

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-501287
(P2024-501287A)

(43)公表日 令和6年1月11日(2024.1.11)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/86 (2006.01)	C 1 2 N 15/86	Z Z N A 4 B 0 6 5
C 1 2 N 15/11 (2006.01)	C 1 2 N 15/11	Z
C 1 2 N 7/01 (2006.01)	C 1 2 N 7/01	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全206頁)			
(21)出願番号	特願2023-538735(P2023-538735)	(71)出願人	519397987
(86)(22)出願日	令和3年12月22日(2021.12.22)		フラッグシップ パイオニアリング イノ
(85)翻訳文提出日	令和5年8月17日(2023.8.17)		ベーションズ プイ, インコーポレイテ
(86)国際出願番号	PCT/US2021/064887		ッド
(87)国際公開番号	WO2022/140560		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2
(87)国際公開日	令和4年6月30日(2022.6.30)		1 4 2, ケンブリッジ, ケンブリッジ
(31)優先権主張番号	63/130,360		パークウェイ 5 5, 8 ティーエイチ
(32)優先日	令和2年12月23日(2020.12.23)		フロア
(33)優先権主張国・地域又は機関		(74)代理人	100078282
	米国(US)		弁理士 山本 秀策
(31)優先権主張番号	63/147,064	(74)代理人	100113413
(32)優先日	令和3年2月8日(2021.2.8)		弁理士 森下 夏樹
(33)優先権主張国・地域又は機関		(74)代理人	100181674
	米国(US)		弁理士 飯田 貴敏
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(74)代理人	100181641
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 RNAを閉じ込めたアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) キャプシドのインビトロアセンブリ

(57)【要約】
本発明は、概して、アネロベクターを作製するための組成物及びその使用に関する。

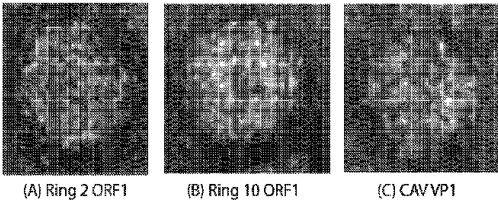


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- a) O R F 1 分子を含むタンパク質性外層と、
- b) R N A を含む遺伝子エレメントと

を含み、前記遺伝子エレメントが、前記タンパク質性外層内に閉じ込められている、アネロベクター。

【請求項 2】

前記遺伝子エレメントが、少なくとも 10 %、20 %、25 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は 100 % の R N A からなる、請求項 1 に記載のアネロベクター。

10

【請求項 3】

前記 R N A が 1 つ又は複数の化学修飾を含む、請求項 1 又は 2 に記載のアネロベクター。

【請求項 4】

前記遺伝子エレメントが R N A からなるか、又は R N A から本質的になる、請求項 1 ～ 3 のいずれかに記載のアネロベクター。

【請求項 5】

前記遺伝子エレメントが、D N A 領域を含む、請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載のアネロベクター。

【請求項 6】

前記 D N A 領域の少なくとも一部が、前記遺伝子エレメントの前記 R N A の少なくとも一部にハイブリダイズする、請求項 1 ～ 5 のいずれかに記載のアネロベクター。

20

【請求項 7】

前記遺伝子エレメントが、環状である、請求項 1 ～ 6 のいずれかに記載のアネロベクター。

【請求項 8】

アネロベクターを作製する方法であって、前記方法が、

(a)

(i) R N A を含む遺伝子エレメント、及び

(i i) O R F 1 分子

30

を含む混合物を用意するステップ；並びに

(b) 前記 O R F 1 分子を含むタンパク質性外層内に前記遺伝子エレメントを閉じ込めるのに好適な条件下で前記混合物をインキュベートし、それにより、アネロベクターを作製するステップ

を含み、

任意選択で、前記混合物が細胞に含まれない、方法。

【請求項 9】

遺伝子エレメントを細胞に送達する方法であって、前記方法が、請求項 1 ～ 7 のいずれかに記載のアネロベクターを、細胞、例えば真核細胞、例えば哺乳動物細胞、例えばヒト細胞と接触させるステップを含む、方法。

40

【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、2020年12月23日に提出された米国仮特許出願第63/130,360号明細書、及び2021年2月8日に提出された米国仮特許出願第63/147,064号明細書の利益を主張する。前述した出願の内容は、その全体を参照により本明細書に組み込む。

【0002】

配列表

50

本願は、ASCIIフォーマットに電子データとして提出された配列表を含み、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。前記ASCIIコピーは、2021年12月21日に作成され、V2057-7017WO__SL.txtと題し、そのサイズは、286,720バイトである。

【背景技術】

【0003】

治療用エフェクターを患者に送達するための好適なベクターを作製するための組成物及び方法を開発するニーズが依然として存在する。

【発明の概要】

【0004】

本開示は、送達ビヒクルとして、例えば、真核細胞（例えば、ヒト細胞若しくはヒト組織）に、遺伝物質を送達するための、エフェクター、例えば、ペイロードを送達するための、又は治療薬若しくは治療用エフェクターを送達するために用いることができるアネロベクター（anellovector）（例えば、合成アネロベクター）を生産するための組成物及び方法を提供する。天然に存在するアネロウイルス（Anellovirus）はDNAゲノムを有するが、本開示は、RNAを含む遺伝子エレメントを有するアネロベクターを用意する。

【0005】

アネロベクター（例えば、本明細書に記載されるような組成物又は方法を使用して生産される）は、一般に、タンパク質性外層（例えば、アネロウイルス（Anellovirus）キャプシドタンパク質を含むタンパク質性外層、例えば、本明細書に記載されるような、例えばアネロウイルス（Anellovirus）ORF1タンパク質又はアネロウイルス（Anellovirus）ORF1核酸によりコードされるポリペプチド）に包膜された、遺伝子エレメント（例えば、エフェクター、例えば、外性又は内在性エフェクター、例えば、治療用エフェクターを含む、又はコード化する、遺伝子エレメント）を含み、これは、遺伝子エレメントを細胞（例えば、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞）内に導入することができる。遺伝子エレメントはRNAを含み得る。一部の実施形態では、アネロベクターは、アネロウイルス（Anellovirus）ORF1核酸（例えば、アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）、ベータトルクウイルス（Betatorquevirus）、又はガンマトルクウイルス（Gammatorquevirus）のORF1核酸、例えば、本明細書に記載のように、例えば、アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）クレード1、アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）クレード2、アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）クレード3、アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）クレード4、アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）クレード5、アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）クレード6、若しくはアルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）クレード7のORF1核酸）によりコードされるポリペプチドを含むタンパク質性外層を含む感染性ベシクル又は粒子である。本開示のアネロベクターの遺伝子エレメントは、典型的に、環状及び／又は一本鎖RNA分子（例えば、環状且つ一本鎖）であり、それを閉じ込めるタンパク質性外層と結合するタンパク質結合配列、又はそれに結合したポリペプチドを有しており、これは、タンパク質性外層内への遺伝子エレメントの閉じ込め及び／又はタンパク質性外層内で、他の核酸に対する遺伝子エレメントの濃縮を促進し得る。一部の実施形態では、アネロベクターの遺伝子エレメントは、例えば本明細書に記載されるような、バキュロウイルス（Baculovirus）、核酸構築物（例えば、バクミド及び／又はドナーベクター）、昆虫細胞、及び／又は動物細胞株を使用して生産される。

【0006】

一部の事例では、遺伝子エレメントは、例えば、標的細胞内で発現され得るエフェクター（例えば、ノンコーディングRNAなどの核酸エフェクターを含むか、又はポリペプチドエフェクター、例えば、タンパク質をコード化する）を含むか、又はコード化する。一

10

20

30

40

50

部の実施形態では、エフェクターは、例えば本明細書に記載されるような、治療薬又は治療用エフェクターである。一部の実施形態では、エフェクターは、例えば、野生型アネロウイルス (Ane l l o v i r u s) 又は標的細胞に対して外性の、内在性エフェクター又は外性エフェクターである。一部の実施形態では、エフェクターは、野生型アネロウイルス (Ane l l o v i r u s) 又は標的細胞に対して、外性である。一部の実施形態では、アネロベクターは、細胞と接触して、細胞によりエフェクターが生成又は発現されるように、エフェクターをコード化する遺伝子エレメントを細胞に導入することによって、エフェクターを細胞中に送達することができる。特定の事例では、エフェクターは、内在性エフェクターである (例えば、標的細胞に対して内在性であるが、例えば、アネロソームにより、増加した量で供給される)。他の事例では、エフェクターは、外性エフェクターである。エフェクターは、一部の事例では、細胞の機能を調節するか、又は細胞中の標的分子の活性若しくはレベルを調節することができる。例えば、エフェクターは、細胞中の標的タンパク質のレベルを低下させることができる (例えば、国際公開第US 19 / 65995号の実施例3及び4に記載されるように)。別の例では、アネロベクターは、エフェクター、例えば、外性タンパク質をインビボで送達及び発現することができる (例えば、国際公開第US 19 / 65995号の実施例19及び28に記載されるように)。アネロベクターは、例えば、遺伝物質を、標的細胞、組織若しくは被験者に送達するために；エフェクターを標的細胞、組織若しくは被験者に送達するために；又は、例えば、所望の細胞、組織、若しくは被験者に、治療薬として作用し得るエフェクターを送達することにより、疾患若しくは障害の治療のために使用することができる。

10

20

【0007】

一部の実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、例えば宿主細胞内で、合成アネロベクターの遺伝子エレメントを生産することができる。合成アネロベクターは、野生型ウイルス (例えば、本明細書に記載のように、例えば、野生型アネロウイルス (Ane l l o v i r u s)) と比較して、少なくとも1つの構造的相違、例えば、欠失、挿入、置換、修飾 (例えば、酵素的修飾) を有する。概して、合成アネロベクターは、タンパク質性外層内に閉じ込められた外性遺伝子エレメントを含み、これは、遺伝子エレメント、又はそこでコード化されたエフェクター (例えば、外性エフェクター又は内在性エフェクター) (例えば、ポリペプチド若しくは核酸エフェクター) を真核生物 (例えば、ヒト) 細胞内に送達するために使用することができる。複数の実施形態において、アネロベクターは、検出可能な及び／又は不要な免疫若しくは炎症性応答を引き起こさず、例えば、炎症の分子マーカー、例えば、TNF- α 、IL-6、IL-12、IFN、並びにB細胞応答、例えば、反応性若しくは中和性抗体の1%、5%、10%、15%を超える増加を引き起こさず、例えば、アネロベクターは、標的細胞、組織又は被験者に対して実質的に非免疫原性であり得る。

30

【0008】

一部の実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、以下：(i) ORF1分子を含むタンパク質性外層；及び(ii) RNAを含む遺伝子エレメントを含む、アネロベクターの遺伝子エレメントを生産することができ；ここで、遺伝子エレメントは、タンパク質性外層内に閉じ込められている。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、少なくとも10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のRNAからなる。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、DNAを含まない。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、ssDNAを含まない。或いは、一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、DNA領域を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のDNA又はRNAは、1つ又は複数の修飾ヌクレオチド (例えば、塩基修飾、糖修飾、若しくは骨格修飾) を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、一本鎖である。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、二本鎖領域を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、線状ポリペプチドである。或いは、一部の実施形態では、遺伝子エレメントは環状ポリヌクレオチドである。一部の実施形態では、核酸配列は、例えば、昆虫細

40

50

胞での発現のために、コドン最適化される。一部の実施形態では、核酸配列中のコドンの少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%が、例えば、昆虫細胞での発現のためにコドン最適化される。一部の実施形態では、核酸配列は、例えば、哺乳動物（例えば、ヒト）細胞での発現のために、コドン最適化される。一部の実施形態では、核酸配列中のコドンの少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%が、例えば、哺乳動物（例えば、ヒト）細胞での発現のためにコドン最適化される。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、約10~20、20~30、30~40、50~60、60~70、70~80、80~90、90~100、100~125、125~150、150~200、200~300、300~400、400~500、500~600、600~700、700~800、800~900、900~1000、1000~1500、1500~2000、2000~2500、2500~3000、3000~3500、3500~4000、又は4000~4500ヌクレオチド長である。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、少なくとも約10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、400、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、又は4500ヌクレオチド長である。

10

【0009】

一部の実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、キャプシドに結合するタンパク質結合配列と、治療用エフェクターをコード化する異種（アネロウイルス（*Anellovirus*）に対して）配列と、を含む遺伝子エレメントを包膜する、キャプシド（例えば、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF、例えば、ORF1、ポリペプチドを含むキャプシド）を含む感染性（例えば、ヒト細胞に対して）アネロベクター、ビヒクル、又は粒子の遺伝子エレメントを生産することができる。複数の実施形態では、アネロベクターは、哺乳動物、例えば、ヒトの細胞内に遺伝子エレメントを送達することができる。

20

【0010】

一態様では、本発明は、インビトロアセンブリによるアネロベクターの作製方法の特徴とする。一部の実施形態では、アネロベクターを作製する方法は、以下：（a）以下：（i）RNAを含む遺伝子エレメント、及び（ii）ORF1分子を含む混合物を用意するステップ；並びに（b）ORF1分子を含むタンパク質性内に遺伝子エレメントを閉じ込めるのに好適な条件下で混合物をインキュベートし、それにより、アネロベクターを作製するステップを含み；任意選択で、混合物は、細胞に含まれない。一部の実施形態では、方法は、（a）を用意する前に、例えば宿主細胞（例えば、昆虫細胞又は哺乳動物細胞）内で、ORF1分子を発現させるステップをさらに含む。一部の実施形態では、発現させるステップは、ORF1分子を生産するのに好適な条件下で、ORF1分子をコード化する核酸分子（例えば、バキュロウイルス発現ベクター）を含む宿主細胞（例えば、昆虫細胞又は哺乳動物細胞）をインキュベートすることを含む。一部の実施形態では、方法は、（a）を用意する前に、宿主細胞によって発現されるORF1分子を精製するステップをさらに含む。

30

40

【0011】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるアネロベクターは、本明細書に記載のエフェクターなどの薬剤を、標的細胞、例えば、治療又は予防目的で処置しようとする被験者の標的細胞に導入するための有効な送達ビヒクルとして使用することができる。

【0012】

一態様では、本発明は、本明細書に記載されるようなアネロベクター（例えば、合成アネロベクター）を含む医薬組成物の特徴とする。一部の実施形態において、医薬組成物は、薬学的に許容される担体又は賦形剤をさらに含む。複数の実施形態において、医薬組成物は、対象被験者の1キログラム当たり約 $10^5 \sim 10^{14}$ （例えば、約 $10^6 \sim 10^{13}$ 、 $10^7 \sim 10^{12}$ 、 $10^8 \sim 10^{11}$ 又は $10^9 \sim 10^{10}$ ）ゲノム当量を含む単位用

50

量を含む。一部の実施形態では、調製物を含む医薬組成物は、許容される期間及び温度で安定しており、且つ／又は所望の投与経路及び／又はこの投与経路が必要とする任意のデバイス、例えば注射針若しくは注射器と適合性である。一部の実施形態では、医薬組成物は、単回用量又は複数回用量としての投与のために製剤化される。一部の実施形態では、医薬組成物は、投与の現場で、例えば、医療従事者によって製剤化される。一部の実施形態では、医薬組成物は、所望の濃度のアネロベクターゲノム又はゲノム当量（例えば、体積当たりのゲノム数によって定義される）を含む。

【0013】

一態様では、本発明は、被験者の疾患若しくは障害を治療する方法を特徴とし、この方法は、アネロベクター、例えば、本明細書に記載されるような例えば合成アネロベクターを被験者に投与するステップを含む。

10

【0014】

一態様では、本発明は、エフェクター又はペイロード（例えば、内在性エフェクター若しくは外性エフェクター）を細胞、組織若しくは被験者に送達する方法を特徴とし、この方法は、アネロベクター、例えば、本明細書に記載されるような例えば合成アネロベクターを被験者に投与するステップを含み、ここで、アネロベクターは、エフェクターをコード化する核酸を含む。一部の実施形態において、ペイロードは、核酸である。一部の実施形態において、ペイロードは、ポリペプチドである。

【0015】

一態様では、本発明は、アネロベクターを細胞に送達する方法を特徴とし、これは、アネロベクター、例えば、本明細書に記載されるような例えば合成アネロベクターを細胞、例えば、真核細胞、例えば、哺乳動物細胞と、例えば、インビボ若しくはエクスピボで接触させるステップを含む。

20

【0016】

前述したアネロベクター、組成物又は方法のいずれかのさらに別の特徴は、以下に列挙する実施形態の1つ又は複数を含む。

【0017】

当業者は、本明細書に記載される本発明の具体的な実施形態に対する様々な同等物を認識する、又は常用的な実験を用いて確認することができるであろう。こうした同等物は、以下に列挙する実施形態に含まれることが意図される。

30

【0018】

実施形態の列挙

1. 以下：

a) ORF 1分子を含むタンパク質性外層；

b) RNAを含む遺伝子エレメント、

を含み、遺伝子エレメントが、タンパク質性外層内に閉じ込められている、アネロベクター。

【0019】

2. 遺伝子エレメントが、少なくとも10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のRNAからなる、実施形態1に記載のアネロベクター。

40

【0020】

3. RNAが1つ又は複数の化学修飾を含む、実施形態1又は2に記載のアネロベクター。

【0021】

4. 遺伝子エレメントがRNAからなるか、又はRNAから本質的になる、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0022】

5. アネロベクターがDNAを含まない、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

50

【0023】

6. アネロベクターが ssDNA を含まない、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0024】

7. 遺伝子エレメントが、DNA 領域を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0025】

8. DNA 領域の全てのヌクレオチドが化学的に修飾されている、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0026】

9. DNA 領域が、遺伝子エレメントの RNA に共有結合している、実施形態 7 又は 8 に記載のアネロベクター。

【0027】

10. DNA 領域の少なくとも一部が、遺伝子エレメントの RNA の少なくとも一部にハイブリダイズする、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0028】

11. DNA 領域が、10～20、20～30、30～40、40～50、50～60、60～70、70～80、80～90、90～100、100～150、150～200、200～300、300～400、400～500、500～600、600～700、700～800、800～900、又は 900～1000 ヌクレオチド長である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0029】

12. 遺伝子エレメントが、一本鎖である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0030】

13. 遺伝子エレメントが、二本鎖領域（例えば、RNA と対合する RNA の領域、又は RNA と対合する DNA）を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0031】

14. 遺伝子エレメントが、線状である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0032】

15. 遺伝子エレメントが、環状である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0033】

16. 遺伝子エレメントが、第 1 の領域、及び第 1 の領域とハイブリダイズすることができる第 2 の領域を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0034】

17. 遺伝子エレメントが、5' 末端又は 3' 末端を含まない、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0035】

18. 遺伝子エレメントが、遊離リン酸塩及び遊離糖の一方又は両方を含まない、実施形態 15～17 のいずれかに記載のアネロベクター。

【0036】

19. 遺伝子エレメント中の全てのリン酸塩が、リン酸塩に含まれる第 1 の酸素原子によって第 1 の糖に共有結合し、リン酸塩に含まれる第 2 の酸素原子によって第 2 の糖に共有結合している、実施形態 15～18 のいずれかに記載のアネロベクター。

【0037】

20. 遺伝子エレメント中の全ての糖が、糖に含まれる第 1 の炭素原子によって第 1 のリン酸塩に共有結合し、糖に含まれる第 2 の炭素原子によって第 2 のリン酸塩に共有結合している、実施形態 15～19 のいずれかに記載のアネロベクター。

10

20

30

40

50

【0038】

21. 遺伝子エレメントが線状RNAを環状化することによって生産された、実施形態15～20のいずれかに記載のアネロベクター。

【0039】

22. 遺伝子エレメントが、約10～20、20～30、30～40、50～60、60～70、70～80、80～90、90～100、100～125、125～150、150～200、200～300、300～400、400～500、500～600、600～700、700～800、800～900、900～1000、1000～1500、1500～2000、2000～2500、2500～3000、3000～3500、3500～4000、又は4000～4500ヌクレオチド長である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

10

【0040】

23. 遺伝子エレメントが、少なくとも約10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、400、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、又は4500ヌクレオチド長である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0041】

24. 遺伝子エレメントが、ORF1分子に結合する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

20

【0042】

25. 遺伝子エレメントが、ORF1分子に含まれるゼリーロールドメインに結合する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0043】

26. 遺伝子エレメントが、ORF1分子に含まれるアルギニンリッチドメインに結合する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0044】

27. アネロベクターが、複数の遺伝子エレメント、例えば、少なくとも2、3、4、5、10、20、30、40、50、又は60の遺伝子エレメントを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

30

【0045】

28. 複数の遺伝子エレメントがそれぞれ同じ配列を含む、実施形態27に記載のアネロベクター。

【0046】

29. 複数の遺伝子エレメントが異なる配列を含む、実施形態27に記載のアネロベクター。

【0047】

30. 遺伝子エレメントが、外性エフェクターをコード化する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0048】

31. 外性エフェクターをコード化する配列が、少なくとも約10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、400、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、2500、又は3000ヌクレオチド長である、実施形態30に記載のアネロベクター。

40

【0049】

32. 外性エフェクターが治療用エフェクター（例えば、ポリペプチド又は核酸分子）を含む、実施形態30～31のいずれかに記載のアネロベクター。

【0050】

33. 外性エフェクターが、ヒトタンパク質、又はそれと少なくとも75%、80%、8

50

5 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む、実施形態30～32のいずれかに記載のアネロベクター。

【0051】

34. 外性エフェクターが核酸分子を含む、実施形態30～33のいずれかに記載のアネロベクター。

【0052】

35. 外性エフェクターが、ノンコーディング核酸分子、例えば、機能性RNA、例えば、mRNA、miRNA、又はsiRNAを含む、実施形態30～34のいずれかに記載のアネロベクター。

10

【0053】

36. 遺伝子エレメントが、外性エフェクター（例えば、ペプチド又はポリペプチド、例えば、治療用ペプチド又はポリペプチド）をコード化するmRNA分子である、実施形態30～35のいずれかに記載のアネロベクター。

【0054】

37. ノンコーディング核酸分子が、ヒトノンコーディング核酸分子、又はそれと少なくとも75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は99 %の配列同一性を有する配列を含む核酸分子である、実施形態36に記載のアネロベクター。

【0055】

38. 外性エフェクターが、サイトゾルポリペプチド又はサイトゾルペプチド（例えば、DPP-4阻害剤、GLP-1シグナル伝達のアクチベータ、又は好中球エラスターゼの阻害剤、又はそれらの機能性断片）を含む、実施形態30～37のいずれかに記載のアネロベクター。

20

【0056】

39. 外性エフェクターが調節細胞内ポリペプチドを含む、実施形態38に記載のアネロベクター。

【0057】

40. 外性エフェクターが、分泌されたポリペプチド又はペプチド（例えば、サイトカイン、抗体分子、ホルモン、成長因子、若しくは凝固関連因子、又はそれらの機能性断片）を含む、実施形態30～39のいずれかに記載のアネロベクター。

30

【0058】

41. 外性エフェクターがタンパク質代替治療を含む、実施形態30～40のいずれかに記載のアネロベクター。

【0059】

42. 外性エフェクターが酵素を含む、実施形態30～41のいずれかに記載のアネロベクター。

【0060】

43. 外性エフェクターが、エリスロポエチン（EPO）若しくはヒト成長ホルモン（hGH）、又はそれらの機能性断片を含む、実施形態30～42のいずれかに記載のアネロベクター。

40

【0061】

44. 外性エフェクターが遺伝子編集システムの1構成体（例えば、CRISPRシステムの1構成体、例えば、Cas9、Cpf1、又はそれらの機能性断片）を含む、実施形態30～43のいずれかに記載のアネロベクター。

【0062】

45. RNAが、例えば本明細書に記載されるように、化学的に修飾されたRNAを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0063】

46. RNAが、キャップを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0064】

50

47. RNAが、例えば、少なくとも約5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、又は100アデノシン長のポリ-A尾部を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0065】

48. RNAが、ポリ-A尾部を欠き、例えば、5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、又は100以下の連続したアデノシンを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0066】

49. タンパク質性外層が、ORF1分子の約60（例えば、約40、50、60、70、又は80）コピーを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0067】

50. ORF1分子のゼリーロールドメインが、タンパク質性外層の内部に面している、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0068】

51. ORF1分子が、表N～S及び37A～37Cのいずれかに列挙されるアミノ酸配列、又はそれと少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0069】

52. ORF1分子が、アルギニンリッチ領域、例えば、表N～S及び37A～37Cのいずれかに列挙されるアルギニンリッチ領域のアミノ酸配列、又はそれと少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むアルギニンリッチ領域を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0070】

53. アルギニンリッチ領域が、少なくとも約70%（例えば、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、又は100%）の塩基性残基（例えば、アルギニン又はリシン）を含む、実施形態52に記載のアネロベクター。

【0071】

54. ORF1分子が、ゼリーロールドメイン、例えば、表N～S及び37A～37Cのいずれかに列挙されるゼリーロールドメインのアミノ酸配列、又はそれと少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むゼリーロールドメインを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0072】

55. ゼリーロールドメインが、以下の特徴：

(i) ゼリーロールドメインのアミノ酸の少なくとも30%（例えば、少なくとも約30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、90%、若しくはそれ以上）が、1つ若しくは複数のβシートの部分である；

(ii) ゼリーロールドメインの二次構造が、少なくとも4つ（例えば、4、5、6、7、8、9、10、11、若しくは12）のβ鎖を含む；且つ／又は

(iii) ゼリーロールドメインの三次構造が、少なくとも2つ（例えば、2、3、若しくは4つ）のβシートを含む；且つ／又は

(iv) ゼリーロールドメインが、少なくとも2：1、3：1、4：1、5：1、6：1、7：1、8：1、9：1、若しくは10：1のβシート：αヘリックスの比を含む1つ又は複数（例えば、1、2、3、又は4個）を含む、実施形態54に記載のアネロベクター。

【0073】

56. ゼリーロールドメインが、例えば互いに逆平行配向に配置された、2つのβシートを含む、実施形態54に記載のアネロベクター。

10

20

30

40

50

【0074】

57. ゼリーロールドメインが、8つのβ鎖を含む、実施形態54に記載のアネロベクター。

【0075】

58. ゼリーロールドメインが、例えば図3に示されるような、Dβ鎖の配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する領域を含む、実施形態52～57のいずれかに記載のアネロベクター。

【0076】

59. Dβ鎖が、1、2、若しくは3個、又はそれ以上の塩基性残基（例えば、アルギニン又はリシン）を含む、実施形態52に記載のアネロベクター。

【0077】

60. ゼリーロールドメインが、例えば図3に示されるような、Gβ鎖の配列と少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する領域を含む、実施形態52～59のいずれかに記載のアネロベクター。

【0078】

61. Gβ鎖が、少なくとも1、2、若しくは3個、又はそれ以上の塩基性残基（例えば、アルギニン又はリシン）を含む、実施形態52に記載のアネロベクター。

【0079】

62. ORF1分子が、N22ドメイン、例えば、表N～S及び37A～37Cのいずれかに列挙されるN22ドメインのアミノ酸配列、又はそれと少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むN22ドメインを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0080】

63. N22ドメインが、アミノ酸配列YNPX²DXGX²N（Xⁿは、各々独立して、任意のn個のアミノ酸の連続した配列である）を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0081】

64. N22ドメインが、アミノ酸配列YNPX²DXGX²Nとフランキングする第1ベータ鎖及び第2ベータ鎖を含み、例えば、第1ベータ鎖は、アミノ酸配列YNPX²DXGX²Nのチロシン（Y）残基を含み、且つ／又は第2ベータ鎖は、アミノ酸配列YNPX²DXGX²Nの第2アスパラギン（N）残基（NからC）を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0082】

65. ORF1分子が、C末端ドメイン、例えば、表N～S及び37A～37Cのいずれかに列挙されるC末端ドメインのアミノ酸配列、又はそれと少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むC末端ドメインを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0083】

66. 遺伝子エレメントが、アネロウイルス（Anellovirus）ORF1タンパク質（例えば、本明細書に記載の通り）をコード化する配列を欠く、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0084】

67. 遺伝子エレメントが、アネロウイルス（Anellovirus）ORF2タンパク質（例えば、本明細書に記載の通り）をコード化する配列を欠く、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0085】

10

20

30

40

50

68. 遺伝子エレメントが、アネロウイルス (Anellovirus) ORF3タンパク質 (例えば、本明細書に記載の通り) をコード化する配列を欠く、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0086】

69. アネロベクターが、細胞 (例えば、真核細胞、例えば、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞) に遺伝子エレメントを送達するように構成されている、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0087】

70. 少なくとも1000のアネロベクターの集団が、少なくとも100コピー (例えば、少なくとも1、2、3、4、5、10、20、30、40、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、5000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、若しくは1,000,000コピー) の遺伝子エレメントを1つ又は複数の細胞内に送達することができる、実施形態69に記載のアネロベクター。

10

【0088】

71. アネロベクターの集団 (例えば、細胞当たり少なくとも1、2、3、4、5、10、20、30、40、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、又は1000ゲノム当量の遺伝子エレメント) が、細胞の集団の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、又はそれ以上に遺伝子エレメントを送達することができる、実施形態69又は70に記載のアネロベクター。

20

【0089】

72. アネロベクターの集団 (例えば、細胞当たり少なくとも1、2、3、4、5、10、20、30、40、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、又は1000ゲノム当量の遺伝子エレメント) が、細胞当たり少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、50、100、200、500、1000、2000、5000、8,000、 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 又はそれ以上の遺伝子エレメントのコピーを細胞の集団に送達することができる、実施形態69～71のいずれかに記載のアネロベクター。

【0090】

73. アネロベクターの集団 (例えば、細胞当たり少なくとも1、2、3、4、5、10、20、30、40、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、又は1000ゲノム当量の遺伝子エレメント) が、細胞当たり1～3、1～4、1～5、1～6、1～7、1～8、1～9、1～10、5～10、10～20、20～50、50～100、100～1000、1000～ 10^4 、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ 、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ 、又は $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ の遺伝子エレメントのコピーを細胞の集団に送達することができる、実施形態69～72のいずれかに記載のアネロベクター。

30

【0091】

74. アネロベクターが、所望の細胞型、組織、又は器官 (例えば、骨髄、血液、心臓、GI、皮膚、網膜の光受容体、上皮内層、若しくは脾臓) に、エフェクターを選択的に送達するか、又はより高レベルでそこに存在する (好ましくは、そこに蓄積する)、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

40

【0092】

75. 遺伝子エレメントが、RNaseによる (例えば、タンパク質性外層による) 消化から保護されているか、又はそれに対して抵抗性である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0093】

76. タンパク質性外層内に閉じ込められた遺伝子エレメントが、エンドヌクレアーゼ消

50

化、例えば RNase 消化に対して抵抗性である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0094】

77. 遺伝子エレメントが、プロモータエレメントを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0095】

78. 遺伝子エレメントが、タンパク質結合配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター。

【0096】

79. タンパク質結合配列が ORF 1 分子に結合することができる、実施形態 78 に記載のアネロベクター。

【0097】

80. 先行実施形態のいずれかに記載の複数のアネロベクターを含む組成物。

【0098】

81. 組成物中の ORF 1 分子を含むタンパク質性外層の少なくとも 50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% が、少なくとも 1 コピーの遺伝子エレメントを含む、実施形態 80 に記載の組成物。

【0099】

82. 組成物中の ORF 1 分子を含むタンパク質性外層の少なくとも 50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% が、少なくとも 1 コピーのアネロベクター遺伝子エレメントを含む、実施形態 80 に記載の組成物。

【0100】

83. 組成物が、少なくとも 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^4 、 10^5 、 10^6 、又は 10^7 個の同じアネロベクターを含む、実施形態 80～82 のいずれかに記載の組成物。

【0101】

84. 複数が、少なくとも 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、 10^{11} 、 10^{12} 、 10^{13} 、 10^{14} 、若しくは 10^{15} 個のアネロベクター（例えば、アネロベクターのコピー）を含むか；又は組成物が、1 mL 当たり少なくとも 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、 10^{11} 、 10^{12} 、 10^{13} 、 10^{14} 、若しくは 10^{15} 個のアロベクターゲノムを含む、実施形態 80～83 のいずれかに記載の組成物。

【0102】

85. 以下の特徴：

- a) 組成物が、医薬又は適正製造基準（GMP）を満たすこと；
- b) 組成物が、適正製造基準（GMP）に従って製造されていること；
- c) 組成物が、予め定めた基準値を下回る病原体レベルを有する、例えば、病原体を実質的に含まないこと；
- d) 組成物が、予め定めた基準値を下回る混入物レベルを有する、例えば、混入物（例えば、変性剤、例えば、尿素）を実質的に含まないこと；
- e) 組成物が、予め定めたレベルの非感染性粒子、又は予め定めた粒子：感染性単位の比（例えば、 $<300:1$ 、 $\leq 200:1$ 、 $\leq 100:1$ 、若しくは $<50:1$ ）を有すること；又は
- f) 医薬組成物が、例えば、本明細書に記載の通り、低免疫原性を有する、又は実質的に非免疫原性であること

の 1 つ又は複数（例えば、1、2、3、4、5、又は 6 個）を有し、任意選択で、組成物が、0.1 M、0.2 M、0.3 M、0.4 M、0.5 M、0.6 M、0.7 M、0.8 M、0.9 M、1 M、1.1 M、1.2 M、1.3 M、1.5 M、1.5 M、1.6 M、1.7 M、1.8 M、1.9 M、又は 2 M 未満の濃度の尿素を含む、実施形態 80～84

10

20

30

40

50

のいずれかに記載の組成物。

【0103】

86. 医薬組成物が、予め定めた基準値を下回る混入物レベルを有する、例えば、混入物を実質的に含まない、実施形態80～85のいずれかに記載の組成物。

【0104】

87. 組成物が、0.1M、0.2M、0.3M、0.4M、0.5M、0.6M、0.7M、0.8M、0.9M、1M、1.1M、1.2M、1.3M、1.5M、1.5M、1.6M、1.7M、1.8M、1.9M、又は2M未満の濃度の尿素を含む、実施形態80～86のいずれかに記載の組成物。

【0105】

88. 混入物が、以下：マイコプラズマ、外毒素、宿主細胞核酸（例えば、宿主細胞DNA及び／又は宿主細胞RNA）、動物由来のプロセス不純物（例えば、血清アルブミン若しくはトリプシン）、複製可能生物（RCA）、例えば、複製可能ウイルス若しくはは不要なアネロベクター（所望のアネロベクター、例えば、本明細書に記載するようなアネロベクター以外のアネロベクター）、遊離ウイルスキャプシドタンパク質、外来性汚染生物、及び／又は凝集体の1つ又は複数を含む、実施形態86又は87に記載の組成物。

【0106】

89. 組成物が、10重量%未満（例えば、約10%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、若しくは0.1%未満）の混入物を含む、実施形態80～88のいずれかに記載の組成物。

【0107】

90. タンパク質性外層の少なくとも90%が同じ遺伝子エレメント（例えば、アネロベクターの遺伝子エレメント）を含む、実施形態80～89のいずれかに記載の組成物。

【0108】

91. タンパク質性外層の少なくとも90%が同じORF1分子を含む、実施形態80～90のいずれかに記載の組成物。

【0109】

92. 先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター又は組成物、及び薬学的に許容される担体又は賦形剤を含む医薬組成物。

【0110】

93. アネロベクターを作製する方法であって、方法が、以下：

（a）以下：

（i）RNAを含む遺伝子エレメント、及び

（ii）ORF1分子

を含む混合物を用意するステップ；並びに

（b）ORF1分子を含むタンパク質性外層内に遺伝子エレメントを閉じ込めるのに好適な条件下で混合物をインキュベートし、それにより、アネロベクターを作製するステップを含み、任意選択で、混合物が細胞に含まれない、方法。

【0111】

94. （a）を用意する前に、例えば宿主細胞（例えば、昆虫細胞又は哺乳動物細胞）内で、ORF1分子を発現させるステップをさらに含む、実施形態93に記載の方法。

【0112】

95. 発現させるステップが、ORF1分子を生産するのに好適な条件下で、ORF1分子をコード化する核酸分子（例えば、バキュロウイルス発現ベクター）を含む宿主細胞（例えば、昆虫細胞又は哺乳動物細胞）をインキュベートすることを含む、実施形態94に記載の方法。

【0113】

96. （a）を用意する前に、宿主細胞によって発現されるORF1分子を精製するステップをさらに含む、実施形態94又は95に記載の方法。

【0114】

10

20

30

40

50

97. アネロベクターを精製する方法であって、方法が、以下：

(a) 以下：

(i) 遺伝子エレメント、例えば、RNAを含む遺伝子エレメント、及び

(ii) ORF1分子を含むタンパク質性外層であって、遺伝子エレメントを閉じ込めるタンパク質性外層

を含むアネロベクター（例えば、本明細書に記載される通り）を用意するステップ；並びに

(b) アネロベクターを精製するステップを含む、方法。

【0115】

98. 精製するステップ（例えば、ORF1分子の精製又はアネロベクターの精製）が、アフィニティ精製、例えば、ヘパリンアフィニティ精製を含む、実施形態96又は97に記載の方法。

【0116】

99. 精製するステップ（例えば、ORF1分子の精製又はアネロベクターの精製）が、サイズ排除クロマトグラフィー（例えば、トリス緩衝液移動相を使用）を含む、実施形態96～98のいずれかに記載の方法。

【0117】

100. 精製するステップ（例えば、ORF1分子の精製又はアネロベクターの精製）が、アフィニティ精製（例えば、ヘパリンアフィニティ精製）とそれに続くサイズ排除クロマトグラフィーを含む、実施形態96～99のいずれかに記載の方法。

【0118】

101. 精製するステップ（例えば、ORF1分子の精製又はアネロベクターの精製）が、陰イオン交換クロマトグラフィー（例えば、Mustang Q膜クロマトグラフィー）を含む、実施形態96～100のいずれかに記載の方法。

【0119】

102. 精製するステップ（例えば、ORF1分子の精製又はアネロベクターの精製）が、混合モードクロマトグラフィー（例えば、混合モード樹脂、例えば、Cato700樹脂を使用）を含む、実施形態96～101のいずれかに記載の方法。

【0120】

103. 精製するステップ（例えば、ORF1分子の精製又はアネロベクターの精製）が、少なくとも約20、30、40、50、若しくは60コピー、又は20～30、30～40、40～50、若しくは50～60コピーのORF1分子を含む、ウイルス様粒子（VLP）を含む、1つ又は複数の組成物を生成する、実施形態96～102のいずれかに記載の方法。

【0121】

104. ウイルス様粒子の少なくとも75%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%が、60merであるか、又は直径が少なくとも30、31、32、33、34、若しくは35nmの粒子である、タンパク質性外層を含む、実施形態103に記載の方法。

【0122】

105. 組成物が、少なくとも 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 粒子/mLを含むか、又は $10^5 \sim 10^6$ 、 $10^6 \sim 10^7$ 、 $10^7 \sim 10^9$ 、 $10^8 \sim 10^9$ 、 $10^9 \sim 10^{10}$ 、若しくは $10^{10} \sim 10^{11}$ 粒子/mLを含む（例えば、電子顕微鏡により測定した場合）、実施形態103に記載の方法。

【0123】

106. (a)を用意する前に、ORF1分子を含むタンパク質性外層（例えば、ウイルス様粒子（VLP））の分解に好適な条件下で、ORF1分子をインキュベートするステップをさらに含む、実施形態93～105のいずれかに記載の方法。

【0124】

10

20

30

40

50

107. ORF1分子を含むタンパク質性外層の分解に好適な条件が、変性剤の存在下でのインキュベーションを含む、実施形態106に記載の方法。

【0125】

108. 変性剤がカオトロピック剤（例えば、尿素）、又は界面活性剤（例えば、SDS（例えば、0.1% SDS）、Tween（登録商標）、又はTriton（登録商標））を含む、実施形態106～107のいずれかに記載の方法。

【0126】

109. ORF1分子を含むタンパク質性外層の分解に好適な条件が、予め定めた導電率、高塩濃度溶液（例えば、NaClを含む溶液、例えば、少なくとも約1M、例えば、少なくとも約0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、2、3、4、又は5Mの濃度でNaClを含む溶液）、熱（例えば、約85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、又は95℃を超える温度）、又はpH（例えば、酸性pH又は塩基性pH）を含む、実施形態106～108のいずれかに記載の方法。

【0127】

110. ORF1分子を含むタンパク質性外層の分解に好適な条件が、少なくとも0.1M、0.2M、0.3M、0.4M、0.5M、0.6M、0.7M、0.8M、0.9M、1M、1.1M、1.2M、1.3M、1.5M、1.5M、1.6M、1.7M、1.8M、1.9M、又は2Mの濃度の尿素を含む溶液中でのインキュベーションを含む、実施形態106～109のいずれかに記載の方法。

【0128】

111. (b)のインキュベートするステップにより、ORF1分子又はそのコピーを含む粒子の集団の少なくとも50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、96%、又は100%の分解が達成される、実施形態106～110のいずれかに記載の方法。

【0129】

112. タンパク質性外層の分解に好適な条件が、少なくとも約20、30、40、50、若しくは60コピー、又は20～30、30～40、40～50、又は50～60コピーのORF1分子を含む複合体（例えば、タンパク質性外層）を分解するのに十分である、実施形態106～111のいずれかに記載の方法。

【0130】

113. タンパク質性外層の分解に好適な条件により、 10^8 個/mL未満のインタクトなままである粒子数が達成される、実施形態106～112のいずれかに記載の方法。

【0131】

114. (a)を用意する前に、タンパク質性外層の分解に好適な条件からORF1分子を除去する（例えば、ORF1分子を非変性条件に供する）ステップをさらに含む、実施形態106～113のいずれかに記載の方法。

【0132】

115. タンパク質性外層の分解に好適な条件からORF1分子を除去するステップが、変性剤の濃度を低下させること、例えば、変性剤（denaturant）（例えば、尿素）の濃度を0.1M、0.2M、0.3M、0.4M、0.5M、0.6M、0.7M、0.8M、0.9M、1M、1.1M、1.2M、1.3M、1.5M、1.5M、1.6M、1.7M、1.8M、1.9M、又は2M未満に低下させることを含む、実施形態114に記載の方法。

【0133】

116. 除去するステップによって、それぞれ遺伝子エレメント（例えば、mRNA）の少なくとも1つのコピー（例えば、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、400、500、600、700、800、900、又は1000コピー）を閉じ込める、1つ又は複数のアネロベクターの形成が達成される、実施形

10

20

30

40

50

態 1 1 4 又は 1 1 5 に記載の方法。

【 0 1 3 4 】

1 1 7 . 得られる溶液中の遺伝子エレメントの少なくとも 1 つのコピーを閉じ込めるアネロベクターの数が、少なくとも 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、若しくは 10^{11} 個であるか；又は、 $10^5 \sim 10^6$ 、 $10^6 \sim 10^7$ 、 $10^7 \sim 10^9$ 、 $10^8 \sim 10^9$ 、 $10^9 \sim 10^{10}$ 、若しくは $10^{10} \sim 10^{11}$ 個である（例えば、電子顕微鏡により測定した場合）、実施形態 1 1 6 に記載の方法。

【 0 1 3 5 】

1 1 8 . 得られる溶液中の遺伝子エレメントの少なくとも 1 つのコピーを閉じ込めるアネロベクターの数が、少なくとも 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、若しくは 10^{11} アネロベクター／mL であるか；又は、 $10^5 \sim 10^6$ 、 $10^6 \sim 10^7$ 、 $10^7 \sim 10^9$ 、 $10^8 \sim 10^9$ 、 $10^9 \sim 10^{10}$ 、若しくは $10^{10} \sim 10^{11}$ アネロベクター／mL である（例えば、電子顕微鏡により測定した場合）、実施形態 1 1 6 に記載の方法。

【 0 1 3 6 】

1 1 9 . 除去により、少なくとも 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、又は 10^{11} アネロベクター／mL；又は $10^5 \sim 10^6$ 、 $10^6 \sim 10^7$ 、 $10^7 \sim 10^9$ 、 $10^8 \sim 10^9$ 、 $10^9 \sim 10^{10}$ 、若しくは $10^{10} \sim 10^{11}$ アネロベクター／mL（例えば、電子顕微鏡により測定した場合）を含む溶液が達成され、アネロベクターが、それぞれ遺伝子エレメント（例えば、mRNA）の少なくとも 1 つのコピー（例えば、少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、400、500、600、700、800、900、又は 1000 コピー）を閉じ込める、実施形態 1 1 4 ～ 1 1 8 のいずれかに記載の方法。

【 0 1 3 7 】

1 2 0 . アネロベクターの少なくとも 75 %、80 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は 100 % が、60mer 若しくは粒子であるか、又は直径が少なくとも 30、31、32、33、34、若しくは 35 nm の粒子である、タンパク質性外層を含む、実施形態 1 1 4 ～ 1 1 9 のいずれかに記載の方法。

【 0 1 3 8 】

1 2 1 . アネロベクターの遺伝子エレメントが、エンドヌクレアーゼ（例えば、RNAse）に対して抵抗性である、実施形態 9 3 ～ 1 2 0 のいずれかに記載の方法。

【 0 1 3 9 】

1 2 2 . (a) が、(i) 及び (ii) を混合することを含む、実施形態 9 3 ～ 1 2 1 のいずれかに記載の方法。

【 0 1 4 0 】

1 2 3 . 無細胞系で実施される、実施形態 9 3 ～ 1 2 2 のいずれかに記載の方法。

【 0 1 4 1 】

1 2 4 . アネロベクター組成物を製造する方法において、以下：

(a) 先行実施形態のいずれかに記載の複数のアネロベクター又は組成物を用意するステップ；

(b) 任意選択で、以下：本明細書に記載される混入物、光学密度測定（例えば、OD 260）、粒子数（例えば、HPLC により）、感染力（例えば、粒子：感染単位比、例えば、蛍光及び／又は ELISA により決定される）のうち 1 つ若しくは複数について複数のアネロソームを評価するステップ；並びに

(c) 例えば、(b) のパラメータの 1 つ又は複数が、指定閾値を満たす場合、例えば、被験者への投与に好適な医薬組成物として、複数のアネロベクターを製剤化するステップを含む、方法。

【 0 1 4 2 】

1 2 5 . それを必要とする被験者の疾患又は障害を治療する方法であって、方法が、先行

10

20

30

40

50

実施形態のいずれかに記載のアネロベクター又は組成物を対象に投与し、それにより、被験者の疾患又は障害（例えば、本明細書に記載の通り）を治療するステップを含む、方法。

【0143】

126. 被験者の生物学的機能（例えば、本明細書に記載の通り）を調節する、例えば、増強若しくは阻害する方法であって、本方法が、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター又は組成物を被験者に投与するステップを含む方法。

【0144】

127. 遺伝子エレメントを細胞に送達する方法であって、方法が、先行実施形態のいずれかのアネロベクター又は組成物を、細胞、例えば真核細胞、例えば哺乳動物細胞、例えばヒト細胞と接触させるステップを含む、方法。

10

【0145】

128. 被験者の疾患又は障害（例えば、本明細書に記載の通り）を治療することを目的とする、先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター又は組成物の使用。

【0146】

129. 被験者の疾患又は障害（例えば、本明細書に記載の通り）の治療のための方法に使用するための先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター又は組成物。

【0147】

130. 被験者の疾患又は障害（例えば、本明細書に記載の通り）の治療のための薬剤の製造に使用するための先行実施形態のいずれかに記載のアネロベクター又は組成物。

20

【0148】

本発明の他の特徴、目的、及び利点は、説明及び図面、並びに特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【0149】

別に定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術及び科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者により一般に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書に挙げる全ての刊行物、特許出願、特許、及びその他の参考文献は、その全体を参照により本明細書に組み込むものとする。加えて、材料、方法、及び例は、例示的に過ぎず、限定を意図するものではない。

【0150】

本発明の実施形態についての以下の詳細な説明は、添付の図面と一緒に読めば、より明瞭に理解されるであろう。本発明を説明する目的のために、図面には、本明細書で例示される実施形態を示す。しかしながら、本発明が、図面に示す実施形態の正確な配置及び有用性に限定されないことは理解すべきである。

30

【図面の簡単な説明】

【0151】

【図1】アネロウイルス（Ane l l o v i r u s）株からの組換えキャプシドタンパク質がインビトロでウイルス様粒子（VLP）を形成することを示す、一連の電子顕微鏡写真である。ネガティブ染色電子顕微鏡で観察されるように、異なる細胞株で生産されたキャプシドタンパク質はインビトロでVLPを形成する。（A）およそ35 nmの観測直径を有する昆虫細胞から精製されたRing 2 ORF1 VLP。（B）およそ35 nmの観測直径を有する昆虫細胞から精製されたRing 10 ORF1 VLP。（C）およそ20 nmの観測直径を有する哺乳動物細胞から精製されたCAV VP1 VLP。

40

【図2】嘴羽病ウイルス（Beak and Feather Disease Virus）（BFDV）の構造において観察される8つのベータ鎖ゼリーロールドメイン（又はゼリーロールフォールド）を示す図である。慣例により、ベータ鎖はB～Iと称される。鎖は、B-I-D-G及びC-H-E-Fの配向を有する4つの逆平行ベータシートを形成する。B-I-D-Gシートは、ウイルスキャプシドの内部を形成する。

【図3】嘴羽病ウイルス（Beak and Feather Disease Virus）（BFDV）／E型肝炎キャプシドタンパク質（HepE）のゼリーロールドメイ

50

ンと比較した、アネロウイルス（A n e l l o v i r u s）ORF1タンパク質のゼリーロール配列を示すアミノ酸配列アラインメントである。

【図4】eGFPをコード化するmRNA分子を閉じ込めるアネロウイルス（A n e l l o v i r u s）ORF1タンパク質ベースのウイルス様粒子（VLP）を生産する例示的な方法を示す一連の図である。（A）ORF1タンパク質は、細胞内で生産され、本明細書に記載される通り単離された。（B）次に、ORF1タンパク質から形成されたVLPを2M尿素溶液中で分解した。（C）mRNAの非存在下で尿素を除去すると、VLPはほとんど再形成されなかった（電子顕微鏡によって検出された力価は 10^8 粒子/mL未満）。（D、E）eGFPをコード化するmRNAの存在下で尿素を除去すると、相当量のVLP（ $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10}$ 粒子/mLの力価）が電子顕微鏡（EM）によって検出された。

