝O）R^{26}で置換されたC_2－C_5アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々、－OC（＝O）R^{26}で置換されたC_2アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々、－OC（＝O）R^{26}で置換されたC_3アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々、－OC（＝O）R^{26}で置換されたC_4アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々、－OC（＝O）R^{26}で置換されたC_5アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{12}－C_{18}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{12}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{13}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{14}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{15}アルケニルである。いくつかの実施形態で

は、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{16}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{17}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{18}アルケニルである。

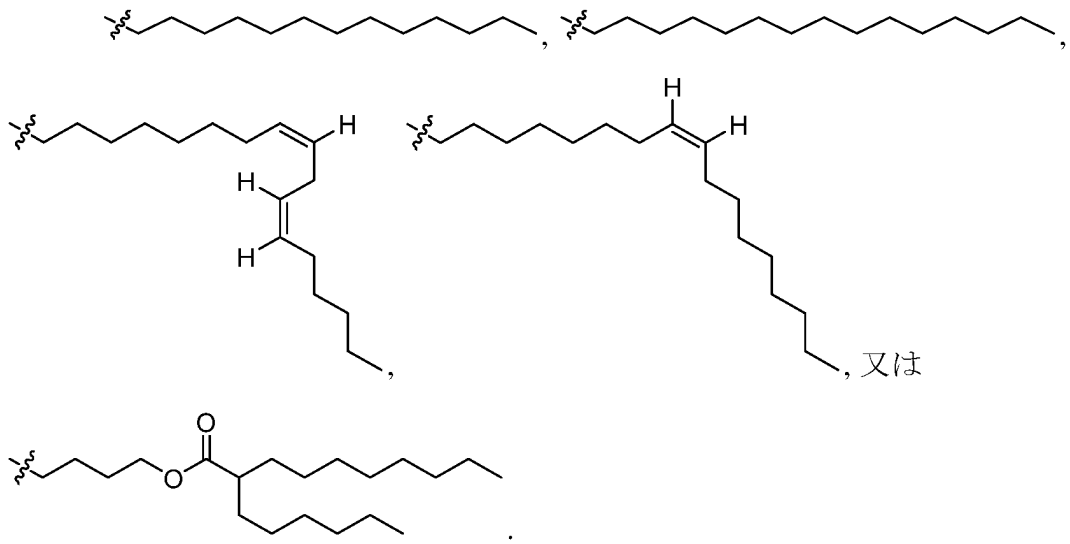
【０２７９】

一実施形態では、R^{26}は、分岐C_{10}－C_{30}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{10}－C_{20}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{12}－C_{18}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{12}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{13}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{14}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{15}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{16}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{17}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{18}アルキルである。

【０２８０】

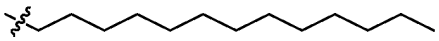
いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々独立して、以下の構造のうちの１つを有する：

【化１０３】



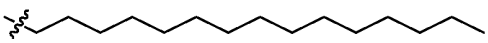
いくつかの実施形態では、R^{21}又はR^{22}は、

【化１０４】



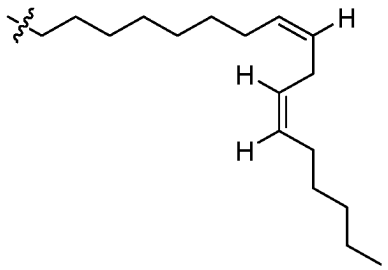
である。いくつかの実施形態では、R^{21}又はR^{22}は、

【化１０５】



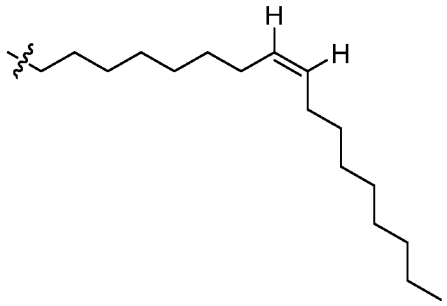
である。いくつかの実施形態では、R^{21}又はR^{22}は、

【化１０６】



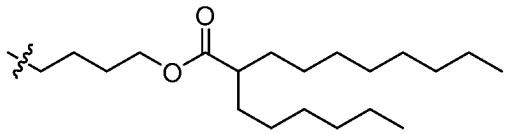
である。いくつかの実施形態では、Ｒ２１又はＲ２２は、

【化１０７】



である。いくつかの実施形態では、Ｒ２１又はＲ２２は、

【化１０８】



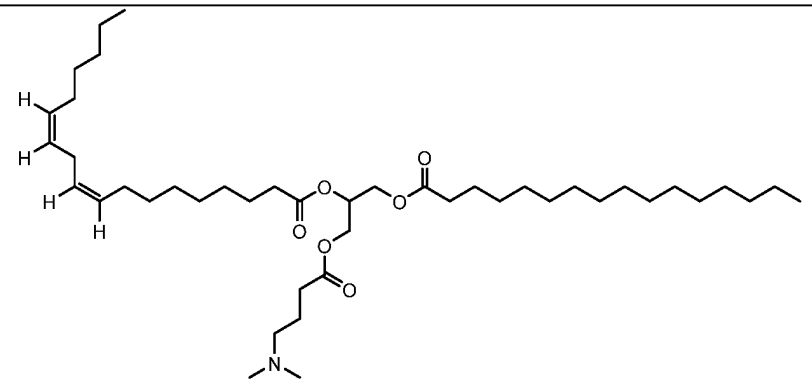
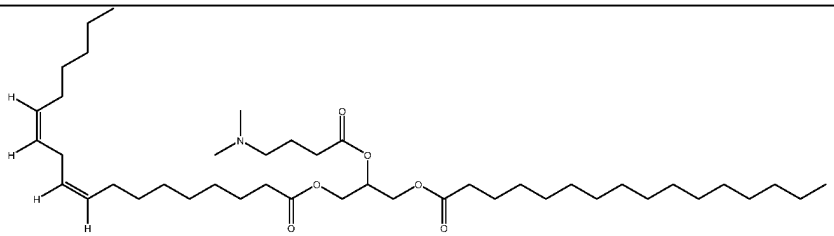
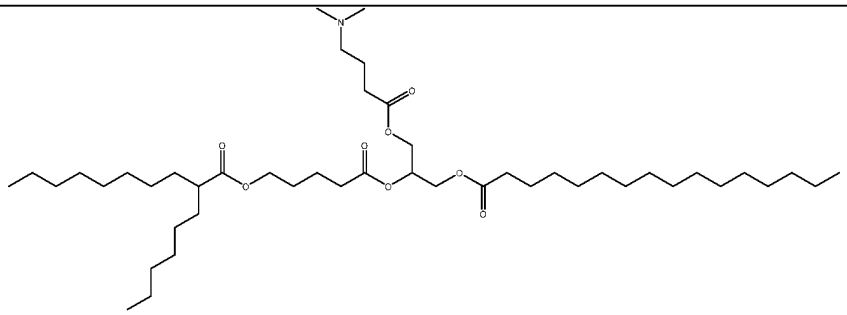
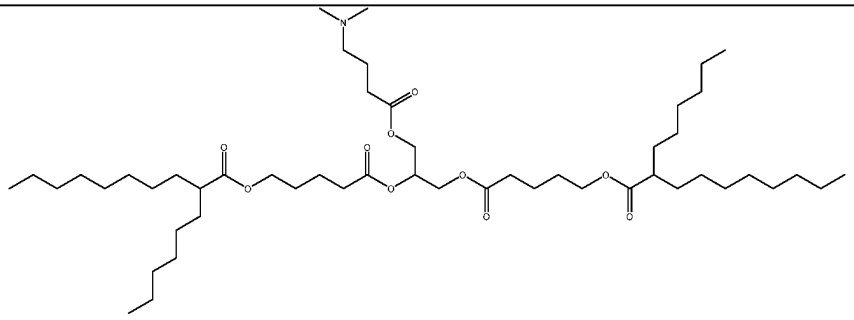
である。

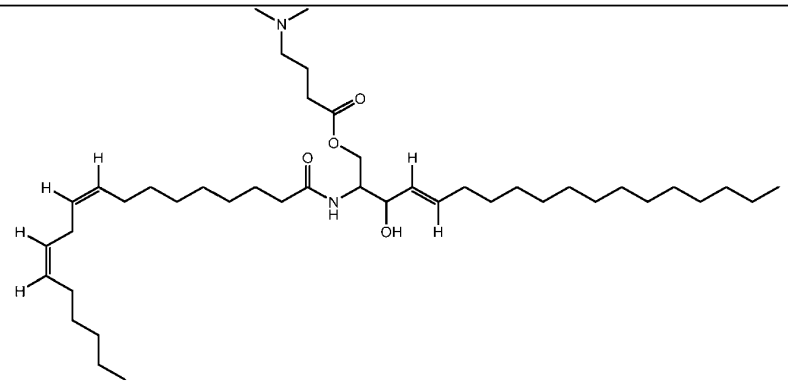
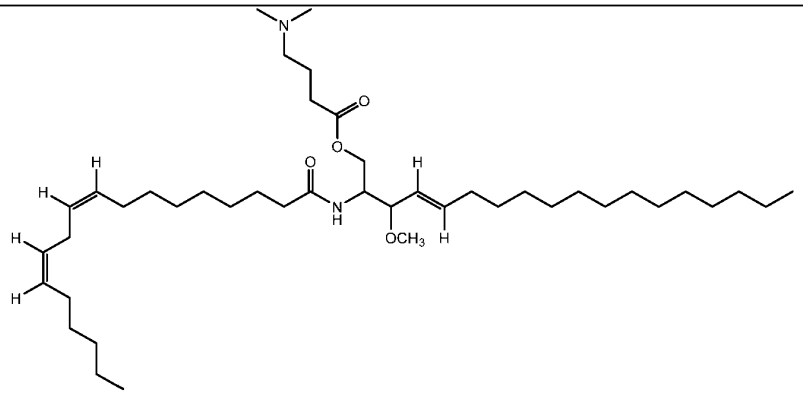
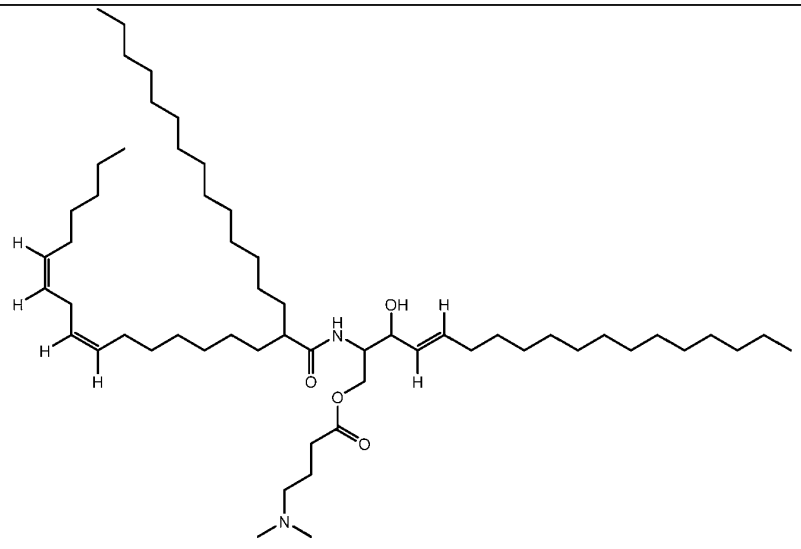
【０２８１】

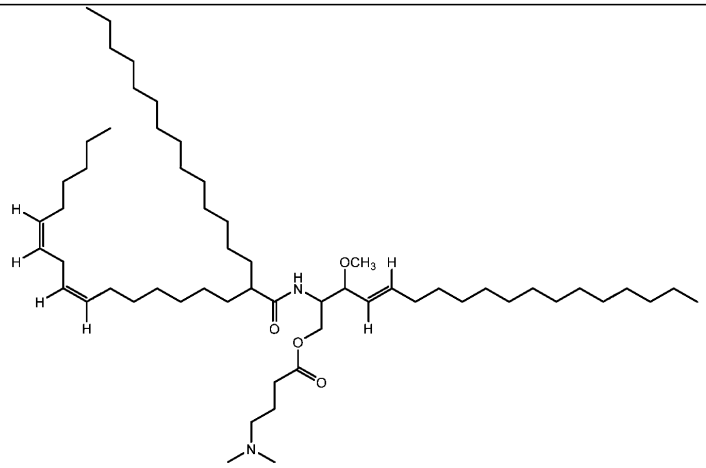
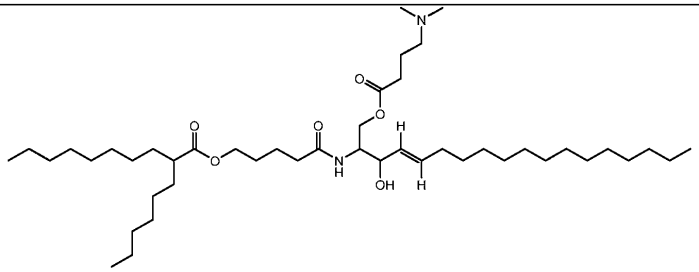
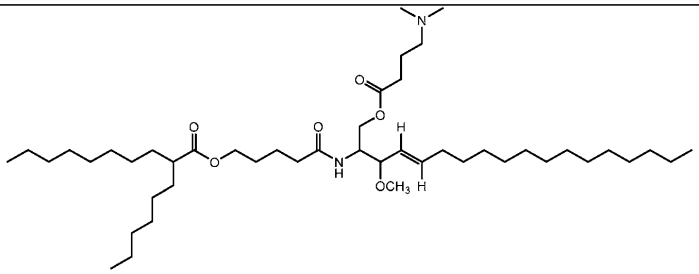
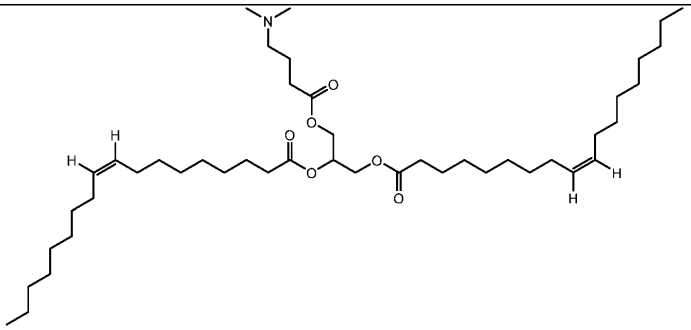
一実施形態では、化合物は、以下の表Ａに示される以下の構造のうちの１つを有する。

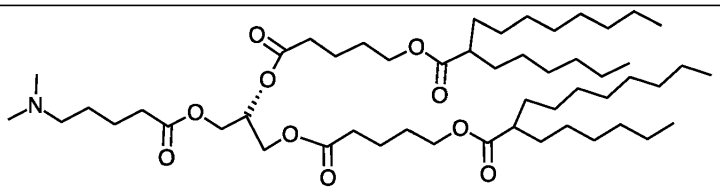
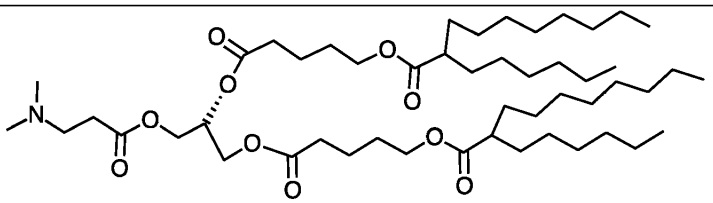
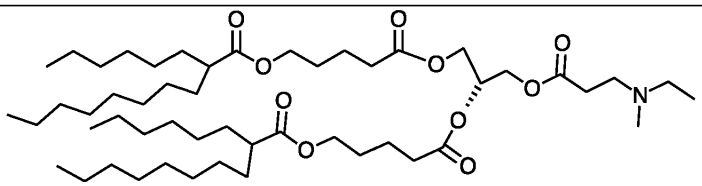
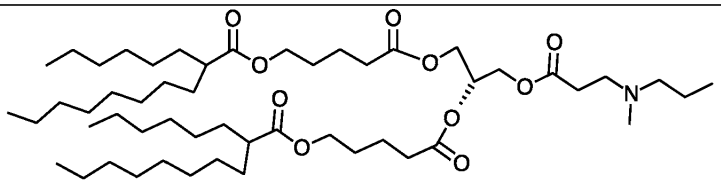
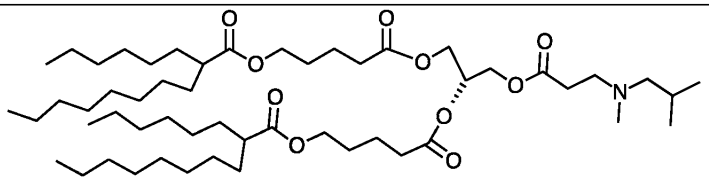
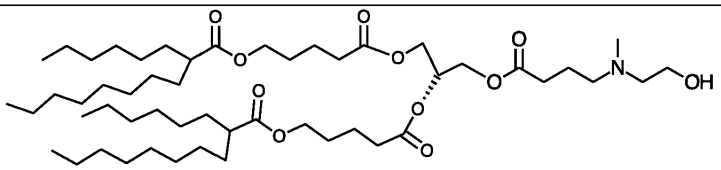
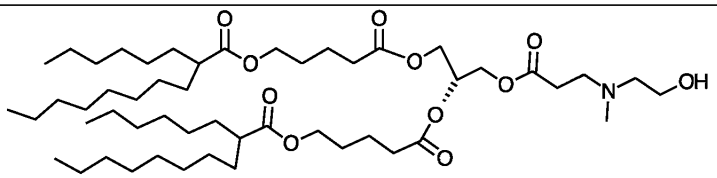
【数１】

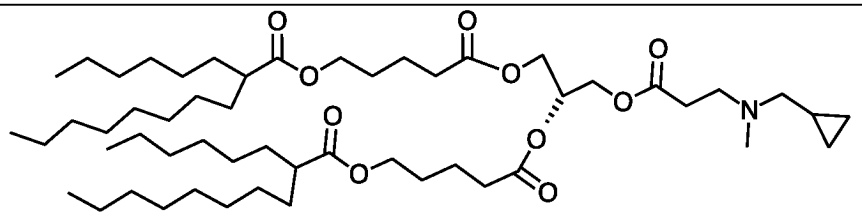
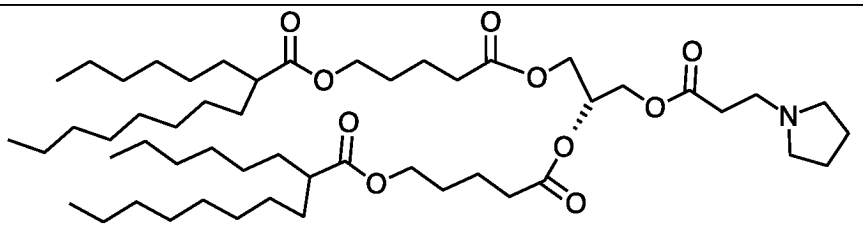
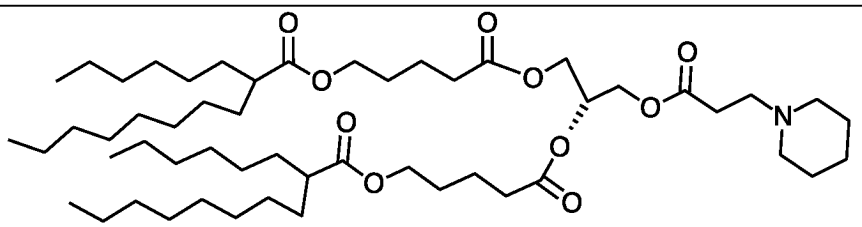
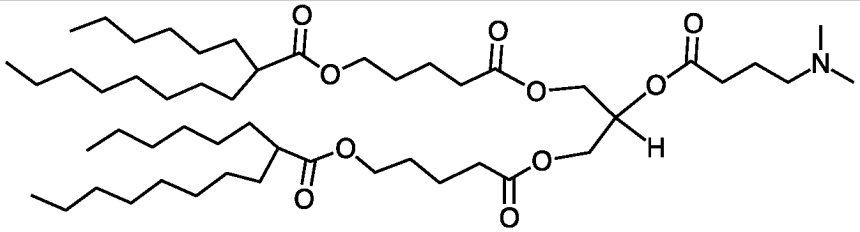
表Ａ： **(XVII)-(XVIIB)**の化合物のリスト

化合物 ID	構造
24	
25	
26	
27	

化合物 ID	構造
2	
3	
4OH	

化合物ID	構造
4OMe	
5OH	
5OMe	
6	

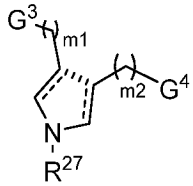
化合物 ID	構造
45	
46	
47	
48	
49	
50	
51	

化合物ID	構造
52	
53	
54	
55	

【０２８２】

一実施形態では、化合物は、以下の式（ＸＶＩＩＩ）の構造、又はその立体異性体、塩、若しくは互変異性体を有し：

【化１０９】



(XVIII)

式中、

G^3及びG^4は、各々独立して、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{28}、－Ｃ（＝Ｏ）ＯR^{28}、－Ｃ$H(CH_2OC(=O)R^{28})_2$、－Ｃ$(CH_2OC(=O)R^{28})_3$、－ＰｈＯＣ（＝Ｏ）R^{28}、－Ｐｈ$(=OC(=O)R^{28})_2$、－ＯＣ（＝Ｏ）Ｐｈ$(OC(=O)R^{28})_2$、又は－Ｃ（＝Ｏ）Ｏ$CH_2C(OC(=O)R^{28})(CH_2OC(=O)R^{28})$であり、$R^{27}$は、Ｈ、$C_1$－$C_6$アルキル、又は$C_1$－$C_6$ヘテロアルキルであり

、Ｒ２８は、各々独立して、直鎖Ｃ６－Ｃ１２アルキル、分岐Ｃ１０－Ｃ４０アルキル、直鎖Ｃ１５－Ｃ２０アルケニル、又は分岐Ｃ２０－Ｃ４０アルケニルであり、ｍ１及びｍ２は、各々独立して、１～６の整数であり、

⁞⁞⁞⁞

は、直接結合又は不在であり、

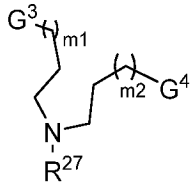
═══

は、単結合又は二重結合である。

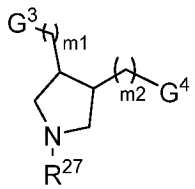
【０２８３】

一実施形態では、化合物は、式（ＸＶＩＩＩＡ）～（ＸＶＩＩＩＣ）の以下の構造のうちの１つ：

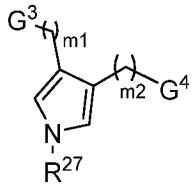
【化１１０】



(XVIIIA)



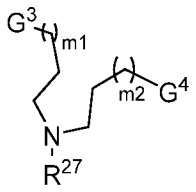
(XVIIIB)



(XVIIIC)

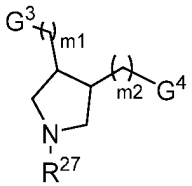
又はその立体異性体、塩若しくは互変異性体を有する。いくつかの実施形態では、化合物は、

【化１１１】



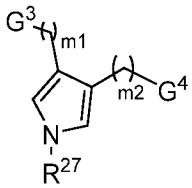
である。いくつかの実施形態では、化合物は、

【化１１２】



である。いくつかの実施形態では、化合物は、

【化１１３】

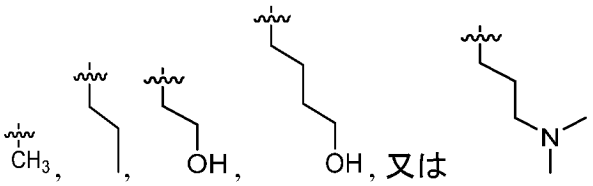


である。

【０２８４】

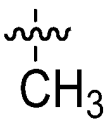
一実施形態では、R^{27}は、H、C_1-C_6アルキル、又はC_1-C_6ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、R^{27}は、H、C_1-C_3アルキル、又はC_1-C_5ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、R^{27}は、C_1-C_3アルキル、C_2-C_4アルキルアルコール、又はC_5アルキルアミンである。いくつかの特定の実施形態では、R^{27}は、以下の構造のうちの１つを有する：

【化１１４】



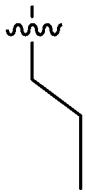
いくつかの実施形態では、R^{27}は、

【化１１５】



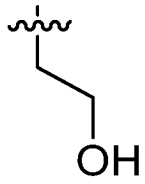
である。いくつかの実施形態では、R^{27}は、

【化１１６】



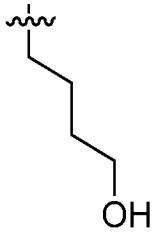
である。いくつかの実施形態では、R^{27}は、

【化１１７】



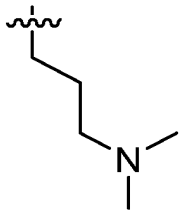
である。いくつかの実施形態では、R^{27}は、

【化１１８】



である。いくつかの実施形態では、R^{27}は、

【化１１９】

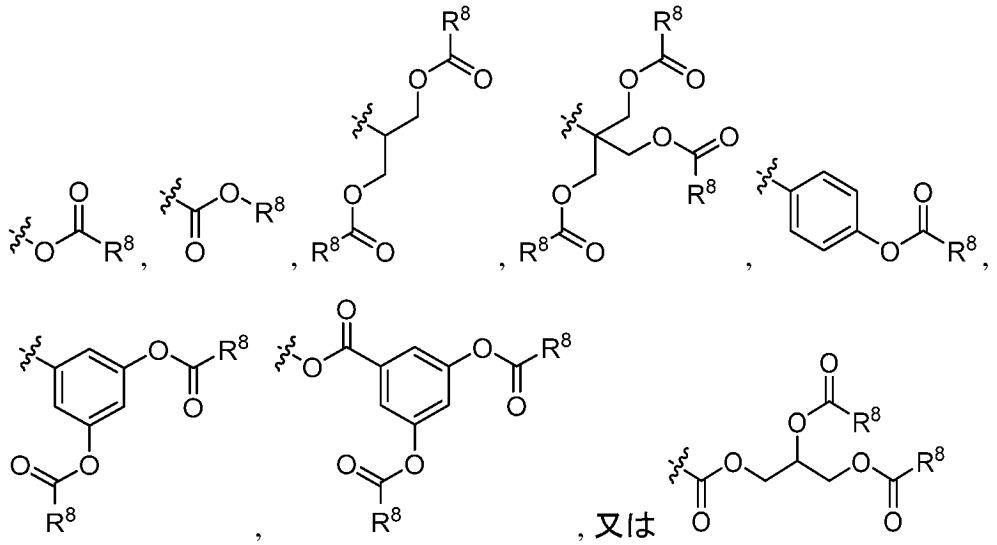


である。

【０２８５】

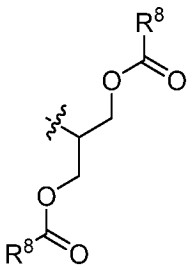
一実施形態では、G^3及びG^4は、各々独立して、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{28}、－Ｃ（＝Ｏ）ＯR^{28}、－ＣＨ（CH_2OC（＝Ｏ）R^{28}）$_2$、－Ｃ（CH_2OC（＝Ｏ）R^{28}）$_3$、－ＰｈＯＣ（＝Ｏ）R^{28}、－Ｐｈ（ＯＣ（＝Ｏ）R^{28}）$_2$、－ＯＣ（＝Ｏ）Ｐｈ（ＯＣ（＝Ｏ）R^{28}）$_2$、又は－Ｃ（＝Ｏ）ＯCH_2C（ＯＣ（＝Ｏ）R^{28}）（CH_2OC（＝Ｏ）R^{28}）である。いくつかの実施形態では、G^3及びG^4は、各々、以下の構造のうちの１つを有する：

【化１２０】



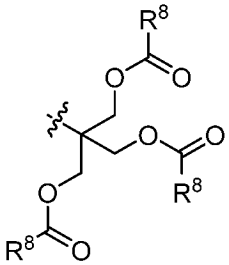
いくつかの実施形態では、G^3又はG^4は、

【化１２１】



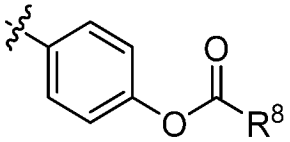
を有する。いくつかの実施形態では、G^3又はG^4は、

【化１２２】



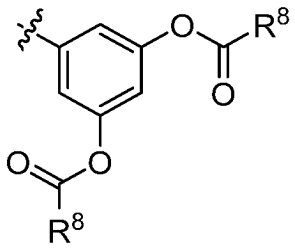
を有する。いくつかの実施形態では、G^3又はG^4は、

【化１２３】



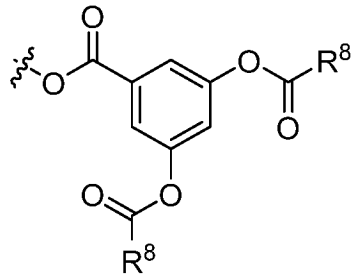
を有する。いくつかの実施形態では、G^3又はG^4は、

【化１２４】



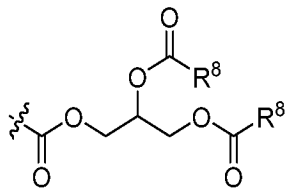
を有する。いくつかの実施形態では、G^3又はG^4は、

【化１２５】



を有する。いくつかの実施形態では、G^3又はG^4は、

【化１２６】



を有する。

【０２８６】

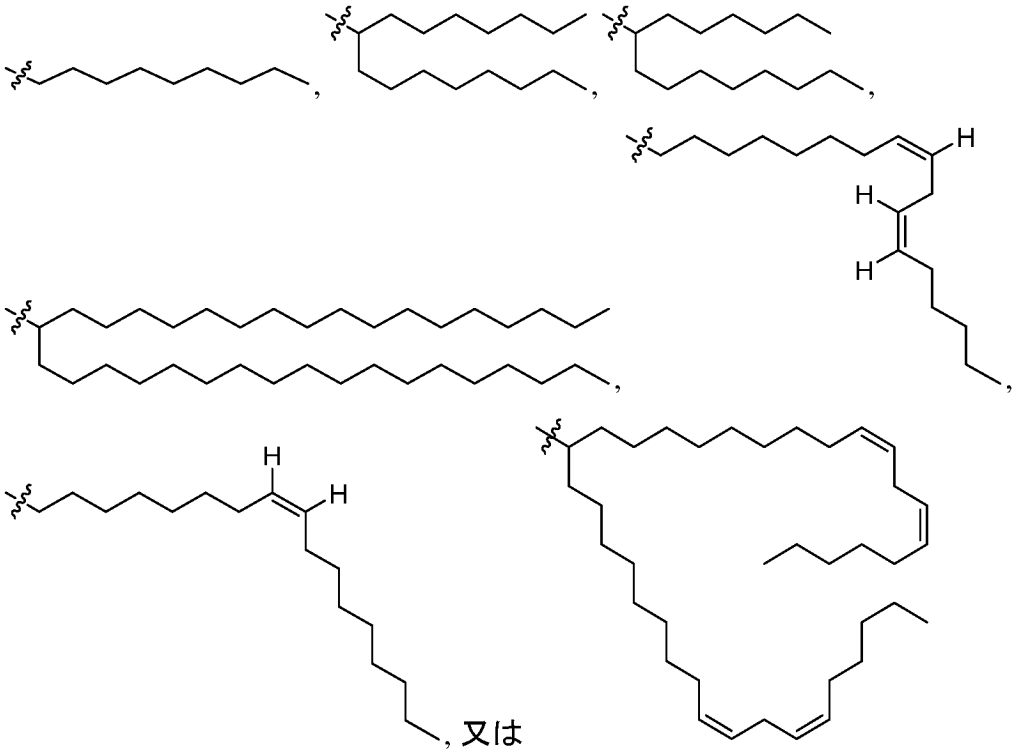
一実施形態では、R^{28}は、各々独立して、直鎖C_6－C_{12}アルキル、分岐C_{10}－C_{40}アルキル、直鎖C_{15}－C_{20}アルケニル、又は分岐C_{20}－C_{40}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、直鎖C_7－C_{10}アルキル、分岐C_{14}－C_{40}アルキル、直鎖C_{15}－C_{20}アルケニル、又は分岐C_{30}－C_{40}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、直鎖C_7アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、直鎖C_8アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、直鎖C_9アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、直鎖C_{10}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{14}－アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{15}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{16}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{17}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{18}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{19}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{20}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{21}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{22}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{23}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{24}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{25}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{26}アルキルである。いくつかの実施

形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{27}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{28}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{29}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{30}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{31}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{32}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{33}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{34}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{35}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{36}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{37}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{38}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{39}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{40}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、直鎖C_{15}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、直鎖C_{16}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、直鎖C_{17}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、直鎖C_{18}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、直鎖C_{19}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、直鎖C_{20}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{30}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{31}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{32}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{33}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{34}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{35}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{36}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{37}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{38}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{39}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{28}は、各々独立して、分岐C_{40}アルケニルである。

【０２８７】

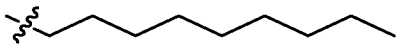
いくつかの特定の実施形態では、R^{28}は、各々独立して、以下の構造のうちの１つを有する：

【化１２７】



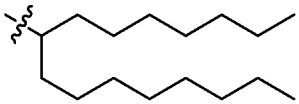
いくつかの実施形態では、R^{28}は、

【化１２８】



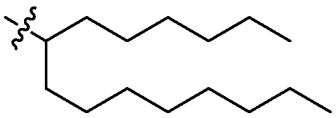
である。いくつかの実施形態では、R^{28}は、

【化１２９】



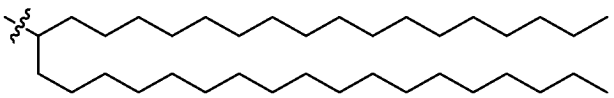
である。いくつかの実施形態では、R^{28}は、

【化１３０】



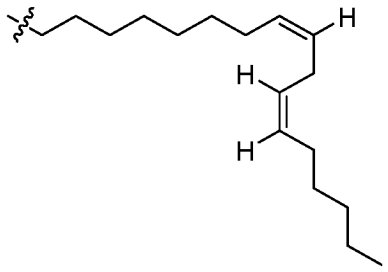
である。いくつかの実施形態では、R^{28}は、

【化１３１】



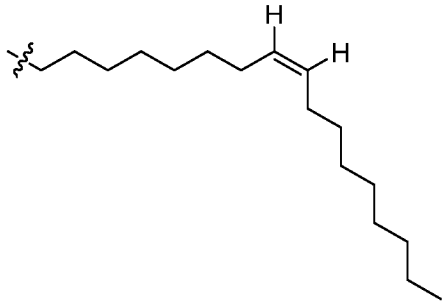
である。いくつかの実施形態では、R^{28}は、

【化１３２】



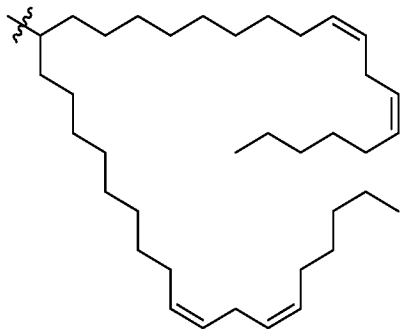
である。いくつかの実施形態では、Ｒ２８は、

【化１３３】



である。いくつかの実施形態では、Ｒ２８は、

【化１３４】



である。

【０２８８】

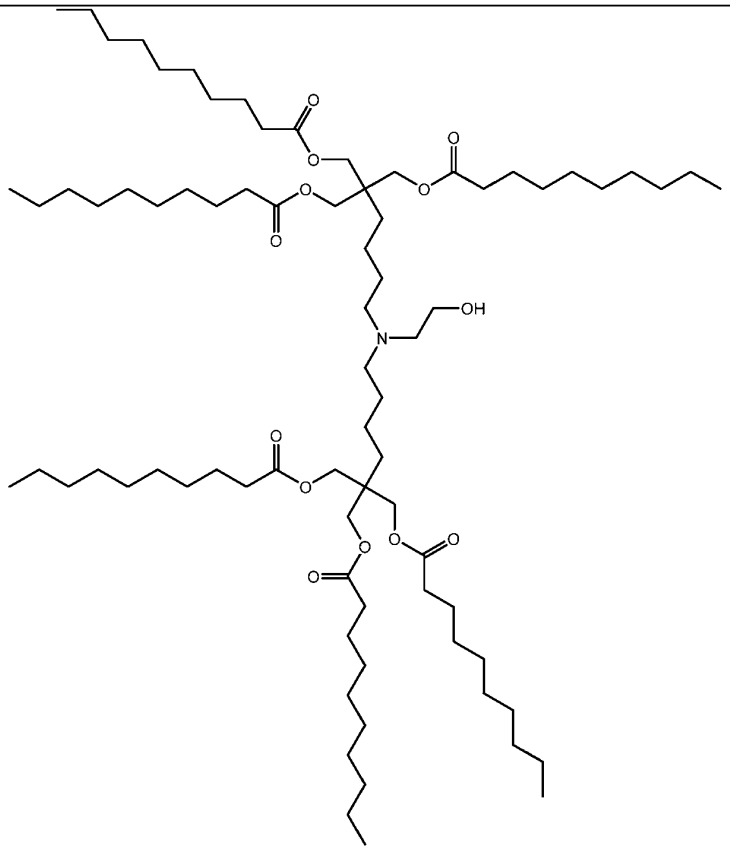
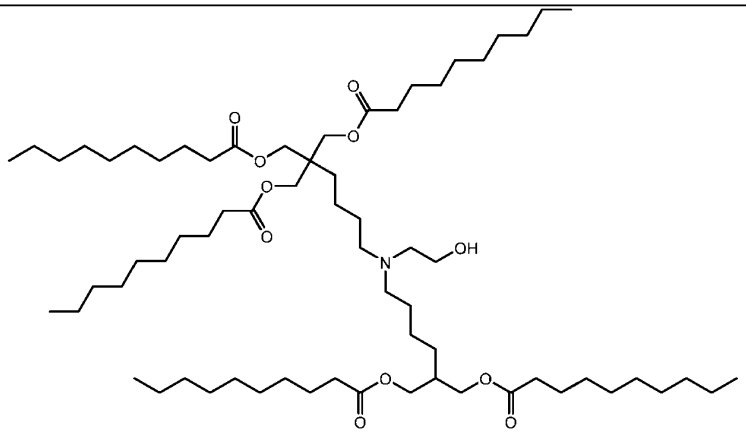
一実施形態では、ｍ１及びｍ２は、各々独立して、１～６の整数である。いくつかの実施形態では、ｍ１及びｍ２は、各々独立して、１～４の整数である。いくつかの特定の実施形態では、ｍ１又はｍ２は、１である。いくつかの特定の実施形態では、ｍ１又はｍ２は、２である。いくつかの特定の実施形態では、ｍ１又はｍ２は、３である。いくつかの特定の実施形態では、ｍ１又はｍ２は、４である。いくつかの特定の実施形態では、ｍ１又はｍ２は、５である。いくつかの特定の実施形態では、ｍ１又はｍ２は、６である。

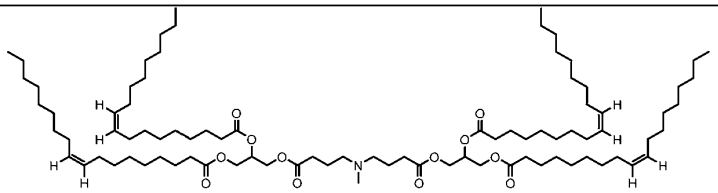
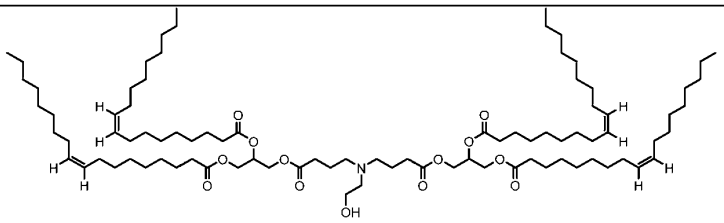
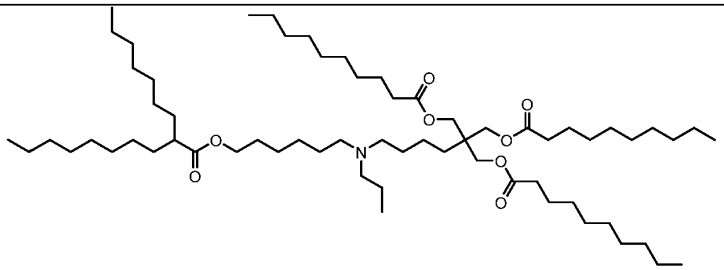
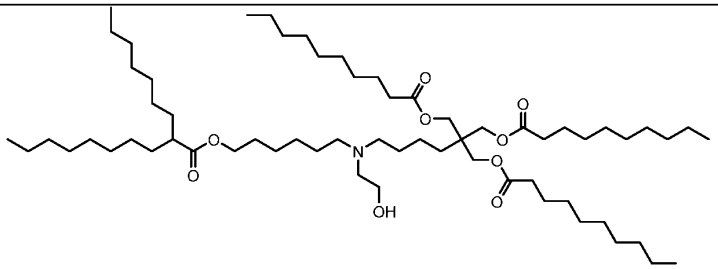
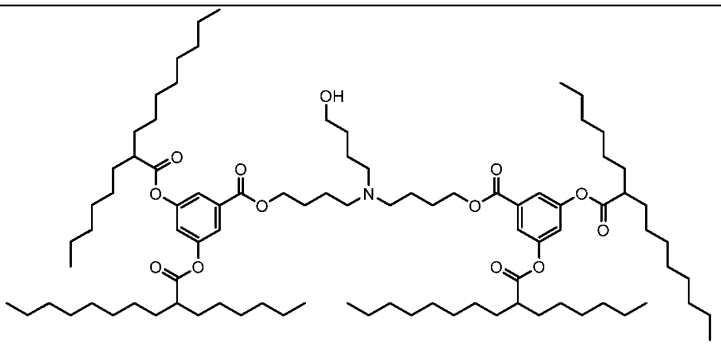
【０２８９】

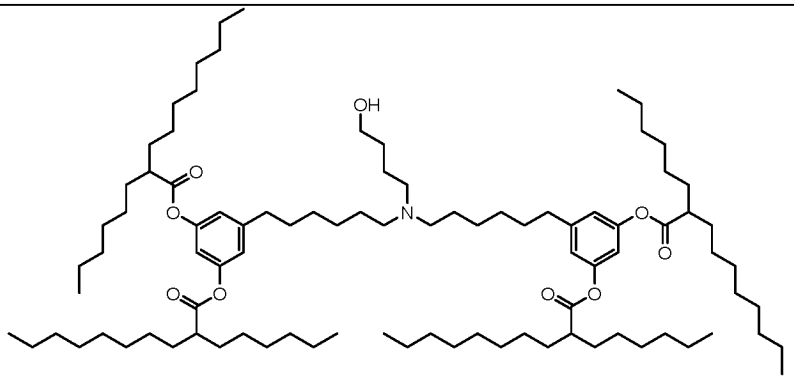
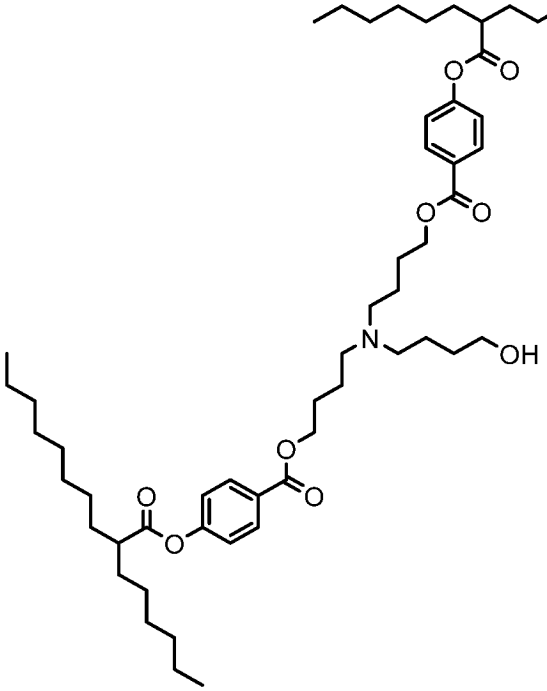
一実施形態では、化合物は、以下の表Ｂに示される以下の構造のうちの１つを有する。