10

【発明を実施するための形態】

【0152】

定義

具体的な実施形態に関して、いくつかの図を参照にしながら本発明を説明するが、本発明は、特許請求の範囲を除いて、それらに限定されない。以下に記載する用語は、別に指示されない限り、概してそれらの一般的意味で理解すべきである。

【0153】

「含む」という用語が本明細書及び特許請求の範囲で使用される場合、これは、他の要素を排除しない。本発明の目的のために、「から構成される」という用語は、「を含む」という用語の好ましい実施形態であると考えられる。以後、或る群が、少なくとも特定の数の実施形態を含むと定義される場合、これは、好ましくは、これらの実施形態のみから構成される1群を開示するとも理解すべきである。

20

【0154】

単数名詞、例えば、「1つの（a）」、「1つの（an）」若しくは「その（the）」を示す際に、不定冠詞又は定冠詞が使用される場合、これは、別のことが特に記載されない限り、複数の当該名詞を包含する。

【0155】

「治療、調節などを目的とする化合物、組成物、生成物など」という表現は、それ自体で、治療、調節など、明示される目的に好適な化合物、組成物、生成物などを指すと理解すべきである。「治療、調節などを目的とする化合物、組成物、生成物など」の表現は、さらに、実施形態として、こうした化合物、組成物、生成物などが、治療、調節などに使用されることも開示される。

30

【0156】

「・・・に使用するための化合物、組成物、生成物など」、「・・・のための薬剤、医薬組成物、獣医学組成物、診断用組成物などの製造における化合物、組成物、生成物などの使用」、又は「・・・薬剤としての使用のための、化合物、組成物、生成物など」という表現は、こうした化合物、組成物、生成物などが、ヒト又は動物身体に対して実施され得る治療方法で使用されることが意図されることを示す。それらは、治療方法などに関する実施形態及び請求項の同等の開示物として考えられる。実施形態又は請求項は、従って、「疾患への罹患が疑われるヒト又は動物の治療に使用するための化合物」を指す場合、これはまた、「疾患への罹患が疑われるヒト又は動物の治療を目的とする薬剤の製造における化合物の使用」又は「疾患への罹患が疑われるヒト又は動物に化合物を投与することによる治療方法」の開示であるともみなされる。「治療、調節などを目的とする化合物、組成物、生成物など」という表現は、それ自体で、治療、調節などの明示される目的に好適な化合物、組成物、生成物などを指すと理解すべきである。

40

【0157】

以後、用語、値、数などの例が括弧内に付与される場合、これは、括弧内に記載される例が、実施形態を構成し得ることを示すものとして理解すべきである。例えば、「複数の実施形態では、核酸分子は、表1のヌクレオチド配列をコードするアネロウイルス（A n

50

e l l o v i r u s) O R F 1 に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列（例えば、表 1 の核酸配列のヌクレオチド 571 ~ 2613）を含む」と記載されている場合、一部の実施形態は、表 1 の核酸配列のヌクレオチド 571 ~ 2613 に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む核酸分子に関する。

【0158】

本明細書で使用される場合、「増幅」という用語は、核酸分子又はその一部（例えば、遺伝子エレメント又は遺伝子エレメント領域）の 1 つ又は複数のさらなるコピーを生産するための、核酸分子又はその一部の複製を指す。一部の実施形態では、増幅により、核酸配列の部分的な複製が達成される。一部の実施形態では、増幅は、ローリングサークル複製を介して起こる。

10

【0159】

本明細書で使用される場合、用語「アネロベクター」は、タンパク質性外層内に閉じ込められた遺伝子エレメント、例えば、RNA、例えば、環状 RNA を含むビヒクルを指す。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、タンパク質性外層によって RNase による消化から実質的に保護される。「合成アネロベクター」は、本明細書で使用される場合、概して、天然に存在しない、例えば、野生型ウイルス（例えば、本明細書に記載の野生型アネロウイルス（Ane l l o v i r u s））と異なる配列を有するアネロベクターを指す。一部の実施形態では、合成アネロベクターは、操作されているか、又は組換え体であり、例えば、野生型ウイルスゲノム（例えば、本明細書に記載の野生型アネロウイルス（Ane l l o v i r u s）ゲノム）に対して相違又は修飾を含む遺伝子エレメントを含む。一部の実施形態では、タンパク質性外層内に閉じ込められたとは、タンパク質性外層による 100 % の被覆、並びに 100 % 未満の被覆、例えば、95 %、90 %、85 %、80 %、70 %、60 %、50 % 以下の被覆を包含する。例えば、遺伝子エレメントが、例えば、宿主細胞内への進入前に、タンパク質性外層内に保持されているか、又は RNase による消化から保護されている限り、間隙又は不連続（例えば、タンパク質性外層を水、イオン、ペプチド、又は小分子に対して透過性にするもの）が、タンパク質性外層中に存在してもよい。一部の実施形態では、アネロベクターは精製され、例えば、これは、元の供給源から分離される、且つ／又は他の構成体を実質的に含まない（> 50 %、> 60 %、> 70 %、> 80 %、> 90 %）。一部の実施形態では、アネロベクターは、（例えば、感染を介して）標的細胞に遺伝子エレメントを導入することができる。一部の実施形態では、アネロベクターは、アネロウイルス（Ane l l o v i r u s）ORF1 分子などの特定のアネロウイルス（Ane l l o v i r u s）エレメントを含有する感染性合成ウイルス粒子である。

20

30

【0160】

本明細書で使用される場合、用語「抗体分子」は、少なくとも 1 つの免疫グロブリン可変ドメイン配列を含むタンパク質、例えば、免疫グロブリン鎖若しくはその断片を指す。用語「抗体分子」は、完全長抗体及び抗体断片（例えば、s c F v）を包含する。一部の実施形態では、抗体分子は、多重特異性抗体分子であり、例えば、抗体分子は、複数の免疫グロブリン可変ドメイン配列を含み、この場合、上記複数の配列の第 1 免疫グロブリン可変ドメイン配列は、第 1 エピトープに対して結合特異性を有し、上記複数の配列の第 2 免疫グロブリン可変ドメイン配列は、第 2 エピトープに対して結合特異性を有する。一部の実施形態では、多重特異性抗体分子は、二重特異性抗体分子である。二重特異性抗体分子は、一般に、第 1 エピトープに対して結合特異性を有する第 1 免疫グロブリン可変ドメイン配列、及び第 2 エピトープに対して結合特異性を有する第 2 免疫グロブリン可変ドメイン配列を特徴とする。

40

【0161】

本明細書で使用される場合、「バックボーン」又は「バックボーン領域」という用語は

50

、宿主細胞における核酸分子の複製及び／又は維持に関与する（例えば、必要及び／又は十分な）1つ又は複数のエレメントを含む、核酸分子内（例えば、バクミド又はドナーベクター内、例えば、本明細書に記載の通り）の領域を指す。一部の実施形態では、「バキュロウイルス（*Baculovirus*）バックボーン領域」などのバックボーン領域は、例えば、昆虫細胞（例えば、*Sf9*細胞）における核酸構築物の複製に好適な、1つ又は複数のバキュロウイルス（*Baculovirus*）エレメント（例えば、バキュロウイルス（*Baculovirus*）ゲノム又はその機能性断片）を含む。一部の実施形態では、バックボーンは、選択マーカーをさらに含む。一部の実施形態では、核酸分子は、遺伝子エレメント領域及びバックボーン領域（例えば、バキュロウイルス（*Baculovirus*）バックボーン領域及び／又は細菌細胞における複製に好適なバックボーン領域）を含む。

10

【0162】

本明細書で使用される場合、「バクミド」という用語は、昆虫細胞での複製に好適であり、さらに細菌細胞での複製に好適であるように、十分なバキュロウイルス（*Baculovirus*）バックボーンエレメントを含む核酸分子を指す。一部の実施形態では、核酸分子は、細菌細胞（例えば、大腸菌（*E. coli*）細胞、例えば、*DH 10 Bac*細胞）における複製に好適である。

【0163】

本明細書で使用される場合、「環状」核酸は、遊離5'末端又は3'末端を有しない構造を形成する核酸を指す。一部の実施形態では、環状核酸は、共有結合又は非共有結合によって閉じられている。例えば、環状核酸は、例えばリン酸-糖結合又は合成リンカー部分を用いて、線状核酸の末端を共有結合することによって作製され得る。他の実施形態では、環状核酸は、近接しており且つ遊離していない（エキソヌクレアーゼに実質的にアクセスできない）2つの末端を含む。例えば、環状核酸は、線状核酸の末端を直接又は核酸スプリントを介してハイブリダイズさせることによって、作製することができる。

20

【0164】

本明細書で使用される場合、「DNA領域」は、複数のDNAヌクレオチドを含むポリヌクレオチド鎖の一部を指す。例えば、一部の実施形態では、DNA領域は、RNA鎖に組み込まれた複数のDNAヌクレオチドである。例えば、DNA領域は、ポリヌクレオチド鎖内に約5～10、10～20、20～30、30～40、40～50、50～60、60～70、70～80、80～90、又は90～100のDNAヌクレオチドを含む。

30

【0165】

本明細書で使用される場合、「コード化する」核酸は、アミノ酸配列又はポリヌクレオチド、例えばmRNA又は機能性ポリヌクレオチド（例えば、ノンコーディングRNA、例えば、siRNA若しくはmiRNA）をコード化する核酸配列を指す。

【0166】

本明細書で使用される場合、「外性」物質（例えば、エフェクター、核酸（例えば、RNA）、遺伝子、ペイロード、タンパク質）は、対応する野生型ウイルス、例えば、本明細書に記載のアネロウイルス（*Anellovirus*）に含まれないか、又はそれによってコード化されない物質を指す。一部の実施形態では、外性物質は、天然に存在するタンパク質又は核酸に対して改変された（例えば、挿入、欠失、若しくは置換により）配列を有するタンパク質又は核酸のように、天然に存在しない。一部の実施形態では、外生物質は、宿主細胞中に天然に存在しない。一部の実施形態では、外性物質は、宿主細胞中に天然に存在するが、ウイルスに対しては外性である。一部の実施形態では、外性物質は、宿主細胞中に天然に存在するが、所望のレベルで、又は所望の時点に存在しない。

40

【0167】

「異種」物質又はエレメント（例えば、エフェクター、核酸配列、アミノ酸配列）は、別の物質又はエレメント（例えば、エフェクター、核酸配列、アミノ酸配列）に関して本明細書に使用される場合、例えば、野生型ウイルス、例えば、アネロウイルス（*Anellovirus*）に天然では一緒に存在しない物質又はエレメントを指す。一部の実施形

50

態では、異種核酸配列は、天然に存在する核酸配列（例えば、アネロウイルス（*Anellovirus*）に天然に存在する配列）と同じ核酸中に存在し得る。一部の実施形態では、異種物質又はエレメントは、アネロベクターの他の（残りの）エレメントの基材であるアネロウイルス（*Anellovirus*）に対して外性である。

【0168】

本明細書で使用される場合、「遺伝子エレメント」という用語は、例えば本明細書に記載されるようなアネロベクターを形成するために、タンパク質性外層内に閉じ込められている（例えば、RNAse消化から保護されている）か、又はそれが可能である、核酸分子を指す。遺伝子エレメントをネイキッドRNAとして生産し、任意選択で、さらにタンパク質性外層へとアセンブルすることができることは理解される。また、アネロベクターはその遺伝子エレメントを細胞内に挿入することができ、それにより、遺伝子エレメントは細胞内に存在するため、タンパク質性外層が必ずしも細胞に進入するわけではないことも理解される。

10

【0169】

本明細書で使用される場合、「遺伝子エレメント構築物」は、遺伝子エレメント配列又はその断片を含む核酸構築物（例えば、プラスミド、バクミド、ドナーベクター、コスミド、又はミニサークル）を指す。一部の実施形態では、本明細書に記載されるようなバクミド又はドナーベクターは、遺伝子エレメント配列又はその断片を含む、遺伝子エレメント構築物である。

【0170】

本明細書で使用される場合、「遺伝子エレメント領域」という用語は、遺伝子エレメントの配列を含む構築物の領域を指す。一部の実施形態では、遺伝子エレメント領域は、タンパク質性外層によって閉じ込められる野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）配列又はその断片に対して十分な同一性を有する配列を含み、それにより、アネロベクター（例えば、野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）配列又はその断片と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する配列）を形成する。複数の実施形態では、遺伝子エレメント領域は、例えば本明細書に記載されるような、タンパク質結合配列（例えば、本明細書に記載されるような5'UTR、3'UTR、及び／又はGCリッチ領域、又はそれと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する配列）を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメント領域を含む構築物はタンパク質性外層に閉じ込められていないが、構築物から生産される遺伝子エレメントはタンパク質性外層に閉じ込めることができる。一部の実施形態では、遺伝子エレメント領域を含む構築物は、ベクターバックボーン（例えば、バクミドバックボーン又はドナーベクターバックボーン）をさらに含む。一部の実施形態では、構築物（例えば、バクミド）は、1つ又は複数のバキュロウイルス（*Baculovirus*）エレメント（例えば、バキュロウイルス（*Baculovirus*）ゲノム、例えば、遺伝子エレメント領域を含むもの）を含む。

20

30

【0171】

本明細書で使用される場合、「変異体」という用語は、ゲノム（例えば、アネロウイルス（*Anellovirus*）ゲノム）又はその断片に関して使用される場合、対応する野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）配列と比較して少なくとも1つの変化を有する配列を指す。一部の実施形態では、変異体ゲノム又はその断片は、対応する野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）配列と比較して、少なくとも1つの一塩基多型、付加、欠失、又はフレームシフトを含む。一部の実施形態では、変異体ゲノム又はその断片は、対応する野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）配列と比較して、少なくとも1つのアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF（例えば、ORF1、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF1／1、及び／又はORF1／2の1つ又は複数）の欠失を含む。一部の実施形態では、変異体ゲノム又はその断片は、対応する野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）配列と比較して、全てのアネロウ

40

50

イルス (Anellovirus) ORF (例えば、ORF 1、ORF 2、ORF 2 / 2、ORF 2 / 3、ORF 1 / 1、及び ORF 1 / 2 の全て) の欠失を含む。一部の実施形態では、変異体ゲノム又はその断片は、対応する野生型アネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、少なくとも 1 つのアネロウイルス (Anellovirus) ノンコーディング領域 (例えば、5' UTR、3' UTR、及び / 又は GC リッチ領域の 1 つ又は複数) の欠失を含む。一部の実施形態では、変異体ゲノム又はその断片は、外性エフェクターを含むか、又はそれをコード化する。

【0172】

本明細書で使用される場合、用語「ORF 分子」は、アネロウイルス (Anellovirus) ORF タンパク質 (例えば、アネロウイルス (Anellovirus) ORF 1、ORF 2、ORF 2 / 2、ORF 2 / 3、ORF 1 / 1、及び / 又は ORF 1 / 2 タンパク質) の活性及び / 又は構造特徴を有するポリペプチド、又はその機能性断片を指す。一般的に使用される場合 (すなわち、「ORF 分子」)、ポリペプチドは、本明細書に記載のアネロウイルス (Anellovirus) ORF のいずれか (例えば、アネロウイルス (Anellovirus) ORF 1、ORF 2、ORF 2 / 2、ORF 2 / 3、ORF 1 / 1、及び / 又は ORF 1 / 2 のいずれか)、又はその機能性断片の活性及び / 又は構造的特徴を含み得る。特定のオープンリーディングフレームを示す修飾語とともに使用される場合 (例えば、「ORF 1 分子」、「ORF 2 分子」、「ORF 2 / 2 分子」、「ORF 2 / 3 分子」、「ORF 1 / 1 分子」、又は「ORF 1 / 2 分子」)、これは、一般に、ポリペプチドが、対応するアネロウイルス (Anellovirus) ORF タンパク質、又はその機能性断片 (例えば、「ORF 1 分子」について以下に定義される通り) の活性及び / 又は構造的特徴を含むことを意味する。例えば、「ORF 2 分子」は、アネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 タンパク質又はその機能性断片の活性及び / 又は構造的特徴を含む。

【0173】

本明細書で使用される場合、用語「ORF 1 分子」は、アネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 タンパク質 (例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 タンパク質) の活性及び / 又は構造特徴を有するポリペプチド、又はその機能性断片を指す。ORF 1 分子は、一部の事例において、以下: 少なくとも 60% の塩基性残基 (例えば、少なくとも 60% のアルギニン残基) を含む第 1 領域、少なくとも約 6 の β 鎖 (例えば、少なくとも 4、5、6、7、8、9、10、11、若しくは 12 の β 鎖) を含む第 2 領域、アネロウイルス (Anellovirus) N22 ドメイン (例えば、本明細書に記載の通り、例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 タンパク質由来の N22 ドメイン) の構造又は活性を含む第 3 領域、及び / 又はアネロウイルス (Anellovirus) C 末端ドメイン (CTD) (例えば、本明細書に記載の通り、例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 タンパク質由来の CTD) の構造又は活性を含む第 4 領域のうち 1 つ若しくは複数 (例えば、1、2、3、若しくは 4 つ) を含む。一部の事例では、ORF 1 分子は、N 末端から C 末端の順に、第 1、第 2、第 3、及び第 4 領域を含む。一部の事例では、アネロウイルスは、N 末端から C 末端の順に、第 1、第 2、第 3、及び第 4 領域を含む ORF 1 分子を含む。ORF 1 分子は、一部の事例において、アネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 核酸によりコード化されるポリペプチドを含み得る。ORF 1 分子は、一部の事例において、異種配列、例えば、超可変領域 (HVR)、例えば、本明細書に記載される、例えば、アネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 タンパク質由来の HVR をさらに含み得る。本明細書で使用される「アネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 タンパク質」は、アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム (例えば、本明細書に記載される、例えば、野生型アネロウイルス) によりコード化されるアミノ酸配列を有する ORF 1 タンパク質を指す。

【0174】

本明細書で使用される場合、「ORF 2 分子」は、アネロウイルス (Anellovi

rus) ORF2タンパク質 (例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF2タンパク質) の活性及び／又は構造特徴を有するポリペプチド、又はその機能性断片を指す。本明細書で使用される「アネロウイルス (Anellovirus) ORF2タンパク質」は、アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム (例えば、本明細書に記載される、例えば、野生型アネロウイルス) によりコード化されるアミノ酸配列を有するORF2タンパク質を指す。

【0175】

本明細書で使用される場合、用語「タンパク質性外層」は、主として (例えば、>50%、>60%、>70%、>80%、>90%) タンパク質である外部構成体を指す。

【0176】

本明細書で使用される場合、用語「調節核酸」は、発現産物をコード化するDNA配列の発現、例えば、転写及び／又は翻訳を修飾する核酸配列を指す。一部の実施形態では、発現産物は、RNA又はタンパク質を含む。

【0177】

本明細書で使用される場合、用語「調節配列」は、標的遺伝子産物の転写を修飾する核酸配列を指す。一部の実施形態では、調節配列は、プロモータ又はエンハンサーである。

【0178】

本明細書で使用される場合、「実質的に非病原性の」生物、粒子、又は構成体は、例えば、宿主生物、例えば、哺乳動物、例えば、ヒトにとって認容不能な疾患又は病的状態を誘発若しくは誘導しない生物、粒子 (例えば、本明細書に記載の例えばウイルス若しくはアネロベクター)、又はそれらの構成体を指す。一部の実施形態では、被験者に対するアネロベクターの投与によって、標準治療の一部として許容可能な若干の反応又は副作用が起こり得る。

【0179】

本明細書で使用される場合、「非病原性」は、例えば、宿主生物、例えば、哺乳動物、例えば、ヒトにとって望ましくない状態 (例えば、疾患又は病的状態) を誘発若しくは誘導しない生物又はその構成体を指す。

【0180】

本明細書で使用される場合、「実質的に非統合性の」遺伝子エレメントは、宿主細胞 (例えば、真核細胞) 又は生物 (例えば、哺乳動物、例えば、ヒト) に進入する遺伝子エレメントの約0.01%、0.05%、0.1%、0.5%、若しくは1%未満が、ゲノムに組み込まれる遺伝子エレメント、例えば、ウイルス又はアネロベクター (例えば、本明細書に記載されるもの) 内の遺伝子エレメントを指す。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、例えば、宿主細胞のゲノムに検出可能な程度で組み込まれない。一部の実施形態では、ゲノム内への遺伝子エレメントの組み込みは、本明細書に記載の技術、例えば、核酸シーケンシング、PCR検出及び／又は核酸ハイブリダイゼーションを用いて検出することができる。一部の実施形態では、組み込み頻度は、例えば、Wang et al. (2004, Gene Therapy 11: 711-721、その全体が参照により本明細書に組み込まれる) に記載されるように、遊離ベクターから分離されたゲノムDNAの定量的ゲル精製アッセイによって決定される。

【0181】

本明細書で使用される場合、「実質的に非免疫原性の」生物、粒子、又は構成体は、宿主組織又は生物 (例えば、哺乳動物、例えば、ヒト) に不要の若しくは非標的免疫応答を誘発若しくは誘導しない生物、粒子 (例えば、本明細書に記載の例えばウイルス若しくはアネロベクター)、又はそれらの構成体を指す。一部の実施形態では、実質的に非免疫原性の生物、粒子、又は構成体は、臨床的に有意な免疫応答を生成しない。一部の実施形態では、実質的に非免疫原性のアネロベクターは、アネロベクター又はアネロベクター遺伝子エレメントの核酸配列によりコード化されるアミノ酸配列を含むタンパク質に対して臨床的に有意な免疫応答を生成しない。一部の実施形態では、免疫応答 (例えば、不要の若しくは非標的免疫応答) は、例えば、Tsuda et al. (1999; J. Vir

10

20

30

40

50

ol. Methods 77:199-206; 参照により本明細書に組み込まれる)に記載される抗TTV抗体検出方法及び／又はKakkola et al. (2008; Virology 382:182-189; 参照により本明細書に組み込まれる)に記載される抗TTV IgGレベルの測定方法に従って、被験者の抗体の存在又はレベル(例えば、抗アネロベクター抗体の存在又はレベル、例えば、本明細書に記載のアネロベクターに対する抗体(例えば、中和抗体)の存在又はレベル)を検定することにより、決定される。アネロウイルス(Aneellovirus)又はそれに基づくアネロベクターに対する抗体(例えば、中和抗体)もまた、抗ウイルス抗体を検出するための当技術分野の方法、例えば、Calcedo et al. (2013; Front. Immunol. 4(341):1-7; 参照により本明細書に組み込まれる)に記載される抗AAV抗体を検出する方法によっても検出することができる。

10

【0182】

本明細書で使用される「部分配列」は、より大きな核酸配列又はアミノ酸配列にそれれ含まれている核酸配列又はアミノ酸配列を指す。一部の事例において、部分配列は、より大きな配列のドメイン又は機能性断片を含み得る。一部の事例において、部分配列は、より大きな配列から単離されたとき、より大きな配列の残りと一緒に存在する場合に部分配列によって形成される二次及び／又は三次構造と類似する、二次及び／又は三次構造を形成することができるより大きな配列の断片を含み得る。一部の事例では、部分配列は、別の配列(例えば、より大きな配列の残りに対して外性の配列又は異種の配列を含む部分配列、例えば、異なるアネロウイルス(Aneellovirus)由来の対応する部分配列)で置換することができる。

20

【0183】

本発明は、概して、アネロベクター、例えば、合成アネロベクター、及びその使用に関する。本開示は、アネロベクター、アネロベクターを含む組成物、及びアネロベクターを作製する方法又は使用する方法を提供する。アネロベクターは、一般に、例えば、治療薬を真核細胞に送達するための送達ビヒクルとして有用である。一般に、本明細書に記載のアネロベクターは、タンパク質性外層に閉じ込められた、RNA配列(例えば、エフェクター、例えば、外性エフェクター若しくは内在性エフェクターをコード化するRNA配列)を含む遺伝子エレメントを含有し得る。アネロベクターは、アネロウイルス(Aneellovirus)配列(例えば、本明細書に記載の通り)と比較して、配列(例えば、本明細書に記載される領域又はドメイン)の1つ又は複数の欠失を含んでもよい。アネロベクターは、例えば、細胞を含む被験者の疾患又は障害を治療する目的で、遺伝子エレメント、又はそこでコード化されるエフェクター(例えば、本明細書に記載される、例えばポリペプチド若しくは核酸エフェクター)を真核細胞に送達するための実質的に非免疫原性のビヒクルとして使用することができる。

30

【0184】

目次

I. インビトロアセンブリによるアネロベクターの作製のための組成物及び方法

A. アネロベクターの構成体及びアセンブリ

i. アネロベクターのアセンブリのためのORF 1分子

40

ii. アネロベクターのアセンブリのためのORF 2分子

B. 遺伝子エレメント

i. RNAを含む遺伝子エレメント

a. RNAのみの遺伝子エレメント

b. ハイブリダイズしたRNA-ssDNA遺伝子エレメント

c. RNA/DNA複合体

C. 遺伝子エレメント構築物

D. RNAベースの遺伝子エレメントの生産

E. タンパク質成分の生産

i. バキュロウイルス(Baculovirus)発現系

50

i i . 昆虫細胞系	
i i i . 哺乳類細胞系	
F . エフェクター	
G . インビトロアセンブリ法	
H . 濃縮及び精製	
I I . アネロベクター	
A . アネロウイルス (A n e l l o v i r u s)	
B . O R F 1 分子	
C . O R F 2 分子	
D . 遺伝子エレメント	10
E . タンパク質結合配列	
F . 5 ' U T R 領域	
G . G C リッチ領域	
H . エフェクター	
I . 調節配列	
J . その他の配列	
K . タンパク質性外層	
I I I . 使用方法	
I V . 投与／送達	
【 0 1 8 5 】	20
I . インビトロアセンブリによるアネロベクターの作製のための組成物及び方法	
本開示は、一部の態様において、アネロベクター、例えば、本明細書に記載されるようなRNAを含む遺伝子エレメントを有するアネロベクターを生産するために使用できる組成物及び方法を提供する。一部の実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、遺伝子エレメント又は遺伝子エレメント構築物を生産することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、インビトロアセンブリによって遺伝子エレメント又は遺伝子エレメント構築物を生産することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、1つ又は複数のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 分子 (例えば、O R F 1、O R F 2、O R F 2 / 2、O R F 2 / 3、O R F 1 / 1 若しくはO R F 1 / 2 分子、又はその機能性断片若しくはスプライス変異体) を生産することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載の組成物及び方法を使用して、例えば宿主細胞 (例えば、昆虫細胞、例えば、S f 9 細胞) 内で、タンパク質性外層又はその成分 (例えば、O R F 1 分子) を生産することができる。	30
【 0 1 8 6 】	
アネロベクターの構成体及びアセンブリ	
本明細書の組成物及び方法は、アネロベクターを生産するために使用することができる。本明細書に記載されるように、アネロベクターは、一般に、タンパク質性外層 (例えば、アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 核酸 (例えば、本明細書に記載される通り) によってコード化されるポリペプチドを含む) 内に閉じ込められた遺伝子エレメント (例えば、RNA 分子) を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F (例えば、アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1、O R F 2、O R F 2 / 2、O R F 2 / 3、O R F 1 / 1、又はO R F 1 / 2 の1つ又は複数) をコード化する1つ又は複数の配列を含む。本明細書で 사용되는場合、アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 又はO R F 分子 (例えば、アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1、O R F 2、O R F 2 / 2、O R F 2 / 3、O R F 1 / 1、又はO R F 1 / 2) は、例えば、第P C T / U S 2 0 1 8 / 0 3 7 3 7 9 号明細書又は第P C T / U S 1 9 / 6 5 9 9 5 号明細書 (これらはそれぞれ全体が参照により本明細書に組み込まれる) に記載されるように、対応するアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 配列と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する	40 50

アミノ酸配列を含むポリペプチドを含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1、又はそのスプライス変異体若しくは機能性断片 (例えば、ゼリーロール領域、例えば、本明細書に記載の通り) をコード化する配列を含む。一部の実施形態では、タンパク質性外層は、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 核酸 (例えば、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 分子又はそのスプライス変異体若しくは機能性断片) によってコード化されるポリペプチドを含む。

【0187】

一部の実施形態では、アネロベクターは、タンパク質性外層 (例えば、本明細書に記載の通り) 内に遺伝子エレメント (例えば、本明細書に記載の通り) を閉じ込めることによって構築される。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、宿主細胞 (例えば、昆虫細胞、例えば、Sf9 細胞) のタンパク質性外層内に閉じ込められる。一部の実施形態では、宿主細胞は、タンパク質性外層に含まれる1つ又は複数のポリペプチド (例えば、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 核酸、例えば、ORF1 分子によってコード化される、ポリペプチド) を発現する。例えば、一部の実施形態では、宿主細胞は、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 分子、例えば、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 ポリペプチドのスプライス変異体又は機能性断片 (例えば、野生型アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 タンパク質、又は野生型アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 核酸によってコード化されるポリペプチド、例えば本明細書に記載される通り) をコード化する核酸配列を含む。複数の実施形態では、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 分子をコード化する核酸配列は、宿主細胞に含まれる核酸構築物 (例えば、プラスミド、ウイルスベクター、ウイルス、ミニサークル、バクミド、又は人工染色体) に含まれる。複数の実施形態では、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 分子をコード化する核酸配列は、宿主細胞のゲノムに組み込まれる。

【0188】

一部の実施形態では、宿主細胞は、遺伝子エレメント及び／又は遺伝子エレメントの配列を含む核酸構築物を含む。一部の実施形態では、核酸構築物は、プラスミド、ウイルス核酸、ミニサークル、バクミド、又は人工染色体から選択される。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、核酸構築物 (例えば、バクミド) から切除され、任意選択で、(例えば、変性によって) 二本鎖形態から一本鎖形態に変換される。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、核酸構築物 (例えば、バクミド) 中の鋳型配列に基づいてポリメラーゼによって生成される。一部の実施形態では、ポリメラーゼは、遺伝子エレメント配列の一本鎖コピーを生産し、これは、任意選択で環状化されて、本明細書に記載されるような遺伝子エレメントを形成することができる。

【0189】

一部の実施形態では、宿主細胞は、遺伝子エレメント構築物 (例えば、バクミド、プラスミド、又はミニサークル) と、アネロウイルス (Anellovirus) ORF 分子 (例えば、ORF1、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF1/1、及び／又は ORF1/2 ORF 分子) 又はその機能性断片をコード化する1つ若しくは複数の配列を含むバクミドとを含む。一部の実施形態では、タンパク質性外層タンパク質は、バクミドから発現される。複数の実施形態では、バクミドから発現されたタンパク質性外層タンパク質は、遺伝子エレメントを閉じ込め、それにより、アネロベクターを形成する。一部の実施形態では、バクミドは、昆虫細胞 (例えば、Sf9 細胞) における核酸構築物の複製に好適なバックボーン、例えば、バキュロウイルス (Baculovirus) バックボーン領域を含む。一部の実施形態では、バクミドは、細菌細胞 (例えば、大腸菌 (E. coli) 細胞、例えば、DH10Bac 細胞) における遺伝子エレメント構築物の複製に好適なバックボーン領域を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、昆虫細胞 (例えば、Sf9 細胞) における核酸構築物の複製に好適なバックボーン、例えば、バキュロウイルス (Baculovirus) バックボーン領域を含む。一部の実施

形態では、遺伝子エレメント構築物は、細菌細胞（例えば、大腸菌（*E. coli*）細胞、例えば、DH10Bac細胞）における遺伝子エレメント構築物の複製に好適なバックボーン領域を含む。一部の実施形態では、バクミドは、バキュロウイルス（*Baculovirus*）粒子を介して宿主細胞に導入される。複数の実施形態では、バクミドは、プロデューサ細胞、例えば、昆虫細胞（例えば、Sf9細胞）又は細菌細胞（例えば、大腸菌（*E. coli*）細胞、例えば、DH10Bac細胞）によって生産される。複数の実施形態では、プロデューサ細胞は、例えば本明細書に記載されるような、バクミド及び／又はドナーベクターを含む。複数の実施形態では、プロデューサ細胞は、バクミドベクター及び／又はドナーベクターの複製に十分な細胞機構をさらに含む。

【0190】

例えばアネロベクターのアセンブリのための、ORF1分子

アネロベクターは、例えば、タンパク質性外層内に遺伝子エレメントを閉じ込めることによって、作製することができる。一部の実施形態では、閉じ込めは、無細胞系内又は細胞内で起こる。アネロベクターのタンパク質性外層は、一般に、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1核酸（例えば、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1分子又はそのスプライス変異体若しくは機能性断片、例えば、本明細書に記載される通り）によってコード化されるポリペプチドを含む。ORF1分子は、一部の実施形態では、以下：アルギニンリッチ領域を含む第1領域、例えば、少なくとも60%の塩基性残基（例えば、少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、又は100%の塩基性残基；例えば、60%～90%、60%～80%、70%～90%、若しくは70～80%の塩基性残基）を有する領域、及びゼリーロールドメイン、例えば、少なくとも6つのベータ鎖（例えば、4、5、6、7、8、9、10、11、又は12のベータ鎖）を含む第2領域のうち1つ若しくは複数を含み得る。複数の実施形態では、タンパク質性外層は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1アルギニンリッチ領域、ゼリーロール領域、N22ドメイン、超可変領域、及び／又はC末端ドメインの1つ又は複数（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、又は5つ全て）を含む。一部の実施形態では、タンパク質性外層は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1ゼリーロール領域を含む（例えば、本明細書に記載される通り）。一部の実施形態では、タンパク質性外層は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1アルギニンリッチ領域を含む（例えば、本明細書に記載される通り）。一部の実施形態では、タンパク質性外層は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1N22ドメインを含む（例えば、本明細書に記載される通り）。一部の実施形態では、タンパク質性外層は、アネロウイルス（*Anellovirus*）超可変領域を含む（例えば、本明細書に記載される通り）。一部の実施形態では、タンパク質性外層は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1C末端ドメインを含む（例えば、本明細書に記載される通り）。

【0191】

一部の実施形態では、アネロベクターは、ORF1分子及び／又はORF1分子をコード化する核酸を含む。概して、ORF1分子は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1タンパク質（例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1タンパク質）、又はその機能性断片の構造特徴及び／又は活性を有するポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF1分子は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1タンパク質（例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1タンパク質）と比較して切断を含む。一部の実施形態では、ORF1分子は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1タンパク質の少なくとも10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、若しくは700個のアミノ酸が切断されている。一部の実施形態では、ORF1分子は、例えば、本明細書に記載される、アルファトルクウイルス（*Alphatorquevirus*）、ベータトルクウイルス（*Betatorquevirus*）、又はガン

10

20

30

40

50

マトルクウイルス (Gammatorquevirus) ORF1タンパク質に対して少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。ORF1分子は、一般に、DNA（例えば、本明細書に記載される、例えば遺伝子エレメント）に結合することができる。一部の実施形態では、ORF1分子は、細胞の核に局在化する。特定の実施形態では、ORF1分子は、核小体に局在化する。

【0192】

理論に拘束されることは意図しないが、ORF1分子は、他のORF1分子に結合して、例えば、タンパク質性外層（例えば、本明細書に記載の通り）を形成することができる。こうしたORF1分子は、キャプシドを形成する能力を有するものとして記載される場合がある。一部の実施形態では、タンパク質性外層は、核酸分子（例えば、本明細書に記載される遺伝子エレメント）を閉じ込めることができる。一部の実施形態では、複数のORF1分子は、多量体を形成して、例えば、タンパク質性外層を生成し得る。一部の実施形態では、多量体は、ホモ多量体であり得る。他の実施形態では、多量体は、ヘテロ多量体であり得る。

10

【0193】

例えばアネロベクターのアセンブリのための、ORF2分子

本明細書に記載の組成物又は方法を用いたアネロベクターの生産は、アネロウイルス (Anellovirus) ORF2分子（例えば、本明細書に記載される通り）、又はそのスプライス変異体若しくは機能性断片の発現に関与し得る。一部の実施形態では、アネロベクターは、ORF2分子又はそのスプライス変異体若しくは機能性断片、及び／又はORF2分子又はそのスプライス変異体若しくは機能性断片をコード化する核酸を含む。一部の実施形態では、アネロベクターは、ORF2分子又はそのスプライス変異体若しくは機能性断片、及び／又はORF2分子又はそのスプライス変異体若しくは機能性断片をコード化する核酸を含まない。一部の実施形態では、アネロベクターの生産は、ORF2分子、又はそのスプライス変異体若しくは機能性断片の発現を含むが、ORF2分子はアネロベクターに組み込まれない。

20

【0194】

遺伝子エレメント

RNAを含む遺伝子エレメント

30

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、核酸であるか、又は核酸を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、一本鎖ポリヌクレオチドである。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、1つ又は複数の二本鎖領域を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、RNAを含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、RNAヘアピン構造を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、mRNA、例えば、化学的に修飾されたmRNAである。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、少なくとも10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のRNAからなる。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、DNA鎖及びRNA鎖を含み、例えば、DNA鎖の少なくとも一部がRNA鎖の少なくとも一部にハイブリダイズする。

40

【0195】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、又はORF2t/3のいずれもコード化しない。

【0196】

一部の実施形態では、RNA遺伝子エレメントは、エフェクター、例えばエフェクタータンパク質をコード化する。

【0197】

一部の実施形態では、RNA遺伝子エレメントは、エフェクター、例えば機能性RNAであるか、又はそれを含む。一部の実施形態では、RNAは、mRNA、rRNA、tR

50

RNA（例えば、TREM）、調節RNA、ノンコーディングRNA、長鎖ノンコーディングRNA（lncRNA）、環状RNA（circRNA）、二本鎖RNA（dsRNA）、ガイドRNA（gRNA）、低分子干渉RNA（siRNA）、短鎖ヘアピンRNA（shRNA）、piwi結合RNA（piRNA）、核小体低分子RNA（snRNA）、核低分子RNA（snRNA）、細胞外RNA（exRNA）、カハール体特異的低分子RNA（scarRNA）、マイクロRNA（miRNA）、及びその他のRNA i 分子からなる群から選択される。

【0198】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、RNA、例えば、化学的に修飾されたRNAを含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントのRNAの1つ又は複数のヌクレオチドが化学的に修飾される。一部の実施形態では、RNAは、1つ又は複数の塩基に対する1つ又は複数の化学修飾を含む。一部の実施形態では、RNAは、1つ又は複数の糖に対する1つ又は複数の化学修飾を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントのRNAの少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10ヌクレオチドが化学的に修飾される。一部の実施形態では、RNAは、1つ又は複数の骨格修飾を含む。一部の実施形態では、修飾は、天然に存在しない修飾、例えば、表5～9のいずれか1つに記載される修飾を含む。天然に存在しない修飾は、当技術分野で公知の方法に従って行うことができる。

10

【0199】

一部の実施形態では、本明細書に記載の遺伝子エレメントは、表5に提供される天然に存在しない修飾、又はそれらの組み合わせを含む。

20

【0200】

30

40

50

【表 1】

表 5: 例示的な天然に存在しない修飾

名称	記号	塩基	天然に存在する
7-デアザ-アデノシン	--	A	NO
N1-メチル-アデノシン	--	A	NO
N6,N6(ジメチル)アデニン	--	A	NO
N6-シス-ヒドロキシ-イソペンテニル-アデノシン	--	A	NO
α -チオ-アデノシン	--	A	NO
2(アミノ)アデニン	--	A	NO
2(アミノプロピル)アデニン	--	A	NO
2(メチルチオ)N6(イソペンテニル)アデニン	--	A	NO
2-(アルキル)アデニン	--	A	NO
2-(アミノアルキル)アデニン	--	A	NO
2-(アミノプロピル)アデニン	--	A	NO
2-(ハロ)アデニン	--	A	NO
2-(ハロ)アデニン	--	A	NO
2-(プロピル)アデニン	--	A	NO
2'-アミノ-2'-デオキシ-ATP	--	A	NO
2'-アジド-2'-デオキシ-ATP	--	A	NO
2'-デオキシ-2'- α -アミノアデノシン TP	--	A	NO
2'-デオキシ-2'- α -アジドアデノシン TP	--	A	NO
6(アルキル)アデニン	--	A	NO
6(メチル)アデニン	--	A	NO

【 0 2 0 1 】

【表 2】

6-(アルキル)アデニン	--	A	NO
6-(メチル)アデニン	--	A	NO
7(デアザ)アデニン	--	A	NO
8(アルケニル)アデニン	--	A	NO
8(アルキニル)アデニン	--	A	NO
8(アミノ)アデニン	--	A	NO
8(チオアルキル)アデニン	--	A	NO
8-(アルケニル)アデニン	--	A	NO
8-(アルキル)アデニン	--	A	NO
8-(アルキニル)アデニン	--	A	NO
8-(アミノ)アデニン	--	A	NO
8-(ハロ)アデニン	--	A	NO
8-(ヒドロキシル)アデニン	--	A	NO
8-(チオアルキル)アデニン	--	A	NO
8-(チオール)アデニン	--	A	NO
8-アジド-アデノシン	--	A	NO
アザアデニン	--	A	NO
デアザアデニン	--	A	NO
N6(メチル)アデニン	--	A	NO
N6-(イソベンチル)アデニン	--	A	NO
7-デアザ-8-アザ-アデノシン	--	A	NO
7-メチルアデニン	--	A	NO
1-デアザアデノシン TP	--	A	NO
2'フルオロ-N6-Bz-デオキシアデノシン TP	--	A	NO
2'-OMe-2-アミノ-ATP	--	A	NO
2'O-メチル-N6-Bz-デオキシアデノシン TP	--	A	NO
2'- α -エチニルアデノシン TP	--	A	NO
2-アミノアデニン	--	A	NO
2-アミノアデノシン TP	--	A	NO
2-アミノ-ATP	--	A	NO
2'- α -トリフルオロメチルアデノシン TP	--	A	NO
2-アジドアデノシン TP	--	A	NO

10

20

30

40

【 0 2 0 2 】

50

【表 3】

2'-b-エチニルアデノシン TP	--	A	NO
2-ブロモアデノシン TP	--	A	NO
2'-b-トリフルオロメチルアデノシン TP	--	A	NO
2-クロロアデノシン TP	--	A	NO
2'-デオキシ-2'-ジフルオロアデノシン TP	--	A	NO
2'-デオキシ-2'-α-メルカプトアデノシン TP	--	A	NO
2'-デオキシ-2'-α-チオメトキシアデノシン TP	--	A	NO
2'-デオキシ-2'-b-アミノアデノシン TP	--	A	NO
2'-デオキシ-2'-b-アジドアデノシン TP	--	A	NO
2'-デオキシ-2'-b-ブロモアデノシン TP	--	A	NO
2'-デオキシ-2'-b-クロロアデノシン TP	--	A	NO
2'-デオキシ-2'-b-フルオロアデノシン TP	--	A	NO
2'-デオキシ-2'-b-ヨードアデノシン TP	--	A	NO
2'-デオキシ-2'-b-メルカプトアデノシン TP	--	A	NO
2'-デオキシ-2'-b-チオメトキシアデノシン TP	--	A	NO
2-フルオロアデノシン TP	--	A	NO
2-ヨードアデノシン TP	--	A	NO
2-メルカプトアデノシン TP	--	A	NO
2-メトキシ-アデニン	--	A	NO
2-メチルチオアデニン	--	A	NO
2-トリフルオロメチルアデノシン TP	--	A	NO
3-デアザ-3-ブロモアデノシン TP	--	A	NO
3-デアザ-3-クロロアデノシン TP	--	A	NO
3-デアザ-3-フルオロアデノシン TP	--	A	NO
3-デアザ-3-ヨードアデノシン TP	--	A	NO
3-デアザアデノシン TP	--	A	NO
4'-アジドアデノシン TP	--	A	NO
4'-炭素環アデノシン TP	--	A	NO
4'-エチニルアデノシン TP	--	A	NO
5'-ホモ-アデノシン TP	--	A	NO
8-アザ-ATP	--	A	NO
8-ブロモ-アデノシン TP	--	A	NO

10

20

30

40

【 0 2 0 3 】

50

【表 4】

8-トリフルオロメチルアデノシン TP	--	A	NO
9-デアザアデノシン TP	--	A	NO
2-アミノプリン	--	A/G	NO
7-デアザ-2,6-ジアミノプリン	--	A/G	NO
7-デアザ-8-アザ-2,6-ジアミノプリン	--	A/G	NO
7-デアザ-8-アザ-2-アミノプリン	--	A/G	NO
2,6-ジアミノプリン	--	A/G	NO
7-デアザ-8-アザ-アデニン,7-デアザ-2-アミノプリン	--	A/G	NO
4-メチルシチジン	--	C	NO
5-アザ-シチジン	--	C	NO
ブノイドイソシチジン	--	C	NO
ピロロ-シチジン	--	C	NO
α -チオ-シチジン	--	C	NO
2-(チオ)シトシン	--	C	NO
2'-アミノ-2'-デオキシ-CTP	--	C	NO
2'-アジド-2'-デオキシ-CTP	--	C	NO
2'-デオキシ-2'- α -アミノシチジン TP	--	C	NO
2'-デオキシ-2'- α -アジドシチジン TP	--	C	NO
3(デアザ)5(アザ)シトシン	--	C	NO
3(メチル)シトシン	--	C	NO
3-(アルキル)シトシン	--	C	NO
3-(デアザ)5(アザ)シトシン	--	C	NO
3-(メチル)シチジン	--	C	NO
4,2'-O-ジメチルシチジン	--	C	NO
5(ハロ)シトシン	--	C	NO
5(メチル)シトシン	--	C	NO
5(プロピニル)シトシン	--	C	NO
5(トリフルオロメチル)シトシン	--	C	NO
5-(アルキル)シトシン	--	C	NO
5-(アルキニル)シトシン	--	C	NO
5-(ハロ)シトシン	--	C	NO
5-(プロピニル)シトシン	--	C	NO

【 0 2 0 4 】

10

20

30

40

50

【表 5】

5-(トリフルオロメチル)シトシン	--	C	NO
5-プロモシチジン	--	C	NO
5-ヨード-シチジン	--	C	NO
5-プロピニルシトシン	--	C	NO
6-(アゾ)シトシン	--	C	NO
6-アザ-シチジン	--	C	NO
アザシトシン	--	C	NO
デアザシトシン	--	C	NO
N4(アセチル)シトシン	--	C	NO
1-メチル-1-デアザ-プノイドイソシチジン	--	C	NO
1-メチル-プノイドイソシチジン	--	C	NO
2-メトキシ-5-メチル-シチジン	--	C	NO
2-メトキシ-シチジン	--	C	NO
2-チオ-5-メチル-シチジン	--	C	NO
4-メトキシ-1-メチル-プノイドイソシチジン	--	C	NO
4-メトキシ-プノイドイソシチジン	--	C	NO
4-チオール-1-メチル-1-デアザ- プノイドイソシチジン	--	C	NO
4-チオ-1-メチル-プノイドイソシチジン	--	C	NO
4-チオ-プノイドイソシチジン	--	C	NO
5-アザ-ゼブラリン	--	C	NO
5-メチルゼブラリン	--	C	NO
ピロプノイドイソシチジン	--	C	NO
ゼブラリン	--	C	NO
(E)-5-(2-プロモビニル)シチジン TP	--	C	NO
2,2'-アンヒドロ-シチジン TP 塩酸塩	--	C	NO
2'フルオロ-N4-Bz-シチジン TP	--	C	NO
2'フルオロ-N4-アセチル-シチジン TP	--	C	NO
2'-O-メチル-N4-アセチル-シチジン TP	--	C	NO
2'-O-メチル-N4-Bz-シチジン TP	--	C	NO
2'- α -エチニルシチジン TP	--	C	NO
2'- α -トリフルオロメチルシチジン TP	--	C	NO
2'-b-エチニルシチジン TP	--	C	NO

10

20

30

40

【 0 2 0 5 】

50

【表 6】

2'-b-トリフルオロメチルシチジン TP	--	C	NO
2'-デオキシ-2',2'-ジフルオロシチジン TP	--	C	NO
2'-デオキシ-2'-α-メルカプトシチジン TP	--	C	NO
2'-デオキシ-2'-α-チオメトキシシチジン TP	--	C	NO
2'-デオキシ-2'-b-アミノシチジン TP	--	C	NO
2'-デオキシ-2'-b-アジドシチジン TP	--	C	NO
2'-デオキシ-2'-b-プロモシチジン TP	--	C	NO
2'-デオキシ-2'-b-クロロシチジン TP	--	C	NO
2'-デオキシ-2'-b-フルオロシチジン TP	--	C	NO
2'-デオキシ-2'-b-ヨードシチジン TP	--	C	NO
2'-デオキシ-2'-b-メルカプトシチジン TP	--	C	NO
2'-デオキシ-2'-b-チオメトキシシチジン TP	--	C	NO
2'-O-メチル-5-(1-プロピニル)シチジン TP	--	C	NO
3'-エチニルシチジン TP	--	C	NO
4'-アジドシチジン TP	--	C	NO
4'-炭素環シチジン TP	--	C	NO
4'-エチニルシチジン TP	--	C	NO
5-(1-プロピニル)アラ-シチジン TP	--	C	NO
5-(2-クロロ-フェニル)-2-チオシチジン TP	--	C	NO
5-(4-アミノ-フェニル)-2-チオシチジン TP	--	C	NO
5-アミノアリル-CTP	--	C	NO
5-シアノシチジン TP	--	C	NO
5-エチニルアラ-シチジン TP	--	C	NO
5-エチニルシチジン TP	--	C	NO
5'-ホモシチジン TP	--	C	NO
5'-メトキシシチジン TP	--	C	NO
5-トリフルオロメチル-シチジン TP	--	C	NO
N4-アミノ-シチジン TP	--	C	NO
N4-ベンゾイル-シチジン TP	--	C	NO
プソイドイノシチジン	--	C	NO
6-チオ-グアノシン	--	G	NO
7-デアザ-グアノシン	--	G	NO

【 0 2 0 6 】

10

20

30

40

50

【表 7】

8-オキソ-グアノシン	--	G	NO
N1-メチル-グアノシン	--	G	NO
α -チオ-グアノシン	--	G	NO
2(プロピル)グアニン	--	G	NO
2-(アルキル)グアニン	--	G	NO
2'-アミノ-2'-デオキシ-GTP	--	G	NO
2'-アジド-2'-デオキシ-GTP	--	G	NO
2'-デオキシ-2'- α -アミノグアノシン TP	--	G	NO
2'-デオキシ-2'- α -アジドグアノシン TP	--	G	NO
6(メチル)グアニン	--	G	NO
6-(アルキル)グアニン	--	G	NO
6-(メチル)グアニン	--	G	NO
6-メチル-グアノシン	--	G	NO
7(アルキル)グアニン	--	G	NO
7(デアザ)グアニン	--	G	NO
7(メチル)グアニン	--	G	NO
7-(アルキル)グアニン	--	G	NO
7-(デアザ)グアニン	--	G	NO
7-(メチル)グアニン	--	G	NO
8(アルキル)グアニン	--	G	NO
8(アルキニル)グアニン	--	G	NO
8(ハロ)グアニン	--	G	NO
8(チオアルキル)グアニン	--	G	NO
8-(アルケニル)グアニン	--	G	NO
8-(アルキル)グアニン	--	G	NO
8-(アルキニル)グアニン	--	G	NO
8-(アミノ)グアニン	--	G	NO
8-(ハロ)グアニン	--	G	NO
8-(ヒドロキシル)グアニン	--	G	NO
8-(チオアルキル)グアニン	--	G	NO
8-(チオール)グアニン	--	G	NO
アザグアニン	--	G	NO

10

20

30

40

【 0 2 0 7 】

50

【表 8】

デアザグアニン	--	G	NO
N(メチル)グアニン	--	G	NO
N-(メチル)グアニン	--	G	NO
1-メチル-6-チオ-グアノシン	--	G	NO
6-メトキシ-グアノシン	--	G	NO
6-チオ-7-デアザ-8-アザ-グアノシン	--	G	NO
6-チオ-7-デアザ-グアノシン	--	G	NO
6-チオ-7-メチル-グアノシン	--	G	NO
7-デアザ-8-アザ-グアノシン	--	G	NO
7-メチル-8-オキソ-グアノシン	--	G	NO
N2,N2-ジメチル-6-チオ-グアノシン	--	G	NO
N2-メチル-6-チオ-グアノシン	--	G	NO
1-Me-GTP	--	G	NO
2'フルオロ-N2-イソプチル-グアノシン TP	--	G	NO
2'O-メチル-N2-イソプチル-グアノシン TP	--	G	NO
2'-α-エチニルグアノシン TP	--	G	NO
2'-α-トリフルオロメチルグアノシン TP	--	G	NO
2'-b-エチニルグアノシン TP	--	G	NO
2'-b-トリフルオロメチルグアノシン TP	--	G	NO
2'-デオキシ-2',2'-ジフルオログアノシン TP	--	G	NO
2'-デオキシ-2'-α-メルカプトグアノシン TP	--	G	NO
2'-デオキシ-2'-α-チオメトキシグアノシン TP	--	G	NO
2'-デオキシ-2'-b-アミノグアノシン TP	--	G	NO
2'-デオキシ-2'-b-アジドグアノシン TP	--	G	NO
2'-デオキシ-2'-b-ブロモグアノシン TP	--	G	NO
2'-デオキシ-2'-b-クロログアノシン TP	--	G	NO
2'-デオキシ-2'-b-フルオログアノシン TP	--	G	NO
2'-デオキシ-2'-b-ヨードグアノシン TP	--	G	NO
2'-デオキシ-2'-b-メルカプトグアノシン TP	--	G	NO
2'-デオキシ-2'-b-チオメトキシグアノシン TP	--	G	NO
4'-アジドグアノシン TP	--	G	NO
4'-炭素環式グアノシン TP	--	G	NO

10

20

30

40

【 0 2 0 8 】

50

【表 9】

4'-エチニルグアノシン TP	--	G	NO
5'-ホモ-グアノシン TP	--	G	NO
8-プロモ-グアノシン TP	--	G	NO
9-デアザグアノシン TP	--	G	NO
N2-イソブチル-グアノシン TP	--	G	NO
7-メチルイノシン		A	NO
アリヤアミノチミジン	--	T	NO
アザチミジン	--	T	NO
デアザチミジン	--	T	NO
デオキシチミジン	--	T	NO
5-プロピニルウラシル	--	U	NO
α -チオウリジン	--	U	NO
1(アミノアルキルアミノ-カルボニルエチレニル)- 2(チオ)-プソイドウラシル	--	U	NO
1(アミノアルキルアミノカルボニルエチレニル)- 2,4-(ジチオ)プソイドウラシル	--	U	NO
1(アミノアルキルアミノカルボニルエチレニル)- 4(チオ)プソイドウラシル	--	U	NO
1(アミノアルキルアミノカルボニルエチレニル)- プソイドウラシル	--	U	NO
1(アミノカルボニルエチレニル)-2(チオ)- プソイドウラシル	--	U	NO
1(アミノカルボニルエチレニル)-2,4- (ジチオ)プソイドウラシル	--	U	NO
1(アミノカルボニルエチレニル)-4(チオ)プソイド ウラシル	--	U	NO
1(アミノカルボニルエチレニル)-プソイドウラシル	--	U	NO
1 置換 2(チオ)-プソイドウラシル	--	U	NO
1 置換 2,4-(ジチオ)プソイドウラシル	--	U	NO
1 置換 4(チオ)プソイドウラシル	--	U	NO
1 置換プソイドウラシル	--	U	NO
1-(アミノアルキルアミノ-カルボニルエチレニル)- 2-(チオ)-プソイドウラシル	--	U	NO
1-メチル-3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル) プソイドウリジン TP	--	U	NO
1-メチル-3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル) プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチルプソイド-UTP	--	U	NO

10

20

30

40

【 0 2 0 9 】

50

【表 1 0】

2(チオ)プソイドウラシル	--	U	NO
2'デオキシウリジン	--	U	NO
2'フルオロウリジン	--	U	NO
2-(チオ)ウラシル	--	U	NO
2,4-(ジチオ)プソイドウラシル	--	U	NO
2'メチル,2'アミノ,2'アジド,2'フルオロ- グアノシン	--	U	NO
2'-アミノ-2'-デオキシ-UTP	--	U	NO
2'-アジド-2'-デオキシ-UTP	--	U	NO
2'-アジド-デオキシウリジン TP	--	U	NO
2'-O-メチルプソイドウリジン	--	U	NO
2'デオキシウリジン	2'dU	U	NO
2'フルオロウリジン	--	U	NO
2'-デオキシ-2'-α-アミノウリジン TP	--	U	NO
2'-デオキシ-2'-α-アジドウリジン TP	--	U	NO
2-メチルプソイドウリジン	m3'P	U	NO
3(3 アミノ-3 カルボキシプロピル)ウラシル	--	U	NO
4(チオ)プソイドウラシル	--	U	NO
4-(チオ)プソイドウラシル	--	U	NO
4-(チオ)ウラシル	--	U	NO
4-チオウラシル	--	U	NO
5(1,3-ジアゾール-1-アルキル)ウラシル	--	U	NO
5(2-アミノプロピル)ウラシル	--	U	NO
5(アミノアルキル)ウラシル	--	U	NO
5(ジメチルアミノアルキル)ウラシル	--	U	NO
5(グアニジニウムアルキル)ウラシル	--	U	NO
5(メトキシカルボニルメチル)-2-(チオ)ウラシル	--	U	NO
5(メトキシカルボニル-メチル)ウラシル	--	U	NO
5(メチル)2(チオ)ウラシル	--	U	NO
5(メチル)2,4(ジチオ)ウラシル	--	U	NO
5(メチル)4(チオ)ウラシル	--	U	NO
5(メチルアミノメチル)-2(チオ)ウラシル	--	U	NO
5(メチルアミノメチル)-2,4(ジチオ)ウラシル	--	U	NO

10

20

30

40

【 0 2 1 0 】

50

【表 1 1】

5-(メチルアミノメチル)-4-(チオ)ウラシル	--	U	NO
5-(プロピニル)ウラシル	--	U	NO
5-(トリフルオロメチル)ウラシル	--	U	NO
5-(2-アミノプロピル)ウラシル	--	U	NO
5-(アルキル)-2-(チオ)プソイドウラシル	--	U	NO
5-(アルキル)-2,4(ジチオ)プソイドウラシル	--	U	NO
5-(アルキル)-4(チオ)プソイドウラシル	--	U	NO
5-(アルキル)プソイドウラシル	--	U	NO
5-(アルキル)ウラシル	--	U	NO
5-(アルキニル)ウラシル	--	U	NO
5-(アリルアミノ)ウラシル	--	U	NO
5-(シアノアルキル)ウラシル	--	U	NO
5-(ジアルキルアミノアルキル)ウラシル	--	U	NO
5-(ジメチルアミノアルキル)ウラシル	--	U	NO
5-(グアニジニウムアルキル)ウラシル	--	U	NO
5-(ハロ)ウラシル	--	U	NO
5-(1,3-ジアザール-1-アルキル)ウラシル	--	U	NO
5-(メトキシ)ウラシル	--	U	NO
5-(メトキシカルボニルメチル)-2-(チオ)ウラシル	--	U	NO
5-(メトキシカルボニルメチル)ウラシル	--	U	NO
5-(メチル)2(チオ)ウラシル	--	U	NO
5-(メチル)2,4(ジチオ)ウラシル	--	U	NO
5-(メチル)4(チオ)ウラシル	--	U	NO
5-(メチル)-2-(チオ)プソイドウラシル	--	U	NO
5-(メチル)-2,4(ジチオ)プソイドウラシル	--	U	NO
5-(メチル)-4(チオ)プソイドウラシル	--	U	NO
5-(メチル)プソイドウラシル	--	U	NO
5-(メチルアミノメチル)-2(チオ)ウラシル	--	U	NO
5-(メチルアミノメチル)-2,4(ジチオ)ウラシル	--	U	NO
5-(メチルアミノメチル)-4-(チオ)ウラシル	--	U	NO
5-(プロピニル 1)ウラシル	--	U	NO
5-(トリフルオロメチル)ウラシル	--	U	NO

10

20

30

40

【 0 2 1 1 】

50

【表 1 2】

5-アミノアリルウリジン	--	U	NO
5-ブロモウリジン	--	U	NO
5-ヨードウリジン	--	U	NO
5-ウラシル	--	U	NO
6(アゾ)ウラシル	--	U	NO
6-(アゾ)ウラシル	--	U	NO
6-アザウリジン	--	U	NO
アリヤミノウラシル	--	U	NO
アザウラシル	--	U	NO
デアザウラシル	--	U	NO
N3(メチル)ウラシル	--	U	NO
プソイド-UTP-1-2-エタン酸	--	U	NO
プソイドウラシル	--	U	NO
4-チオ-プソイド-UTP	--	U	NO
1-カルボキシメチル-プソイドウリジン	--	U	NO
1-メチル-1-デアザ-プソイドウリジン	--	U	NO
1-プロピニルウリジン	--	U	NO
1-タウリノメチル-1-メチルウリジン	--	U	NO
1-タウリノメチル-4-チオウリジン	--	U	NO
1-タウリノメチル-プソイドウリジン	--	U	NO
2-メトキシ-4-チオ-プソイドウリジン	--	U	NO
2-チオール-1-メチル-1-デアザ-プソイドウリジン	--	U	NO
2-チオ-1-メチル-プソイドウリジン	--	U	NO
2-チオ-5-アザ-ウリジン	--	U	NO
2-チオ-ジヒドロプソイドウリジン	--	U	NO
2-チオ-ジヒドロウリジン	--	U	NO
2-チオ-プソイドウリジン	--	U	NO
4-メトキシ-2-チオ-プソイドウリジン	--	U	NO
4-メトキシ-プソイドウリジン	--	U	NO
4-チオ-1-メチル-プソイドウリジン	--	U	NO
4-チオ-プソイドウリジン	--	U	NO
5-アザ-ウリジン	--	U	NO

10

20

30

40

【 0 2 1 2 】

50

【表 1 3】

ジヒドロブソイドウリジン	--	U	NO
(±)1-(2-ヒドロキシプロピル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
(2R)-1-(2-ヒドロキシプロピル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
(2S)-1-(2-ヒドロキシプロピル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
(E)-5-(2-プロモ-ビニル)アラ-ウリジン TP	--	U	NO
(E)-5-(2-プロモ-ビニル)ウリジン TP	--	U	NO
(Z)-5-(2-プロモ-ビニル)アラ-ウリジン TP	--	U	NO
(Z)-5-(2-プロモビニル)ウリジン TP	--	U	NO
1-(2,2,2-トリフルオロエチル)-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(2,2,3,3,3-ペンタフルオロプロピル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(2,2-ジエトキシエチル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(2,4,6-トリメチルベンジル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(2,4,6-トリメチルベンジル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(2,4,6-トリメチルフェニル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(2-アミノ-2-カルボキシエチル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(2-アミノエチル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(2-ヒドロキシエチル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(2-メトキシエチル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(3,4-ビス-トリフルオロメトキシベンジル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(3,4-ジメトキシベンジル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(3-アミノ-プロピル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(3-シクロプロピル-プロパ-2-イニル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(4-アミノ-4-カルボキシブチル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(4-アミノ-ベンジル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(4-アミノ-ブチル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(4-アミノ-フェニル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(4-アジドベンジル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(4-プロモベンジル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO

10

20

30

40

【 0 2 1 3 】

50

【表 1 4】

1-(4-クロロベンジル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(4-フルオロベンジル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(4-ヨードベンジル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(4-メタンスルホニルベンジル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(4-メトキシベンジル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(4-メトキシベンジル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(4-メトキシフェニル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(4-メチルベンジル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(4-メチルベンジル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(4-ニトロベンジル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(4-ニトロベンジル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(4-ニトロフェニル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(4-チオメトキシベンジル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(4-トリフルオロメトキシベンジル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(4-トリフルオロメチルベンジル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-(5-アミノ-ベンチル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-(6-アミノ-ヘキシル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1,6-ジメチル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-[3-(2-{2-[2-(2-アミノエトキシ)-エトキシ]-エトキシ}-プロピオニル)ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-[3-(2-(2-アミノエトキシ)-エトキシ)-プロピオニル]ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-アセチルブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-アルキル-6-(1-プロピニル)-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-アルキル-6-(2-プロピニル)-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-アルキル-6-アリル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-アルキル-6-エチニル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-アルキル-6-ホモアリル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-アルキル-6-ビニル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-アリルブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-アミノメチル-ブソイド-UTP	--	U	NO

10

20

30

40

【 0 2 1 4 】

50

【表 1 5】

1-ベンゾイルブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-ベンジルオキシメチルブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-ベンジル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-ピオチニル-PEG2-ブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-ピオチニルブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-ブチル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-シアノメチルブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-シクロブチルメチル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-シクロブチル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-シクロヘブチルメチル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-シクロヘブチル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-シクロヘキシルメチル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-シクロヘキシル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-シクロオクチルメチル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-シクロオクチル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-シクロペンチルメチル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-シクロペンチル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-シクロプロピルメチル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-シクロプロピル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-エチル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-ヘキシル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-ホモアリルブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-ヒドロキシメチルブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-イソプロピル-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-Me-2-チオ-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-Me-4-チオ-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-Me-アルファ-チオ-ブソイド-UTP	--	U	NO
1-メタンスルホニルメチルブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-メトキシメチルブソイドウリジン TP	--	U	NO
1-メチル-6-(2,2,2-トリフルオロエチル)ブソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-(4-モルホリノ)-ブソイド-DTP	--	U	NO

10

20

30

40

【 0 2 1 5 】

50

【表 1 6】

1-メチル-6-(4-チオモルホリノ)-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-(置換フェニル)プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-アミノ-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-アジド-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-ブロモ-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-ブチル-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-クロロ-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-シアノ-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-ジメチルアミノ-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-エトキシ-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-エチルカルボキシレート-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-エチル-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-フルオロ-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-ホルミル-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-ヒドロキシアミノ-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-ヒドロキシ-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-ヨード-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-イソ-プロピル-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-メトキシ-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-メチルアミノ-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-フェニル-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-プロピル-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-tert-ブチル-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-トリフルオロメトキシ-プソイド-UTP	--	U	NO
1-メチル-6-トリフルオロメチル-プソイド-UTP	--	U	NO
1-モルホリノメチルプソイドウリジン TP	--	U	NO
1-ベンチル-プソイド-UTP	--	U	NO
1-フェニル-プソイド-UTP	--	U	NO
1-ピバロイルプソイドウリジン TP	--	U	NO
1-プロパルギルプソイドウリジン TP	--	U	NO
1-プロピル-プソイド-UTP	--	U	NO

【 0 2 1 6 】

10

20

30

40

50

【表 17】

1-プロピニル-プソイドウリジン	--	U	NO
1-p-トリル-プソイド-UTP	--	U	NO
1-tert-ブチル-プソイド-UTP	--	U	NO
1-チオメトキシメチルプソイドウリジン TP	--	U	NO
1-チオモルホリノメチルプソイドウリジン TP	--	U	NO
1-トリフルオロアセチルプソイドウリジン TP	--	U	NO
1-トリフルオロメチル-プソイド-UTP	--	U	NO
1-ビニルプソイドウリジン TP	--	U	NO
2,2'-アンヒドロ-ウリジン TP	--	U	NO
2'-ブromo-デオキシウリジン TP	--	U	NO
2'-F-5-メチル-2'-デオキシ-UTP	--	U	NO
2'-OMe-5-Me-UTP	--	U	NO
2'-OMe-プソイド-UTP	--	U	NO
2'-α-エチニルウリジン TP	--	U	NO
2'-a-トリフルオロメチルウリジン TP	--	U	NO
2'-b-エチニルウリジン TP	--	U	NO
2'-b-トリフルオロメチルウリジン TP	--	U	NO
2'-デオキシ-2',2'-ジフルオロウリジン TP	--	U	NO
2'-デオキシ-2'-a-メルカプトウリジン TP	--	U	NO
2'-デオキシ-2'-α-チオメトキシウリジン TP	--	U	NO
2'-デオキシ-2'-b-アミノウリジン TP	--	U	NO
2'-デオキシ-2'-b-アジドウリジン TP	--	U	NO
2'-デオキシ-2'-b-ブロモウリジン TP	--	U	NO
2'-デオキシ-2'-b-クロロウリジン TP	--	U	NO
2'-デオキシ-2'-b-フルオロウリジン TP	--	U	NO
2'-デオキシ-2'-b-ヨードウリジン TP	--	U	NO
2'-デオキシ-2'-b-メルカプトウリジン TP	--	U	NO
2'-デオキシ-2'-b-チオメトキシウリジン TP	--	U	NO
2-メトキシ-4-チオ-ウリジン	--	U	NO
2-メトキシウリジン	--	U	NO
2'-O-メチル-5-(1-プロピニル)ウリジン TP	--	U	NO
3-アルキル-プソイド-UTP	--	U	NO

10

20

30

40

【 0 2 1 7 】

50

【表 18】

4'-アジドウリジン TP	--	U	NO
4'-炭素環ウリジン TP	--	U	NO
4'-エチニルウリジン TP	--	U	NO
5-(1-プロピニル)アラ-ウリジン TP	--	U	NO
5-(2-フラニル)ウリジン TP	--	U	NO
5-シアノウリジン TP	--	U	NO
5-ジメチルアミノウリジン TP	--	U	NO
5'-ホモ-ウリジン TP	--	U	NO
5-ヨード-2'-フルオロ-デオキシウリジン TP	--	U	NO
5-フェニルエチニルウリジン TP	--	U	NO
5-トリデューテロメチル-6-重水素ウリジン TP	--	U	NO
5-トリフルオロメチルウリジン TP	--	U	NO
5-ビニルアラウリジン TP	--	U	NO
6-(2,2,2-トリフルオロエチル)-プソイド-UTP	--	U	NO
6-(4-モルホリノ)-プソイド DTP	--	U	NO
6-(4-チオモルホリノ)-プソイド-UTP	--	U	NO
6-(置換フェニル)-プソイド-UTP	--	U	NO
6-アミノ-プソイド-UTP	--	U	NO
6-アジド-プソイド-UTP	--	U	NO
6-プロモ-プソイド-UTP	--	U	NO
6-ブチル-プソイド-UTP	--	U	NO
6-クロロ-プソイド-UTP	--	U	NO
6-シアノ-プソイド-UTP	--	U	NO
6-ジメチルアミノ-プソイド-UTP	--	U	NO
6-エトキシ-プソイド-UTP	--	U	NO
6-カルボン酸エチル-プソイド-UTP	--	U	NO
6-エチル-プソイド-UTP	--	U	NO
6-フルオロ-プソイド-UTP	--	U	NO
6-ホルミル-プソイド-UTP	--	U	NO
6-ヒドロキシアミノ-プソイド-UTP	--	U	NO
6-ヒドロキシ-プソイド-UTP	--	U	NO
6-ヨード-プソイド-UTP	--	U	NO

【 0 2 1 8 】

10

20

30

40

50

【表 1 9】

6-イソプロピル-プソイド-UTP	--	U	NO
6-メトキシ-プソイド-UTP	--	U	NO
6-メチルアミノ-プソイド-UTP	--	U	NO
6-メチル-プソイド-UTP	--	U	NO
6-フェニル-プソイド-UTP	--	U	NO
6-フェニル-プソイド-UTP	--	U	NO
6-プロピル-プソイド-UTP	--	U	NO
6-tert-ブチル-プソイド-UTP	--	U	NO
6-トリフルオロメトキシ-プソイド-UTP	--	U	NO
6-トリフルオロメチル-プソイド-UTP	--	U	NO
アルファ-チオ-プソイド-UTP	--	U	NO
プソイドウリジン 1-(4-メチルベンゼンスルホン酸) TP	--	U	NO
プソイドウリジン 1-(4-メチル安息香酸) TP	--	U	NO
プソイドウリジン TP 1-[3-(2-エトキシ)]プロピオン酸	--	U	NO
プソイドウリジン TP 1-[3-{2-(2-[2-(2-エトキシ)-エトキシ]-エトキシ)}]プロピオン酸	--	U	NO
プソイドウリジン TP 1-[3-{2-(2-[2-{2(2-エトキシ)-エトキシ}-エトキシ]-エトキシ)-エトキシ}]プロピオン酸	--	U	NO
プソイドウリジン TP 1-[3-{2-(2-[2-エトキシ]-エトキシ)}]プロピオン酸	--	U	NO
プソイドウリジン TP 1-[3-{2-(2-エトキシ)-エトキシ}]プロピオン酸	--	U	NO
プソイドウリジン TP 1-メチルホスホン酸	--	U	NO
プソイドウリジン TP 1-メチルホスホン酸ジエチルエステル	--	U	NO
プソイド-UTP-N1-3-プロピオン酸	--	U	NO
プソイド-UTP-N1-4-ブタン酸	--	U	NO
プソイド-UTP-N1-5-ペンタン酸	--	U	NO
プソイド-UTP-N1-6-ヘキサン酸	--	U	NO
プソイド-UTP-N1-7-ヘプタン酸	--	U	NO
プソイド-UTP-N1-メチル 1-p-安息香酸	--	U	NO
プソイド-UTP-N1-p-安息香酸	--	U	NO

10

20

30

40

【0 2 1 9】

一部の実施形態では、本明細書に記載の遺伝子エレメントは、表 6 に提供される修飾、又はそれらの組み合わせを含む。表 6 に提供される修飾は、RNA に天然に存在し、本明細書において、天然に存在しない位置で遺伝子エレメントに使用され得る。

【0 2 2 0】

50

【表 20】

表 6: 追加の例示的な修飾

名称	記号	塩基	天然に 存在する
2-メチルチオ-N6-(シス- ヒドロキシビスペンテニル)アデノシン	ms2i6A	A	YES
2-メチルチオ-N6-メチルアデノシン	ms2m6A	A	YES
2-メチルチオ-N6-トレオニルカ ルバモイルアデノシン	ms2t6A	A	YES
N6-グリシニルカルバモイルアデノシン	g6A	A	YES
N6-イソペンテニルアデノシン	i6A	A	YES
N6-メチルアデノシン	m6A	A	YES
N6-トレオニルカルバモイルアデノシン	t6A	A	YES
1,2'-O-ジメチルアデノシン	mlAm	A	YES
1-メチルアデノシン	mlA	A	YES
2'-O-メチルアデノシン	Am	A	YES
2'-O-リボシルアデノシン(リン酸)	Ar(p)	A	YES
2-メチルアデノシン	m2A	A	YES
2-メチルチオ-N6 イソペンテニルアデノシン	ms2i6A	A	YES
2-メチルチオ-N6-ヒドロキシノルバリルカ ルバモイルアデノシン	ms2hn6A	A	YES
2'-O-メチルアデノシン	m6A	A	YES
2'-O-リボシルアデノシン(リン酸)	Ar(p)	A	YES
イソペンテニルアデノシン	Iga	A	YES
N6-(シス-ヒドロキシイソペンテニル)アデノシン	io6A	A	YES
N6,2'-O-ジメチルアデノシン	m6Am	A	YES
N6,2'-O-ジメチルアデノシン	m ⁶ Am	A	YES
N6,N6,2'-O-トリメチルアデノシン	m62Am	A	YES
N6,N6-ジメチルアデノシン	m62A	A	YES
N6-アセチルアデノシン	ac6A	A	YES
N6-ヒドロキシノルバリルカルバモイルアデノシン	hn6A	A	YES
N6-メチル-N6- トレオニルカルバモイルアデノシン	m6t6A	A	YES
2-メチルアデノシン	m ² A	A	YES
2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデノシン	ms ² i ⁶ A	A	YES
2-チオシチジン	s2C	C	YES

【0221】

10

20

30

40

50

【表 2 1】

3-メチルシチジン	m3C	C	YES
5-ホルミルシチジン	f5C	C	YES
5-ヒドロキシメチルシチジン	hm5C	C	YES
5-メチルシチジン	m5C	C	YES
N4-アセチルシチジン	ac4C	C	YES
2'-O-メチルシチジン	Cm	C	YES
2'-O-メチルシチジン	Cm	C	YES
5,2'-O-ジメチルシチジン	m5Cm	C	YES
5-ホルミル-2'-O-メチルシチジン	f5Cm	C	YES
リシジン	k2C	C	YES
N4,2'-O-ジメチルシチジン	m4Cm	C	YES
N4-アセチル-2'-O-メチルシチジン	ac4Cm	C	YES
N4-メチルシチジン	m4C	C	YES
N4,N4-ジメチル-2'-OMe-シチジン TP	--	C	YES
7-メチルグアノシン	m7G	G	YES
N2,2'-O-ジメチルグアノシン	m2Gm	G	YES
N2-メチルグアノシン	m2G	G	YES
ワイオシン	imG	G	YES
1,2'-O-ジメチルグアノシン	m1Gm	G	YES
1-メチルグアノシン	m1G	G	YES
2'-O-メチルグアノシン	Gm	G	YES
2'-O-リボシルグアノシン(リン酸)	Gr(p)	G	YES
2'-O-メチルグアノシン	Gm	G	YES
2'-O-リボシルグアノシン(リン酸)	Gr(p)	G	YES
7-アミノメチル-7-デアザグアノシン	preQ1	G	YES
7-シアノ-7-デアザグアノシン	preQ0	G	YES
アルカエオシン	G+	G	YES
メチルワイオシン	mimG	G	YES
N2,7-ジメチルグアノシン	m2,7G	G	YES
N2,N2,2'-O-トリメチルグアノシン	m22Gm	G	YES
N2,N2,7-トリメチルグアノシン	m2,2,7G	G	YES
N2,N2-ジメチルグアノシン	m22G	G	YES

10

20

30

40

【 0 2 2 2 】

50

【表 2 2】

N2,7,2'-O-トリメチルグアノシン	m2 7 ' Gm	G	YES
1-メチルイノシン	mll	A	YES
イノシン	I	A	YES
1,2'-O-ジメチルイノシン	mlim	A	YES
2'-O-メチルイノシン	Im	A	YES
2'-O-メチルイノシン	Im	A	YES
エポキシキューオシン	oQ	G	YES
ガラクトシル-キューオシン	galQ	G	YES
マンノシル-キューオシン	manQ	G	YES
2'-O-メチルウリジン	--	U	YES
2-チオウリジン	s2U	U	YES
3-メチルウリジン	m3U	U	YES
5-カルボキシメチルウリジン	cm5U	U	YES
5-ヒドロキシウリジン	ho5U	U	YES
5-メチルウリジン	m5U	U	YES
5-タウリノメチル-2-チオウリジン	rm5s2U	U	YES
5-タウリノメチルウリジン	rm5U	U	YES
ジヒドロウリジン	D	U	YES
プソイドウリジン	Q	U	YES
(3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)ウリジン	acp3U	U	YES
1-メチル-3-(3-アミノ-5- カルボキシプロピル)プソイドウリジン	mlacp3'P	U	YES
1-メチルプソイドウリジン	ml'P	U	YES
1-メチル-プソイドウリジン	--	U	YES
2'-O-メチルウリジン	Um	U	YES
2'-O-メチルプソイドウリジン	'Pm	U	YES
2'-O-メチルウリジン	Um	U	YES
2-チオ-2'-O-メチルウリジン	s2Um	U	YES
3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)ウリジン	acp3U	U	YES
3,2'-O-ジメチルウリジン	m3Um	U	YES
3-メチル-プソイドウリジン TP	--	U	YES
4-チオウリジン	s4U	U	YES

10

20

30

40

【 0 2 2 3】

50

【表 2 3】

5-(カルボキシヒドロキシメチル)ウリジン	chm5U	U	YES
5-(カルボキシヒドロキシメチル)ウリジンメチル エステル	mchm5U	U	YES
5,2'-O-ジメチルウリジン	m5Um	U	YES
5,6-ジヒドロウリジン	--	U	YES
5-アミノメチル-2-チオウリジン	nm5s2U	U	YES
5-カルバモイルメチル-2'-O-メチルウリジン	ncm5Um	U	YES
5-カルバモイルメチルウリジン	ncm5U	U	YES
5-カルボキシヒドロキシメチルウリジン	--	U	YES
5-カルボキシヒドロキシメチルウリジンメチル エステル	--	U	YES
5-カルボキシメチルアミノメチル-2'-O- メチルウリジン	cmnm5Um	U	YES
5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン	cmnm5s2U	U	YES
5-カルボキシメチルアミノメチル-2- チオウリジン	--	U	YES
5-カルボキシメチルアミノメチルウリジン	cmnm5U	U	YES
5-カルボキシメチルアミノメチルウリジン	--	U	YES
5-カルバモイルメチルウリジン TP	--	U	YES
5-メトキシカルボニルメチル-2'-O- メチルウリジン	mcm5Um	U	YES
5-メトキシカルボニルメチル 1-2-チオウリジン	mcm5s2U	U	YES
5-メトキシカルボニルメチルウリジン	mcm5U	U	YES
5-メトキシウリジン	mo5U	U	YES
5-メチル-2-チオウリジン	m5s2U	U	YES
5-メチルアミノメチル-2-セレノウリジン	mnm5se2U	U	YES
5-メチルアミノメチル-2-チオウリジン	mnm5s2U	U	YES
5-メチルアミノメチルウリジン	mnm5U	U	YES
5-メチルジヒドロウリジン	--	U	YES
5-オキシ酢酸-ウリジン TP	--	U	YES
5-オキシ酢酸-メチルエステル-ウリジン TP	--	U	YES
N1-メチル-プソイドウリジン	--	U	YES
ウリジン 5-オキシ酢酸	cmo5U	U	YES
ウリジン 5-オキシ酢酸メチルエステル	mcmo5U	U	YES
3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)-ウリジン TP	--	U	YES

10

20

30

40

【 0 2 2 4 】

50

【表 2 4】

5-(イソ-ペンテニルアミノメチル)-2-チオウリジン TP	--	U	YES
5-(イソ-ペンテニルアミノメチル)-2'-O-メチルウリジン TP	--	U	YES
5-(イソペンテニルアミノメチル)ウリジン TP	--	U	YES
ワイプトシン	yW	A/T	YES
ヒドロキシワイプトシン	OHyW	A/T	YES
イソワイオシン	imG2	A/T	YES
ペルオキシワイプトシン	o2yW	A/T	YES
不完全修飾ヒドロキシワイプトシン	OHyW*	A/T	YES
4-デメチルワイオシン	imG-14	A/T	YES

10

【0 2 2 5】

一実施形態では、本明細書に記載の遺伝子エレメントは、表 7 に提供される天然に存在しない修飾、又はそれらの組み合わせを含む。

20

【0 2 2 6】

【表 2 5】

表 7: 追加の例示的な天然に存在しない修飾

名称
2,6-(ジアミノ)プリン
1-(アザ)-2-(チオ)-3-(アザ)-フェノキサジン-1-イル
1,3-(ジアザ)-2-(オキソ)-フェンチアジン-1-イル
1,3-(ジアザ)-2-(オキソ)-フェノキサジン-1-イル
1,3,5-(トリアザ)-2,6-(ジオキサ)-ナフタレン
2(アミノ)プリン
2,4,5-(トリメチル)フェニル
2'メチル,2'アミノ,2'アジド,2'フルオロ-シチジン
2'メチル,2'アミノ,2'アジド,2'フルオロ-アデニン
2'メチル,2'アミノ,2'アジド,2'フルオロ-ウリジン
2'-アミノ-2'-デオキシリボース
2-アミノ-6-クロロ-プリン
2-アザ-イノシニル
2'-アジド-2'-デオキシリボース
2'フルオロ-2'-デオキシリボース
2'-フルオロ修飾塩基
2'-O-メチル-リボース
2-オキソ-7-アミノピリドピリミジン-3-イル
2-オキソ-ピリドピリミジン-3-イル
2-ピリジノン

30

40

【0 2 2 7】

50

【表 2 6】

3-ニトロピロール
3-(メチル)-7-(プロピニル)イソカルボスチリル
3-(メチル)イソカルボスチリル
4-(フルオロ)-6-(メチル)ベンズイミダゾール
4-(メチル)ベンズイミダゾール
4-(メチル)インドリル
4,6-(ジメチル)インドリル
5-ニトロインドール
5-置換ピリミジン
5-(メチル)イソカルボスチリル
5-ニトロインドール
6-(アザ)ピリミジン
6-(アゾ)チミン
6-(メチル)-7-(アザ)インドリル
6-クロロプリン
6-フェニル-ピロロ-ピリミジン-2-オン-3-イル
7-(アミノアルキルヒドロキシ)-1-(アザ)-2-(チオ)-3-(アザ)- フェンチアジン-1-イル
7-(アミノアルキルヒドロキシ)-1-(アザ)-2-(チオ)-3-(アザ)- フェノキサジン-1-イル
7-(アミノアルキルヒドロキシ)-1,3-(ジアザ)-2-(オキソ)- フェノキサジン-1-イル
7-(アミノアルキルヒドロキシ)-1,3-(ジアザ)-2-(オキソ)- フェンチアジン-1-イル
7-(アミノアルキルヒドロキシ)-1,3-(ジアザ)-2-(オキソ)- フェノキサジン-1-イル
7-(アザ)インドリル
7-(グアニジニウムアルキルヒドロキシ)-1-(アザ)-2-(チオ)-3- (アザ)-フェノキサジン-イル
7-(グアニジニウムアルキルヒドロキシ)-1-(アザ)-2-(チオ)-3- (アザ)-フェンチアジン-1-イル
7-(グアニジニウムアルキルヒドロキシ)-1-(アザ)-2-(チオ)-3- (アザ)-フェノキサジン-1-イル
7-(グアニジニウムアルキルヒドロキシ)-1,3-(ジアザ)-2-(オキソ)- フェノキサジン-1-イル
7-(グアニジニウムアルキルヒドロキシ)-1,3-(ジアザ)-2-(オキソ)- フェンチアジン-1-イル
7-(グアニジニウムアルキルヒドロキシ)-1,3-(ジアザ)-2-(オキソ)- フェノキサジン-1-イル
7-(プロピニル)イソカルボスチリル
7-(プロピニル)イソカルボスチリル,プロピニル-7-(アザ) インドリル
7-デアザ-イノシニル
7-置換 1-(アザ)-2-(チオ)-3-(アザ)-フェノキサジン-1-イル

10

20

30

40

【 0 2 2 8 】

50

【表 2 7】

7-置換 1,3-(ジアザ)-2-(オキソ)-フェノキサジン-1-イル
9-(メチル)-イミジゾピリジニル
アミノインドリル
アントラセニル
ビス-オルト-(アミノアルキルヒドロキシ)-6-フェニル-ピロロ- ピリミジン-2-オン-3-イル
ビス-オルト-置換-6-フェニル-ピロロ-ピリミジン-2-オン-3- イル
ジフルオロトリル
ヒポキサンチン
イミジゾピリジニル
イノシニル
イソカルボスチリル
イソグアニン
N2-置換プリン
N6-メチル-2-アミノ-プリン
N6-置換プリン
N-アルキル化誘導体
ナフタレニル
ニトロベンゾイミダゾリル
ニトロイミダゾリル
ニトロインダゾリル
ニトロピラゾリル
ヌブラリン(nubularine)
O6-置換プリン
O-アルキル化誘導体
オルト-(アミノアルキルヒドロキシ)-6-フェニル-ピロロ-ピリミジン- 2-オン-3-イル
オルト置換-6-フェニル-ピロロ-ピリミジン-2-オン-3-イル
オキソホルマイシン TP
バラ-(アミノアルキルヒドロキシ)-6-フェニル-ピロロ-ピリミジン-2- オン-3-イル
バラ-置換-6-フェニル-ピロロ-ピリミジン-2-オン-3-イル
ベンタセニル
フェナントラセニル
フェニル
プロピニル-7-(アザ)インドリル
ピレニル
ピリドピリミジン-3-イル
ピリドピリミジン-3-イル, 2-オキソ-7-アミノ-ピリドピリミジン-3-イル
ピロロ-ピリミジン-2-オン-3-イル

10

20

30

40

【 0 2 2 9 】

50

【表 2 8】

ピロロピリミジニル
ピロロピリジニル
スチルベンジル
置換 1,2,4-トリアゾール
テトラセニル
ツベルシジン
キササンチン
キサントシン-5'-TP
2-チオ-ゼブラリン
5-アザ-2-チオ-ゼブラリン
7-デアザ-2-アミノ-プリン
ピリジン-4-オンリボヌクレオシド
2-アミノ-リボシド-TP
ホルマイシン A TP
ホルマイシン B TP
ピロロシン TP
2'-OH-アラ-アデノシン TP
2'-OH-アラ-シチジン TP
2'-OH-アラ-ウリジン TP
2'-OH-アラ-グアノシン TP
5-(2-カルボメトキシビニル)ウリジン TP
N6-(19-アミノ-ペンタオキサノナデシル)アデノシン TP

10

20

【0 2 3 0】

一実施形態では、本明細書に記載の遺伝子エレメントは、表 8 に提供される天然に存在しない修飾、又はそれらの組み合わせを含む。

30

【0 2 3 1】

40

50

【表 2 9】

表 8: 例示的な骨格修飾

名称
3'-アルキレンホスホネート
3'-アミノホスホルアミデート
アルケン含有骨格
アミノアルキルホスホルアミデート
アミノアルキルホスホトリエステル
ボラノリン酸塩
-CH ₂ -O-N(CH ₃)-CH ₂ -
-CH ₂ -N(CH ₃)-N(CH ₃)-CH ₂ -
-CH ₂ -NH-CH ₂ -
キラルホスホネート
キラルホスホロチオエート
ホルムアセチル及びチオホルムアセチル骨格
メチレン(メチルイミノ)
メチレンホルムアセチル及びチオホルムアセチル骨格
メチレンイミノ及びメチレンヒドラジノ骨格
モルホリノ結合
-N(CH ₃)-CH ₂ -CH ₂ -
ヘテロ原子ヌクレオシド間結合を有するオリゴヌクレオシド
ホスフィネート
ホスホルアミデート
ホスホロジチオエート
ホスホロチオエートヌクレオシド間結合
ホスホロチオエート
ホスホトリエステル
PNA
シロキサン骨格
スルファメート骨格
スルフィドスルホキシド及びスルホン骨格
スルホン酸塩及びスルホンアミド骨格
チオノアルキルホスホネート
チオノアルキルホスホトリエステル
チオノホスホルアミデート

10

20

30

40

【0 2 3 2】

一実施形態では、本明細書に記載の遺伝子エレメントは、表 9 に提供される天然に存在しない修飾、又はそれらの組み合わせを含む。

【0 2 3 3】

50

【表 3 0】

表 9: 例示的な天然に存在しない骨格修飾

合成骨格修飾の名称
ホスホロチオエート
拘束核酸(CNA)
2'O'メチル化
2'-O-メトキシエチルリボース(MOE)
2'フルオロ
ロックド核酸(LNA)
(S)-拘束エチル(cEt)
フルオロヘキシトール核酸(FHNA)
5'ホスホロチオエート
ホスホロジアミデートモルホリノオリゴマー(PMO)
トリシクロ-DNA(tcDNA)
(S)5'-C-メチル
(E)-ビニルホスホネート
ホスホン酸メチル
リン酸を有する(S)5'-C-メチル

10

20

【0 2 3 4】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、キャップを含む。キャップは、典型的には、mRNAの5'末端に配置されるが、RNAの3'末端に配置することもできる。一部の
 実施形態では、キャップは、遺伝子エレメントをエキソヌクレアーゼ分解から保護し、細胞内での送達及び／又は局在化を助けることができる。キャップは、5'末端（5'キャ
 ップ）又は3'末端（3'キャップ）に存在することも、両末端に存在することもできる。5
 'ーキャップの非限定的な例には、グリセリル、逆位デオキシ脱塩基残基（部分）；4'，
 5'ーメチレンヌクレオチド；1ー（ベータ-D-エリスロフラノシル）ヌクレオチド、
 4'ーチオヌクレオチド；炭素環ヌクレオチド；1，5ーアンヒドロヘキシトールヌクレ
 オチド；Lーヌクレオチド；アルファヌクレオチド；修飾塩基ヌクレオチド；ホスホロジ
 チオエート結合；トレオーペントフラノシルヌクレオチド；非環状3'，4'ーセコヌクレ
 オチド；非環状3，4ージヒドロキシブチルヌクレオチド；非環状3，5ージヒドロキシ
 ペンチルヌクレオチド；3'ー3'ー逆位ヌクレオチド部分；3'ー3'ー逆位脱塩基部分；
 3'ー2'ー逆位ヌクレオチド部分；3'ー2'ー逆位脱塩基部分；1，4ーブタンジオール
 リン酸塩；3'ーホスホルアミデート；リン酸ヘキシル；リン酸アミノヘキシル；3'ーリ
 ン酸；3'ーホスホロチオエート；ホスホロジチオエート；又は架橋若しくは非架橋メチ
 ルホスホネート部分が含まれるが、これらに限定されない。

30

40

【0 2 3 5】

3'ーキャップの非限定的な例には、グリセリル、逆位デオキシ脱塩基残基（部分）、
 4'，5'ーメチレンヌクレオチド；1ー（ベータ-D-エリスロフラノシル）ヌクレオチ
 ド；4'ーチオヌクレオチド、炭素環ヌクレオチド；5'ーアミノアルキルリン酸；1，
 3ージアミノー2ープロピルホスフェート；リン酸3ーアミノプロピル；リン酸6ーアミ
 ノヘキシル；リン酸1，2ーアミノドデシル；リン酸ヒドロキシプロピル；1，5ーアン
 ヒドロヘキシトールヌクレオチド；Lーヌクレオチド；アルファヌクレオチド；修飾塩基
 ヌクレオチド；ホスホロジチオエート；トレオーペントフラノシルヌクレオチド；非環状
 50

3', 4'-セコヌクレオチド; 3, 4-ジヒドロキシブチルヌクレオチド; 3, 5-ジヒドロキシペンチルヌクレオチド、5'-5'-逆位ヌクレオチド部分; 5'-5'-逆位脱塩基部分; 5'-ホスホルアミデート; 5'-ホスホロチオエート; リン酸1, 4-ブタンジオール; 5'-アミノ; 架橋及び/又は非架橋5'-ホスホルアミデート、ホスホロチオエート及び/又はホスホロジチオエート、架橋又は非架橋メチルホスホネート及び5'-メルカプト部分が含まれるが、これらに限定されない(さらなる詳細については、Beaucage及びIyer, 1993, Tetrahedron 49, 1925を参照; 参照により本明細書に組み込まれる)。

【0236】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、ポリ-A尾部を含む。一部の実施形態では、ポリ-A尾部は、少なくとも約5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、又は100アデノシン長を含む。一部の実施形態では、RNAは、ポリ-A尾部を欠いている。一部の実施形態では、RNAがポリ-A尾部を欠いている場合、RNAは、約5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、又は100以下の連続したアデノシンを含む。

10

【0237】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、線状である。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、環状である。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、第1の領域、及び第1の領域とハイブリダイズすることができる第2の領域を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、第1の領域、及び第1の領域とハイブリダイズして環を形成することができる第2の領域を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、5'末端又は3'末端を含まない。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、遊離リン酸塩及び遊離糖の一方又は両方を含まない。一部の実施形態では、遺伝子エレメント中の全てのリン酸塩は、リン酸塩に含まれる第1の酸素原子によって第1の糖に共有結合し、リン酸塩に含まれる第2の酸素原子によって第2の糖に共有結合している。一部の実施形態では、遺伝子エレメント中の全ての糖は、糖に含まれる第1の炭素原子によって第1のリン酸塩に共有結合し、糖に含まれる第2の炭素原子によって第2のリン酸塩に共有結合している。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、線状RNAを環状化することによって生産される。環状RNAは、例えば、本明細書にその全体が参照により組み込まれる米国特許出願公開第20200306286号明細書に記載される。

20

30

【0238】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、約10~20、20~30、30~40、50~60、60~70、70~80、80~90、90~100、100~125、125~150、150~200、200~300、300~400、400~500、500~600、600~700、700~800、800~900、900~1000、1000~1500、1500~2000、2000~2500、2500~3000、3000~3500、3500~4000、又は4000~4500ヌクレオチド長である。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、少なくとも約10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、400、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、又は4500ヌクレオチド長である。

40

【0239】

RNAのみの遺伝子エレメント

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、RNAからなるか、又はRNAから本質的になる。例えば、一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、実質的にDNAを含まない。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、一本鎖RNAを含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、少なくとも1つの二本鎖領域を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントの二本鎖領域は、RNAと対合するRNAの領域を含む。

【0240】

ハイブリダイズしたRNA-ssDNA遺伝子エレメント

50

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、DNA領域を含む。一部の実施形態では、RNAを含む遺伝子エレメントは、DNA領域をさらに含む。例えば、遺伝子エレメントは、一本鎖であってもよく、ここで、一本鎖の第1の部分はリボヌクレオチドを含み、一本鎖の第2の部分はデオキシリボヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、DNA領域を含む遺伝子エレメントは、化学修飾された1つ又は複数のDNAヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントはDNA領域を含み、ここで、DNA領域の全てのヌクレオチドは化学的に修飾されている。

【0241】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントの少なくとも一部は、一本鎖である。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、一本鎖である。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、ssDNAを含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、二本鎖領域を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントの二本鎖領域は、RNAと対合するRNAの領域を含む。一部のそのような実施形態では、遺伝子エレメントの二本鎖領域は、RNAと対合するDNAの領域を含む。一部の実施形態では、DNA領域の少なくとも一部は、遺伝子エレメントのRNAの少なくとも一部にハイブリダイズする。

10

【0242】

一部の実施形態では、DNA領域は、約10～20、20～30、30～40、40～50、50～60、60～70、70～80、80～90、90～100、100～150、150～200、200～300、300～400、400～500、500～600、600～700、700～800、800～900、又は900～1000ヌクレオチド長である。

20

【0243】

RNA／DNA複合体

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、DNA領域を含む。一部の実施形態では、RNAを含む遺伝子エレメントは、DNA領域をさらに含む。一部の実施形態では、DNA領域を含む遺伝子エレメントは、化学修飾された1つ又は複数のDNAヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントはDNA領域を含み、ここで、DNA領域の全てのヌクレオチドは化学的に修飾されている。

【0244】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントの少なくとも一部は、一本鎖である。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、一本鎖である。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、ssDNAを含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、二本鎖領域を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントの二本鎖領域は、RNAと対合するRNAの領域を含む。一部のそのような実施形態では、遺伝子エレメントの二本鎖領域は、RNAと対合するDNAの領域を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントがRNAを含む場合、DNA領域は、遺伝子エレメントのRNAに共有結合している。

30

【0245】

一部の実施形態では、DNA領域は、約10～20、20～30、30～40、40～50、50～60、60～70、70～80、80～90、90～100、100～150、150～200、200～300、300～400、400～500、500～600、600～700、700～800、800～900、又は900～1000ヌクレオチド長である。

40

【0246】

遺伝子エレメント構築物

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、遺伝子エレメント構築物から生産される。例えば、一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、DNA、例えば二本鎖DNAであり、遺伝子エレメントは、転写によって生産され、RNA遺伝子エレメントを生成し得る。

【0247】

本明細書に記載されるようなアネロベクターの遺伝子エレメントは、遺伝子エレメント

50

領域と、任意選択で、バクミド（例えば、バキュロウイルス（*Baculovirus*）ゲノム又はその断片、例えば、1つ又は複数のバキュロウイルス（*Baculovirus*）エレメントを含む）又はドナーベクターバックボーンなどの他の配列とを含む遺伝子エレメント構築物から生産され得る。一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、アネロウイルス（*Anellovirus*）5'UTR（例えば、本明細書に記載の通り）を含む。遺伝子エレメント構築物は、遺伝子エレメントをタンパク質性外層内に閉じ込めることができる宿主細胞又は無細胞系への遺伝子エレメントの配列の送達に好適な任意の核酸構築物であり得る。一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、プロモータを含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物からの転写により、RNA遺伝子エレメントが生産される。