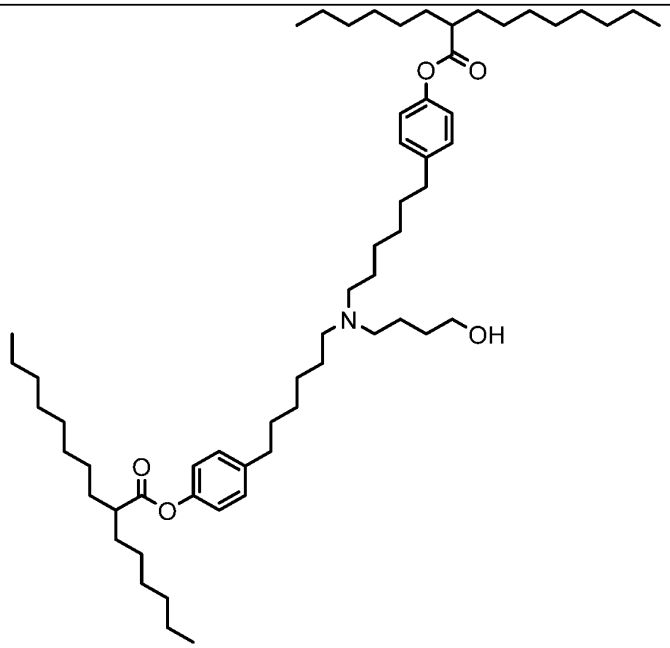
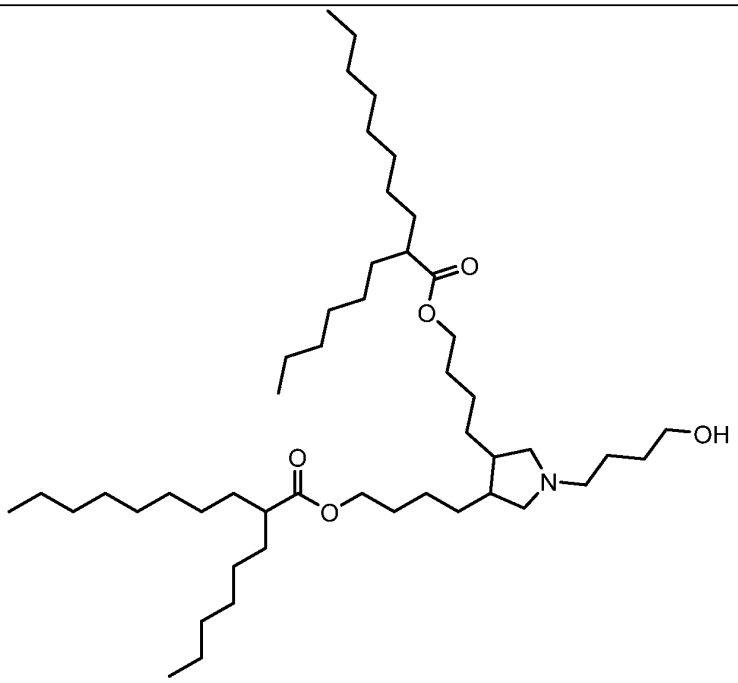
【数２】

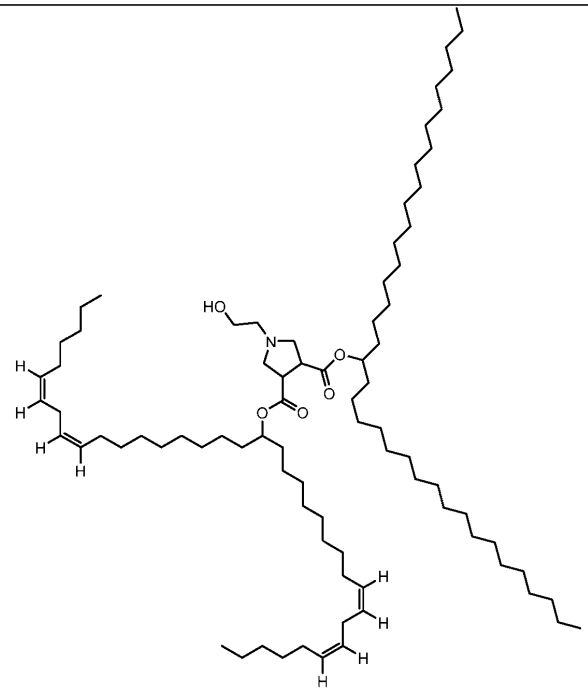
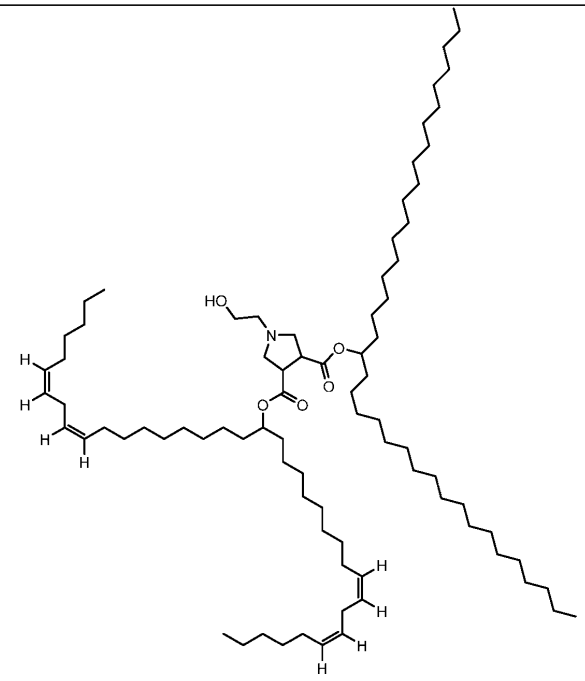
表Ｂ： **(XVIII)-(XVIIIC)**の化合物のリスト

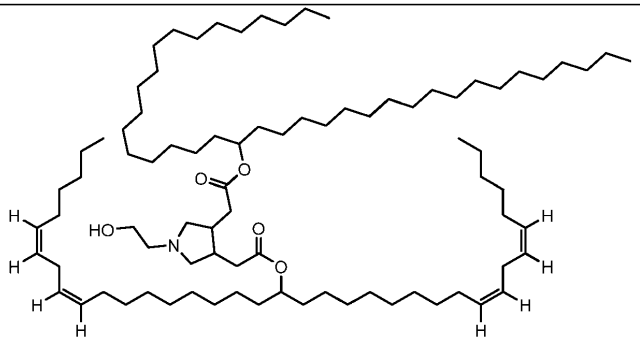
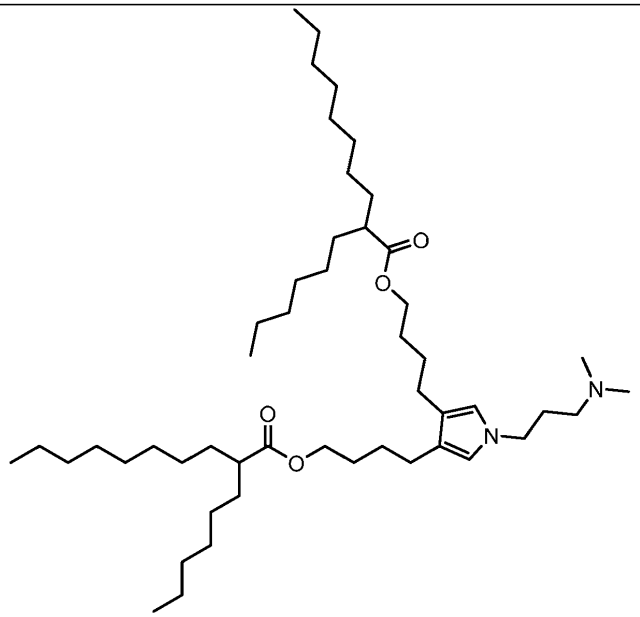
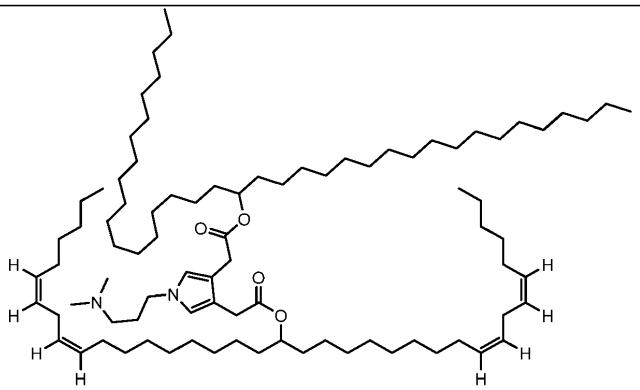
化合物 ID	構造
9	
10	

化合物 ID	構造
7	
8	
28	
11	
20	

化合物 ID	構造
29	
21	

化合物ID	構造
23	
17	

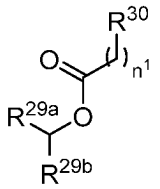
化合物ID	構造
15	
30	

化合物 ID	構造
14	
18	
16	

【０２９０】

一実施形態では、化合物は、以下の式（ＸＩＸ）の構造、又はその立体異性体、塩、若しくは互変異性体を有し：

【化１３５】



(XIX)

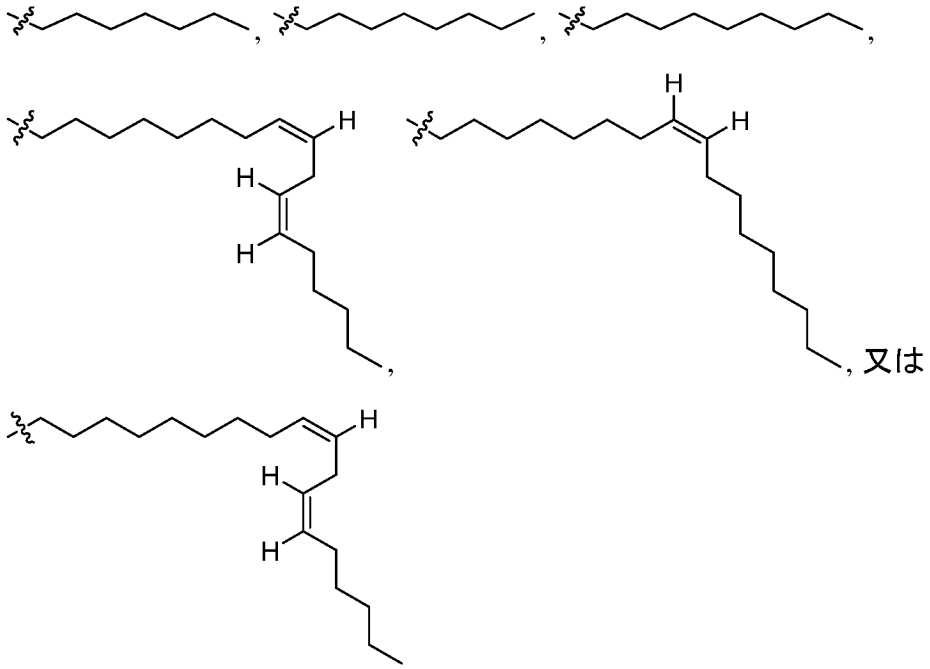
式中、

R^{29a}及びR^{29b}は、各々独立して、直鎖C_6－C_{10}アルキル又は直鎖C_{12}－C_{20}アルキレンであり、R^{30}は、アリール又はC_3－C_6複素環であり、アリール又はC_3－C_6複素環は、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{31}、C_1－C_4アルキル、又はC_1－C_4ヘテロアルキルで置換されており、R^{31}は、C_1－C_6ヘテロアルキルであり、n^1は、１～６の整数である。

【０２９１】

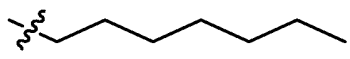
一実施形態では、R^{29a}及びR^{29b}は、各々独立して、直鎖C_6－C_{10}アルキル又は直鎖C_{12}－C_{20}アルキレンである。いくつかの実施形態では、R^{29a}及びR^{29b}は、各々直鎖C_6－C_{10}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{29a}及びR^{29b}は、各々直鎖C_{12}－C_{20}アルキレンである。いくつかの特定の実施形態では、R^{29a}及びR^{29b}は、各々独立して、以下の構造のうちの１つを有する：

【化１３６】



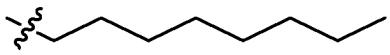
いくつかの実施形態では、R^{29a}又はR^{29b}は、

【化１３７】



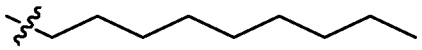
である。いくつかの実施形態では、R^{29a}又はR^{29b}は、

【化１３８】



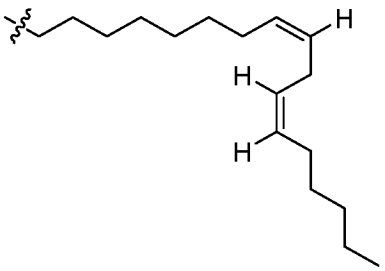
である。いくつかの実施形態では、R^{29a}又はR^{29b}は、

【化１３９】



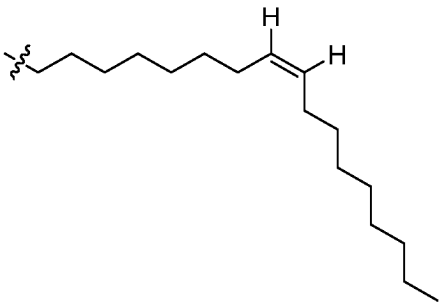
である。いくつかの実施形態では、R^{29a}又はR^{29b}は、

【化１４０】



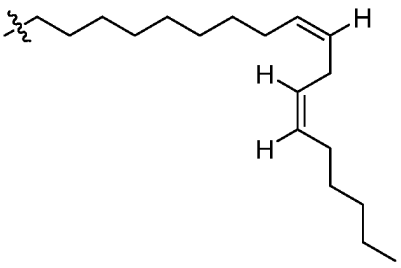
である。いくつかの実施形態では、R^{29a}又はR^{29b}は、

【化１４１】



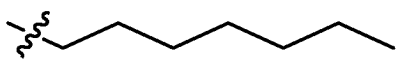
である。いくつかの実施形態では、R^{29a}又はR^{29b}は、

【化１４２】



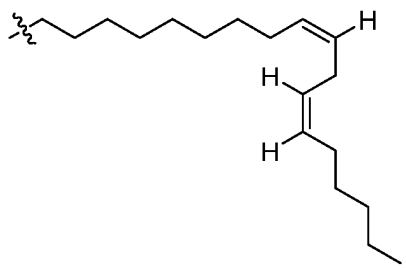
である。いくつかの特定の実施形態では、R^{29a}及びR^{29b}は、各々

【化１４３】



である。いくつかの他の特定の実施形態では、R^{29a}及びR^{29b}は、各々

【化１４４】

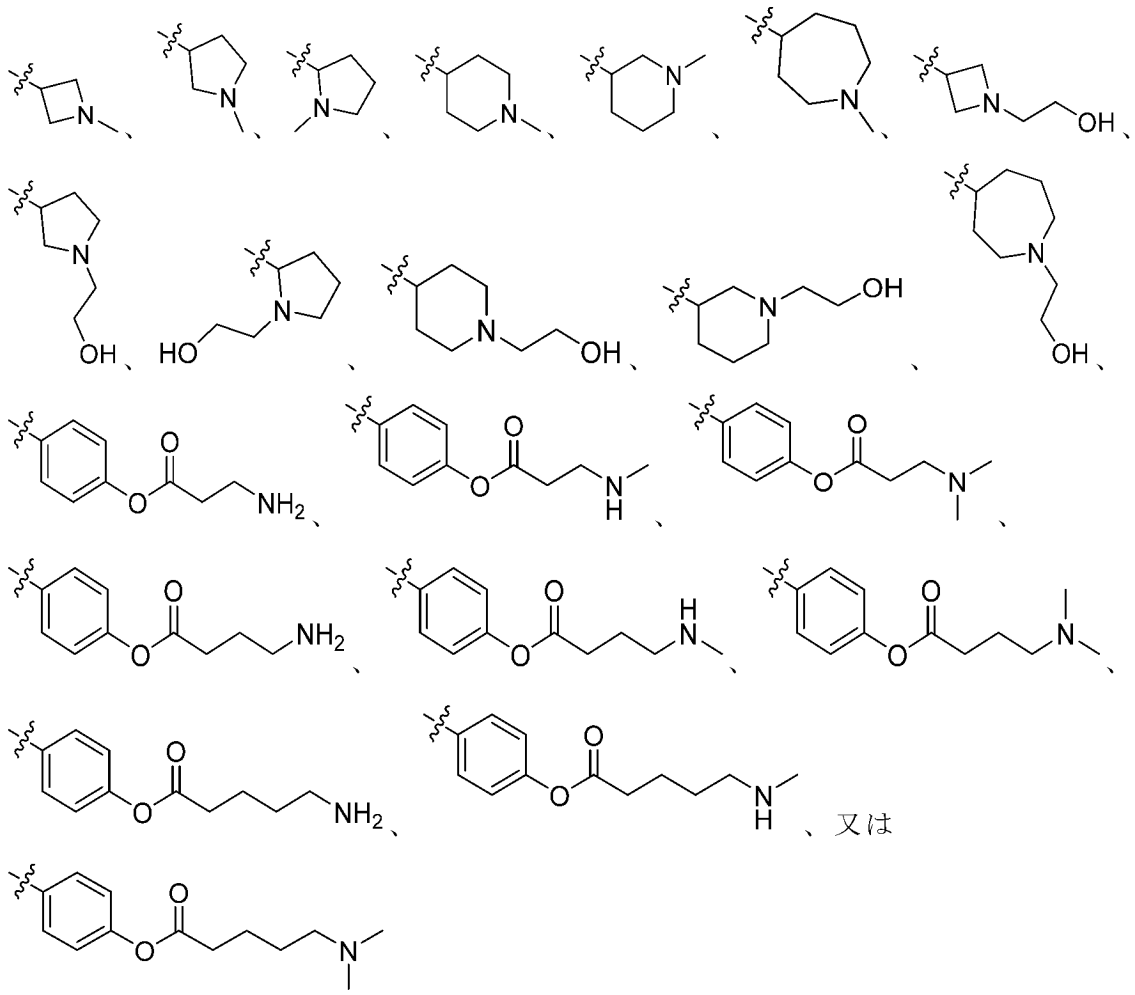


である。

【０２９２】

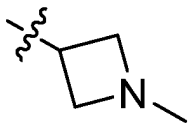
一実施形態では、R^{30}は、アリール又はC_3－C_6複素環であり、アリール又はC_3－C_6複素環は、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{31}、C_1－C_4アルキル、又はC_1－C_4ヘテロアルキルで置換されている。いくつかの実施形態では、R^{30}のアリールは、フェニル又はナフタレンである。いくつかの実施形態では、R^{30}のC_3－C_6複素環は、アゼチジン、ピロリジン、イミダゾリジン、ピラゾリジン、ピペリジン、ジアジナン、トリアジナン、又はアゼパンである。いくつかの実施形態では、R^{30}は、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{31}で置換されたアリール、又はC_1－C_4アルキルで置換されたC_3－C_6複素環、又はC_1－C_4ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{31}で置換されたフェニル、又はC_1－C_4アルキルで置換されたC_3－C_6Ｎ－複素環フェニル、又はC_1－C_4ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、R^{30}は、以下の構造のうちの１つを有する：

【化１４５】



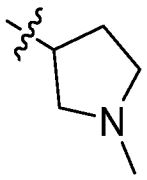
である。いくつかの実施形態では、Ｒ３０は、

【化１４６】



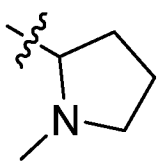
である。いくつかの実施形態では、Ｒ３０は、

【化１４７】



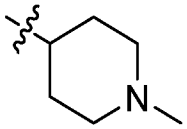
である。いくつかの実施形態では、Ｒ３０は、

【化１４８】



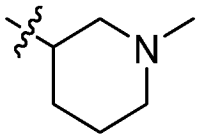
である。いくつかの実施形態では、R^{30}は、

【化１４９】



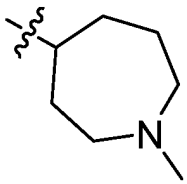
である。いくつかの実施形態では、R^{30}は、

【化１５０】



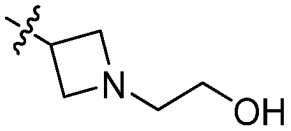
である。いくつかの実施形態では、R^{30}は、

【化１５１】



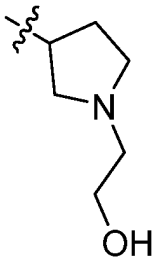
である。いくつかの実施形態では、R^{30}は、

【化１５２】



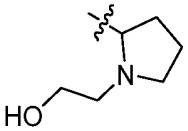
である。いくつかの実施形態では、R^{30}は、

【化１５３】



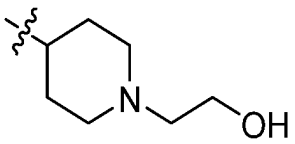
である。いくつかの実施形態では、R^{30}は、

【化１５４】



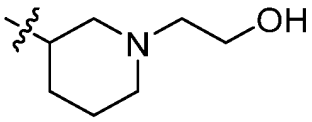
である。いくつかの実施形態では、R^{30}は、

【化１５５】



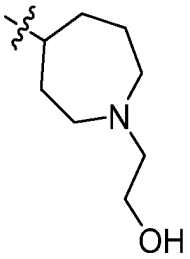
である。いくつかの実施形態では、Ｒ３０は、

【化１５６】



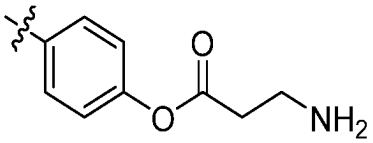
である。いくつかの実施形態では、Ｒ３０は、

【化１５７】



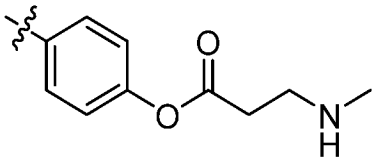
である。いくつかの実施形態では、Ｒ３０は、

【化１５８】



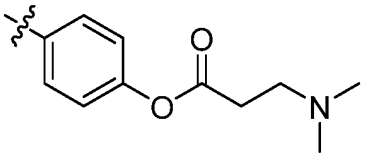
である。いくつかの実施形態では、Ｒ３０は、

【化１５９】



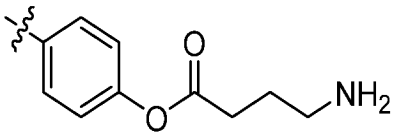
である。いくつかの実施形態では、Ｒ３０は、

【化１６０】



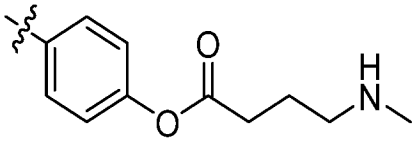
である。いくつかの実施形態では、Ｒ３０は、

【化１６１】



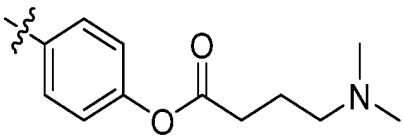
である。いくつかの実施形態では、Ｒ３０は、

【化１６２】



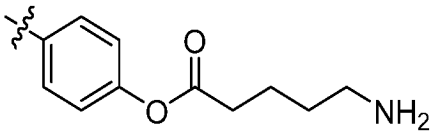
である。いくつかの実施形態では、Ｒ３０は、

【化１６３】



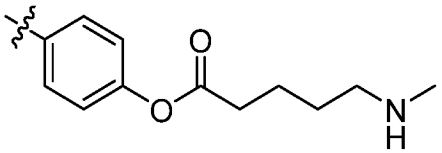
である。いくつかの実施形態では、Ｒ３０は、

【化１６４】



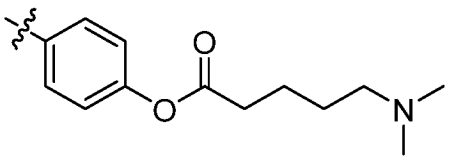
である。いくつかの実施形態では、Ｒ３０は、

【化１６５】



である。いくつかの実施形態では、Ｒ３０は、

【化１６６】



である。

【０２９３】

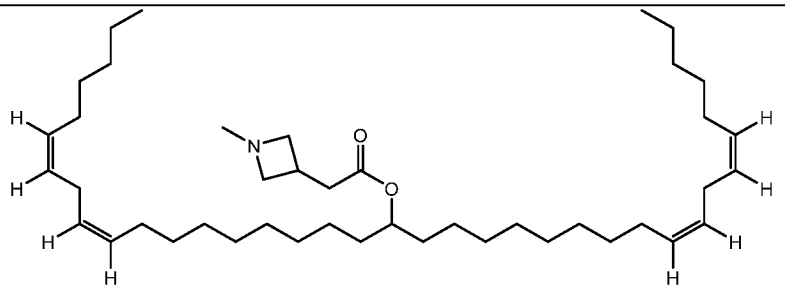
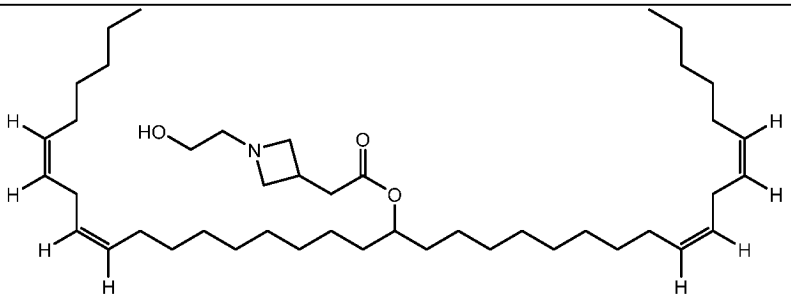
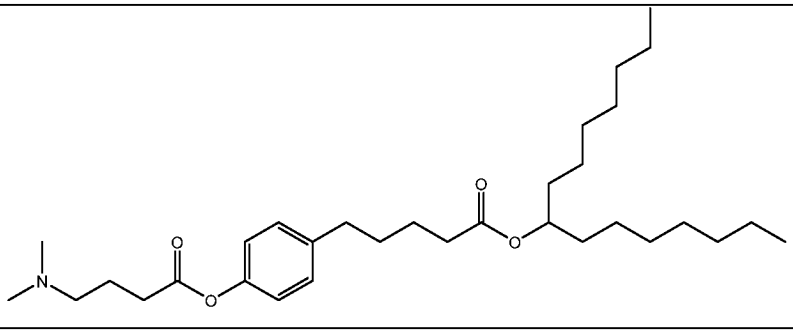
いくつかの実施形態では、ｎ^{1}は、１～４の整数である。いくつかの実施形態では、ｎ^{1}は、１の整数である。いくつかの実施形態では、ｎ^{1}は、２の整数である。いくつかの実施形態では、ｎ^{1}は、３の整数である。いくつかの実施形態では、ｎ^{1}は、４の整数である。いくつかの実施形態では、ｎ^{1}は、１又は４の整数である。

【０２９４】

一実施形態では、化合物は、以下の表Ｃに示される以下の構造のうちの１つを有する。

【数３】

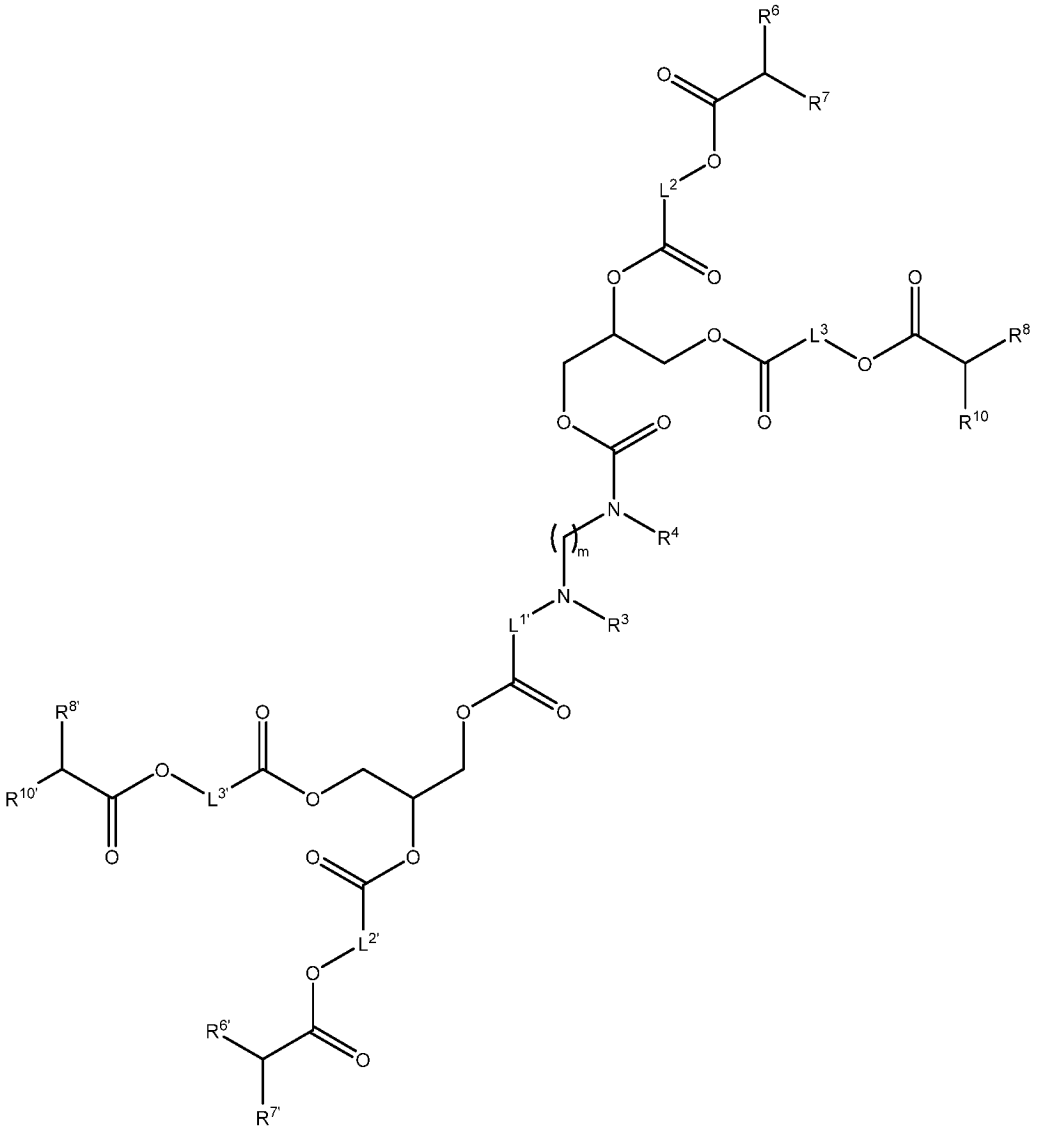
表Ｃ：**(XIX)**の化合物のリスト

化合物 ID	構造
12	
13	
19	

【０２９５】

一実施形態では、式（ＸＸＩ）のイオン化可能な脂質、又はその薬学的に許容され得る塩若しくは立体異性体であって：

【化１６７】



(XXI)

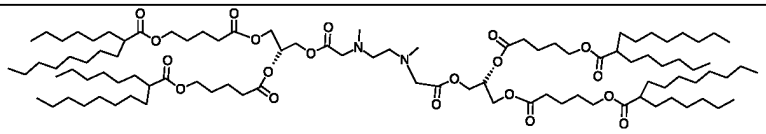
式中、
Ｌ^{1}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｌ^{1}’は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{6}$アルキレンであり、Ｌ^{2}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｌ^{2}’は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｌ^{3}は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｌ^{3}’は、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{8}$アルキレンであり、Ｒ^{3}及びＲ^{4}は、各々独立して、Ｈ、Ｃ$_{1}$－Ｃ$_{4}$アルキル、－ＣＨ$_{2}$－シクロプロピル、又は－（ＣＨ$_{2}$）$_{n}$ＯＨであり、Ｒ^{6}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{6}’は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{7}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{7}’は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{8}’は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{8}’は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{10}は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、Ｒ^{10}’は、Ｃ$_{4}$－Ｃ$_{20}$アルキルであり、ｎは、２、３、又は４であり、ｍは、１、２、３、４、又は５である。

【０２９６】

一実施形態では、化合物は、以下の表Ｄに示される以下の構造のうちの１つを有する。

【数４】

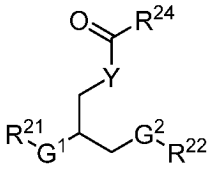
表Ｄ：**(XXI)**の化合物のリスト

化合物ID	構造
56	

【０２９７】

一実施形態では、化合物は、以下の式（ＸＸ）の構造、又はその立体異性体、塩、若しくは互変異性体であって：

【化１６８】



(XX)

式中、

G^1及びG^2は、各々独立して、－ＯＣ（＝Ｏ）－又は－ＮＲ^{25}Ｃ（＝Ｏ）－であり、R^{21}及びR^{22}は、各々独立して、Ｃ$_1$－Ｃ$_6$アルキル、直鎖Ｃ$_{10}$－Ｃ$_{20}$アルキル、直鎖Ｃ$_{10}$－Ｃ$_{20}$アルケニル、又は分岐Ｃ$_{10}$－Ｃ$_{35}$アルケニルであり、Ｃ$_1$－Ｃ$_6$アルキルは、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{26}で置換されており、R^{24}は、Ｃ$_1$－Ｃ$_6$ヘテロアルキル、アリール、又は４～８員ヘテロシクロアルキルで置換されたＣ$_1$－Ｃ$_4$アルキルであり、R^{25}は、Ｈ又はＣ$_1$－Ｃ$_4$アルキルであり、R^{26}は、分岐Ｃ$_{10}$－Ｃ$_{30}$アルキルであり、Ｙは、Ｏ又はＮR^{32}であり、R^{32}は、Ｈ又はＣ$_1$－Ｃ$_4$アルキルである。

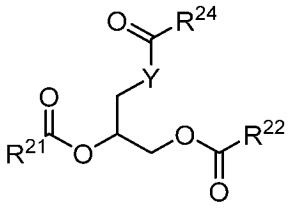
【０２９８】

一実施形態では、G^1及びG^2は、各々独立して、－ＯＣ（＝Ｏ）－又は－ＮＲ^{25}Ｃ（＝Ｏ）－である。いくつかの実施形態では、G^1及びG^2は、各々－ＯＣ（＝Ｏ）－である。いくつかの実施形態では、G^1及びG^2は、各々－ＮＲ^{25}Ｃ（＝Ｏ）－である。いくつかの実施形態では、G^1又はG^2のうちの一方は、－ＮＲ^{25}Ｃ（＝Ｏ）－であり、G^1又はG^2のうちの他方は、－ＯＣ（＝Ｏ）－である。

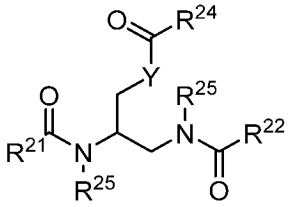
【０２９９】

一実施形態では、化合物は、以下の式（ＸＸＡ）～（ＸＸＢ）の構造のうちの１つ：

【化１６９】



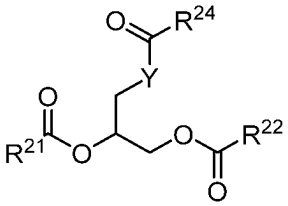
(XXA)



(XXB)

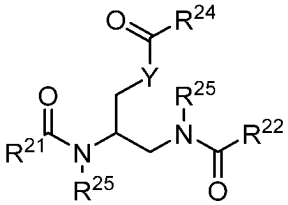
又はその立体異性体、塩若しくは互変異性体を有する。いくつかの実施形態では、化合物は、

【化１７０】



である。いくつかの実施形態では、化合物は、

【化１７１】



である。

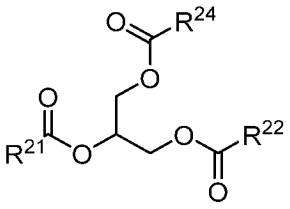
【０３００】

一実施形態では、Ｙは、Ｏである。他の実施形態では、Ｙは、ＮＲ^{32}であり、式中、Ｒ^{32}は、Ｈ又はＣ$_1$－Ｃ$_4$アルキルである。いくつかの特定の実施形態では、Ｙは、ＮＲ^{32}であり、Ｒ^{32}は、Ｈである。いくつかの他の実施形態では、Ｙは、ＮＲ^{32}であり、Ｒ^{32}は、Ｃ$_1$－Ｃ$_4$アルキルである。いくつかの実施形態では、Ｒ^{32}のＣ$_1$－Ｃ$_4$アルキルは、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソ－プロピル、ｎ－ブチル、ｓｅｃ－ブチル、又はｔｅｒｔ－ブチルである。

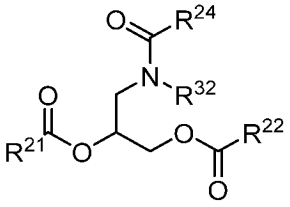
【０３０１】

一実施形態では、化合物は、以下の式（ＸＸＡ－１）～（ＸＸＢ－２）の構造のうちの１つ、又はその立体異性体、塩若しくは互変異性体を有する：

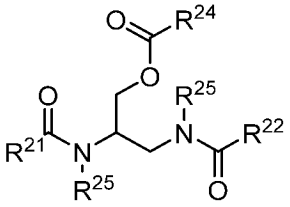
【化１７２】



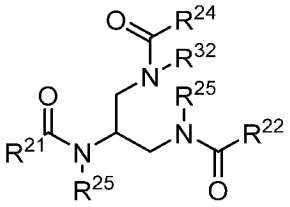
(XXA-1)



(XXA-2)



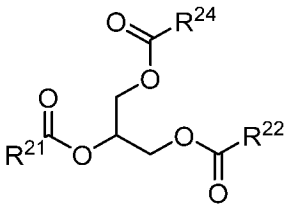
(XXB-1)



(XXB-2)

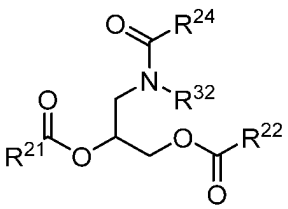
一実施形態では、化合物は、

【化１７３】



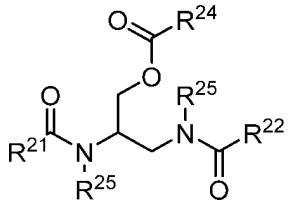
である。いくつかの実施形態では、化合物は、

【化１７４】



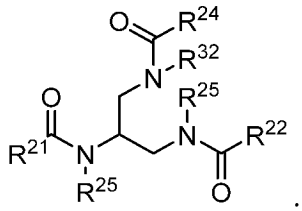
である。いくつかの実施形態では、化合物は、

【化１７５】



である。いくつかの実施形態では、化合物は、

【化１７６】

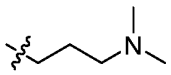


である。

【０３０２】

一実施形態では、R^{24}は、C_1-C_6ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、R^{24}は、C_3-C_6ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、R^{24}は、C_3ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、R^{24}は、C_4ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、R^{24}は、C_5ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、R^{24}は、C_6ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、R^{24}は、C_5アルキルアミンである。いくつかの特定の実施形態では、R^{24}は、

【化１７７】

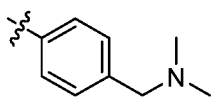


である。

【０３０３】

一実施形態では、R^{24}は、アリールである。いくつかの実施形態では、R^{24}のアリールは、C_1-C_6ヘテロアルキルで置換されている。いくつかの実施形態では、R^{24}のアリールは、フェニル又はナフタレンである。いくつかの特定の実施形態では、R^{24}のアリールは、フェニルである。いくつかの他の実施形態では、R^{24}のアリールは、C_2-C_4ヘテロアルキルで置換されている。いくつかの実施形態では、例えば、C_2-C_4ヘテロアルキルは、置換アミンである。いくつかの実施形態では、R^{24}は、C_2-C_4ヘテロアルキルで置換されたフェニルである。いくつかの実施形態では、R^{24}は、C_3ヘテロアルキルで置換されたフェニルである。いくつかの特定の実施形態では、R^{24}の置換アリールは、

【化１７８】

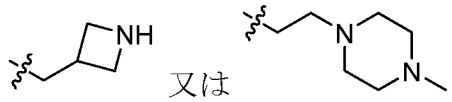


である。

【０３０４】

一実施形態では、R^{24}は、４～８員ヘテロシクロアルキルで置換されたC_1-C_4アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{24}は、４～６員ヘテロシクロアルキルで置

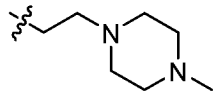
換されたＣ１－Ｃ３アルキルである。いくつかの実施形態では、例えば、Ｒ２４のＣ１－Ｃ３アルキルは、メチル、エチル、又はｎ－プロピルである。いくつかの実施形態では、例えば、Ｒ２４の４～６員ヘテロシクロアルキルは、アゼチジン、オキセタン、ホスフェタン、チエタン、ジアゼチジン、ジオキセタン、ジチエタン、ピロリジン、テトラヒドロフラン、ホスホラン、テトラヒドロチオフェン、イミダゾリジン、ピラゾリジン、オザチオリジン、イソキシチオリジン、オザゾリジン、イソキサゾリジン、チアゾリジン、ジオキソラン、ジチオラネ、ピペリジン、オキサン、ホスフィナン、チアン、ジアジナン、モルホリン、オキサチアン、ジオキサン、又はジチアンである。いくつかの特定の実施形態では、Ｒ２４の４～６員ヘテロシクロアルキルは、アゼチジン又は１，４－ジアジナンである。いくつかの実施形態では、
Ｒ２４は、以下の構造のうちの１つを有する：
【化１７９】



いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、
【化１８０】



である。いくつかの実施形態では、Ｒ２４は、
【化１８１】



である。
【０３０５】
一実施形態では、Ｒ２５は、Ｈ又はＣ１－Ｃ４アルキルである。いくつかの実施形態では、Ｒ２５は、Ｈである。いくつかの実施形態では、Ｒ２５は、Ｃ１－Ｃ４アルキルである。いくつかの実施形態では、Ｒ２５は、Ｃ１アルキルである。いくつかの実施形態では、Ｒ２５は、Ｃ２アルキルである。いくつかの実施形態では、Ｒ２５は、Ｃ３アルキルである。いくつかの実施形態では、Ｒ２５は、Ｃ４アルキルである。いくつかの特定の実施形態では、Ｒ２５は、－ＣＨ３である。いくつかの他の特定の実施形態では、Ｒ２５は、－ＣＨ２ＣＨ３である。
【０３０６】
一実施形態では、Ｒ２１及びＲ２２は、各々独立して、Ｃ１－Ｃ６アルキル、直鎖Ｃ１０－Ｃ２０アルキル、直鎖Ｃ１０－Ｃ２０アルケニル、又は分岐Ｃ１０－Ｃ３５アルケニルであり、Ｃ１－Ｃ６アルキルは、－ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ２６で置換されている。いくつかの実施形態では、Ｒ２１及びＲ２２は、各々独立して、－ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ２６で置換されたＣ２－Ｃ５アルキル、直鎖Ｃ１２－Ｃ１８アルキル、直鎖Ｃ１２－Ｃ１８アルケニル、又は分岐Ｃ１４－Ｃ３２アルケニルである。いくつかの実施形態では、Ｒ２１又はＲ２２のうちの一方は、直鎖Ｃ１２－Ｃ１８アルキルであり、Ｒ２１又はＲ２２のうちの他方は、直鎖Ｃ１２－Ｃ１８アルケニルである。いくつかの実施形態では、Ｒ２１又はＲ２２のうちの一方は、－ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ２６で置換されたＣ２－Ｃ５アルキルであり、Ｒ２１又はＲ２２のうちの他方は、直鎖Ｃ１２－Ｃ１８アルキルである。いくつかの実施形態では、Ｒ２１又はＲ

R^{22}のうちの一方は、直鎖C_{12}－C_{18}アルキルであり、R^{21}又はR^{22}のうちの他方は、分岐C_{14}－C_{32}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{26}で置換されたC_2－C_5アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{26}で置換されたC_2アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{26}で置換されたC_3アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{26}で置換されたC_4アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々、－ＯＣ（＝Ｏ）R^{26}で置換されたC_5アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{12}－C_{18}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{12}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{13}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{14}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{15}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{16}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{17}アルケニルである。いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々直鎖C_{18}アルケニルである。

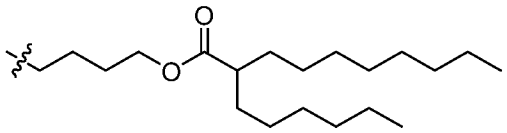
【０３０７】

一実施形態では、R^{26}は、分岐C_{10}－C_{30}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{10}－C_{20}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{12}－C_{18}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{12}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{13}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{14}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{15}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{16}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{17}アルキルである。いくつかの実施形態では、R^{26}は、分岐C_{18}アルキルである。

【０３０８】

いくつかの実施形態では、R^{21}及びR^{22}は、各々独立して、以下の構造を有する：

【化１８２】

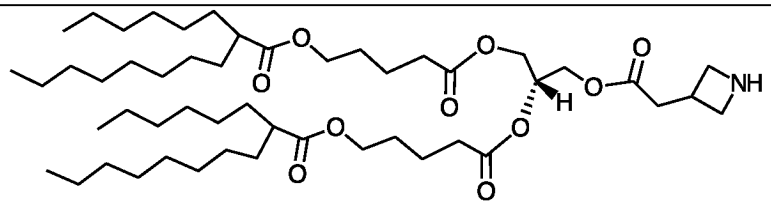
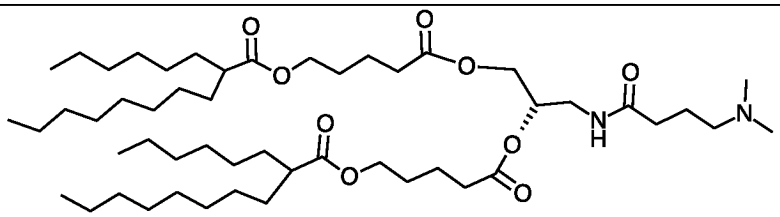
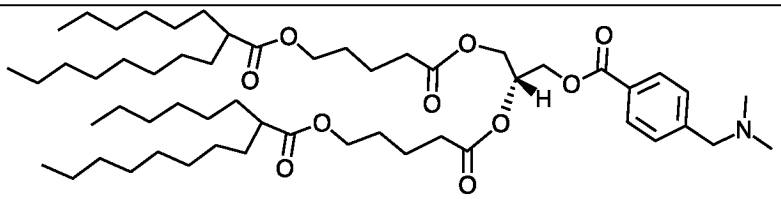
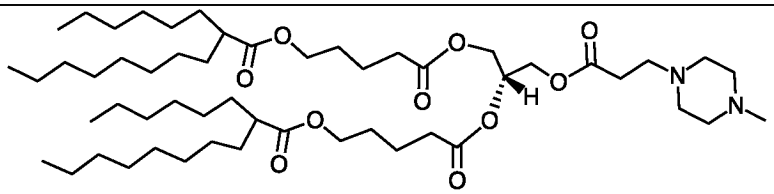
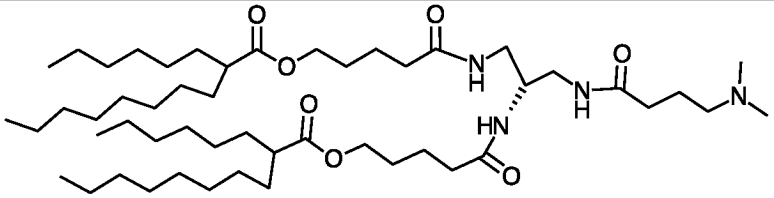


【０３０９】

一実施形態では、化合物は、以下の表Ｅに示される以下の構造のうちの１つを有する。

【数５】

表Ｅ： **(XX) -(XXB-2)**の化合物のリスト

化合物 ID	構造
40	
41	
42	
43	
44	

【０３１０】

ＩＩＩ．核酸

一態様では、本開示のイオン化可能な脂質は、核酸の送達に有用である。核酸としては、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、非対称干渉ＲＮＡ（ａｉＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ｍｉＲＮＡ阻害剤（アンタゴミル／アンチミル）、ダイサー基質ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）、小ヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、多価ＲＮＡ、及びそれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡは、自己増幅ＲＮＡ（ｓａＲＮＡ）、ポリシストロンＲＮＡ、環状ＲＮＡ、及びそれらの混合物を含む。

【０３１１】

一態様では、核酸は、例えば、ｓｉＲＮＡ、ａｉＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ、又はそれらの混合物などの干渉ＲＮＡ分子を含む。特定の他の態様では、核酸は、１つ以上のｍＲＮＡ分子（例えば、カクテル）を含む。

【０３１２】

干渉ＲＮＡ分子は、「低分子干渉ＲＮＡ」又は「ｓｉＲＮＡ」、例えば、長さが約１５～６０、１５～５０、又は１５～４０（二本鎖）ヌクレオチド、より典型的には、長さが約１５～３０、１５～２５、又は１９～２５（二本鎖）ヌクレオチドの干渉ＲＮＡを含み、好ましくは長さが約２０～２４、２１～２２、又は２１～２３（二本鎖）ヌクレオチドである（例えば、二本鎖ｓｉＲＮＡの各相補配列は、長さが１５～６０、１５～５０、１５～４０、１５～３０、１５～２５、又は１９～２５ヌクレオチド、好ましくは長さが約２０～２４、２１～２２、又は２１～２３ヌクレオチドであり、二本鎖ｓｉＲＮＡは、長さが約１５～６０、１５～５０、１５～４０、１５～３０、１５～２５、又は１９～２５塩基対、好ましくは長さが約１８～２２、１９～２０、又は１９～２１塩基対である）。ｓｉＲＮＡ二本鎖は、約１～約４ヌクレオチド又は約２～約３の３’オーバーハング、及び５’リン酸末端を含み得る。

【０３１３】

ｓｉＲＮＡの例としては、２つの別個の鎖状分子から組み立てられた二本鎖ポリヌクレオチド分子であって、一方の鎖がセンス鎖であり、他方が相補的アンチセンス鎖である、二本鎖ポリヌクレオチド分子；一本鎖分子から組み立てられた二本鎖ポリヌクレオチド分子であって、センス及びアンチセンス領域が、核酸ベース又は非核酸ベースのリンカーによって連結されている、二本鎖ポリヌクレオチド分子；自己相補性センス及びアンチセンス領域を有するヘアピン二次構造を有する二本鎖ポリヌクレオチド分子；並びに２つ以上のループ構造と、自己相補性センス及びアンチセンス領域を有するステムと、を有する環状一本鎖ポリヌクレオチド分子であって、環状ポリヌクレオチドがインビボ又はインビトロで処理されて活性二本鎖ｓｉＲＮＡ分子を生成することができる、環状一本鎖ポリヌクレオチド分子が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３１４】

ｓｉＲＮＡはまた、化学的に合成することができる。ｓｉＲＮＡはまた、Ｅ．ｃｏｌｉ ＲＮａｓｅ ＩＩＩ又はダイサーによる、より長いｄｓＲＮＡ（例えば、長さが約２５ヌクレオチドを超えるｄｓＲＮＡ）の切断によって生成することができる。これらの酵素は、ｄｓＲＮＡを生物学的に活性なｓｉＲＮＡに処理する（例えば、Ｙａｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９９：９９４２－９９４７（２００２）、Ｃａｌｅｇａｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９９：１４２３６（２００２）、Ｂｙｒｏｍ ｅｔ ａｌ．，Ａｍｂｉｏｎ ＴｅｃｈＮｏｔｅｓ，１０（ｌ）：４－６（２００３）、Ｋａｗａｓａｋｉ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，３１：９８１－９８７（２００３）、Ｋｎｉｇｈｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２９３：２２６９－２２７１（２００１）、及びＲｏｂｅｒｔｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２４３：８２（１９６８）を参照されたい）。好ましくは、ｄｓＲＮＡは、長さが少なくとも５０ヌクレオチド～約１００、２００、３００、４００、又は５００ヌクレオチドである。ｄｓＲＮＡは、長さが１０００、１５００、２０００、５０００ヌクレオチド、又はそれ以上程度であり得る。ｄｓＲＮＡは、全体的な遺伝子転写物又は部分的な遺伝子転写物をコードすることができる。特定の事例では、ｓｉＲＮＡは、プラスミドによってコードされ得る（例えば、ヘアピンループを有する二本鎖に自動的に折り畳まれる配列として転写される）。

【０３１５】

一実施形態では、核酸は、ｓｉＲＮＡを含む。一実施形態では、ｓｉＲＮＡ分子は、長さが約１５～約６０ヌクレオチド（例えば、長さが約１５～６０、１５～５０、１５～４０、１５～３０、１５～２５、若しくは１９～２５ヌクレオチド、又は長さが１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、若しくは２５ヌクレオチド）の二本鎖領域を含む。ｓｉＲＮＡ分子は、インビトロ及び／又はインビボで標的配列の発現をサイレンシングすることができる。

【０３１６】

他の実施形態では、ｓｉＲＮＡ分子は、２’－Ｏ－メチル（２’ＯＭｅ）ヌクレオチド、２’－デオキシ－２’－フルオロ（２’Ｆ）ヌクレオチド、２’－デオキシヌクレオチド、２’

－Ｏ－（２－メトキシエチル）（ＭＯＥ）ヌクレオチド、ロックド核酸（ＬＮＡ）ヌクレオチド、及びそれらの混合物を含むが、これらに限定されない修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの他の実施形態では、ｓｉＲＮＡは、例えば、２’－ＯＭｅ－グアノシンヌクレオチド、２’－ＯＭｅ－ウリジンヌクレオチド、２’ＯＭｅ－アデノシンヌクレオチド、２’－ＯＭｅ－シトシンヌクレオチド、及びそれらの混合物などの２’－ＯＭｅヌクレオチド（例えば、２－’ＯＭｅプリン及び／又はピリミジンヌクレオチド）を含む。特定の事例では、ｓｉＲＮＡは、２’－ＯＭｅ－シトシンヌクレオチドを含まない。他の実施形態では、ｓｉＲＮＡは、ヘアピンループ構造を含む。

【０３１７】

核酸は、任意の利用可能な技法に従って調製され得る。ｍＲＮＡでは、調製の主要な方法論は、長い配列特異的ｍＲＮＡを産生するための酵素合成（インビトロ転写とも呼ばれる）であるが、これに限定されない。インビトロ転写は、目的の遺伝子をコードする下流配列に連結された上流のバクテリオファージプロモーター配列（例えば、Ｔ７、Ｔ３、及びＳＰ６大腸菌ファージからのものを含むが、これらに限定されない）から構成される操作されたＤＮＡテンプレートからのＲＮＡ分子のテンプレート指向合成のプロセスを説明する。

【０３１８】

ＲＮＡの転写は、対応するＲＮＡポリメラーゼ並びにアデノシン、グアノシン、ウリジン、及びシチジンリボヌクレオシド三リン酸（ｒＮＴＰ）の存在下で、得られるｍＲＮＡ転写物の潜在的な分解を最小限に抑えながら、ポリメラーゼ活性を支持する条件下で、線状化ＤＮＡテンプレートを使用してインビトロで生じる。インビトロ転写は、ＲｉｂｏＭａｘ大スケールＲＮＡ産生システム（Ｐｒｏｍｅｇａ）、ＭｅｇａＳｃｒｉｐｔ転写キット（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を含むが、これらに限定さない市販のキットを使用して、並びにＲＮＡポリメラーゼ及びｒＮＴＰを含む市販の試薬を用いて行うことができる。ｍＲＮＡのインビトロ転写のための方法論は、当技術分野で周知である。（例えば、Ｌｏｓｉｃｋ，Ｒ．，１９７２，Ｉｎ ｖｉｔｒｏ ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ，Ａｎｎ Ｒｅｖ Ｂｉｏｃｈｅｍ ｖ．４１ ４０９－４６、Ｋａｍａｋａｋａ，Ｒ．Ｔ．ａｎｄ Ｋｒａｕｓ，Ｗ．Ｌ．２００１．Ｉｎ Ｖｉｔｒｏ Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ．Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ．２：１１．６：１１．６．１－１１．６．１７、Ｂｅｃｋｅｒｔ，Ｂ．Ａｎｄ Ｍａｓｑｕｉｄａ，Ｂ．，（２０１０）Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ ＲＮＡ ｂｙ Ｉｎ Ｖｉｔｒｏ Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ ｉｎ ＲＮＡ ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ｖ．７０３（Ｎｅｉｌｓｏｎ，Ｈ．Ｅｄ），Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，２０１０、Ｂｒｕｎｅｌｌｅ，Ｊ．Ｌ．ａｎｄ Ｇｒｅｅｎ，Ｒ．，２０１３，Ｃｈａｐｔｅｒ Ｆｉｖｅ－Ｉｎ ｖｉｔｒｏ ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ ｆｒｏｍ ｐｌａｓｍｉｄ ｏｒ ＰＣＲ－ａｍｐｌｉｆｉｅｄ ＤＮＡ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ ｖ．５３０，１０１－１１４を参照し、これらは全て参照により本明細書に組み込まれる）。

【０３１９】

次いで、所望のインビトロ転写ｍＲＮＡが、転写又は関連する反応の望ましくない成分（組み込まれていないｒＮＴＰ、タンパク質酵素、塩、短ＲＮＡオリゴなどを含む）から精製される。ｍＲＮＡ転写物の単離のための技法は、当技術分野で周知である。周知の手順には、一価カチオン又は塩化リチウムの存在下で、フェノール／クロロホルム抽出又はいずれかのアルコール（エタノール、イソプロパノール）による沈殿が含まれる。使用することができる精製手順の追加の非限定的な例としては、サイズ排除クロマトグラフィー（Ｌｕｋａｙｓｋｙ，Ｐ．Ｊ．ａｎｄ Ｐｕｇｌｉｓｉ，Ｊ．Ｄ．，２００４，Ｌａｒｇｅ－ｓｃａｌｅ ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ ａｎｄ ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ｐｏｌｙａｃｒｙｌａｍｉｄｅ－ｆｒｅｅ ＲＮＡ ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ，ＲＮＡ ｖ．１０，８８９－８９３）、シリカベースのアフィニティークロマトグラフィー、及びポリアクリルアミドゲル電気泳動（Ｂｏｗｍａｎ，Ｊ．Ｃ．，Ａｚｉｚｉ，Ｂ

．，Ｌｅｎｚ，Ｔ．Ｋ．，Ｒａｙ，Ｐ．，ａｎｄ Ｗｉｌｌｉａｍｓ，Ｌ．Ｄ．ｉｎ ＲＮＡ ｉｎ ｖｉｔｒｏ ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ ａｎｄ ＲＮＡ ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｂｙ ｄｅｎａｔｕｒｉｎｇ ＰＡＧＥ ｉｎ Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ ａｎｄ ｉｎ ｖｉｔｒｏ ＲＮＡ ｓｙｎｔｈｅｓｅｓ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｖ．９４１ Ｃｏｎｎ Ｇ．Ｌ．（ｅｄ），Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，２０１２）が挙げられる。精製は、ＳＶトータル単離システム（Ｐｒｏｍｅｇａ）及びインビトロ転写クリーンアップ及び濃縮キット（Ｎｏｒｇｅｎ Ｂｉｏｔｅｋ）を含むがこれらに限定されない、様々な市販のキットを使用して行うことができる。

【０３２０】

インビトロで転写されたｍＲＮＡの特定の特性を変化させ、その有用性を改善するために使用される、顕著な多様な修飾が当技術分野で説明されている。これらには、ｍＲＮＡの５’末端及び３’末端への修飾が含まれるが、これらに限定されない。内因性真核生物ｍＲＮＡは、典型的には、ｍＲＮＡキャップ結合タンパク質（ＣＢＰ）の結合を媒介する際に重要な役割を果たす成熟分子の５’末端にキャップ構造を含有し、これは次に細胞中のｍＲＮＡ安定性及びｍＲＮＡ翻訳の効率を増強することに関与する。したがって、最高レベルのタンパク質発現は、キャップ化ｍＲＮＡ転写産物で達成される。５’キャップは、最も５’側のヌクレオチドとグアニンヌクレオチドとの間の５’－５’－三リン酸結合を含む。追加の修飾には、２’－ヒドロキシル基での最も５’側と２番目のヌクレオチドのメチル化が含まれる。

【０３２１】

翻訳可能性及び安定性の観点で利益を提供するように修飾され得るｍＲＮＡの他の成分には、５’及び３’非翻訳領域（ＵＴＲ）が含まれる。ＵＴＲの最適化（好ましい５’及び３’ＵＴＲは、細胞又はウイルスのＲＮＡから得ることができる）は、両方又は独立してのいずれかで、インビトロで転写されたｍＲＮＡのｍＲＮＡ安定性及び翻訳効率を増加することが示されている（例えば、Ｐａｒｄｉ，Ｎ．，Ｍｕｒａｍａｔｓｕ，Ｈ．，Ｗｅｉｓｓｍａｎ，Ｄ．，Ｋａｒｉｋｏ，Ｋ．，Ｉｎ ｖｉｔｒｏ ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ ｏｆ ｌｏｎｇ ＲＮＡ ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ ｍｏｄｉｆｉｅｄ ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ ｉｎ Ｓｙｎｔｈｅｔｉｃ Ｍｅｓｓｅｎｇｅｒ ＲＮＡ ａｎｄ Ｃｅｌｌ Ｍｅｔａｂｏｌｉｓｍ Ｍｏｄｕｌａｔｉｏｎ ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ｖ．９６９（Ｒａｂｉｎｏｖｉｃｈ，Ｐ．Ｈ．Ｅｄ），２０１３を参照されたい）。

【０３２２】

いくつかの実施形態では、核酸は、モノシストロン又はポリシストロンであるＲＮＡであり、ポリシストロンＲＮＡは、２、３、４、５、６個、若しくはそれ以上の異なるタンパク質若しくはペプチド、又は１つ以上のタンパク質若しくはペプチドの異なるサブユニット若しくは断片を発現する、２、３、４、５、６個、又はそれ以上のコード配列を有する。いくつかの態様では、核酸は、複数のｍＲＮＡのカクテルであり、各々は、少なくとも１つのタンパク質若しくはペプチド、又はタンパク質若しくはペプチドのサブユニット若しくは断片をコードする。いくつかの態様では、核酸は、複数のｍＲＮＡのカクテルであり、各々はＯＣＴ、ＳＯＸ、ＫＬＦ、Ｌｉｎ、Ｎａｎｏｇ、Ｍｙｃ、又はＧＬｉｓ１などだがこれらに限定されない少なくとも１つのリプログラミング因子をコードする。いくつかの実施形態では、リプログラミング因子は、ＬＩＮ２８又はＮＡＮＯＧである。いくつかの態様では、リプログラミング因子は、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ｃ－Ｍｙｃ、及びＫＬＦ４などの山中因子である。いくつかの実施形態では、リプログラミング因子は、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、及びｃ－Ｍｙｃの組み合わせである。いくつかの実施形態では、リプログラミング因子は、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、及びｃ－Ｍｙｃの組み合わせである。いくつかの実施形態では、リプログラミング因子は、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、Ｌｉｎ２８、Ｎａｎｏｇ、及びｃ－Ｍｙｃの組み合わせである。いくつかの実施形態では、リプログラミング因子は、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、Ｌｉｎ２８、Ｎａｎｏｇ、及びｃ－Ｍｙｃの組み合わせである。いくつかの実施形態では、上記の組み合わせのうちの

いずれかにおけるｃ－Ｍｙｃは、Ｇｌｉｓ１に置き換えられる。いくつかの実施形態では、各ｍＲＮＡは、１つのリプログラミング因子をコードする。いくつかの実施形態では、各ｍＲＮＡは、２つ以上のリプログラミング因子をコードする。いくつかの実施形態では、各ｍＲＮＡは、２つのリプログラミング因子をコードする。いくつかの実施形態では、各ｍＲＮＡは、３つのリプログラミング因子をコードする。いくつかの実施形態では、核酸は、２、３、４、５、６、又はそれ以上のリプログラミング因子をコードする単一ｍＲＮＡ分子である。いくつかの実施形態では、核酸は、３つのリプログラミング因子をコードする単一ｍＲＮＡ分子である。いくつかの実施形態では、核酸は、４つのリプログラミング因子をコードする単一ｍＲＮＡ分子である。いくつかの実施形態では、核酸は、５つのリプログラミング因子をコードする単一ｍＲＮＡ分子である。いくつかの実施形態では、核酸は、６つのリプログラミング因子をコードする単一ｍＲＮＡ分子である。

【０３２３】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡは、ＯＣＴ、ＳＯＸ、ＫＬＦ、Ｌｉｎ、Ｎａｎｏｇ、Ｍｙｃ、又はＧＬｉｓ１などだがこれらに限定されない１つ以上のリプログラミング因子をコードするポリシストロンＲＮＡである。いくつかの実施形態では、リプログラミング因子は、ＬＩＮ２８又はＮＡＮＯＧである。いくつかの態様では、リプログラミング因子は、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ｃ－Ｍｙｃ、及びＫＬＦ４などの山中因子である。いくつかの実施形態では、リプログラミング因子は、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、及びｃ－Ｍｙｃの組み合わせである。いくつかの実施形態では、リプログラミング因子は、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、及びｃ－Ｍｙｃの組み合わせである。いくつかの実施形態では、リプログラミング因子は、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、Ｌｉｎ２８、Ｎａｎｏｇ、及びｃ－Ｍｙｃの組み合わせである。いくつかの実施形態では、リプログラミング因子は、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、Ｌｉｎ２８、Ｎａｎｏｇ、及びｃ－Ｍｙｃの組み合わせである。いくつかの実施形態では、上記の組み合わせのうちのいずれかにおけるｃ－Ｍｙｃは、Ｇｌｉｓ１に置き換えられる。

【０３２４】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡは、自己複製ＲＮＡである。自己複製構築物は、例えば、米国特許公開第２０１８／０２１６０７９号及び同第２０２１／０１０８１７９号に記載されており、これらは、参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、自己複製ＲＮＡは、哺乳動物、例えばヒトにおいて増加した半減期を有する。いくつかの態様では、自己増幅ＲＮＡは、ポリシストロンである。いくつかの態様では、自己増幅ＲＮＡは、トランス増幅ＲＮＡであり、増幅ポリメラーゼは、増幅のために標的化された鎖又は複数の鎖とは異なるＲＮＡ鎖によってコードされる。

【０３２５】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡは、環状ポリリボヌクレオチド、又は環状ＲＮＡである。環状ポリリボヌクレオチド、又は環状ＲＮＡは、共有結合又は非共有結合を介して環状構造を形成するポリリボヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、環状ポリリボヌクレオチドは、哺乳動物、例えば、ヒトにおいて非免疫原性である。いくつかの実施形態では、環状ポリリボヌクレオチドは、哺乳動物、例えば、ヒトにおいて増加した半減期を有する。いくつかの実施形態では、環状ポリリボヌクレオチドは、細胞内で複製することができるか、又は複製する。いくつかの態様では、環状ＲＮＡは、ポリシストロンである。

【０３２６】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡは、調節エレメント、例えば、ＲＮＡ内のコード配列の発現を修正する配列を含む。調節エレメントは、発現産物をコードするコード配列に隣接して位置する配列を含み得る。調節エレメントは、隣接する配列に操作可能に連結され得る。調節エレメントは、調節エレメントが存在しない場合に発現した産物の量と比較して、発現した産物の量を増加し得る。加えて、１つの調節エレメントは、連続して結合された複数の発現配列で発現する産物の量を増加することができる。したがって、１つの調節エレメントは、１つ以上の発現配列の発現を増強することができる。複数の調節エレメ

ントが、当業者に周知である。いくつかの実施形態では、調節エレメントは、ＩＲＥＳ又は２Ａエレメントである。いくつかの実施形態では、ＩＲＥＳ又は２Ａエレメントは、コード配列の上流に存在する。いくつかの実施形態では、ＩＲＥＳ又は２Ａエレメントの配列は、所望の発現プロファイルを達成するように改変又は最適化される。ポリシストロンＲＮＡのいくつかの実施形態では、各コード配列は、異なるＩＲＥＳ又は２Ａエレメントによって別個に調節され、すなわち、発現する各遺伝子は、それら自体のＩＲＥＳ又は２Ａエレメントを有する。

【０３２７】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡ分子のうちの１つ以上は、ｂ１８ｒ、ｂ１９ｒ、Ｅ３、Ｋ３、又は他の「デコイ分子」をコードして、トランスフェクトされたＲＮＡに対するＩ型インターフェロンガンマ応答を中和し、それによって、トランスフェクトされたＲＮＡに対する細胞の免疫応答を鈍らせ、ＲＮＡによってコードされた治療用分子、例えば、上述のリプログラミング因子の増加した翻訳をもたらす。

【０３２８】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡは、約１００～約３００ヌクレオチド、約３００～約１，０００ヌクレオチド、約１，０００～約３，０００ヌクレオチド、約３，０００～約５，０００ヌクレオチド、約５，０００～約７，０００ヌクレオチド、約７，０００～約１０，０００ヌクレオチド、約１０，０００～約１３，０００ヌクレオチド、又は約１００、２００、３００、４００、５００、６００、７００、８００、９００、１０００、１１００、１２００、１３００、１４００、１５００、１６００、１７００、１８００、１９００、２０００、２１００、２２００、２３００、２４００、２５００、２６００、２７００、２８００、２９００、３０００、３１００、３２００、３３００、３４００、３５００、３６００、３７００、３８００、３９００、４０００、４１００、４２００、４３００、４４００、４５００、４６００、４７００、４８００、４９００、５０００、５１００、５２００、５３００、５４００、５５００、５６００、５７００、５８００、５９００、６０００、６１００、６２００、６３００、６４００、６５００、６６００、６７００、６８００、６９００、７０００、７１００、７２００、７３００、７４００、７５００、７６００、７７００、７８００、７９００、８０００、８１００、８２００、８３００、８４００、８５００、８６００、８７００、８８００、８９００、９０００、９１００、９２００、９３００、９４００、９５００、９６００、９７００、９８００、９９００、１００００、１０１００、１０２００、１０３００、１０４００、１０５００、１０６００、１０７００、１０８００、１０９００、１１０００、１１１００、１１２００、１１３００、１１４００、１１５００、１１６００、１１７００、１１８００、１１９００、１２０００、１２１００、１２２００、１２３００、１２４００、１２５００、１２６００、１２７００、１２８００、１２９００、１３０００塩基対の長さを有する。

【０３２９】

いくつかの実施形態では、核酸（ＲＮＡ又はＤＮＡ）は、ベクターにクローニングされる。いくつかの態様では、ベクターは、モノシストロンｍＲＮＡ又はポリシストロンｍＲＮＡを生成するＲＮＡベクターであり、ベクターは、線形又は環状である。一実施形態では、ベクターは、ＤＮＡベクターのインビトロ転写によってｍＲＮＡを産生するｍＲＮＡ産生ベクターである。ＤＮＡベクターは、モノシストロン又はポリシストロン（リプログラミング因子をコードする２、３、４、５、６個、又はそれ以上のＤＮＡ配列を有する）であることができる。

【０３３０】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡベクターは、ポリシストロンＲＮＡベクターである。かかるポリシストロンＲＮＡベクターは、ＯＣＴ、ＳＯＸ、ＫＬＦ、Ｌｉｎ、Ｎａｎｏｇ、Ｍｙｃ、又はＧｌｉｓ１などだがこれらに限定されない１つ以上のリプログラミング因子をコードすることができる。いくつかの実施形態では、１つ以上のリプログラミング因子は、ＬＩＮ２８又はＮＡＮＯＧを含む。いくつかの態様では、１つ以上のリプログラミング因子は、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ｃ－Ｍｙｃ、及びＫＬＦ４などの山中因子を含む。い

くつかの実施形態では、ポリシストロンＲＮＡベクターは、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、及びｃ－Ｍｙｃをコードする。いくつかの実施形態では、ポリシストロンＲＮＡベクターは、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、及びｃ－Ｍｙｃをコードする。いくつかの実施形態では、ポリシストロンＲＮＡベクターは、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、ｃ－Ｍｙｃ、ＬＩＮ２８、及びＮＡＮＯＧをコードする。上記の実施形態のいずれかでは、ｃ－Ｍｙｃは、Ｇｌｉｓ１によって置き換えられ得る。

【０３３１】

いくつかの態様では、ＲＮＡベクターは、自己複製ベクターである。いくつかの態様では、自己複製ベクターは、オフスイッチを有する。自己複製及びポリシストロン構築物、並びにオン／オフスイッチを有するものは、例えば、参照により本明細書に組み込まれる、米国特許公開第２０１８／０２１６０７９号及び同第２０２１／０１０８１７９号、又は参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願第１７／８１２，７０９号、同第１７／８１２，７１１号、及び同第１７／８１２，７１０号に記載されている。

【０３３２】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡベクターは、環状ポリリボヌクレオチド、又は環状ＲＮＡである。環状ポリリボヌクレオチド、又は環状ＲＮＡは、共有結合又は非共有結合を介して環状構造を形成するポリリボヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、環状ポリリボヌクレオチドは、哺乳動物、例えば、ヒトにおいて非免疫原性である。いくつかの実施形態では、環状ポリリボヌクレオチドは、細胞内で複製することができるか、又は複製する。

【０３３３】

いくつかの実施形態では、環状ポリリボヌクレオチドは、調節エレメント、例えば、環状ポリリボヌクレオチド内の発現配列の発現を修正する配列を含む。調節エレメントは、発現産物をコードする発現配列に隣接して位置する配列を含み得る。調節エレメントは、隣接する配列に操作可能に連結され得る。調節エレメントは、調節エレメントが存在しない場合に発現した産物の量と比較して、発現した産物の量を増加し得る。加えて、１つの調節エレメントは、連続して結合された複数の発現配列で発現する産物の量を増加することができる。したがって、１つの調節エレメントは、１つ以上の発現配列の発現を増強することができる。複数の調節エレメントが、当業者に周知である。

【０３３４】

ＩＶ．脂質－ナノ粒子組成物

本開示は、イオン化可能な脂質、及びそれを含む組成物を特徴とする。かかる組成物は、ナノ粒子組成物であることができるが、これらに限定されない。本開示の脂質－ナノ粒子組成物は、式（Ｉ）～（ＸＩ）のうちのいずれか１つのイオン化可能な脂質、並びにヘルパー脂質、安定化脂質、及び／又は構造的脂質などの追加の脂質を含み得る。

【０３３５】

いかなる理論にも拘束されることを望むものではないが、これらの脂質ナノ粒子は、核酸を血清中での分解から保護し、インビトロ及びインビボで、細胞への核酸の効果的な送達を提供すると考えられる。

【０３３６】

本開示の脂質－ナノ粒子組成物は、ポリペプチド、タンパク質、又は遺伝子発現を調節するために哺乳動物の細胞又は器官に送達するための治療薬及び／又は予防薬及び／又は診断薬としてのＲＮＡなどの核酸を更に含み得る。

【０３３７】

脂質組成物は、式（Ｉ）～（ＸＩＸ）のイオン化可能な脂質、又はそれらの組み合わせを、ヘルパー脂質又はそれらの組み合わせ、安定化脂質及び／若しくは構造的脂質又はそれらの組み合わせとともに、エタノール及び水などの溶媒中で混合して、所望のモル比を得ることによって調製され得る。

【０３３８】

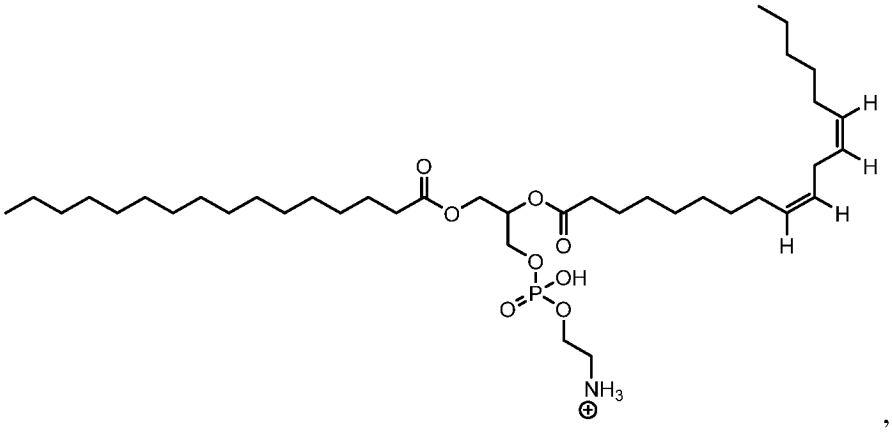
本開示の脂質－ナノ粒子組成物に使用するためのヘルパー脂質は、１つ以上の脂質二重

層に組み立て得る脂質を含み得る。本開示の脂質－ナノ粒子組成物に使用するためのヘルパー脂質は、脂質ナノ粒子の安定性又は送達効率を増加する脂質を含み得る。

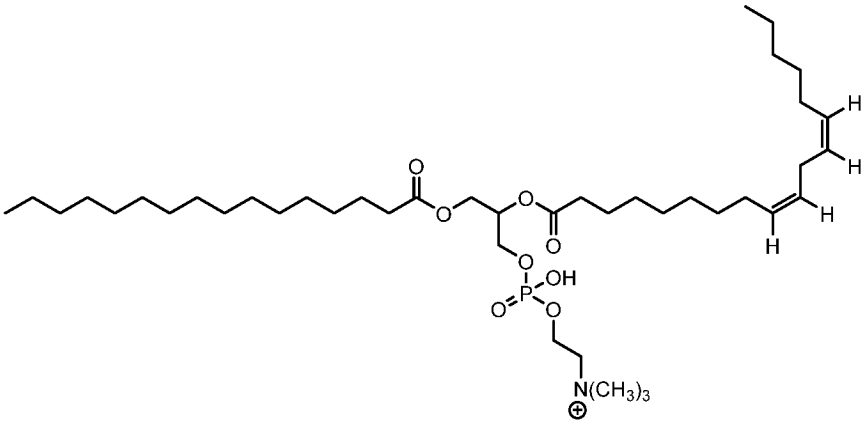
【０３３９】

本開示の脂質－ナノ粒子組成物にも使用することができるヘルパー脂質の例示的な例は、以下を含むことができるが、これらに限定されない：

【化１８３】



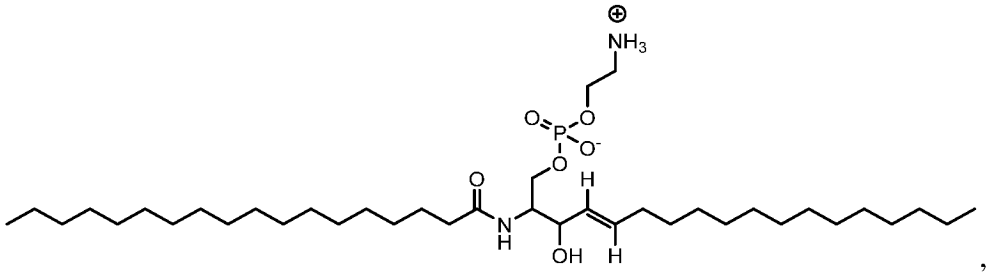
, 又は



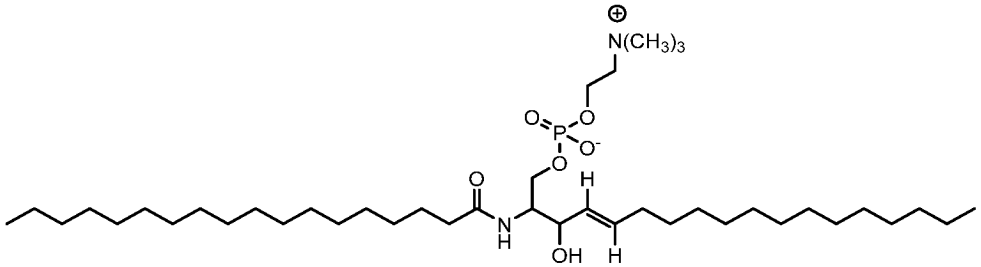
【０３４０】

本開示の脂質ナノ粒子組成物に使用することができるヘルパー脂質の他の例示的な例は、以下を含むことができるが、これらに限定されない：

【化１８４】



，又は



【０３４１】

かかる例示的なヘルパー脂質は、Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．１９９４，Ｖｏｌ．５９，４８０５－４８２０、Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．２００５，Ｖｏｌ．７，２０６３－２０６５、及びＴｅｔ．Ｌｅｔｔ．１９９３，Ｖｏｌ．３４，６８８１－６８８４に記載される方法を使用して調製することができる。

【０３４２】

更に別の実施形態では、組成物に有用なヘルパー脂質は、１，２－ジリノレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＬＰＣ）、１，２－ジミリストイル－ｓｎ－グリセロ－ホスホコリン（ＤＭＰＣ）、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＯＰＣ）、１，２－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＰＰＣ）、１，２－ジステアロイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＤＳＰＣ）、１，２－ジウンデカノイル－ｓｎ－グリセロ－ホスホコリン（ＤＵＰＣ）、１－パルミトイル－２－オレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＰＯＰＣ）、１，２－ジ－Ｏ－オクタデセニル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（１８：０ジエーテルＰＣ）、ｌ－オレオイル－２－コレステリルヘミスクシノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（ＯＣｈｅｍｓＰＣ）、１－ヘキサデシル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン（Ｃ１６Ｌｙｓｏ　ＰＣ）、１，２－ジリノレノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン、１，２－ジアラキドノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン、１，２－ジドコサヘキサエノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホコリン、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン（ＤＯＰＥ）、１，２－ジフィタノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン（ＭＥ　１６．０　ＰＥ）、１，２－ジステアロイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジリノレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジリノレノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジアラキドノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジドコサヘキサエノイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホエタノールアミン、１，２－ジオレオイル－ｓｎ－グリセロ－３－ホスホ－ｒａｃ－（１－グリセロール）ナトリウム塩（ＤＯＰＧ）、及びそれらの混合物からなるがこれらに限定されないリン脂質の群から選択され得る。

【０３４３】

脂質－ナノ粒子組成物における使用のための安定化脂質は、１－（モノメトキシ－ポリエチレングリコール）－２，３－ジミリストイルグリセロール（ＰＥＧ－ＤＭＧ）を含み得、２０００の平均ＰＥＧ分子量を有する。

【０３４４】
脂質－ナノ粒子組成物の脂質成分は、１つ以上の構造的脂質を含み得る。構造的脂質は、限定されないが、コレステロール、フェコステロール、シトステロール（ベータシトステロールを含む）、エルゴステロール、カンペステロール、スチグマステロール、ブラシカステロール、トマチジン、ウルソール酸、アルファ－トコフェロール、及びそれらの混合物からなる群から選択することができる。いくつかの実施形態では、構造的脂質は、コレステロールである。いくつかの実施形態では、構造的脂質には、コレステロール及びコルチコステロイド（プレドニゾロン、デキサメタゾン、プレドニゾン、及びヒドロコルチゾンなど）、又はそれらの組み合わせが含まれる。
【０３４５】
構造的脂質はまた、天然及び合成コレステロール誘導体を含むことができる。天然コレステロール誘導体のいくつかの例としては、（７β－ＯＨＣ、２２（Ｒ）－ヒドロキシコレステロール（２２Ｒ－ＯＨＣ）、２４（Ｓ）－ヒドロキシコレステロール（２４（Ｓ）－ＯＨＣ））が挙げられるが、これらに限定されない。合成コレステロール誘導体としては、（２２（Ｒ）－ヒドロキシ－Δ９－コレスタノール（２２Ｒ－ＩＳＯ－ＯＨＣ）、（（２３－（４－メチルフラン－２，５－ジオン）－３α－ヒドロキシ－２４－ノル－５β－コラン（ＬＩＴＨＯ　１ａ）、２３－（４－メチルフラン－２，５－ジオン）－３α、７α－ジヒドロキシ－２４－ノル－５β－コラン（ＣＨＥＮＯ　１ｂ）、２３－（４－メチル－１Ｈ－ピロール－２，５－ジオン）－３α－ヒドロキシ－２４－ノル－５β－コラン（ＬＩＴＯＭＡＬ　７ａ）、２３－（４－メチル－１Ｈ－ピロール－２，５－ジオン）－３α、７α、１２α－トリヒドロキシ－２４－ノル－５β－コラン（ＣＯＬＭＡＬ　７ｆ）、及びリトコール酸及びケノデオキシコール酸（ＬＩＴＯＭＥＴ、ＣＨＥＮＯＭＥＴ）のエタノールマイミド誘導体）（１４６，１４７）が挙げられ得るが、これらに限定されない。ＬＩＴＯＭＥＴの系統名は、（２３－（（２－ヒドロキシエチル）－４－メチル－１Ｈ－ピロール－２，５－ジオン）－３α－ヒドロキシ－２４－ノル－５β－コラン）であり、ＣＨＥＮＯＭＥＴの系統名は、（２３－（（２－ヒドロキシエチル）－４－メチル－１Ｈ－ピロール－２，５－ジオン）－３α，７α－ジヒドロキシ－２４－ノル－５β－コラン）である。
【０３４６】
本開示の脂質－ナノ粒子組成物は、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、非対称干渉ＲＮＡ（ａｉＲＮＡ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、ｍｉＲＮＡ阻害剤（アンタゴミル／アンチミル）、ダイサー基質ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）、小ヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、多価ＲＮＡ、及びそれらの混合物などだがこれらに限定されない核酸を含む。
【０３４７】
核酸又はｍＲＮＡは、自己増幅ＲＮＡ、ポリシストロンＲＮＡ、自己増幅ポリシストロンＲＮＡ、又は環状ＲＮＡであり得る。いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡは、タンパク質又はペプチドを発現する。いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡから発現するタンパク質又はペプチドは、抗体、ヒト抗体、ラクダ科抗体、ナノボディ、ヒト化抗体、二重特異性抗体、酵素、ゲノム編集酵素若しくはヌクレアーゼ、成長因子、サイトカイン、ケモカイン、低分子模倣ペプチド、転写因子、構造分子、シグナル伝達分子、リプログラミング因子、ワクチン抗原、又はそれらの組み合わせである。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは、細胞内で作用するタンパク質又はペプチドをコードする。いくつかの態様では、ｍＲＮＡは、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードする。
【０３４８】
本技術の核酸又はｍＲＮＡから発現するタンパク質又はペプチドは、コラーゲン、ラミニン、エラスチン、フィブロネクチン、インテグリン、テナシン、プロテオグリカン、フィブリン、又はそれらの組み合わせなどの少なくとも１つの細胞外マトリックスタンパク質であり得る。コラーゲンは、コラーゲンＩ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩ、ＸＩＩ、ＸＩＩＩ、ＸＩＶ、ＸＶ、ＸＶＩ、ＸＶＩＩ、ＸＶ

ＩＩＩ、ＸＩＸ、ＸＸ、ＸＸＩ、ＸＸＩＩ、ＸＸＩＩＩ、ＸＸＩＶ、ＸＸＶ、ＸＸＶＩ、ＸＸＶＩＩ、ＸＸＶＩＩＩ、又はそれらの組み合わせであり得る。いくつかの実施形態では、コラーゲンはコラーゲンＶＩＩである。いくつかの実施形態では、コラーゲンＶＩＩは、皮膚又は細胞外マトリックスを若返らせるか、治療するか、リモデリングするか、又は改善する方法に使用される。いくつかの実施形態では、コラーゲンＶＩＩは、創傷治癒の方法に使用される。