10

【0248】

一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は線状核酸分子である。一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、環状核酸分子（例えば、プラスミド、バクミド、ドナーベクター、又はミニサークル、例えば、本明細書に記載の通り）である。一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、二本鎖であってもよい。他の実施形態では、遺伝子エレメントは、一本鎖である。一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、DNAを含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、RNAを含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、1つ又は複数の修飾ヌクレオチドを含む。

【0249】

プラスミド

一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、プラスミドである。プラスミドは、一般に、本明細書に記載されるような遺伝子エレメントの配列、並びに宿主細胞内での複製に好適な複製起点（例えば、細菌細胞内での複製のための細菌の複製起点）及び選択マーカー（例えば、抗生物質耐性遺伝子）を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントの配列は、プラスミドから切除することができる。一部の実施形態では、プラスミドは、細菌細胞内で複製することができる。一部の実施形態では、プラスミドは、哺乳動物細胞（例えば、ヒト細胞）内で複製することができる。一部の実施形態では、プラスミドは、少なくとも300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、又は5000bpの長さである。一部の実施形態では、プラスミドは、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、又は10,000bp未満の長さである。一部の実施形態では、プラスミドは、300~400、400~500、500~600、600~700、700~800、800~900、900~1000、1000~1500、1500~2000、2000~2500、2500~3000、3000~4000、又は4000~5000bpの長さを有する。

20

30

【0250】

小さい環状核酸構築物

一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、例えば、ベクターバックボーンを欠く（例えば、細菌の複製起点及び／又は選択マーカーを欠く）、環状核酸構築物である。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、一本鎖又は二本鎖の環状核酸構築物である。複数の実施形態では、環状核酸構築物は、例えば本明細書に記載されるように、インビトロ環状化（IVC）によって生産される。複数の実施形態では、二本鎖環状核酸構築物を宿主細胞に導入することができ、これは、例えば本明細書に記載されるように、一本鎖環状遺伝子エレメントを生産するための鋳型に変換することができ、又は鋳型として使用することができる。一部の実施形態では、環状核酸構築物は、プラスミドバックボーン又はその機能性断片を含まない。一部の実施形態では、環状核酸構築物は、少なくとも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、又は4500bpの長さである。一部の実施形態では、環状核酸構築物は、2900

40

50

、3000、3100、3200、3300、3400、3500、3600、3700、3800、3900、4000、4100、4200、4300、4400、4500、4600、4700、4800、4900、5000、5500、又は6000bp未満の長さである。一部の実施形態では、環状核酸構築物は、2000～2100、2100～2200、2200～2300、2300～2400、2400～2500、2500～2600、2600～2700、2700～2800、2800～2900、2900～3000、3000～3100、3100～3200、3200～3300、3300～3400、3400～3500、3500～3600、3600～3700、3700～3800、3800～3900、3900～4000、4000～4100、4100～4200、4200～4300、4300～4400、又は4400～4500bpの長さである。一部の実施形態では、環状核酸構築物は、ミニサークルである。

10

【0251】

シス／トランス構築物

一部の実施形態では、本明細書に記載されるような遺伝子エレメント構築物（例えば、バクミド又はドナーベクター）は、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF、例えば、タンパク質性外層成分（例えば、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1核酸によってコード化されるポリペプチド、例えば、本明細書に記載される通り）をコード化する、1つ又は複数の配列を含む。例えば、遺伝子エレメント構築物は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1分子をコード化する核酸配列を含み得る。このような遺伝子エレメント構築物は、遺伝子エレメント及びアネロウイルス（*Anellovirus*）ORFを宿主細胞にシスで導入するのに好適であり得る。他の実施形態では、本明細書に記載されるような遺伝子エレメント構築物は、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF、例えば、タンパク質性外層成分（例えば、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1核酸によってコード化されるポリペプチド、例えば、本明細書に記載される通り）をコード化する配列を含まない。例えば、遺伝子エレメント構築物は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1分子をコード化する核酸配列を含まなくてもよい。このような遺伝子エレメント構築物は、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORFがトランスで提供される遺伝子エレメントを宿主細胞に導入する（例えば、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORFをコード化する第2の核酸構築物の導入を介して、又は宿主細胞のゲノムに組み込まれたアネロウイルス（*Anellovirus*）ORFカセットを介して）のに好適であり得る。一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、昆虫細胞（例えば、Sf9細胞）における核酸構築物の複製に好適なバックボーン、例えば、バキュロウイルス（*Baculovirus*）バックボーン領域を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、細菌細胞（例えば、大腸菌（*E. coli*）細胞、例えば、DH10Bac細胞）における遺伝子エレメント構築物の複製に好適なバックボーン領域を含む。

20

30

【0252】

一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物（例えば、バクミド又はドナーベクター）は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1分子、又はそのスプライス変異体若しくは機能性断片（例えば、ゼリーロール領域、例えば、本明細書に記載の通り）をコード化する配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメントの配列を含まない遺伝子エレメントの部分は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1分子、又はそのスプライス変異体若しくは機能性断片をコード化する配列を含む（例えば、プロモータと、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1分子、又はそのスプライス変異体若しくは機能性断片をコード化する配列とを含むカセット中）。さらなる実施形態では、遺伝子エレメントの配列を含む構築物の部分は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1分子、又はそのスプライス変異体若しくは機能性断片（例えば、ゼリーロール領域、例えば、本明細書に記載の通り）をコード化する配列を含む。複数の実施形態では、タンパク質性外層（例えば、本明細書に記載される通り）におけるそのような

40

50

遺伝子エレメントの閉じ込めは、複製成分アネロベクター（例えば、細胞に感染すると、例えば本明細書に記載されるような1つ又は複数のアネロウイルス（*Ane ll o v i r u s*）ORFをコード化する、さらなる核酸構築物を、細胞に導入することなく、細胞がアネロベクターのさらなるコピーを生産できるようにするアネロベクター）を生産する。

【0253】

他の実施形態では、遺伝子エレメントは、アネロウイルス（*Ane ll o v i r u s*）ORF 1分子、又はそのスプライス変異体若しくは機能性断片（例えば、ゼリーロール領域、例えば、本明細書に記載の通り）をコード化する配列を含まない。複数の実施形態では、タンパク質性外層（例えば、本明細書に記載される通り）におけるそのような遺伝子エレメントの閉じ込めは、複製不能アネロベクター（例えば、細胞に感染すると、例えば本明細書に記載されるような1つ又は複数のアネロウイルス（*Ane ll o v i r u s*）ORFをコード化する、例えば、1つ又は複数のさらなる構築物の非存在下で、感染した細胞がさらなるアネロベクターを生産することを可能にしないアネロベクター）を生産する。

【0254】

発現カセット

一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物（例えば、バクミド又はドナーベクター）は、ポリペプチド又はノンコーディングRNA（例えば、*miRNA*又は*siRNA*）の発現のための1つ又は複数のカセットを含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、本明細書に記載されるように、エフェクター（例えば、外性又は内在性エフェクター）、例えば、ポリペプチド又はノンコーディングRNAの発現のための、カセットを含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、アネロウイルス（*Ane ll o v i r u s*）タンパク質（例えば、アネロウイルス（*Ane ll o v i r u s*）ORF 1、ORF 2、ORF 2 / 2、ORF 2 / 3、ORF 1 / 1、若しくはORF 1 / 2、又はその機能性断片）の発現のためのカセットを含む。一部の実施形態では、発現カセットは、遺伝子エレメント配列内に位置し得る。複数の実施形態では、エフェクターの発現カセットは、遺伝子エレメント配列内に位置する。複数の実施形態では、アネロウイルス（*Ane ll o v i r u s*）タンパク質の発現カセットは、遺伝子エレメント配列内に位置する。他の実施形態では、発現カセットは、遺伝子エレメントの配列の外側の遺伝子エレメント構築物内の位置（例えば、バックボーン内）に位置する。複数の実施形態では、アネロウイルス（*Ane ll o v i r u s*）タンパク質の発現カセットは、遺伝子エレメントの配列の外側の遺伝子エレメント構築物内の位置（例えば、バックボーン内）に位置する。

【0255】

ポリペプチド発現カセットは、一般に、プロモータと、ポリペプチド、例えばエフェクター（例えば、本明細書に記載されるような外性又は内在性エフェクター）、又はアネロウイルス（*Ane ll o v i r u s*）タンパク質をコード化するコード化配列（例えば、アネロウイルス（*Ane ll o v i r u s*）ORF 1、ORF 2、ORF 2 / 2、ORF 2 / 3、ORF 1 / 1、若しくはORF 1 / 2、又はその機能性断片をコード化する配列）とを含む。ポリペプチド発現カセットに含めることができる（例えば、ポリペプチドの発現を駆動するため）例示的なプロモータとしては、例えば、本明細書に記載されるような、構成的プロモータ（例えば、CMV、RSV、PGK、EF1a、又はSV40）、細胞又は組織特異的プロモータ（例えば、骨格 α -アクチンプロモータ、ミオシン軽鎖2Aプロモータ、ジストロフィンプロモータ、筋クレアチンキナーゼプロモータ、肝臓アルブミンプロモータ、B型肝炎ウイルスコアプロモータ、オステオカルシンプロモータ、骨シアロタンパク質プロモータ、CD2プロモータ、免疫グロブリン重鎖プロモータ、T細胞受容体鎖プロモータ、ニューロン特異的エノラーゼ（NSE）プロモータ、又はニューロフィラメント軽鎖プロモータ）、及び誘導性プロモータ（例えば、亜鉛誘導性ヒツジメタロチオン（MT）プロモータ、デキサメタゾン（Dex）誘導性マウス乳腺腫瘍ウイルス（MMTV）プロモータ；T7ポリメラーゼプロモータシステム、テトラサイクリン

抑制性システム、テトラサイクリン誘導性システム、RU486誘導性システム、ラパマイシン誘導性システム）が挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、発現カセットは、例えば本明細書に記載されるような、エンハンサーをさらに含む。

【0256】

RNAベースの遺伝子エレメントの生産

RNAベースの遺伝子エレメントは、様々な方法によって生産され得る。例えば、DNAを含む遺伝子エレメント構築物は、例えば前述のように、RNAを含む遺伝子エレメントを生産するために転写することができる。転写は、例えば細胞内又は無細胞系で起こり得る。RNAは、例えば固相合成によって、インビトロで合成され得る。

【0257】

タンパク質成分の生産

アネロベクター、例えばORF1のタンパク質成分は、本明細書に記載の様々な方法で生産することができる。

【0258】

バキュロウイルス (Baculovirus) 発現系

ウイルス発現系、例えば、バキュロウイルス (Baculovirus) 発現系は、例えば本明細書に記載されるように、タンパク質を発現するために（例えば、アネロベクターの生産のために）使用され得る。バキュロウイルス (Baculovirus) は、環状のスーパーコイル二本鎖DNAゲノムを有するロッド型ウイルスである。バキュロウイルス (Baculovirus) の属には、アルファバキュロウイルス (Alphabaculovirus) (鱗翅目 (Lepidoptera) から単離された核多角体病ウイルス (Nucleopolyhedrovirus) (NPV))、ベータバキュロウイルス (Betabaculovirus) (鱗翅目 (Lepidoptera) から単離された顆粒ウイルス (Granulovirus) (GV))、ガンマバキュロウイルス (Gamma baculovirus) (膜翅目 (Hymenoptera) から単離されたNPV) 及びデルタバキュロウイルス (Deltabaculovirus) (双翅目 (Diptera) から単離されたNPV) が含まれる。GVは、典型的には、エンベロープごとに1つのヌクレオキャプシドのみを含有するが、NPVは、典型的には、エンベロープごとに単一 (SNPV) 又は複数 (MNPV) のヌクレオキャプシドを含む。包まれたビリオンは、GVではグラニュリンマトリックスに、NPVではポリヘドリンにさらに包埋される。バキュロウイルス (Baculovirus) は、典型的には、溶解性及び包埋性ライフサイクルの両方を有する。一部の実施形態では、溶解性及び包埋性ライフサイクルは、ウイルス複製の3つの段階：初期、後期、及び後後期を通して独立して現れる。一部の実施形態では、初期段階において、ウイルスの宿主細胞への侵入、初期のウイルス遺伝子発現、及び宿主遺伝子発現機構の停止に続いて、ウイルスDNA複製が起こる。一部の実施形態では、後期では、ウイルスDNA複製をコードする後期遺伝子が発現され、ウイルス粒子がアセンブルされ、宿主細胞によって細胞外ウイルス (EV) が生産される。一部の実施形態では、後後期にポリヘドリン及びp10遺伝子が発現され、宿主細胞によって閉塞性ウイルス (OV) が生産され、宿主細胞が溶解される。バキュロウイルス (Baculovirus) は、昆虫種に感染するため、バキュロウイルス (Baculovirus) を許容する昆虫細胞又は幼虫において外性タンパク質を生産するための生物学的薬剤として使用できる。キンウワバ科多核多角体病ウイルス (Autographa californica multiple nuclear polyhedrosis virus) (AcMNPV) 及びカイコ (シルクワーム) 核多角体病ウイルス (Bombyx mori nuclear polyhedrosis virus) (BmNPV) などのバキュロウイルス (Baculovirus) の異なる分離株が外性タンパク質発現に使用され得る。様々なバキュロウイルス発現系が、例えばThermoFisherから、市販されている。

【0259】

一部の実施形態では、本明細書に記載のタンパク質（例えば、アネロウイルス (Ane

10

20

30

40

50

ll virus) ORF分子、例えば、ORF1、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF1／1若しくはORF1／2、又はその機能性断片若しくはスプライス変異体)は、本明細書に記載の1つ又は複数の成分を含むバキュロウイルス(Baculovirus)発現ベクター(例えば、バクミド)を使用して発現され得る。例えば、バキュロウイルス(Baculovirus)発現ベクターは、選択マーカー(例えば、kanR)、複製起点(例えば、細菌の複製起点及び昆虫細胞の複製起点の一方又は両方)、リコンビナーゼ認識部位(例えば、att部位)、及びプロモータの1つ又は複数(例えば、全て)を含み得る。一部の実施形態では、バキュロウイルス(Baculovirus)発現ベクター(例えば、本明細書に記載されるようなバクミド)は、バキュロウイルス(Baculovirus)包埋体をコード化する天然に存在する野生型ポリヘドリン遺伝子を、本明細書に記載のタンパク質をコード化する遺伝子で置換することによって生産することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載のタンパク質をコード化する遺伝子は、バキュロウイルス(Baculovirus)プロモータを含有するバキュロウイルス(Baculovirus)発現ベクター(例えば、本明細書に記載されるようなバクミド)にクローニングされる。一部の実施形態では、バキュロウイルスベクターは、1つ又は複数の非バキュロウイルスプロモータ、例えば、哺乳動物プロモータ又はアネロウイルス(Aneivirus)プロモータを含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のタンパク質をコード化する遺伝子をドナーベクター(例えば、本明細書に記載される通り)にクローニングし、次に、これを、本明細書に記載のタンパク質をコード化する遺伝子がドナーベクターからバキュロウイルス(Baculovirus)発現ベクター(例えば、バクミド)に(例えば、相同組換え又はトランスポザーゼ活性によって)移入されるように、空のバキュロウイルス(Baculovirus)発現ベクター(例えば、空のバクミド)と接触させる。一部の実施形態では、バキュロウイルス(Baculovirus)プロモータは、非必須ポリヘドリン遺伝子座からのバキュロウイルス(Baculovirus)DNAに隣接している。一部の実施形態では、本明細書に記載のタンパク質は、ウイルス複製の後後期でAcNPVポリヘドリンプロモータの転写制御下にある。一部の実施形態では、昆虫細胞におけるバキュロウイルス発現での使用に好適な強力なプロモータには、バキュロウイルス(Baculovirus)p10プロモータ、ポリヘドリン(polh)プロモータ、p6.9プロモータ、及びキャプシドタンパク質プロモータが含まれるが、これらに限定されない。昆虫細胞におけるバキュロウイルス(Baculovirus)発現での使用に好適な弱いプロモータは、バキュロウイルス(Baculovirus)のie1、ie2、ie0、et1、39K(別名pp31)及びgp64プロモータを含む。

10

20

30

40

50

【0260】

一部の実施形態では、組換えバキュロウイルス(Baculovirus)は、バキュロウイルスゲノム(例えば、野生型又は変異型バキュロウイルスゲノム)とトランスファーベクターとの間の相同組換えによって生産される。一部の実施形態では、本明細書に記載のタンパク質をコード化する1つ又は複数の遺伝子がトランスファーベクターにクローニングされる。一部の実施形態では、トランスファーベクターは、非必須遺伝子座、例えばポリヘドリン遺伝子からのDNAが隣接するバキュロウイルス(Baculovirus)プロモータをさらに含有する。一部の実施形態では、本明細書に記載のタンパク質をコード化する1つ又は複数の遺伝子は、バキュロウイルスゲノムとトランスファーベクターとの間の相同組換えによってバキュロウイルスゲノムに挿入される。一部の実施形態では、バキュロウイルスゲノムは、1つ又は複数のユニークな部位で線形化される。一部の実施形態では、線形化部位は、本明細書に記載のタンパク質をコード化する遺伝子をバキュロウイルスゲノムに挿入するための標的部位の近くに位置する。一部の実施形態では、遺伝子、例えばポリヘドリン遺伝子の下流のバキュロウイルスゲノムの断片を欠く線形化されたバキュロウイルスゲノムを、相同組換えに使用することができる。一部の実施形態では、バキュロウイルスゲノム及びトランスファーベクターは、昆虫細胞に同時トランスフェクトされる。一部の実施形態では、組換えバキュロウイルス(Baculovirus)

s)を生産する方法は、本明細書に記載の1つ又は複数のタンパク質をコード化する遺伝子を含むトランスファーベクターで相同組換えを実施するためのバキュロウイルス (Baculovirus) ゲノムを調製するステップと、トランスファーベクター及びバキュロウイルス (Baculovirus) ゲノムDNAを昆虫細胞に同時トランスフェクトするステップとを含む。一部の実施形態では、バキュロウイルスゲノムは、トランスファーベクターの領域と相同な領域を含む。これらの相同領域は、バキュロウイルスゲノムとトランスファーベクターとの間の組換えの確率を高め得る。一部の実施形態では、トランスファーベクターの相同領域は、プロモータの上流又は下流に位置する。一部の実施形態では、相同組換えを誘導するために、バキュロウイルスゲノムとトランスファーベクターを約1:1~10:1の重量比で混合する。

10

【0261】

一部の実施形態では、組換えバキュロウイルス (Baculovirus) は、Tn7 による部位特異的転位を含む方法によって生産され、例えば、それにより、本明細書に記載のタンパク質をコード化する遺伝子がバクミドDNAに挿入され、例えば、細菌、例えば、大腸菌 (E. coli) (例えば、DH10Bac細胞) 内で増殖される。一部の実施形態では、本明細書に記載のタンパク質をコード化する遺伝子をpFASTBAC (登録商標) ベクターにクローニングし、MiniattTn7 標的部位を有するバクミドDNAを含むコンピテント細胞、例えばDH10BAC (登録商標) コンピテント細胞に形質転換する。一部の実施形態では、バキュロウイルス発現ベクター、例えば、pFASTBAC (登録商標) ベクターは、プロモータ、例えば、デュアルプロモータ (例えば、ポリヘドリンプロモータ、p10プロモータ) を有し得る。市販のpFASTBAC (登録商標) ドナープラスミドは、pFASTBAC 1、pFASTBAC HT、及びpFASTBAC DUALを含む。一部の実施形態では、組換えバクミドDNA含有コロニーが同定され、昆虫細胞をトランスフェクトするためにバクミドDNAが単離される。

20

【0262】

一部の実施形態では、バキュロウイルスベクターは、ヘルパー核酸とともに昆虫細胞に導入される。導入は同時であってもよく、連続的であってもよい。一部の実施形態では、ヘルパー核酸は、例えばバキュロウイルスベクターのパッケージングを促進するために、1つ又は複数のバキュロウイルスタンパク質を提供する。

30

【0263】

一部の実施形態では、昆虫細胞内で (例えば、相同組換えによって) 生産された組換えバキュロウイルス (Baculovirus) を増殖させ、組換えタンパク質発現のために昆虫細胞 (例えば、対数増殖期中期) に感染させるために使用する。一部の実施形態では、細菌、例えば、大腸菌 (E. coli) における部位特異的転位によって生産される組換えバクミドDNAを使用して、トランスフェクション剤、例えばCellfectin (登録商標) IIで昆虫細胞をトランスフェクトする。バキュロウイルス (Baculovirus) 発現系に関するさらなる情報は、米国特許出願第14/447,341号、第14/277,892号、及び第12/278,916号明細書で論じられており、これらは参照により本明細書に組み込まれる。

40

【0264】

昆虫細胞系

本明細書に記載のタンパク質は、例えば前述のように、組換えバキュロウイルス (Baculovirus) 又はバクミドDNAで感染又はトランスフェクトされた昆虫細胞において発現され得る。一部の実施形態では、昆虫細胞は、ツマジロクサヨトウ (Spodoptera frugiperda) 由来のSf9及びSf21細胞、並びにイラクサギンウワバ (Trichoplusia ni) 由来のTn-368及びHigh Five (商標) BTI-TN-5B1-4細胞 (Hi5細胞とも呼ばれる) を含む。一部の実施形態では、ツマジロクサヨトウ (Spodoptera frugiperda) の蛹の卵巣に由来する昆虫細胞株Sf21及びSf9を、バキュロウイルス (Baculovirus) 発現系を用いた組換えタンパク質の発現に使用することができる。一部の実

50

施形態では、S f 2 1 及び S f 9 昆虫細胞は、市販の血清添加培地又は無血清培地で培養され得る。昆虫細胞の培養に好適な培地は、Grace's Supplemented (TNM-FH)、IPL-41、TC-100、Schneider's Drosophila、SF-900 II SFM、及びEXPRESS-FIVE (商標) SFMを含む。一部の実施形態では、一部の無血清培地製剤は、培養及び組換えタンパク質生産の両方のために、培養pHを6.0~6.4の範囲に維持するためにリン酸緩衝液系を利用する (Licari et al. Insect cell hosts for baculovirus expression vectors contain endogenous exoglycosidase activity. Biotechnology Progress 9:146-152 (1993) 及び Drugman et al. Insect cells as factories for biomanufacturing. Biotechnology Advances 30:1140-1157 (2012))。一部の実施形態では、様々な昆虫細胞株を培養するために、6.0~6.8のpHが使用され得る。一部の実施形態では、昆虫細胞は、懸濁液中で、又は単層として、25℃~30℃の温度で通気しながら培養される。昆虫細胞に関するさらなる情報は、例えば、米国特許出願第14/564,512号及び第14/775,154号明細書で論じられており、これらはそれぞれ参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0265】

哺乳類細胞系

20

一部の実施形態では、本明細書に記載のタンパク質は、例えば本明細書に記載されるようなタンパク質をコード化するベクターで感染又はトランスフェクトされた動物細胞株においてインビトロで発現され得る。本開示に関連して考慮される動物細胞株として、ブタ細胞株、例えば、不死化ブタ細胞株、例えば、限定はされないが、ブタ腎臓上皮細胞株PK-15及びSK、モノ骨髓細胞株3D4/31及び精巣細胞株STが挙げられる。また、CHO細胞 (チャイニーズハムスター卵巣)、MARC-145、MDBK、RK-13、EELといった他の哺乳動物細胞なども含まれる。これに加えて又は代わって、本発明の方法の特定の実施形態は、上皮細胞株、すなわち、上皮細胞系統の細胞の細胞株である動物細胞株を利用する。本明細書に記載のタンパク質を発現するのに好適な細胞株として、限定はされないが、ヒト又は霊長類由来の細胞株、例えば、ヒト又は霊長類腎臓癌細胞株が挙げられる。

30

【0266】

エフェクター

本明細書に記載される組成物及び方法は、例えば本明細書に記載されるように、エフェクター (例えば、外性エフェクター又は内在性エフェクター) をコード化する配列を含むアネロベクターの遺伝子エレメントを生産するために使用することができる。一部の実施形態では、遺伝子エレメントはエフェクターであり、例えば、遺伝子エレメントは機能性RNAである。エフェクターは、一部の事例では、内在性エフェクター又は外性エフェクターであり得る。一部の実施形態では、エフェクターは、治療用エフェクターである。一部の実施形態では、エフェクターは、ポリペプチド (例えば、本明細書に記載の治療用ポリペプチド又はペプチド) を含む。一部の実施形態では、エフェクターは、ノンコーディングRNA (例えば、miRNA、siRNA、shRNA、mRNA、lncRNA、RNA、DNA、アンチセンスRNA、又はgRNA) を含む。一部の実施形態では、エフェクターは、例えば本明細書に記載されるような、調節核酸を含む。

40

【0267】

インビトロアセンブリ法

アネロベクターは、例えば、インビトロアセンブリによって、生産され得る。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、アセンブリを可能にする条件下で、インビトロでORF1と接触させる。

【0268】

50

一部の実施形態では、バキュロウイルス (Baculovirus) 構築物は、アネロウイルス (Anellovirus) タンパク質を生産するために使用される。次に、これらのタンパク質は、例えば、遺伝子エレメント、例えば、RNAを含む遺伝子エレメントをキャプシドに包むためのインビトロアセンブリに使用され得る。一部の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) タンパク質をコード化するポリヌクレオチドは、宿主細胞、例えば、昆虫又は動物細胞における発現のためにプロモータに融合される。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、バキュロウイルス (Baculovirus) 発現系にクローニングされる。一部の実施形態では、宿主細胞、例えば、昆虫細胞をバキュロウイルス発現系に感染させ、一定期間インキュベートする。一部の実施形態では、感染細胞は、約1、2、3、4、5、10、15、又は20日間インキュベートされる。一部の実施形態では、感染細胞を溶解してアネロウイルス (Anellovirus) タンパク質を回収する。

10

【0269】

一部の実施形態では、単離したアネロウイルス (Anellovirus) タンパク質が精製される。一部の実施形態では、アネロウイルス (Anellovirus) タンパク質は、キレート精製、ヘパリン精製、勾配沈降精製及び／又はSEC精製を含むがこれらに限定されない精製技術を使用して精製される。一部の実施形態では、精製されたアネロウイルス (Anellovirus) タンパク質を遺伝子エレメントと混合して、遺伝子エレメント、例えばRNAを含む遺伝子エレメントをキャプシドで包む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、ORF1タンパク質、ORF2タンパク質、又はそれらの修飾型を使用して包膜される。一部の実施形態では、2つの核酸がキャプシドに包まれている。例えば、第1の核酸はmRNA、例えば、化学的に修飾されたmRNAであってもよく、第2の核酸はDNAであってもよい。

20

【0270】

一部の実施形態では、アネロウイルス (Anellovirus) (AV) ORF1 (例えば、野生型ORF1タンパク質、例えばアセンブリ効率、収量又は安定性を改善するための変異を有する、ORF1タンパク質、キメラORF1タンパク質、又はそれらの断片) をコード化するDNAは、昆虫細胞株 (例えば、Sf9及び／又はHigh Five)、動物細胞株 (例えば、ニワトリ細胞株 (MDCC))、細菌細胞 (例えば、大腸菌 (E. coli)) 及び／又は哺乳動物細胞株 (例えば、293exp1及び／又はMOLT4) において発現される。一部の実施形態では、AV ORF1をコード化するDNAはタグ付けされていない場合がある。一部の実施形態では、AV ORF1をコード化するDNAは、N末端及び／又はC末端に融合されたタグを含有し得る。一部の実施形態では、AV ORF1をコード化するDNAは、例えば免疫染色アッセイ (ELISA又はウエスタンブロットを含むがこれらに限定されない) による、例えば精製及び／又は同一性決定を補助するために、タグを導入するために、ORF1タンパク質内に変異、挿入又は欠失を有し得る。一部の実施形態では、AV ORF1をコード化するDNAは、単独で、又は任意の数のヘルパータンパク質と組み合わせて、発現され得る。一部の実施形態では、AV ORF1をコード化するDNAは、AV ORF2及び／又はORF3タンパク質と組み合わせて発現される。

30

40

【0271】

一部の実施形態では、アセンブリ効率を改善するための変異を保有するORF1タンパク質は、ARGアームのpIを変更し、pH感受性の核酸結合を可能にして粒子アセンブリを誘発するための、N末端アルギニンアーム (ARGアーム) に導入された変異を保有するORF1タンパク質 (配列番号3~5) を含み得るが、これらに限定されない。一部の実施形態では、安定性を改善する変異を保有するORF1タンパク質は、プロトマー表面の疎水性状態を変化させ、キャプシド形成の熱力学的有利性を改善するために、標準的なゼリーロールベータバレルのベータ鎖F及びGに接触するプロトマー間への変異を含み得る。

【0272】

50

一部の実施形態では、キメラORF1タンパク質は、別のキャプシドタンパク質、例えば、嘴羽病ウイルス（Beak and Feather Disease Virus）（BFDV）キャプシドタンパク質、又はE型肝炎キャプシドタンパク質の同等の部分で置換されたその配列の一部又は複数の部分、例えば、BFDVキャプシドタンパク質からの同等の成分で置換されたARGアーム又はRing9 ORF1のF及びGベータ鎖を有する、ORF1タンパク質を含み得るが、これらに限定されない。一部の実施形態では、キメラORF1タンパク質はまた、別のAV ORF1タンパク質の同等の部分で置換されたその配列の一部又は複数の部分（例えば、Ring9 ORF1の同等の部分で置換されたRing2 ORF1のゼリーロール断片又はC末端部分）を有するORF1タンパク質も含み得る。

10

【0273】

一部の実施形態では、本開示は、アネロベクターを作製する方法を記載し、方法は、以下：（a）以下：（i）RNAを含む遺伝子エレメント、及び（ii）ORF1分子を含む混合物を用意するステップ；並びに（b）ORF1分子を含むタンパク質性外層内に遺伝子エレメントを閉じ込めるのに好適な条件下で混合物をインキュベートし、それにより、アネロベクターを作製するステップを含み；任意選択で、混合物は、細胞に含まれない。一部の実施形態では、方法は、（a）を用意する前に、例えば宿主細胞（例えば、昆虫細胞又は哺乳動物細胞）内で、ORF1分子を発現させるステップをさらに含む。一部の実施形態では、発現させるステップは、ORF1分子を生産するのに好適な条件下で、ORF1分子をコード化する核酸分子（例えば、バキュロウイルス発現ベクター）を含む宿主細胞（例えば、昆虫細胞又は哺乳動物細胞）をインキュベートすることを含む。一部の実施形態では、方法は、（a）を用意する前に、宿主細胞によって発現されるORF1分子を精製するステップをさらに含む。一部の実施形態では、方法は、無細胞系で実施される。一部の実施形態では、本開示は、アネロベクター組成物を製造する方法において、以下：（a）先行実施形態のいずれかに記載の複数のアネロベクター又は組成物を用意するステップ；（b）任意選択で、以下：本明細書に記載される混入物、光学密度測定（例えば、OD260）、粒子数（例えば、HPLCにより）、感染力（例えば、粒子：感染単位比、例えば、蛍光及び／又はELISAにより決定される）のうち1つ若しくは複数について複数のアネロソームを評価するステップ；並びに（c）例えば、（b）のパラメータの1つ又は複数が、指定閾値を満たす場合、例えば、被験者への投与に好適な医薬組成物として、複数のアネロベクターを製剤化するステップを含む、方法を記載する。

20

30

【0274】

濃縮及び精製

回収したアネロベクターを精製及び／又は濃縮して、例えば、アネロベクター調製物を生産することができる。一部の実施形態では、回収されたアネロベクターは、例えば、ウイルス粒子を精製するための当技術分野で公知の方法（例えば、沈殿、クロマトグラフィー、及び／又は限外濾過による精製）を使用して、回収溶液中に存在する他の構成要素又は混入物から単離される。一部の実施形態では、回収されたアネロベクターは、アフィニティ精製（例えば、ヘパリンアフィニティ精製）によって精製される。一部の実施形態では、回収されたアネロベクターは、サイズ排除クロマトグラフィー（例えば、トリス緩衝液移動相を使用）によって精製される。一部の実施形態では、回収されたアネロベクターは、陰イオン交換クロマトグラフィー（例えば、Mustang Q膜クロマトグラフィー）によって精製される。一部の実施形態では、回収されたアネロベクターは、混合モードクロマトグラフィー（例えば、混合モード樹脂、例えばCato700樹脂を使用）によって精製される。一部の実施形態では、精製ステップは、調製物から、血清、宿主細胞DNA、宿主細胞タンパク質、遺伝子エレメントを欠いた粒子、及び／又はフェノールレッドを除去することを含む。一部の実施形態では、回収されたアネロベクターは、例えば、ウイルス粒子を濃縮するための当技術分野で公知の方法を使用して、回収溶液中に存在する他の構成要素又は混入物と比較して濃縮される。

40

【0275】

50

一部の実施形態では、得られた調製物又は調製物を含む医薬組成物は、許容される期間及び温度で安定しており、且つ／又は所望の投与経路及び／又はこの投与経路が必要とする任意のデバイス、例えば注射針若しくは注射器と適合性である。

【0276】

II. アネロベクター

一部の態様では、本開示は、アネロベクター、アネロベクター調製物、及び治療用組成物を使用及び作製する組成物及び方法を提供する。一部の実施形態では、アネロベクターは、アネロウイルス (Anellovirus) (例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus)) 又はその断片若しくは部分、或いは他の実質的に非病原性のウイルス、例えば、共生ウイルス、片利共生ウイルス、ネイティブウイルスをベースとする配列、構造、及び／又は機能を含む、1つ又は複数の核酸又はポリペプチドを含む。一部の実施形態では、アネロウイルス (Anellovirus) ベースのアネロベクターは、アネロウイルス (Anellovirus) に対して外性の少なくとも1つのエレメント、例えば、外性エフェクター、又はアネロベクターの遺伝子エレメント内に配置される外性エフェクターをコード化する核酸配列を含む。一部の実施形態では、アネロウイルス (Anellovirus) ベースのアネロベクターは、アネロウイルス (Anellovirus) 由来の別のエレメントとは異種の少なくとも1つのエレメント、例えば、別の連結核酸配列に対して異種であるエフェクターコード化核酸配列、例えばプロモータエレメントなどを含む。一部の実施形態では、アネロベクターは、遺伝子エレメント (例えば、環状DNA、例えば、一本鎖環状DNA) を含み、これは、遺伝子エレメントの残り及び／又はタンパク質性外層 (例えば、本明細書に記載される、例えば、エフェクターをコード化する外性エレメント) に対して外性である少なくとも1つのエレメントを含む。アネロベクターは、宿主、例えば、ヒトへのペイロードの送達ビヒクル (例えば、実質的に非病原性送達ビヒクル) であってもよい。一部の実施形態では、アネロベクターは、真核細胞、例えば、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞中で複製することができる。一部の実施形態では、アネロベクターは、哺乳動物 (例えば、ヒト) 細胞において、実質的に非病原性であり、且つ／又は実質的に非総合作用性である。一部の実施形態では、アネロベクターは、哺乳動物、例えば、ヒトにおいて、実質的に非免疫原性である。一部の実施形態では、アネロベクターは、複製欠損である。一部の実施形態では、アネロベクターは、複製可能である。

【0277】

一部の実施形態では、アネロベクターは、本明細書にその全体が参照により組み込まれる、PCT出願番号：米国特許第2018/037379号明細書に記載されているように、クロン、又はその成分 (例えば、エフェクターをコード化する配列、及び／又はタンパク質性外層を含む、例えば、遺伝子エレメント) を含む。一部の実施形態では、アネロベクターは、本明細書にその全体が参照により組み込まれる、PCT出願番号第PCT/US19/65995号明細書に記載されているように、アネロベクター、又はその成分 (例えば、エフェクターをコード化する配列、及び／又はタンパク質性外層を含む、例えば、遺伝子エレメント) を含む。

【0278】

一態様では、本発明は、以下：(i) プロモータエレメントと、エフェクター (例えば、内在性エフェクター又は外性エフェクター、例えば、ペイロード) をコード化する配列と、タンパク質結合配列 (例えば、外部タンパク質結合配列、例えば、パッケージングシグナル) と、を含む遺伝子エレメントであって、遺伝子エレメントが、一本鎖DNAであり、さらには、以下の特性：環状である、且つ／又は細胞に進入する遺伝子エレメントの約0.001%、0.005%、0.01%、0.05%、0.1%、0.5%、1%、1.5%、若しくは2%未満の頻度で、真核細胞のゲノム中に組み込まれる、の一方又は両方を有する、遺伝子エレメント；並びに(ii) タンパク質性外層を含むアネロベクターを含み、ここで、遺伝子エレメントは、タンパク質性外層内に閉じ込められており；且つアネロベクターは、遺伝子エレメントを真核細胞内に送達することができる。

【0279】

本明細書に記載されるアネロベクターの一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、細胞に進入する遺伝子エレメントの約0.001%、0.005%、0.01%、0.05%、0.1%、0.5%、1%、1.5%、若しくは2%未満の頻度で組み込まれる。一部の実施形態では、被験者に投与される複数のアネロベクターからの約0.01%、0.05%、0.1%、0.5%、1%、2%、3%、4%、若しくは5%未満の遺伝子エレメントが、被験者の1つ又は複数の宿主細胞のゲノムに組み込まれる。一部の実施形態では、例えば、本明細書に記載の通り、アネロベクターの集団の遺伝子エレメントは、AAVウイルスの同等集団の頻度よりも低い頻度で、例えば、AAVウイルスの同等集団の頻度より約50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、若しくはそれ以上低い頻度で、宿主細胞のゲノムに組み込まれる。

10

【0280】

一態様では、本発明は、以下：(i) プロモータエレメントと、エフェクター（例えば、内在性エフェクター又は外性エフェクター、例えば、ペイロード）をコード化する配列と、タンパク質結合配列（例えば、外部タンパク質結合配列）と、を含む遺伝子エレメントであって、遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）配列（例えば、野生型トルク・テノウイルス（*Torque Teno virus*）（TTV）、トルク・テノミニウイルス（*Torque Teno mini virus*）（TTMV）、又はTTMDV配列、例えば、本明細書に記載の野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）配列）に対して少なくとも75%（例えば、少なくとも75、76、77、78、79、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、若しくは100%）の配列同一性を有する遺伝子エレメント；及び(ii) タンパク質性外層を含むアネロベクターを含み、ここで、遺伝子エレメントは、タンパク質性外層内に閉じ込められており；且つアネロベクターは、遺伝子エレメントを真核細胞内に送達することができる。

20

【0281】

一態様では、本発明は、以下：

a) (i) 非病原性外部タンパク質をコード化する配列と、(ii) 非病原性外部タンパク質に遺伝子エレメントを結合させる外部タンパク質結合配列と、(iii) エフェクター（例えば、内在性又は外性エフェクター）をコード化する配列と、を含む遺伝子エレメント；及び

30

b) 遺伝子エレメントと結合される、例えば、これを包膜又は閉じ込めるタンパク質性外層を含むアネロベクターを含む。

【0282】

一部の実施形態では、アネロベクターは、非包膜、環状、一本鎖DNAウイルス由来の（又はそれに対して>70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、100%の相同性を有する）配列若しくは発現産物を含む。動物環状一本鎖DNAウイルスは、一般に、真核非植物宿主に感染し、環状ゲノムを有する一本鎖DNA（ssDNA）の亜群を指す。従って、動物環状ssDNAウイルスは、原核生物に感染するssDNAウイルス（すなわち、ミクロウイルス科（*Microviridae*）及びイノウイルス科（*Inoviridae*））、並びに植物に感染するssDNAウイルス（すなわち、ジェミニウイルス科（*Geminiviridae*）及びナノウイルス科（*Nanoviridae*））から識別可能である。これらはまた、非植物真核細胞に感染する線状ssDNAウイルス（すなわち、パルボウイルス科（*Parvoviridae*））からも識別可能である。

40

【0283】

一部の実施形態では、アネロベクターは、宿主細胞の機能を例えば、一過性又は長期に調節する。いくつかの実施形態では、細胞の機能は安定に改変され、例えば、調節は少なくとも約1時間～約30日、又は少なくとも約2時間、6時間、12時間、18時間、2

50

4 時間、2 日、3 日、4 日、5 日、6 日、7 日、8 日、9 日、10 日、11 日、12 日、13 日、14 日、15 日、16 日、17 日、18 日、19 日、20 日、21 日、22 日、23 日、24 日、25 日、26 日、27 日、28 日、29 日、30 日、60 日、若しくはそれ以上又はこれらの間の任意の時間にわたって持続する。いくつかの実施形態では、細胞の機能は、一過性改変され、例えば、調節は、約 30 分～約 7 日以下、又は約 1 時間、2 時間、3 時間、4 時間、5 時間、6 時間、7 時間、8 時間、9 時間、10 時間、11 時間、12 時間、13 時間、14 時間、15 時間、16 時間、17 時間、18 時間、19 時間、20 時間、21 時間、22 時間、24 時間、36 時間、48 時間、60 時間、72 時間、4 日、5 日、6 日、7 日以下、又はこれらの間の任意の時間にわたって持続する。

【0284】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、プロモータエレメントを含む。複数の実施形態では、プロモータエレメントは、RNA ポリメラーゼ II 依存性プロモータ、RNA ポリメラーゼ III 依存性プロモータ、PGK プロモータ、CMV プロモータ、EF-1 α プロモータ、SV40 プロモータ、CAGG プロモータ、又は UBC プロモータ、TTV ウイルスプロモータ、アクチベータタンパク質 (TetR-VP16、Gal4-VP16、dCas9-VP16 など) の上流 DNA 結合部位を有する組織特異的、U6 (polsII) 、最小 CMV プロモータから選択される。複数の実施形態では、プロモータエレメントは、TATA ボックスを含む。複数の実施形態では、プロモータエレメントは、例えば、本明細書に記載される野生型アネロウイルス (Anellovirus) に対して内在性である。

【0285】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、以下の特徴：一本鎖、環状、マイナス鎖、及び／又は DNA のうち 1 つ又は複数を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、エピソームを含む。一部の実施形態では、エフェクターを除く遺伝子エレメントの部分は、約 2.5～5 kb (例えば、約 2.8～4 kb、約 2.8～3.2 kb、約 3.6～3.9 kb、又は約 2.8～2.9 kb)、約 5 kb 未満 (例えば、約 2.9 kb、3.2 kb、3.6 kb、3.9 kb、若しくは 4 kb 未満)、又は少なくとも 100 ヌクレオチド (例えば、少なくとも 1 kb) の合計サイズを有する。

【0286】

一部の実施形態では、アネロベクター、又はアネロベクターに含まれる遺伝子エレメントを細胞 (例えば、ヒト細胞) に導入する。一部の実施形態では、例えば、アネロベクター又は遺伝子エレメントが細胞に一旦導入されると、例えば、アネロベクターの遺伝子エレメントによりコード化されたエフェクター (例えば、RNA、例えば、miRNA) は、細胞 (例えば、ヒト細胞) において発現される。一部の実施形態では、アネロベクター、又はそこに含まれる遺伝子エレメントの細胞への導入は、例えば、細胞による標的分子の発現レベルを改変することによって、細胞中の標的分子 (例えば、標的核酸、例えば、RNA、若しくは標的ポリペプチド) のレベルを調節 (例えば、増大若しくは低減) する。複数の実施形態では、アネロベクター、又はそこに含まれる遺伝子エレメントの導入は、細胞により産生されたインターフェロンのレベルを低減する。一部の実施形態では、アネロベクター、又はそこに含まれる遺伝子エレメントの細胞への導入は、細胞の機能を調節 (例えば、増大若しくは低減) する。複数の実施形態では、アネロベクター、又はそこに含まれる遺伝子エレメントの細胞への導入は、細胞の生存能を調節 (例えば、増大若しくは低減) する。複数の実施形態では、アネロベクター、又はそこに含まれる遺伝子エレメントの細胞への導入は、細胞 (例えば、癌細胞) の生存能を低減する。

【0287】

一部の実施形態では、本明細書に記載のアネロベクター (例えば、合成アネロベクター) は、70% 未満の抗体陽性率 (例えば、約 60%、50%、40%、30%、20%、若しくは 10% 未満の抗体陽性率) を誘導する。複数の実施形態では、抗体陽性率は、当技術分野で公知の方法に従って測定される。複数の実施形態では、抗体陽性率は、例えば、Tsuda et al. (1999; J. Virol. Methods 77:19

10

20

30

40

50

9-206；参照により本明細書に組み込まれる）に記載される抗TTV抗体検出法及び／又はKakkola et al.（2008；Virology 382：182-189；参照により本明細書に組み込まれる）に記載される抗TTV IgG血清陽性率を決定する方法に従って、生体サンプル中のアネロウイルス（Anellovirus）（例えば、本明細書に記載の通り）又はそれに基づくアネロベクターに対する抗体を検出することにより測定される。さらに、アネロウイルス（Anellovirus）又はそれに基づくアネロベクターに対する抗体は、抗ウイルス抗体を検出するための当技術分野の方法、例えば、Calcedo et al.（2013；Front. Immunol. 4（341）：1-7；参照により本明細書に組み込まれる）に記載される抗AAV抗体を検出する方法により検出することもできる。

10

【0288】

一部の実施形態では、複製欠損、複製欠陥、又は複製不全遺伝子エレメントは、遺伝子エレメントの複製に必要な機構又は成分の全てをコード化しない。一部の実施形態では、複製欠損遺伝子エレメントは、複製因子をコード化しない。一部の実施形態では、複製欠損遺伝子エレメントは、1つ若しくは複数のORF（例えば、本明細書に記載される、例えば、ORF1、ORF1／1、ORF1／2、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、及び／又はORF2 t／3）をコード化しない。一部の実施形態では、遺伝子エレメントによってコード化されない機構又は成分は、トランスで提供されて（例えば、宿主細胞に含まれる核酸中にコード化される、例えば、宿主細胞のゲノム中に組み込まれる）、例えば、それにより、遺伝子エレメントは、transで提供された機構又は成分の存在下で複製を経ることができる。

20

【0289】

一部の実施形態では、パッケージング欠損、パッケージング欠陥、又はパッケージング不能遺伝子エレメントは、タンパク質性外層中にパッケージングされることができない（例えば、ここで、タンパク質性外層は、例えば、本明細書に記載のORF1核酸によりコード化されるポリペプチドを含む、キャプシド若しくはその部分を含む）。一部の実施形態では、パッケージング欠損遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス（Anellovirus）（例えば、本明細書に記載される通り）と比較して、10％未満（例えば、10％、9％、8％、7％、6％、5％、4％、3％、2％、1％、0.5％、0.1％、0.01％、若しくは0.001％未満）の効率でタンパク質性外層中にパッケージングされる。一部の実施形態では、パッケージング欠損遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス（Anellovirus）（例えば、本明細書に記載される通り）の遺伝子エレメントのパッケージングを可能にする因子（例えば、ORF1、ORF1／1、ORF1／2、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、若しくはORF2 t／3）の存在下であっても、タンパク質性外層中にパッケージングされることができない。一部の実施形態では、パッケージング欠損遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス（Anellovirus）（例えば、本明細書に記載される通り）の遺伝子エレメントのパッケージングを可能にする因子（例えば、ORF1、ORF1／1、ORF1／2、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、若しくはORF2 t／3）の存在下でも、野生型アネロウイルス（Anellovirus）（例えば、本明細書に記載される通り）と比較して、10％

30

40

【0290】

一部の実施形態では、パッケージング可能遺伝子エレメントは、タンパク質性外層中にパッケージングされ得る（例えば、ここで、タンパク質性外層は、例えば、本明細書に記載のORF1核酸によりコード化されるポリペプチドを含む、キャプシド若しくはその部分を含む）。一部の実施形態では、パッケージング可能遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス（Anellovirus）（例えば、本明細書に記載される通り）と比較して、少なくとも20％（例えば、少なくとも20％、30％、40％、50％、60％、

50

70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、100%、若しくはそれ以上)の効率でタンパク質性外層中にパッケージングされる。一部の実施形態では、パッケージング可能遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス (Anellovirus) (例えば、本明細書に記載される通り)の遺伝子エレメントのパッケージングを可能にする因子 (例えば、ORF1、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、若しくはORF2t/3)の存在下で、タンパク質性外層中にパッケージングされ得る。一部の実施形態では、パッケージング可能遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス (Anellovirus) (例えば、本明細書に記載される通り)の遺伝子エレメントのパッケージングを可能にする因子 (例えば、ORF1、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、若しくはORF2t/3)の存在下、野生型アネロウイルス (Anellovirus) (例えば、本明細書に記載される通り)と比較して、少なくとも20% (例えば、少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、100%、若しくはそれ以上)の効率でタンパク質性外層中にパッケージングされる。

10

【0291】

アネロウイルス (Anellovirus)

一部の実施形態では、例えば、本明細書に記載のアネロベクターは、アネロウイルス (Anellovirus)由来の配列又は発現産物を含む。一部の実施形態では、アネロベクターは、アネロウイルス (Anellovirus)に対して外性の1つ若しくは複数の配列又は発現産物を含む。一部の実施形態では、アネロベクターは、アネロウイルス (Anellovirus)に対して内在性の1つ若しくは複数の配列又は発現産物を含む。一部の実施形態では、アネロベクターは、アネロベクター中の1つ若しくは複数の他の配列又は発現産物に対して異種である1つ若しくは複数の配列又は発現産物を含む。アネロウイルス (Anellovirus)は一般に、負極性を有する一本鎖環状DNAゲノムを有する。

20

【0292】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、アミノ酸配列若しくはその機能性断片、又は本明細書に記載されるアミノ酸配列のいずれか1つ、例えば、アネロウイルス (Anellovirus)アミノ酸配列に対して、少なくとも60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する配列をコード化する核酸配列を含む。

30

【0293】

一部の実施形態では、本明細書に記載のアネロベクターは、例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus)配列、又はその断片に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する配列を含む1つ若しくは複数の核酸分子 (例えば、本明細書に記載される遺伝子エレメント)を含む。