【０３４９】

本技術の核酸又はｍＲＮＡから発現するタンパク質又はペプチドはまた、ＥＧＦ、ＦＧＦ、ＮＧＦ、ＣＮＴＦ、ＰＤＧＦ、ＶＥＧＦ、ＩＧＦ、ＧＭＣＳＦ、ＧＣＳＦ、ＴＧＦ、エリスロポエチン、エフリン、ＧＤＮＦ、ＧＤＦ９、ＫＧＦ、アンジオポエチン、ＴＰＯ、ＢＭＰ、ＨＧＦ、ＢＤＮＦ、ＧＤＦ、ＨＧＨ（ソマトトロピン）、ニューロトロフィン、ＭＳＦ、ＳＧＦ、ＧＤＦ（ＧＤＦ１１を含む）、ＴＧＦ（ＴＧＦ－ｂを含む）、又はそれらの組み合わせなどの成長因子、サイトカイン、又はそれらの組み合わせであり得る。いくつかの実施形態では、サイトカインは、ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１１、ＴＮＦ－α、ＩＬ－１２、ＩＬ－１３、ＩＬ－１４、ＩＬ－１５、ＩＬ－１６、ＩＬ－１７、ＣＸＣＬ８（以前はＩＬ－１８）、ＩＬ－１９、ＩＬ－２０、ＩＬ－２１、ＩＬ－２２、ＩＬ－２３、ＩＬ－２４、ＩＬ－２５、ＩＬ－２６、ＩＬ－２７、ＩＬ－２８、ＩＬ－２９、ＩＬ－３０、ＩＬ－３１、ＩＬ－３２、ＩＬ－３３、又はそれらの組み合わせである。

【０３５０】

本技術の核酸又はｍＲＮＡから発現するタンパク質又はペプチドは、ヒト抗体、ヒト化抗体、ラクダ科抗体、愛玩動物抗体、又はナノボディであり得る。いくつかの実施形態では、核酸又はｍＲＮＡから発現するタンパク質又はペプチドは、ヌクレアーゼなどの酵素、例えば、ゲノム編集に使用されるヌクレアーゼである。いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡから発現するタンパク質又はペプチドは、細胞内で作用する。いくつかの態様では、核酸又はｍＲＮＡから発現するタンパク質又はペプチドは、分泌される。いくつかの実施形態では、抗体は、トラスツズマブ、グロフィタマブ、ミリキズマブ、ミルベツキシマブ、ニルセビマブ、トレメリムマブ、テクリスタマブ、ドナネマブ、スペソリマブ、レカネマブ、チスレリズマブ、ペンプリマブ、シンチリマブ、テプリズマブ、トリパリマブ、オムブルタマブ、レチファンリマブ、ウブリツキシマブ、イノリモマブ、オポルツズマブ、ナルソプリマブ、モスネツズマブ、チキサゲビマブ、シルガビマブ、レラトリマブ、テベンタフスプ、ファリシマブ、スチムリマブ、ソトロビマブ、レグダンビマブ、カシリビマブ、イムデビマブ、テゼペルマブ、チソツマブ、アミバンタマブ、アニフロルマブ、ロンカツキシマブ、ビメキズマブ、トラロキヌマブ、エビナクマブ、サシツズマブ、テプロツムマブ、イサツキシマブ、エプチネズマブ、ドスタルリマブ、アンスビマブ、マルゲツキシマブ、ナキシタマブ、アトルチビマブ、マフティビマル、オデシビマブ、ベランタマブ、タファシタマブ、サトラリズマブ、イネビリズマブ、エンフォルツマブ、クリザンリズマブ、ブロルシズマブ、ポラツズマブ、リサンキズマブ、ロモソズマブ、カプラシズマブ、ラブリズマブ、エマパルマブ、セミプリマブ、フレマネズマブ、モキセツモマブ、ガルカネズマブ、ラナデルマブ、モガムリズマブ、エレヌマブ、チルドラキズマブ、イバリズマブ、ブロスマブ、デュルバルマブ、エミシズマブ、ベンラリズマブ、オクレリズマブ、グセルクマブ、イノツズマブ、サリルマブ、デュピルマブ、アベルマブ、ブロダルマブ、アテゾリズマブ、ベズロトキスマブ、オララツマブ、レスリズマブ、オビルトキサキシマブ、イキセキズマブ、ダラツムマブ、エロツズマブ、ネシツムマブ、イダルシズマブ、アリロクマブ、メポリズマブ、エボロクマブ、ジヌツキシマブ、セクキヌマブ、ニボルマブ、ブリナツモマブ、ペンブロリズマブ、ラムシルマブ、ベドリズマブ、シルツキシマブ、オビヌツズマブ、ラキシバクマブ、ペルツズマブ、ブレンツキシマブ、ベリムマブ、イピリムマブ、デノスマブ、トシリズマブ、オファツムマブ、カナキヌマブ、ゴリムマブ、ウステキヌマブ、セルトリズマブ、カツマキソマブ、エクリズマブ、ラニビズマブ、パニツムマブ、ナタリズマブ、ベバシズマブ、セツキシマブ、エファリズマブ、オマリズマ

ブ、トシツモマブ、イブリツモマブ、アダリムマブ、アレムツズマブ、ゲムツズマブ、インフリキシマブ、パリビズマブ、バシリキシマブ、ダクリズマブ、リツキシマブ、アブシキシマブ、エドレコロマブ、ネバクマブ、又はムロモナブのうちの少なくとも１つであるか又はそれらに実質的に類似している。いくつかの実施形態では、タンパク質又はペプチドは、ヒト疾患又は獣医学的疾患を治療する方法で使用される。

【０３５１】

本開示の脂質－ナノ粒子組成物は、マイクロ流体、及び２つの流体流のうちの一方が核酸を含有し、他方が脂質成分を有する２つの流体流のＴ字合流混合などだがこれらに限定されない、混合プロセスによって調製することができる。かかる混合プロセスは、ナノ沈殿及び粒子形成を誘導する。

【０３５２】

本開示の脂質－ナノ粒子組成物は、ゼータサイザーを使用して特性評価し、粒子サイズ、多分散指数（ＰＤＩ）、及びゼータ電位を決定することができる。いくつかの実施形態では、脂質－ナノ粒子組成物のゼータ電位は、約－１０ｍＶ～約＋２０ｍＶ、約－１０ｍＶ～約＋１５ｍＶ、約－１０ｍＶ～約＋１０ｍＶ、約－１０ｍＶ～約＋５ｍＶ、約－１０ｍＶ～約０ｍＶ、約－１０ｍＶ～約－５ｍＶ、約－５ｍＶ～約＋２０ｍＶ、約－５ｍＶ～約＋１５ｍＶ、約－５ｍＶ～約＋１０ｍＶ、約－５ｍＶ～約＋５ｍＶ、約－５ｍＶ～約０ｍＶ、約０ｍＶ～約＋２０ｍＶ、約０ｍＶ～約＋１５ｍＶ、約０ｍＶ～約＋１０ｍＶ、約０ｍＶ～約＋５ｍＶ、約＋５ｍＶ～約＋２０ｍＶ、約＋５ｍＶ～約＋１５ｍＶ、又は約＋５ｍＶ～約＋１０ｍＶであり得る。

【０３５３】

紫外可視分光法を使用して、ナノ粒子組成物中の核酸の濃度を決定することができる。

【０３５４】

脂質－ナノ粒子組成物は、細胞を、本明細書に記載のイオン化可能な脂質のうちの１つ以上を含む脂質ナノ粒子と接触させることによって、インビトロ及びインビボの両方で所望のタンパク質の発現を誘導することができ、脂質ナノ粒子は、所望のタンパク質を産生するように発現する核酸（例えば、ｍＲＮＡ）とともに封入されているか、又はそれと会合されている。

【０３５５】

脂質－ナノ粒子組成物は、細胞を、本明細書に記載のイオン化可能な脂質のうちの１つ以上を含む脂質ナノ粒子と接触させることによって、インビトロ及びインビボの両方で標的遺伝子及びタンパク質の発現を減少させることができ、脂質ナノ粒子は、標的遺伝子発現を低減する核酸（例えば、ｓｉＲＮＡ）とともに封入されているか、又はそれと会合されている。

【０３５６】

脂質－ナノ粒子組成物は、細胞を、本明細書に記載のイオン化可能な脂質のうちの１つ以上を含む脂質ナノ粒子と接触させることによって、インビトロ及びインビボの両方で標的遺伝子及びタンパク質の発現を下方調節又はサイレンシングすることができ、脂質ナノ粒子は、標的遺伝子発現を下方調節又はサイレンシングする核酸とともに封入されているか、又はそれと会合されている。

【０３５７】

本明細書に提供される方法及び組成物は、神経系、筋肉系、呼吸器系、心臓血管系、骨格系、生殖器系、外皮系、リンパ系、排泄系、免疫系、内分泌系（例えば、内分泌及び外分泌）、又は消化器系の細胞、組織、又は器官に適用される。本明細書に記載のように、任意のタイプの細胞を潜在的に若返らせることができ、上皮細胞（例えば、扁平上皮細胞、立方体状上皮細胞、柱状上皮細胞、及び偽分化上皮細胞）、内皮細胞（例えば、静脈内皮細胞、動脈内皮細胞、及びリンパ管内皮細胞）、並びに結合組織、筋肉、及び神経系の細胞が含まれるが、これらに限定されない。かかる細胞には、表皮細胞、線維芽細胞、軟骨細胞、骨格筋細胞、衛星細胞、心筋細胞、平滑筋細胞、ケラチノサイト、基底細胞、エナメル芽細胞、外分泌細胞、筋上皮細胞、骨芽細胞、破骨細胞、ニューロン（例えば、感

覚ニューロン、運動ニューロン、及び介在ニューロン）、グリア細胞（例えば、乏突起膠細胞、アストロサイト、上皮細胞、ミクログリア、シュワン細胞、及び衛星細胞）、柱状細胞、脂肪細胞、ペリサイト、星状細胞、肺細胞、血液及び免疫系細胞（例えば、赤血球、単球、樹状細胞、マクロファージ、好中球、好酸球、肥満細胞、Ｔ細胞、Ｂ細胞、ナチュラルキラー細胞）、ホルモン分泌細胞、生殖細胞、間質細胞、水晶体細胞、光受容体細胞、味覚受容体細胞、及び嗅細胞；並びに腎臓、肝臓、膵臓、胃、脾臓、胆嚢、腸、膀胱、肺、前立腺、乳房、泌尿生殖管、下垂体細胞、口腔、食道、皮膚、毛髪、爪、甲状腺、副甲状腺、副腎、眼、鼻、又は脳からの細胞及び／又は組織が含まれ得るが、これらに限定されない。

【０３５８】

本技術に従って処理され得る細胞は、線維芽細胞、内皮細胞、軟骨細胞、骨格筋幹細胞、ケラチノサイト、間葉系幹細胞、及び角膜上皮細胞から選択され得る。実施形態では、細胞は、線維芽細胞である。実施形態では、細胞は、内皮細胞である。実施形態では、細胞は、軟骨細胞である。実施形態では、細胞は、骨格筋幹細胞である。実施形態では、細胞は、ケラチノサイトである。実施形態では、細胞は、間葉系幹細胞である。実施形態では、細胞は、角膜上皮細胞である。

【０３５９】

本技術の方法及び組成物はまた、リンパ球、顆粒球、単球、マクロファージ、ミクログリア、又は樹状細胞を含むが、これらに限定されない免疫細胞に適用され得る。いくつかの実施形態では、リンパ球は、Ｔ細胞、Ｂ細胞、又はナチュラルキラー（ＮＫ）細胞である。いくつかの実施形態では、リンパ球は、腫瘍浸潤リンパ球である。

【０３６０】

本技術の方法及び組成物はまた、リンパ球がＴ細胞であるリンパ球に適用され得る。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞は、細胞傷害性Ｔ細胞（ＣＤ８＋）、ヘルパーＴ細胞（ＣＤ４＋）、サプレッサー若しくは調節Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）、メモリーＴ細胞、ナチュラルキラーＴ細胞（ＮＫＴ細胞）、又はガンマデルタＴ細胞である。他の実施形態では、ヘルパーＴ細胞は、Ｔｈ１、Ｔｈ２、Ｔｈ１７、Ｔｈ９、又はＴｆｈ　Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、メモリーＴ細胞は、セントラルメモリーＴ細胞、エフェクターメモリーＴ細胞、組織常在メモリーＴ細胞、又はバーチャルメモリーＴ細胞である。いくつかの実施形態では、本技術のサプレッサー又は調節Ｔ細胞は、ＦＯＸＰ３＋Ｔ細胞又はＦＯＸＰ３－Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、ＮＫＴ細胞は、ＣＤ１ｄ拘束性Ｔ細胞のサブセットである。

【０３６１】

本技術の方法及び組成物はまた、顆粒球が好中球、好酸球、好塩基球、又は肥満細胞である顆粒球に適用され得る。

【０３６２】

本技術の方法及び組成物はまた、リンパ球が、メモリーＢ細胞又は形質細胞などのＢ細胞であるリンパ球に適用され得る。

【０３６３】

本技術の方法及び組成物はまた、免疫細胞が、単球、マクロファージ、ミクログリア細胞、又は樹状細胞である免疫細胞に適用され得る。

【０３６４】

細胞が、天然免疫細胞又は操作された免疫細胞などの免疫細胞である、本明細書に記載の方法及び組成物が使用され得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法及び組成物は、方法が細胞の操作の前、その期間中、及び／又はその後に行われるように、操作された免疫細胞を含む、細胞を操作する方法と並行して、又は連続して使用される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法及び組成物は、操作された免疫細胞を含む、細胞を操作するために使用される。いくつかの実施形態では、かかる操作は、細胞が、キメラ抗原を発現する免疫細胞などのキメラ抗原受容体を発現するように操作することを含む。いくつかの実施形態では、かかるキメラ抗原受容体は、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ

２２、ＣＤ３０、ＣＤ３３、ＣＤ１２３、ＦＬＴ３、ＢＣＭＡ、ＧＤ２、ＨＥＲ２、ＭＵＣ１、Ｂ７－Ｈ３、ＩＬ１３Ｒａ２、ＴＡＧ７２、ＭＵＣ１６、ＢＣＭＡ、又は免疫療法に好適な任意の他の抗原のうちの少なくとも１つを標的とする。いくつかの実施形態では、かかる操作は、免疫細胞を含む細胞を、成長因子及びサイトカインなどの他のタンパク質又はペプチドを発現するように操作することを含む。いくつかの実施形態では、当該サイトカインは、ＩＬ－１５を含む。いくつかの実施形態では、免疫細胞などの細胞のかかる操作は、例えば、自己又は同種異系キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）－Ｔ、ＣＡＲ－ＮＫ、ＣＡＲ－Ｍ、又はＣＡＲ－ＮＫＴ細胞などの細胞療法生成物の製造において、エクスビボで行われる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるＣＡＲ－Ｔ細胞は、キメラ抗原受容体によって、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＨＥＲ２、ＭＵＣ１、ＣＤ３０、ＣＤ３３、ＣＤ１２３、ＦＬＴ３、Ｂ７－Ｈ３、ＩＬ１３Ｒａ２、ＧＤ２、ＴＡＧ７２、ＭＵＣ１６、又はＢＣＭＡのうちの少なくとも１つを標的とする。いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるＣＡＲ－Ｔ細胞は、キメラ抗原受容体によってＣＤ１９又はＢＣＭＡのうちの少なくとも１つを標的とする。いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるＣＡＲ－Ｔ細胞は、キメラ抗原受容体によってＣＤ１９を標的とする。いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるＣＡＲ－Ｔ細胞は、キメラ抗原受容体によってＢＣＭＡを標的とする。いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるＣＡＲ－ＮＫ細胞は、キメラ抗原受容体によって、ＣＤ１９、ＦＬＴ３、ＣＤ２０、ＣＤ３８、ＣＤ１３８、ＢＣＭＳ、ＣＳ１、ＣＤ３、ＣＤ５、ＣＤ７、ＮＫＧ２Ｄ、ＨＥＲ２、ＥＧＦＲ、ＥｐＣＡＭ、ＴＦ、Ｂ７－Ｈ６、ＨＬＡ－Ｇ、ＣＤ２４、ＣＤ４４、ＣＤ１３３、メソセリン、又はアルファＦＲのうちの少なくとも１つを標的とする。いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるＣＡＲ－Ｍ細胞は、キメラ抗原受容体によって、ＣＤ１９、ＨＥＲ２、ＣＤ２２、又はＡＬＫ１９のうちの少なくとも１つを標的とする。いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるＣＡＲ－ＮＫ細胞は、ＩＬ－２及び／又はＩＬ－１５を発現するように操作される。いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるＣＡＲ－ＮＫＴ細胞は、キメラ抗原受容体によってＧＤ２を標的とし、ＩＬ－１５を発現するように操作される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の免疫細胞若返り方法は、細胞療法生成物の製造中又は製造後にエクスビボで行われる。他の実施形態では、細胞、及び／又は免疫細胞のかかる操作は、エクスビボで、例えば、ＣＡＲ操作細胞のいわゆる「インサイチュ」生成で行われる。かかる実施形態では、本開示の脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物に含有されるＣＡＲ又は成長因子若しくはサイトカインをコードするＲＮＡ及び／又はｍＲＮＡは、例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞、マクロファージ、腫瘍浸潤リンパ球、樹状細胞、及び／又はＮＫＴ細胞などの患者の免疫細胞の「インサイチュ」、すなわち、エクスビボでのトランスフェクションのために細胞を取り出す必要なく患者の体内でのＣＡＲ操作のために、対象又は患者にインビボで注射される。かかる実施形態では、本明細書に記載の免疫細胞若返り方法はまたインビボで行われ、リプログラミング因子又は複数の因子をコードするｍＲＮＡは、ＣＡＲ又は他の細胞操作分子をコードするｍＲＮＡの前、それと同時、又はその後に患者に注射される。いくつかの実施形態では、本開示の脂質及び脂質－ナノ粒子は、インビボでのＴ細胞、ＮＫ細胞、マクロファージ、腫瘍浸潤細胞、樹状細胞、及び／又はＮＫＴ細胞などの免疫細胞を含む、任意の細胞へのインビボでの標的化送達のために選択される。更に他の実施形態では、インビボ治療は、任意の他のインビボ細胞操作の不在下で行われて、免疫系の効力を増強又は回復し、がん若しくは感染症に対する免疫系の効果を改善するか、又は炎症を低減するなどの免疫機能障害又は調節障害に関連する疾患を治療する。

【０３６５】

本技術の方法及び組成物はまた、若返らせる免疫細胞が、非接着免疫細胞などの非接着細胞である、免疫細胞の若返りに適用され得る。いくつかの実施形態では、非接着免疫細胞を含む非接着細胞は、組織培養基材に接着することなく、又は組織培養基材に接着する細胞若しくは細胞のコロニーを形成しないか若しくは生じさせることなく、細胞が非接着性のままである手段で、処理され、一過性にリプログラミングされ、若返り、又は製造さ

れる。いくつかの実施形態では、リプログラミング間隔及び因子は、組織培養基材に接着することなく、又は組織培養基材に接着する細胞若しくは細胞のコロニーを形成若しくは生じさせることなく、細胞が非接着性のままであるように、細胞が細胞同一性の保持を有して若返るように選択される。したがって、いくつかの実施形態では、本技術は、細胞若返りのための少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを送達するために使用される脂質含有組成物及び脂質－ナノ粒子組成物を提供し、任意の非接着細胞及び／又は非接着免疫細胞（例えば、非接着Ｔ細胞、ＮＫ細胞、マクロファージ、腫瘍浸潤細胞、樹状細胞、及び／又はＮＫＴ細胞）を含む細胞は、細胞が細胞同一性の保持を有して若返る手段でリプログラミングされ、細胞は、懸濁液中に留まり、接着性ではなく、またそれらは接着性である細胞にならないか若しくはそれを生じることなく、接着性にならないか、又は接着コロニーを形成しない。

【０３６６】

免疫細胞を若返らせる方法、免疫細胞における疲弊を逆転させる、防止する、若しくは阻害する方法、又は免疫細胞における増殖を誘導する方法を含む、本明細書に記載の方法は、約１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０日の期間にわたって、約１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０回、免疫細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを提供することを含む、本開示の脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。例えば、ｍＲＮＡは、５日又は６日の期間の１日目若しくは２日目に１回投与され得るか、又はそれは、５日又は６日の期間の１日目及び３日目に１回投与され得るか、又はそれは、１日の期間で１回投与され得る。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、免疫細胞に、１、２、３、４、５、又は６日の期間にわたって１、２、３、４、５、又は６回投与される。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡは、免疫細胞活性化ステップの後に投与される。いくつかの実施形態では、免疫細胞活性化ステップは、免疫細胞を１、２、又は３日間活性化することを含む。いくつかの実施形態では、免疫細胞活性化ステップは、ＣＤ３、ＣＤ２８、及びＩＬ－２のうちの少なくとも１つを使用して免疫細胞を活性化することを含む。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、ＣＤ３及びＣＤ２８で活性化される。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡ投与期間は、免疫細胞活性化ステップの直後に生じる。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡ投与期間は、免疫細胞活性化ステップの１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、又は１４日後に生じる。いくつかの実施形態では、リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡの投与は、免疫細胞活性化ステップによって引き起こされた免疫細胞疲弊を逆転する。いくつかの実施形態では、リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡの投与は、高齢の患者又はドナーからの免疫細胞における免疫細胞疲弊を逆転する。いくつかの実施形態では、ｍＲＮＡの投与は、製造プロセス中に行われて、移植のための免疫細胞、例えば、ＣＡＲ－Ｔ、ＣＡＲ－Ｍ、又はＣＡＲ－ＮＫ細胞を製造する。

【０３６７】

ｍＲＮＡの送達のための本技術の脂質又は脂質ナノ粒子の使用は、ｍＲＮＡのための異なる送達機序を使用するのと比較して、本明細書における方法及び組成物を使用して治療するか、又は若返らせる細胞における、増強した若返り、増殖、疲弊からの回復若しくはその防止、治療効果、抗病原性効果、抗がん効果、抗免疫原性効果、又は抗炎症効果を提供する。いくつかの実施形態では、かかる増強した若返り、増殖、疲弊からの回復若しくはその防止、治療効果、抗病原性効果、抗がん効果、抗免疫原性効果、又は抗炎症効果は、異なる送達機序と比較して、細胞に対するより低い毒性、免疫原性、及び／又はより低い生理学的影響に起因する。いくつかの実施形態では、異なる送達機序は、エレクトロポレーションを使用する場合と比較して、ｍＲＮＡの送達のための本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物の使用が、処理又は若返らせた細胞における増強した若返り、増殖、疲弊からの回復若しくはその防止、治療効果、抗病原性効果、抗がん効果、抗免疫原性効果、又は抗炎症効果をもたらすようなエレクトロポレーションである。エレクトロポレーションと比較したこの改善は、エレクトロポレーションと比較して細胞に対する低減した毒性又は低減した生理学的影響に起因し得る。

【０３６８】
本技術の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、少なくとも１つの治療剤又は診断剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与するなど、治療剤又は診断剤の皮膚への送達方法に使用され得る。いくつかの実施形態では、本技術の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚細胞又は免疫細胞などの細胞の一過性リプログラミングを達成する手段で、リプログラミング因子などの治療剤又は診断剤の送達を提供する。いくつかの実施形態では、細胞の一過性リプログラミングは、リプログラミング因子などの治療剤又は診断剤の一過性発現を提供し、薬剤は、細胞の同一性を変更することなくリプログラミングし、かつ／又は若返らせるのに十分な期間、細胞で発現され、すなわち、皮膚又は免疫細胞の同一性を保持しながら、皮膚又は免疫細胞を若返らせて、特徴又はより若い皮膚細胞若しくは免疫細胞を示す。

【０３６９】
本技術の治療剤は、いくつかの事例では、本明細書に開示されるｍＲＮＡである。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚科疾患若しくは病態を治療若しくは予防すること、皮膚の疾患若しくは病態を治療若しくは予防すること、又は皮膚における化粧品適用のための方法において使用され、少なくとも１つの治療剤又は診断剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚を若返らせる方法で使用され、治療剤又は診断剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚を若返らせる方法で使用され、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。かかる方法では、ｍＲＮＡは、脂質に結合するか、又は脂質－ナノ粒子に含有され得る。いくつかの態様では、かかる方法は、皮膚細胞を脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物でトランスフェクトして、ｍＲＮＡを送達することを更に含む。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚を若返らせる方法に使用され、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、細胞同一性を保持しながら皮膚の若返りを達成することを含む。かかる方法では、ｍＲＮＡは、脂質に結合するか、又は脂質－ナノ粒子に含有され得る。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚を若返らせる方法に使用され、皮膚細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含み、皮膚細胞における少なくとも１つのリプログラミング因子の発現は、皮膚細胞同一性を保持した線維芽細胞増殖の増加をもたらす。かかる方法では、ｍＲＮＡは、脂質に結合するか、又は脂質－ナノ粒子に含有され得る。

【０３７０】
脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷治癒の方法に使用され得、治療剤又は診断剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。いくつかの態様では、脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷治癒の方法に使用され、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。かかる方法では、ｍＲＮＡは、脂質に結合するか、又は脂質－ナノ粒子に含有され得る。いくつかの態様では、脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷治癒の方法に使用され、脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物は、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを送達して、細胞同一性を維持しながら創傷治癒を達成する。かかる方法では、ｍＲＮＡは、脂質に結合するか、又は脂質－ナノ粒子に含有され得る。いくつかの態様では、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷治癒の方法に使用され、皮膚細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含み、皮膚細胞における少なくとも１つのリプログラミング因子の発現は、皮膚細胞同一性を保持した線維芽細胞増殖の増加をもたらす。かかる方法では、ｍＲＮＡは、脂質に結合するか、又

は脂質－ナノ粒子に含有され得る。

【０３７１】

脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚科疾患若しくは病態を治療若しくは予防するか、皮膚の疾患若しくは病態を治療若しくは予防するか、又は皮膚における化粧品適用のための方法に使用され得、治療剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転を達成することを含む。いくつかの態様では、脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚を若返らせる方法に使用され、脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、皮膚細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを送達して、細胞同一性を保持しながら、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転を達成することを含む。いくつかの態様では、脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷治癒の方法に使用され、脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、皮膚細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを送達し、細胞同一性を保持しながら、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転を達成することを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、加齢皮膚細胞と比較して若年性皮膚細胞に認められる当該マーカーの発現と同様の手段で、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーを発現する若返った細胞を産生することを指す。

【０３７２】

本技術に従って影響を受け得るマーカーとしては、ＩＬ６、ＣＸＣＬ８、ＣＳＦ３、ＣＸＣＬ１、ＳＥＲＰＩＮＢ２、ＬＩＦ、ＩＬ１１、ＣＸＣＬ２、ＩＬ２４、ＰＴＧＳ２、ＭＭＰ３、ＣＣＬ２、ＴＦＰＩ２、ＩＥＲ３、ＡＣＫＲ３、ＰＴＧＥＳ、ＳＬＣ１６Ａ６、ＴＮＦＡＩＰ６、ＰＴＰＲＮ、ＩＬ１ＲＮ、ＩＬ１Ｂ、ＣＸＣＬ５、ＣＸＣＬ６、ＨＡＳ１、ＨＳＤ１１Ｂ１、ＣＨ２５Ｈ、ＡＤＧＲＤ１、Ｃ３、ＲＡＳＤ１、ＮＲ４Ａ３、ＳＴＣ１、ＴＣＩＭ、ＳＲＧＮ、ＡＣ００３０９２．１、ＬＲＲＮ３、ＣＨＩ３Ｌ１、ＮＲ４Ａ２、ＮＡＭＰＴ、ＰＲＳＳ２３、ＭＭＰ１、ＳＯＤ２、ＬＯＸＬ４、ＭＭＰ１１、ＥＬＮ、ＣＲＥＧ１、Ｃ１５ｏｒｆ４８、ＮＦＫＢＩＺ、ＰＩＤ１、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現が挙げられる。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＩＬ６、ＣＸＣＬ８、ＣＳＦ３、ＣＸＣＬ１、ＳＥＲＰＩＮＢ２、ＬＩＦ、ＩＬ１１、ＣＸＣＬ２、ＩＬ２４、ＰＴＧＳ２、ＭＭＰ３、ＣＣＬ２、ＴＦＰＩ２、ＩＥＲ３、ＡＣＫＲ３、ＰＴＧＥＳ、ＳＬＣ１６Ａ６、ＴＮＦＡＩＰ６、ＰＴＰＲＮ、ＩＬ１ＲＮ、ＩＬ１Ｂ、ＣＸＣＬ５、ＣＸＣＬ６、ＨＡＳ１、ＨＳＤ１１Ｂ１、ＣＨ２５Ｈ、ＡＤＧＲＤ１、Ｃ３、ＲＡＳＤ１、ＮＲ４Ａ３、ＳＴＣ１、ＴＣＩＭ、ＳＲＧＮ、ＡＣ００３０９２．１、ＬＲＲＮ３、ＣＨＩ３Ｌ１、ＮＲ４Ａ２、ＮＡＭＰＴ、ＭＭＰ１、ＳＯＤ２、ＣＲＥＧ１、Ｃ１５ｏｒｆ４８、ＮＦＫＢＩＺ、ＰＩＤ１、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＰＲＳＳ２３、ＬＯＸＬ４、ＭＭＰ１１、ＥＬＮ、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＰＲＳＳ２３のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＬＯＸＬ４のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＭＭＰ１１のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＥＬＮのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＭＭＰ３、ＭＭＰ１、ＳＯＤ２、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＭＭＰ３のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＭＭＰ１のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＳＯＤ２のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの皮膚加齢マーカーの逆転は、ＰＲＳＳ２３、ＬＯＸＬ４、ＭＭＰ１１、若しくはＥＬＮのうちの

少なくとも１つのｍＲＮＡ若しくはタンパク質発現の上方調節；ＭＭＰ３、ＭＭＰ１、ＳＯＤ２のうちの少なくとも１つのｍＲＮＡ若しくはタンパク質発現の下方調節；又はそれらの任意の組み合わせである。

【０３７３】

脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚科疾患若しくは病態を治療若しくは予防するか、皮膚の疾患若しくは病態を治療若しくは予防するか、又は皮膚における化粧品適用のための方法に使用され得、治療剤を含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、少なくとも１つの肌質マーカーの改善を達成することを含む。いくつかの態様では、脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚を若返らせる方法に使用され、皮膚細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、少なくとも１つの肌質マーカーの改善を達成することを含む。いくつかの実施形態では、脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚を若返らせる方法に使用され、皮膚細胞に、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、細胞同一性を保持しながら、少なくとも１つの肌質マーカーの改善を達成することを含む。

【０３７４】

脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷治癒の方法に使用され得、皮膚細胞に少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を投与して、少なくとも１つの肌質マーカーの改善を達成することを含む。いくつかの態様では、マーカーは、Ｉ型コラーゲン、ＩＩＩ型コラーゲン、Ｖ型コラーゲン、ＶＩ型コラーゲン、ＸＩ型コラーゲン、エラスチン、マイクロフィブリル関連タンパク質５、ペリオスチン、バーシカン、結合組織成長因子、リシルオキシダーゼ、ＳＰＡＲＣ、分泌リンタンパク質１、軟骨オリゴマーマトリックスタンパク質、ＭＭＰ１、ＭＭＰ３、ＭＭＰ１２、ＳＯＤ２、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＭＭＰ１、ＭＭＰ３、ＭＭＰ１２、ＳＯＤ２、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカー改善は、Ｉ型コラーゲン、ＩＩＩ型コラーゲン、ＩＶ型コラーゲン、Ｖ型コラーゲン、ＶＩ型コラーゲン、ＸＩ型コラーゲン、エラスチン、マイクロフィブリル関連タンパク質５、ペリオスチン、バーシカン、結合組織成長因子、リシルオキシダーゼ、ＳＰＡＲＣ、分泌リンタンパク質１、軟骨オリゴマーマトリックスタンパク質、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、Ｉ型コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＩＩＩ型コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＩＶ型コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、Ｖ型コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＶＩ型コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＸＩ型コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＸＩ型コラーゲンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、エラスチンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、マイクロフィブリル関連タンパク質５のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ペリオスチンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、バーシカンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マ

ーカーの改善は、結合組織成長因子のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、リシルオキシダーゼのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＳＰＡＲＣのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、分泌リンタンパク質１のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、軟骨オリゴマーマトリックスタンパク質のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＭＭＰ３、ＭＭＰ１、ＳＯＤ２、又はそれらの任意の組み合わせのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＭＭＰ３のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＭＭＰ１のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、ＳＯＤ２のｍＲＮＡ又はタンパク質発現の下方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、コラーゲンＶＩＩ及びエラスチンのｍＲＮＡ又はタンパク質発現の上方調節である。いくつかの態様では、少なくとも１つの肌質マーカーの改善は、コラーゲンＶＩＩ及びエラスチンのうちの少なくとも１つのｍＲＮＡ若しくはタンパク質発現の上方調節；ＭＭＰ３、ＭＭＰ１、ＳＯＤ２のうちの少なくとも１つのｍＲＮＡ若しくはタンパク質発現の下方調節；又はそれらの任意の組み合わせである。

【０３７５】

本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は脂質を含有する組成物は、皮膚に局所投与され得る。いくつかの態様では、本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は本開示の脂質を含有する組成物は、軟膏、クリーム、又は膏薬で皮膚に投与される。いくつかの態様では、本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は本開示の脂質を含有する組成物は、皮膚、皮内、又は皮下注射を介して皮膚に投与される。いくつかの態様では、本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は本開示の脂質を含有する組成物は、ゲルを介して皮膚に投与される。いくつかの態様では、本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は本開示の脂質を含有する組成物は、インビボ、インビトロ、又はエクスビボで投与される。いくつかの態様では、本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は本開示の脂質を含有する組成物は、インビボで投与される。いくつかの態様では、本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は本開示の脂質を含有する組成物は、ヒト又は動物対象に対するものである。

【０３７６】

本開示の脂質－ナノ粒子組成物又は脂質を含有する組成物は、皮膚細胞をトランスフェクトして、少なくとも１つの治療剤又は診断剤を皮膚細胞に送達し得る。いくつかの態様では、治療剤は、核酸である。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡ及びｓｉＲＮＡの組み合わせである。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡ及びｍｉＲＮＡの組み合わせである。いくつかの態様では、皮膚細胞は、ケラチノサイト、メラノサイト、ランゲルハンス細胞、卵胞細胞、線維芽細胞、内皮細胞、平滑筋細胞、メルケル細胞、基底細胞、扁平上皮細胞、アポクリン腺細胞、エクリン腺細胞、皮脂腺細胞、リンパ系内皮細胞、又はそれらの組み合わせである。いくつかの態様では、脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、特定の細胞型又は複数の細胞型への選択的トランスフェクションを提供するように選択される。いくつかの態様では、脂質又は脂質－ナノ粒子組成物は、皮膚内又は皮膚の少なくとも１つの層内に拡散を提供するように選択される。

【０３７７】

治療又は予防され得る疾患又は病態には、本技術の脂質組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を使用して治療又は予防され得る、皮膚科疾患若しくは病態、又は治療される皮膚の疾患若しくは病態が含まれる。例えば、皮膚粗鬆症又は慢性創傷は、本技術に従って治療され得る。いくつかの態様では、皮膚粗鬆症又は慢性創傷は、糖尿病性、虚血性、及び圧迫性潰瘍である。いくつかの態様では、本開示の脂質組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を使

用して治療又は予防される、皮膚科疾患若しくは病態又は皮膚の疾患若しくは病態は、炎症性皮膚疾患である。いくつかの態様では、炎症性皮膚疾患は、乾癬、アトピー性皮膚炎、白斑、斑状脱毛症、又は化膿性汗腺炎である。いくつかの態様では、本開示の脂質組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を使用して治療又は予防される、皮膚科疾患若しくは病態又は皮膚の疾患若しくは病態は、毛髪障害である。いくつかの態様では、毛髪障害は、非瘢痕性又は瘢痕性脱毛症、毛髪灰色化、多毛症である。いくつかの態様では、毛髪障害は、アンドロゲン性脱毛症である非瘢痕性脱毛症である。いくつかの態様では、瘢痕性脱毛症は扁平毛孔性苔癬である。いくつかの態様では、本開示の脂質組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を使用して治療又は予防される、皮膚科疾患若しくは病態又は皮膚の疾患若しくは病態は、皮膚がんである。いくつかの態様では、皮膚がんは、基底細胞がん、扁平上皮がん、又は光線性角化症である。いくつかの態様では、本開示の脂質組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を使用して治療又は予防される、皮膚科疾患若しくは病態又は皮膚の疾患若しくは病態は、結節性痒疹、ざ瘡、酒さ、又は日光性黒子である。いくつかの態様では、上記皮膚科疾患若しくは病態又は疾患のいずれかを治療する方法は、治療剤を含む本開示の脂質含有組成物又は本開示の脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、ナノボディ、ラクダ科抗体、二重特異性抗体、酵素、ゲノム編集酵素又はヌクレアーゼ、成長因子、サイトカイン、ケモカイン、転写因子、構造分子、シグナル伝達分子、リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、細胞内で作用するタンパク質又はペプチドをコードするｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡである。

【０３７８】

脂質組成物又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷が皮膚粗鬆症又は慢性創傷である創傷治癒の方法に使用され得る。いくつかの態様では、皮膚粗鬆症又は慢性創傷は、糖尿病性、虚血性、及び圧迫性潰瘍である。いくつかの態様では、本開示の脂質組成物又は脂質－ナノ粒子組成物は、創傷が皮膚がんからの病変である創傷治癒の方法に使用される。いくつかの態様では、皮膚がんは、基底細胞がん、扁平上皮がん、又は光線性角化症である。いくつかの態様では、上記創傷治癒方法のいずれかは、本開示の脂質を含有する組成物又は治療剤を含む脂質－ナノ粒子組成物を投与することを含む。いくつかの態様では、治療剤は、ｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、ナノボディ、ラクダ科抗体、二重特異性抗体、酵素、ゲノム編集酵素又はヌクレアーゼ、成長因子、サイトカイン、ケモカイン、転写因子、構造分子、シグナル伝達分子、リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、細胞内で作用するタンパク質又はペプチドをコードするｍＲＮＡである。いくつかの態様では、治療剤は、少なくとも１つのリプログラミング因子をコードするｍＲＮＡである。

【０３７９】

脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（ＩＩ）を含有し得、脂質式（ＩＩ）を含有する他の脂質－ナノ粒子組成物又は本明細書に記載の他の脂質を含有する他の脂質－ナノ粒子組成物と比較して、皮膚細胞においてより高いトランスフェクション効率を有する。脂質式（ＩＩ）を含むかかる組成物は、少なくとも１つのリプログラミング因子をトランスフェクトするために使用される場合、他の製剤と比較して、又は本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、少なくとも１つの肌質マーカーのより大きな改善をもたらし得る。

【０３８０】

実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、より高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、より高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質

－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、皮膚細胞におけるより高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、皮膚細胞におけるより高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、線維芽細胞におけるより高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、線維芽細胞におけるより高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、免疫細胞におけるより高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、免疫細胞におけるより高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、Ｔ細胞におけるより高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、Ｔ細胞におけるより高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）の尾部構造は、脂質－ナノ粒子組成物のために増加したトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）の尾部構造は、脂質－ナノ粒子組成物における非分岐のアルキル又はアルケニル尾部構造と比較して、増加したトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）の尾部構造は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）の尾部構造と比較して、脂質－ナノ粒子組成物のために増加したトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、本明細書に記載の脂質の尾部構造におけるアルキル基の分岐に隣接するエステル基は、脂質－ナノ粒子組成物のために増加したトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、本明細書に記載の脂質の尾部構造におけるアルキル基の分岐に隣接するエステル基は、分岐を有しないアルキル又はアルケニル尾部構造と比較して、脂質－ナノ粒子組成物のために増加したトランスフェクション効率を提供する。

【０３８１】

実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、より高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、より高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、皮膚細胞におけるより高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、皮膚細胞におけるより高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、線維芽細胞におけるより高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、線維芽細胞におけるより高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、免疫細胞におけるより高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、免疫細胞におけるより高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、Ｔ細胞におけるよ

り高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、Ｔ細胞におけるより高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）の尾部構造は、脂質－ナノ粒子組成物のために増加した生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）の尾部構造は、非分岐のアルキル又はアルケニル尾部構造と比較して、脂質－ナノ粒子組成物のために増加した生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）の尾部構造は、脂質式（Ｉ）の尾部構造と比較して、脂質－ナノ粒子組成物のために増加した生存率を提供する。実施形態では、本明細書に記載の脂質の尾部構造におけるアルキル基の分岐に隣接するエステル基は、脂質－ナノ粒子組成物のために増加した生存率を提供する。実施形態では、本明細書に記載の脂質の尾部構造におけるアルキル基の分岐に隣接するエステル基は、分岐を有しないアルキル又はアルケニル尾部構造と比較して、脂質－ナノ粒子組成物のために増加した生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）の尾部構造におけるＲ６、Ｒ７、Ｒ８、及びＲ１０の分岐と一緒に、Ｒ６及びＲ７に並びにＲ８及びＲ１０に隣接するエステル基は、脂質－ナノ粒子組成物のために増加した生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）の尾部構造におけるＲ６、Ｒ７、Ｒ８、及びＲ１０の分岐と一緒に、Ｒ６及びＲ７に並びにＲ８及びＲ１０に隣接するエステル基は、分岐を有しないアルキル又はアルケニルの尾部構造と比較して、脂質－ナノ粒子組成物のために増加した生存率を提供する。

【０３８２】

実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、より高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、より高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、皮膚細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、皮膚細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、線維芽細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、線維芽細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、免疫細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、免疫細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、Ｔ細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、Ｔ細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）の尾部構造は、増加したトランスフェクション効率及び増加した生存率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）の尾部構造は、分岐を有しないアルキル又はアルケニル尾部構造と比較して、増加したトランスフェクション効率及び増加した生存率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）の尾部構造は、脂質式（Ｉ）の尾

部構造と比較して、脂質－ナノ粒子組成物のために増加したトランスフェクション効率及び増加した生存率の両方を提供する。実施形態では、本明細書に記載の脂質の尾部構造におけるアルキル基の分岐に隣接するエステル基は、脂質－ナノ粒子組成物のために増加したトランスフェクション効率及び増加した生存率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）の尾部構造におけるＲ６、Ｒ７、Ｒ８、及びＲ１０の分岐と一緒に、Ｒ６及びＲ７に並びにＲ８及びＲ１０に隣接するエステル基は、脂質－ナノ粒子組成物のために増加したトランスフェクション効率及び増加した生存率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）の尾部構造におけるＲ６、Ｒ７、Ｒ８、及びＲ１０の分岐と一緒に、Ｒ６及びＲ７に並びにＲ８及びＲ１０に隣接するエステル基は、分岐を有しないアルキル又はアルケニルの尾部構造と比較して、脂質－ナノ粒子組成物のために増加したトランスフェクション効率及び増加した生存率の両方を提供する。

【０３８３】

脂質式（Ｉ－Ｂ）を含むかかる組成物は、少なくとも１つのリプログラミング因子を皮膚細胞にトランスフェクトするために使用される場合、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、少なくとも１つの皮膚若返りマーカー又は肌質マーカーのより大きな改善をもたらし得る。脂質式（Ｉ－Ｂ）を含むかかる組成物は、少なくとも１つのリプログラミング因子を皮膚細胞にトランスフェクトするために使用される場合、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、少なくとも１つの皮膚若返りマーカー又は肌質マーカーのより大きな改善をもたらし得る。脂質式（Ｉ－Ｂ）を含むかかる組成物は、少なくとも１つのリプログラミング因子を免疫細胞にトランスフェクトするために使用される場合、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、少なくとも１つの免疫細胞若返りマーカー又は免疫細胞幹細胞性マーカーのより大きな改善をもたらし得る。脂質式（Ｉ－Ｂ）を含むかかる組成物は、少なくとも１つのリプログラミング因子を免疫細胞にトランスフェクトするために使用される場合、同じ頭部基を有する、脂質式（Ｉ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、少なくとも１つの免疫細胞若返りマーカー又は幹細胞性若返りマーカーのより大きな改善をもたらし得る。