【0294】

一部の実施形態では、本明細書に記載のアネロベクターは、例えば本明細書に記載されるような、アネロウイルス (Anellovirus)の1つ又は複数のTATAボックス、キャップ部位、開始エレメント、転写開始部位、5'UTR保存ドメイン、ORF1、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF2t/3、3オープンリーディングフレーム領域、ポリ(A)シグナル、GCリッチ領域、又はこれらの任意の組合せに対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する配列を含む1つ又は複数の核酸分子 (例えば、本明細書に記載の遺伝子エレメント)を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、キャプシドタンパク質をコード化する配列、例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus)のいずれかのORF1、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF2t/

40

50

3 配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 タンパク質 (又はスプライス変異体若しくはその機能性断片) 又はアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 核酸によりコード化されるポリペプチドに対して、少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキャプシドタンパク質をコード化する配列を含む。

【0295】

複数の実施形態では、核酸分子は、表 A1 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 核酸配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 A1 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 / 1 ヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 A1 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 / 2 ヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 A1 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2 ヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 A1 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2 / 2 ヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 A1 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2 / 3 ヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 A1 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2 t / 3 ヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 A1 のアネロウイルス (Anellovirus) TATA ボックスヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 A1 のアネロウイルス (Anellovirus) イニシエータエレメントヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 A1 のアネロウイルス (Anellovirus) 転写開始部位ヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 A1 のアネロウイルス (Anellovirus) 5' UTR 保存ドメインヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 A1 のアネロウイルス (Anellovirus) 3 オープンリーディングフレーム領域ヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 A1 のアネロウイルス (Anellovirus) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、

10

20

30

40

50

核酸分子は、表 A 1 のアネロウイルス (Anellovirus) GCリッチヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。

【0296】

複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 核酸配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 1 ヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 2 ヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 ヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 2 ヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 3 ヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 のアネロウイルス (Anellovirus) TATA ボックスヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 のアネロウイルス (Anellovirus) イニシエータエレメントヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 のアネロウイルス (Anellovirus) 転写開始部位ヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 のアネロウイルス (Anellovirus) 5' UTR 保存ドメインヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 のアネロウイルス (Anellovirus) 3 オープンリーディングフレーム領域ヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 のアネロウイルス (Anellovirus) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 のアネロウイルス (Anellovirus) GCリッチヌクレオチド配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。

【0297】

複数の実施形態では、核酸分子は、表 C 1 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 核酸配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、9

10

20

30

40

50

5 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 / 1ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 / 2ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2 / 2ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2 / 3ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) TAI Pヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) TATAボックスヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) イニシエータエレメントヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) 転写開始部位ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) 5' UTR保存ドメインヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) 3オープンリーディングフレーム領域ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) GCリッチヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。

【0298】

複数の実施形態では、核酸分子は、表D1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1核酸配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表D1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 / 1ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %

、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表D1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/2ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表D1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表D1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/2ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表D1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/3ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表D1のアネロウイルス (Anellovirus) TAIPヌクレオチド配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表D1のアネロウイルス (Anellovirus) TATAボックスヌクレオチド配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表D1のアネロウイルス (Anellovirus) イニシエータエレメントヌクレオチド配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表D1のアネロウイルス (Anellovirus) 転写開始部位ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表D1のアネロウイルス (Anellovirus) 5'UTR保存ドメインヌクレオチド配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表D1のアネロウイルス (Anellovirus) 3オープンリーディングフレーム領域ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表D1のアネロウイルス (Anellovirus) ポリ(A)シグナルヌクレオチド配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表D1のアネロウイルス (Anellovirus) GCリッチヌクレオチド配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【0299】

複数の実施形態では、核酸分子は、表E1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1核酸配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表E1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/1ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表E1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/2ヌクレオチド配列に対して少なくとも約7

0 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表E1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表E1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2 / 2ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表E1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2 / 3ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表E1のアネロウイルス (Anellovirus) TAIPヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表E1のアネロウイルス (Anellovirus) TATAボックスヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表E1のアネロウイルス (Anellovirus) イニシエータエレメントヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表E1のアネロウイルス (Anellovirus) 転写開始部位ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表E1のアネロウイルス (Anellovirus) 5' UTR保存ドメインヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表E1のアネロウイルス (Anellovirus) 3オープンリーディングフレーム領域ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表E1のアネロウイルス (Anellovirus) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表E1のアネロウイルス (Anellovirus) GCリッチヌクレオチド配列に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する核酸配列を含む。

【0300】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、アミノ酸配列若しくはその機能性断片、又は本明細書に記載されるアミノ酸配列のいずれか1つ、例えば、アネロウイルス (Anellovirus) アミノ酸配列に対して、少なくとも60 %、70 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は100 %の配列同一性を有する配列をコード化する核酸配列を含む。

【0301】

一部の実施形態では、本明細書に記載のアネロベクターは、例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列、又はその断片に対して少なくとも70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有する配列を含む1つ若しくは複数の核酸分子 (例えば、本明細書に記載される遺伝子エレメント) を含む。複数の実施形態において、アネロベ

クターは、表 A 1 ~ M 2 のいずれかに示される配列から選択される核酸配列、又はそれに対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する配列を含む。複数の実施形態において、アネロソームは、表 A 2 ~ M 2 のいずれかに示される配列、又はそれに対して少なくとも 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する配列を含むポリペプチドを含む。

【0302】

一部の実施形態では、本明細書に記載のアネロベクターは、本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) のいずれか (例えば、表 A ~ M のいずれかにアノテートした、又はそこに挙げた 1 配列によりコード化されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列) の 1 つ又は複数の T A T A ボックス、開始要素、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR 保存ドメイン、ORF 1、ORF 1 / 1、ORF 1 / 2、ORF 2、ORF 2 / 2、ORF 2 / 3、ORF 2 t / 3、3 オープンリーディングフレーム領域、ポリ (A) シグナル、GC リッチ領域、又はこれらの任意の組合せに対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する配列を含む 1 つ又は複数の核酸分子 (例えば、本明細書に記載の遺伝子エレメント) を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、キャプシドタンパク質をコード化する配列、例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) のいずれか (例えば、表 A ~ M のいずれかにアノテートした、又はそこに挙げた 1 配列によりコード化されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列) の ORF 1、ORF 1 / 1、ORF 1 / 2、ORF 2、ORF 2 / 2、ORF 2 / 3、ORF 2 t / 3 配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、アネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 又は ORF 2 タンパク質に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列 (例えば、表 A ~ M のいずれかに示す ORF 1 若しくは ORF 2 アミノ酸配列、又は表 A 1 ~ M 1 のいずれかに示す核酸配列によりコード化される ORF 1 若しくは ORF 2 アミノ酸配列) を含むキャプシドタンパク質をコード化する配列を含む。複数の実施形態において、核酸分子は、アネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 タンパク質に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列 (例えば、表 A 2 ~ M 2 のいずれかに示される ORF 1 アミノ酸配列、又は表 A 1 ~ M 1 のいずれかに示される核酸配列によりコード化される ORF 1 アミノ酸配列) を含むキャプシドタンパク質をコード化する配列を含む。

【0303】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるようなアネロベクターは、キメラアネロベクターである。一部の実施形態では、キメラアネロベクターは、アネロウイルス (Anellovirus) 以外のウイルスに由来する 1 つ又は複数のエレメント、ポリペプチド、又は核酸をさらに含む。

【0304】

複数の実施形態では、キメラアネロベクターは、複数の異なるアネロウイルス (Anellovirus) に由来する配列 (例えば、本明細書に記載される通り) を含む複数のポリペプチド (例えば、アネロウイルス (Anellovirus) ORF 1、ORF 1 / 1、ORF 1 / 2、ORF 2、ORF 2 / 2、ORF 2 / 3、及び / 又は ORF 2 t / 3) を含む。例えば、キメラアネロベクターは、1 つのアネロウイルス (Anellovirus) 由来の ORF 1 分子 (例えば、Ring 1 ORF 1 分子、又はそれと少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸配列同一性を有する ORF 1 分子)、及び異なるアネロウイルス (Anellovirus) 由来の ORF 2 分子 (例えば、Ring 2 ORF 2 分子、又はそれと少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % のアミノ酸配列同一性を有する ORF 2 分子) を含む得る。別の例では、キメラ

アネロベクターは、1つのアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 由来の第1のORF1分子 (例えば、Ring1 ORF1分子、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸配列同一性を有するORF1分子)、及び異なるアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 由来の第2のORF1分子 (例えば、Ring2 ORF1分子、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸配列同一性を有するORF1分子) を含み得る。

【0305】

一部の実施形態では、アネロベクターは、例えば、アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) からの少なくとも1つの部分 (例えば、本明細書に記載される通り) と、異なるウイルスからの少なくとも1つの部分 (例えば、本明細書に記載される通り) とを含む、キメラポリペプチド (例えば、アネロウイルスORF1、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、及び/又はORF2t/3) を含む。

【0306】

一部の実施形態では、アネロベクターは、例えば、1つのアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) からの少なくとも1つの部分 (例えば、本明細書に記載される通り) と、異なるアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) からの少なくとも1つの部分 (例えば、本明細書に記載される通り) とを含む、キメラポリペプチド (例えば、アネロウイルスORF1、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、及び/又はORF2t/3) を含む。複数の実施形態では、アネロベクターは、1つのアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 由来のORF1分子 (例えば、本明細書に記載される通り)、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸配列同一性を有するORF1分子の少なくとも一部、及び異なるアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 由来のORF1分子 (例えば、本明細書に記載される通り)、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸配列同一性を有するORF1分子の少なくとも一部を含む、キメラORF1分子を含む。複数の実施形態では、キメラORF1分子は、1つのアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 由来のORF1ゼリーロールドメイン、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有する配列、及び異なるアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 由来のORF1アミノ酸部分配列 (例えば、本明細書に記載される通り)、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有する配列を含む。複数の実施形態では、キメラORF1分子は、1つのアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 由来のORF1アルギニンリッチ領域、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有する配列、及び異なるアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 由来のORF1アミノ酸部分配列 (例えば、本明細書に記載される通り)、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有する配列を含む。複数の実施形態では、キメラORF1分子は、1つのアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 由来のORF1超可変ドメイン、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有する配列、及び異なるアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 由来のORF1アミノ酸部分配列 (例えば、本明細書に記載される通り)、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有する配列を含む。複数の実施形態では、キメラORF1分子は、1つのアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 由来のORF1 N22ドメイン、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有する配列、及び異なるアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 由来のORF1アミノ酸部分配列 (例えば、本明細書に記載される通り)、又はそれと少なく

10

20

30

40

50

とも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有する配列を含む。複数の実施形態では、キメラORF1分子は、1つのアネロウイルス（Anellovirus）由来のORF1 C末端ドメイン、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有する配列、及び異なるアネロウイルス（Anellovirus）由来のORF1アミノ酸部分配列（例えば、本明細書に記載される通り）、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有する配列を含む。

【0307】

複数の実施形態では、アネロベクターは、1つのアネロウイルス（Anellovirus）由来のORF1／1分子（例えば、本明細書に記載される通り）、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸配列同一性を有するORF1／1分子の少なくとも一部、及び異なるアネロウイルス（Anellovirus）由来のORF1／1分子（例えば、本明細書に記載される通り）、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸配列同一性を有するORF1／1分子の少なくとも一部を含む、キメラORF1／1分子を含む。複数の実施形態では、アネロベクターは、1つのアネロウイルス（Anellovirus）由来のORF1／2分子（例えば、本明細書に記載される通り）、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸配列同一性を有するORF1／2分子の少なくとも一部、及び異なるアネロウイルス（Anellovirus）由来のORF1／2分子（例えば、本明細書に記載される通り）、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸配列同一性を有するORF1／2分子の少なくとも一部を含む、キメラORF1／2分子を含む。複数の実施形態では、アネロベクターは、1つのアネロウイルス（Anellovirus）由来のORF2分子（例えば、本明細書に記載される通り）、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸配列同一性を有するORF2分子の少なくとも一部、及び異なるアネロウイルス（Anellovirus）由来のORF2分子（例えば、本明細書に記載される通り）、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸配列同一性を有するORF2分子の少なくとも一部を含む、キメラORF2分子を含む。複数の実施形態では、アネロベクターは、1つのアネロウイルス（Anellovirus）由来のORF2／2分子（例えば、本明細書に記載される通り）、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸配列同一性を有するORF2／2分子の少なくとも一部、及び異なるアネロウイルス（Anellovirus）由来のORF2／2分子（例えば、本明細書に記載される通り）、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸配列同一性を有するORF2／2分子の少なくとも一部を含む、キメラORF2／2分子を含む。複数の実施形態では、アネロベクターは、1つのアネロウイルス（Anellovirus）由来のORF2／3分子（例えば、本明細書に記載される通り）、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸配列同一性を有するORF2／3分子の少なくとも一部、及び異なるアネロウイルス（Anellovirus）由来のORF2／3分子（例えば、本明細書に記載される通り）、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のア

10

20

30

40

50

ミノ酸配列同一性を有するORF2T／3分子の少なくとも一部、及び異なるアネロウイルス（Anellovirus）由来のORF2T／3分子（例えば、本明細書に記載される通り）、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸配列同一性を有するORF2T／3分子の少なくとも一部を含む、キメラORF2T／3分子を含む。

【0308】

その中に含まれる配列又は部分配列が本明細書に記載される組成物及び方法において利用され得る追加の例示的なアネロウイルス（Anellovirus）ゲノムは、例えば、PCT出願番号第PCT／US2018／037379号明細書及び第PCT／US19／65995号明細書（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）に記載される。一部の実施形態では、例示的なアネロウイルス（Anellovirus）配列は、参照により本明細書に組み込まれる第PCT／US19／65995号明細書の表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、又は17のいずれかに列挙される核酸配列を含む。一部の実施形態では、例示的なアネロウイルス（Anellovirus）配列は、参照により本明細書に組み込まれる第PCT／US19／65995号明細書の表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、又は18のいずれかに列挙されるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、例示的なアネロウイルス（Anellovirus）配列は、例えば、参照により本明細書に組み込まれる第PCT／US19／65995号明細書の表21、23、25、27、29、31、33、35、D2、D4、のD6、D8、D10、又は37A～37Cのいずれかに列挙されるような、ORF1分子配列、又はそれをコード化する核酸配列を含む。

【0309】

10

20

30

40

50

【表 3 1】

表 A1. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*)核酸配列 (アルファトルクウイルス (*Alphatorquevirus*), クレード 3)

名称	Ring1
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>), クレード 3
アクセッション番号	AJ620231.1
全配列: 3753 bp	

1	10	20	30	40	50	10
TGCTACGTCACCTAACCCACGTGTCCTCTACAGGCCAATCGCAGTCTATGT						
CGTGCACCTCCTGGGCATGGTCTACATAATTATATAAATGCTTGCACTTC						
CGAATGGCTGAGTTTTTGTGCGCCGTCCGCGGAGAGGAGCCACGGCAGGG						
GATCCGAACGTCCTGAGGGCGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGAAG						
TCAAGGGGCAATTCGGGCTCAGGACTGGCCGGGCTTTGGGCAAGGCTCTT						
AAAAATGCACCTTTTCTCGAATAAGCAGAAAGAAAAGGAAAGTGCTACTGC						20
TTTGCGTGCCAGCAGCTAAGAAAAAACCACTGCTATGAGCTTCTGGAAA						
CCTCCGGTACACAATGTCACGGGGATCCAACGCATGTGGTATGAGTCCTT						
TCACCGTGCCACGCTTCTTTTGTGGTTGTGGGAATCCTATACTTCACA						
TTACTGCACCTTGCTGAAACATATGGCCATCCAACAGGCCCGAGACCTTCT						
GGGCCACCGGGAGTAGACCCCAACCCCAACATCCGTAGAGCCAGGCCTGC						
CCCGGCCGCTCCGGAGCCCTCACAGGTTGATTTCGAGACCAGCCCTGACAT						
GGCATGGGGATGGTGGAAGCGACGGAGGCGCTGGTGGTTCCGGAAGCGGT						
GGACCCGTGGCAGACTTCGCAGACGATGGCCTCGATCAGCTCGTCGCCGC						
CCTAGACGACGAAGAGTAAGGAGGCGCAGACGGTGGAGGAGGGGGAGACG						
AAAAACAAGGACTTACAGACGCAGGAGACGCTTTAGACGCAGGGGACGAA						30

【 0 3 1 0 】

【表 3 2】

AAGCAAACTTATAATAAACTGTGGCAACCTGCAGTAATTAAAAGATGC
AGAATAAAGGGATACATACCACTGATTATAAGTGGGAACGGTACCTTTGC
CACAACTTTACCAGTCACATAAATGACAGAATAATGAAAGGCCCTTCG
GGGGAGGACACAGCACTATGAGGTTTCAGCCTCTACATTTTGTGGAGGAG
CACCTCAGACACATGAACTTCTGGACCAGAAGCAACGATAACCTAGAGCT
AACCAGATACTTGGGGGCTTCAGTAAAAATATACAGGCACCCAGACCAAG
ACTTTATAGTAATATACAACAGAAGAACCCTCTAGGAGGCAACATCTAC
ACAGCACCTCTCTACACCCAGGCAATGCCATTTTAGCAAAACACAAAAT
ATTAGTACCAAGTTTACAGACAAGACCAAAGGGTAGAAAAGCAATTAGAC
TAAGAATAGCACCCCCACACTCTTTACAGACAAGTGGTACTTTCAAAG
GACATAGCCGACCTCACCTTTTCAACATCATGGCAGTTGAGGCTGACTT
GCGGTTTCCGTTCTGCTCACCACAACTGACAACACTTGCATCAGCTTCC
AGGTCCTTAGTTCGGTTTACAACAACCTACCTCAGTATTAATACCTTTAAT
AATGACAACCTCAGACTCAAAGTTAAAAGAATTTTAAATAAAGCATTTCC
AACAACAGGCACAAAAGGAACAAGTTTAAATGCACTAAATACATTTAGAA
CAGAAGGATGCATAAGTCACCCACAACATAAAAAACCAAACCCACAAATA
AACAAACCATTAGAGTCACAATACTTTGCACCTTTAGATGCCCTCTGGGG
AGACCCCATATACTATAATGATCTAAATGAAAACAAAAGTTTGAACGATA
TCATTGAGAAAATACTAATAAAAAACATGATTACATACCATGCAAACTA
AGAGAATTTCCAAATTCATACCAAGGAAACAAGGCCTTTTGCCACCTAAC
AGGCATATACAGCCCACCATACCTAAACCAAGGCAGAATATCTCCAGAAA
TATTTGGACTGTACACAGAAATAATTTACAACCCTTACACAGACAAAGGA
ACTGGAAACAAAGTATGGATGGACCCACTAACTAAAGAGAACAACATATA
TAAAGAAGGACAGAGCAAATGCCTACTGACTGACATGCCCTATGGACTT
TACTTTTTGGATATACAGACTGGTGTAAGGACACTAATAACTGGGAC
TTACCACTAACTACAGACTAGTACTAATATGCCCTTATACCTTTCCAAA
ATTGTACAATGAAAAAGTAAAAGACTATGGGTACATCCCGTACTCCTACA
AATTCGGAGCGGGTCAGATGCCAGACGGCAGCAACTACATACCTTTTCAG
TTTAGAGCAAAGTGGTACCCACAGTACTACACCAGCAACAGGTAATGGA
GGACATAAGCAGGAGCGGGCCCTTTGCACCTAAGGTAGAAAACCAAGCA
CTCAGCTGGTAATGAAGTACTGTTTAACTTTAACTGGGGCGGTAACCCT
ATCATTGAACAGATTGTTAAAGACCCACAGCTTCCAGCCCACCTATGAAAT
ACCCGGTACCGGTAACATCCCTAGAAGAATACAAGTCATCGACCCGCGGG
TCCTGGGACCGCACTACTCGTTCCGGTCATGGGACATGCGCAGACACACA
TTTAGCAGAGCAAGTATTAAGAGAGTGTGAGAACAACAAGAACTTCTGA
CCTTGATTTCTCAGGCCAAAAAGCCTCGGGTCGACATCCCAAAACAAG
AAACCCAAGAAGAAAGCTCACATTCACTCCAAAGAGAATCGAGACCGTGG
GAGACCGAGGAAGAAAGCGAGACAGAAGCCCTCTCGCAAGAGAGCCAAGA

10

20

30

40

【0 3 1 1】

50

【表 3 3】

GGTCCCCTTCCAACAGCAGTTGCAGCAGCAGTACCAAGAGCAGCTCAAGC
 TCAGACAGGGAATCAAAGTCCTCTTCGAGCAGCTCATAAGGACCCAACAA
 GGGGTCCATGTAAACCCATGCCTACGGTAGGTCCCAGGCAGTGGCTGTTT
 CCAGAGAGAAAGCCAGCCCCAGCTCCTAGCAGTGGAGACTGGGCCATGGA
 GTTTCTCGCAGCAAAAATATTTGATAGGCCAGTTAGAAGCAACCTTAAAG
 ATACCCCTTACTACCCATATGTTAAAAACCAATACAATGTCTACTTTGAC
 CTAAATTTGAATAAACAGCAGCTTCAAAGTGAAGGCCGTGGGAGTTT
 CACTGGTCGGTGTCTACCTCTAAAGGTCACCTAAGCACTCCGAGCGTAAGC
 GAGGAGTGCGACCCCTCCCCCTGGAACAACCTTCTTCGGAGTCCGGCGCTA
 CGCCTTCGGCTGCGCCGGACACCTCAGACCCCCCTCCACCCGAAACGCT
 TGCGCGTTTCGGACCTTCGGCGTCGGGGGGGTTCGGGAGCTTTATTAAACG
 GACTCCGAAGTGCTCTTGGACACTGAGGGGGTGAACAGCAACGAAAGTGA
 GTGGGGCCAGACTTCGCCATAAGGCCTTTATCTTCTTGCCATTTGTCAGT
 GTCCGGGGTTCGCCATAGGCTTCGGGCTCGTTTTTAGGCCTTCGGGACTAC
 AAAAATCGCCATTTTGGTGACGTCACGGCCGCCATCTTAAGTAGTTGAGG
 CGGACGGTGGCGTGAGTTCAAAGGTCACCATCAGCCACACCTACTCAAAA
 TGGTGGACAATTTCTTCGGGTCAAAGGTTACAGCCGCCATGTTAAAAACA
 CGTGACGTATGACGTCACGGCCGCCATTTTGTGACACAAGATGGCCGACT
 TCCTTCCTCTTTTTCAAAAAAAGCGGAAGTGCCGCCGCGCGCGGGGG
 GCGGCGCGCTGCGCGCGCCGCCAGTAGGGGGAGCCATGCGCCCCCCCC
 GCGCATGCGCGGGGCCCCCCCCCGGGGGGGCTCCGCCCCCGGCCCCC
 CCG (配列番号 16)

10

20

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

TATA ボックス

83 – 88

キャップ部位

104 – 111

転写開始部位

111

5'UTR 保存ドメイン

170 – 240

ORF2

336 – 719

ORF2/2

336 – 715 ; 2363 – 2789

ORF2/3

336 – 715 ; 2565 – 3015

ORF2t/3

336 – 388 ; 2565 – 3015

ORF1

599 – 2830

ORF1/1

599 – 715 ; 2363 – 2830

ORF1/2

599 – 715 ; 2565 – 2789

30

40

【0 3 1 2】

【表 3 4】

3 オープンリーディングフレーム領域

2551 – 2786

ポリ(A)シグナル

3011 – 3016

GC リッチ領域

3632 – 3753

50

【 0 3 1 3 】

【 表 3 5 】

表 A2. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*)アミノ酸配列 (アルファトルクウイルス (*Alphatorquevirus*), クレード 3)

Ring1 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>)クレード 3)	
ORF2	MSFWKPPVHNVTGIQRMWYESFHRGHASFCGCGNPILHITALAETYGHPTGPRPSG PPGVDPNPHIRRARPAPAAPEPSQVDSRPALTWHGDGGSDGGAGGSGSGGPVADFA DDGLDQLVAALDDEE (配列番号 17)
ORF2/2	MSFWKPPVHNVTGIQRMWYESFHRGHASFCGCGNPILHITALAETYGHPTGPRPSG PPGVDPNPHIRRARPAPAAPEPSQVDSRPALTWHGDGGSDGGAGGSGSGGPVADFA DDGLDQLVAALDDEELLKTPASSPPMKYPVPVTSLEEYKSSTRGSWDRTTRSGHGT CADTHLAEQVLRECQNNKLLTLYSQAQKSLGSTSQNKPKKKAHHSKENRDRG RPRKKARQKPSRKRAKRSPSNSSCSSSTKSSSSSDRESKSSSSSS (配列番号 18)
ORF2/3	MSFWKPPVHNVTGIQRMWYESFHRGHASFCGCGNPILHITALAETYGHPTGPRPSG PPGVDPNPHIRRARPAPAAPEPSQVDSRPALTWHGDGGSDGGAGGSGSGGPVADFA DDGLDQLVAALDDEEPKKASGRHPKTRNPRRKLTFTPKRIETVGDRGRKRDRSPLA REPRGPLPTAVAAAVPRAAQAQTGNQSPLRAAHKDPTRGPCKPMPTVGPRQWLFP ERKPAPAPSSGDWAMEFLAAKIFDRPVRSNLKDTPTYYPYVKNQYNVYFDLKFE (配列番号 19)
ORF2t/3	MSFWKPPVHNVTGIQRMWPKKASGRHPKTRNPRRKLTFTPKRIETVGDRGRKRDR SPLAREPRGPLPTAVAAAVPRAAQAQTGNQSPLRAAHKDPTRGPCKPMPTVGPRQ WLFPERKPAPAPSSGDWAMEFLAAKIFDRPVRSNLKDTPTYYPYVKNQYNVYFDLK FE (配列番号 20)

10

20

30

【 0 3 1 4 】

40

50

【表 3 6】

ORF1	MAWGWWKRRRRWWFRKRWTRGRLRRRWPRSARRRPRRRRVRRRRRWRRGRRK TRTYRRRRRRFRRRGRKAKLIKLWQPAVIKRCRIKGYIPLIISGNGTFATNFTSHINDR IMKGPFGGGHSTMRFSLYILFEEHLRHMNFWTRSNDNLELTRYL GASVKIYRHPDQ DFIVIYNRRTPLG GNIYTAPSLHPGNAILAKHKILVPSLQTRPKGRKAIRLRIAPPTLFT DKWYFQKDIADLT LFNIMAVEADLRFPFCSPQTDNTCISFQVLSSVYNNYLSINTFN NDNSDSKLKEFLNKAFTTGTGTSLNALNTFRTEGCISHPQLKKPNPQINKPLESQ YFAPLDALWGDPIYYNDLNENKSLNDIIEKILIKNMITYHAKLREFPNSYQGNKAFC HLTGIYSPPYLNQGRISPEIFGLYTEIINPYTDKGTGNKVWMDPLTKENNIYKEGQS KCLLTDMPLWTLFGYTDWCKKDTNNWDLPLNYRLVLICPYTFPKLYNEKVVDY GYIPYSYKFGAGQMPDGSNIYPFQFRAKWYPTVLHQQQVMEDISRSGPFAPKVEKP STQLVMKYCFNFWGGNPIIEQIVKDPSFQPTYEIPGTGNIPRIQVIDPRVLGPHYSF RSWDMRRHTFSRASIKRVSEQQETSDLVFSGPKKPRVDIPKQETQEESHSLQRESR PWETEESETEALSQESQEVFPQQQLQQQYQEQLKLRQGIKVLFEQLIRTQQGVHV NPCLR (配列番号 21)
ORF1/1	MAWGWWKRRRRWWFRKRWTRGRLRRRWPRSARRRPRRRRIVKDPSFQPTYEIPG TGNIPRIQVIDPRVLGPHYSFRSWDMRRHTFSRASIKRVSEQQETSDLVFSGPKKPR VDIPKQETQEESHSLQRESRPWETEESETEALSQESQEVFPQQQLQQQYQEQLKL RQGIKVLFEQLIRTQQGVHVNPCR (配列番号 22)
ORF1/2	MAWGWWKRRRRWWFRKRWTRGRLRRRWPRSARRRPRRRRAQKSLGSTSQNKK PKKKAHIHSKENRDRGRPRKKARQKPSRKRAKRSPSNSSCSSSTKSSSSSDRESKSSS SSS (配列番号 23)

【 0 3 1 5 】

10

20

30

40

50

【表 3 8】

CGTCCTAGATGGTATGGACGAGGTTGGATTAGACGCCCTTTTCGCAGAAG
 ATTTTCGAAGAAAAAGAAGGGTAAGACCTACTTATACTACTATTCCTCTAA
 AGCAATGGCAACCGCCATATAAAAGAACATGCTATATAAAAGGACAAGAC
 TGTTTAAATATACTATAGCAACTTAAGACTGGGAATGAATAGTACAATGTA
 TGAAAAAAGTATTGTACCTGTACATTGGCCGGGAGGGGGTTCTTTTTCTG
 TAAGCATGTTAACTTTAGATGCCTTGTATGATATACATAAACTTTGTAGA
 AACTGGTGGACATCCACAAACCAAGACTTACCACTAGTAAGATATAAAGG
 ATGCAAAATAACATTTTATCAAAGCACATTTACAGACTACATAGTAAGAA
 TACATACAGAACTACCAGCTAACAGTAACAACTAACATACCCAAACACA
 CATCCACTAATGATGATGATGTCTAAGTACAAACACATTATACCTAGTAG
 ACAACAAGAAGAAAAAAGAAACCATACACAAAAATATTTGTAAAACCA
 CTCCGCAATTTGAAAACAAATGGTACTTTGCTACAGACCTCTACAAAATT
 CCATTACTACAAATACACTGCACAGCATGCAACTTACAAAACCCATTTGT
 AAAACCAGACAAATTATCAAACAATGTTACATTATGGTCACTAAACACCA
 TAAGCATACAAATAGAAACATGTCAGTGGATCAAGGACAATCATGGCCA
 TTTAAATACTAGGAACACAAAGCTTTTATTTTTACTTTTACACCGGAGC
 AAACCTACCAGGTGACACAACACAAATACCAGTAGCAGACCTATTACCAC
 TAACAAACCCAAGAATAAACAGACCAGGACAATCACTAAATGAGGCAAAA
 ATTACAGACCATATTACTTTCACAGAATACAAAAACAAATTTACAAATTA
 TTGGGGTAACCCATTTAATAAACACATTCAAGAACACCTAGATATGATAC
 TATACTCACTAAAAAGTCCAGAAGCAATAAAAAACGAATGGACAACAGAA
 AACATGAAATGGAACCAATTAAACAATGCAGGAACAATGGCATTAAACACC
 ATTTAACGAGCCAATATTACACAAATACAATATAACCCAGATAGAGACA
 CAGGAGAAGACACTCAATTATACCTACTCTCTAACGCTACAGGAACAGGA
 TGGGACCCACCAGGAATTCAGAATTAATACTAGAAGGATTTCCACTATG
 GTTAATATATTGGGGATTTGCAGACTTTCAAAAAACCTAAAAAAGTAA
 CAAACATAGACACAAATTACATGTTAGTAGCAAAAAACAAATTTACACAA
 AAACCTGGCACATTCTACTTAGTAATACTAAATGACACCTTTGTAGAAGG
 CAATAGCCCATATGAAAAACAACCTTTACCTGAAGACAACATTAAATGGT
 ACCCACAAGTACAATACCAATTAGAAGCACAAAACAACTACTACAACT
 GGGCCATTTACACCAACATACAAGGACAACCTATCAGACAATATATCAAT
 GTTTTATAAATTTTACTTTAAATGGGGAGGAAGCCCACCAAAGCAATTA
 ATGTTGAAAATCCTGCCACCAGATTCAATATCCCATACCCCGTAACGAG
 CATGAAACAACCTTCGTTACAGAGTCCAGGGGAAGCCCCAGAATCCATCTT

10

20

30

【0 3 1 7】

40

50

【表 3 9】

ATACTCCTTCGACTATAGACACGGGAACCTACACAACAACAGCTTTGTCAC
GAATTAGCCAAGACTGGGCACCTTAAAGACACTGTTTCTAAAATTACAGAG
CCAGATCGACAGCAACTGCTCAAACAAGCCCTCGAATGCCTGCAAATCTC
GGAAGAAACGCAGGAGAAAAAAGAAAAAGAAGTACAGCAGCTCATCAGCA
ACCTCAGACAGCAGCAGCAGCTGTACAGAGAGCGAATAATATCATTATTA
AAGGACCAATAACTTTTAACTGTGTAAAAAAGGTGAAATTGTTTGATGAT
AAACCAAAAAACCGTAGATTTACACCTGAGGAATTTGAACTGAGTTACA
AATAGCAAAATGGTTAAAGAGACCCCCAAGATCCTTTGTAAATGATCCTC
CCTTTTACCCATGGTTACCACCTGAACCTGTTGTAACTTTAAGCTTAAT
TTTACTGAATAAAGGCCAGCATTAATTCACCTTAAGGAGTCTGTTTATTTA
AGTTAAACCTTAATAAACGGTCACCGCCTCCCTAATACGCAGGCGCAGAA
AGGGGGCTCCGCCCCCTTTAACCCCCAGGGGGCTCCGCCCCCTGAAACCC
CCAAGGGGGCTACGCCCCCTTACACCCCC (配列番号 54)

10

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

TATA ボックス

237– 243

20

キャップ部位

260 – 267

転写開始部位

267

5'UTR 保存ドメイン

323 – 393

ORF2

424 – 723

ORF2/2

424 – 719 ; 2274 – 2589

ORF2/3

424 – 719 ; 2449 – 2812

ORF1

612 – 2612

ORF1/1

612 – 719 ; 2274 – 2612

30

ORF1/2

612 – 719 ; 2449 – 2589

3 オープンリーディングフレーム領域

2441 – 2586

ポリ(A)シグナル

2808 – 2813

GC リッチ領域

2868 – 2929

【 0 3 1 8 】

40

50

【表 4 0】

表 B2. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*)核酸配列 (ベータトルクウイルス(*Betatorquevirus*))

Ring2 (ベータトルクウイルス(<i>Betatorquevirus</i>))	
ORF2	MSDCFKPTCYNNKTKQTHWINNLHLTHDLICFCPTPTRHLLLALAEQQETIEVSKQE KEKITRCLITTEEDGTTTDDVLDGMDEVGLDALFAEDFEEKEG (配列番号 55)
ORF2/2	MSDCFKPTCYNNKTKQTHWINNLHLTHDLICFCPTPTRHLLLALAEQQETIEVSKQE KEKITRCLITTEEDGTTTDDVLDGMDEVGLDALFAEDFEEKEGFNIPYPVTSMKQLRY RVQGKPNPSYTPSTIDTGTQQLCHELAKTGHLKTLFLKLSQIDSNCNKPNSNA CKSRKKRRRKKKKKYSSSSATSDSSSSCTESE (配列番号 56)
ORF2/3	MSDCFKPTCYNNKTKQTHWINNLHLTHDLICFCPTPTRHLLLALAEQQETIEVSKQE KEKITRCLITTEEDGTTTDDVLDGMDEVGLDALFAEDFEEKEGARSTATAQTSPRMP ANLGRNAGEKRKRSTAAHQPPQTA AAAAVQRANNIIKGPITFNCVKKVKLFDDKPK NRRFTPEEFETELQIAKWLRPPRSFVNDPPFYPWLPPEPVVNFKNLNFTE (配列番号 57)
ORF1	MPYYYRRRRYNYYRRPRWYGRGWIRRPFRRRFRKRKRRVRPTYTTIPLKQWQPPYKR TCYIKGQDCLIIYSNLRLGMNSTMYEKSIVPVHWPGGGSFSVSMLTLDALYDIHKL CRNWWTSTNQDLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHTELPANSNKLTYPNTHPLM MMMSKYKHIIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPPPQFENKWYFATDLYKIPLLQIHCTACN LQNPVFKPDKLSNNVTLWSLNTISIQNRNMSVDQGQSWPFKILGTQSFYFYFYTG ANLPGDTTQIPVADLLPLTNPRINRPGQSLNEAKITDHITFTEYKNKFTNYWGNPFNK HIQEHLDMILYSLKSPEAIKNEWTTENMKWNQLNAGTMALTPFNEPIFTQIQYNP DRDTGEDTQLYLLSNATGTGWDPPGPIELILEGFPLWLIYWGFADFQKNLKKVTNID TNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVLNDTFVEGNSPYEKQPLPEDNIKWYPQVQYQLEA QNKLLQTGPFTPNIQQLSDNISMFYKFYFKWGGSPPKAINVENPAHQIQYPIPRNE HETTSLSQSPGEAPESILYSFDYRHGNYTTTALSRSISQDWALKDTVSKITEPDRQQLLK QALECLQISEETQEKKEKEVQQLISNLRQQQQLYRERIISLLKDQ (配列番号 58)
ORF1/1	MPYYYRRRRYNYYRRPRWYGRGWIRRPFRRRFRKRRIQYPIPRNEHETTSLSQSPGE APESILYSFDYRHGNYTTTALSRSISQDWALKDTVSKITEPDRQQLLKQALECLQISEE TQEKKEKEVQQLISNLRQQQQLYRERIISLLKDQ (配列番号 59)
ORF1/2	MPYYYRRRRYNYYRRPRWYGRGWIRRPFRRRFRKRKRSQIDSNCNKPNSNACKSRK KRRRKKKKKYSSSSATSDSSSSCTESE (配列番号 60)

【0 3 1 9】

【表 4 1】

表 C1. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*)核酸配列(ガンマトルクウイルス(*Gammatorquevirus*))

名称	Ring4
属/クレード	ガンマトルクウイルス(<i>Gammatorquevirus</i>)
アクセッション番号	

【0 3 2 0】

10

20

30

40

50

【表 4 2】

全配列: 3176 bp

1 10 20 30 40 50
| | | | | |
TAAATGGCGGGAGCCAATCATTTTATACTTTCACTTTCCAATTAAAAAT
GGCCACGTACAAACAAGGGGTGGAGCCATTTAACTATATAACTAAGTG
GGGTGGCGAATGGCTGAGTTTACCCCGCTAGACGGTGCAGGGACCGGATC
GAGCGCAGCGAGGAGGTCCCCGGCTGCCCATGGGCGGAGCCGAGGTGAG
TGAAACCACCGAGGTCTAGGGGCAATTCGGGCTAGGGCAGTCTAGCGGAA
CGGGCAAGAACTTAAAAACAATATTTGTTTTACAGATGGTTAGTATATCC
TCAAGTGATTTTTTTAAGAAAACGAAATTTAATGAGGAGACGCAGAACCA
AGTATGGATGTCTCAAATTGCTGACTCTCATGATAATATCTGCAGTTGCT
GGCATCCATTTGCTCACCTTCTTGCTTCCATATTTCTCTGGCCACAAA
GATCGTGATCTTACTATTAACCAAATTTCTTAAGAGATTATAAAGAAAA
ATGCCATTTCTGGTGGAGAAGAAGGAGAAAATTTCTGGACCAACAACAGGTT
TAATTACACCAAAAGAAGAAGATATAGAAAAAGATGGCCAGAGCGGCC
GCAGAAGAAGACCATACAGACGCCCTGTTCCGCCGCCGCTAGAAAACTT
CGAAAGGTAAAGAGAAAAAAAATCTTTAATTGTTAGACAATGGCAACC
AGACAGTATAAGAACTTGTAATAATTATAGGACAGTCAGCTATAGTTGTTG
GGGCTGAAGGAAAGCAAATGTACTGTTATACTGTCAATAAGTTAATTAAT
GTGCCCCCAAAAACACCATATGGGGGAGGCTTTGGAGTAGACCAATACAC
ACTGAAATACTTTATATGAAGAATACAGATTTGCACAAAACATTTGGACAC
AATCTAATGTACTGAAAGACTTATGCAGATACATAAATGTTAAGCTAATA
TTCTACAGAGACAACAAAACAGACTTTGTCCTTTCCATGACAGAAACCC
ACCTTTTCAACTAACAAAATTTACATACCCAGGAGCACACCCACAACAAA
TCATGCTTCAAAAACACCACAAATTCATACTATCACAAATGACAAAGCCT
AATGGAAGACTAACAAAAAACTCAAAATTAAACCTCCTAAACAAATGCT
TTCTAAATGGTTCCTTTTCAAAACAATTTCTGTAAATACCTTTTACTATCTC
TTAAAGCTTCTGCACTAGACCTTAGGCACTCTTACCTAGGCTGCTGTAAT
GAAAATCCACAGGTATTTTTTTATTATTAAACCATGGATACTACACAAT
AACAAACTGGGGAGCACAAATCCTCAACAGCATACAGACCTAACTCCAAGG
TGACAGACACAACATACTACAGATACAAAAATGACAGAAAAAATATTAAC
ATTAAGCCATGAATACGAAAAAAGTATATCATATGAAAACGGTTATTT
TCAATCTAGTTTCTTACAAACACAGTGCATATATACCAGTGAGCGTGGTG
AAGCCTGTATAGCAGAAAAACCACTAGGAATAGCTATTTACAATCCAGTA
AAAGACAATGGAGATGGTAATATGATATACCTTGTAAGCACTCTAGCAAA
CACTTGGGACCAGCCTCCAAAAGACAGTGCTATTTTAATACAAGGAGTAC
CCATATGGCTAGGCTTATTTGGATATTTAGACTACTGTAGACAAATTAAA
GCTGACAAAACATGGCTAGACAGTCATGTACTAGTAATTCAAAGTCCTGC
TATTTTTACTTACCCAAATCCAGGAGCAGGCAAATGGTATTGTCCACTAT
CACAAAGTTTTATAAATGGCAATGGTCCGTTTAAATCAACCACCTTACTG
CTACAAAAGCAAAGTGGTTTCCACAAATACAATACCAACAAGAAATTAT
TAATAGCTTTGTAGAATCAGGACCATTGTGCCAAATATGCAAAATCAAA
CTGAAAGCAACTGGGAATAAAATATAAATATGTTTTTACATTTAAGTGG
GGTGGACCACAATTCATGAACCAGAAATTGCTGACCCTAGCAACAAGA
GCAGTATGATGTCCCGATACTTTCTACCAACAATACAAATTGAAGATC
CAGAAGGACAAGACCCAGATCTCTCATCCATGATTGGGACTACAGACGA

10

20

30

40

【 0 3 2 1 】

50

【表 4 3】

GGCTTTATTAAAGAAAGATCTCTTAAAGAATGTCAACTTACTTCTCAAC
 TCATACAGATCAGCAAGCAACTTCAGAGGAAGACATTCCCAAAAAGAAAA
 AGAGAATTGGACCCCAACTCACAGTCCCACAACAAAAAGAAGAGGAGACA
 CTGTCATGTCTCTCTCTCTCTGCAAAAAGATACCTTCCAAGAAACAGA
 GACACAAGAAGACCTCCAGCAGCTCATCAAGCAGCAGCAGGAGCAGCAGC
 TCCTCCTCAAGAGAAACATCCTCCAGCTCATCCACAACTAAAAGAGAAT
 CAACAAATGCTTCAGCTTCACACAGGCATGTTACCTTAACCAGATTTAAA
 CCTGGATTTGAAGAGCAAACAGAGAGAGAATTAGCAATTATATTTCATAG
 GCCCCCTAGAACCTACAAAGAGGACCTTCCATTCTATCCCTGGCTACCAC
 CTGCACCCCTTGTACAATTTAACCTTAACCTCAAAGGCTAGGCCAACAA
 GTACACTTAGTAAAGCATGTTTATTAAAGCACACCCCCAAAATAAATGT
 AAAAATAAAAAAAAAAAAAAAAAATAAAAAATTGCAAAAATTCGGCGCT
 CGCGCGCATGTGCGCCTCTGGCGCAAATCACGCAACGCTCGCGCGCCCGC
 GTATGTCTCTTTACCACGCACCTAGATTGGGGTGCGCGCGCTAGCGCGCG
 CACCCCAATGCGCCCCGCCCTCGTTCCGACCCGCTTGC GCGGGTCCGACC
 ACTTCGGGCTCGGGGGGCGCGCCTGCGGCGCTTTTTACTAAACAGACT
 CCGAGCCGCCATTTGGCCCCCTAAGCTCCGCCCCCTCATGAATATTCAT
 AAAGGAAACCACATAATTAGAATTGCCGACCACAACTGCCATATGCTAA
 TTAGTTCCCCTTTACAAAGTAAAAGGGGAAGTGAACATAGCCCCACACC
 CGCAGGGGCAAGGCCCCGCACCCCTACGTCACTAACACGCCCCCGCCGC
 CATCTTGGGTGCGGCAGGGCGGGGGC (配列番号 886)

10

20

アノテーション:

推定ドメイン	塩基範囲
TATA ボックス	87– 93
キャップ部位	110 – 117
転写開始部位	117
5'UTR 保存ドメイン	185 – 254
ORF2	286 – 660
ORF2/2	286 – 656 ; 1998 – 2442
ORF2/3	286 – 656 ; 2209 – 2641
TAIP	385 - 484
ORF1	501 – 2489
ORF1/1	501 – 656 ; 1998 – 2489
ORF1/2	501 – 656 ; 2209 – 2442
3 オープンリーディングフレーム領域	2209 – 2439
ポリ(A)シグナル	2672 – 2678
GC リッチ領域	3076 – 3176

30

40

【 0 3 2 2 】

表 C2. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*)核酸配列(ガンマトルクウイルス(*Gammatorquevirus*))

Ring4 (ガムマトルクウイルス(<i>Gammatorquevirus</i>))	
ORF2	MVSISSSDFFKKTGFNEETQNQVWMSQIADSHDNICSCWHPFAHLLASIFPPGHKDR DLTINQILLR DYKEKCHSGGEEGENSGPTTGLITPKEEDIEKDGPEGAAEEDHTDALFAAAVENFER (配列番号 887)
ORF2/2	MVSISSSDFFKKTGFNEETQNQVWMSQIADSHDNICSCWHPFAHLLASIFPPGHKDR DLTINQILLR DYKEKCHSGGEEGENSGPTTGLITPKEEDIEKDGPEGAAEEDHTDALFAAAVENFESGVDHNSMNQKLLTLANKSSMMSPILSTKQYKLIKQDKTDPDLSSMIG TTDEALLKKDLLKECQLTSQLIQISKQLQRKTFPKRKRELDPNSSQSHNKKKRRHCH VSSLSAKKIPSKKQRHKKTSSSSSSSSRSSSSSSRETSSSSSTN (配列番号 888)
ORF2/3	MVSISSSDFFKKTGFNEETQNQVWMSQIADSHDNICSCWHPFAHLLASIFPPGHKDR DLTINQILLR DYKEKCHSGGEEGENSGPTTGLITPKEEDIEKDGPEGAAEEDHTDALFAAAVENFERSASNFRGRHSQKEKENWTPTHSPTTKRRGDTVMSPLSLQKRYLPRNR DTRRPPAAHQAAAGAAAPPQEKHPPAHPQTKRESTNASASHRHVTLTRFKPGFEEQ TERELAIIFHRPPRTYKEDLPFYFWLPPAPLVQFNLNFKG (配列番号 889)
TAIP	MRRRRRTKYGCLKLLTLMISA VAGIHLTFLLPYFLLATKIVILLTKFF (配列番号 890)
ORF1	MPFWWRRRRKFWTNNRFNYTKRRRYRKRWPRRRRRRRPYRRPVRRRRRKLRKV KRKKKSLIVRQWQPDSIRTCKIIGQSAIVVGAEGKQMYCYTVNKLINVPPKTPYGGG FGVDQYTLKYL YEEYRFAQNIWTQSNVLKDLCRYINVKLIFYRDNKTDFVLSYDRN PPFQLTKFTYPGAHPQQIMLQKHHKFILSQMTKPNGRLTKKLKIKPPKQMLSKWFFS KQFCKYPLL SLKASALDLRHSYLGCCNENPQVFFYYL NHGYYTITNWGAQSSTAYR PNSKVTDTTYRYKNDRKNINIKSHEYEKSSISYENGYFQSSFLQTQCIYT SERGEACI AEKPLGIAIYNPVKDNGDGNMIYL VSTLAN TWDPKDSAILIQGVPIWLG LFGYLD YCRQIKADKTWLD SHVLVIQSPAIFTYPNPGAGK WYCPLSQSFINGNPFNPPTLL QKAKWFPQIQYQQEIINSFVESGPFVPKYANQTESNWELKYKYVFTFKWGGPQFHE PEIADPSKQEYDVPDTFYQTIQIEDPEGQDPRSLIHDWDYRRGFIKERSLKRMS TYF STHTDQQATSEEDIPKKKKRIGPQLTVPQQKEEETLSCLLSLCKKDTFQETETQEDL QQLIKQQQEQLLLKRNILQLIHKLENQQMLQLHTGMLP (配列番号 891)

40

【 0 3 2 3 】

【表 4 5】

ORF1/1	MPFWWRRRRKFWTNNRFNYTKRRRYRKRWPRRRRRRRPYRRPVRRRRRKLRKW GGPQFHEPEIADPSKQEQYDVPDTFYQTIQIEDPEGQDPRSLIHDWDYRRGFIKERSL KRMSTYFSTHTDQQATSEEDIPKKKKRIGPQLTVPQQKEEETLSCLLSLCKKDTFQE TETQEDLQQLIKQQQEQQLLLKRNILQLIHKLKENQQMLQLHTGMLP (配列番号 892)
ORF1/2	MPFWWRRRRKFWTNNRFNYTKRRRYRKRWPRRRRRRRPYRRPVRRRRRKLRKIS KQLQRKTFPKRKR ELDPNSQSHNKKRRRHCHVSSLSAKKIPSKKQRHKKTSSSSSSSSRSSSSSSRETSSSS STN (配列番号 893)

10

【 0 3 2 4 】

20

30

40

50

【表 4 6】

表 D1. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*)核酸配列 (ベータトルクウイルス(*Betatorquevirus*))