【０３８４】

実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、より高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、より高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、皮膚細胞におけるより高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、皮膚細胞におけるより高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、線維芽細胞におけるより高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、線維芽細胞におけるより高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、免疫細胞におけるより高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（Ｉ）を含有してｑ２が不在でありｑ１が１である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、免疫細胞におけるより高いトランスフェクション効

率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、Ｔ細胞におけるより高いトランスフェクション効率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、Ｔ細胞におけるより高いトランスフェクション効率を提供する。

【０３８５】

実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、より高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、より高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、皮膚細胞におけるより高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、皮膚細胞におけるより高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、線維芽細胞におけるより高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、線維芽細胞におけるより高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、免疫細胞におけるより高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、免疫細胞におけるより高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、Ｔ細胞におけるより高い生存率を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、Ｔ細胞におけるより高い生存率を提供する。

【０３８６】

実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、より高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、より高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、皮膚細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、皮膚細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、線維芽細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－

ナノ粒子組成物は、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、線維芽細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、免疫細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、免疫細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ－Ｂ）を含有する脂質－ナノ粒子組成物は、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、Ｔ細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。実施形態では、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が不在でありｑ２が１である脂質－ナノ粒子組成物は、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、Ｔ細胞におけるより高い生存率及びより高いトランスフェクション効率の両方を提供する。

【０３８７】

脂質式（Ｉ）を含んでｑ１が不在でありｑ２が１であるかかる組成物は、少なくとも１つのリプログラミング因子を皮膚細胞にトランスフェクトするために使用される場合、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、少なくとも１つの皮膚若返りマーカー又は肌質マーカーのより大きな改善をもたらし得る。脂質式（Ｉ）を含んでｑ１が不在でありｑ２が１であるかかる組成物は、少なくとも１つのリプログラミング因子を皮膚細胞にトランスフェクトするために使用される場合、脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、少なくとも１つの皮膚若返りマーカー又は肌質マーカーのより大きな改善をもたらし得る。脂質式（Ｉ）を含んでｑ１が不在でありｑ２が１であるかかる組成物は、少なくとも１つのリプログラミング因子を免疫細胞にトランスフェクトするために使用される場合、本明細書に記載の他の脂質を含有する脂質－ナノ粒子組成物と比較して、少なくとも１つの免疫細胞若返りマーカー又は免疫細胞幹細胞性マーカーのより大きな改善をもたらし得る。脂質式（Ｉ）を含んでｑ１が不在でありｑ２が１であるかかる組成物は、少なくとも１つのリプログラミング因子を免疫細胞にトランスフェクトするために使用される場合、同じ頭部基を有する脂質式（Ｉ）を含有してｑ１が１でありｑ２が不在である脂質－ナノ粒子組成物と比較して、少なくとも１つの免疫細胞若返りマーカー又は幹細胞性若返りマーカーのより大きな改善をもたらし得る。

【０３８８】

本明細書に提供される方法は、脂質又は脂質－ナノ粒子組成物を使用して、細胞を１つ以上の細胞リプログラミング因子をコードする１つ以上の非組み込みメッセンジャーＲＮＡでトランスフェクトし、それによって若返った細胞を産生することを含む。若返らせる細胞は、任意の細胞型であり得る。実施形態では、細胞は、約２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、ｍＲＮＡと接触させるか、それに曝露するか、又はそれでトランスフェクトする。実施形態では、細胞は、約１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、ｍＲＮＡと接触させるか、それに曝露するか、又はそれでトランスフェクトする。実施形態では、細胞は、約１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、ｍＲＮＡと接触させるか、それに曝露するか、又はそれでトランスフェクトする。実施形態では、細胞は、約７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、ｍＲＮＡと接触させるか、それに曝露するか、又はそれでトランスフェクトする。実施形態では、細胞は、約５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、ｍＲＮＡと接触させるか、それに曝露するか、又はそれでトランスフェクトする。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内

のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、あるいは細胞は、約２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、あるいは細胞は、約１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、又は細胞は、少なくとも約２日かつ約１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２日を超えない間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、あるいは細胞は、約１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、又は細胞は、少なくとも約２日かつ約１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２日を超えない間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、あるいは細胞は、約７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、又は細胞は、少なくとも約２日かつ約７、６、５、４、３、若しくは２日を超えない間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、あるいは細胞は、約５、４、３、２、若しくは１日を超えない間、又は１日未満の間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、少なくとも１つのリプログラミング因子は、細胞内のトランスフェクトされたｍＲＮＡから発現するか、又は細胞は、少なくとも約２日かつ約５、４、３、若しくは２日を超えない間、トランスフェクトされたｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に曝露される。実施形態では、若返った細胞は、若い細胞と同様の表現型又は活性プロファイルを有する。表現型又は活性プロファイルは、トランスクリプトームプロファイル、１つ以上の核マーカー及び／又はエピジェネティックマーカーの遺伝子発現、タンパク質分解活性、ミトコンドリアの健全性及び機能、ＳＡＳＰサイトカイン発現、並びにメチル化ランドスケープのうちの１つ以上を含む。

【０３８９】

本明細書に記載の若返った細胞は、若い細胞のトランスクリプトームプロファイルに更に類似したトランスクリプトームプロファイルを有し得る。実施形態では、若返った細胞のトランスクリプトームプロファイルは、ＲＰＬ３７、ＲＨＯＡ、ＳＲＳＦ３、ＥＰＨＢ４、ＡＲＨＧＡＰ１８、ＲＰＬ３１、ＦＫＢＰ２、ＭＡＰ１ＬＣ３Ｂ２、Ｅｌｆｌ、Ｐｈｆ８、Ｐｏｌ２ｓ２、Ｔａｆｌ、及びＳｉｎ３ａから選択される１つ以上の遺伝子の遺伝子発現における増加を含む。

【０３９０】

本明細書に記載の若返った細胞はまた、参照値と比較して、１つ以上の核マーカー及び／又はエピジェネティックマーカーの増加した遺伝子発現を示し得る。実施形態では、１つ以上の核マーカー及び／又はエピジェネティックマーカーは、Ｈｐｌガンマ、Ｈ３Ｋ９ｍｅ３、ラミナサポートタンパク質ＬＡＰ２アルファ、及びＳＩＲＴｌタンパク質から選

択される。実施形態では、若返った細胞は、若い細胞のタンパク質分解活性により類似したタンパク質分解活性を有する。実施形態では、タンパク質分解活性は、増加した細胞オートファゴソーム形成、増加したキモトリプシン様プロテアソーム活性、又はそれらの組み合わせとして測定される。実施形態では、若返った細胞は、参照値と比較して改善したミトコンドリア健全性及び機能を示す。実施形態では、改善したミトコンドリア健全性及び機能は、増加したミトコンドリア膜電位、減少した反応性酸素種（ＲＯＳ）、又はそれらの組み合わせとして測定される。

【０３９１】

本明細書に記載の若返った細胞はまた、参照値と比較して、１つ以上のＳＡＳＰサイトカインの減少した発現を示し得る。実施形態では、１つ以上のＳＡＳＰサイトカインは、ＩＬ１８、ＩＬＩＡ、ＧＲＯＡ、ＩＬ２２、及びＩＬ９を含む。実施形態では、若返った細胞は、メチル化ランドスケープの反転を示す。実施形態では、メチル化ランドスケープの反転は、Ｈｏｒｖａｔｈクロック推定によって測定される。いくつかの実施形態では、参照値は、加齢細胞から得られる。

【０３９２】

本明細書に記載のように、細胞は、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物を使用して細胞にトランスフェクトされた１つ以上の細胞リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡによる一過性リプログラミングによって若返り得る。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、約２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞を非組み込みｍＲＮＡでトランスフェクトすることによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、約１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞を非組み込みｍＲＮＡでトランスフェクトすることによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、約９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞を非組み込みｍＲＮＡでトランスフェクトすることによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、約６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞を非組み込みｍＲＮＡでトランスフェクトすることによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、あるいは約２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、又は少なくとも２日かつ約２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２日を超えない間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、あるいは約１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、又は少なくとも２日かつ約１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２日を超えない間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形

態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、あるいは約１０、９、８、７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、又は少なくとも２日かつ約１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２日を超えない間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、あるいは約７、６、５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、又は少なくとも２日かつ約７、６、５、４、３、若しくは２日を超えない間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、あるいは約５、４、３、２、若しくは１日を超えないか、又は１日未満の間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。一過性リプログラミングは、いくつかの実施形態では、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから少なくとも１つのリプログラミング因子を発現するか、又は少なくとも２日かつ約５、４、３、若しくは２日を超えない間、細胞内でトランスフェクトされた非組み込みｍＲＮＡから発現した少なくとも１つのリプログラミング因子に細胞を曝露することによって達成される。実施形態では、細胞の一過性リプログラミングは、細胞の幹細胞への完全な脱分化を回避しながら、加齢の様々な特徴を排除する。

【０３９３】

本明細書に提供される方法及び組成物は、本開示の脂質又は脂質－ナノ粒子組成物によって送達される、細胞リプログラミング因子をコードする１つ以上のｍＲＮＡの一過性過剰発現によって、細胞齢逆転、又は若返りを達成する。かかる細胞リプログラミング因子としては、ミトコンドリア機能、タンパク質分解活性、ヘテロクロマチンレベル、ヒストンメチル化、核ラミナポリペプチド、サイトカイン分泌、又は老化に影響を及ぼす、転写因子、エピジェネティックリモデラー、又は小分子が挙げられ得る。実施形態では、細胞リプログラミング因子は、ＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、ｃ－ＭＹＣ、ＬＩＮ２８、及びＮＡＮＯＧのうちの１つ以上を含む。実施形態では、細胞リプログラミング因子は、異なるモル比、例えば、ａ：ｂ：ｃ：ｄ：ｅ：ｆのモル比でのＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、ｃ－ＭＹＣ、ＬＩＮ２８、及びＮＡＮＯＧであって、式中、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、ｅ、及びｆは、全て同じ数（例えば、１：１：１：１：１：１）、いくつかの同じ数及びいくつかの異なる数（例えば、３：１：１：１：１：１、２：１：１：１：１：１、２：２：１：１：１：１、２：２：２：１：１：１、２：２：２：２：１：１、２：２：２：２：２：１、３：３：３：３：２：２）、又は全て異なる数（例えば、６：４：５：３：２：１）であることができる、ａ：ｂ：ｃ：ｄ：ｅ：ｆのモル比でのＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、ｃ－ＭＹＣ、ＬＩＮ２８、及びＮＡＮＯＧで適用される。実施形態では、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、ｅ、及び／又はｆは、各々１～７、すなわち、１～７：１～７：１～７：１～７：１～７：１～７（又は６つの因数よりも少ない組み合わせの場合、１～７：１～７：１～７：１～７：１～７、１～７：１～７：１～７：１～７、１～７：１～７：１～７、１～７：１～７、又は１～７：１）である。実施形態では、細胞リプログラミング因子は、

異なる重量比、例えば、ａ：ｂ：ｃ：ｄ：ｅ：ｆの重量比でのＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、ｃ－ＭＹＣ、ＬＩＮ２８、及びＮＡＮＯＧであって、式中、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、ｅ、及びｆは、各々が同じ（例えば、１：１：１：１：１：１）あることができ、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、ｅ、及びｆの各々は、同じか若しくは異なる数（例えば、３：１：１：１：１：１、２：１：１：１：１：１、２：２：１：１：１：１、２：２：２：１：１：１、２：２：２：２：１：１、２：２：２：２：２：１、３：３：３：３：２：２）であることができるか、又は各々が異なる数（例えば、６：４：５：３：２：１）であることができる、ａ：ｂ：ｃ：ｄ：ｅ：ｆの重量比でのＯＣＴ４、ＳＯＸ２、ＫＬＦ４、ｃ－ＭＹＣ、ＬＩＮ２８、及びＮＡＮＯＧで適用される。実施形態では、ａ、ｂ、ｃ、ｄ、ｅ、及び／又はｆは、各々１～７、すなわち、１～７：１～７：１～７：１～７：１～７：１：７（又は６つの因数よりも少ない組み合わせの場合、１～７：１～７：１～７：１～７：１～７、１～７：１～７：１～７：１～７、１～７：１～７：１～７、１～７：１～７、又は１～７：１）である。

【０３９４】

本明細書に提供される方法及び組成物は、若返りを必要とする任意のタイプの細胞、組織、又は器官に適用され得る。本開示の方法及び組成物は、培養（例えば、エクスビボ又はインビトロ）中で細胞を若返らせるために使用して、細胞療法における使用のために機能及び効力を改善することができる。患者の治療に使用される細胞は、自己又は同種異系であり得る。細胞は、患者若しくは適合したドナーに由来することができるか、又はそれらは細胞バンクから得るか、若しくはｉＰＳ細胞に由来することができる。例えば、自己エクスビボ療法では、細胞は、治療される患者から直接得て、本明細書に記載の細胞リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡでトランスフェクトし、患者に再移植することができる。かかる細胞は、例えば、患者で行われる生検又は外科的処置から得ることができる。代替的に、同種異系エクスビボ療法において、細胞は、細胞バンク又はｉＰＳ細胞に由来する細胞株から得、本明細書に記載のように、細胞リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡでトランスフェクトし、患者に再移植することができる。代替的に、若返りを必要とする細胞は、細胞リプログラミング因子をコードするｍＲＮＡを用いてインビボで直接的にトランスフェクトすることができる。

【０３９５】

本開示の脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物は、リプログラミング因子が、タンパク質／ポリペプチドに対する任意の誘発免疫応答を減少させ、タンパク質／ポリペプチドの安定性を増加するように最適化されており、野生型リプログラミング因子と比較した場合に増加した活性など、タンパク質／ポリペプチド活性を変化させているため、より堅牢な細胞若返りを提供するリプログラミング因子を発現するｍＲＮＡの送達のために使用され得る。

【０３９６】

本明細書に提供される方法は、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物を細胞若しくは対象に投与すること、又は細胞を、ＲＮＡを含む脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物で、投与間隔が２５、２４、２３、２２、２１、２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、又は２日を超えない連続した日の間、処理若しくはトランスフェクトすることを含む。いくつかの実施形態では、投与間隔は、１日である。いくつかの実施形態では、組成物は、１回投与される。いくつかの実施形態では、ＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物の投与は、投与間隔期間中に少なくとも１日１回行われる。いくつかの実施形態では、投与は、投与間隔中に１日当たり１回未満のより少ない頻度、例えば、２日ごとに１回、３日ごとに１回、４日ごとに１回、ｘ日ごとに１回（ｘは４～２５の数である）で行われる。したがって、かかる実施形態では、例えば、ＲＮＡを含む脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物を５日間の投与間隔で５日ごとに１回投与することは、ＲＮＡが間隔中に１回、すなわち、５日間の総治療期間中に１回投与されることを意味するが、ＲＮＡを５日間の投与間隔で１日２回投与することは、ＲＮＡが間隔中に１０回

、すなわち、５日間で１０回投与されることを意味する。いくつかの実施形態では、方法は、ＲＮＡを含む脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物を細胞若しくは対象に投与すること、又は細胞を、ＲＮＡを含む脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物で、２１、１８、１４、１０、７、又は５日を超えない連続した日の間、処理若しくはトランスフェクトすることを含む。いくつかの実施形態では、方法は、ＲＮＡを含む脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物を細胞若しくは対象に投与すること、又は細胞を、ＲＮＡを含む脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物で、１８日を超えない連続した日の間、処理若しくはトランスフェクトすることを含む。いくつかの実施形態では、方法は、ＲＮＡを含む脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物を細胞若しくは対象に投与すること、又は細胞を、ＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物で、１４日を超えない連続した日の間、処理若しくはトランスフェクトすることを含む。いくつかの実施形態では、方法は、ＲＮＡを含む脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物を細胞若しくは対象に投与すること、又は細胞を、ＲＮＡを含む脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物で、１０日を超えない連続した日の間、処理若しくはトランスフェクトすることを含む。いくつかの実施形態では、方法は、ＲＮＡを含む脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物を細胞若しくは対象に投与すること、又は細胞を、ＲＮＡを含む脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物で、７日を超えない連続した日の間、処理若しくはトランスフェクトすることを含む。いくつかの実施形態では、方法は、ＲＮＡを含む脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物を細胞若しくは対象に投与すること、又は細胞を、ＲＮＡを含む脂質含有組成物若しくは脂質－ナノ粒子組成物で、５日を超えない連続した日の間、処理若しくはトランスフェクトすることを含む。他の実施形態では、当該曝露することは、当該曝露することを中断すること、及び当該中断することの後に当該曝露することを繰り返すことを含む。いくつかの実施形態では、当該曝露すること、処理すること、トランスフェクトすること、発現させること、又は投与することは、免疫細胞を、連続した約２～５日、連続した約５～７日、連続した約７～１０日、連続した約１０～１２日、連続した約１２～１４日、連続した約１４～１７日、連続した約１７～１９日、又は連続した約１９～２１日の間、曝露すること、処理すること、トランスフェクトすること、発現させること、又は投与することを含み、いくつかの実施形態では、当該曝露することを中断すること、及び当該中断することの後に、当該曝露することを繰り返すことを更に含む。

【０３９７】

曝露の持続時間は、自己増幅ＲＮＡ、環状ＲＮＡ、Ｂ１８Ｒ及び他のデコイ、並びに／又はＬ７Ａｅ若しくはそのファミリーメンバーなどのオン／オフスイッチなどの機序によって制御される。いくつかの実施形態では、当該繰り返すことは、任意の回数、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、若しくは１０回、又は最大２０回、又は最大３０回、又はそれ以上行われる。インビボ適用では、当該繰り返すことは、例えば、疾患が成功裏に治療若しくは治癒されるまで、又は対象若しくは患者の生涯を通して、任意の期間継続し得る。いくつかの実施形態では、当該繰り返すことは、当該中断することの後の任意の時期、例えば、当該中断することの後、０、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０、最大２０、最大３０日、最大３か月、最大６か月、又は最大１年行われる。１つの曝露期間は、例えば、曝露－中断－繰り返し曝露の順序が、２つの投与間隔を含むような、投与間隔であると考えられる。

【０３９８】

薬学的組成物

本開示はまた、本明細書に記載のナノ粒子組成物と、その薬学的に許容され得る担体と、を含む薬学的組成物を提供する。薬学的組成物は、患者（例えば、ヒト）に、又は特定の疾患若しくは目的の病態を治療するために細胞に、核酸を送達するために特に有用である。適切な濃度及び用量は、当業者によって容易に決定することができる。

【０３９９】

若返った細胞を含む薬学的組成物は、細胞を、１つ以上の細胞リプログラミング因子を

コードする１つ以上の非組み込みメッセンジャーＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物で、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、又は１４日の連続した日を超えない間、トランスフェクトして、細胞を若返りのために一過性にリプログラミングすることによって得られ得る。治療用ｍＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物でトランスフェクトすることによって細胞を処理することも企図され、実施形態では、トランスフェクションを１回行って、若返った細胞などの処理した細胞を得る。単回トランスフェクションステップは、例えば、自己複製ＲＮＡ構築物について企図される。別の態様では、細胞を、１つ以上の細胞リプログラミング因子をコードする１つ以上の非組み込みメッセンジャーＲＮＡを含む本開示の脂質含有組成物又は脂質－ナノ粒子組成物で、４、５、６、又は７日の連続した日を超えない間、トランスフェクトして、細胞を若返りのために一過性にリプログラミングすることによって得られた若返った細胞を含む、薬学的組成物が本明細書に提供される。

【０４００】

本開示の薬学的組成物は、錠剤、カプセル、粉末、顆粒、軟膏、溶液、懸濁液、坐剤、注射剤、吸入剤、ゲル、ミクロスフェア、及びエアロゾルなどの固体、半固体、液体、又は気体形態で調製物に製剤化され得る。かかる薬学的組成物を投与する典型的な経路としては、局部、経口、局所、経皮、吸入、非経口、舌下、頬、直腸、膣、及び鼻腔内が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書で使用される非経口という用語は、皮下注射、静脈内、筋肉内、皮内、胸骨内の注射又は注入技法を含む。本開示の薬学的組成物は、患者への組成物の投与で、その中に含有された有効成分が生体利用可能になるように製剤化される。対象又は患者に投与される組成物は、１つ以上の投与量単位の形態をとり、例えば、錠剤は、単一の投与量単位であり得、エアロゾル形態における本開示の化合物の容器は、複数の投与量単位を保持し得る。かかる投与形態を調製する実際の方法は、当業者に既知であるか、又は明らかであり、例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ，２０ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ（Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ Ｃｏｌｌｅｇｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ ａｎｄ Ｓｃｉｅｎｃｅ，２０００）を参照されたい。投与される組成物は、目的の疾患又は病態の治療のための治療有効量のナノ粒子組成物を含む。

【０４０１】

本開示の薬学的組成物は、固体又は液体の形態にあり得る。一態様では、担体（複数可）は、組成物が、例えば、錠剤又は粉末の形態であるように、微粒子である。担体（複数可）は、液体であり得、組成物は、例えば、経口シロップ、注射可能な液体、又はエアロゾルであり、これは、例えば、吸入投与において有用である。

【０４０２】

経口投与のために意図される場合、薬学的組成物は、好ましくは、固体又は液体のいずれかの形態にあり、半固体、半液体、懸濁液、及びゲル形態は、本明細書において固体又は液体のいずれかとして考慮される形態内に含まれる。

【０４０３】

経口投与のための固体組成物として、薬学的組成物は、粉末、顆粒、圧縮錠剤、ピル、カプセル、チューインガム、ウエハーなどの形態で製剤化され得る。かかる固体組成物は、典型的には、１つ以上の不活性希釈剤又は食用担体を含有する。加えて、以下のうちの１つ以上が存在し得る：カルボキシメチルセルロース、エチルセルロース、微結晶セルロース、トラガカントゴム、又はゼラチンなどの結合剤、デンプン、ラクトース、又はデキストリンなどの賦形剤、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、Ｐｒｉｍｏｇｅｌ、コーンスターチなどの崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、又はＳｔｅｒｏｔｅｘなどの滑沢剤、コロイド状二酸化ケイ素などの流動促進剤、スクロース又はサッカリンなどの甘味剤、ペパーミント、サリチル酸メチル、又はオレンジ風味などの風味剤、及び着色剤。

【０４０４】

薬学的組成物がカプセル、例えば、ゼラチンカプセルの形態にある場合、それは、上記のタイプの材料に加えて、ポリエチレングリコール又は油などの液体担体を含有し得る。

【０４０５】
薬学的組成物は、液体、例えば、エリキシル、シロップ、溶液、エマルション、又は懸濁液の形態にあり得る。液体は、２つの例として、経口投与又は注射による送達のためであり得る。経口投与のために意図される場合、好ましい組成物は、本化合物に加えて、甘味剤、保存剤、色素／着色剤、及び風味増強剤のうちの１つ以上を含有する。注射によって投与されることが意図される組成物では、界面活性剤、保存剤、湿潤剤、分散剤、懸濁剤、緩衝剤、安定剤、及び等張剤のうちの１つ以上が含まれ得る。
【０４０６】
本開示の液体薬学的組成物は、溶液、懸濁液、又は他の同様の形態であるかにかかわらず、以下のアジュバント：注射用水、生理食塩溶液、好ましくは生理学的生理食塩水、リンゲル溶液、等張塩化ナトリウム、溶媒又は懸濁媒体として作用し得る合成モノ又はジグリセリドなどの固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、又は他の溶媒などの無菌の希釈剤；ベンジルアルコール又はメチルパラベンなどの抗微生物剤；アスコルビン酸又は亜硫酸水素ナトリウムなどの抗酸化剤；エチレンジアミン四酢酸などのキレート化剤；酢酸、クエン酸、又はリン酸などの緩衝剤、及び塩化ナトリウム又はデキストロースなどの浸透圧の調整のための薬剤；スクロース又はトレハロースなどの凍結保護剤として作用する薬剤のうちの１つ以上を含み得る。非経口調製物は、ガラス又はプラスチック製のアンプル、使い捨てシリンジ、又は複数回投与バイアルに封入することができる。生理学的生理食塩水が好ましいアジュバントである。注射可能な薬学的組成物は、好ましくは無菌である。
【０４０７】
非経口又は経口投与のいずれかのために意図される本開示の液体薬学的組成物は、好適な投与量が得られるような、本開示の化合物の量を含有すべきである。
【０４０８】
本開示の薬学的組成物は、局所投与のために意図され得、その場合、担体は、溶液、エマルション、軟膏、又はゲルベースを好適に含み得る。基剤は、例えば、以下：ワセリン、ラノリン、ポリエチレングリコール、蜜蝋、鉱油、水及びアルコールなどの希釈剤、並びに乳化剤及び安定剤のうちの１つ以上を含み得る。増粘剤が、局所投与のための薬学的組成物中に存在し得る。経皮投与のために意図される場合、組成物は、経皮パッチ又はイオントフォレーシスデバイスを含み得る。
【０４０９】
本開示の薬学的組成物は、例えば、直腸内で溶融して薬物を放出する坐剤の形態での直腸投与のために意図され得る。直腸投与のための組成物は、好適な非刺激性賦形剤として油性ベースを含有し得る。かかるベースとしては、ラノリン、カカオバター、及びポリエチレングリコールが挙げられるが、これらに限定されない。
【０４１０】
本開示の薬学的組成物は、固体又は液体の投与量単位の物理的形態を変更する様々な材料を含み得る。例えば、組成物は、有効成分の周りにコーティングシェルを形成する材料を含み得る。コーティングシェルを形成する材料は、通常、不活性であり、例えば、糖、シェラック、及び他の腸溶コーティング剤から選択され得る。代替的に、有効成分は、ゼラチンカプセルに包まれ得る。
【０４１１】
固体又は液体形態における本開示の薬学的組成物は、本開示の化合物に結合し、それによって化合物の送達を補助する薬剤を含み得る。この能力で作用し得る好適な薬剤としては、モノクローナル若しくはポリクローナル抗体、又はタンパク質が挙げられる。
【０４１２】
本開示の薬学的組成物は、エアロゾルとして投与することができる投与量単位から構成され得る。エアロゾルという用語は、コロイド性質のものから加圧パッケージで構成されるシステムまで、様々なシステムを示すために使用される。送達は、液化若しくは圧縮ガスによって、又は有効成分を分配する好適なポンプシステムによって行われ得る。本開示

の化合物のエアロゾルは、有効成分（複数可）を送達するために、単相、二相、又は三相系で送達され得る。エアロゾルの送達には、必要な容器、アクチベーター、バルブ、サブ容器などが含まれ、これらが一緒にキットを形成し得る。当業者は、過度の実験を伴うことなく、好ましいエアロゾルを決定し得る。

【０４１３】

本開示の薬学的組成物は、薬学分野で周知である方法論によって調製され得る。例えば、注射によって投与されることが意図された薬学的組成物は、本開示の脂質ナノ粒子を、無菌の蒸留水、緩衝液、又は他の担体と組み合わせることによって調製して溶液を形成することができる。界面活性剤を添加して、均質な溶液又は懸濁液の形成を容易にし得る。界面活性剤は、水性送達システムにおける化合物の溶解又は均一な懸濁を促進するように、本開示の化合物と非共有結合的に相互作用する化合物である。

【０４１４】

本明細書に記載の化合物又はそれらの薬学的に許容され得る塩を含む本開示の組成物は、用いられる特定の治療剤の活性、治療剤の代謝安定性及び作用の長さ、患者の年齢、体重、全般的な健康、性別、及び食事、投与の方法及び期間、排泄の割合、薬物組み合わせ、特定の障害又は病態の重症度、並びに療法を受ける対象を含む様々な要因に応じて変化する、治療有効量で投与される。

【０４１５】

本開示の組成物はまた、１つ以上の他の治療薬の投与と同時に、その前に、又はその後に投与され得る。かかる併用療法には、本開示の組成物と１つ以上の追加の活性剤との単一の薬学的投与製剤の投与、並びに本開示の組成物と各活性剤のそれ自体の別個の薬学的投与製剤との投与が含まれる。例えば、本開示の組成物及び他の活性剤は、患者に、錠剤若しくはカプセルなどの単一の経口投与組成物、又は皮下、皮内、若しくは静脈内注射などの単一の注射で一緒に投与することができるか、あるいは各薬剤は、別個の経口投与製剤又は別個の注射で投与することができる。別個の投与製剤が使用される場合、本開示の化合物及び１つ以上の追加の活性剤は、本質的に同じ時間に、すなわち、同時に、又は別々にずらした時間で、すなわち、順次、投与することができ、併用療法は、これらの全てのレジメンを含むことが理解される。

【実施例】

【０４１６】

ＶＩ．実施例

本開示は、治療薬／予防薬の送達を容易にするために、核酸（例えば、ＲＮＡ）などの生物学的に活性な物質を細胞及び／又は細胞内区画に輸送するための脂質含有ナノ粒子組成物を提供する。かかる組成物は、一般に、少なくとも１つのイオン化可能な脂質を含む。

【０４１７】

本開示のイオン化可能な脂質は、当業者に既知であるか、又は本明細書における教示に照らして当業者には明らかであろう、標準的な合成方法及び手順を用いることによって、市販の出発材料、文献で既知である化合物を使用して、又は容易に調製された中間体から、様々な方法で調製することができる。

【０４１８】

有機分子の調製並びに官能基の変換及び操作のための標準的な合成方法及び手順は、関連する科学文献又は当該分野の標準的な教本から得ることができる。任意の１つ又はいくつかの出典に限定されないが、Ｓｍｉｔｈ，Ｍ．Ｂ．，Ｍａｒｃｈ，Ｊ．，Ｍａｒｃｈ’ｓ Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ：Ｒｅａｃｔｉｏｎｓ，Ｍｅｃｈａｎｉｓｍｓ，ａｎｄ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ，５ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ：Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，２００１、Ｇｒｅｅｎｅ，Ｔ．Ｗ．，Ｗｕｔｓ，Ｐ．Ｇ．Ｍ．，Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，３ｒｄ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ：Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９９、Ｒ．Ｌａｒｏｃｋ，Ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｏｒｇａｎｉｃ

Ｔｒａｎｓｆｏｒｍａｔｉｏｎｓ，ＶＣＨ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ（１９８９）、Ｌ．Ｆｉｅｓｅｒ ａｎｄ Ｍ．Ｆｉｅｓｅｒ，Ｆｉｅｓｅｒ ａｎｄ Ｆｉｅｓｅｒ’ｓ Ｒｅａｇｅｎｔｓ ｆｏｒ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ（１９９４）、及びＬ．Ｐａｑｕｅｔｔｅ，ｅｄ．，Ｅｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ ｏｆ Ｒｅａｇｅｎｔｓ ｆｏｒ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ（１９９５）などの古典的なテキストが、本明細書に組み込まれ、当業者に既知の有機合成の有用で認識された参照教本である。合成方法の以下の説明は、限定されないが、本開示の化合物の調製のための一般手順を説明するために設計されている。

【０４１９】

本明細書に提供される反応スキームは、本開示のイオン化可能な脂質の調製のための例示的な方法を提供することに留意すべきである。必要とされる保護基の使用、及び以下の実施例で言及される一般的な反応スキームに対する他の変更は、当業者には容易に明らかであろう。保護基のリスト、並びにこれらの基を導入及び除去する方法は、Ｇｒｅｅｎｅ，Ｔ．Ｗ．，Ｗｕｔｓ，Ｐ．Ｇ．Ｍ．，Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，３ｒｄ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ：Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９９に見出すことができる。

【０４２０】

本明細書に記載の反応スキームでは、複数の立体異性体が生成され得る。特定の立体異性体が示されない場合、反応から生成され得る全ての可能性のある立体異性体を意味することを理解されたい。当業者であれば、反応が、１つの異性体を優先的に得るように最適化することができるか、又は単一の異性体を生成するように新しいスキームが考案され得ることを認識するであろう。混合物が生成される場合、分取薄層クロマトグラフィー、分取ＨＰＬＣ、分取キラルＨＰＬＣ、又は分取ＳＦＣなどの技法を使用して、異性体を分離し得る。

【０４２１】

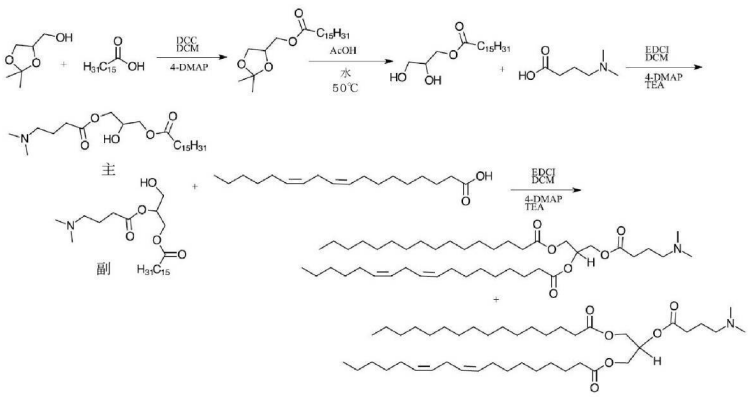
本開示のイオン化可能な脂質の以下の実施例は、本質的に例示であり、決して限定することを意図するものではない。

【０４２２】

実施例１：式（Ｉ）のイオン化可能な脂質の合成

式（Ｉ）のイオン化可能な脂質は、セファリン足場に基づいている。式（Ｉ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれ、スキーム１に示される。手順及び方法は、文献で周知であり、Ｃｈｅｍ．Ｓｃｉ．，２０２１，１２，２５４９－２５５７に記載されている。式（Ｉ）の類似のセファリンベースのイオン化可能な脂質は、当技術分野で周知の方法を使用して合成することができる。

【化１８５】



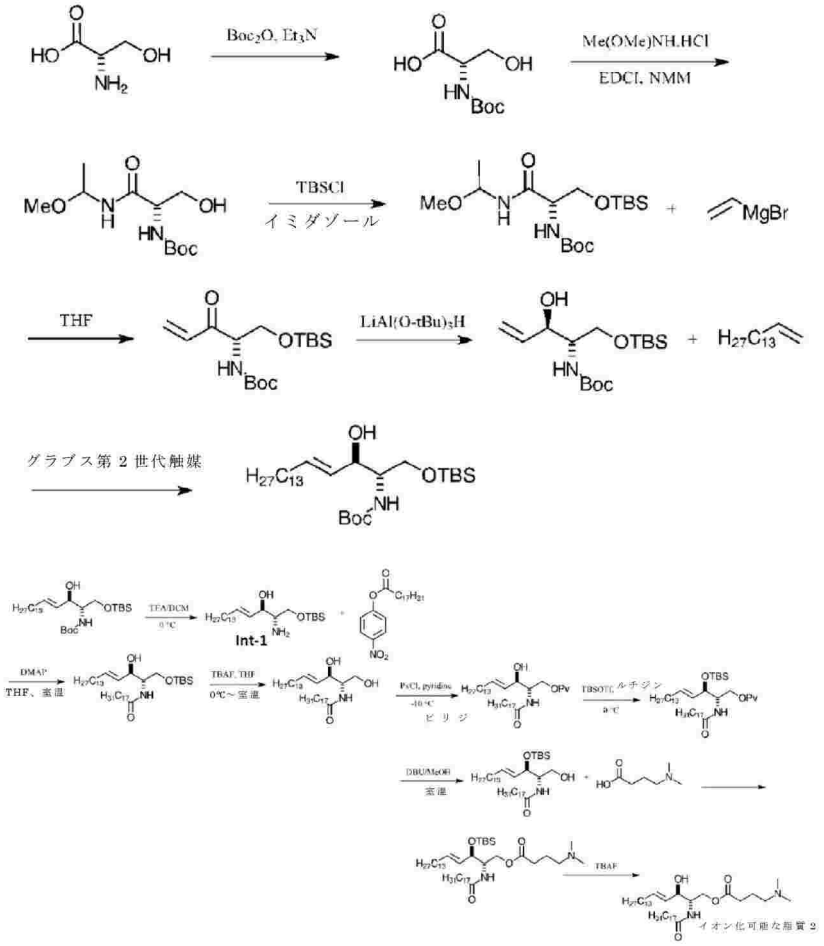
スキーム１：イオン化可能な脂質１の合成

【０４２３】

実施例２：式（ＩＩ）のイオン化可能な脂質の合成

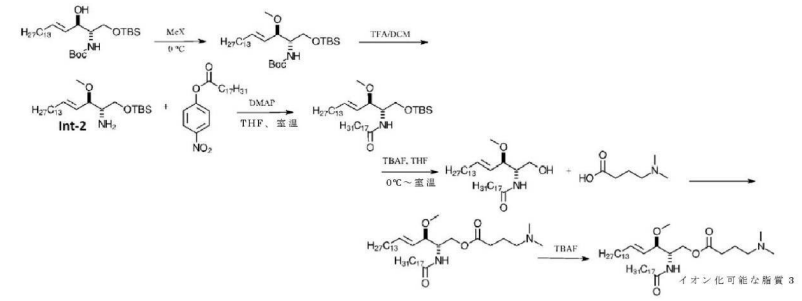
式（ＩＩ）のイオン化可能な脂質は、スフィンゴミエリン足場に基づいている。式（ＩＩ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれ、スキーム２及びスキーム３に示される。手順及び方法は、文献で周知であり、Ｏｒｇ．Ｌｅｔｔ．２００６，８，５５６９（スキーム２について）及びＣｈｅｍ．Ｅｕｒ．Ｊ．２０１１，１７，８５６８－８５７５（スキーム２及び３について）に記載されている。式（ＩＩ）の類似のスフィンゴミエリンベースのイオン化可能な脂質は、当技術分野で周知の方法を使用して合成することができる。

【化１８６】



スキーム２：イオン化可能な脂質２の合成

【化１８７】



スキーム３：イオン化可能な脂質３の合成

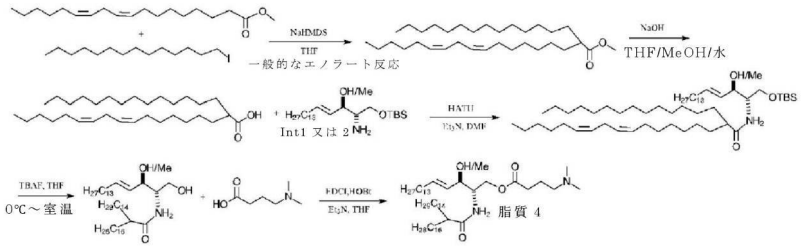
【０４２４】

実施例３：式（ＩＩＩ）のイオン化可能な脂質の合成

式（ＩＩＩ）のイオン化可能な脂質は、スフィンゴミエリン足場に基づいている。式（ＩＩＩ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれスキーム４に示される。手順及び方法

は、文献で周知であり、Ｃｈｅｍ．Ｅｕｒ．Ｊ．２０１１，１７，８５６８－８５７５に記載されている。式（ＩＩＩ）の類似のスフィンゴミエリンベースのイオン化可能な脂質は、当技術分野で周知の方法を使用して合成することができる。

【化１８８】



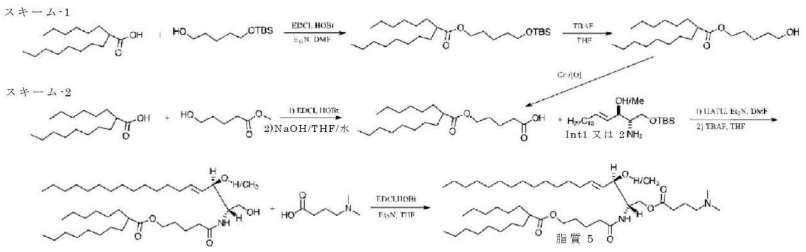
スキーム４：イオン化可能な脂質４の合成

【０４２５】

実施例４：式（ＩＶ）のイオン化可能な脂質の合成

式（ＩＶ）のイオン化可能な脂質は、スフィンゴミエリン足場に基づいている。式（ＩＶ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれ、スキーム５及びスキーム６に示される。手順及び方法は、文献で周知であり、Ｃｈｅｍ．Ｅｕｒ．Ｊ．２０１１，１７，８５６８－８５７５及びＷＯ２０１７／０７５５３１に記載されている。式（ＩＶ）の類似のスフィンゴミエリンベースのイオン化可能な脂質は、当技術分野で周知の方法を使用して合成することができる。

【化１８９】



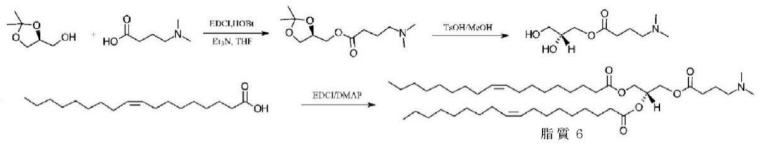
スキーム５及びスキーム６：イオン化可能な脂質５の合成

【０４２６】

実施例５：式（Ｖ）のイオン化可能な脂質の合成

式（Ｖ）のイオン化可能な脂質は、ＤＯＰＥコアを有する。式（Ｖ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれスキーム７に示される。手順及び方法は、文献で周知であり、Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．２００５，４８，７３０５－７３１４に記載されている。式（Ｖ）の類似のＤＯＰＥコアベースのイオン化可能な脂質は、当技術分野で周知の方法を使用して合成することができる。

【化１９０】



スキーム７：イオン化可能な脂質６の合成

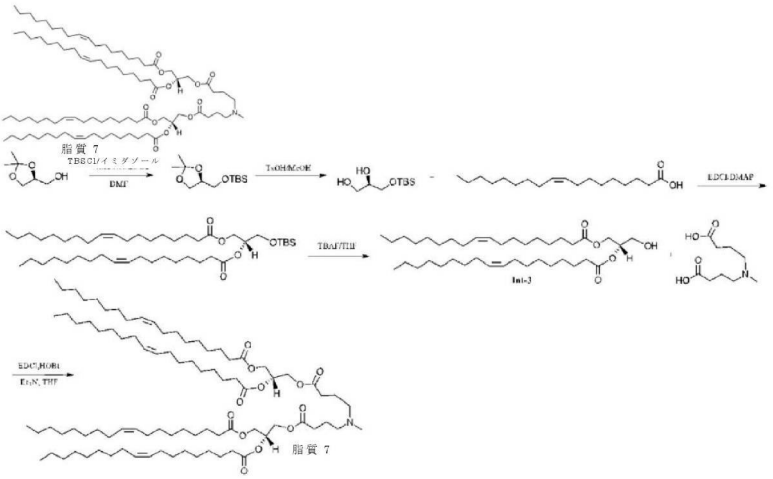
【０４２７】

実施例６：式（ＶＩ）のイオン化可能な脂質の合成

式（ＶＩ）のイオン化可能な脂質は、ＤＯＰＥコアを有する。式（ＶＩ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれ、スキーム８及びスキーム９に示される。式（ＶＩ）の類似のＤＯＰＥコアベースのイオン化可能な脂質は、当技術分野で周知の合成プロトコルを使