名称	Ring9
属/クレード	ベータトルクウイルス(<i>Betatorquevirus</i>)
アクセッション番号	MH649263.1

全配列: 2845 bp

1	10	20	30	40	50	10
TTATTAATATTCAACAGGAAAACCACCTAATTTAAATTGCCGACCACAAA						
CCGTCACTAACTTCCTTATTTAACATTACTTCCCTTTTAACCAATGAATA						
TTCATACAACACATCACACTTCCTGGGAGGAGACATAAACTATATAACT						
AACTACACAGACGAATGGCTGAGTTTATGCCGCTAGACGGAGGACGCACA						
GCTACTGCTGCGACCTGAACCTGGGCGGGTGCCGAAGGTGAGTGTAACCA						
CCGTAGTCAAGGGGCAATTTCGGGCTAGTTCAGTCTAGCGGAACGGGCAAG						
ATTATTAATACAACTTATTTTTACAGATGAGCAAACAACATAAACCAAC						
TTTATACAAAGACAAATCATTGGAATTACAATGGCTAAACAACATTTTTTA						
GCTCTCACGACCTGTGCTGCGGCTGCAACGATCCAGTTTTACATTTACTG						
ATTTTAATTAACAAAACCGGAGAAGCACCTAAACCAGAAGAAGACATTAA						
AAATATAAAATGCCTCCTTACTGGCGCCAAAAATACTACCGAAGAAGATA						20
TAGACCTTTCTCCTGGGAGAACTAGAAGAATTATTCAAAGAAGAAAAAGAT						
GGAGATACCGCAAACCAAGAAAAACATACTGGAGAAGAAAACCTGCGGGTA						
AGAAAACGTTTTTATAAAAGAAAGTTAAAAAAAATTGTACTTAAACAGTT						
TCAACCAAAAATTATTAGAAGATGTACAATATTTGGAACAATCTGCCTAT						
TTCAAGGCTCTCCAGAAAGAGCCAACAATAATTATATTCAAACAATCTAC						
TCCTACGTACCAGATAAAGAACCAGGAGGAGGGGGATGGACTTTAATAAC						
TGAAAGCTTAAGTAGTTTATGGGAAGACTGGGAACATTTAAAAAATGTAT						
GGACTCAAAGTAACGCTGGTTTACCACTTGTAAGATACGGGGGAGTAACA						
TTATACTTTTATCAATCTGCCTATACTGACTATATTGCTCAAGTTTTCAA						
CTGTTATCCTATGACAGACACAAAATACACACATGCAGACTCAGCACCAA						
ACAGAATGTTATTAAAAAACATGTAATAAGAGTACCTAGCAGAGAAACA						
CGCAAAAAAAGAAAGCCATACAAAAGAGTTAGAGTAGGACCTCCTTCTCA						30
AATGCAAAACAAATGGTACTTTCAAAGAGACATATGTGAAATACCATTA						
TAATGATTGCAGCCACAGCCGTTGACTTTAGATATCCCTTTTGTGCAAGC						
GACTGTGCTAGTAACAACCTAACTCTAACATGTTTAAACCCACTATTGTT						
TCAAAACCAAGACTTTGACCACCCATCCGATACACAAGGCTACTTTCCAA						
AACCTGGAGTATATCTATACTCAACACAAAGAAGTAACAAGCCAAGTTCT						
TCAGACTGTATATACTTAGGAAACACAAAAGACAATCAAGAAGGTAAATC						
TGCAAGTAGTCTAATGACTCTAAAAACACAAAAAATAACAGATTGGGGAA						
ATCCATTTTGGCATTATTATATAGACGGTTCTAAAAAATATTTTCTTAC						

【0 3 2 5】

40

50

【表 4 7】

TTTAAACCCCCATCACAATTAGACAGCAGCGACTTTGAACACATGACAGA
ATTAGCAGAACCAATGTTTATACAAGTTAGATACAACCCAGAAAGAGACA
CAGGACAAGGAACTTAATATACGTAACAGAAAACCTTTAGAGGACAACAC
TGGGACCCTCCATCTAGTGACAACCTAAATTTAGATGGATTTCCCTTATA
TGACATGTGCTGGGGTTTCATAGACTGGATAGAAAAAGTTCATGAAACAG
AAAACCTTACTTACCAACTACTGCTTCTGTATTAGAAGCAGCGCTTCAAT
GAAAAAAAACAGTTTTATACCTGTAGATCATTCATTTTAAACAGGTTT
TAGCCCATATGAAACTCCAGTTAAATCATCAGACCAAGCTCACTGGCACC
CACAAATAAGATTTCAAACAAAATCAATAAATGACATTTGTTTAAACAGGC
CCCGGTTGTGCTAGGTCCCATATGGCAATTACATGCAGGCAAAAATGAG
TTATAAATTTTATGTAATAATGGGGAGGATGTCCAAAAACTTATGAAAAAC
CATATGATCCTTGTTTACAGCCCAATTGGACTATTCCCATACCTCAAT
GAAACAATACAAATCCAGAATCCAAACACATGCCACAAACAGAACTCCA
AGAATGGGACTGGCGACGTGATATTGTTACAAAAAAGCTATCGAAAGAA
TTAGACAACACACGGAACCTCATGAACTTTGCAAATCTCTACAGGTTCC
AAACACAACCCACCAGTACACAGACAAACATCACCGTGGACGGACTCAGA
AACGGACTCGGAAGAGGAAAAAGACCAACACAAGAGATCCAGATCCAGC
TCAACAAGCTCAGAAAGCATCAACAGCATCTCAAGCAGCAGCTCAAGCAG
TACCTGAAACCCCAAAATATAGAATAGTTGCAAGCAACATAAAAGTTGAA
CTTTTTCCTACTAAAAAACCTTTTAAAAACAGACGCTTTACTCCTTCTGA
AAGAGAAACAGAAAGACAATGTGCTAAAGCTTTTGTAGACCAGAAAGAC
ATTTCTTTTATGATCCTCCTTTTACCCTTACTGTGTACCTGAACCTATT
GTAACTTTGCTTTGGGATATAAAATTTAAGGCCAACAAATTTCACTTAG
TGGTGTCTGTTATTAAAGTTTAACCTTAATAAGCATACTCCGCCTCCCT
ACATTAAGGCGCCAAAAGGGGGCTCCGCCCCCTTAAACCCCAAGGGGGCT
CCGCCCCCTTAAACCCCAAGGGGGCTCCGCCCCCTTACACCCCC (配列番号
1001)

10

20

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

TATA ボックス

142 – 148

開始エレメント

162 – 177

転写開始部位

172

5'UTR 保存ドメイン

226 – 296

ORF2

328 – 651

ORF2/2

328 – 647; 2121 – 2457

ORF2/3

328 – 647; 2296 – 2680

ORF1

510 – 2477

ORF1/1

510 – 647; 2121 – 2477

ORF1/2

510 – 647; 2296 – 2457

3 オープンリーディングフレーム領域

2296 – 2454

GC リッチ領域

2734 – 2845

30

40

【 0 3 2 6 】

【表 4 8】

表 D2. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*)核酸配列 (ベータトルクウイルス(*Betatorquevirus*))

Ring9 (ベータトルクウイルス(<i>Betatorquevirus</i>))	
ORF2	MSKQLKPTLYKDKSLELQWLNNIFSSHDLCCGCNDPVLHLLILINKTGEAPK PEEDIKNIKCLLTGAKNTTEEDIDLSPGELEELFKEEKDGGDTANQEKHTGEEN CG (配列番号 1002)
ORF2/2	MSKQLKPTLYKDKSLELQWLNNIFSSHDLCCGCNDPVLHLLILINKTGEAPK PEEDIKNIKCLLTGAKNTTEEDIDLSPGELEELFKEEKDGGDTANQEKHTGEEN CGPIGLFPITSMKQYKSRIQTHAHKQNSKNGTGDVILLQKKLSKELDNTRNL MKLCKSLQVPNTTHQYTDKHHRGRTQKRTRKRKKTKHKRSRSSSTSSSESIN SISSSSSSST (配列番号 1003)
ORF2/3	MSKQLKPTLYKDKSLELQWLNNIFSSHDLCCGCNDPVLHLLILINKTGEAPK PEEDIKNIKCLLTGAKNTTEEDIDLSPGELEELFKEEKDGGDTANQEKHTGEEN CGFQTQPTSTQTNITVDGLRNGLGRGKRPNTRDPDPAQQAQKASTASQAAA QAVPETPKYRIVASNIKVELFPTKKPFKNRRFTPSETERQCAKAFCRPERH FFYDPPFYPCVPEPIVNFALGYKI (配列番号 1004)

【0 3 2 7】

10

20

30

40

50

【表 4 9】

ORF1	MPPYWRQKYYRRRYRPFSWRTRRIIQRKRWRYYRKPRKTYWRRKLRVRKR FYKRKLKKIVLKQFQPKIIRRCTIFGTICLFQGSPPERANNNYIQTIYSYVPDKE PGGGGWTLITESLSSLWEDWEHLKNVWTQSNAGLPLVRYGGVTLYFYQSA YTDYIAQVFNCYPMTDTKYTHADSAPNRMLLKKHVIRVPSRETRKKRKP RVRVGPPSQMQNKWYFQRDICEIPLIMIAATAVDFRYPFCASDCASNLT CLNPLLFQNNQDFDHPSDTQGYFPKPGVYL YSTQRSNKPSSSDCIYLGNTKDN QEGKSASSLMTLKTQKITDWGNPFWHYYIDGSKKIFS YFKPPSQLDSSDFEH MTELAEPMF IQVRYNPERDTGQGNLIYVTENFRGQHWDPSSDNLKLDGFP LYDMCWGFIDWIEKVHETENLLTNYCFCIRSSAFNEKKT VFI PVDHSFLTGF SYETPVKSSDQAHWHPQIRFQTKSINDICLTGPGCARSPYGNMQAKMSYK FHVKWGGCPKTYEKPYPDPCSQPNWTIPHNLNETIQIQNPNTCPQTELQ EWDWRRDIVTKKAIERIRQHTEPHETLQISTGSKHNPPVHRQTSPWTDSETD SEEEKDQTQEIQIQLNKL RKHQQHLKQQLKQYLKPQNIE (配列番号 1005)
ORF1/1	MPPYWRQKYYRRRYRPFSWRTRRIIQRKRWRYYRKPRKTYWRRKLRPNW TIPHNLNETIQIQNPNTCPQTELQEW DWRRDIVTKKAIERIRQHTEPHETLQIS TGSKHNPPVHRQTSPWTDSETDSEEEKDQTQEIQIQLNKL RKHQQHLKQQL KQYLKPQNIE (配列番号 1006)
ORF1/2	MPPYWRQKYYRRRYRPFSWRTRRIIQRKRWRYYRKPRKTYWRRKLRVPNT THQYTDKHHRGRTQKRTRKRKKTKHKRSRSSSTSSSESINSISSSSSSST (配列 番号 1007)

10

20

【0 3 2 8】

30

40

50

【表 5 0】

表 E1. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*)核酸配列(ベータトルクウイルス(*Betatorquevirus*))

名称	Ring10
属/クレード	ベータトルクウイルス(<i>Betatorquevirus</i>)
アクセッション番号	JX134044.1

全配列: 2912 bp

1	10	20	30	40	50	10
TAATAAATATTCAACAGGAAAACCACTAATTTAAATTGCCGACCACAAA						
CCGTCACCTTAGTTCTCTTTTCCACAACCTTCCTCTTTTACTAATGAATA						
TTCATGTAATTAATTAATAATCACCGTAATTCGGGGAGGAGCCTTTAAA						
CTATAAACTAATACTACACATTGGAATGGCTGAGTTTATGCCGCCAGACGG						
AGACGGGATCACTTCAGTGACTCCAGGCTGATCAAGGGCGGGTGCCGAAG						
GTGAGTGAAACCACCGTAGTCAAGGGGCAATTCGGGCTAGATCAGTCTGG						
CGGAACGGGCAAGAACTTAAATGTACTTTATTTTACAGAAATGTTCAA						
ATCTCCAACATACTTAACAATAAGGCAAAAACAATGCCTTAATCAACT						
GCTTCGTTGGAGACCACGATCTTCTGTGCAGCTGTAACAATCCTGCCTAC						
CATTGCCTCCAAATACTTGCAACTACCTTAGCACCTCACTAAAACAAGA						
AGAAAAACAACAATAATACAATGCCTTGGTGGTACAGACGCCGTAGCTA						20
CAACCCGTGGAGACGAAGAAATGGTTTAGAAGACCTAGAAAACTATTT						
ACAGAAGATACAGAAGAAGACGCCGCTGGGTAAAGAAGAAAACCTTTTAC						
AAACGTAAAATTAAGAGACTAAATATAGTAGAATGGCAACCTAAATCAAT						
TAGAAAATGTAGAATAAAAGGAATGCTATGCTTGTTCAAACGACAGAAG						
ACAGACTGT CATATAACTTTGATATGTATGAAGAGTCTATTATACCAGAA						
AAACTGCCGGGAGGGGGGGGATTTAGCATTAAAGAATATAAGCTTATATGC						
CTTATACCAAGAACACATACATGCACACAACATATTTACACACACAAACA						
CAGACAGACCACTAGCAAGATACACAGGCTGTTCTTTAAATTTCTACCAA						
AGCAAAGACATAGACTACGTAGTAACATATTCTACATCACTCCCACTAAG						
AAGCTCAATGGGAATGTACAACCTCCATGCAACCATCCATACATCTAATGC						
AACAAAACAACTAATTGTACCAAGCAAACAAACACAAAAAGAAGAAAA						
CCATATATTAAAAACATATATCACCACCAACACAATGAAATCTCAATG						
GTACTTTCAACATAACATTGCAAACATACCGCTACTAATGATAAGAACCA						30
CAGCATTAAACATTAGATAATTACTATATAGGAAGCAGACAATTAAGTACA						
AATGTCACTATACATACACTTAACACAACATACATCCAAAACAGAGACTG						
GGGAGACAGAAATAAACTTACTACTGCCAAACATTAGGAACACAAAGAT						
ACTTCCTATATGGAACACATTCAACTGCACAAAATATTAATGACATAAAG						
CTACAAGAACTAATACTTTAACAAACACACAAGACTATGTACAAGGCTT						
TGATTGGACAGAAAAAGACAAACATAACATAACAACCTACAAAGAATTCT						
TAACCTAAAGGAGCAGGAAATCCATTTACGCAGAAATGGATAACAGCACAA						
AACCCAGTAATACACACAGCAAACAGTCCTACACAAATAGAACAAATATA						
CACCGCTTCAACAACAACATTCCAAAACAAAAAACTAACAGACCTACCAA						
CGCCAGGATATATATTTATAACTCCAACAGTAAGCTTAAGATACAACCCA						
TACAAAGACCTAGCAGAAAGAAACAAATGCTACTTTGTAGAAGCAAAAT						
AAATGCACACGGGTGGGACCCAGAACAACACCAAGAATTAATAAACAGTG						40

【0329】

【表 5 1】

ACCTACCACAATGGTTACTATTATTTGGCTACCCAGACTACATAAAAAGA
 ACACAAAACCTTTGCATTAGTAGACACAAATTACATACTAGTAGACCACTG
 CCCATACACAAATCCAGAAAAACACCATTTATACCTTTAAGCACATCAT
 TTATAGAAGGTAGAAGCCCATACAGTCCTTCAGACACACATGAACCAGAT
 GAAGAAGACCAAAACAGGTGGTACCCATGCTACCAATATCAACAAGAATC
 AATAAATTCAATATGTCTTAGCGGTCCAGGCACACCAAAAATACAAAAG
 GAATAACAGCAGAAGCAAAAGTAAAATATTCTTTAATTTTAAGTGGGGT
 GGTGACCTACCACCAATGTCTACAATTACAAACCCGACAGACCAGCCAAC
 ATATGTTGTTCCCAATAACTTCAATGAAACAACCTTCGTTACAGAATCCAA
 CCACCAGACCAGAGCACTTCTTGTAATCTTTGACGAAAGGAGGGGACAA
 CTTACAGAAAAAGCTACAAAACGCTTGCTTAAAGACTGGGAAACTAAAGA
 AACTTCTTTATTGTCTACAGAATACAGATTCGCGGAGCCAACACAAACAC
 AAGCCCCACAAGAGGACCCGTCTCGGAAGAAGAAGAAGAGAGCAACCTC
 TTCGAGCGACTCTCCGACAGCGAACCAAGCAGCTCCAGCTCAAGCGCAG
 AATAATACAAACATTGAAAGACCTACAAAAATAGCAATAACTAACAGCAA
 AAACACCGTTTACCTATTTCCACCTGAACAAAAGAACAGAAGACTAACAC
 CATGGGAAATACAAGAAGACAAAGAAATAGCCAATTTATTTGGCAGACCA
 CATAGATACTTTTAAAAGACATTCCTTTCTATTGGGATATACCCCCAGA
 GCCTAAAGTAACTTTGATTTAAATTTTCAATAAAGAAATAAAGGGCAAG
 GCCCCATTAACTCAAAGTCGGTGTCTACCTCTTTAAGTTTAACTTTACTA
 AACGGACTCCGCCTCCCTAAATTTGGGCGCCAAAAGGGGGCTCCGCCCCC
 TTAAACCCCAGGGGGCTCCGCCCCCTAAAACCCCCAAGGGGGCTACGCCC
 CCTTACACCCCC (配列番号 1008)

10

20

アノテーション:**推定ドメイン****塩基範囲**

TATA ボックス

152 – 158

開始エレメント

172 – 187

転写開始部位

182

5'UTR 保存ドメイン

239 – 309

ORF2

343 – 633

30

ORF2/2

343 – 629; 2196 – 2505

ORF2/3

343 – 629; 2371 – 2734

ORF1

522 – 2540

ORF1/1

522 – 629; 2196 – 2540

ORF1/2

522 – 629; 2371 – 2505

3 オープンリーディングフレーム領域

2276 – 2502

GC リッチ領域

2803 – 2912

40

【 0 3 3 0 】

【表 5 2】

表 E2. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*)核酸配列(ベータトルクウイルス(*Betatorquevirus*))

Ring10 (ベータトルクウイルス(<i>Betatorquevirus</i>))	
ORF2	MFKSPTYLTTKGKNNALINCFVGDHDLSCSCNNPAYHCLQILATTLAPQLK QEEKQQIIQCLGGTDAVATTRGDEEIGLEDLEKLFTEDTEEDAAG (配列 番号 1009)
ORF2/2	MFKSPTYLTTKGKNNALINCFVGDHDLSCSCNNPAYHCLQILATTLAPQLK QEEKQQIIQCLGGTDAVATTRGDEEIGLEDLEKLFTEDTEEDAAGQHMLFPI TSMKQLRYRIQPPDQSTSTCTPLTKGGDNLQKKLQNACLKTGKLKKLLYCLQ NTDSRSQHKHKPHKTRPRKRRKKRATSSSDSSDSEPSSSSSSAE (配列番号 1010)
ORF2/3	MFKSPTYLTTKGKNNALINCFVGDHDLSCSCNNPAYHCLQILATTLAPQLK QEEKQQIIQCLGGTDAVATTRGDEEIGLEDLEKLFTEDTEEDAAGIQIRGANT NTSPTRGPVLGRRRREQPLRATPPTANQAAPAQAQNNTNIERPTKIRITNSKN TVYLPPEQKNRRLTPWEIQEDKEIANLFGRPTRYFLKDIPFYWDIPPEPKVN FDLNFQ (配列番号 1011)

【0 3 3 1】

【表 5 3】

ORF1	MPWWYRRRSYNPWRRRNWFRPRKTIYRRYRRRRRWVRRKPFYKRKIKR LNIVEWQPKSIRKCRKIGMLCLFQTTEDRLSYNFDMYEESIPEKLPGGGGFSI KNISLYALYQEHIAHNIFHTNTDRPLARYTGCSLKFYQSKDIDYVVTYSTS LPLRSSMGMYNSMQPSIHLMQQNKLVPSKQTQKRRKPYIKKHISPTQMKSS QWYFQHNIANIPLLMIRTTALTDNYYIGSRQLSTNVTIHTLNTTYIQNRDW GDRNKTYYCQTLGTQRYFLYGTHSTAQNINDIKLQELIPLTNTQDYVQGF WTEKDKHNITTYKEFLTKGAGNPFHAEWITAQNPVIHTANSPTQIEQIYTAS TTTTQNKKLTDLTPGYIFITPTVSLRYNPYKDLAERNKCYFVRSKINAHGW DPEQHQELINDLPQWLLFGYPDYIKRTQNFALVDTNYILVDHCPYTNPEK TPFIPLSTSFIEGRSPYSPSDTHEPDEEDQNRWYPCYQYQYESINSICLSGPGTP KIPKGITAEAKVKYSFNFKWGGDLPPMSTITNPTDQPTYVVPNNFNETTSLQ NPTTRPEHFLYSFDERRGQLTEKATKRLKDWETKETSLLSTEYRFAEPTQT QAPQEDPSSEEEEEESNLFERLLRQRTKQLQLKRRIIQTLDLQKLE (配列番号 1012)
ORF1/1	MPWWYRRRSYNPWRRRNWFRPRKTIYRRYRRRRRWPTYVVPNNFNETT SLQNPTTRPEHFLYSFDERRGQLTEKATKRLKDWETKETSLLSTEYRFAEP TQTQAPQEDPSSEEEEEESNLFERLLRQRTKQLQLKRRIIQTLDLQKLE
ORF1/2	MPWWYRRRSYNPWRRRNWFRPRKTIYRRYRRRRRWNTDSRSQHKHKPH KTRPRKRRKKRATSSSDSSDSEPSSSSSSAE (配列番号 1013)

10

20

30

40

50

【0332】

一部の実施形態では、アネロベクターは、その全体が本明細書に参照により組み込まれるPCT出願番号：米国特許第2018/037379号明細書に列挙されている配列を含む核酸を含む。一部の実施形態では、アネロベクターは、その全体が本明細書に参照により組み込まれるPCT出願番号：米国特許第2018/037379号明細書に列挙されている配列を含むポリペプチドを含む。一部の実施形態では、アネロベクターは、その全体が本明細書に参照により組み込まれるPCT出願番号PCT/US19/65995号明細書に列挙されている配列を含む核酸を含む。一部の実施形態では、アネロベクターは、その全体が本明細書に参照により組み込まれるPCT出願番号第PCT/US19/65995号明細書に列挙されている配列を含むポリペプチドを含む。

10

【0333】

ORF1分子

一部の実施形態では、アネロベクターは、ORF1分子及び／又はORF1分子をコード化する核酸を含む。概して、ORF1分子は、アネロウイルス（Anellovirus）ORF1タンパク質（例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス（Anellovirus）ORF1タンパク質）の構造特徴及び／又は活性を有するポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF1分子は、アネロウイルス（Anellovirus）ORF1タンパク質（例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス（Anellovirus）ORF1タンパク質）と比較して切断を含む。ORF1分子は、他のORF1分子に結合して、例えば、タンパク質性外層（例えば、本明細書に記載の通り）、例えば、

キャプシドを形成することができる。一部の実施形態では、タンパク質性外層は、核酸分子（例えば、本明細書に記載される遺伝子エレメント）を閉じ込めることができる。一部の実施形態では、複数のORF1分子は、多量体を形成して、例えば、タンパク質性外層を形成し得る。一部の実施形態では、多量体は、ホモ多量体であり得る。他の実施形態では、多量体は、ヘテロ多量体であり得る。

20

【0334】

ORF1分子は、一部の実施形態では、以下：アルギニンリッチ領域を含む第1領域、例えば、少なくとも60%の塩基性残基（例えば、少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、又は100%の塩基性残基；例えば、60%～90%、60%～80%、70%～90%、若しくは70～80%の塩基性残基）を有する領域、及びゼリーロールドメイン、例えば、少なくとも6つのベータ鎖（例えば、4、5、6、7、8、9、10、11、又は12のベータ鎖）を含む第2領域のうち1つ若しくは複数を含み得る。

30

【0335】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるようなORF1分子は、野生型ORF1タンパク質配列（例えば、本明細書に記載の通り）と比較して、1つ又は複数のリシンからヒスチジンへの変異を含む。特定の実施形態では、ORF1分子は、アルギニンリッチ領域及び／又は第1のベータ鎖に1つ又は複数のリシンからヒスチジンへの変異を含む。

【0336】

アルギニンリッチ領域

アルギニンリッチ領域は、本明細書に記載されるアルギニンリッチ領域配列又は少なくとも60%、70%、若しくは80%の塩基性残基（例えば、アルギニン、リシン、若しくはそれらの組合せ）を含む少なくとも約40アミノ酸の配列に対して少なくとも70%（例えば、少なくとも約70、80、90、95、96、97、98、99、若しくは100%）の配列同一性を有する。

40

【0337】

ゼリーロールドメイン

ゼリーロールドメイン又は領域は、以下の特徴：

(i) ゼリーロールドメインのアミノ酸の少なくとも30%（例えば、少なくとも約30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、8

50

0%、90%、若しくはそれ以上)が、1つ若しくは複数のβシートの部分である；

(i i) ゼリーロールドメインの二次構造が、少なくとも4つ(例えば、4、5、6、7、8、9、10、11、若しくは12)のβ鎖を含む；且つ／又は

(i i i) ゼリーロールドメインの三次構造が、少なくとも2つ(例えば、2、3、若しくは4つ)のβシートを含む；且つ／又は

(i v) ゼリーロールドメインが、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、若しくは10:1のβシート:αヘリックスの比を含む

のうち1つ若しくは複数(例えば、1、2、若しくは3)を含むポリペプチド(例えば、より大きなポリペプチドに含まれるドメイン又は領域)を含む(例えば、それから構成される)。

【0338】

特定の実施形態では、ゼリーロールドメインは、2つのβシートを含む。

【0339】

特定の実施形態では、1つ又は複数(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10)のβシートは、約8(例えば、4、5、6、7、8、9、10、11、若しくは12)のβ鎖を含む。特定の実施形態では、1つ又は複数(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10)のβシートは、8つのβ鎖を含む。特定の実施形態では、1つ又は複数(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10)のβシートは、7つのβ鎖を含む。特定の実施形態では、1つ又は複数(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10)のβシートは、6つのβ鎖を含む。特定の実施形態では、1つ又は複数(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10)のβシートは、5つのβ鎖を含む。特定の実施形態では、1つ又は複数(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、若しくは10)のβシートは、4つのβ鎖を含む。

【0340】

一部の実施形態では、ゼリーロールドメインは、第2βシートに対して逆平行配向の第1βシートを含む。特定の実施形態では、第1βシートは、約4つ(例えば、3、4、5、又は6つ)のβ鎖を含む。特定の実施形態では、第2βシートは、約4つ(例えば、3、4、5、又は6つ)のβ鎖を含む。複数の実施形態では、第1及び第2βシートは、合計で、約8(例えば、6、7、8、9、10、11、又は12)のβ鎖を含む。

【0341】

特定の実施形態では、ゼリーロールドメインは、キャプシドタンパク質(例えば、本明細書に記載されるORF1分子)の1成分である。特定の実施形態では、ゼリーロールドメインは、自己集合活性を有する。一部の実施形態では、ゼリーロールドメインを含むポリペプチドは、ゼリーロールドメインを含むポリペプチドの別のコピーに結合する。一部の実施形態では、第1ポリペプチドのゼリーロールドメインは、ポリペプチドの第2コピーのゼリーロールドメインに結合する。

【0342】

N22ドメイン

ORF1分子はまた、アネロウイルス(Ane ll o v i r u s) N22ドメイン(例えば、本明細書に記載されるように、例えば、本明細書に記載のアネロウイルス(Ane ll o v i r u s) ORF1タンパク質由来のN22ドメイン)の構造若しくは活性を含む第3領域、及び／又はアネロウイルス(Ane ll o v i r u s) C末端ドメイン(CTD)(例えば、本明細書に記載されるように、例えば、本明細書に記載のアネロウイルス(Ane ll o v i r u s) ORF1タンパク質由来のCTD)の構造若しくは活性を含む第4領域も含み得る。一部の実施形態では、ORF1分子は、N末端からC末端の順に、第1領域、第2領域、第3領域、及び第4領域を含む。

【0343】

超可変領域(HVR)

ORF1分子は、一部の実施形態において、超可変領域(HVR)、例えば、本明細書

10

20

30

40

50

に記載される、例えば、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1タンパク質由来のHVRをさらに含む。一部の実施形態では、HVRは、第2領域と第3領域との間に位置する。一部の実施形態では、HVRは、少なくとも約55（例えば、少なくとも約45、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、又は65）のアミノ酸（例えば、約45～160、50～160、55～160、60～160、45～150、50～150、55～150、60～150、45～140、50～140、55～140、又は60～140アミノ酸）を含む。

【0344】

例示的なORF1配列

例示的なアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1アミノ酸配列、及び例示的なORF1ドメインの配列を以下の表に提供する。一部の実施形態では、本明細書に記載のポリペプチド（例えば、ORF1分子）は、例えば、表N～Zのいずれかに記載される、1つ若しくは複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1部分配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のアネロベクターは、例えば、表N～Zのいずれかに記載される、1つ若しくは複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1部分配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のアネロベクターは、例えば、表N～Zのいずれかに記載される、1つ若しくは複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1部分配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むORF1分子をコード化する核酸分子（例えば、遺伝子エレメント）を含む。

【0345】

一部の実施形態では、1つ若しくは複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1部分配列は、アルギニン（Arg）リッチドメイン、ゼリーロールドメイン、超可変領域（HVR）、N22ドメイン、若しくはC末端ドメイン（CTD）（例えば、表N～Zのいずれかに列挙される通り）、又はそれに対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する配列の1つ若しくは複数を含む。一部の実施形態では、ORF1分子は、異なるアネロウイルス（*Anellovirus*）に由来する複数の部分配列（例えば、表N～Zのいずれかに列挙されるアルファトルクウイルス（*Alphatorquevirus*）クレード1～7部分配列から選択されるORF1部分配列の任意の組合せ）を含む。複数の実施形態では、ORF1分子は、1つのアネロウイルス（*Anellovirus*）由来のArgリッチドメイン、ゼリーロールドメイン、N22ドメイン、及びCTDのうち1つ若しくは複数と、別のアネロウイルス（*Anellovirus*）由来のHVRとを含む。複数の実施形態では、ORF1分子は、1つのアネロウイルス（*Anellovirus*）由来のゼリーロールドメイン、HVR、N22ドメイン、及びCTDのうち1つ若しくは複数と、別のアネロウイルス（*Anellovirus*）由来のArgリッチドメインとを含む。複数の実施形態では、ORF1分子は、1つのアネロウイルス（*Anellovirus*）由来のArgリッチドメイン、HVR、N22ドメイン、及びCTDのうち1つ若しくは複数と、並びに別のアネロウイルス（*Anellovirus*）由来のN22ドメインを含む。複数の実施形態では、ORF1分子は、1つのアネロウイルス（*Anellovirus*）由来のArgリッチドメイン、ゼリーロールドメイン、HVR、及びN22ドメインのうち1つ若しくは複数と、別のアネロウイルス（*Anellovirus*）由来のCTDとを含む。

【0346】

ORF1分子、又はそのスプライス変異体若しくは機能性断片が、本明細書に記載の組成物及び方法において（例えば、遺伝子エレメントを閉じ込めることによって、例えば、アネロベクターのタンパク質性外層を形成するために）利用できる、追加の例示的なアネロウイルス（*Anellovirus*）は、例えば、PCT出願番号第PCT/US2018/037379号明細書及び第PCT/US19/65995号明細書（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）に記載される。

【0347】

【表54】

表 N. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*)ORF1 アミノ酸部分配列(アルファトルクウイルス(*Alphatorquevirus*), クレード3)

名称	Ring1
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>), クレード3
アクセッション番号	AJ620231.1
タンパク質アクセッション番号	CAF05750.1
全配列:	743 AA

```
1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
MAWGWWKRRRRWWFRKRWTRGRLRRRWPRSAARRPRRRRVRRRRWRRGR
RKTRTYRRRRFRRRGRKAKLIKWLQPAVIKRCRIKGYIPLIISGNGTF
ATNFTSHINDRIMKGFPGGGHSTMRFSLYILFEEHLRHMNFWTRSDNLE
LTRYLGASVKIYRHPDQDFIVINYRRTPLGGNIYTAPSLHPGNAILAKHK
ILVPSLQTRPKGRKAIRLRIAPPTLFTDKWYFQKDIADLTLFNIMAVEAD
LRFPFCSPTDNTCISFQVLSSVYNNYLSINTFNNDNSDSLKEFLNKAF
PTTGTKGTSLNALNTRTEGCISHPQLKKPNPQINKPLESQYFAPLDALW
GDPIYYNDLNENKSLNDIEKILIKNMITYHAKLREFPNSYQGNAFCHL
TGIYSPPYLNQGRISPEIFGLYTEIINYNYTDKGTGNKVWMDPLTKENNI
YKEGQSKCLLTDMPWLTLLEFGYTDWCKKDTNNWDLPLNYRLVLICPYTFP
KLYNEKVKDYGYPYSYKFGAGQMPDGSNYIPFQFRAKWYPTVLHQQQVM
EDISRSGPFAPKVEKPSTQLVMKYCFNFWGNGNPIIEQIVKDPSFQPTYE
IPGTGNIPRRIQVIDPRVLGPHYSFRSWDMRRHTFSRASIKRVSEQQETS
DLVFSGPKKPRVDIPKQETQEESHSLQRESRPWETEESETEALSQESQ
EVPFQQQLQQQYQEQQLKLRQGIKVLFEQLIRTQQGVHVNPCLR
```

(配列番号 185)

アノテーション:

推定ドメイン	AA 範囲
Arg リッチ領域	1 - 68
ゼリーロールドメイン	69 - 280
超可変領域	281 - 413
N22	414 - 579
C 末端ドメイン	580 - 743

【0348】

【表 5 5】

表 O. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*) ORF1 アミノ酸部分配列(*アルファトルクウイルス* (*Alphatorquevirus*), クレード 3)

Ring1 ORF1 (<i>アルファトルクウイルス</i> (<i>Alphatorquevirus</i>)クレード 3)	
Arg リッチ領域	MAWGWWKRRRRWWFRKRWTRGRLRRRWPRSARRRPRIIRRVRRRRRWRR GRRKTRTYRRRRRFRRRGRK (配列番号 186)
ゼリーロール ドメイン	AKLIKLWQPAVIKRCRIKGYIPLIISGNGTFATNFTSHINDRIMKGPFGGGHST MRFSLYILFEEHLRHMNFWTRSNDNLELTRYL GASVKIYRHPDQDFIVIYNRR TPLGGNIYTAPSLHPGNAILAKHKILVPSLQTRPKGRKAIRLRIAPPTLFTDKWY FQKDIADLT LFNIMAVEADLRFPFCSPQTDNTCISFQVLSSVYNNYLSI (配列 番号 187)
超可変ドメイン	NTFNNDNSDSKLKEFLNKAFTTGTKGTSLNALNTFRTEGCISHPQLKKPNPQI NKPLESQYFAPLDALWGDPIYYNDLNENKSLNDIIEKILIKNMITYHAKLREFP NSYQGNKAFCHLTGIYSPPYLNQGR (配列番号 188)
N22	ISPEIFGLYTEIINYNYPTDKGTGNKVWMDPLTKENNIYKEGQSKCLLTDMPLW TLLFGYTDWCKKDTNNWDLPLNYRLVLICPYTFPKLYNEKVKDYGYPYSYK FGAGQMPDGSNYIPFQFRAKWYPTVLHQQQVMEDISRSRGPAPKVEKPSTQL VMKYCFNFN (配列番号 189)
C 末端ドメイン	WGGNPIIEQIVKDPSFQPTYEIPGTGNIPRIQVIDPRVLGPHYSFRSWMRRHT FSRASIKRVSEQQETSDLVFSGPKKPRVDIPKQETQEESHSLSQRESRPWETEEE SETEALSQESQEVFPQQQLQQQYQEQLKLRQGIKVLFEQLIRTQQGVHVNPC L R (配列番号 190)

【 0 3 4 9 】

10

20

30

40

50

【表 5 6】

表 P. 例示的なアネロウイルス ORF1 アミノ酸部分配列(アルファトルクウイルス(*Betatorquevirus*))

名称	Ring2
属/クレード	ベータトルクウイルス(<i>Betatorquevirus</i>)
アクセッション番号	JX134045.1
タンパク質アクセッション番号	AGG91484.1

全配列: 666 AA

10

1 10 20 30 40 50
| | | | |
MPYYRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFRRRFRKRVRPTYTTIPLKQWQ
PPYKRTCYIKGQDCLIIYSNLRGLMNSTMYEKSIVPVHWPGGGSFSVSML
TLDALYDIHKLCRNWWTSTNQDLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHTE
LPANSNKLTYPNTHPLMMMSKYKHIIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPPPQF
ENKWYFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNPFVKPKLSNNVTLWSLNTISIQ
NRNMSVDQGGQSWPFKILGTQSFFYFYFYTGANLPGDTTQIPVADLLPLTNP
RINRPGQSLNEAKITDHITFTEYKNKFTNYWGNPFNKHIQEHLDMILYSL
KSPEAIKNEWTTENMKWNQLNAGTMALTPFNEPIFTQIQYNPDRDTGED
TQLYLLSNATGTGWDPGPIELILEGFPLWLIYWGFADFQKNLKKVTNID
TNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVILNDTFVEGNSPYEKQPLPEDNIKWYPQV
QYQLEAQNKLLQTGPFTPNIQGQLSDNISMFKFYFKWGGSPKAINVEN
PAHQIQYPIPRNEHETTSLSQSPGEAPESILYSFDYRHGNYTTTALSRLSQ
DWALKDTSKITEPDRQQLLKQALECLQISEETQEKKEKEVQQLISNLRQ
QQQLYRERIISLLKDQ (配列番号 215)

20

30

アノテーション:

推定ドメイン	AA 範囲
Arg リッチ領域	1 – 38
ゼリーロールドメイン	39 - 246
超可変領域	247 - 374
N22	375 – 537
C 末端ドメイン	538 – 666

40

【 0 3 5 0】

50

【表 5 7】

表 Q. 例示的なアネロウイルス ORF1 アミノ酸部分配列(ベータトルクウイルス(*Betatorquevirus*))

Ring2 ORF1 (ベータトルクウイルス(<i>Betatorquevirus</i>))	
Arg リッチ領域	MPYYYRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFRFRFRKRRVR (配列番号 216)
ゼリーロール ドメイン	PTYTTIPLKQWQPPYKRTCYIKGQDCLIIYSNLRLGMNSTMYEKSIVPVHWP GGSFVSMLTLDALYDIHKLCRNWWTSTNQDLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYI VRIHTELPANSNKLTYPNTHPLMMMMSKYKHIIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPP PQFENKWYFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNPFFVKPKLSNNVTLWSLNT (配 列番号 217)
超可変ドメイン	ISIQNRNMSVDQGSWPFKILGTQSFYFYFYTGANLPGDQTQIPVADLLPLTNP RINRPGQSLNEAKITDHITFTEYKNKFTNYWGNPFNKHIQEHLDMILYSLKSPE AIKNEWTTENMKWNQLNAG (配列番号 218)
N22	TMALTPFNEPIFTQIQYNPDRDTGEDTQLYLLSNATGTGWDPPGIPELILEGFPL WLIYWGFADFQKNLKKVTNIDTNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVILNDTFVEGN SPYEKQPLPEDNIKWYPQVQYQLEAQNKLLQTGPFTPNIQGQLSDNISMFYKF YFK (配列番号 219)
C 末端ドメイン	WGGSPPKAINVENPAHQIQYPIPRNEHETTSLSQSPGEAPESILYSFDYRHGNYT TTALSRISQDWALKDTVSKITEPDRQQLLKQALECLQISEETQEKKEKEVQQLI SNLRQQQQLYRERIISLLKDQ (配列番号 220)

【0 3 5 1】

10

20

30

40

50

【表 5 8】

表 R. 例示的なアネロウイルス ORF1 アミノ酸部分配列(ガンマトルクウイルス(*Gammatorquevirus*))

名称	Ring4
属/クレード	ガンマトルクウイルス(<i>Gammatorquevirus</i>)
アクセッション番号	
タンパク質アクセッション番号	

全配列: 662 AA

10

```
1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
MPFWRRRRRKFWTNNRFNYTKRRRYRKRWPRRRRRRRPYRRPVRRRRRKL
RKVKRKKKSLIVRQWQPDSSIRTCKIIGQSAIVVGAEGKQMYCYTVNKLIN
VPPKTPYGGGFGVDQYTLKLYEYRFAQNIWTQSNVLKDLCRYINVKLI
FYRDNKTDVLSYDRNPFFQLTKFTYPGAHPQQIMLQKHHKFILSQMTKP
NGRLTKKLKIKPPKQMLSKWFFSKQFCKYPLLSLKASALDLRHSYLGCCN
ENPQVFFYYLNHGYYTITNWGAQSSSTAYRPNSKVTDTTYRYKNDRKIN
IKSHEYEKSSISYENGYFQSSFLQTQCIYTSEGEACIAEKPLGIAIYNPV
KDNGDGNMIYLVSTLANWTDQPPKDSAILIQGVPIWLGLFGYLDYCRQIK
ADKTWLDShVLVIQSPAIFTYPNPGAGKWYCPLSQSFINGNGPFNPPTL
LQKAKWFPQIQYQQEIINSFVESGPFVPKYANQTESNWELKYKYVFTFKW
GGPQFHEPEIADPSKQEQYDVPDFTFYQTIQIEDPEGQDPRSLIHDWDYRR
GFIKERSLKRMSYFSTHTDQQATSEEDIKKKKRIGPQLTVPQQKEEET
LSCLLSLCKKDTFQETETQEDLQQLIKQQEQQLLLKRNILQLIHKLKEN
QQMLQLHTGMPL (配列番号 925)
```

20

アノテーション:

推定ドメイン	AA 範囲
Arg リッチ領域	1 - 58
ゼリーロールドメイン	59 - 260
超可変領域	261 - 339
N22	340 - 499
C 末端ドメイン	500 - 662

30

【0 3 5 2】

40

50

【表 5 9】

表 S. 例示的なアネロウイルス ORF1 アミノ酸部分配列(ガンマトルクウイルス(*Gammatorquevirus*))

Ring4 (ガンマトルクウイルス(<i>Gammatorquevirus</i>))	
Arg リッチ領域	MPFWWRRRRKFWTNNRFNYTKRRRYRKRWPPIRRRRRRPYRRPVRRRRRKL RKVKRKKK (配列番号 926)
ゼリーロール ドメイン	SLIVRQWQPDSIRTCKIIGQSAIVVGAEGKQMYCYTVNKLINVPKTPYGGGF GVDQYTLKYL YEEYRFAQNIWTQSNVLKDLCRYINVKLIFYRDNKTDFVLSY DRNPPFQLTKFTYPGAHPQQIMLQKHHKFILSQMTKPNGRLTKKLKIKPPKQM LSKWFFSKQFCKYPLLSLKASALDLRHSYLGCCNENPQVFFYYL (配列番号 927)
超可変ドメイン	NHGYYTITNWGAQSSTAYRPNSKVTDTTYRYKNDRKNNIKSHEYEKSSISYE NGYFQSSFLQTQCIYTSEGEACIAE (配列番号 928)
N22	KPLGIAIYNPVKDNGDGNMIYL VSTLANTWDQPPKDSAILIQGVPIWLGFGY LDYCRQIKADKTWLDLHVLIQSPAIFTYPNPGAGKWYCPLSQSFINGNGPFN QPPTLLQKAKWFPQIQYQQEIINSFVESGPFVPKYANQTESNWELKYKYVFTF K (配列番号 929)
C 末端ドメイン	WGGPQFHEPEIADPSKQEYDVPDTFYQTIQIEDPEGQDPRSLIHDWDYRRGFI KERSLKRMSYFSTHTDQQTSEEDIPKKKKRIGPQLTVPQQKEEETLSCLLSL CKKDTFQETETQEDLQQLIKQQEQQLLLKRNILQLIHKLKENQQMLQLHTG MLP (配列番号 930)

10

20

【0353】

一部の実施形態では、第1領域は、核酸分子（例えば、DNA）に結合することができる。一部の実施形態では、塩基性残基は、アルギニン、ヒスチジン、若しくはリシン、又はそれらの組合せから選択される。一部の実施形態では、第1領域は、少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、若しくは100%のアルギニン残基（例えば、60%～90%、60%～80%、70%～90%、若しくは70%～80%のアルギニン残基）を含む。一部の実施形態では、第1領域は、約30～120アミノ酸（例えば、約40～120、40～100、40～90、40～80、40～70、50～100、50～90、50～80、50～70、60～100、又は60～80個のアミノ酸）を含む。一部の実施形態では、第1領域は、ウイルスORF1アルギニンリッチ領域（例えば、本明細書に記載される、例えば、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1タンパク質由来のアルギニンリッチ領域）の構造又は活性を含む。一部の実施形態では、第1領域は、核局在化シグナルを含む。

30

【0354】

一部の実施形態では、第2領域は、ゼリーロールドメイン、例えば、ウイルスORF1ゼリーロールドメイン（例えば、本明細書に記載される、例えば、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1タンパク質由来のゼリーロールドメイン）の構造又は活性を含む。一部の実施形態では、第2領域は、別のORF1分子の第2領域と結合して、タンパク質性外層（例えば、キャプシド）又はその部分を形成することができる。

40

【0355】

一部の実施形態では、第4領域は、タンパク質性外層（例えば、本明細書に記載される、ORF1分子の多量体を含むタンパク質性外層）の表面に曝露される。

【0356】

一部の実施形態では、第1領域、第2領域、第3領域、第4領域、及び／又はHVRは

50

各々、3つ以下（例えば、0、1、2、若しくは3つ）のβシートを含む。

【0357】

一部の実施形態では、第1領域、第2領域、第3領域、第4領域、及び／又はHVRの1つ若しくは複数、異種アミノ酸配列（例えば、異種ORF1分子由来の対応する領域）で置換され得る。一部の実施形態では、異種アミノ酸配列は、例えば、本明細書に記載される所望の機能性断片を有する。

【0358】

一部の実施形態では、ORF1分子は、複数の保存モチーフ（例えば、約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、若しくはそれ以上のアミノ酸を含むモチーフ）を含む（例えば、国際公開第US19／65995号の図34に示す通り）。一部の実施形態では、保存モチーフは、1つ若しくは複数の野生型アネロウイルス（Anellovirus）クレード（例えば、アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）、クレード1；アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）、クレード2；アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）、クレード3；アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）、クレード4；アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）、クレード5；アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）、クレード6；若しくはアルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）、クレード7；ベータトルクウイルス（Betatorquevirus）；及び／又はガンマトルクウイルス（Gammatorquevirus）のORF1タンパク質に対して60、70、80、85、90、95、若しくは100%の配列同一性を示し得る。複数の実施形態では、保存モチーフは各々、1～1000（例えば、5～10、5～15、5～20、10～15、10～20、15～20、5～50、5～100、10～50、10～100、10～1000、50～100、50～1000、又は100～1000）アミノ酸長を有する。特定の実施形態では、保存モチーフは、ORF1分子の配列の約2～4%（例えば、約1～8%、1～6%、1～5%、1～4%、2～8%、2～6%、2～5%、若しくは2～4%）から構成され、各々、野生型アネロウイルス（Anellovirus）クレードのORF1タンパク質中の対応するモチーフに対して100%の配列同一性を示す。特定の実施形態では、保存モチーフは、ORF1分子の配列の約5～10%（例えば、約1～20%、1～10%、5～20%、若しくは5～10%）から構成され、各々、野生型アネロウイルス（Anellovirus）クレードのORF1タンパク質中の対応するモチーフに対して80%の配列同一性を示す。特定の実施形態では、保存モチーフは、ORF1分子の配列の約10～50%（例えば、約10～20%、10～30%、10～40%、10～50%、20～40%、20～50%、若しくは30～50%）から構成され、各々、野生型アネロウイルス（Anellovirus）クレードのORF1タンパク質中の対応するモチーフに対して60%の配列同一性を示す。一部の実施形態では、保存モチーフは、表19に列挙される1つ又は複数のアミノ酸配列を含む。

【0359】

一部の実施形態では、ORF1分子又はそれをコード化する核酸分子は、例えば、本明細書に記載される野生型ORF1タンパク質と比較して、少なくとも1つの相違（例えば、突然変異、化学修飾、若しくはエピジェネティックな改変）を含む。

【0360】

N22ドメイン内の保存ORF1モチーフ

一部の実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチド（例えば、ORF1分子）は、アミノ酸配列YNPX²DXGX²N（配列番号829）（Xⁿは、任意のn個のアミノ酸の連続した配列である）を含む。例えば、Xⁿは、任意の2つのアミノ酸の連続した配列を示す。一部の実施形態では、YNPX²DXGX²N（配列番号829）は、例えば、本明細書に記載されるORF1分子のN22ドメイン内に含まれる。一部の実施形態では、本明細書に記載される遺伝子エレメントは、アミノ酸配列YNPX²DXGX²N

(配列番号 829) (X^n は、任意の n 個のアミノ酸の連続した配列である) をコード化する核酸配列 (例えば、本明細書に記載される、例えば、ORF1 分子をコード化する核酸配列) を含む。

【0361】

一部の実施形態では、ポリペプチド (例えば、ORF1 分子) は、例えば、N22 ドメイン中に、例えば、 $YNPX^2DXGX^2N$ (配列番号 829) モチーフの 1 部分とフランキングする及び／又はそれを含む保存二次構造を含む。一部の実施形態では、この保存二次構造は、第 1 β 鎖及び／又は第 2 β 鎖を含む。一部の実施形態では、第 1 β 鎖は、約 5~6 (例えば、3、4、5、6、7、又は 8) アミノ酸長である。一部の実施形態では、第 1 β 鎖は、 $YNPX^2DXGX^2N$ (配列番号 829) モチーフの N 末端にチロシン (Y) 残基を含む。一部の実施形態では、 $YNPX^2DXGX^2N$ (配列番号 829) モチーフは、ランダムコイル (例えば、ランダムコイルの約 8~9 アミノ酸) を含む。一部の実施形態では、第 2 β 鎖は、約 7~8 (例えば、5、6、7、8、9、又は 10) アミノ酸長である。一部の実施形態では、第 2 β 鎖は、 $YNPX^2DXGX^2N$ (配列番号 829) モチーフの C 末端にアスパラギン (N) 残基を含む。

10

【0362】

例示的な $YNPX^2DXGX^2N$ (配列番号 829) モチーフに隣接する二次構造は、第 PCT/US19/65995 号の実施例 47 及び図 48 に記載されており；その全体が参照により本明細書に組み込まれる。一部の実施形態では、ORF1 分子は、国際公開第 US19/65995 号の図 48 に示す二次構造エレメント (例えば、 β 鎖) の 1 つ又は複数 (例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、若しくは全部) を含む領域を含む。一部の実施形態では、ORF1 分子は、 $YNPX^2DXGX^2N$ (配列番号 829) モチーフ (例えば、本明細書に記載の通り) とフランキングする、国際公開第 US19/65995 号の図 48 に示す二次構造エレメント (例えば、 β 鎖) の 1 つ又は複数 (例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、若しくは全部) を含む領域を含む。

20

【0363】

ORF1 ゼリーロールドメイン内の保存二次構造

一部の実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチド (例えば、ORF1 分子) は、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 タンパク質 (例えば、本明細書に記載の通り) に含まれる 1 つ又は複数の二次構造エレメントを含む。一部の実施形態では、ORF1 分子は、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 タンパク質のゼリーロールドメイン (例えば、本明細書に記載の通り) に含まれる 1 つ又は複数の二次構造エレメントを含む。一般に、ORF1 ゼリーロールドメインは、N 末端から C 末端方向の順で、第 1 β 鎖、第 2 β 鎖、第 1 α ヘリックス、第 3 β 鎖、第 4 β 鎖、第 5 β 鎖、第 2 α ヘリックス、第 6 β 鎖、第 7 β 鎖、第 8 β 鎖、及び第 9 β 鎖を含む二次構造を含む。一部の実施形態では、ORF1 分子は、N 末端から C 末端方向の順で、第 1 β 鎖、第 2 β 鎖、第 1 α ヘリックス、第 3 β 鎖、第 4 β 鎖、第 5 β 鎖、第 2 α ヘリックス、第 6 β 鎖、第 7 β 鎖、第 8 β 鎖、及び／又は第 9 β 鎖を含む二次構造を含む。

30

【0364】

一部の実施形態では、1 対の保存二次構造エレメント (即ち、 β 鎖及び／又は α ヘリックス) は、例えば、ランダムコイル配列、 β 鎖、若しくは α ヘリックス、又はそれらの組合せを含む、介在アミノ酸配列によって隔てられている。保存二次構造エレメント間の介在アミノ酸配列は、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、又はそれ以上のアミノ酸を含み得る。一部の実施形態では、ORF1 分子は、1 つ若しくは複数の追加 β 鎖及び／又は α ヘリックス (例えば、ゼリーロールドメイン内に) をさらに含み得る。一部の実施形態では、連続した β 鎖又は連続した α ヘリックスを組み合わせてもよい。一部の実施形態では、第 1 β 鎖及び第 2 β 鎖は、より大きな β 鎖に含まれる。一部の実施形態では、第 3 β 鎖及び第 4 β 鎖は、より大き

40

50

なβ鎖に含まれる。一部の実施形態では、第4β鎖及び第5β鎖は、より大きなβ鎖に含まれる。一部の実施形態では、第6β鎖及び第7β鎖は、より大きなβ鎖に含まれる。一部の実施形態では、第7β鎖及び第8β鎖は、より大きなβ鎖に含まれる。一部の実施形態では、第8β鎖及び第9β鎖は、より大きなβ鎖に含まれる。

【0365】

一部の実施形態では、第1β鎖は、約5～7（例えば、3、4、5、6、7、8、9、又は10）アミノ酸長である。一部の実施形態では、第2β鎖は、約15～16（例えば、13、14、15、16、17、18、又は19）アミノ酸長である。一部の実施形態では、第1αヘリックスは、約15～17（例えば、13、14、15、16、17、18、19、又は20）アミノ酸長である。一部の実施形態では、第3β鎖は、約3～4（例えば、1、2、3、4、5、又は6）アミノ酸長である。一部の実施形態では、第4β鎖は、約10～11（例えば、8、9、10、11、12、又は13）アミノ酸長である。一部の実施形態では、第5β鎖は、約6～7（例えば、4、5、6、7、8、9、又は10）アミノ酸長である。一部の実施形態では、第2αヘリックスは、約8～14（例えば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、又は17）アミノ酸長である。一部の実施形態では、第2αヘリックスは、2つのより小さなαヘリックスに切断されていてもよい（例えば、ランダムコイル配列により隔てられている）。一部の実施形態では、2つのより小さなαヘリックスの各々は、約4～6（例えば、2、3、4、5、6、7、又は8）アミノ酸長である。一部の実施形態では、第6β鎖は、約4～5（例えば、2、3、4、5、6、又は7）アミノ酸長である。一部の実施形態では、第7β鎖は、約5～6（例えば、3、4、5、6、7、8、又は9）アミノ酸長である。一部の実施形態では、第8β鎖は、約7～9（例えば、5、6、7、8、9、10、11、12、又は13）アミノ酸長である。一部の実施形態では、第9β鎖は、約5～7（例えば、3、4、5、6、7、8、9、又は10）アミノ酸長である。

10

20

【0366】

例示的なゼリーロールドメイン二次構造が、国際公開第US19／65995号の実施例47及び図47に記載されている。一部の実施形態では、ORF1分子は、国際公開第US19／65995号の図47に示すゼリーロールドメイン二次構造のいずれかの二次構造エレメント（例えば、β鎖及び／又はαヘリックス）の1つ若しくは複数（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、若しくは全部）を含む領域を含む。

30

【0367】

コンセンサスORF1ドメイン配列

一部の実施形態では、例えば、本明細書に記載されるORF1分子は、ゼリーロールドメイン、N22ドメイン、及び／又はC末端ドメイン（CTD）の1つ若しくは複数を含む。一部の実施形態では、ゼリーロールドメインは、本明細書に記載される（例えば、表37A～37Cのいずれかに列挙される）ゼリーロールドメインコンセンサス配列を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、N22ドメインは、本明細書に記載される（例えば、表37A～37Cのいずれかに列挙される）N22ドメインコンセンサス配列を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、CTDドメインは、本明細書に記載される（例えば、表37A～37Cのいずれかに列挙される）CTDドメインコンセンサス配列を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、表37A～37Cのいずれかにフォーマット「(X_a～b)」で列挙されるアミノ酸は、連続したシリーズのアミノ酸を含み、その際、このシリーズは、少なくともa、且つ多くともbのアミノ酸を含む。特定の実施形態では、上記シリーズのアミノ酸はすべて同じである。他の実施形態では、上記シリーズは、少なくとも2（例えば、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、又は21）個の異なるアミノ酸を含む。

40

【0368】

50

【表 6 0】

表 37A. アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus) ORF1 ドメインコンセンサス配列

ドメイン	配列	配列番号
ゼリーロール	LVL TQWQPNTVRR CYIRGYLPLIICGEN(X ₀₋₃)TTSRNYATHS DDTIQKGPFGGGMSTTTFSLRVLYDEYQRFMNRWTYSNED LDLARYLGCKFTFYRHPDXDFIVQYNTNPPFKDTKLTAPSIH P(X ₁₋₅)GMLMLSKRKILIPSLKTRPKGKHVYKVRIGPPKLFED KWYTQSDLCDVPLVXLYATAADLQHPFGSPQTDNPCVTFQ VLGSXYNKHLSISP; ここで、X = 任意のアミノ酸。	227
N22	SNFEFPGAYTDITYNPLTDKG VGNMVWIQYLTKPDTIXDKT QS(X ₀₋₃)KCLIEDLPLWAAL YGYVDFCEKETGDSAIIXNXGRV LIRCPYTKPPLYDKT(X ₀₋₄)NKGFPYSTNFGNGKMPGGSGY VPIYWRARWYPTLFHQKEVLEDIVQSGPFAYKDEKPSTQLV MKYCFNFN; ここで、X = 任意のアミノ酸。	228
CTD	WGGNPISQQVVRNPCKDSG(X ₀₋₃)SGXGRQPRSVQVVDPKY MGPEYTFHSWDWRRGLFGEKAIKRMSEQPTDDEIFTGGXPK RPRRDPPTXQXP EE(X ₁₋₄)QKESSSFR(X ₂₋₁₄)PWESSSQEXESES QEEEE(X ₀₋₃₀)EQT VQQQLRQQLREQRRLRVQLQLLFQQLLKT (X ₀₋₄)QAGLHINPLLLSQA(X ₀₋₄₀)*; ここで、X = 任意のアミノ酸。	229

【 0 3 6 9】

10

20

30

40

50

【表 6 1】

表 37B. ベータトルクウイルス(Betatorquevirus) ORF1 ドメインコンセンサス配列

ドメイン	配列	配列番号
ゼリーロール	LKQWQPSTIRKCKIKGYLPLFQCGKGRISNNYTQYKESIVPH HEPGGGGWSIQQFTLGALYEEHLKLRNWWTKSNDGLPLVR YLGCTIKLYRSEDTDYIVTYQRCYPMTATKLTYLSTQPSRM LMNKHKIIVPSKXT(X ₁₋₄)NKKKKPYKKIFIKPPSQMQNKWYF QQDIANTPLLQLTXTACSLDRMYLSSDSISNNITFTSLNTNFF QNPNFQ; ここで、X = 任意のアミノ酸。	230
N22	(X ₄₋₁₀)TPLYFECRYNPFKDKGTGNKVYLVSN(X ₁₋₈)TGWDPP TDPDLIIIEGFPLWLLWGWLDWQKKLGKIQNIDTDYILVIQS XYYIPP(X ₁₋₃)KLPYYVPLDXD(X ₀₋₂)FLHGRSPY(X ₃₋₁₆)PSDKQH WHPKVRFQXETINNIALTGPGTPKLPNQKSIQAHMKYKFYF K; ここで、X = 任意のアミノ酸。	231
CTD	WGGCPAPMETITDPCKQPKYIPNNLLQTTSXQPTTPIETYL YKFDERRGLLTKKAAKRIKKDXTTETTLFTDTGXXTSTTLPT XXQTETTQEEXTSEEE(X ₀₋₅)ETLLQQLQQLRRKQKQLRXRIL QLLQLLXLL(X ₀₋₂₆)*; ここで、X = 任意のアミノ酸。	232

【0370】

10

20

30

40

50

【表 6 2】

表 37C. ガンマトルクウイルス(Gammatorquevirus) ORF1 ドメインコンセンサス配列

ドメイン	配列	配列番号
ゼリーロール	TIPLKQWQPESIRKCKIKGYGTLVLGAEGRQFYCYTNEKDE YTPPKAPGGGGFGVELFSLEYLYEQWKARNNIWTKSNXYK DLCRYTGCKITFYRHPTTDFIVXYSRQPPFEIDKXTYMXXHP QXLLLRKHKKIILSKATNPKGKLKKKIKIKPPKQMLNKWFF QKQFAXYGLVQLQAAACBLRYPRLGCCNENRLITLYYLN; ここで、X = 任意のアミノ酸。	233
N22	LPIVVARYNPAXDTGKGKXWLXSTLNGSXWAPPTTDKDL IIEGLPLWLALYGYWSYJKKVKKDKGILQSHMFVVKSPAIP LXTATTQXTFYPIXIDNSFIQGXYPYDEPJTXNQKKLWYPTLE HQQETINAIVESGPYVPKLDNQKNSTWELXYXYTFYFK; ここで、X = 任意のアミノ酸。	234
CTD	WGGPQIPDQPVDPKXQGTYPVPTXQQTIQIXNPLKQKPE TMFHDWDYRRGIITSTALKRMQENLETDSFXSDSEETP(X ₀₋₂)KKKKRLTXELXPQEETEEIQSCLLSLCEESTCQEE(X ₁₋₆)ENL QQLIHQQQQQQQQLKHNILKLLSDLKZKQRLQLQTGILE(X ₁₋₁₀)*; ここで、X = 任意のアミノ酸。	235

【0371】

一部の実施形態では、ゼリーロールドメインは、表 21、23、25、27、29、31、33、35、D2、D4、D6、D8、D10、若しくは 37A～37C のいずれかに列挙されるゼリーロールドメインアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも約 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、N22 ドメインは、表 21、23、25、27、29、31、33、35、D2、D4、D6、D8、D10、若しくは 37A～37C のいずれかに列挙される N22 ドメインアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも約 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、CTD ドメインは、表 21、23、25、27、29、31、33、35、D2、D4、D6、D8、D10、若しくは 37A～37C のいずれかに列挙される CTD ドメインアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも約 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0372】

ORF1 タンパク質配列の同定

一部の実施形態では、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 タンパク質配列、又は ORF1 タンパク質をコード化する核酸配列は、アネロウイルス (Anellovirus)

ovirus) のゲノム (例えば、核酸配列決定技術、例えば、ディープシーケンシング技術によって同定される、例えば、推定アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム) から同定することができる。一部の実施形態では、ORF1タンパク質配列は、以下の選択基準の1つ又は複数 (例えば、1つ、2つ、又は3つ全て) によって同定される。

【0373】

(i) 長さ選択：タンパク質配列 (例えば、以下の(ii)又は(iii)に記載の基準を満たす推定アネロウイルス (Anellovirus) ORF1配列) は、推定アネロウイルス (Anellovirus) ORF1タンパク質を同定するために、約600アミノ酸残基を超えるものについてサイズ選択され得る。一部の実施形態では、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1タンパク質配列は、少なくとも約600、650、700、750、800、850、900、950、又は1000アミノ酸残基長である。一部の実施形態では、アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus) ORF1タンパク質配列は、少なくとも約700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800、900、又は1000アミノ酸残基長である。一部の実施形態では、ベータトルクウイルス (Betatorquevirus) ORF1タンパク質配列は、少なくとも約650、660、670、680、690、700、750、800、900、又は1000アミノ酸残基長である。一部の実施形態では、ガンマトルクウイルス (Gammatorequevirus) ORF1タンパク質配列は、少なくとも約650、660、670、680、690、700、750、800、900、又は1000アミノ酸残基長である。一部の実施形態では、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1タンパク質をコード化する核酸配列は、少なくとも約1800、1900、2000、2100、2200、2300、2400、又は2500ヌクレオチド長である。一部の実施形態では、アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus) ORF1タンパク質配列をコード化する核酸配列は、少なくとも約2100、2150、2200、2250、2300、2400、又は2500ヌクレオチド長である。一部の実施形態では、ベータトルクウイルス (Betatorquevirus) ORF1タンパク質配列をコード化する核酸配列は、少なくとも約1900、1950、2000、2500、2100、2150、2200、2250、2300、2400、又は2500又は1000ヌクレオチド長である。一部の実施形態では、ガンマトルクウイルス (Gammatorequevirus) ORF1タンパク質配列をコード化する核酸配列は、少なくとも約1900、1950、2000、2500、2100、2150、2200、2250、2300、2400、又は2500又は1000ヌクレオチド長である。

【0374】

(ii) ORF1モチーフの存在：タンパク質配列 (例えば、上記(i)又は下記(iii)に記載の基準を満たす推定アネロウイルス (Anellovirus) ORF1配列) をフィルタリングして、上記のN22ドメイン中の保存されたORF1モチーフを含有するものが同定され得る。一部の実施形態では、推定アネロウイルス (Anellovirus) ORF1配列は、配列YNPXXDXGXXNを含む。一部の実施形態では、推定アネロウイルス (Anellovirus) ORF1配列は、配列Y[NCS]PXXDX[GASKR]XX[NTSVAK]を含む。

【0375】

(iii) アルギニンリッチ領域の存在：タンパク質配列 (例えば、上記(i)及び/又は(ii)に記載の基準を満たす推定アネロウイルス (Anellovirus) ORF1配列) は、アルギニンリッチ領域 (例えば、本明細書に記載される通り) を含むものについてフィルタリングされ得る。一部の実施形態では、推定アネロウイルス (Anellovirus) ORF1配列は、少なくとも30% (例えば、少なくとも約20%、25%、30%、35%、40%、45%、又は50%) のアルギニン残基を含む、少なくとも約30、35、40、45、50、55、60、65、又は70アミノ酸の連続配列を含む。一部の実施形態では、推定アネロウイルス (Anellovirus) ORF1

配列は、少なくとも30%（例えば、少なくとも約20%、25%、30%、35%、40%、45%、又は50%）のアルギニン残基を含む、約35～40、40～45、45～50、50～55、55～60、60～65、又は65～70アミノ酸の連続配列を含む。一部の実施形態では、アルギニンリッチ領域は、推定アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1タンパク質の開始コドンの少なくとも約30、40、50、60、70、又は80アミノ酸下流に位置する。一部の実施形態では、アルギニンリッチ領域は、推定アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1タンパク質の開始コドンの少なくとも約50アミノ酸下流に位置する。

【0376】

ORF2分子

一部の実施形態では、アネロベクターは、ORF2分子及び／又はORF2分子をコード化する核酸を含む。概して、ORF2分子は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF2タンパク質の構造特徴及び／又は活性を有するポリペプチド（例えば、本明細書に記載される、例えば、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、若しくは18のいずれかに列挙されるアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF2タンパク質）、又はその機能性断片を含む。一部の実施形態では、ORF2分子は、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、若しくは18のいずれかに示されるアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF2タンパク質配列に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0377】

一部の実施形態では、ORF2分子は、例えば、本明細書に記載される、アルファトルクウイルス（*Alphatorquevirus*）、ベータトルクウイルス（*Betatorquevirus*）、又はガンマトルクウイルス（*Gammaatorquevirus*）ORF2タンパク質に対して少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、ORF2分子（例えば、アルファトルクウイルス（*Alphatorquevirus*）ORF2タンパク質に対して少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有するORF2分子）は、250アミノ酸以下（例えば、約150～200アミノ酸）の長さを有する。一部の実施形態では、ORF2分子（例えば、ベータトルクウイルス（*Betatorquevirus*）ORF2タンパク質に対して少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有するORF2分子）は、約50～150アミノ酸）の長さを有する。一部の実施形態では、ORF2分子（例えば、ガンマトルクウイルス（*Gammaatorquevirus*）ORF2タンパク質に対して少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有するORF2分子）は、約100～200アミノ酸（例えば、約100～150アミノ酸）の長さを有する。一部の実施形態では、ORF2分子は、ヘリックスターンヘリックスモチーフ（例えば、ターン領域にフランキングする2つの α ヘリックスを含むヘリックスターンヘリックスモチーフ）を含む。一部の実施形態では、ORF2分子は、TTV分離株TA278又はTTV分離株SANBANのORF2タンパク質のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、ORF2分子は、タンパク質ホスファターゼ活性を有する。一部の実施形態では、ORF2分子又はそれをコードする核酸分子は、本明細書に記載される（例えば、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、若しくは18）に記載される、野生型ORF2タンパク質と比較して、少なくとも1つの相違（例えば、突然変異、化学修飾、若しくはエピジェネティックな改変）を含む。

【0378】

保存ORF2モチーフ

一部の実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチド（例えば、ORF2モチーフ）は、アミノ酸配列 $[W/F] X^7 H X^3 C X^1 C X^5 H$ （配列番号949）を含み、ここで、 X^n は、任意のn個のアミノ酸の連続した配列である。複数の実施形態では、 X^7 は、任意の7アミノ酸の連続した配列を示す。複数の実施形態では、 X^3 は、任意の3アミノ酸の連続した配列を示す。複数の実施形態では、 X^1 は、任意の単一アミノ酸を示す。複数の実施形態では、 X^5 は、任意の5アミノ酸の連続した配列を示す。一部の実施形態では、 $[W/F]$ は、トリプトファン又はフェニルアラニンのいずれかであり得る。一部の実施形態では、 $[W/F] X^7 H X^3 C X^1 C X^5 H$ （配列番号949）は、例えば、本明細書に記載されるORF2のN22ドメイン内に含まれる。一部の実施形態では、本明細書に記載される遺伝子エレメントは、アミノ酸配列 $[W/F] X^7 H X^3 C X^1 C X^5 H$ （配列番号949）（ X^n は、任意のn個のアミノ酸の連続した配列である）をコード化する核酸配列（例えば、本明細書に記載のように、ORF2分子をコード化する核酸配列）を含む。

10

【0379】

遺伝子エレメント

一部の実施形態では、アネロベクターは、遺伝子エレメントを含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、以下の特徴のうち1つ若しくは複数を有する：宿主細胞のゲノムと実質的に相互作用しない、エピソーム核酸である、一本鎖DNAである、環状である、約1～10kbである、細胞の核内に存在する、内在性タンパク質によって結合され得る、宿主又は標的細胞の遺伝子、活性、若しくは機能をターゲティングするポリペプチド若しくは核酸（例えば、RNA、iRNA、microRNA）などのエフェクターを産生する。一実施形態では、遺伝子エレメントは、実質的に非相互作用性である。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、パッケージングシグナル、例えば、キャプシドタンパク質に結合する配列を含む。一部の実施形態では、パッケージング又はキャプシド結合配列の外部で、遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス（Anellovirus）核酸配列に対して70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%、5%未満の配列同一性を有し、例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス（Anellovirus）核酸配列に対して70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%、5%未満の配列同一性を有する。一部の実施形態では、パッケージング又はキャプシド結合配列の外部で、遺伝子エレメントは、アネロウイルス（Anellovirus）核酸配列に対して少なくとも70%、75%、80%、8%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%同一である500、450、400、350、300、250、200、150、若しくは100個未満の連続したヌクレオチドを有する。

20

30

【0380】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、20kb未満（例えば、約19kb、18kb、17kb、16kb、15kb、14kb、13kb、12kb、11kb、10kb、9kb、8kb、7kb、6kb、5kb、4kb、3kb、2kb、1kb未満）の長さを有する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、独立に、又は加えて、1000b超（例えば、少なくとも約1.1kb、1.2kb、1.3kb、1.4kb、1.5kb、1.6kb、1.7kb、1.8kb、1.9kb、2kb、2.1kb、2.2kb、2.3kb、2.4kb、2.5kb、2.6kb、2.7kb、2.8kb、2.9kb、3kb、3.1kb、3.2kb、3.3kb、3.4kb、3.5kb、3.6kb、3.7kb、3.8kb、3.9kb、4kb、4.1kb、4.2kb、4.3kb、4.4kb、4.5kb、4.6kb、4.7kb、4.8kb、4.9kb、5kb以上）の長さを有する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、約2.5～4.6、2.8～4.0、3.0～3.8、又は3.2～3.7kbの長さを有する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、約1.5～2.0、1.5～2.5、1.5～3.0、1.5～3.5、1.5～3.8、1.5～3.9、1.5～4.0、1.5～4.5、又は1.5～5.0kbの長さを有する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、約2.0～2.5、2.0～3.0、2.0～3.5、2.0～3.8、2

40

50

． 0 ～ 3 ． 9 、 2 ． 0 ～ 4 ． 0 、 2 ． 0 ～ 4 ． 5 、 又は 2 ． 0 ～ 5 ． 0 k b の長さを有する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、約 2 ． 5 ～ 3 ． 0 、 2 ． 5 ～ 3 ． 5 、 2 ． 5 ～ 3 ． 8 、 2 ． 5 ～ 3 ． 9 、 2 ． 5 ～ 4 ． 0 、 2 ． 5 ～ 4 ． 5 、 又は 2 ． 5 ～ 5 ． 0 k b の長さを有する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、約 3 ． 0 ～ 5 ． 0 、 3 ． 5 ～ 5 ． 0 、 4 ． 0 ～ 5 ． 0 、 又は 4 ． 5 ～ 5 ． 0 k b の長さを有する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、約 1 ． 5 ～ 2 ． 0 、 2 ． 0 ～ 2 ． 5 、 2 ． 5 ～ 3 ． 0 、 3 ． 0 ～ 3 ． 5 、 3 ． 1 ～ 3 ． 6 、 3 ． 2 ～ 3 ． 7 、 3 ． 3 ～ 3 ． 8 、 3 ． 4 ～ 3 ． 9 、 3 ． 5 ～ 4 ． 0 、 4 ． 0 ～ 4 ． 5 k b 、 又は 4 ． 5 ～ 5 ． 0 k b の長さを有する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、約 3 ． 6 ～ 3 ． 9 k b の長さを有する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、約 2 ． 8 ～ 2 ． 9 k b の長さを有する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、約 2 ． 0 ～ 3 ． 2 k b の長さを有する。

10

【 0 3 8 1 】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、本明細書に記載される特徴、例えば、実質的に非病原性のタンパク質をコード化する配列、タンパク質結合配列、調節配列をコード化する 1 つ若しくは複数の配列、1 つ若しくは複数の調節配列、複製タンパク質をコード化する 1 つ若しくは複数の配列、及びその他の配列のうち 1 つ又は複数を含む。

【 0 3 8 2 】

複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、二本鎖環状 DNA から生産される（例えば、転写により生産される）。

【 0 3 8 3 】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、1 つ又は複数の細菌プラスミドエレメント（例えば、細菌複製起点若しくは選択マーカ、例えば、細菌耐性遺伝子）を含まない。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、細菌プラスミドバックボーンを含まない。

20

【 0 3 8 4 】

一部の実施形態では、本開示は、（ i ）実質的に非病原性の外部タンパク質と、（ i i ）実質的に非病原性の外部タンパク質に遺伝子エレメントを結合させる外部タンパク質結合配列と、（ i i i ）調節核酸と、をコード化する核酸配列（例えば、RNA 配列）を含む遺伝子エレメントを含む。こうした実施形態では、遺伝子エレメントは、ネイティブウイルス配列（例えば、本明細書に記載される、例えばネイティブアネロウイルス（A n e l l o v i r u s ）配列）と比較して、ヌクレオチド配列のいずれか 1 つに対し少なくとも約 6 0 % 、 7 0 % 、 8 0 % 、 8 5 % 、 9 0 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 及び 9 9 % のヌクレオチド配列同一性を有する 1 つ若しくは複数の配列を含み得る。

30

【 0 3 8 5 】

タンパク質結合配列

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、実質的に非病原性のタンパク質に結合するタンパク結合配列をコード化する。一部の実施形態では、タンパク結合配列は、遺伝子エレメントのタンパク質性外層内へのパッケージングを促進する。一部の実施形態では、タンパク結合配列は、実質的に非病原性のタンパク質のアルギニンリッチ領域に特異的に結合する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、国際公開第 U S 1 9 / 6 5 9 9 5 号の実施例 8 に記載のタンパク結合配列を含む。

40

【 0 3 8 6 】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、例えば本明細書に記載されるような、アネロウイルス（A n e l l o v i r u s ）配列の 5 ' U T R 保存ドメイン又は G C リッチ領域に対して少なくとも 7 0 % 、 8 0 % 、 8 5 % 、 9 0 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % 、 若しくは 1 0 0 % の配列同一性を有するタンパク結合配列を含む。

【 0 3 8 7 】

複数の実施形態では、タンパク結合配列は、例えば本明細書に記載されるような、アネロウイルス（A n e l l o v i r u s ） 5 ' U T R 保存ドメインヌクレオチド配列に対して少なくとも約 7 0 % 、 7 5 % 、 8 0 % 、 8 5 % 、 9 0 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % 、 若しくは 1 0 0 % の配列同一性を有する。

50

【0388】

5' UTR 領域

一部の実施形態では、本明細書に記載されるような核酸分子（例えば、遺伝子エレメント、遺伝子エレメント構築物、又は遺伝子エレメント領域）は、5' UTR 配列、例えば、本明細書に記載されるような5' UTR 保存ドメイン配列（例えば、表A1、B1、又はC1のいずれかに記載）、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性を有する配列を含む。

【0389】

一部の実施形態では、5' UTR 配列は、核酸配列AGGTGAGTGAAACCCACCGAAGTCAAGGGGCAATTTCGGGGCTAGGGGX₁CAGTCT、又はそれと少なくとも85%、90%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、5' UTR 配列は、核酸配列AGGTGAGTGAAACCCACCGAAGTCAAGGGGCAATTTCGGGGCTAGGGGX₁CAGTCT、又はそれと比較して1、2、3、4、5、6、7、8、9若しくは10以下のヌクレオチド相違（例えば、置換、欠失、又は付加）を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、X₁は、Aである。複数の実施形態では、X₁は、存在しない。

【0390】

一部の実施形態では、5' UTR 配列は、アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）（例えば、Ring1）の5' UTRの核酸配列、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性を有する配列を含む。複数の実施形態では、5' UTR 配列は、表A1に列挙される5' UTR 保存ドメインの核酸配列、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性を有する配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表A1に列挙される5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも95%の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表A1に列挙される5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも95.775%の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表A1に列挙される5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも97%の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表A1に列挙される5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも97.183%の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、5' UTR 配列は、核酸配列AGGTGAGTTTACACACCCGCAGTCAAGGGGCAATTTCGGGGCTCGGGACTGGC、又はそれと少なくとも85%、90%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、5' UTR 配列は、核酸配列AGGTGAGTTTACACACCCGCAGTCAAGGGGCAATTTCGGGGCTCGGGACTGGC、又はそれと比較して1、2、3、4、5、6、7、8、9若しくは10以下のヌクレオチド相違（例えば、置換、欠失、又は付加）を有する核酸配列を含む。

【0391】

一部の実施形態では、5' UTR 配列は、ベータトルクウイルス（Betatorquevirus）（例えば、Ring2）の5' UTRの核酸配列、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性を有する配列を含む。複数の実施形態では、5' UTR 配列は、表B1に列挙される5' UTR 保存ドメインの核酸配列、又はそれと少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性を有する配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表B1に列挙される5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも85%の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表B1に列挙される5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも87%の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表B1に列挙される5' UTR 保存ドメインに対して少なくと

も 87.324% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 に列挙される 5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも 88% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 に列挙される 5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも 88.732% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 に列挙される 5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも 91% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 に列挙される 5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも 91.549% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 に列挙される 5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも 92% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 に列挙される 5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも 92.958% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 に列挙される 5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも 94% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 に列挙される 5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも 94.366% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 に列挙される 5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも 95% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 に列挙される 5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも 95.775% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 に列挙される 5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも 97% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表 B 1 に列挙される 5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも 97.183% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、5' UTR 配列は、核酸配列 AGGTGAGTGAAACCA CCGAAGTCAAGGGGCAATTCTGGGGCTAGATCAGTCT、又はそれと少なくとも 85%、90%、95%、96%、97%、98%、又は 99% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、5' UTR 配列は、核酸配列 AGGTGAGTGAAACCA CCGAAGTCAAGGGGCAATTCTGGGGCTAGAT CAGTCT、又はそれと比較して 1、2、3、4、5、6、7、8、9 若しくは 10 以下のヌクレオチド相違（例えば、置換、欠失、又は付加）を有する核酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【0392】

一部の実施形態では、5' UTR 配列は、ガンマトルクウイルス（*Gamma torquovirus*）（例えば、Ring 4）の 5' UTR の核酸配列、又はそれと少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、又は 99% の配列同一性を有する配列を含む。複数の実施形態では、5' UTR 配列は、表 C 1 に列挙される 5' UTR 保存ドメインの核酸配列、又はそれと少なくとも 75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、又は 99% の配列同一性を有する配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表 C 1 に列挙される 5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも 97% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、核酸分子は、表 C 1 に列挙される 5' UTR 保存ドメインに対して少なくとも 97.183% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、5' UTR 配列は、核酸配列 AGGTGAGTGAAACCA CCGAGGTCTAGGGGCAATTCTGGGGCTAGGGCAGTCT、又はそれと少なくとも 85%、90%、95%、96%、97%、98%、又は 99% の配列同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、5' UTR 配列は、核酸配列 AGGTGAGTGAAACCA CCGAGGTCTAGGGGCAATTCTGGGGCTAGGGCAGTCT、又はそれと比較して 1、2、3、4、5、6、7、8、9 若しくは 10 以下のヌクレオチド相違（例えば、置換、欠失、又は付加）を有する核酸配列を含む。

【0393】

一部の実施形態では、遺伝子エレメント（例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列）は、アネロウイルス（*Anellovirus*）の 5' UTR 配列、例えば、表 38 に示す核酸配列に対して少なくとも約 75%（例えば、少なくとも 75%、80%、85

%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列)は、表38に示すコンセンサス5'UTR配列の核酸配列を含み、ここで、 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、及び X_5 は、各々独立に任意のヌクレオチドであり、例えば、 $X_1 = G$ 又は T 、 $X_2 = C$ 又は A 、 $X_3 = G$ 又は A 、 $X_4 = T$ 又は C 、及び $X_5 = A$ 、 C 、又は T である)。一部の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列)は、表38に示すコンセンサス5'UTR配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列)は、表38に示す例示的なTTV 5'UTR配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列)は、表38に示すTTV-CT30F 5'UTR配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列)は、表38に示すTTV-HD23a 5'UTR配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列)は、表38に示すTTV-JA20 5'UTR配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列)は、表38に示すTTV-TJN02 5'UTR配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列)は、表38に示すTTV-tth8 5'UTR配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。

10

20

30

【0394】

複数の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク質結合配列)は、表38に示されるアルファトルクウイルス(*Alphatorquevirus*)コンセンサス5'UTR配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク質結合配列)は、表38に示されるアルファトルクウイルス(*Alphatorquevirus*)クレード1 5'UTR配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク質結合配列)は、表38に示されるアルファトルクウイルス(*Alphatorquevirus*)クレード2 5'UTR配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク質結合配列)は、表38に示されるアルファトルクウイルス(*Alphatorquevirus*)クレード3 5'UTR配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、

40

50

98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク質結合配列)は、表38に示されるアルファトルクウイルス(Alphatorquevirus)クレード4 5' UTR配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク質結合配列)は、表38に示されるアルファトルクウイルス(Alphatorquevirus)クレード5 5' UTR配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク質結合配列)は、表38に示されるアルファトルクウイルス(Alphatorquevirus)クレード6 5' UTR配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク質結合配列)は、表38に示されるアルファトルクウイルス(Alphatorquevirus)クレード7 5' UTR配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。

10

20

【0395】

【表63】

表 38. アネロウイルス(Anellovirus)由来の例示的な 5' UTR 配列

供給源	配列	配列番号
コンセンサス	CGGGTGCCGX ₁ AGGTGAGTTTACACACCGX ₂ AGT CAAGGGGCAATTCGGGCTCX ₃ GGA CTGGCCGGG CX ₄ X ₅ TGGG X ₁ = G 又は T X ₂ = C 又は A X ₃ = G 又は A X ₄ = T 又は C X ₅ = A, C, 又は T	105
例示的な TTV 配列	CGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCT WTGGG	106
TTV-CT30F	CGGGTGCCGTAGGTGAGTTTACACACCGCAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCT ATGGG	107
TTV-HD23a	CGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCC CTGGG	108
TTV-JA20	CGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCT TTGGG	109

30

40

【0396】

50

【表 6 4】

TTV-TJN02	CGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCT ATGGG	110
TTV-tth8	CGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGAAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCAGGACTGGCCGGGCT TTGGG	111
アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus) コンセンサス 5' UTR	CGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGC X ₁ X ₂ TGGG; ここで、X ₁ は、T 又は C を含み、X ₂ は、 A, C, 又は T を含む。	112
アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus) クレード 1 5' UTR (例えば、TTV-CT30F)	CGGGTGCCGTAGGTGAGTTTACACACCGCAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCT ATGGG	113
アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus) クレード 2 5' UTR (例えば、TTV-P13-1)	CGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCC CGGG	114
アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus) クレード 3 5' UTR (例えば、TTV-tth8)	CGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGAAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCAGGACTGGCCGGGCT TTGGG	115
アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus) クレード 4 5' UTR (例えば、TTV-HD20a)	CGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCGGGAGGCCGGGCCAT GGG	116
アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus) クレード 5 5' UTR (例えば、TTV-16)	CGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCC CCGGG	117
アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus) クレード 6 5' UTR (例えば、TTV-TJN02)	CGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCT ATGGG	118
アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus) クレード 7 5' UTR (例えば、TTV-HD16d)	CGGGTGCCGAAGGTGAGTTTACACACCGCAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCT ATGGG	119

【0397】

5' UTR 配列の同定

一部の実施形態では、アネロウイルス (Anellovirus) 5' UTR 配列は、アネロウイルス (Anellovirus) のゲノム (例えば、核酸配列決定技術、例えば、ディープシーケンシング技術によって同定される、例えば、推定アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム) 内で同定することができる。一部の実施形態では、アネロウイルス (Anellovirus) 5' UTR 配列は、以下のステップの一方又は両方によって同定される。

【0398】

10

20

30

40

50

(i) 環状化接合点の同定：一部の実施形態では、5' UTRは、全長の環状化アネロウイルス (Anellovirus) ゲノムの環状化接合点の近くに位置することになる。環状化接合点は、例えば、配列の重複領域を同定することによって、同定することができる。一部の実施形態では、配列の重複領域を配列から切り取って、環状化された全長アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列を生産することができる。一部の実施形態では、ゲノム配列は、ソフトウェアを使用してこの方法で環状化される。理論に拘束されることは意図しないが、計算によりゲノムを環状化すると、配列の開始位置が非生物学的に配向され得る。配列内のランドマークを使用して、配列を適切な方向に再配向できる。例えば、ランドマーク配列は、本明細書に記載されるようなアネロウイルス (Anellovirus) ゲノム内の1つ又は複数のエレメント (例えば、アネロウイルス (Anellovirus) のTATAボックス、開始エレメント、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR保存ドメイン、ORF1、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF2t/3、3オープンリーディングフレーム領域、ポリ(A)シグナル、又はGCリッチ領域の1つ又は複数の、例えば、本明細書に記載される通り) に対して実質的な相同性を有する配列を含み得る。

10

【0399】

(ii) 5' UTR配列の同定：推定アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列が得られると、その配列 (又はその一部、例えば、約40~50、50~60、60~70、70~80、80~90、又は90~100ヌクレオチドの長さを有するもの) は、それと実質的な相同性を有する配列を同定するために、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) 5' UTR配列 (例えば、本明細書に記載される通り) と比較することができる。一部の実施形態では、推定アネロウイルス (Anellovirus) 5' UTR領域は、本明細書に記載されるようなアネロウイルス (Anellovirus) 5' UTR配列と少なくとも50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する。

20

【0400】

GCリッチ領域

一部の実施形態では、遺伝子エレメント (例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列) は、表39に示される核酸配列に対して少なくとも約75% (例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%) の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント (例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列) は、表39に示されるGCリッチ配列に対して少なくとも約75% (例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%) の同一性を有する核酸配列を含む。

30

【0401】

複数の実施形態では、遺伝子エレメント (例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列) は、表39に示される36ヌクレオチドGCリッチ配列 (例えば、36ヌクレオチドコンセンサスGCリッチ領域配列1、36ヌクレオチドコンセンサスGCリッチ領域配列2、TTVクレード1 36ヌクレオチド領域、TTVクレード3 36ヌクレオチド領域、TTVクレード3分離株GH1 36ヌクレオチド領域、TTVクレード3sle1932 36ヌクレオチド領域、TTVクレード4ctdc002 36ヌクレオチド領域、TTVクレード5 36ヌクレオチド領域、TTVクレード6 36ヌクレオチド領域、又はTTVクレード7 36ヌクレオチド領域) に対して少なくとも約75% (例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%) の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント (例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列) は、表39に示される36ヌクレオチドGCリッチ配列 (例えば、36ヌクレオチドコンセンサスGCリッチ領域配列1、36ヌクレオチドコンセンサスGCリッチ領域配列2、TTVクレード1 36

40

50

ヌクレオチド領域、TTVクレード3 36ヌクレオチド領域、TTVクレード3分離株GH1 36ヌクレオチド領域、TTVクレード3sle1932 36ヌクレオチド領域、TTVクレード4ctdc002 36ヌクレオチド領域、TTVクレード5 36ヌクレオチド領域、TTVクレード6 36ヌクレオチド領域、又はTTVクレード7 36ヌクレオチド領域)の少なくとも10、15、20、25、30、31、32、33、34、35、若しくは36個の連続したヌクレオチドを含む核酸配列を含む。

【0402】

複数の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列)は、例えば、表39に示されるように、例えば、TTV-CT30F、TTV-P13-1、TTV-tth8、TTV-HD20a、TTV-16、TTV-TJN02、若しくはTTV-HD16dから選択される、アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus)GCリッチ領域配列に対して少なくとも約75%(例えば、少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%)の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列)は、例えば、表39に示されるように、例えば、TTV-CT30F、TTV-P13-1、TTV-tth8、TTV-HD20a、TTV-16、TTV-TJN02、若しくはTTV-HD16dから選択される、アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus)GCリッチ領域配列の少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、104、105、108、110、111、115、120、122、130、140、145、150、155、又は156個の連続したヌクレオチドを含む。

【0403】

複数の実施形態では、36ヌクレオチドGCリッチ領域は、以下：

- (i) CGCGCTGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGGAGCCCATGCG (配列番号160)；
- (ii) GCGCTX₁C GCGCGCGCGCGCCGGGGGGCTGCGCCCCC C C (配列番号164) (X₁は、T、G、若しくはAから選択される)
- (iii) GCGCTTCGCGCGCGCGCCGCCCCACTAGGGGGGCGTTTGCG CG (配列番号165)；
- (iv) GCGCTGCGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGGCGCAATGCG G (配列番号166)；
- (v) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCGCCCCCGGGGGGAGGGCAATTGCCCT (配列番号167)；
- (vi) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGGGGGGGGCGCCAGCGGCC C (配列番号168)；
- (vii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGGGGGGGCTCCGCCCCC C C (配列番号169)；
- (viii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGGGGGGGCTGCGCCCCC C C C (配列番号170)；
- (ix) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCGCGCGGGGGGGCTGCGCCCCC C C C (配列番号171)；又は
- (x) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCGCGCGGGGGGGCTCTGCCCCCCC C C (配列番号172)；

から選択される。

【0404】

複数の実施形態では、遺伝子エレメント(例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列)は、核酸配列CGCGCTGCGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGGAGCCCATGCG (配列番号160)を含む。

【0405】

複数の実施形態では、遺伝子エレメント（例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列）は、表 39 に示すコンセンサス GC リッチ配列の核酸配列を含み、ここで、 X_4 、 X_5 、 X_6 、 X_7 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 、 X_{15} 、 X_{20} 、 X_{21} 、 X_{22} 、 X_{26} 、 X_{29} 、 X_{30} 、及び X_{33} は、各々独立に任意のヌクレオチドであり、また、 X_2 、 X_3 、 X_8 、 X_9 、 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{16} 、 X_{17} 、 X_{18} 、 X_{19} 、 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 、 X_{27} 、 X_{28} 、 X_{31} 、 X_{32} 、及び X_{34} は、各々独立に存在しないか、又は任意のヌクレオチドである。複数の実施形態では、 $X_1 \sim X_{34}$ の 1 つ若しくは複数（例えば、全部）は、各々独立に表 39 に記載のヌクレオチド（又は非存在）である。一部の実施形態では、遺伝子エレメント（例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列）は、表 39 に示す例示的な TTV GC リッチ配列（例えば、全配列、断片 1、断片 2、断片 3、又はそれらの任意の組合せ、例えば、順に断片 1～3）に対して少なくとも約 75 %（例えば、少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 %）の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント（例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列）は、表 39 に示す TTV-C T30F GC リッチ配列（例えば、全配列、断片 1、断片 2、断片 3、断片 4、断片 5、断片 6、断片 7、断片 8、又はそれらの任意の組合せ、例えば、順に断片 1～7）に対して少なくとも約 75 %（例えば、少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 %）の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント（例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列）は、表 39 に示す TTV-HD23a GC リッチ配列（例えば、全配列、断片 1、断片 2、断片 3、断片 4、断片 5、断片 6、又はそれらの任意の組合せ、例えば、順に断片 1～6）に対して少なくとも約 75 %（例えば、少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 %）の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント（例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列）は、表 39 に示す TTV-JA20 GC リッチ配列（例えば、全配列、断片 1、断片 2、又はそれらの任意の組合せ、例えば、順に断片 1 及び 2）に対して少なくとも約 75 %（例えば、少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 %）の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント（例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列）は、表 39 に示す TTV-TJN02 GC リッチ配列（例えば、全配列、断片 1、断片 2、断片 3、断片 4、断片 5、断片 6、断片 7、断片 8、又はそれらの任意の組合せ、例えば、順に断片 1～8）に対して少なくとも約 75 %（例えば、少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 %）の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント（例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列）は、表 39 に示す TTV-tth8 GC リッチ配列（例えば、全配列、断片 1、断片 2、断片 3、断片 4、断片 5、断片 6、断片 7、断片 8、断片 9、又はそれらの任意の組合せ、例えば、順に断片 1～6）に対して少なくとも約 75 %（例えば、少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 %）の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント（例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列）は、表 39 に示される断片 7 に対して少なくとも約 75 %（例えば、少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 %）の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント（例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列）は、表 39 に示される断片 8 に対して少なくとも約 75 %（例えば、少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 %）の同一性を有する核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメント（例えば、遺伝子エレメントのタンパク結合配列）は、表 39 に示される断片 9 に対して少なくとも約 75 %（例えば、少なくとも 75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若しくは 100 %）の同一性を有する核酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【 0 4 0 6 】

【 表 6 5 】

表 39. アネロウイルス(*Anellovirus*)由来の例示的な GC リッチ配列

供給源	配列	配列 番号
コンセンサス	CGGCGGX ₁ GGX ₂ GX ₃ X ₄ X ₅ CGCGCTX ₆ CGCGC GCX ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ CX ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ GGGGX ₁₅ X ₁₆ X ₁₇ X ₁₈ X ₁₉ X ₂₀ X ₂₁ GCX ₂₂ X ₂₃ X ₂₄ X ₂₅ CCCCCCCX ₂₆ CGCGC ATX ₂₇ X ₂₈ GCX ₂₉ CGGGX ₃₀ CCCCCCCCCX ₃₁ X ₃₂ X ₃₃ GGGGGGCTCCGX ₃₄ CCCCCGGCCCCCCC X ₁ = G 又は C X ₂ = G, C, 又は存在しない X ₃ = C 又は存在しない X ₄ = G 又は C X ₅ = G 又は C X ₆ = T, G, 又は A X ₇ = G 又は C X ₈ = G 又は存在しない X ₉ = C 又は存在しない X ₁₀ = C 又は存在しない X ₁₁ = G, A, 又は存在しない X ₁₂ = G 又は C X ₁₃ = C 又は T	120

【 0 4 0 7 】

10

20

30

40

50

【表 6 6】

	$X_{14} = G$ 又は A $X_{15} = G$ 又は A $X_{16} = A, G, T$, 又は存在しない $X_{17} = G, C$, 又は存在しない $X_{18} = G, C$, 又は存在しない $X_{19} = C, A$, 又は存在しない $X_{20} = C$ 又は A $X_{21} = T$ 又は A $X_{22} = G$ 又は C $X_{23} = G, T$, 又は存在しない $X_{24} = C$ 又は存在しない $X_{25} = G, C$, 又は存在しない $X_{26} = G$ 又は C $X_{27} = G$ 又は存在しない $X_{28} = C$ 又は存在しない $X_{29} = G$ 又は A $X_{30} = G$ 又は T $X_{31} = C, T$, 又は存在しない $X_{32} = G, C, A$, 又は存在しない $X_{33} = G$ 又は C $X_{34} = C$ 又は存在しない	
--	---	--

10

20

【0 4 0 8】

30

40

50

【表 6 7】

例示的な TTV 配列	全配列	GCCGCCGCGGCGGCGGSGGNGNSGCGCGCT DCGCGCGCSNNNCRCRGGGGGNNNNCWG CSNCNCCCCCCCCCGCGCATGCGCGGGKCC CCCCCCNNCGGGGGGCTCCGCCCCCGGC CCCCCCCCGTGCTAAACCCACCGCGCATGC GCGACCACGCCCCGCCGCC	121
	断片 1	GCCGCCGCGGCGGCGGSGGNGNSGCGCGCT DCGCGCGCSNNNCRCRGGGGGNNNNCWG CSNCNCCCCCCCCCGCGCAT	122
	断片 2	GCGCGGGKCCCCCCCCNNCGGGGGGCTC CG	123
	断片 3	CCCCCGGCCCCCCCCCGTGCTAAACCCAC CGCGCATGCGCGACCACGCCCCGCCGCC	124
TTV-CT30F	全配列	GCGGCGG-GGGGGCG-GCCGCG- TTCGCGCGCCGCCACCAGGGGGTG-- CTGCG-CGCCCCCCCCCGCGCAT GCGCGGGGCCCCCCCC-- GGGGGGGCTCCGCCCCCGGCCCCCCCCC GTGCTAAACCCACCGCGCATGCGCGACCAC GCCCCGCCGCC	125
	断片 1	GCGGCGG	126
	断片 2	GGGGGCG	127
	断片 3	GCCGCG	128
	断片 4	TTCGCGCGCCGCCACCAGGGGGTG	129
	断片 5	CTGCG	130
	断片 6	CGCCCCCCCCCGCGCAT	131
	断片 7	GCGCGGGGCCCCCCCC	132
	断片 8	GGGGGGGCTCCGCCCCCGGCCCCCCCCC GTGCTAAACCCACCGCGCATGCGCGACCAC GCCCCGCCGCC	133

【表 6 8】

TTV-HD23a	全配列	CGGCGGCGGCGGCG- CGCGCGCTGCGCGCGCG--- CGCCGGGGGGGGCGCCAGCG- CCCCCCCCCCCCGCGCAT GCACGGGTCCCCCCCCCACGGGGGGGCTCC G CCCCCCGGCCCCCCCCCC	134
	断片 1	CGGCGGCGGCGGCG	135
	断片 2	CGCGCGCTGCGCGCGCG	136
	断片 3	CGCCGGGGGGGGCGCCAGCG	137
	断片 4	CCCCCCCCCCCCGCGCAT	138
	断片 5	GCACGGGTCCCCCCCCCACGGGGGGGCTCC G	139
	断片 6	CCCCCGGCCCCCCCCCC	140
TTV-JA20	全配列	CCGTCGGCGGGGGGGCCGCGCGCTGCGCG CGCGGCCC- CCGGGGGAGGCACAGCCTCCCCCCCCCGCG CGCATGCGCGCGGGTCCCCCCCCCTCCGGG GGGCTCCGCCCCCGGCCCCCCCCCC	141
	断片 1	CCGTCGGCGGGGGGGCCGCGCGCTGCGCG CGCGGCCC	142
	断片 2	CCGGGGGAGGCACAGCCTCCCCCCCCCGCG CGCATGCGCGCGGGTCCCCCCCCCTCCGGG GGGCTCCGCCCCCGGCCCCCCCCCC	143