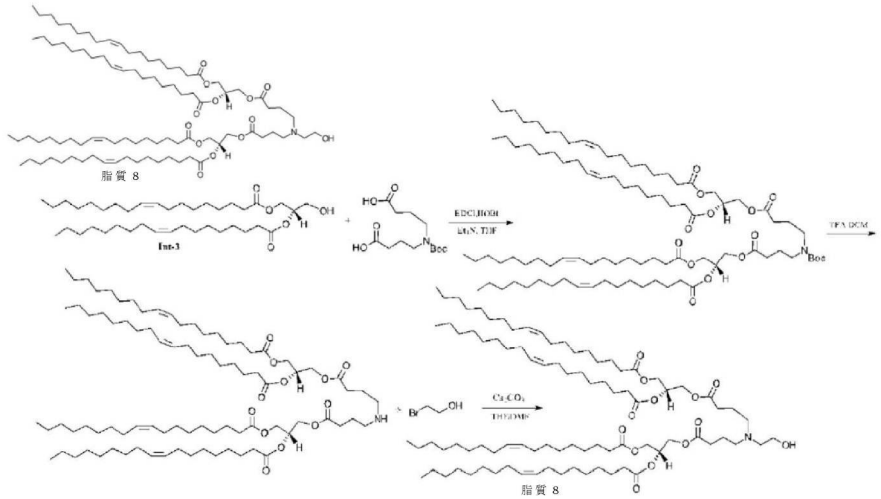
用して合成することができる。

【化１９１】



スキーム８：イオン化可能な脂質７の合成

【化１９２】



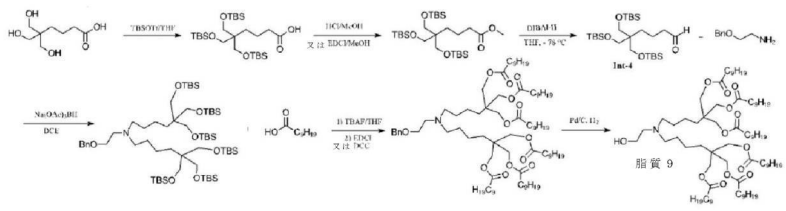
スキーム９：イオン化可能な脂質８の合成

【０４２８】

実施例７：式（ＶＩＩ）のイオン化可能な脂質の合成

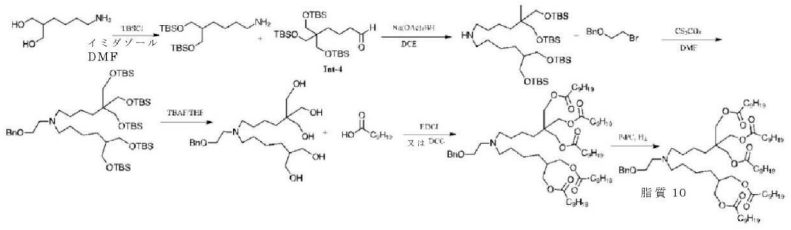
式（ＶＩＩ）のイオン化可能な脂質は、トリグリセリド足場に基づいている。式（ＶＩＩ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれ、スキーム１０及びスキーム１１に示される。式（ＶＩＩ）のイオン化可能な脂質の類似のトリグリセリドベースの修飾は、当技術分野で周知の方法を使用して合成することができる。

【化１９３】



スキーム１０：イオン化可能な脂質９の合成

【化１９４】



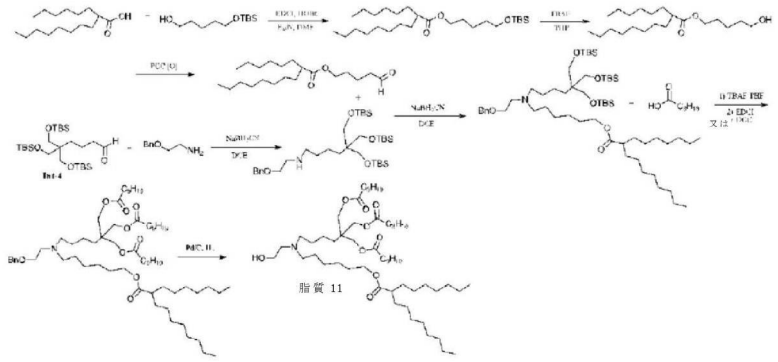
スキーム１１：イオン化可能な脂質１０の合成

【０４２９】

実施例８：式（ＶＩＩＩ）のイオン化可能な脂質の合成

式（ＶＩＩＩ）のイオン化可能な脂質は、トリグリセリド足場に基づいている。式（ＶＩＩＩ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれスキーム１２に示される。式（ＶＩＩＩ）のイオン化可能な脂質の類似のトリグリセリドベースの修飾は、当技術分野で周知の方法を使用して合成することができる。

【化１９５】



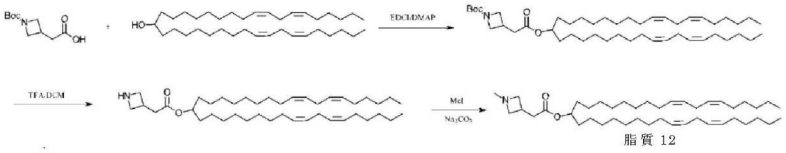
スキーム１２：イオン化可能な脂質１１の合成

【０４３０】

実施例９：式（ＩＸ）のイオン化可能な脂質の合成

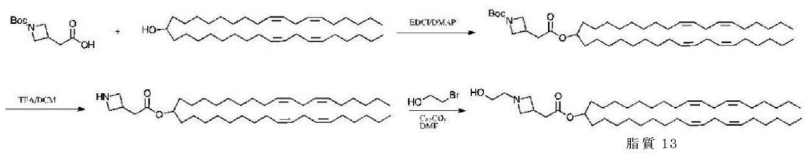
式（ＩＸ）のイオン化可能な脂質は、足場に環状頭部基を有する。式（ＩＸ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれ、スキーム１３及びスキーム１４に示される。式（ＩＸ）のイオン化可能な脂質の類似の環状頭部基ベースの修飾は、当技術分野で周知の方法を使用して合成することができる。

【化１９６】



スキーム１３：イオン化可能な脂質１２の合成

【化１９７】



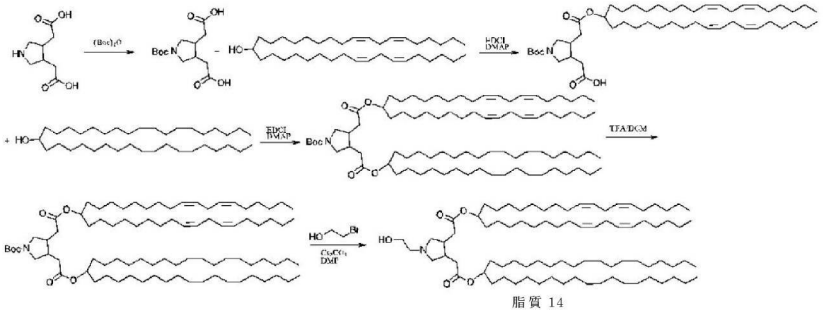
スキーム１４：イオン化可能な脂質１３の合成

【０４３１】

実施例１０：式（Ｘ）のイオン化可能な脂質の合成

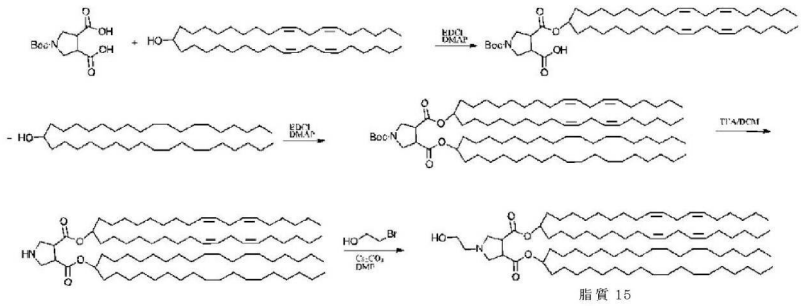
式（Ｘ）のイオン化可能な脂質は、足場に環状頭部基を有する。式（Ｘ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれスキーム１５及びスキーム１６に示される。式（Ｘ）のイオン化可能な脂質の類似の環状頭部基ベースの修飾は、当技術分野で周知の方法を使用して合成することができる。

【化１９８】



スキーム１５：イオン化可能な脂質１４の合成

【化１９９】



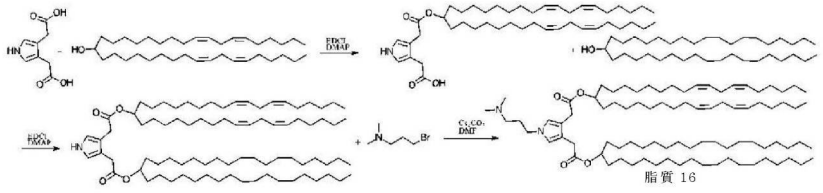
スキーム１６：イオン化可能な脂質１５の合成

【０４３２】

実施例１１：式（ＸＩ）のイオン化可能な脂質の合成

式（ＸＩ）のイオン化可能な脂質は、足場に環状頭部基を有する。式（ＸＩ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれスキーム１７に示される。式（ＸＩ）のイオン化可能な脂質の類似の環状頭部基ベースの修飾は、当技術分野で周知の方法を使用して合成することができる。

【化２００】



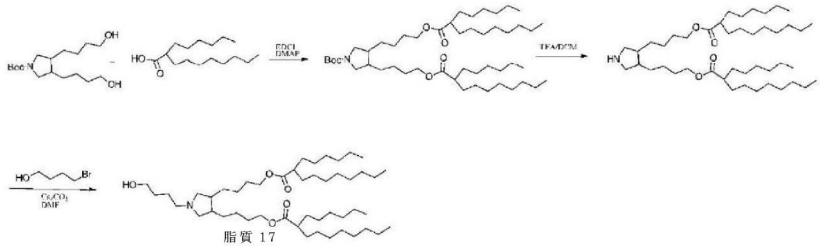
スキーム１７：イオン化可能な脂質１６の合成

【０４３３】

実施例１２：式（ＸＩＩ）のイオン化可能な脂質の合成

式（ＸＩＩ）のイオン化可能な脂質は、足場に環状頭部基を有する。式（ＸＩＩ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれスキーム１８に示される。式（ＸＩＩ）のイオン化可能な脂質の類似の環状頭部基ベースの修飾は、当技術分野で周知の方法を使用して合成することができる。

【化２０１】



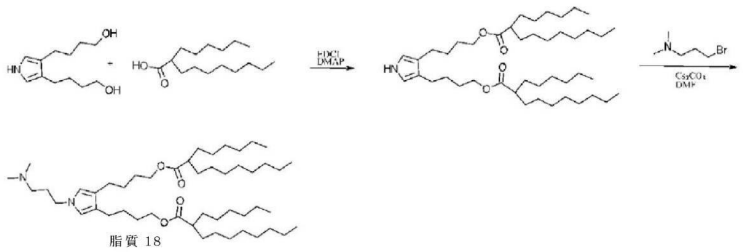
スキーム１８：イオン化可能な脂質１７の合成

【０４３４】

実施例１３：式（ＸＩＩＩ）のイオン化可能な脂質の合成

式（ＸＩＩＩ）のイオン化可能な脂質は、足場に環状頭部基を有する。式（ＸＩＩＩ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれスキーム１９に示される。式（ＸＩＩＩ）のイオン化可能な脂質の類似の環状頭部基ベースの修飾は、当技術分野で周知の方法を使用して合成することができる。

【化２０２】



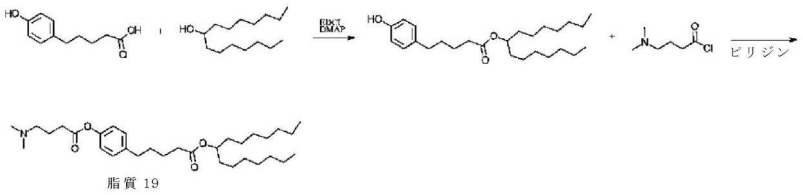
スキーム１９：イオン化可能な脂質１８の合成。

【０４３５】

実施例１４：式（ＸＩＶ）のイオン化可能な脂質の合成

式（ＸＩＶ）のイオン化可能な脂質は、足場に芳香族環を有する。式（ＸＩＶ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれスキーム２０に示される。式（ＸＩＶ）の芳香族環を含有する類似のイオン化可能な脂質は、当技術分野で周知の方法を使用して合成することができる。

【化２０３】



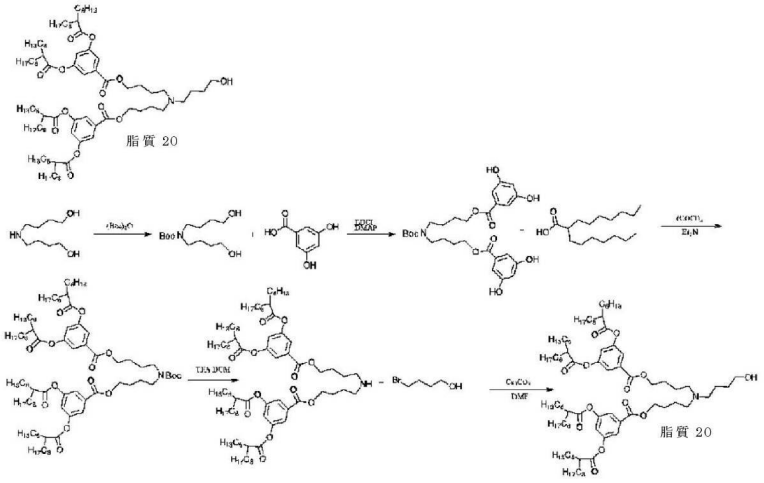
スキーム２０：イオン化可能な脂質１９の合成

【０４３６】

実施例１５：式（ＸＶ）のイオン化可能な脂質の合成

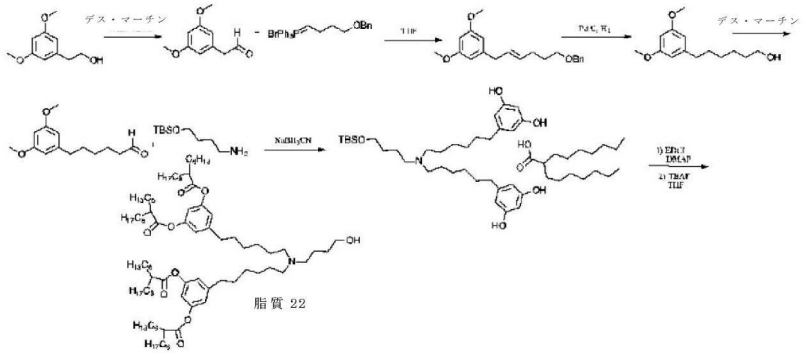
式（ＸＶ）のイオン化可能な脂質は、足場に芳香族環を有する。式（ＸＶ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれスキーム２１及びスキーム２２に示される。式（ＸＶ）の芳香族環を含有する類似のイオン化可能な脂質は、当技術分野で周知の方法を使用して合成することができる。

【化２０４】



スキーム２１：イオン化可能な脂質２０の合成

【化２０５】



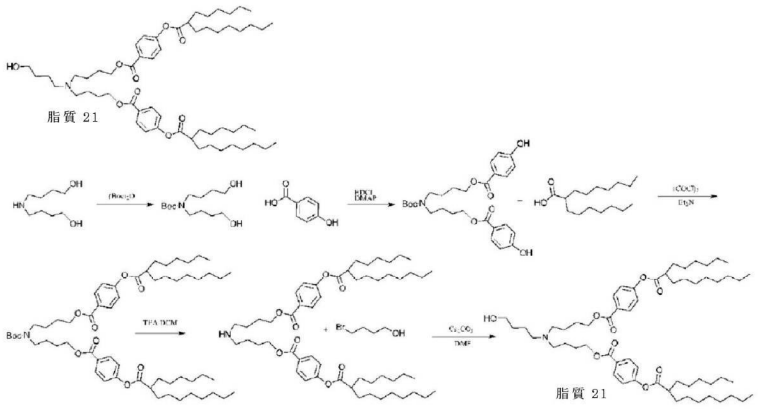
スキーム２２：イオン化可能な脂質２２の合成

【０４３７】

実施例１６：式（ＸＶＩ）及び式（ＸＶＩ－Ａ）のイオン化可能な脂質の合成

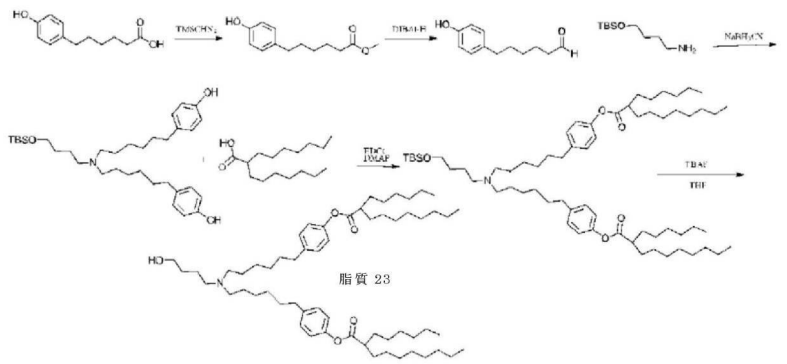
式（ＸＶＩ）及び式（ＸＶＩ－Ａ）のイオン化可能な脂質は、足場に芳香族環を有する。式（ＸＶＩ）及び式（ＸＶＩ－Ａ）のイオン化可能な脂質の合成は、それぞれスキーム２３及びスキーム２４に示される。式（ＸＶＩ）及び式（ＸＶＩ－Ａ）の芳香族環を含有する類似のイオン化可能な脂質は、当技術分野で周知の方法を使用して合成することができる。

【化２０６】



スキーム２３：イオン化可能な脂質２１の合成

【化２０７】



スキーム２４：イオン化可能な脂質２３の合成

【０４３８】

実施例１６：加齢ヒト皮膚線維芽細胞のトランスフェクション及び若返り

４０歳女性ドナーからの一次ヒト皮膚線維芽細胞を、６ウェルプレートに、細胞２００，０００～２５０，０００個／ウェルの密度で播種した。いくつかのウェルを処理したままにし、いくつかのウェルを、対照としてｍＣｈｅｒｒｙ発現ｍＲＮＡ（レポーター遺伝子）を担持する脂質ナノ粒子でトランスフェクトし、いくつかのウェルを、モノシストロンｍＲＮＡカクテルを含む脂質ナノ粒子でトランスフェクトし、各ｍＲＮＡ分子は、リプログラミング因子Ｏ、Ｓ、Ｋ、Ｌ、Ｍ、又はＮのうちの１つを発現した。各ウェルは、１マイクログラムのＲＮＡでトランスフェクトした。脂質ナノ粒子は、本開示の脂質式（ＩＩ）を、ＤＯＰＣ、ＤＭＧ－ＰＥＧ、及びコレステロールなどの追加の成分とともに、例えば、５０：１０：１．５：３８．５のモル比で含有した。

【０４３９】

トランスフェクションは、１、２、３、及び４日目に行われた。６日目に、細胞を計数し、皮膚若返り、肌質、及び／又は老化のマーカーとして、ＳＯＤ２、ＭＭＰ１、ＭＭＰ９、及びｐ１６^{ＩＮＫ４Ａ}について免疫蛍光分析を行った。実験設計が図１に示される。免疫蛍光は、未処理細胞と比較して、細胞が脂質式（ＩＩ）を含有する脂質ナノ粒子並びにＯ、Ｓ、Ｋ、Ｌ、Ｍ、及びＮをコードするｍＲＮＡカクテルを使用して一過性にリプログラミングされたとき、ＳＯＤ２、ＭＭＰ１、ＭＭＰ９、及びｐ１６^{ＩＮＫ４Ａ}の下方調節を明らかにした。データが図２～３に示される。細胞増殖も、図４に示されるように未処理細胞と比較して増加した。これは、皮膚若返り、増加した肌質、減少した酸化ストレス、及び減少した老化を表している。

【０４４０】

実施例１７：ヒト皮膚外植片のトランスフェクション及び若返り

ヒト皮膚試料を、５２歳女性患者から１２ｍｍパンチ生検で得て、培養のために調製した。それらは、未処理のままか、ＲＥＮＯＶＡ（登録商標）（細かい線及びしわを低減し、粗さを低減し、皮膚色を改善することによって皮膚の外観を改善するために臨床的に使用されるトレチノインを含有するレチノイドクリーム）で処理するか、又はモノシストロンｍＲＮＡカクテルを含み、各ｍＲＮＡ分子がリプログラミング因子Ｏ、Ｓ、Ｋ、Ｌ、Ｍ、若しくはＮのうちの１つを発現した脂質ナノ粒子を皮下に注射した。各注射は、２マイクログラムのＲＮＡを含んだ。実験設計が図５に示される。

【０４４１】

トランスフェクションは、０、１、２、及び３日目に行われた。６日目に、皮膚外植片を、皮膚若返り及び肌質のマーカーのマーカーとしてＳＯＤ２及びコラーゲンＶＩＩに関する免疫組織化学による分析のために凍結した。免疫組織化学は、皮膚外植片が、未処理細胞と比較して、脂質式（ＩＩ）を含有する脂質ナノ粒子並びにＯ、Ｓ、Ｋ、Ｌ、Ｍ、及びＮをコードするｍＲＮＡカクテルを使用して一過性にリプログラミングされたとき、ＳＯＤ２の下方調節及びコラーゲンＶＩＩの上方調節を明らかにした。これは、ヒト皮膚に

おける皮膚の若返り、肌質の向上肌質、及び減少した酸化ストレスを示す。脂質式（ＩＩ）を含有する脂質ナノ粒子、及びＯ、Ｓ、Ｋ、Ｌ、Ｍ、及びＮをコードするｍＲＮＡカクテルは、ＲＥＮＯＶＡ（登録商標）よりも高いコラーゲンＶＩＩ発現を誘導した。データが図６に示される。

【０４４２】

実施例１８：脂質－ナノ粒子組成物によるトランスフェクション

脂質ナノ粒子組成物を、一次ヒト皮膚線維芽細胞を使用するインビトロトランスフェクション試験のために調製した。レポーター遺伝子としてｍＣｈｅｒｒｙを発現するｍＲＮＡを、製剤中のペイロードとして使用し、その蛍光を、トランスフェクション効率の直接的な尺度として使用した。脂質ナノ粒子製剤で使用された脂質が表１８－１に示され、各製剤は、リン脂質及び親水性ポリマーを含んだ。

【表１８－１】

表１８－１

製剤 ID 番号	製剤中の脂質
番号 29	式 I-B
番号 30	式 I-B
番号 32	式 I
番号 33	式 I
番号 29S	式 II
番号 30S	式 II

【０４４３】

トランスフェクションのために、細胞を、ウェル当たり約１７，０００～２５，０００個の細胞で９６ウェルプレートに播種した。細胞は翌日、脂質ナノ粒子製剤でトランスフェクトした。各製剤におけるｍＣｈｅｒｒｙ ｍＲＮＡ濃度に基づいて、段階希釈を各製剤について行い、１ウェル当たり１００ｎｇ、５０ｎｇ、又は２５ｎｇのｍＲＮＡ用量を提供した。トランスフェクションの２４時間後に、トランスフェクション効率を、細胞をイメージングし、ｍＣｈｅｒｒｙレポーターを発現する細胞（ＤＡＰＩで対比染色した）のパーセントを計数することによって決定した（赤色で検出）。５８７ｎｍ／６１０ｎｍでＳｐｅｃｔｒａＭａｘプレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ）を使用して相対的蛍光も定量化した。ブランクからのバックグラウンド蛍光を生データから差し引いた。１００ｎｇのｍＲＮＡを用いて投与した細胞からのデータが、図７Ａ～７Ｂに示され、図７Ａは、製剤ＩＤ番号２９で処理した細胞の画像であり、図７Ｂは、特定された製剤についてトランスフェクトした細胞のパーセンテージを示す棒グラフであり、各々は１００ｎｇのｍＲＮＡで投与された。「２×」表示を有する製剤は、２×インジケータを有しない製剤よりも２倍量の脂質成分で調製した。未処理の細胞、並びにｍＣｈｅｒｒｙを発現するｍＲＮＡ及びトランスフェクション試薬Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ（商標）で処理した細胞を対照として用いた。

【０４４４】

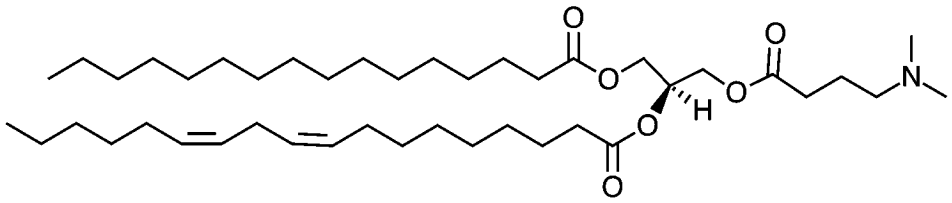
式Ｉ－Ｂのイオン化可能な脂質を含有する脂質ナノ粒子（製剤ＩＤ番号２９及び番号３０）は、一次ヒト皮膚線維芽細胞において、式Ｉのイオン化可能な脂質を含有する脂質ナノ粒子（それぞれ、製剤ＩＤ番号３２及び番号３３）よりも高いトランスフェクション効率を提供し、イオン化可能な脂質における相違は、製剤ＩＤ番号２９と番号３２との間、及び製剤ＩＤ番号３０と番号３３との間の成分における相違のみだった。この改善は、各々が異なるヘルパー脂質を含有する、２つの異なる脂質ナノ粒子組成物について観察され、すなわち、番号２９及び番号３２は、１つのヘルパー脂質を含有し、製剤ＩＤ番号３０及び製剤ＩＤ番号３３は、異なるヘルパー脂質を含有した。

【０４４５】

実施例１９：脂質ナノ粒子組成物によるトランスフェクション

脂質ナノ粒子組成物を、増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）ｍＲＮＡのトランスフェクションのために調製した。組成物が、表１９－１に示される。組成物ＩＤ番号１９－５Ａ及び組成物ＩＤ番号１９－５Ｂとして特定される組成物は、式Ｉの脂質であり、実施例１におけるイオン化可能な脂質１に対応する、以下に示すイオン化可能な脂質を、そのＳ－異性体形態で含んだ。

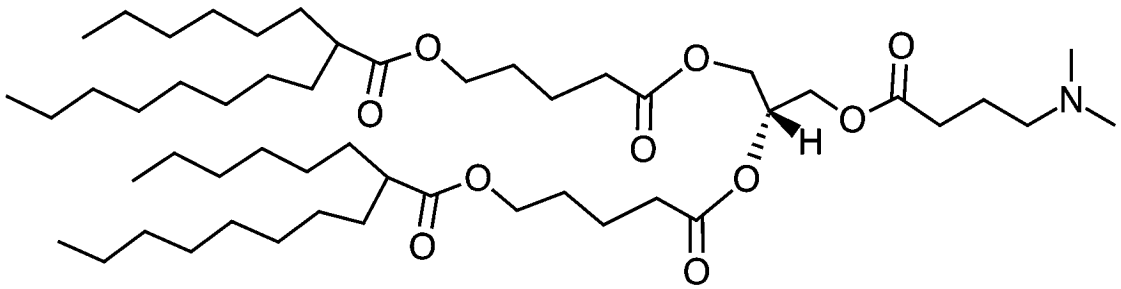
【化２０８】



イオン化可能な脂質１

組成物ＩＤ番号１９－６Ａ及び組成物ＩＤ番号１９－６Ｂとして特定される組成物は、表Ａの化合物２７の構造を有する式Ｉ－Ｂの脂質である、以下に示されるイオン化可能な脂質を、そのＲ－異性体形態で含んだ。

【化２０９】



化合物２７、Ｒ－異性体、式Ｉ－Ｂ

【０４４６】

全ての脂質ナノ粒子組成物は、ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡ、示されるイオン化可能な脂質（４５～５０重量％）、ヘルパー脂質（ＤＳＣＰ、ＤＯＰＣ、ＤＯＰＥなど）、安定化脂質（例えば、ＤＭＧ－ＰＥＧ）、及び構造的脂質（スフィンゴミエリン、コレステロール）を含んだ。

【表１９－１】

表１９－１

組成 ID 番号	イオン化可能な脂質
19-1A	イオン化可能な脂質 1(式 I)
19-1B	イオン化可能な脂質 1(式 I)
19-2A	化合物 27 R-異性体 式 I-B
19-2B	化合物 27 R-異性体 式 I-B

【０４４７】

ジャーカット細胞及び活性化汎Ｔ細胞を、ウェル当たり約１×１０^{6}個の細胞で９６ウェルプレートに播種した。各組成物を、３μｇのｅＧＦＰ　ｍＲＮＡの用量を提供するために必要な量でウェル（ｎ＝３）に加えた。細胞を３７℃で１０分間インキュベートし、次いで培養培地に移した。１８～２４時間後、ｅＧＦＰタンパク質の発現をフローサイトメトリーによって測定し、細胞をヨウ化プロピジウムで染色して毒性を評価した。

【０４４８】

脂質ナノ粒子組成物と比較するために、細胞はまた、エレクトロポレーション（１３５０Ｖ又は１６００Ｖ、１０ｍｓ、及び３パルス）及びＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ（商標）ＭｅｓｓｅｎｇｅｒＭＡＸ（商標）（１．２５μＬのＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅを細胞１×１０^{6}個当たりで使用した）によってトランスフェクトした。

【０４４９】

結果が図８Ａ～８Ｄに示される。式Ｉ－Ｂのイオン化可能な脂質を含有する脂質ナノ粒子組成物である、組成物ＩＤ番号１９－２Ａ及び１９－２Ｂは、ジャーカット及び一次Ｔ細胞の両方において、式Ｉのイオン化可能な脂質を含有する脂質ナノ粒子である、組成物ＩＤ番号１９－１Ａ及び１９－１Ｂよりも高いトランスフェクション効率を提供し、イオン化可能な脂質における相違は、組成物ＩＤ番号１９－１Ａと１９－２Ａとの間、及び組成物ＩＤ番号１９－１Ｂと１９－２Ｂとの間の成分における相違のみだった。この改善は、各々が異なるヘルパー脂質を含有する、２つの異なる脂質ナノ粒子組成物について観察され、すなわち、組成物ＩＤ番号１９－１Ａ及び１９－２Ａは、１つのヘルパー脂質を含有し、組成物ＩＤ番号１９－１Ｂ及び１９－２Ｂは、異なるヘルパー脂質を含有した。同様に、式Ｉ－Ｂのイオン化可能な脂質を含有する脂質ナノ粒子である、組成物ＩＤ番号１９－２Ａ及び１９－２Ｂは、式Ｉのイオン化可能な脂質を含有する脂質ナノ粒子である、組成物ＩＤ番号１９－１Ａ及び１９－１Ｂよりも、ジャーカット及び一次Ｔ細胞において高い生存率を提供し、とりわけ、式Ｉ－Ｂのイオン化可能な脂質を含有する脂質ナノ粒子は、一次Ｔ細胞において実際的に非毒性だったのに対し、式Ｉのイオン化可能な脂質を含有する脂質ナノ粒子は、毒性だった。

【０４５０】

式Ｉ－Ｂのイオン化可能な脂質を含有する脂質ナノ粒子におけるトランスフェクション効率は、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ（商標）におけるものよりも高かった。生存率はまた、エレクトロポレーションと比較して改善された。

【０４５１】

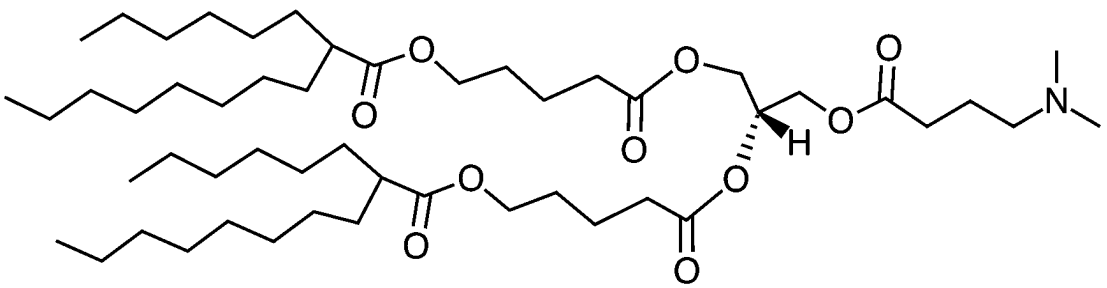
実施例２０：脂質ナノ粒子組成物によるトランスフェクション

脂質ナノ粒子組成物を、増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）ｍＲＮＡのトランスフェクションのために調製した。組成物が、表２０－１に示される。

【０４５２】

組成物ＩＤ番号２０－２Ａ及び２０－２Ｂとして特定される組成物は、表Ａの化合物２７の構造を有する式Ｉ－Ｂの脂質である、以下に示されるイオン化可能な脂質を、そのＲ－異性体形態で含んだ。

【化２１０】

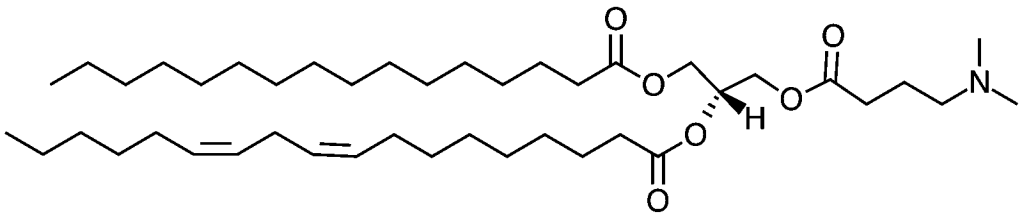


化合物２７、Ｒ－異性体、式Ｉ－Ｂ

【０４５３】

組成物ＩＤ番号２０－３Ａ及び組成物ＩＤ番号２０－３Ｂとして特定される組成物は、化合物２４（表Ａ）の構造を有する式Ｉの脂質である、以下に示されるイオン化可能な脂質を、そのＲ－異性体形態で含んだ。

【化２１１】



化合物２４、Ｒ－異性体、式Ｉ

【０４５４】

全ての脂質ナノ粒子組成物は、ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡ、示されるイオン化可能な脂質（５０重量％）、ヘルパー脂質（ＤＳＣＰ、ＤＯＰＣ、ＤＯＰＥなど）、安定化脂質（例えば、ＤＭＧ－ＰＥＧ）、及び構造的脂質（スフィンゴミエリン又はコレステロール）を含んだ。

【表２０－１】

表２０－１

組成 ID 番号	イオン化可能な脂質
20-1A	化合物 27 R-異性体 (式 I-B
20-1B	化合物 27 R-異性体 (式 I-B)
20-2A	化合物 24 R-異性体 (式 I)
20-2B	化合物 24 R-異性体 (式 I)
20-2C	化合物 24 R-異性体 (式 I)
20-2D	化合物 24 R-異性体 (式 I)

【０４５５】

活性化汎Ｔ細胞を、ウェル当たり約１×１０^{6}個の細胞で、９６ウェルプレートに播種した。各組成物を、３μｇのｅＧＦＰ　ｍＲＮＡの用量を提供するために必要な量でウェル（ｎ＝３）に加えた。細胞を３７℃で１０分間インキュベートし、次いで培養培地に移した。２４時間後、ｅＧＦＰタンパク質の発現をフローサイトメトリーによって測定し、細胞はヨウ化プロピジウムで染色して毒性を評価した。

【０４５６】

比較のために、細胞はまた、エレクトロポレーション（１３５０Ｖ、１０ｍｓ、及び３パルス）によってｅＧＦＰ　ｍＲＮＡでトランスフェクトした。

【０４５７】

結果が図９Ａ～９Ｂに示される。式Ｉ－Ｂのイオン化可能な脂質を含んだ組成物ＩＤ番号２０－１Ａ及び２０－１Ｂとして特定された脂質ナノ粒子組成物は、それぞれ、式Ｉのイオン化可能な脂質を含有する脂質ナノ粒子である、組成物ＩＤ番号２０－２Ｂ及び２０－２Ｃよりも一次Ｔ細胞においてより高いトランスフェクション効率を提供し、イオン化可能な脂質の相違は、組成物ＩＤ番号２０－１（Ａ、Ｂ）と、組成物ＩＤ番号２０－２（Ｂ、Ｃ）との間の成分における相違のみだった。この改善は、各々が異なるヘルパー脂質を含有する２つの異なる脂質ナノ粒子組成物について観察され、すなわち、組成物ＩＤ番号２０－１Ａ及び組成物ＩＤ番号２０－２Ｂは、１つのヘルパー脂質を含有し、組成物ＩＤ番号２０－１Ｂ及び組成物ＩＤ番号２０－２Ｃは、異なるヘルパー脂質を含有した。同様に、式Ｉ－Ｂのイオン化可能な脂質を含有する脂質ナノ粒子（組成物ＩＤ番号２０－１Ａ及び組成物ＩＤ番号２０－１Ｂ）は、式Ｉのイオン化可能な脂質を含有する脂質ナノ粒子（それぞれ、組成物ＩＤ番号２０－１Ｂ及び組成物ＩＤ番号２０－２Ｃ）よりも、一次Ｔ細胞において高い生存率を提供した。

【０４５８】

したがって、実施例１９及び２０は、４つの異なるヘルパー脂質を含有する４つの異なる脂質ナノ粒子組成物について、式Ｉ－Ｂのイオン化可能な脂質が、式Ｉのイオン化可能な脂質よりも高いトランスフェクション効率及び高い生存率、すなわち、より低い毒性を提供したことを示す。これらの知見は、式Ｉ－Ｂのイオン化可能な脂質の「尾部」構造が、より高いトランスフェクション効率及びより低い毒性を提供することを示す。

【０４５９】

実施例２０における組成物ＩＤ番号２０－１Ａ、組成物ＩＤ番号２０－１Ｂ、組成物ＩＤ番号２０－２Ｂ、及び組成物ＩＤ番号２０－２Ｃは、それぞれ、実施例１８における組成物ＩＤ番号２９、番号３０、番号３２、及び番号３３と同じイオン化可能な脂質を含む。したがって、式Ｉ－Ｂのイオン化可能な脂質によって提供されるトランスフェクション効率における改善は、浮遊及び接着の両方の２つの異なる細胞型において、異なる脂質ナノ粒子組成物にわたって観察された。

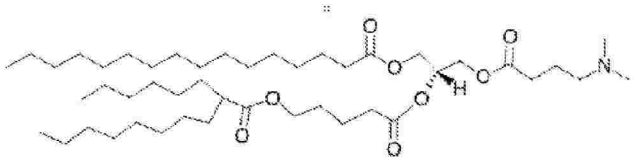
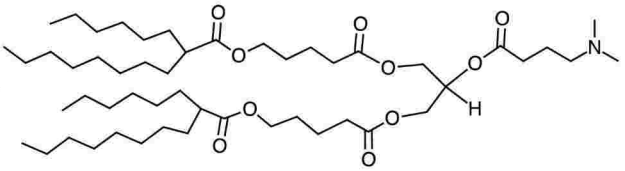
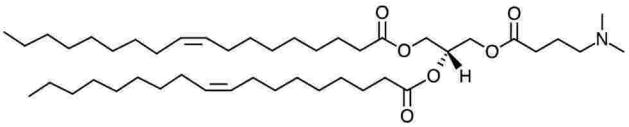
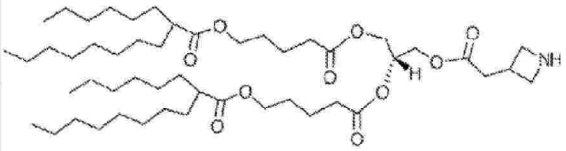
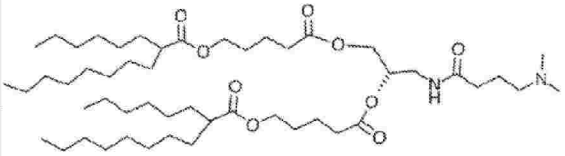
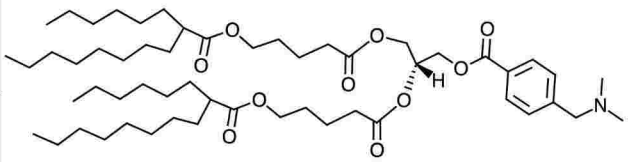
【０４６０】

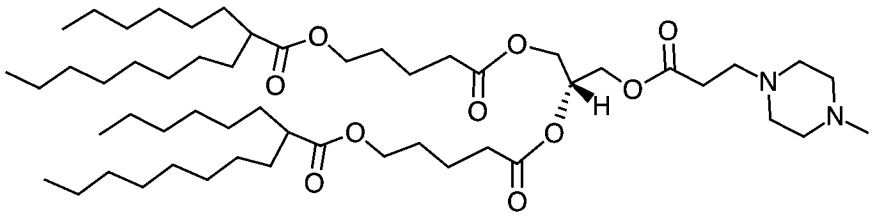
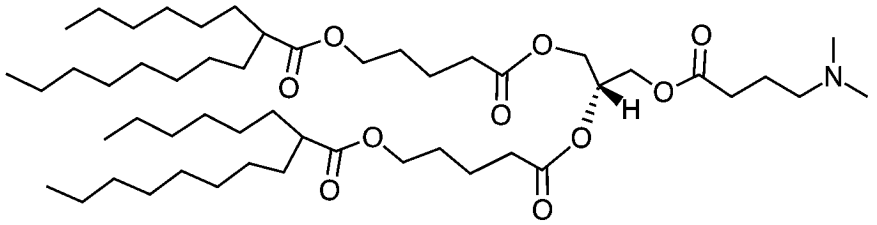
実施例２１：脂質ナノ粒子組成物によるトランスフェクション

脂質ナノ粒子組成物を、増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）ｍＲＮＡのトランスフェクションのために調製した。各組成物におけるイオン化可能な脂質構造が表２１－１に示される。全ての脂質ナノ粒子組成物は、ｅＧＦＰ　ｍＲＮＡ、示されるイオン化可能な脂質（５０重量％）、ヘルパー脂質（ＤＯＰＣ又はＤＯＰＥ）、安定化脂質（例えば、ＤＭＧ－ＰＥＧ）、及び構造的脂質（コレステロール）を含んだ。

【表２１－１】

表２１－１

組成ID番号	イオン化可能な脂質及び構造
21-1A	
21-1B	式I-A
21-2A	
21-2B	式I-B
21-3A	
21-3B	式V、R-異性体
21-4A	
21-4B	式XX
21-5A	
21-5B	式XX
21-6A	
21-6B	式XX

組成 ID 番号	イオン化可能な脂質及び構造
21-7A	
21-7B	式 XX
21-8A	
21-8B	化合物 27 R-異性体 (式 I-B)

【０４６１】
活性化汎Ｔ細胞を、ウェル当たり約１×１０^{6}個の細胞で、９６ウェルプレートに播種した。各組成物を、３μｇのｅＧＦＰ　ｍＲＮＡの用量を提供するために必要な量でウェル（ｎ＝２）に加えた。細胞を２５℃で１分間インキュベートし、次いで培養培地に移した。１８～２４時間後、ｅＧＦＰタンパク質の発現をフローサイトメトリーによって測定し、細胞はヨウ化プロピジウムで染色して毒性を評価した。
【０４６２】
比較のために、細胞はまた、エレクトロポレーション（１３５０Ｖ、１０ｍｓ、及び３パルス）によってｅＧＦＰ　ｍＲＮＡでトランスフェクトした。
【０４６３】
結果が図１０Ａ～１０Ｃに示され、細胞生存率が図１０Ａに示され、トランスフェクション能が図１０Ｂに示され、トランスフェクション効率が図１０Ｃに示される。
【０４６４】
実施例２２～３８：ＬＣＭＳ方法及び略語：以下の方法及び略語が、実施例２２～３８において参照される。
方法Ａ：クロモリス、ＲＰ－１８ｅ、５０～４．６ｍｍ、移動相Ａ：水中の０．０５％ＴＦＡ、移動相Ｂ：アセトニトリル中の０．０５％ＴＦＡ、９．５分にわたって９５Ａ／５Ｂ～０Ａ／１００Ｂ、９．５～１０．５分保持、９５Ａ／５Ｂ １０．５～１２分保持。
方法Ｂ：クロモリス、ＲＰ－１８ｅ、５０～４．６ｍｍ、移動相Ａ：水中の０．０５％ＴＦＡ、移動相Ｂ：アセトニトリル中の０．０５％ＴＦＡ、８分にわたって９５Ａ／５Ｂ～０Ａ／１００Ｂ、８～９分保持、９５Ａ／５Ｂ　９～９．１分、９．１～１２分保持。
方法Ｃ：クロモリス、ＲＰ－１８ｅ、５０～４．６ｍｍ、移動相Ａ：水中の０．０５％ＴＦＡ、移動相Ｂ：アセトニトリル中の０．０５％ＴＦＡ、８分にわたって５０Ａ／５０Ｂ～０Ａ／１００Ｂ、８～９分間保持、９５Ａ／５Ｂ　９～９．１分保持、９．１～１２分保持。
方法Ｄ：クロモリス、ＲＰ－１８ｅ、５０～４．６ｍｍ、移動相Ａ：水中の０．１％ＴＦＡ、移動相Ｂ：アセトニトリル中０．１％ＴＦＡ、３分にわたって５０Ａ／５０Ｂ～０Ａ／１００Ｂ、３～９分保持、５０Ａ／５０Ｂ　９～９．１分、９．１～１２分保持。

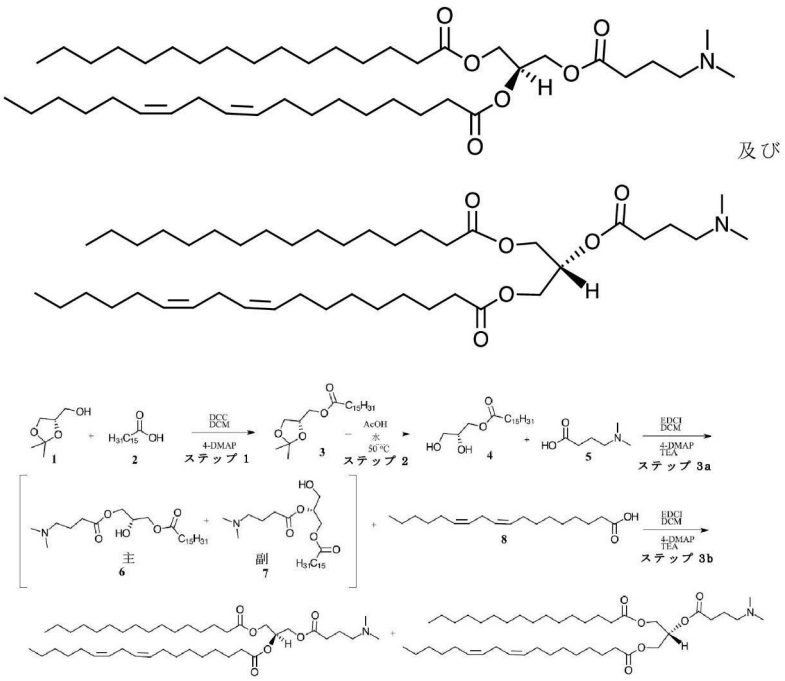
略語：Ｎ，Ｎ’－ジシクロヘキシルカルボジイミド（ＤＣＣ）、ジクロロメタン（ＤＣＭ）、４－（ジメチルアミノ）ピリジン（４－ＤＡＭＰ）、１－（３－ジメチルアミノプロピル）－３－エチルカルボジイミド（ＥＤＣＩ）、トリエチルアミン（ＴＥＡ）、及び２，３－ジクロロ－５，６－ジシアノ－１，４－ベンゾキノン（ＤＤＱ）。

【０４６５】

実施例２２：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２１２】



スキーム２２

【０４６６】

ステップ１：無水ジクロロメタン（２５ｍＬ）中の（Ｓ）－（＋）－２，２－ジメチル－１，３－ジオキソラン－４－メタノール１（０．８８ｍＬ、７．１ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、パルミチン酸２（１．８２ｇ、７．１ｍｍｏｌ、１当量）及び４－ＤＭＡＰ（５２ｍｇ、０．４２ｍｍｏｌ、０．０６当量）を添加した。得られた混合物を、氷／水浴下でおよそ０℃に冷却した。この溶液に、無水ジクロロメタン（２０ｍＬ）中のＮ，Ｎ’－ジシクロヘキシルカルボジイミド（２．９２ｇ、１４．２ｍｍｏｌ、２当量）の混合物を２５分かけて滴下して添加した。反応混合物を温度まで加温し、更に７２時間撹拌した。反応混合物をヘキサン（５０ｍＬ）で希釈し、得られた白色沈殿を濾過し、ヘキサン（２×２５ｍＬ）で洗浄した。濾液を真空中で濃縮し、３０分間にわたってヘキサン中０～１０％酢酸エチルを使用して、シリカゲルでフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、純粋な中間体３（２．４８ｇ、収率９４％）を得た。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝３７１．８８、Ｒｔ＝９．８６分（方法Ａ）

【０４６７】

ステップ２：酢酸（４ｍＬ）及び水（１ｍＬ）中の中間体３（１ｇ、２．７ｍｍｏｌ）の溶液を、５０℃で２時間、次いで３０℃で４８時間撹拌した。次いで、反応混合物を、水（１００ｍＬ）とジエチルエーテル（１００ｍＬ）との間で分配した。有機層を分離し、飽和重炭酸ナトリウム水溶液（２×１００ｍＬ）及びブライン（５０ｍＬ）で洗浄した。有機層を、無水硫酸マグネシウム下で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、粗生成物を得、これをヘキサン及び酢酸エチル中で結晶化して、中間体４（０．８９ｇ、収率７９％）を提供した。ＬＣＭＳ（Ｍ＋Ｎａ）＝３５３．５１、Ｒｔ＝５．２６分（方法Ｂ）。

【０４６８】

ステップ３ａ：ジクロロメタン（１５ｍＬ）中の中間体４（２０２ｍｇ、０．６１ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、４－ジメチルアミノ酪酸塩酸塩（９２ｍｇ、０．５５ｍｍｏｌ、０．９当量）、ＥＤＣＩ・ＨＣｌ（１４０ｍｇ、０．７３ｍｍｏｌ、１．２当量）、トリエチルアミン（０．２５５ｍＬ、１．８３ｍｍｏｌ、３当量）、及び４－ＤＭＡＰ（７ｍｇ、０．０６ｍｍｏｌ、０．１当量）を添加した。反応混合物を、室温で１．５時間撹拌した。

【０４６９】

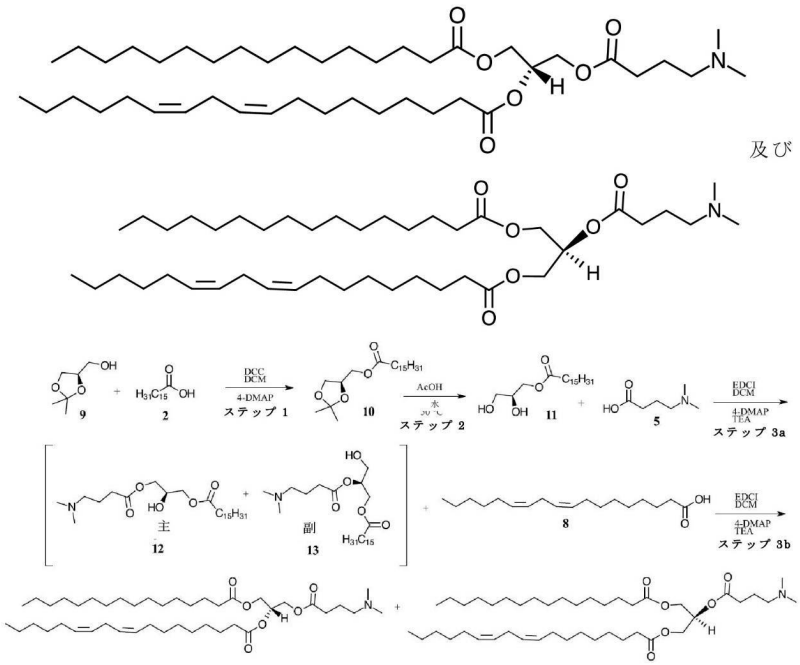
ステップ３ｂ：リノール酸８（０．３７９ｍＬ、１．２２ｍｍｏｌ、２当量）、ＥＤＣＩ・ＨＣｌ（０．１７５ｇ、０．９１ｍｍｏｌ、１．５当量）、トリエチルアミン（０．２７ｍＬ、１．９ｍｍｏｌ、３当量）、及び４－ＤＭＡＰ（７ｍｇ、０．０６ｍｍｏｌ、０．１当量）を添加し、得られた混合物を室温で１６時間撹拌した。溶媒を真空中で減少させ、粗混合物を、ジクロロメタン中の０～１０％メタノールを使用したシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーで直接精製して、上に示される第１の脂質化合物を得た（３７ｍｇ、２ステップで収率８．６％）。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝７０６．２７、Ｒｔ＝８．７９分（方法Ｃ）及び上に示される第２の脂質化合物（１７ｍｇ、２ステップで収率４％）。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝７０６．２６、Ｒｔ＝８．７１分（方法Ｃ）。

【０４７０】

実施例２３：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２１３】



スキーム２３：化合物の合成

【０４７１】

ステップ１：無水ジクロロメタン（２０ｍＬ）中の（Ｒ）－（＋）－２，２－ジメチル－１，３－ジオキソラン－４－メタノール９（０．９４ｍＬ、７．６ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、パルミチン酸２（１．９４ｇ、７．６ｍｍｏｌ、１当量）及び４－ＤＭＡＰ（５５ｍｇ、０．４５ｍｍｏｌ、０．０６当量）を添加した。得られた混合物を、氷／水浴下でおよそ０℃に冷却した。この溶液に、無水ジクロロメタン（３５ｍＬ）中のＮ，Ｎ’－ジシクロヘキシルカルボジイミド（３．１２ｇ、１５．１ｍｍｏｌ、２当量）の混合物を３０分かけて滴下して添加した。反応混合物を温度まで加温し、更に１２時間撹拌した。反応混合物をヘキサン（６０ｍＬ）で希釈し、得られた白色沈殿を濾過し、ヘキサン（２×３０ｍＬ）で洗浄した。濾液を真空中で濃縮し、３０分間にわたってヘキサン中の０～１０％酢酸エチルを使用して、シリカゲルでフラッシュカラムクロマトグラフィーによ

って精製して、純粋な中間体１０（２．１ｇ、収率８０％）を得た。

【０４７２】

ステップ２：酢酸（１２ｍＬ）及び水（３ｍＬ）中の中間体１０（１．５ｇ、４ｍｍｏｌ）の溶液を、５０℃で２時間、次いで室温で１６時間撹拌した。次いで、反応混合物を、水（５０ｍＬ）とジエチルエーテル（１５０ｍＬ）との間で分配した。有機層を分離し、水層をジエチルエーテル（５０ｍＬ）で逆抽出した。合わせた有機層を、飽和重炭酸ナトリウム水溶液（２×６０ｍＬ）及びブライン（５０ｍＬ）で洗浄した。有機層を、無水硫酸ナトリウム下で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して粗生成物を提供し、ヘキサン及び酢酸エチルで結晶化して中間体１１（１．２８ｇ、収率９７％）を提供した。

【０４７３】

ステップ３ａ：ジクロロメタン（７０ｍＬ）中の中間体１１（５００ｍｇ、１．５ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、４－ジメチルアミノ酪酸塩酸塩（２２８ｍｇ、１．３６ｍｍｏｌ、０．９当量）、ＥＤＣＩ・ＨＣｌ（３２０ｍｇ、１．６６ｍｍｏｌ、１．１当量）、トリエチルアミン（０．６７５ｍＬ、４．８４ｍｍｏｌ、３．２当量）、及び４－ＤＭＡＰ（１８ｍｇ、０．１５ｍｍｏｌ、０．１当量）を添加した。反応混合物を、室温で１．５時間撹拌した。

【０４７４】

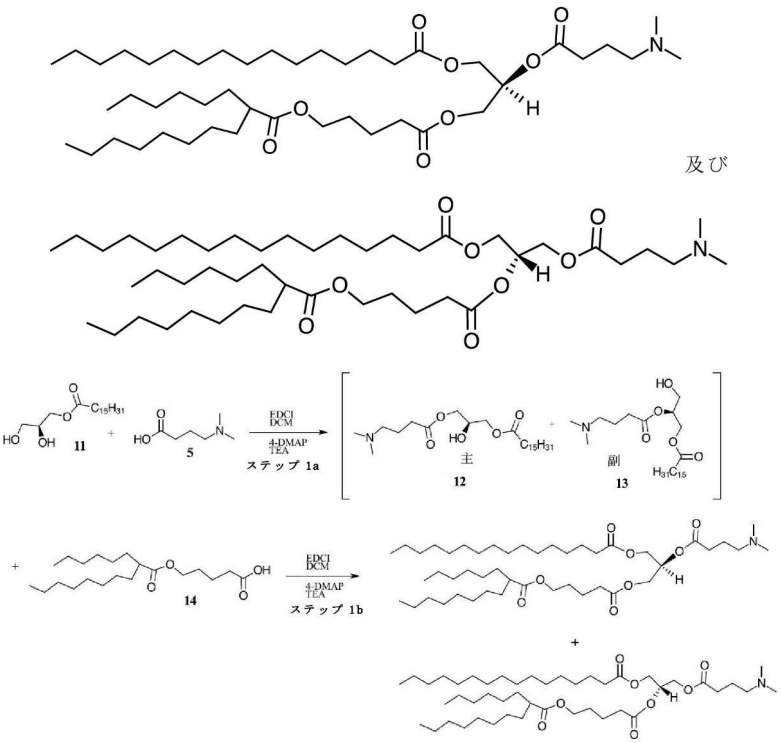
ステップ３ｂ：リノール酸８（０．９４０ｍＬ、３．０２ｍｍｏｌ、２当量）、ＥＤＣＩ・ＨＣｌ（０．６３８ｇ、３．３２ｍｍｏｌ、２．２当量）、トリエチルアミン（０．７４０ｍＬ、５．３ｍｍｏｌ、３．５当量）、及び４－ＤＭＡＰ（１８ｍｇ、０．１５ｍｍｏｌ、０．１当量）を添加し、得られた混合物を室温で１６時間撹拌した。溶媒を真空中で減少させ、粗混合物を、ジクロロメタン：酢酸エチルの７５：２５混合物中の０～１０％メタノールを使用して、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィーで直接精製して、上に示される第１の化合物を得た（８１ｍｇ、２ステップで収率７．６％）。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝７０６．１８、Ｒｔ＝９．１６分、及び上に示される第２の化合物（１２ｍｇ、２ステップで収率１．１％）。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝７０６．１９、Ｒｔ＝８．９８分（方法Ｃ）。

【０４７５】

実施例２４：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２１４】



スキーム２４：化合物の合成

【０４７６】

ジクロロメタン（１５ｍＬ）の中間体１１（３００ｍｇ、０．９ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、４－ジメチルアミノ酪酸塩酸塩（１５２ｍｇ、０．９ｍｍｏｌ、１当量）、ＥＤＣＩ・ＨＣｌ（２０８ｍｇ、１．１ｍｍｏｌ、１．２当量）、トリエチルアミン（０．４４３ｍＬ、３．１７ｍｍｏｌ、３．５当量）、及び４－ＤＭＡＰ（１１ｍｇ、０．０９ｍｍｏｌ、０．１当量）を添加した。反応混合物を、室温で１．５時間撹拌した。

【０４７７】

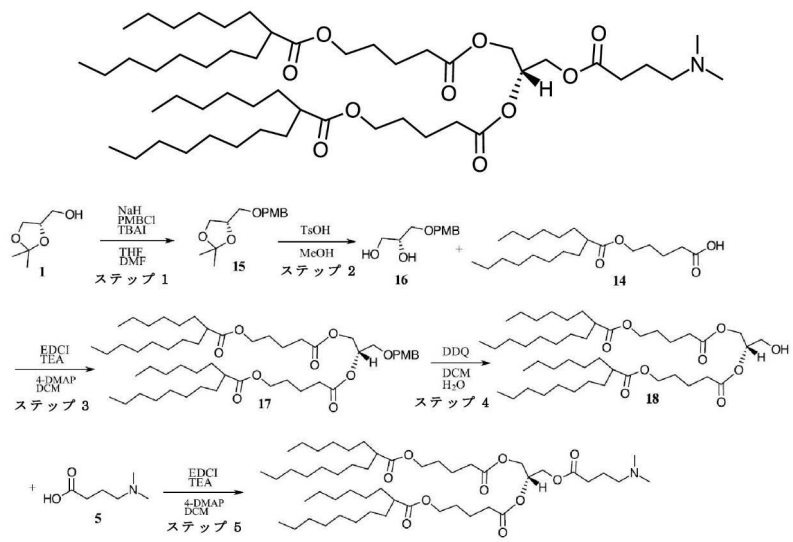
カルボン酸１４（３９８ｍｇ、１．１ｍｍｏｌ、１．２３当量）、ＥＤＣＩ・ＨＣｌ（０．２２６ｇ、１．２ｍｍｏｌ、１．３当量）、及びトリエチルアミン（０．３８０ｍＬ、２．７ｍｍｏｌ、３当量）のジクロロメタン（５ｍＬ）溶液を添加し、得られた混合物を室温で１６時間撹拌した。溶媒を真空中で減少させ、粗混合物を、ジクロロメタン中の０～１０％メタノールを使用したシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーで直接精製して、上に示される２つの生成物化合物をおよそ４５：５５の混合物（２ステップにわたって２９ｍｇ、収率４％）として得た。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝７８２．６１、Ｒｔ＝それぞれ、９．０７及び９．１９分（方法Ｃ）。

【０４７８】

実施例２５：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２１５】



スキーム２５：化合物の合成

【０４７９】

ステップ１：乾燥した１００ｍＬ丸底フラスコに、油中に６０％分散したＮａＨ（２２５ｍｇ、５．６ｍｍｏｌ、１．２５当量）を窒素雰囲気下で添加した。無水ＴＨＦ（１８ｍＬ）及び無水ＤＭＦ（５ｍＬ）をシリンジで順次ゆっくりと添加した。１０分後、（Ｓ）－（＋）－２，２－ジメチル－１，３－ジオキソラン－４－メタノール１（０．５ｍＬ、４．５ｍｍｏｌ、１当量）をシリンジでゆっくりと添加し、得られた反応混合物を室温で１時間撹拌した。４－メトキシベンジルクロリド（０．６７ｍＬ、５ｍｍｏｌ、１．１当量）及びヨウ化テトラブチルアンモニウム（５９ｍｇ、０．１６ｍｍｏｌ、０．０３６当量）を添加し、反応混合物を更に１２時間撹拌した。ＭｅＯＨ（２ｍＬ）を添加した。次いで、反応混合物を飽和塩化アンモニウム水溶液（２５ｍＬ）、水（２５ｍＬ）、及びブライン（２５ｍＬ）で洗浄した。水性層を合わせ、ＤＣＭ（２×５０ｍＬ）で逆抽出した。有機層を合わせ、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、粗生成物を提供し、これをヘキサン中の０～１０％酢酸エチルを使用するシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーで精製して、中間体１５（９８０ｍｇ、収率９６％）を提供した。

【０４８０】

ステップ２：メタノール（５ｍＬ）中の中間体１５（１ｇ、４ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、ｐ－トルエンスルホン酸（３８ｍｇ、０．２ｍｍｏｌ、０．０５当量）を添加し、得られた反応混合物を室温で７２時間撹拌した。トリエチルアミン（０．０４６ｍＬ）を添加した。反応混合物のスラリーをシリカゲルで調製し、ヘキサン中の０～１００％酢酸エチルを使用するシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーで直接精製して、中間体１６（３９０ｍｇ、収率４６％）を得た。

【０４８１】

ステップ３：ジクロロメタン（６．ｍＬ）中のジオール１６（１５０ｍｇ、０．７１ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、酸１４（５７９ｍｇ、１．６ｍｍｏｌ、２．３当量）、ＥＤＣＩ塩酸塩（３３８ｍｇ、１．８ｍｍｏｌ、２．５当量）、トリエチルアミン（０．６９０ｍＬ、４．９ｍｍｏｌ、７当量）、及び４－ＤＭＡＰ（１７ｍｇ、０．１４ｍｍｏｌ、０．２当量）を室温で添加し、得られた反応混合物を４８時間撹拌した。反応混合物を真空中で濃縮し、ヘキサン中の０～２５％酢酸エチルを使用するシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーによって精製して、純粋な中間体１７を透明な淡黄色シロップ（２３２ｍｇ、収率３７％）として得た。

【０４８２】

ステップ４：中間体１７（１９０ｍｇ、０．２１ｍｍｏｌ、１当量）を、ジクロロメタ

ン（９ｍＬ）及び水（０．５６５ｍＬ）の混合物に添加した。ＤＤＱ（１２２ｍｇ、０．５３ｍｍｏｌ、２．５当量）を少しずつゆっくりと添加し、得られた反応混合物を室温で一晩撹拌した。反応混合物を、飽和重炭酸ナトリウム水溶液（１５ｍＬ）の添加によってクエンチした。水性層をジクロロメタン（４×２５ｍＬ）で抽出した。合わせた有機層を、飽和重炭酸ナトリウム水溶液（２５ｍＬ）、ブライン（２×２５ｍＬ）で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して粗生成物を得、ヘキサン中の０～３０％酢酸エチルを使用するフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。純粋な画分を濃縮して乾燥させ、所望の生成物アルコール１８を淡黄色の透明な油（１６０ｍｇ、定量的）として得た。

【０４８３】

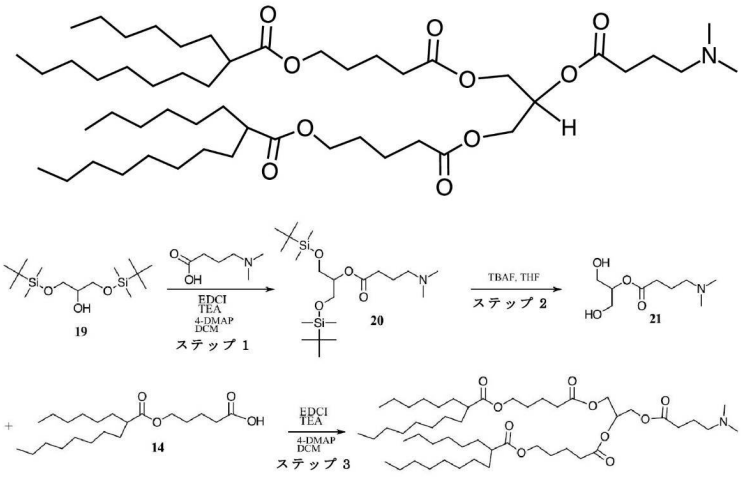
ステップ５：ジクロロメタン（３．５ｍＬ）中の中間体アルコール１８（１４５ｍｇ、０．１９ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、４－ジメチルアミノ酪酸塩酸塩（６４ｍｇ、０．３８ｍｍｏｌ、２当量）、ＥＤＣＩ塩酸塩（９２ｍｇ、０．４７ｍｍｏｌ、２．５当量）、トリエチルアミン（０．２５０ｍＬ、１．８ｍｍｏｌ、９．４当量）、４－ＤＭＡＰ（１０ｍｇ、０．０８ｍｍｏｌ、０．４当量）を添加し、得られた反応混合物を室温で１６時間撹拌した。ＬＣＭＳは、所望の生成物の形成を示した。反応混合物を、シリカゲルカラムに直接ロードし、ジクロロメタン中の０～１０％メタノールを使用して精製した。純粋な画分を合わせ、ロトバップで濃縮し、高真空下で一晩乾燥させて、所望の生成物（１４０ｍｇ、収率８４％）を得た。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝８８２．６８、Ｒｔ＝８．８９分（方法Ｃ）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ：（５００ＭＨｚ，クロロホルム－ｄ）δ５．２６（ｄｄｄ，Ｊ＝１０．１，５．９，４．２Ｈｚ，１Ｈ），４．３２（ｄｄ，Ｊ＝４．４，２．２Ｈｚ，１Ｈ），４．２９（ｄｄ，Ｊ＝４．４，２．２Ｈｚ，１Ｈ），４．１４（ｄｄｄ，Ｊ＝１２．０，５．９，１．８Ｈｚ，２Ｈ），４．０８（ｄｔ，Ｊ＝６．３，３．１，３．１Ｈｚ，４Ｈ），２．３６（ｔｄ，Ｊ＝７．２，７．１，２．８Ｈｚ，６Ｈ），２．３０（ｔｄ，Ｊ＝８．７，８．５，４．４Ｈｚ，４Ｈ），２．２２（ｓ，６Ｈ），１．７９（ｐ，Ｊ＝７．３，７．３，７．３，７．３Ｈｚ，２Ｈ），１．６９（ｄｈ，Ｊ＝１２．３，３．６，３．６，３．２，３．２，３．２Ｈｚ，８Ｈ），１．５８（ｈ，Ｊ＝７．４，７．４，７．４，５．１，５．１Ｈｚ，４Ｈ），１．４３（ｐ，Ｊ＝７．１，７．１，５．６，５．６Ｈｚ，４Ｈ），１．２５（ｓ，４０Ｈ），０．９２－０．８３（ｍ，１２Ｈ）．

【０４８４】

実施例２６：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２１６】



スキーム２６：化合物の合成

【０４８５】

ステップ１：ジクロロメタン（１５．ｍＬ）中の化合物１９（５００ｍｇ、１．５６ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、４－（ジメチルアミノ）酪酸（３９２ｍｇ、２．３４ｍｍｏｌ、１．５当量）、ＥＤＣＩ塩酸塩（７５０ｍｇ、３．９ｍｍｏｌ、２．５当量）、トリエチルアミン（１．２ｍＬ、７．８ｍｍｏｌ、５当量）、及び４－ＤＭＡＰ（９６ｍｇ、０．７８ｍｍｏｌ、０．５当量）を室温で添加し、得られた反応混合物を４８時間撹拌した。反応混合物を真空中で濃縮し、ヘキサン中の０～２５％酢酸エチルを使用するシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーによって精製して、純粋な中間体２０を固体（１６８ｍｇ、収率２５％）として得た。

【０４８６】

ステップ２：ＴＨＦ（２ｍＬ）中の中間体２０（１５０ｍｇ、０．４ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、ＴＢＡＦ（２ｍＬ、４．６７ｍｍｏｌ、１０当量）を添加し、得られた反応混合物を室温で３時間撹拌した。反応混合物のスラリーをシリカゲルで調製し、ＤＣＭ中の０～１０％メタノールを使用するシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーで直接精製して、中間体２１（５１ｍｇ、収率５４％）を得た。

【０４８７】

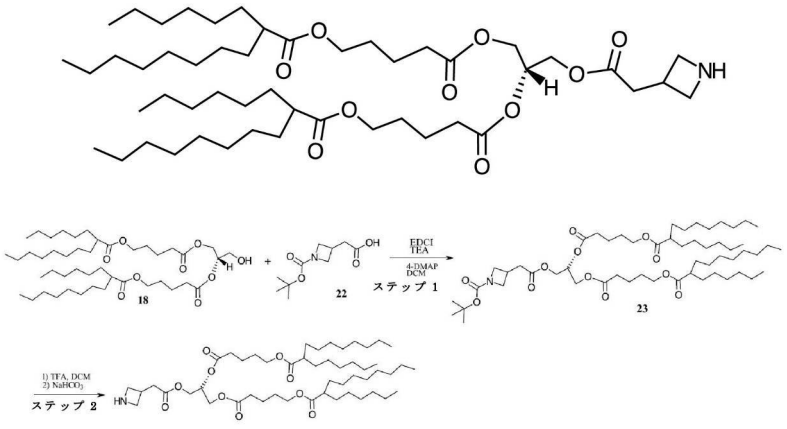
ステップ３：ジクロロメタン（３ｍＬ）中のジオール中間体２１（５１ｍｇ、０．２５ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、酸１４（２００ｍｇ、０．５５ｍｍｏｌ、２．１当量）、ＥＤＣＩ塩酸塩（１２０ｍｇ、０．６２５ｍｍｏｌ、２．５当量）、トリエチルアミン（０．２ｍＬ、１．２５ｍｍｏｌ、５当量）、及び４－ＤＭＡＰ（６ｍｇ、０．０５ｍｍｏｌ、０．２当量）を室温で添加し、得られた反応混合物を４８時間撹拌した。反応混合物を真空中で濃縮し、ヘキサン中の０～４０％アセトンを使用するシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーによって精製して、純粋な所望の生成物化合物（９２ｍｇ、収率４５％、［Ｍ＋１］８８３．３６を得た。

【０４８８】

実施例２７：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２１７】



スキーム２７：化合物の合成

【０４８９】

ステップ１：ジクロロメタン（５ｍＬ）中のアルコール１８（１３７ｍｇ、０．１８ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、２（１－ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル－３－アゼチジニル）酢酸２２（５７ｍｇ、０．２６ｍｍｏｌ、１．５当量）、ＥＤＣＩ塩酸塩（５７ｍｇ、０．２９ｍｍｏｌ、１．７当量）、トリエチルアミン（０．２ｍＬ、０．８９ｍｍｏｌ、５当量）、４－ＤＭＡＰ（１１ｍｇ、０．０８ｍｍｏｌ、０．５当量）を添加し、得られた反応混合物を室温で１６時間撹拌した。ＬＣＭＳは、所望の生成物の形成を示した。反応混合物をシリカゲルカラムに直接ロードし、ヘキサン中の０～４０％アセトンを使用して精製した。純粋な画分を合わせ、真空中で濃縮し、高真空下で一晩乾燥させて、所望の

生成物２３（１３２ｍｇ、収率９８％）を得た。

【０４９０】

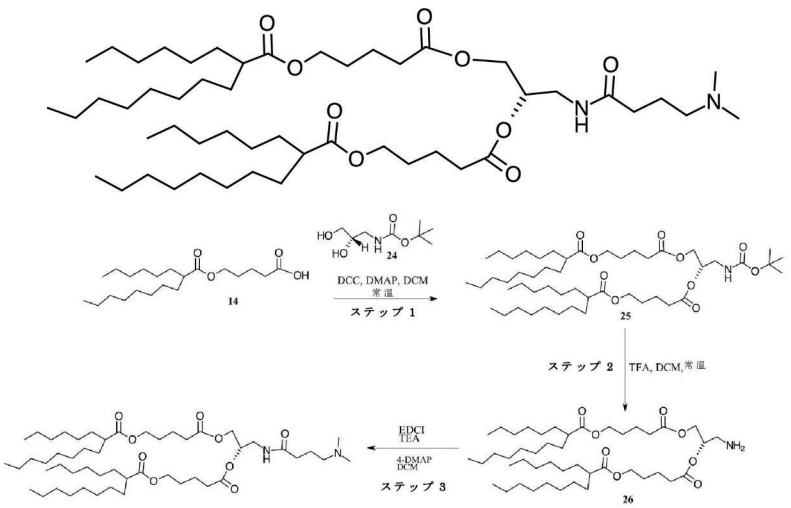
ステップ２：ジクロロメタン（５ｍＬ）中の化合物２３（１５７ｍｇ、０．１６ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、ＴＦＡ（１ｍｌ）を添加した。反応物を１時間撹拌し、飽和重炭酸ナトリウム水溶液（５ｍＬ）を添加し、得られた混合物をジクロロメタン（２×５ｍＬ）で抽出し、合わせた有機層をブラインで洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮し、高真空下で一晩乾燥させて、所望の生成物（３２ｍｇ、収率２０％）を得た。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝８６７．８、Ｒｔ＝４．９６分（方法Ｄ）。

【０４９１】

実施例２８：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２１８】



スキーム２８：化合物の合成

【０４９２】

ステップ１：ジクロロメタン（２５ｍＬ）中の（Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロピルアミノ－ｔｅｒｔ－ブチルホルミレート２４（５００ｍｇ、１．５７ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、酸１４（１．１７ｇ、３．２９ｍｍｏｌ、２．１当量）、ＥＤＣＩ塩酸塩（６６２ｍｇ、３．４５ｍｍｏｌ、２．２当量）、トリエチルアミン（２．３ｍｌ、１５．７ｍｍｏｌ、１０当量）、及び４－ＤＭＡＰ（２０ｍｇ、０．１６ｍｍｏｌ、０．１当量）を添加した。得られた反応混合物を室温で１６時間撹拌した。ＬＣＭＳは、所望の生成物の形成を示した。反応混合物をシリカゲルカラムに直接ロードし、ヘキサン中の０～２０％アセトンを使用して精製した。純粋な画分を合わせ、真空中で濃縮し、高真空下で一晩乾燥させて、無色液体化合物２５（６８１ｍｇ、収率４９％）を得た。

【０４９３】

ステップ２：ジクロロメタン（５ｍＬ）中の化合物２５（２００ｍｇ、０．２３ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、１．５ｍｌのＴＦＡを添加した。得られた反応混合物を室温で２時間撹拌し、反応物をＬＣＭＳによって監視した。反応混合物を真空中で濃縮し、高真空下で乾燥させて、無色液体を得た。反応混合物（化合物２６）は、精製することなく次のステップに移した。

【０４９４】

ステップ３：ジクロロメタン（４ｍＬ）中の化合物２６（１８０ｍｇ、０．２３ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、４－（ジメチルアミノ）酪酸（７９ｍｇ、０．４７ｍｍｏｌ、２当量）、ＥＤＣＩ塩酸塩（１１３ｍｇ、０．５８ｍｍｏｌ、２．５当量）、トリエチルアミン（１７０ｕｌ、１．１７ｍｍｏｌ、５当量）、及び４－ＤＭＡＰ（１５ｍｇ、０．１２ｍｍｏｌ、０．５当量）を添加した。得られた反応混合物を、室温で１６時間撹拌した

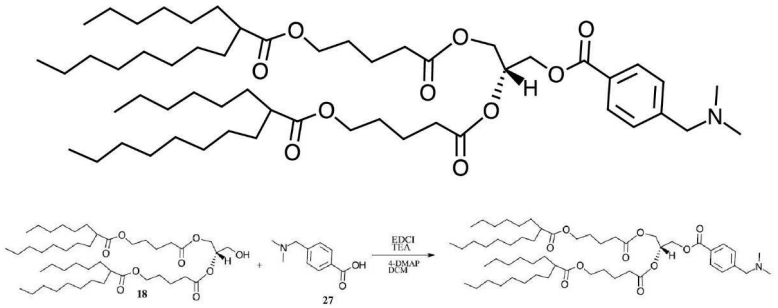
。ＬＣＭＳは、所望の生成物の形成を示した。ジクロロメタン５ｍＬを添加し、得られた混合物を水で洗浄した。有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、総体積の約１／３まで濃縮し、シリカゲルカラムに直接ロードし、ヘキサン中の０～２０％アセトンを使用して精製した。純粋な画分を合わせ、真空中で濃縮し、高真空下で一晩乾燥させて、所望の生成物を無色液体（１１５ｍｇ、収率５６％）として得た。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝８８２．３９、Ｒｔ＝４．８１分（方法Ｄ）。

【０４９５】

実施例２９：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２１９】



スキーム２９：化合物ＸＩＩの合成

【０４９６】

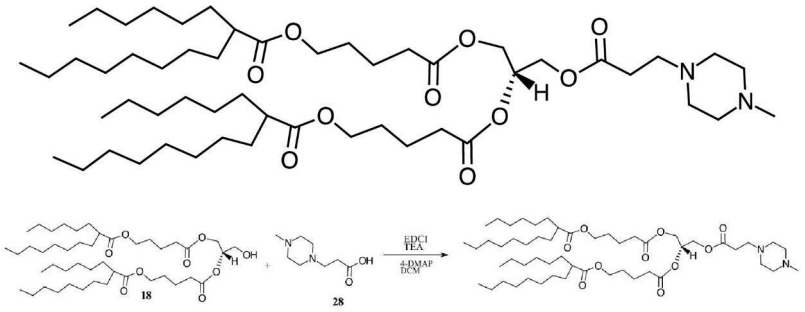
ジクロロメタン（３ｍＬ）中の中間体アルコール１８（５０ｍｇ、０．０６５ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、ｐ－［（ジメチルアミノ）メチル］安息香酸２７（１８ｍｇ、０．０９７ｍｍｏｌ、１．５当量）、ＥＤＣＩ塩酸塩（２０ｍｇ、０．０９７ｍｍｏｌ、１．５当量）、トリエチルアミン（２０ｕＬ、０．１３ｍｍｏｌ、２当量）、４－ＤＭＡＰ（２ｍｇ、０．０３ｍｍｏｌ、０．５当量）を添加し、得られた反応混合物を室温で１６時間撹拌した。ＬＣＭＳは、所望の生成物の形成を示した。反応混合物をシリカゲルカラムに直接ロードし、ヘキサン中の０～４０％アセトンを使用して精製した。純粋な画分を合わせ、真空中で濃縮し、高真空下で一晩乾燥させて、所望の生成物（４６ｍｇ、収率７６％）ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝９３１．４３、Ｒｔ＝４．２２分（方法Ｄ）を得た。

【０４９７】

実施例３０：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２２０】



スキーム３０：化合物の合成

【０４９８】

ジクロロメタン（３ｍＬ）中の中間体アルコール１８（５０ｍｇ、０．０６５ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、３－（４－メチル－１－ピペラジニル）プロピオン酸２８（１７ｍｇ、０．０９７ｍｍｏｌ、１．５当量）、ＥＤＣＩ塩酸塩（２０ｍｇ、０．０９７ｍｍｏ

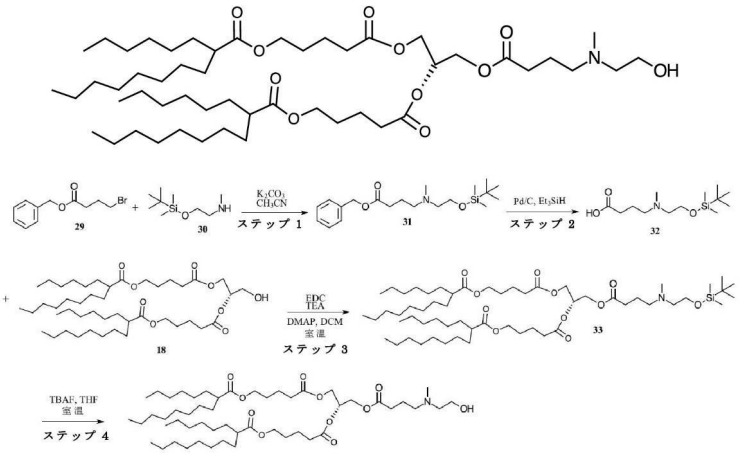
ｌ、１．５当量）、トリエチルアミン（２０ｕＬ、０．１３ｍｍｏｌ、２当量）、４－ＤＭＡＰ（２ｍｇ、０．０３ｍｍｏｌ、０．５当量）を添加し、得られた反応混合物を室温で１６時間撹拌した。ＬＣＭＳは、所望の生成物の形成を示した。反応混合物をシリカゲルカラムに直接ロードし、ＤＣＭ中の０～１０％メタノールを使用して精製した。純粋な画分を合わせ、真空中で濃縮し、高真空下で一晩乾燥させて、所望の生成物（２７ｍｇ、収率４５％）ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝９２４．４、Ｒｔ＝５．６１分（方法Ｄ）を得た。

【０４９９】

実施例３１：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２２１】



スキーム３１：化合物の合成

【０５００】

ステップ１：アセトニトリル（１０ｍＬ）中のベンジル４－ブロモブチレート２９（２ｇ、７．７８ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、Ｎ－メチル｛２－［（ｔｅｒｔ－ブチル）ビス（メチル）シロキシ］エチル｝アミン３０（１．８ｇ、９．３３ｍｍｏｌ、１．２当量）を添加した。炭酸カリウム（２．２ｇ、１５．３６、２当量）を添加し、得られた反応混合物を室温で１６時間撹拌した。ＬＣＭＳは、所望の生成物の形成を示した。反応混合物のスラリーをシリカゲルで調製し、ヘキサン中の０～３０％酢酸エチルを使用するシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって直接精製した。純粋な画分を合わせ、濃縮し、高真空下で一晩乾燥させて、化合物３１（２．６ｇ、収率９１％）を白色固体として得た。

【０５０１】

ステップ２：無水メタノール（２０ｍＬ）中の化合物３１（７８０ｍｇ、２．１４ｍｍｏｌ、１当量）の溶液を、アルゴンでフラッシングした。１０％Ｐｄ／Ｃ（３０ｍｇ、０．２１４ｍｍｏｌ、０．１当量）を添加し、２０分間撹拌した。トリエチルシラン（１ｍｌ、６．４２ｍｍｏｌ、３当量）を得られた混合物に添加した。反応混合物を、室温で２時間撹拌した。次いで、反応混合物をセライト床に通して濾過し、濾液を真空中で濃縮し、高真空下で乾燥させて、化合物３２を白色固体（５６０ｍｇ、９５％収率）として得、これを更に精製することなく次のステップに移した。

【０５０２】

ステップ３：ジクロロメタン（４ｍＬ）中の化合物１８（８９ｍｇ、０．１２ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、化合物３２（４０ｍｇ、０．１４ｍｍｏｌ、１．２当量）、ＥＤＣ塩酸塩（５６ｍｇ、０．２９ｍｍｏｌ、２．５当量）、トリエチルアミン（１６７ｕｌ、１．１７ｍｍｏｌ、１０当量）、及び４－ＤＭＡＰ（２ｍｇ、０．０１ｍｍｏｌ、０．１当量）を添加した。得られた反応混合物を室温で１６時間撹拌した。ＬＣＭＳは、所望の生成物の形成を示した。水（１０ｍＬ）を添加し、ジクロロメタン（３×１５ｍＬ）で抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し

、得られた粗生成物を濃縮し、ヘキサン中の０～２０％アセトンを使用するシリカゲルカラムで精製した。純粋な画分を合わせ、真空下で濃縮し、高真空下で一晩乾燥させて、無色液体化合物３３（９３ｍｇ、収率４７％）を得た。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝１０２７．３、Ｒｔ＝４．８１分（方法Ｄ）。

【０５０３】

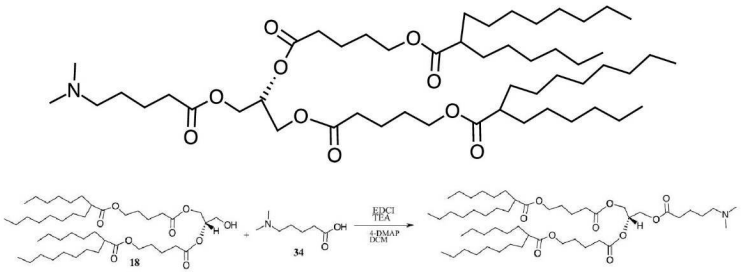
ステップ４：ＴＨＦ（３ｍＬ）中の化合物３３（９３ｍｇ、０．０９ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、ＴＢＡＦ（０．２ｍｌ、１０当量）を添加し、得られた反応混合物を室温で２時間撹拌した。ＬＣＭＳは、反応の完了を示した。反応混合物をシリカゲルカラムに直接ロードし、ヘキサン中の０～４０％アセトンを使用して精製して、所望の生成物（５７ｍｇ、収率６９％）を得た。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝９１３．５６、Ｒｔ＝５．０６分（方法Ｄ）。

【０５０４】

実施例３２：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２２２】



スキーム３２：化合物の合成

【０５０５】

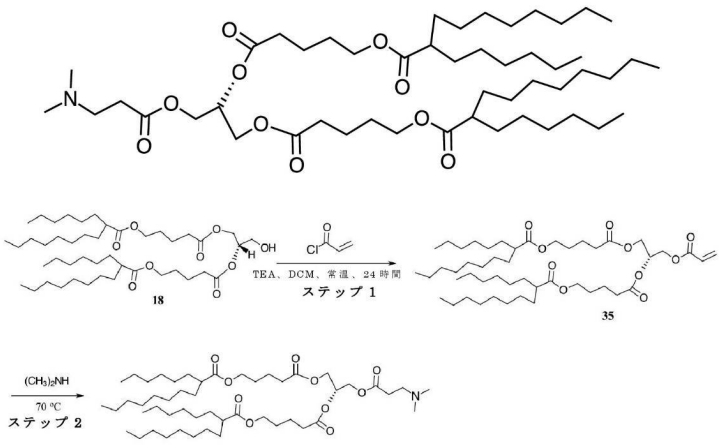
ジクロロメタン（４ｍＬ）中の中間体アルコール１８（１０２ｍｇ、０．１３３ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、５－（ジメチルアミノ）バレル酸３４（４０ｍｇ、０．２８ｍｍｏｌ、２当量）、ＥＤＣＩ塩酸塩（６４ｍｇ、０．３３ｍｍｏｌ、２．５当量）、トリエチルアミン（９６ｕＬ、０．６６ｍｍｏｌ、５当量）、４－ＤＭＡＰ（１０ｍｇ、０．０６ｍｍｏｌ、０．５当量）を添加し、得られた反応混合物を室温で１６時間撹拌した。ＬＣＭＳは、所望の生成物の形成を示した。反応混合物をシリカゲルカラムに直接ロードし、ヘキサン中の０～６０％アセトンを使用して精製した。純粋な画分を合わせ、ロトバップで濃縮し、高真空下で一晩乾燥させて、所望の生成物（５６ｍｇ、収率４７％）を得た。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝８９７．３４．８、Ｒｔ＝４．９９分（方法Ｄ）。

【０５０６】

実施例３３：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２２３】



スキーム３３：化合物の合成

【０５０７】

ステップ１：乾燥した１００ｍＬ丸底フラスコに、アルゴン雰囲気下で化合物１８（１．１ｇ、１．４１ｍｍｏｌ、１当量）を添加した。無水ジクロロメタン（１８ｍＬ）をシリンジでゆっくりと添加した。１０分後、トリエチルアミン（０．２ｍＬ、４．２３ｍｍｏｌ、３当量）をシリンジでゆっくりと添加し、得られた反応混合物を室温で１０分間撹拌した。アクリロイルクロリド（０．３４ｍＬ、４．２３ｍｍｏｌ、３当量）を添加し、反応混合物を更に１２時間撹拌した。水（１５ｍＬ）を添加し、有機層を分離した。水層をジクロロメタン（２×１５ｍＬ）で逆抽出し、合わせた有機層をブラインで洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、粗生成物を得、ヘキサン中の０～３０％酢酸エチルを使用するシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーで精製して、中間体３５（７５４ｍｇ、収率６５％）を提供した。

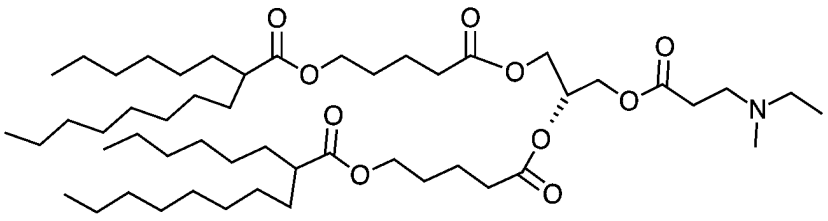
ステップ２：一般的な方法：適切なアミン（５当量）を、そのままの中間体３５（１当量）に添加し、得られた反応混合物を７０℃で３時間撹拌した。反応混合物のスラリーをシリカゲルで調製し、ヘキサン中の０～４０％勾配のアセトンを使用するシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーで直接精製して、ジメチルアミン（ＴＨＦ中の２Ｍ溶液）を使用することによって、所望の生成物（３２０ｍｇ、収率９６％）ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝８６９．０４、Ｒｔ＝４．９９分（方法Ｄ）を得た。

【０５０８】

実施例３４：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２２４】



【０５０９】

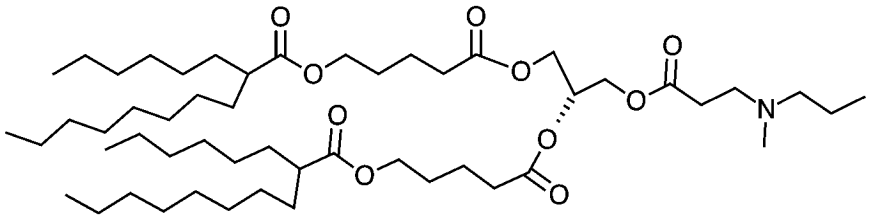
上に示される脂質化合物（６３ｍｇ、収率７７％）を、実施例３３、スキーム３３に示される脂質化合物の合成について記載された手順に従って、Ｎ－エチルメチルアミンを使用し、ヘキサン中の０～３０％アセトンを使用する精製によって調製した。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝８８３．７７、Ｒｔ＝５．０１分（方法Ｄ）。

【０５１０】

実施例３５：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２２５】



【０５１１】

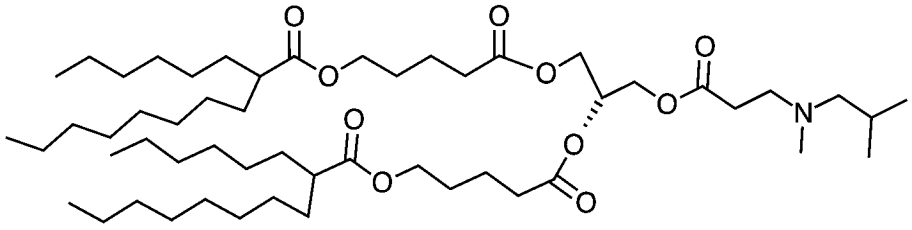
上に示される脂質化合物（７８ｍｇ、収率８２％）を、実施例３３、スキーム３３に示される脂質化合物の合成について記載された手順に従って、Ｎ－プロピルメチルアミンを使用し、ヘキサン中の０～３０％アセトンを使用する精製によって調製した。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝８９７．６３、Ｒｔ＝５．００分（方法Ｄ）。

【０５１２】

実施例３６：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２２６】



【０５１３】

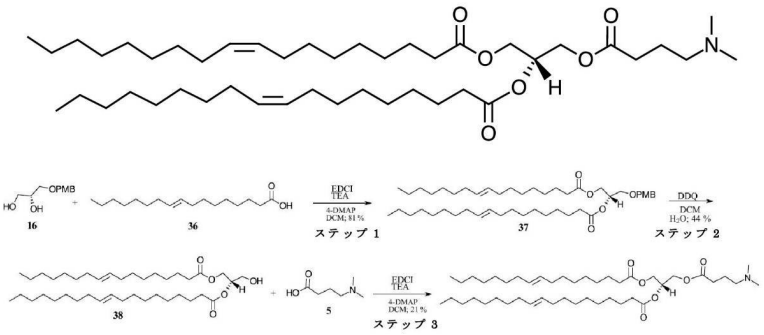
上に示される脂質化合物（８９ｍｇ、収率６７％）を、実施例３３、スキーム３３に示される脂質化合物の合成について記載された手順に従って、Ｎ－メチルイソブチルアミンを使用し、ヘキサン中の０～３０％アセトンを使用する精製によって調製した。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝９１１．５９Ｒｔ＝５．０４分（方法Ｄ）。

【０５１４】

実施例３７：化合物の合成

この実施例は、以下の脂質化合物の合成を示す。

【化２２７】



スキーム３７：化合物の合成

【０５１５】

ステップ１：ジクロロメタン（２０．ｍＬ）中のジオール１６（５００ｍｇ、２．３５ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、酸３６（１．５ｇ、５．１８ｍｍｏｌ、２．２当量）、ＥＤＣＩ塩酸塩（１．１３ｇ、５．８０ｍｍｏｌ、２．５当量）、トリエチルアミン（３．４ｍＬ、２３．５４ｍｍｏｌ、１０当量）、及び４－ＤＭＡＰ（１４４ｍｇ、１．１７ｍ

ｍｏｌ、０．５当量）を室温で添加し、得られた反応混合物を４８時間撹拌した。反応混合物を真空中で濃縮し、ヘキサン中の０～２５％酢酸エチルを使用するシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーによって精製して、純粋な中間体３７を無色液体（１．３５５ｇ、収率８１％）として得た。

【０５１６】

ステップ２：中間体３７（１．３５５ｇ、１．９ｍｍｏｌ、１当量）を、ジクロロメタン（１５ｍＬ）及び水（２ｍＬ）の混合物に添加した。ＤＤＱ（１．１ｇ、４．７５ｍｍｏｌ、２．５当量）を少しずつゆっくりと添加し、得られた反応混合物を室温で一晩撹拌した。反応混合物を、飽和重炭酸ナトリウム水溶液（１５ｍＬ）の添加によってクエンチした。水性層をジクロロメタン（４×２５ｍＬ）で抽出した。合わせた有機層を、飽和重炭酸ナトリウム水溶液（２５ｍＬ）、ブライン（２×２５ｍＬ）で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して粗生成物を得、ヘキサン中の０～１０％アセトンを使用するフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。純粋な画分を濃縮して乾燥させ、所望の生成物アルコール３８を透明な油（７５０ｍｇ、収率４４％）として得た。

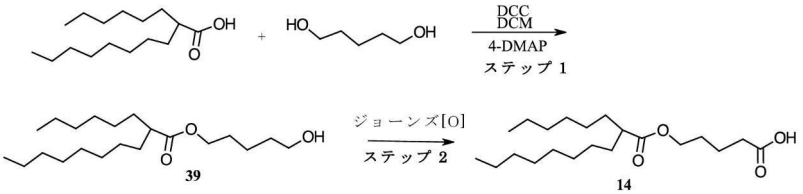
【０５１７】

ステップ３：ジクロロメタン（５ｍＬ）中の中間体アルコール３８（１２５ｍｇ、０．２ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、４－ジメチルアミノ酪酸塩酸塩（７１ｍｇ、０．４２ｍｍｏｌ、２．１当量）、ＥＤＣＩ塩酸塩（９７ｍｇ、０．５ｍｍｏｌ、２．５当量）、トリエチルアミン（０．３ｍＬ、２ｍｍｏｌ、１０当量）、４－ＤＭＡＰ（１３ｍｇ、０．１ｍｍｏｌ、０．５当量）を添加し、得られた反応混合物を室温で１６時間撹拌した。ＬＣＭＳは、所望の生成物の形成を示した。反応混合物をシリカゲルカラムに直接ロードし、ヘキサン中の０～４０％アセトンを使用して精製した。純粋な画分を合わせ、ロトバップで濃縮し、高真空下で一晩乾燥させて、所望の生成物（３３ｍｇ、収率２４％）を得た。ＬＣＭＳ（Ｍ＋１）＝７３４．９１、Ｒｔ＝５．１４分（方法Ｄ）。

【０５１８】

実施例３８：中間体１４の合成

【化２２８】



スキーム３８：中間体１４の合成

ステップ１：ジクロロメタン（１２０ｍＬ）中の２－ヘキシルデカン酸（５ｇ、１９．５ｍｍｏｌ、１当量）の溶液に、ペンタン－１，５－ジオール（６．１ｇ、５８．５ｍｍｏｌ、３当量）、ＤＣＣ（４．６ｇ、２２．２ｍｍｏｌ、１．１４当量）、及び４－ＤＭＡＰ（２．８５ｇ、２３．４ｍｍｏｌ、１．２当量）を添加した。反応混合物を室温で１２時間撹拌した。ヘキサン（１００ｍＬ）を添加し、得られた沈殿を濾別し、濾液を真空中で濃縮して粗物質を得、ヘキサン中の０～１５％酢酸エチルを使用するシリカゲルクロマトグラフィーによって精製し、純粋な中間体３９（３．５ｇ、収率５２％）を得た。

【０５１９】

ステップ２：アセトン（１０ｍＬ）中の中間体アルコール３９（９１８ｍｇ、２．７ｍｍｏｌ、１当量）の溶液を、氷／水浴下でおよそ０℃に冷却した。ジョーンズ試薬（２Ｍ、２．１６ｍＬ、４．３２ｍｍｏｌ、１．６当量）をシリンジでゆっくりと添加し、得られた反応混合物を徐々に室温まで加温し、１６時間撹拌した。メタノール（０．５ｍＬ）を添加して、反応物をクエンチした。反応混合物を減圧下で濃縮し、水（２００ｍＬ）で希釈し、酢酸エチル（１００ｍＬ）によって抽出した。水性層を、追加の酢酸エチル（１００ｍＬ）で逆抽出した。合わせた有機層を無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し、

真空中で濃縮した。粗生成物を、ヘキサン中の０～１５％酢酸エチルを使用するシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、中間体１４を透明な無色油として得た（７１０ｍｇ、収率７４％）。

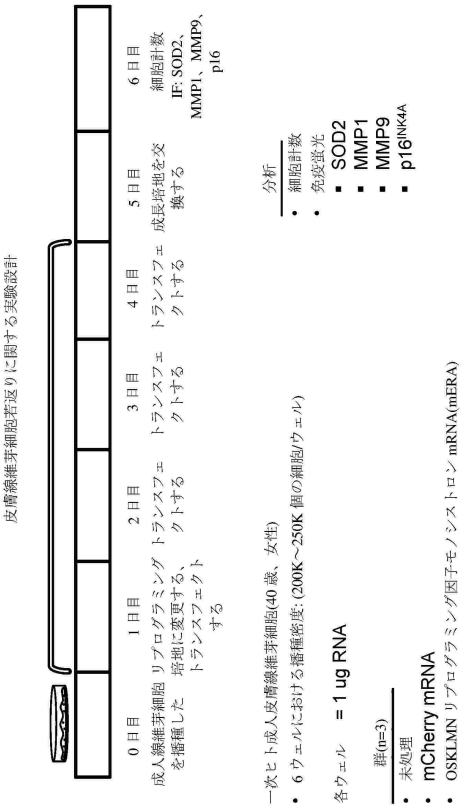
【０５２０】

均等物

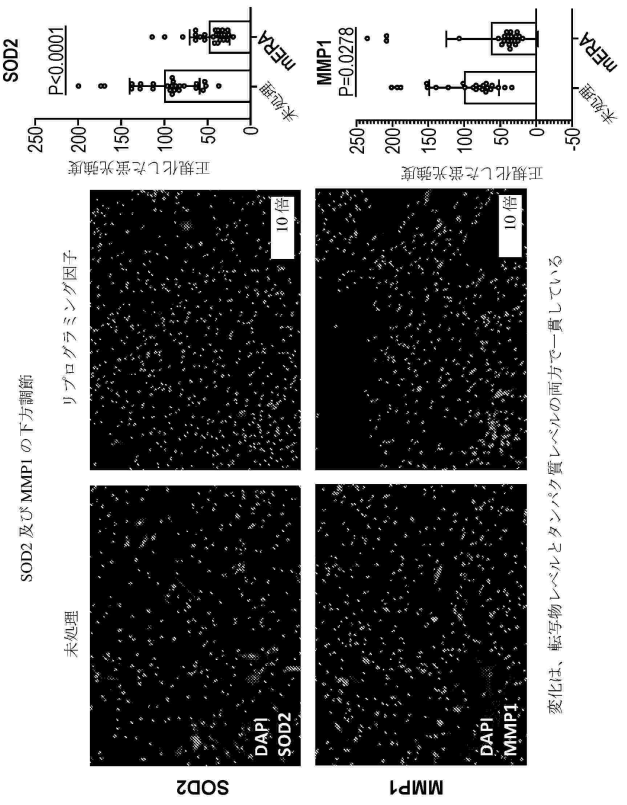
本開示は、その詳細な説明とともに説明されているが、前述の説明は、添付の特許請求の範囲によって定義される本出願の範囲を例示することを意図しており、限定するものではないことを理解されたい。他の態様、利点、及び変更は、以下の特許請求の範囲内である。

【図面】

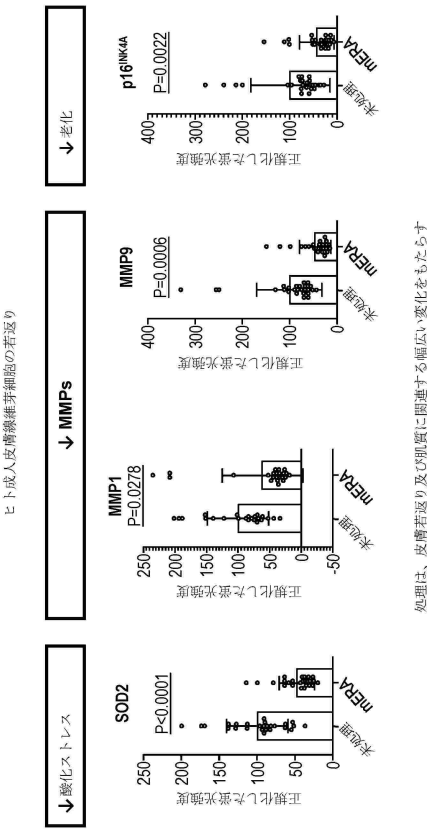
【図１】



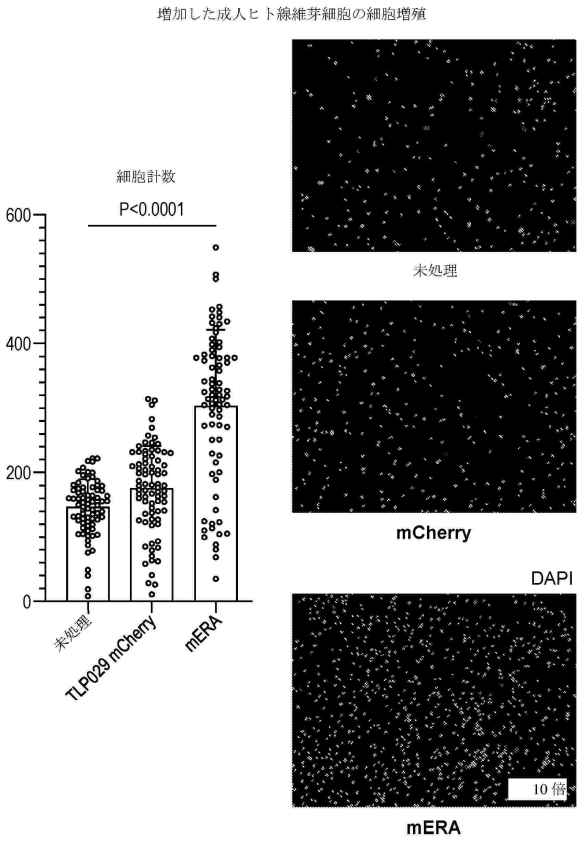
【図２】



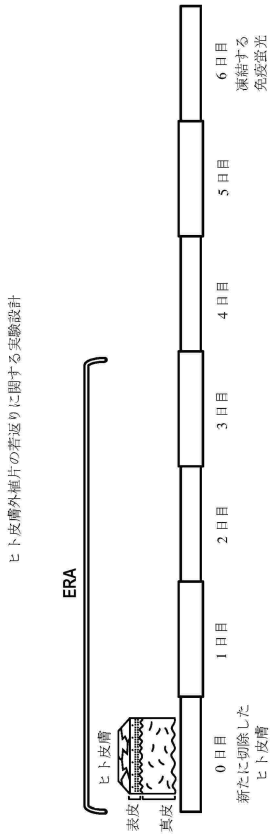
【図３】


ヒト成人皮膚線維芽細胞の若返り
→ 老化
→ MMPs
→ 酸化ストレス
p16INK4A
P=0.0022
MMP9
P=0.0006
MMP1
P=0.0278
SOD2
P<0.0001
未処理
mERA
正規化した蛍光強度
処理は、皮膚若返り及び肌質に関連する幅広い変化をもたらす

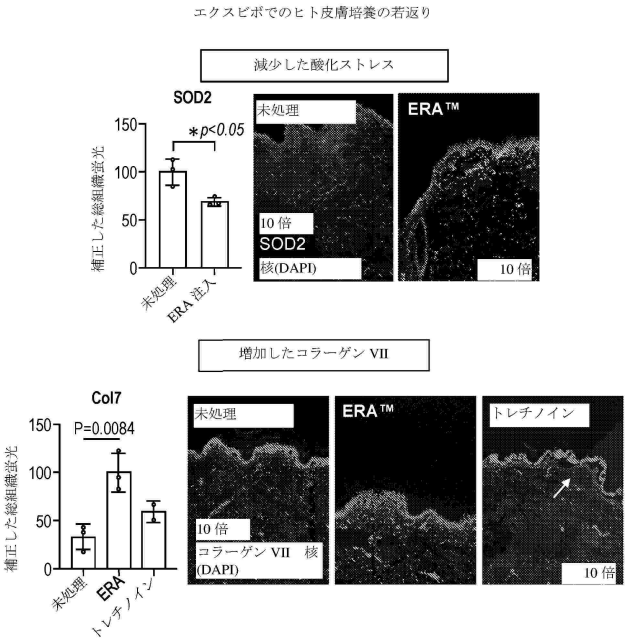
【図４】


増加した成人ヒト線維芽細胞の細胞増殖
細胞計数
P<0.0001
未処理
TLP029 mCherry
mERA
mCherry
DAPI
10 倍

【図５】


ヒト皮膚外植片の若返りに関する実験設計
ERA
ヒト皮膚
表皮
真皮
0 日目
新たに切除した
ヒト皮膚
1 日目
2 日目
3 日目
4 日目
5 日目
6 日目
凍結する
免疫蛍光

【図６】


エクスビボでのヒト皮膚培養の若返り
減少した酸化ストレス
SOD2
*p<0.05
補正した総組織蛍光
未処理
ERA 注入
ERA™
10 倍
SOD2
核(DAPI)
増加したコラーゲン VII
Col7
P=0.0084
コラーゲン VII 核
(DAPI)
トレチノイン

【図７Ａ】

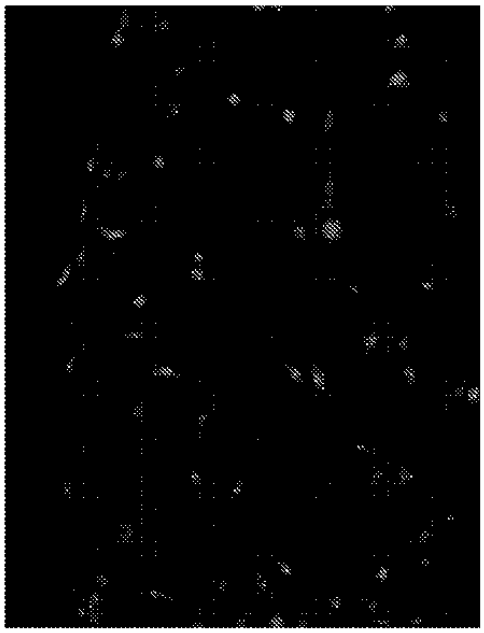
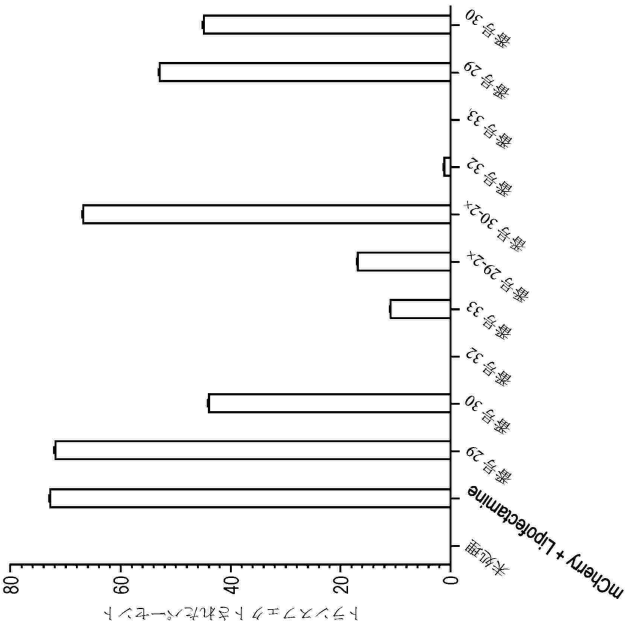
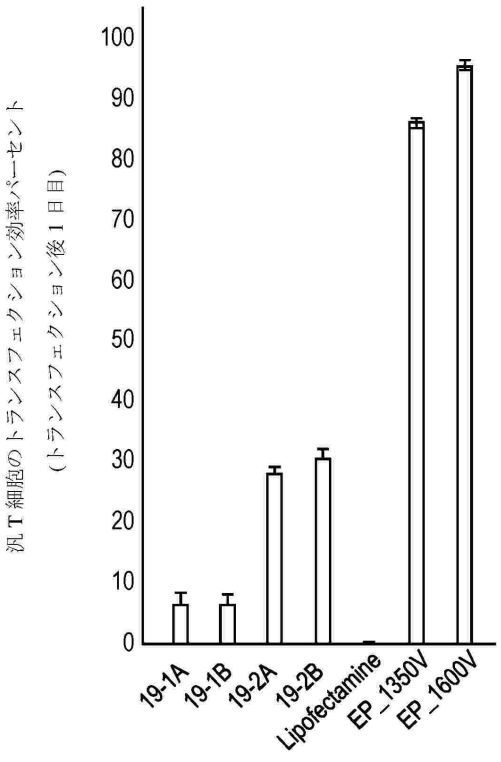


FIG. 7A

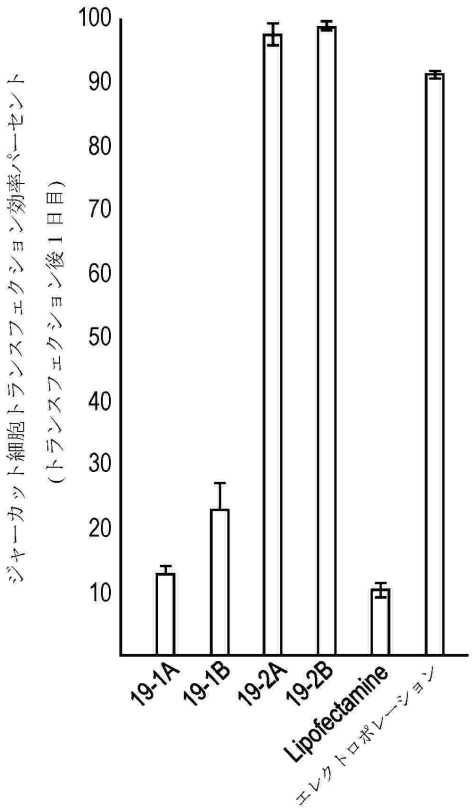
【図７Ｂ】



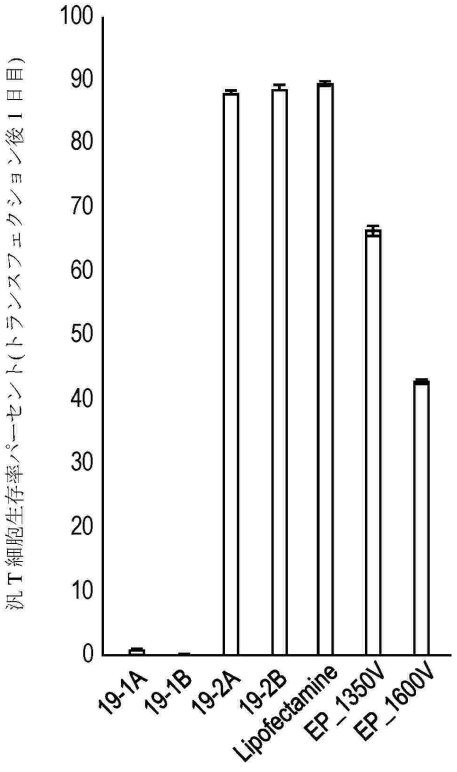
【図８Ａ】



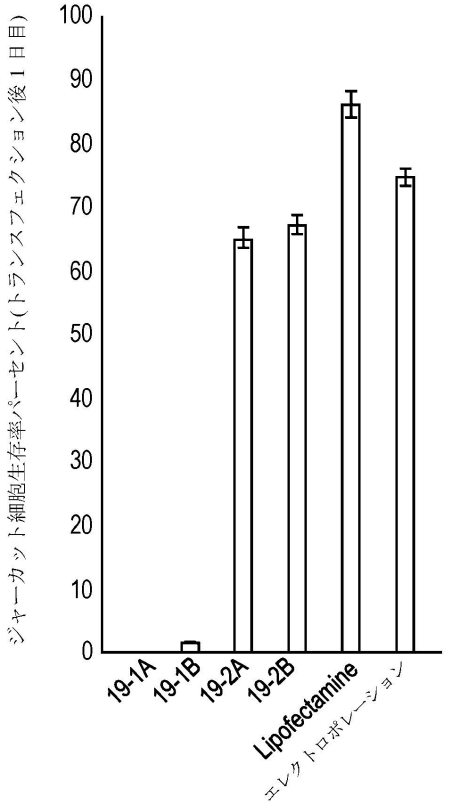
【図８Ｂ】



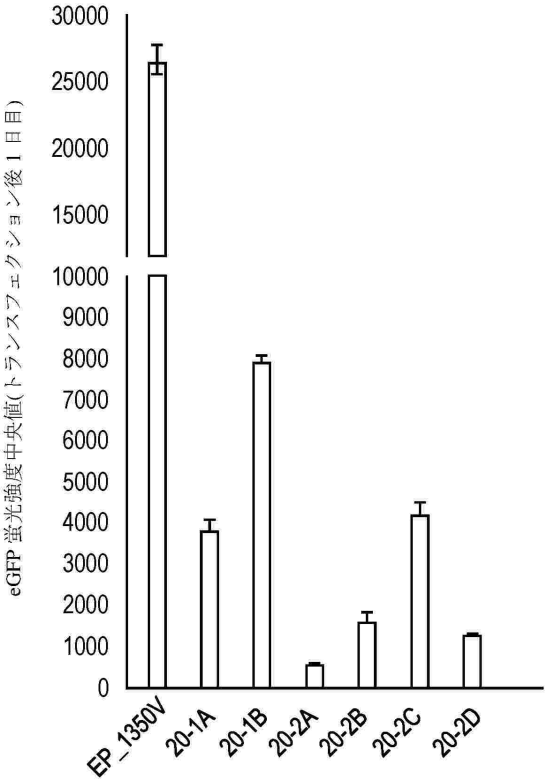
【図８Ｃ】



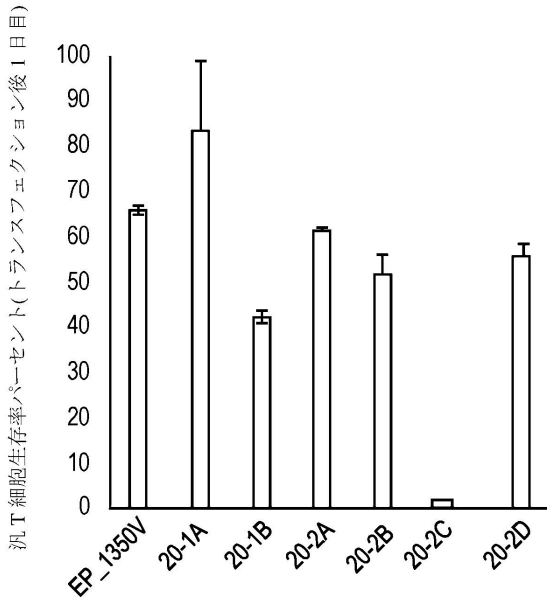
【図８Ｄ】



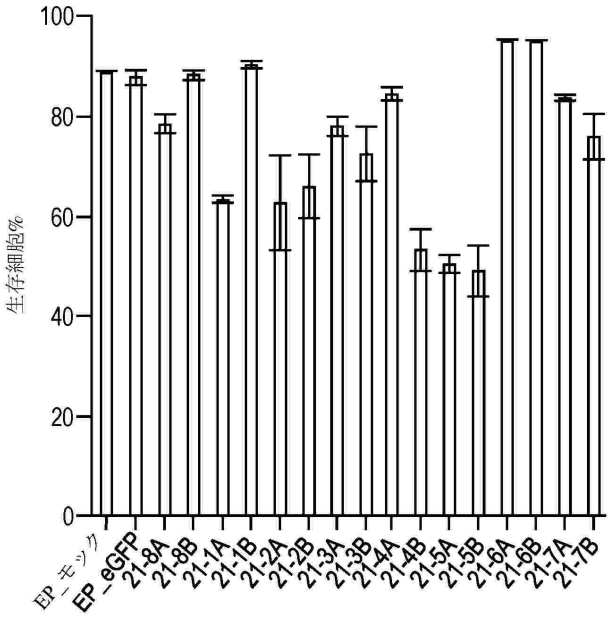
【図９Ａ】



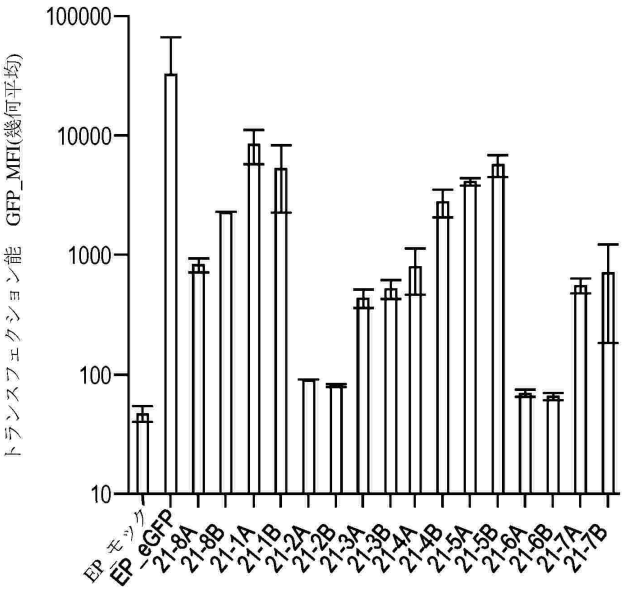
【図９Ｂ】



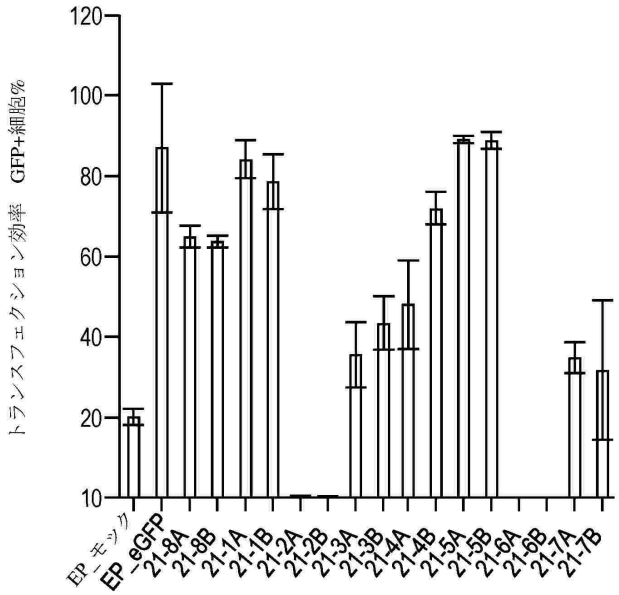
【図１０Ａ】



【図１０Ｂ】



【図１０Ｃ】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/026160

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07C219/06 C07C229/12 C07C229/22 C07C233/20 C07D205/04
C07D207/08 C07D207/16 C07D295/15 C07D207/327 A61K9/00
C12N15/00
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07C C07D A61K C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 3 750 867 A1 (ENZYCHEM LIFESCIENCES CORP [KR]) 16 December 2020 (2020-12-16) page 11; example 4; compound [H] -----	1
X	EP 3 083 556 B1 (NOVARTIS AG [CH]) 25 December 2019 (2019-12-25) examples 5,6,7,11,17,19,20,22,29,32,56 claim 1 -----	1,2, 41-47
X	WO 2020/219876 A1 (INTELLIA THERAPEUTICS INC [US]) 29 October 2020 (2020-10-29) claims 1,29, 30-84 page 233 -----	1,2, 41-47
A	EP 3 835 287 A1 (TAKEDA PHARMACEUTICALS CO [JP]) 16 June 2021 (2021-06-16) claims 1,7-10 -----	1,2, 41-47
	-/--	

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C. [x] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
3 November 2023	19/01/2024

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Seitner, Irmgard

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/026160

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2020/331841 A1 (MATSUMOTO SATORU [JP] ET AL) 22 October 2020 (2020-10-22) claims 1,5-8	1,2, 41-47
A	US 2021/169804 A1 (PATWARDHAN NEERAJ NARENDRA [US] ET AL) 10 June 2021 (2021-06-10) page 10; compounds 2,3 claims 1,15-22	1,2, 41-47

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/026160

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:

1, 2(completely); 41-47(partially)

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (April 2005)

International Application No. PCT/US2023/026160

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1, 2(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (I) according to claim 1, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (I) of claim 1, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

2. claims: 3, 4(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (I-A) according to claim 3, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (I) of claim 3, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

3. claims: 5, 6(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (I-B) according to claim 5, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (I) of claim 5, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

4. claims: 7, 8(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (II) according to claim 7, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (I) of claim 7, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

5. claims: 9, 10(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (III) according to claim 9, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (I) of claim 9, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

6. claims: 11, 12(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (IV) according to claim 11, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (I) of claim 11, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

International Application No. PCT/US2023/026160

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

---

7. claims: 13, 14(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (V) according to claim 13, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (V) of claim 13, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

8. claims: 15, 16(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (VI) according to claim 15, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (I) of claim 15, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

9. claims: 17, 18(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (VII) according to claim 17, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (I) of claim 17, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

10. claims: 19, 20(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (VIII) according to claim 19, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (VIII) of claim 19, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

11. claims: 21, 22(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (IX) according to claim 21, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (XI) of claim 21, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

12. claims: 23, 24(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (X) according to claim 23, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (X) of claim 23, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

International Application No. PCT/US2023/026160

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

13. claims: 25, 26(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (XI) according to claim 25, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (XI) of claim 25, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

14. claims: 27, 28(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (XII) according to claim 27, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (XII) of claim 27, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

15. claims: 29, 30(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (XIII) according to claim 29, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (XIII) of claim 29, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

16. claims: 31, 32(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (XIV) according to claim 31, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (XIV) of claim 31, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

17. claims: 33, 34(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (XV) according to claim 33, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (XV) of claim 33, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

18. claims: 35, 36(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (XVI) according to claim 35, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (XVI) of claim 35, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

International Application No. PCT/US2023/026160

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

19. claims: 37, 38(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (I-C) according to claim 37, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (I-C) of claim 37, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

20. claims: 39, 40(completely); 41-47(partially)

An ionizable lipid of Formula (XXII) according to claim 39, a lipid-nanoparticle composition according to claim 41 comprising the ionizable lipid of Formula (XXII) of claim 39, and the pharmaceutical composition according to claim 48 comprising the lipid-nanoparticle composition of claim 41

---

21. claims: 48-72(completely); 99-108(partially)

A compound of Formula (XVII) according to claim 48, the pharmaceutical composition according to claim 99 comprising a compound of claim 48, the method according to claim 106, the lipid nanoparticle according to claim 107 comprising a compound of claim 48

---

22. claims: 73-82(completely); 99-108(partially)

A compound of Formula (XVIII) according to claim 73, the pharmaceutical composition according to claim 99 comprising a compound of claim 73, the method according to claim 106, the lipid nanoparticle according to claim 107 comprising a compound of claim 73

---

23. claims: 83-96(completely); 99-108(partially)

A compound of Formula (XIX) according to claim 83, the pharmaceutical composition according to claim 99 comprising a compound of claim 83, the method according to claim 106, the lipid nanoparticle according to claim 107 comprising a compound of claim 83

---

24. claims: 97, 98(completely); 99-108(partially)

A compound of Formula (XXI) according to claim 97, the pharmaceutical composition according to claim 99 comprising a compound of claim 97, the method according to claim 106, the lipid nanoparticle according to claim 107 comprising a compound of claim 97

---

25. claims: 109-139

International Application No. PCT/US2023/026160

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

A compound of Formula (XX) according to claim 109

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2023/026160

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 3750867 A1	16-12-2020	CA 3094947 A1	03-10-2019
		CN 111902389 A	06-11-2020
		EP 3750867 A1	16-12-2020
		JP 7162676 B2	28-10-2022
		JP 2021516689 A	08-07-2021
		KR 20190112492 A	07-10-2019
		US 2021002197 A1	07-01-2021
		WO 2019190137 A1	03-10-2019
EP 3083556 B1	25-12-2019	EP 3083556 A1	26-10-2016
		EP 3623361 A1	18-03-2020
		EP 3872066 A1	01-09-2021
		ES 2774968 T3	23-07-2020
		ES 2895651 T3	22-02-2022
		PL 3083556 T3	29-06-2020
		PT 3083556 T	05-03-2020
		US 2016311759 A1	27-10-2016
		US 2018290965 A1	11-10-2018
		US 2021078936 A1	18-03-2021
		WO 2015095340 A1	25-06-2015
WO 2020219876 A1	29-10-2020	AU 2020261419 A1	04-11-2021
		BR 112021021313 A2	18-01-2022
		CA 3137956 A1	29-10-2020
		CN 114127044 A	01-03-2022
		CO 2021014831 A2	17-01-2022
		EP 3959191 A1	02-03-2022
		IL 287421 A	01-12-2021
		JP 2022530043 A	27-06-2022
		KR 20220005039 A	12-01-2022
		SG 11202111154W A	29-11-2021
		TW 202106662 A	16-02-2021
		US 2022402862 A1	22-12-2022
		WO 2020219876 A1	29-10-2020
EP 3835287 A1	16-06-2021	AU 2019317095 A1	11-03-2021
		BR 112021002384 A2	11-05-2021
		CA 3109207 A1	13-02-2020
		CN 112533893 A	19-03-2021
		CN 117304048 A	29-12-2023
		CO 2021001745 A2	08-03-2021
		EP 3835287 A1	16-06-2021
		IL 280620 A	25-03-2021
		JP 7350749 B2	26-09-2023
		JP WO2020032184 A1	26-08-2021
		KR 20210042089 A	16-04-2021
		SG 11202101356Y A	30-03-2021
		TW 202021945 A	16-06-2020
		US 2022098142 A1	31-03-2022
		WO 2020032184 A1	13-02-2020
US 2020331841 A1	22-10-2020	AU 2018397957 A1	09-07-2020
		BR 112020012424 A2	24-11-2020
		CA 3086824 A1	04-07-2019
		CN 111511713 A	07-08-2020
		EP 3733641 A1	04-11-2020
		IL 275617 A	31-08-2020
		JP 7211973 B2	24-01-2023

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2023/026160

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		JP WO2019131839 A1	21-01-2021
		KR 20200103679 A	02-09-2020
		RU 2020124751 A	28-01-2022
		SG 11202006154U A	29-07-2020
		TW 201932446 A	16-08-2019
		US 2020331841 A1	22-10-2020
		US 2023257338 A1	17-08-2023
		WO 2019131839 A1	04-07-2019
US 2021169804 A1	10-06-2021	AU 2020396940 A1	16-06-2022
		CA 3160395 A1	10-06-2021
		EP 4069675 A1	12-10-2022
		JP 2023505316 A	08-02-2023
		KR 20220113737 A	16-08-2022
		US 2021169804 A1	10-06-2021
		WO 2021113365 A1	10-06-2021

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
C07D 295/15 (2006.01)		C07D	295/15	CSP
A61K 9/51 (2006.01)		A61K	9/51	
C07D 205/04 (2006.01)		C07D	205/04	
C07D 207/16 (2006.01)		C07D	207/16	
C07D 207/337 (2006.01)		C07D	207/337	
C07D 207/08 (2006.01)		C07D	207/08	
C07D 207/335 (2006.01)		C07D	207/335	
A61K 47/22 (2006.01)		A61K	47/22	
A61K 47/18 (2017.01)		A61K	47/18	
A61K 47/14 (2017.01)		A61K	47/14	
A61K 47/24 (2006.01)		A61K	47/24	
A61K 47/28 (2006.01)		A61K	47/28	
A61K 48/00 (2006.01)		A61K	48/00	
A61K 31/7105(2006.01)		A61K	31/7105	
A61K 31/713 (2006.01)		A61K	31/713	
C07C 69/675 (2006.01)		C07C	69/675	
C07C 233/20 (2006.01)		C07C	233/20	
C07C 219/06 (2006.01)		C07C	219/06	
C07C 219/12 (2006.01)		C07C	219/12	
C07C 219/22 (2006.01)		C07C	219/22	

(32)優先日 令和5年5月4日(2023.5.4)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域 AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 バルマン，ディプティ
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ９４０４３，マウンテンビュー，ノース バーナード アベニュー ３１９

Ｆターム（参考） 4C076 AA95 DD44 DD49 DD50 DD60 DD63 DD70 FF63 FF65
4C084 AA13 MA05 MA21 MA24 NA13
4C086 AA01 AA02 EA16 MA02 MA05 MA21 MA24 NA13
4H006 AA01 AB20 BJ50 BN10 BP10 BT12 BU32 BV22