【 0 4 1 0 】

10

20

30

40

50

【表 6 9】

TTV-TJN02	全配列	CGGCGGCGGCG-CGCGCGCTACGCGCGCG-- -CGCCGGGGGG----CTGCCGC- CCCCCCCCCGCGCAT GCGCGGGGCCCCCCCCC- GCGGGGGGCTCCG CCCCCGGCCCCC	144
	断片 1	CGGCGGCGGCG	145
	断片 2	CGCGCGCTACGCGCGCG	146
	断片 3	CGCCGGGGGG	147
	断片 4	CTGCCGC	148
	断片 5	CCCCCCCCCGCGCAT	149
	断片 6	GCGCGGGGCCCCCCCCC	150
	断片 7	GCGGGGGGCTCCG	151
	断片 8	CCCCCGGCCCCC	152

【 0 4 1 1 】

【表 7 0】

TTV-tth8	全配列	GCCGCCGCGGCGGCGGGGG- GCGGCGCGCTGCGCGCGCCGCCAGTAGG- GGGAGCCATGCG---CCCCCCCCCGCGCAT GCGCGGGGCCCCCCCC- GCGGGGGGCTCCG CCCCCGGCCCCCCCCG	153
	断片 1	GCCGCCGCGGCGGCGGGGG	154
	断片 2	GCGGCGCGCTGCGCGCGCCGCCAGTAGG- GGGAGCCATGCG	155
	断片 3	CCCCCCCCCGCGCAT	156
	断片 4	GCGCGGGGCCCCCCCC	157
	断片 5	GCGGGGGGCTCCG	158
	断片 6	CCCCCGGCCCCCCCCG	159
	断片 7	CGCGCTGCGCGCGCCGCCAGTAGGGGA GCCATGC	160
	断片 8	CCGCCATCTTAAGTAGTTGAGGCGGACGGT GGCGTGAGTTCAAAGGTCACCATCAGCCAC ACCTACTCAAAATGGTGG	161
	断片 9	CTTAAGTAGTTGAGGCGGACGGTGGCGTGA GTTCAAAGGTCACCATCAGCCACACCTACT CAAAATGGTGGACAATTTCTTCCGGGTCAA AGGTTACAGCCGCCATGTTAAAACACGTGA CGTATGACGTCACGGCCGCCATTTTGTGAC ACAAGATGGCCGACTTCCTTCC	162

【 0 4 1 2 】

10

20

30

40

50

【表 7 1】

追加の GC リッチ配列	36ヌクレオチド コンセンサス GCリッチ領域 配列 1	CGCGCTGCGCGCGCCGCCAGTAGGGGGA GCCATGC	163
	36ヌクレオチド 領域コンセンサ ス配列 2	GCGCTX ₁ CGCGCGCGCGCCGGGGGGCTGCG CCCCCCC, ここで, X ₁ は, T, G, 又は A から選 択される	164
	TTV クレード 1 36-ヌクレオチド 領域	GCGCTTCGCGCGCGCCGCCACTAGGGGGCGT TGCGCG	165
	TTV クレード 3 36-ヌクレオチド 領域	GCGCTGCGCGCGCGCCGCCAGTAGGGGGCG CAATGCG	166
	TTV クレード 3 単離株 GH1 36-ヌクレオチド 領域	GCGCTGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGAGGC ATTGCCT	167
	TTV クレード 3 sle1932 36-ヌク レオチド領域	GCGCTGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGCGCC AGCGCCC	168
	TTV クレード 4 ctdc002 36-ヌク レオチド領域	GCGCTTCGCGCGCGCGCCGGGGGGGCTCCGC CCCCC	169
	TTV クレード 5 36-ヌクレオチド 領域	GCGCTTCGCGCGCGCGCCGGGGGGGCTGCGC CCCCC	170
	TTV クレード 6 36-ヌクレオチド 領域	GCGCTACGCGCGCGCGCCGGGGGGGCTGCG CCCCCCC	171
	TTV クレード 7 36-ヌクレオチド 領域	GCGCTACGCGCGCGCGCCGGGGGGGCTCTGC CCCCC	172

【 0 4 1 3 】

10

20

30

40

50

【表 7 2】

追加のアルファ トルクウイルス (Alphatorquevirus) GC リッチ領域配列	TTV-CT30F	GCGGCGGGGGGGCGGCCGCGTTTCGCGCGC CGCCCACCAAGGGGGTGCTGCGCGCCCCCCC CCGCGCATGCGCGGGGCCCCCCCCCGGGG GGGCTCCGCCCCCGGCCCCCCCCCGTGC TAAACCCACCGCGCATGCGCGACCACGCCC CCGCCGCC	801
	TTV-P13-1	CCGAGCGTTAGCGAGGAGTGCGACCCTACC CCCTGGGCCCCTTCTTCGGAGCCGCGCGC TACGCCTTCGGCTGCGCGCGGCACCTCAGA CCCCGCTCGTGCTGACACGCTTGCGCGTG TCAGACCACTTCGGGCTCGCGGGGGTCGGG	802
	TTV-tth8	GCCGCCGCGGCGGGGGGGCGGCGCGCT GCGCGCGCCGCCAGTAGGGGGAGCCATG CGCCCCCCCCCGCGCATGCGCGGGGCCCC CCCCGCGGGGGGCTCCGCCCCCGGCCCCC CCCG	803
	TTV-HD20a	CGGCCAGCGGCGGCGCGCGCTTCGCGC GCGCGCCGGGGGGCTCCGCCCCCCCCCGCG CATGCGCGGGGCCCCCCCCCGGGGGGCT CCGCCCCCGGTCCCCCCCCG	804
	TTV-16	CGGCCGTGCGGCGGCGCGCGCTTCGCGC GCGCGCCGGGGGGTGCCGCCCCCCCCCGCG CATGCGCGGGGCCCCCCCCCGCGGGGG GCTCCGCCCCCGGCCCCCCCCCCCG	805
	TTV-TJN02	CGGCGGCGGCGCGCGCTACGCGCGCGC GCCGGGGGGTGCCGCCCCCCCCCGCGCA TGCGCGGGGCCCCCCCCCGGGGGGCTCC GCCCCCGGCCCCCC	806
	TTV-HD16d	GGCGGCGGCGCGCGCTACGCGCGCGC CCGGGAGCTCTGCCCCCCCCCGCGCATGC GCGCGGGTCCCCCCCCCGGGGGGCTCCG CCCCCGGTCCCCCCCCCG	807

10

20

30

40

【0414】

エフェクター

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、例えば、機能性エフェクター、例えば、内在性エフェクター若しくは外性エフェクター、例えば、治療用ポリペプチド又は核酸、例えば、細胞傷害性若しくは細胞溶解性RNA又はタンパク質であるか、エフェクターをコード化する1つ若しくは複数の配列を含んでもよい。一部の実施形態では、機能性核酸は、ノンコーディングRNAである。一部の実施形態では、機能性核酸は、コーディングRNAである。エフェクターは、例えば、酵素活性、遺伝子発現、細胞シグナル伝達、及び細胞若しくは器官機能を増大又は低減するなど、生物活性を調節することができる。エフ

50

エフェクター活性はまた、調節タンパク質と結合して、転写又は翻訳などの調節因子の活性を調節することも含み得る。エフェクター活性は、さらにアクチベータ又はインヒビター機能も含み得る。例えば、エフェクターは、酵素中の基質親和性増大をトリガーすることにより酵素活性を誘導することができ、例えば、フルクトース2，6-ビスホスフェートは、ホスホフルクトキナーゼ1を活性化して、インスリンに応答する糖分解の速度を高める。別の例では、エフェクターは、基質が受容体に結合するのを阻害して、その活性化を遮断することができ、例えば、ナルトレキソン及びナロキソンは、オピオイド受容体に、それらを活性化することなく結合して、受容体が、オピオイドに結合する能力を遮断する。エフェクター活性はまた、タンパク質安定性／分解及び／又は転写物安定性／分解の調節も含み得る。例えば、タンパク質は、分解のためにそれらをマーキングするタンパク質上の、ポリペプチド補因子、ユビキチンにより、分解の目的でターゲティングされ得る。別の例では、エフェクターは、酵素の活性部位を遮断することにより酵素活性を阻害し、例えば、メトトレキサートは、テトラヒドロ葉酸の構造類似体、すなわち、天然基質の1000倍超強度にジヒドロ葉酸レダクターゼに結合して、ヌクレオチド塩基合成を阻害する酵素ジヒドロ葉酸レダクターゼの補酵素である。

10

20

30

40

50

【0415】

一部の実施形態では、エフェクターをコード化する配列は、100～2000、100～1000、100～500、100～200、200～2000、200～1000、200～500、500～1000、500～2000、又は1000～2000ヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、エフェクターは、例えば、本明細書に記載するように、核酸又はタンパク質ペイロードである。

【0416】

調節核酸

一部の実施形態では、エフェクターは調節核酸である。調節核酸は、内在性遺伝子及び／又は外性遺伝子の発現を修飾する。一実施形態では、調節核酸は、宿主遺伝子をターゲティングする。調節核酸として、限定はされないが、外性遺伝子とハイブリダイズする核酸（例えば、本明細書の他所に記載するmiRNA、siRNA、mRNA、lncRNA、RNA、DNA、アンチセンスRNA、gRNA）、ウイルスDNA若しくはRNAなどの外性核酸とハイブリダイズする核酸、RNAとハイブリダイズする核酸、遺伝子転写を妨害する核酸、RNA翻訳を妨害する核酸、分解のターゲティングなどによってRNAを安定化する、若しくは不安定化する核酸、並びにDNA若しくはRNA結合因子を調節する核酸が挙げられる。複数の実施形態では、調節核酸は、miRNAをコード化する。一部の実施形態では、調節核酸は、野生型アネロウイルス（Anellovirus）に対して内在性である。一部の実施形態では、調節核酸は、野生型アネロウイルス（Anellovirus）に対して外性である。

【0417】

一部の実施形態では、調節核酸は、典型的に5～500塩基対（具体的なRNA構造に応じて、例えば、miRNA5～30bp、lncRNA200～500bp）を含有するRNA又はRNA様構造を含み、細胞内の発現された標的遺伝子中のコード配列と同一（若しくは相補的な）又はほぼ同一の（若しくは実質的に相補的な）核酸塩基配列、或いは細胞内の発現された標的遺伝子をコード化する配列を有し得る。

【0418】

一部の実施形態では、調節核酸は、核酸配列、例えば、ガイドRNA（gRNA）を含む。一部の実施形態では、DNAターゲティング部分は、ガイドRNA又はガイドRNAをコード化する核酸を含む。gRNAの短い合成RNAは、不完全なエフェクター部分に結合するために必要な「スカフォールド」配列と、ゲノム標的に対するユーザ設定の約20ヌクレオチドのターゲティング配列から構成され得る。実際に、ガイドRNA配列は、一般に、17～24ヌクレオチド（例えば、19、20、若しくは21ヌクレオチド）の長さを有するように設計され、標的化核酸配列に対して相補的である。カスタムgRNA生成装置及びアルゴリズムが、効果的なガイドRNAの設計で使用するために市販されて

いる。また、遺伝子編集は、キメラ「シングルガイドRNA」（「sgRNA」）を用いて達成されており、これは、天然に存在するcrRNA-tracrRNA複合体を模倣し、且つ、tracrRNA（ヌクレアーゼに結合する）と少なくとも1つのcrRNA（編集のためにターゲティングされる配列にヌクレアーゼを誘導する）の両方を含有する操作（合成）シングルRNA分子である。また、化学的に修飾されたsgRNAも、ゲノム編集に効果的であることが実証されている；例えば、Hendel et al.（2015）Nature Biotechnol.，985－991を参照されたい。

【0419】

調節核酸は、特定のDNA配列（例えば、遺伝子のプロモータ、エンハンサー、サイレンサー、又はリプレッサーに隣接する、若しくはその内部の配列）を認識するgRNAを含む。

10

【0420】

いくつかの調節核酸は、RNA干渉（RNAi）の生物学的プロセスによって遺伝子発現を阻害することができる。RNAi分子は、典型的に、15～50塩基対（例えば、約18～25塩基対）を含有し、且つ細胞内の発現された標的遺伝子中のコード配列と同一の（相補的な）又はほぼ同一の（実質的に相補的な）核酸塩基配列を有する、RNA又はRNA様構造を含む。RNAi分子として、限定はされないが、以下：低分子干渉RNA（siRNA）、二本鎖RNA（dsRNA）、マイクロRNA（miRNA）、低分子ヘアピンRNA（shRNA）、メロデュプレックス、及びダイサー基質が挙げられる（米国特許第8,084,599号明細書、同第8,349,809号明細書及び同第8,513,207号明細書）。

20

【0421】

長鎖ノンコーディングRNA（lncRNA）は、100ヌクレオチド超の非タンパク質コード転写物として定義される。この幾分任意の制限によって、マイクロRNA（miRNA）、低分子干渉RNA（siRNA）、及び他の低分子RNAなどの小さい調節RNAからlncRNAを区別する。一般に、lncRNAの大部分（約78%）は、組織特異的として特徴付けられる。隣接するタンパク質コード遺伝子に対して反対方向に転写される分岐lncRNA（哺乳動物ゲノムの全lncRNAの相当の割合、約20%を占める）は、恐らく隣接遺伝子の転写を調節すると考えられる。

【0422】

遺伝子エレメントは、内在性遺伝子又は遺伝子産物（例えば、mRNA）の全部若しくは断片に対して実質的に相補的、若しくは完全に相補的な配列を有する調節核酸をコード化する。調節核酸は、特定の遺伝子の新生核RNA転写物が転写のためのmRNAへと成熟するのを阻止するために、イントロンとエキソンの間の境界で配列を補完することができる。特定の遺伝子に相補的な調節核酸は、その遺伝子のmRNAとハイブリダイズして、その翻訳を阻止する。アンチセンス調節核酸は、DNA、RNA、又はその誘導体若しくはハイブリッドであってよい。

30

【0423】

目的の転写物とハイブリダイズする調節核酸の長さは、5～30ヌクレオチド、約10～30ヌクレオチド、又は約11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30以上のヌクレオチドであってよい。標的転写物に対する調節核酸の同一性の割合は、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、又は少なくとも95%であるべきである。

40

【0424】

遺伝子エレメントは、調節核酸、例えば、標的遺伝子の約5～約25の連続ヌクレオチドと同一のマイクロRNA（miRNA）分子をコード化し得る。一部の実施形態では、miRNA配列は、mRNAをターゲティングし、ジヌクレオチドAAで開始し、約30～70%（約30～60%、約40～60%、又は約45%～55%）のGC含有率を含み、例えば、標準BLAST検索により決定される場合、それを導入しようとする哺乳動

50

物のゲノム内の標的以外のいずれのヌクレオチド配列に対しても高い同一性（％）を持たない。

【0425】

s i R N A 及び s h R N A は、内在性マイクロRNA (m i R N A) 遺伝子 (B a r t e l , C e l l 116:281-297, 2004) のプロセッシング経路中の中間体と類似する。一部の実施形態では、s i R N A は、m i R N A として機能することができ、その逆も同様である (Z e n g e t a l . , M o l C e l l 9:1327-1333, 2002; D o e n c h e t a l . , G e n e s D e v 17:438-442, 2003)。s i R N A のようなマイクロRNA は、R I S C を用いて標的遺伝子を下方制御するが、s i R N A とは異なり、ほとんどの動物 m i R N A は、m R N A を切断しない。その代わり、m i R N A は、翻訳抑制又はポリA除去及びm R N A 分解によりタンパク質産生を低減する (W u e t a l . , P r o c N a t l A c a d S c i U S A 103:4034-4039, 2006)。既知の m i R N A 結合部位は、m R N A 3' U T R 内にあり; m i R N A は、m i R N A の5' 末端からのヌクレオチド2〜8に対してほぼ完全な相補性を有する部位をターゲティングすると思われる (R a j e w s k y , N a t G e n e t 38 S u p p l : S 8 - 1 3 , 2 0 0 6 ; L i m e t a l . , N a t u r e 433:769-773, 2005)。この領域は、シード領域として知られる。s i R N A 及び m i R N A は、置き換え可能であるため、外性 s i R N A は、s i R N A に対してシード相補性を有する m R N A を下方制御する (B i r m i n g h a m e t a l . , N a t M e t h o d s 3:199-204, 2006。3' U T R 内の複数の標的部位は、より強度の下方制御を付与する (D o e n c h e t a l . , G e n e s D e v 17:438-442, 2003)。

【0426】

既知の m i R N A 配列表は、中でも、ウェルカム・トラスト・サンガー・インスティテュート (W e l l c o m e T r u s t S a n g e r I n s t i t u t e) 、ペン・センター・フォア・バイオインフォマティクス (P e n n C e n t e r f o r B i o i n f o r m a t i c s) 、メモリアル・スローン・ケタリング・癌センター (M e m o r i a l S l o a n K e t t e r i n g C a n c e r C e n t e r) 、及び欧州分子生物學研究所 (E u r o p e a n M o l e c u l e B i o l o g y L a b o r a t o r y) などの研究機関により維持されているデータベースに見出すことができる。既知の有効な s i R N A 配列及びコグネイト結合部位も関連文献に十分に記載されている。RNA i 分子は、当技術分野で公知の技術によって容易に設計及び作製される。加えて、有効且つ特異的な配列モチーフを見出す可能性を高める計算ツールもある (L a g a n a e t a l . , M e t h o d s M o l . B i o . , 2015, 1269:393-412)。

【0427】

調節核酸は、遺伝子によりコード化されるRNAの発現を調節することができる。一部の実施形態では、複数の遺伝子が、互いにある程度の配列相同性を共有しているため、調節核酸は、十分な配列相同性を有する遺伝子のクラスをターゲティングするように設計することができる。一部の実施形態では、調節核酸は、様々な遺伝子標的の間で共有されるか、又は特定の遺伝子標的についてユニークな配列に対して相補性を有する配列を含むことができる。一部の実施形態では、調節核酸は、いくつかの遺伝子の間で相同性を有するRNA配列の保存領域をターゲティングして、これにより、遺伝子ファミリー内のいくつかの遺伝子 (例えば、異なる遺伝子イソ型、スプライス変異体、突然変異型遺伝子など) をターゲティングするように設計することができる。一部の実施形態では、調節核酸は、単一の遺伝子の特定のRNA配列に対してユニークな配列をターゲティングするように設計することができる。

【0428】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、1つ又は複数の遺伝子の発現を調節する調節核酸をコード化する1つ又は複数の配列を含んでもよい。

【0429】

一部の実施形態では、本明細書の他の箇所に記載するgRNAを、遺伝子編集のためのCRISPR系の一環として使用する。遺伝子編集の目的で、所望の標的DNA配列に対応する1つ又は複数のガイドRNA配列を含有するようにアネロベクターを設計してもよい；例えば、Cong et al. (2013) Science, 339: 819-823; Ran et al. (2013) Nature Protocols, 8: 2281-2308を参照されたい。一般に、gRNAの少なくとも約16又は17ヌクレオチドが、Cas9媒介DNA切断を可能にし；Cpf1の場合、検出可能なDNA切断を達成するために、gRNA配列の少なくとも約16ヌクレオチドが必要である。

【0430】

治療用エフェクター（例えば、ペプチド又はポリペプチド）

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、治療用発現配列、例えば、治療用ペプチド又はポリペプチド、例えば、細胞内ペプチド若しくは細胞内ポリペプチド、分泌ポリペプチド、又はタンパク質代替治療薬をコード化する配列を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、タンパク質、例えば、治療用タンパク質をコード化する配列を含む。治療用タンパク質のいくつかの例として、限定はされないが、ホルモン、サイトカイン、酵素、抗体（例えば、少なくとも重鎖又は軽鎖をコード化する1つ又は複数のポリペプチド）、転写因子、受容体（例えば、膜受容体）、リガンド、膜輸送体、分泌タンパク質、ペプチド、担体タンパク質、構造タンパク質、ヌクレアーゼ、又はそれらの構成体が挙げられる。

【0431】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、ペプチド、例えば、治療用ペプチドを含む。ペプチドは、直鎖状又は分岐状であってよい。ペプチドは、約5～約500アミノ酸、約15～約400アミノ酸、約20～約325アミノ酸、約25～約250アミノ酸、約50～約200アミノ酸、又はそれらの間の範囲の長さを有する。

【0432】

一部の実施形態では、治療用発現配列によってコード化されるポリペプチドは、上記のいずれかの機能性変異体又はその断片、例えば、UniProt IDを参照して本明細書の表に開示されるタンパク質配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、967%、98%、99%の同一性を有するタンパク質であってもよい。

【0433】

一部の実施形態では、治療用発現配列は、上記のいずれかに結合する抗体又は抗体断片、例えば、UniProt IDを参照して本明細書の表に開示されるタンパク質配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、967%、98%、99%の同一性を有するタンパク質に対する抗体をコード化し得る。本明細書における「抗体」という用語は、最も広い意味で使用され、所望の抗原結合活性を示す限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び抗体断片を含むがこれらに限定されない、様々な抗体構造を包含する。「抗体断片」は、少なくとも1つの重鎖又は軽鎖を含み、抗原に結合する分子を指す。抗体フラグメントの例としては、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab)₂；ダイアボディ；線状抗体；一本鎖抗体分子（例えば、scFv）；及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0434】

例示的な細胞内ポリペプチドエフェクター

一部の実施形態では、エフェクターは、サイトゾルポリペプチド又はサイトゾルペプチドを含む。一部の実施形態では、サイトゾルペプチドを含むエフェクターは、DPP-4阻害剤、GLP-1シグナル伝達のアクチベータ、又は好中球エラスターゼの阻害剤である。一部の実施形態では、エフェクターは、成長因子又はその受容体（例えば、FGF受容体、例えば、FGFR3）のレベル又は活性を上昇させる。一部の実施形態では、エフェクターは、n-myc相互作用タンパク質活性の阻害剤（例えば、n-myc相互作用

10

20

30

40

50

タンパク質阻害剤) ; E G F R 活性の阻害剤 (例えば、E G F R 阻害剤) ; I D H 1 及び / 又は I D H 2 活性の阻害剤 (例えば、I D H 1 阻害剤及び / 又は I D H 2 阻害剤) ; L R P 5 及び / 又は D K K 2 活性の阻害剤 (例えば、L R P 5 及び / 又は D K K 2 阻害剤) ; K R A S 活性の阻害剤 ; H T T 活性のアクチベータ ; 又は D P P - 4 活性の阻害剤 (例えば、D P P - 4 阻害剤) を含む。

【0435】

一部の実施形態では、エフェクターは、調節細胞内ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、調節細胞内ポリペプチドは、標的細胞に対し内在性の1つ又は複数の分子 (例えば、タンパク質又は核酸) に結合する。一部の実施形態では、調節細胞内ポリペプチドは、標的細胞に対して内在性の1つ又は複数の分子 (例えば、タンパク質又は核酸) のレベル又は活性を上昇させる。一部の実施形態では、調節細胞内ポリペプチドは、標的細胞に対して内在性の1つ又は複数の分子 (例えば、タンパク質又は核酸) のレベル又は活性を低下させる。

10

【0436】

例示的な分泌ポリペプチドエフェクター

例示的な分泌型治療薬を、本明細書、例えば、以下の表に記載する。

【0437】

【表73】

表 50. 例示的なサイトカイン及びサイトカイン受容体

20

サイトカイン	サイトカイン受容体	Entrez Gene ID	UniProt ID
IL-1 α , IL-1 β , 又はそれらのヘテロ二量体	IL-1 1 型受容体, IL-1 2 型受容体	3552, 3553	P01583, P01584
IL-1Ra	IL-1 1 型受容体, IL-1 2 型受容体	3454, 3455	P17181, P48551
IL-2	IL-2R	3558	P60568
IL-3	IL-3 受容体 $\alpha + \beta c$ (CD131)	3562	P08700
IL-4	IL-4R I 型, IL-4R II 型	3565	P05112
IL-5	IL-5R	3567	P05113
IL-6	IL-6R (sIL-6R) gp130	3569	P05231
IL-7	IL-7R 及び sIL-7R	3574	P13232

30

【0438】

40

50

【表 7 4】

IL-8	CXCR1 及び CXCR2	3576	P10145
IL-9	IL-9R	3578	P15248
IL-10	IL-10R1/IL-10R2 複合体	3586	P22301
IL-11	IL-11R α 1 gp130	3589	P20809
IL-12 (例えば、p35, p40, 又はそのヘテロ二量体)	IL-12R β 1 及び IL-12R β 2	3593, 3592	P29459, P29460
IL-13	IL-13R1 α 1 及び IL-13R1 α 2	3596	P35225
IL-14	IL-14R	30685	P40222
IL-15	IL-15R	3600	P40933
IL-16	CD4	3603	Q14005
IL-17A	IL-17RA	3605	Q16552
IL-17B	IL-17RB	27190	Q9UHF5
IL-17C	IL-17RA から IL-17RE	27189	Q9P0M4
e	SEF	53342	Q8TAD2
IL-17F	IL-17RA, IL-17RC	112744	Q96PD4
IL-18	IL-18 受容体	3606	Q14116
IL-19	IL-20R1/IL-20R2	29949	Q9UHD0
IL-20	L-20R1/IL-20R2 及び IL-22R1/IL-20R2	50604	Q9NYY1
IL-21	IL-21R	59067	Q9HBE4
IL-22	IL-22R	50616	Q9GZX6
IL-23(例えば、p19, p40, 又はそのヘテロ二量体)	IL-23R	51561	Q9NPF7
IL-24	IL-20R1/IL-20R2 及び IL-22R1/IL-20R2	11009	Q13007
IL-25	IL-17RA 及び IL-17RB	64806	Q9H293
IL-26	IL-10R2 鎖及び IL-20R1 鎖	55801	Q9NPH9
IL-27 (例えば、p28, EBI3, 又はそのヘテロ二量体)	WSX-1 及び gp130	246778	Q8NEV9
IL-28A, IL-28B, 及び IL29	IL-28R1/IL-10R2	282617, 282618	Q8IZI9, Q8IU54
IL-30	IL6R/gp130	246778	Q8NEV9
IL-31	IL-31RA/OSMR β	386653	Q6EBC2

【0 4 3 9】

10

20

30

40

50

【表 7 5】

IL-32		9235	P24001
IL-33	ST2	90865	O95760
IL-34	コロニー刺激因子 1 受容体	146433	Q6ZMJ4
IL-35 (例えば、p35, EBI3, 又はそのヘテロ二量体)	IL-12R β 2/gp130; IL-12R β 2/IL-12R β 2; gp130/gp130	10148	Q14213
IL-36	IL-36Ra	27179	Q9UHA7
IL-37	IL-18R α 及び IL-18BP	27178	Q9NZH6
IL-38	IL-1R1, IL-36R	84639	Q8WWZ1
IFN- α	IFNAR	3454	P17181
IFN- β	IFNAR	3454	P17181
IFN- γ	IFNGR1/IFNGR2	3459	P15260
TGF- β	T β R-I 及び T β R-II	7046, 7048	P36897, P37173
TNF- α	TNFR1, TNFR2	7132, 7133	P19438, P20333

10

20

【0440】

一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、表50に記載のサイトカイン、又はその機能性変異体、例えば、そのホモログ（例えば、オーソログ若しくはパラログ）又は断片を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、そのUniProt IDを参照して、表50に列挙されるアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、967%、98%、99%の配列同一性を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、機能性変異体は、同じ条件下の同じ受容体に対して、対応する野生型サイトカインのK_dより10%、20%、30%、40%、若しくは50%以下高い又は低いK_dで、対応するサイトカイン受容体に結合する。一部の実施形態では、エフェクターは、第1の領域（例えば、表50のサイトカインポリペプチド又はその機能性変異体若しくは断片）及び第2の異種領域を含む、融合タンパク質を含む。一部の実施形態では、第1の領域は、表50の第1のサイトカインポリペプチドである。一部の実施形態では、第2の領域は、表50の第2のサイトカインポリペプチドであり、ここで、第1及び第2のサイトカインポリペプチドは、野生型細胞において互いにサイトカインヘテロ二量体を形成する。一部の実施形態では、表50のポリペプチド又はその機能性変異体は、シグナル配列、例えば、エフェクターに対して内在性のシグナル配列、又は異種シグナル配列を含む。一部の実施形態では、表50に記載のサイトカイン、又はその機能性変異体をコード化するアネロベクターを、本明細書に記載の疾患又は障害の治療に使用する。

30

40

【0441】

一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、表50のサイトカインに結合する抗体分子（例えば、scFv）を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、表50のサイトカイン受容体に結合する抗体分子（例えば、scFv）を含む。一部の実施形態では、抗体分子は、シグナル配列を含む。

【0442】

例示的なサイトカイン及びサイトカイン受容体は、例えば、Akdis et al., "Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor β , and

50

TNF- α : Receptors, functions, and roles in diseases” 2016年10月 第138刊, 第4号, 984-1010ページに記載され、これは、その表1を含み、本明細書にその全体が参照により組み込まれる。

【0443】

【表76】

表 51. 例示的なポリペプチドホルモン及び受容体

ホルモン	受容体	Entrez Gene ID	UniProt ID
ナトリウム利尿ペプチド, 例えば、心房性ナトリウム 利尿ペプチド(ANP)	NPRA, NPRB, NPRC	4878	P01160
脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP)	NPRA, NPRB	4879	P16860
C 型ナトリウム利尿ペプチド (CNP)	NPRB	4880	P23582
成長ホルモン(GH)	GHR	2690	P10912
ヒト成長ホルモン(hGH)	hGH 受容体(ヒト GHR)	2690	P10912
プロラクチン(PRL)	PRLR	5617	P01236
甲状腺刺激ホルモン(TSH)	TSH 受容体	7253	P16473
副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)	ACTH 受容体	5443	P01189
卵胞刺激ホルモン(FSH)	FSHR	2492	P23945
黄体形成ホルモン(LH)	LHR	3973	P22888
抗利尿ホルモン(ADH)	バソプレシン受容体, 例えば、V2; AVPR1A; AVPR1B; AVPR3; AVPR2	554	P30518
オキシトシン	OXTR	5020	P01178
カルシトニン	カルシトニン受容体(CT)	796	P01258
副甲状腺ホルモン(PTH)	PTH1R 及び PTH2R	5741	P01270
インスリン	インスリン受容体(IR)	3630	P01308
グルカゴン	グルカゴン受容体	2641	P01275

【0444】

一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、表51に記載のホルモン、又はその機能性変異体、例えば、そのホモログ（例えば、オーソログ若しくはパラログ）又は断片を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、そのUniProt IDを参照して、表51に列挙されるアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%の配列同一性を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、機能性変異体は、同じ条件下の同じ受容体に対して、対応する

野生型ホルモンのK_dより10%、20%、30%、40%、若しくは50%以下高いK_dで、対応する受容体に結合する。一部の実施形態では、表51のポリペプチド又はその機能性変異体は、シグナル配列、例えば、エフェクターに対して内在性のシグナル配列、又は異種シグナル配列を含む。一部の実施形態では、表51に記載のホルモン、又はその機能性変異体をコード化するアネロベクターを、本明細書に記載の疾患又は障害の治療に使用する。

【0445】

一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、表51のホルモンの結合する抗体分子（例えば、scFv）を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、表51のホルモン受容体に結合する抗体分子（例えば、scFv）を含む。一部の実施形態では、抗体分子は、シグナル配列を含む。

10

【0446】

【表77】

表 52. 例示的な成長因子

成長因子		Entrez Gene ID	UniProt ID
PDGF ファミリー			
PDGF(例えば、PDGF-1, PDGF-2, 又はそれらのヘテロ二量体)	PDGF 受容体, 例えば、PDGFR α , PDGFR β	5156	P16234
CSF-1	CSF1R	1435	P09603
SCF	CD117	3815	P10721
VEGF ファミリー			
VEGF(例えば、アイソフォーム VEGF121, VEGF165, VEGF189, 及び VEGF206)	VEGFR-1, VEGFR-2	2321	P17948

20

30

【0447】

40

50

【表 7 8】

VEGF-B	VEGFR-1	2321	P17949
VEGF-C	VEGFR-2 及び VEGFR-3	2324	P35916
PIGF	VEGFR-1	5281	Q07326
EGF ファミリー			
EGF	EGFR	1950	P01133
TGF- α	EGFR	7039	P01135
アンフィレギュリン	EGFR	374	P15514
HB-EGF	EGFR	1839	Q99075
ベータセルリン	EGFR, ErbB-4	685	P35070
エピレグリン	EGFR, ErbB-4	2069	O14944
ヘレグリン	EGFR, ErbB-4	3084	Q02297
FGF ファミリー			
FGF-1, FGF-2, FGF-3, FGF-4, FGF-5, FGF-6, FGF-7, FGF-8, FGF-9	FGFR1, FGFR2, FGFR3, 及び FGFR4	2246, 2247, 2248, 2249, 2250, 2251, 2252, 2253, 2254	P05230, P09038, P11487, P08620, P12034, P10767, P21781, P55075, P31371
インスリンファミリー			
インスリン	IR	3630	P01308
IGF-I	IGF-I 受容体, IGF-II 受容体	3479	P05019
IGF-II	IGF-II 受容体	3481	P01344
HGF ファミリー			
HGF	MET 受容体	3082	P14210
MSP	RON	4485	P26927
ニューロトロフィンファミリー			
NGF	LNGFR, trkA	4803	P01138
BDNF	trkB	627	P23560
NT-3	trkA, trkB, trkC	4908	P20783
NT-4	trkA, trkB	4909	P34130
NT-5	trkA, trkB	4909	P34130

【 0 4 4 8 】

10

20

30

40

50

【表 7 9】

アンジオポエチンファミリー			
ANGPT1	HPK-6/TEK	284	Q15389
ANGPT2	HPK-6/TEK	285	O15123
ANGPT3	HPK-6/TEK	9068	O95841
ANGPT4	HPK-6/TEK	51378	Q9Y264

10

【0 4 4 9】

一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、表 5 2 に記載の成長因子、又はその機能性変異体、例えば、そのホモログ（例えば、オーソログ若しくはパラログ）又は断片を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、その UniProt ID を参照して、表 5 2 に列挙されるアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 7 %、9 8 %、9 9 % の配列同一性を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、機能性変異体は、同じ条件下の同じ受容体に対して、対応する野生型成長因子の K d より 1 0 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、若しくは 5 0 % 以下高い K d で、対応する受容体に結合する。一部の実施形態では、表 5 2 のポリペプチド又はその機能性変異体は、シグナル配列、例えば、エフェクターに対して内在性のシグナル配列、又は異種シグナル配列を含む。一部の実施形態では、表 5 2 に記載の成長因子、又はその機能性変異体をコード化するアネロベクターを、本明細書に記載の疾患又は障害の治療に使用する。

20

【0 4 5 0】

一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、表 5 2 の成長因子に結合する抗体分子（例えば、s c F v）を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、表 5 2 の成長因子受容体に結合する抗体分子（例えば、s c F v）を含む。一部の実施形態では、抗体分子は、シグナル配列を含む。

【0 4 5 1】

例示的な成長因子及び成長因子受容体は、例えば、B a f i c o e t a l . , “ C l a s s i f i c a t i o n o f G r o w t h F a c t o r s a n d T h e i r R e c e p t o r s ” H o l l a n d - F r e i C a n c e r M e d i c i n e . 第 6 版に記載され、これは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

30

【0 4 5 2】

40

50

【表 8 0】

表 53. 凝固関連因子

エフェクター	適応症	Entrez Gene ID	UniProt ID
第Ⅰ因子 (フィブリノーゲン)	無フィブリノーゲン血症	2243, 2266, 2244	P02671, P02679, P02675
第Ⅱ因子	第Ⅱ因子欠乏症	2147	P00734
第Ⅸ因子	血友病 B	2158	P00740
第Ⅴ因子	オーレン病	2153	P12259
第Ⅷ因子	血友病 A	2157	P00451
第Ⅹ因子	スチュアート・プロワー 因子欠乏症	2159	P00742
第Ⅺ因子	血友病 C	2160	P03951
第ⅩⅢ因子	フィブリン安定化因子 欠乏症	2162, 2165	P00488, P05160
vWF	フォン・ヴィレブランド病	7450	P04275

【0 4 5 3】

一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、表 5 3 に記載のポリペプチド、又はその機能性変異体、例えば、そのホモログ（例えば、オーソログ若しくはパラログ）又は断片を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、その UniProt ID を参照して、表 5 3 に列挙されるアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 7 %、9 8 %、9 9 % の配列同一性を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、機能性変異体は、例えば、野生型タンパク質と比べて少なくとも 1 0 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、又は 5 0 % 低い速度で、対応する野生型タンパク質と同じ反応を触媒する。一部の実施形態では、表 5 3 のポリペプチド又はその機能性変異体は、シグナル配列、例えば、エフェクターに対して内在性のシグナル配列、又は異種シグナル配列を含む。一部の実施形態では、表 5 3 に記載のポリペプチド、又はその機能性変異体をコード化するアネロベクターを、表 5 3 に記載の疾患又は障害の治療に使用する。

【0 4 5 4】

例示的なタンパク質代替治療薬

例示的なタンパク質代替治療薬を、本明細書、例えば、以下の表に記載する。

【0 4 5 5】

10

20

30

40

50

【表 8 1】

表 54. 例示的な酵素エフェクター及び対応する適応症

エフェクター	欠損	Entrez Gene ID	UniProt ID
3-メチルクロトニル-CoA カルボキシラーゼ	3-メチルクロトニル-CoA カルボキシラーゼ欠損症	56922, 64087	Q96RQ3, Q9HCC0
アセチル-CoA-グルコサミニド N-アセチルトランスフェラーゼ	ムコ多糖症 MPSIII (サンフィリボ症候群) III-C 型	138050	Q68CP4
ADAMTS13	血栓性血小板減少性紫斑病	11093	Q76LX8
アデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ	アデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ欠損症	353	P07741

【 0 4 5 6 】

【表 8 2】

アデノシンデアミナーゼ	アデノシンデアミナーゼ 欠損症	100	P00813
ADP-リボース タンパク質ヒドラーゼ	グルタミルリボース-5- リン酸蓄積症	26119, 54936	Q5SW96, Q9NX46
α グルコシダーゼ	グリコーゲン蓄積症 2 型 (ポンベ病)	2548	P10253
アルギナーゼ	家族性高アルギニン血症	383, 384	P05089, P78540
アリールスルファターゼ A	異染性白質ジストロフィー	410	P15289
カテプシン K	濃化異骨症	1513	P43235
セラミダーゼ	ファーバー病 (脂肪肉芽腫症)	125981, 340485, 55331	Q8TDN7, Q5QJU3, Q9NUN7
シスタチオニン B シクターゼ	ホモシスチン尿症	875	P35520
ドリコール-P-マンノース シクターゼ	N-グリコシル化 CDG 1e の 先天性異常	8813, 54344	O60762, Q9P2X0
ドリコ-P- Glc:Man9GlcNAc2-PP- ドリコールグルコシル トランスフェラーゼ	N-グリコシル化 CDG 1c の 先天性異常	84920	Q5BKT4
ドリコ-P- Man:Man5GlcNAc2- PP-ドリコールマンノシ ルトランスフェラーゼ	N-グリコシル化 CDG 1d の 先天性異常	10195	Q92685
ドリキル-P-グルコー ス:Glc-1-Man-9- GlcNAc-2-PP-ドリキル- α -3-グルコシルトランス フェラーゼ	N-グリコシル化 CDG 1h の 先天性異常	79053	Q9BVK2
ドリキル-P-マンノー ス:Man-7-GlcNAc-2- PP-ドリキル- α -6-マンノ シルトランスフェラーゼ	N-グリコシル化 CDG 1g の 先天性異常	79087	Q9BV10
第 II 因子	第 II 因子欠乏症	2147	P00734

【 0 4 5 7 】

10

20

30

40

50

【表 8 3】

第 IX 因子	血友病 B	2158	P00740
第 V 因子	オーレン病	2153	P12259
第 VIII 因子	血友病 A	2157	P00451
第 X 因子	スチュアート・プロワー因子 欠乏症	2159	P00742
第 XI 因子	血友病 C	2160	P03951
第 XIII 因子	フィブリン安定化因子 欠乏症	2162, 2165	P00488, P05160
ガラクトサミン-6- 硫酸スルファターゼ	ムコ多糖症 MPS IV (モルキオ症候群)IV-A 型	2588	P34059
ガラクトシルセラミド β- ガラクトシダーゼ	クラッペ病	2581	P54803
ガングリオシド β- ガラクトシダーゼ	GM1 ガングリオシドーシ ス、全身性	2720	P16278
ガングリオシド β- ガラクトシダーゼ	GM2 ガングリオシドーシス	2720	P16278
ガングリオシド β- ガラクトシダーゼ	スフィンゴリピドーシス I 型	2720	P16278
ガングリオシド β- ガラクトシダーゼ	スフィンゴリピドーシス II 型 (若年型)	2720	P16278
ガングリオシド β- ガラクトシダーゼ	スフィンゴリピドーシス III 型 (成人型)	2720	P16278
グルコシダーゼ I	N-グリコシル化 CDG IIb の 先天性異常	2548	P10253
グルコシルセラミド β- グルコシダーゼ	ゴーシェ病	2629	P04062
ヘパラン-S-硫酸 スルファミダーゼ	ムコ多糖症 MPSIII(サンフィ リボ症候群)III-A 型	6448	P51688
ホモゲンチジン酸酸化 酵素	アルカプトン尿症	3081	Q93099
ヒアルロニダーゼ	ムコ多糖症 MPS IX (ヒアルロニダーゼ欠損症)	3373, 8692, 8372, 23553	Q12794, Q12891, O43820, Q2M3T9

【 0 4 5 8 】

10

20

30

40

50

【表 8 4】

イズロン酸硫酸 スルファターゼ	ムコ多糖症 MPS II (ハンター症候群)	3423	P22304
レシチン-コレステロー ルアシルトランス フェラーゼ(LCAT)	完全 LCAT 欠損症, 魚眼病, アテローム性動脈 硬化, 高コレステロール 血症	3931	606967
リシンオキシダーゼ	グルタル酸血症 I 型	4015	P28300
リソソーム酸リパーゼ	コレステロールエステル 蓄積症(CESD)	3988	P38571
リソソーム酸リパーゼ	リソソーム酸リパーゼ 欠損症	3988	P38571
リソソーム酸リパーゼ	ウォルマン病	3988	P38571
リソソームペプスタチン 非感受性ペプチダーゼ	遅発型乳児型セロイドリポ フスチン沈着症(CLN2, ヤンスキー・ピールショース キー病)	1200	O14773
マンノース(Man)リン酸 (P)イソメラーゼ	N-グリコシル化 CDG Ib の 先天性異常	4351	P34949
マンノシル- α -1,6-糖 タンパク質- β -1,2-N- アセチルグルコサミニ ルトランスフェラーゼ	N-グリコシル化 CDG IIa の 先天性異常	4247	Q10469
メタロプロテイナーゼ-2	ウィンチェスター症候群	4313	P08253
メチルマロニル CoA ムターゼ	メチルマロン酸血症 (ビタミン B12 不応答性)	4594	P22033
N-アセチルガラクトサミ ン α -4-硫酸スルファタ ーゼ(アリールスルファ ターゼ B)	ムコ多糖症 MPS VI (マロトー・ラミー症候群)	411	P15848
N-アセチル-D- グルコサミニダーゼ	ムコ多糖症 MPS III (サンフィリポ症候群)III-B 型	4669	P54802

【 0 4 5 9 】

10

20

30

40

50

【表 8 5】

N-アセチル-ガラクトサミニダーゼ	シンドラー病Ⅰ型 (乳児重症型)	4668	P17050
N-アセチル-ガラクトサミニダーゼ	シンドラー病Ⅱ型(神崎病、成人発症型)	4668	P17050
N-アセチル-ガラクトサミニダーゼ	シンドラー病Ⅲ型(中間型)	4668	P17050
N-アセチル-グルコサミニン-6-硫酸スルファターゼ	ムコ多糖症 MPSⅢ (サンフィリポ症候群)Ⅲ-D型	2799	P15586
N-アセチルグルコサミニル-1-ホスホトランスフェラーゼ	ムコリビドーシス MLⅢ (偽ハーラーポリジストロフィー)	79158	Q3T906
N-アセチルグルコサミニル-1-ホスホトランスフェラーゼ触媒サブユニット	ムコリビドーシス MLⅡ (Ⅰ-細胞病)	79158	Q3T906
N-アセチルグルコサミニル-1-ホスホトランスフェラーゼ、基質認識サブユニット	ムコリビドーシス MLⅢ (偽ハーラーポリジストロフィー)Ⅲ-C型	84572	Q9UJJ9
N-アスパルチルグルコサミニダーゼ	アスパルチルグルコサミン尿症	175	P20933
ノイラミニダーゼⅠ (シアリダーゼ)	シアリドーシス	4758	Q99519
パルミトイル-タンパク質チオエステラーゼ-1	セロイドリボフスチン症成人型(CLN4, クーフス病)	5538	P50897
パルミトイル-タンパク質チオエステラーゼ-1	セロイドリボフスチン症乳児型(CLN1, サンタブオリ・ハルチア病)	5538	P50897
フェニルアラニンヒドロキシラーゼ	フェニルケトン尿症	5053	P00439

【 0 4 6 0 】

10

20

30

40

50

【表 8 6】

ホスホマンノムターゼ-2	N-グリコシル化 CDG Ia の 先天性異常(神経及び 神経・多臓器型のみ)	5373	O15305
ポルホピリノーゲンデ アミナーゼ	急性間欠性ポルフィリア	3145	P08397
プリンヌクレオシドホス ホリラーゼ	プリンヌクレオシドホスホリ ラーゼ欠損症	4860	P00491
ピリミジン 5'ヌクレオチ ダーゼ	溶血性貧血及び/又はピリミ ジン 5'ヌクレオチダーゼ 欠損症	51251	Q9H0P0
スフィンゴミエリナーゼ	ニーマン・ピック病 A 型	6609	P17405
スフィンゴミエリナーゼ	ニーマン・ピック病 B 型	6609	P17405
ステロール 27- ヒドロキシラーゼ	脳腱黄色腫症(コレスタノー ルリビドーシス)	1593	Q02318
チミジンホスホリラーゼ	ミトコンドリア神経胃腸管系 脳筋症(MNGIE)	1890	P19971
トリヘキソシルセラミド α -ガラクトシダーゼ	ファブリー病	2717	P06280
チロシナーゼ、例え ば、OCA1	白皮症、例えば、眼白皮症	7299	P14679
UDP-GlcNAc:ドリキル- P NAcGlc ホスホトラン スフェラーゼ	N-グリコシル化 CDG Ij の 先天性異常	1798	Q9H3H5
UDP-N-アセチルグル コサミン-2-エピメラー ゼ/N-アセチルマンノサ ミンキナーゼ, シアリン	シアル酸尿フランス型	10020	Q9Y223
ウリカーゼ	レッシュ・ナイハン症候群、 痛風	391051	タンパク質なし

【 0 4 6 1 】

10

20

30

40

50

【表 8 7】

ウリジン二リン酸グルクロニルトランスフェラーゼ(例えば、UGT1A1)	クリグラー・ナジャー症候群	54658	P22309
α -1,2-マンノシルトランスフェラーゼ	N-グリコシル化 CDG II の先天性異常(608776)	79796	Q9H6U8
α -1,2-マンノシルトランスフェラーゼ	N-グリコシル化, I 型の先天性異常(前ゴルジグリコシル化欠損)	79796	Q9H6U8
α -1,3-マンノシルトランスフェラーゼ	N-グリコシル化 CDG II の先天性異常	440138	Q2TAA5
α -D-マンノシダーゼ	α -マンノシドーシス, I 型(重症)又は II 型(軽症)	10195	Q92685
α -L-フコシダーゼ	フコシドーシス	4123	Q9NTJ4
α -L-イズロニダーゼ	ムコ多糖症 MPS I H/S (ハーラー・シャイエ症候群)	2517	P04066
α -L-イズロニダーゼ	ムコ多糖症 MPS I-H (ハーラー症候群)	3425	P35475
α -L-イズロニダーゼ	ムコ多糖症 MPS I-S (シャイエ症候群)	3425	P35475
β -1,4-ガラクトシルトランスフェラーゼ	N-グリコシル化 CDG II d の先天性異常	3425	P35475
β -1,4-マンノシルトランスフェラーゼ	N-グリコシル化 CDG II k の先天性異常	2683	P15291
β -D-マンノシダーゼ	β -マンノシドーシス	56052	Q9BT22
β -ガラクトシダーゼ	ムコ多糖症 MPS IV (モルキオ症候群)IV-B 型	4126	O00462
β -グルクロニダーゼ	ムコ多糖症 MPS VII (スライ症候群)	2720	P16278
β -ヘキソサミニダーゼ A	テイ・サックス病	2990	P08236
β -ヘキソサミニダーゼ B	サンドホフ病	3073	P06865

【0462】

一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、表 5 4 に記載の酵素、又はその機能性変異体、例えば、そのホモログ（例えば、オーソログ若しくはパラログ）又は断片を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、その UniProt ID を参照して、表 5 4 に列挙されるアミノ酸配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 % の配列同一性を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、機能性変異体は、例えば、野生型タンパク質と比べて少なくとも 10 %、20 %、30 %、40 %、又は 50 % 低い速度で、対応する野生型タンパク質と同じ反応を触媒する。一部の実施形態では、表 5 4 の酵素、又はその機能性変異体をコード化

するアネロベクターを表 5 4 の疾患又は障害の治療に使用する。一部の実施形態では、アネロベクターを用いて、ウリジン二リン酸グルクロニルトランスフェラーゼ又はその機能性変異体を標的細胞、例えば、肝細胞に送達する。一部の実施形態では、アネロベクターを用いて、OCA 1 又はその機能性変異体を標的細胞、例えば、網膜細胞に送達する。

【 0 4 6 3 】

【表 8 8】

表 55. 例示的な非酵素エフェクター及び対応する適応症

エフェクター	適応症	Entrez Gene ID	UniProt ID
サバイバル運動 ニューロンタンパク質 (SMN)	脊髄性筋萎縮症	6606	Q16637
ジストロフィン又はマ イクロジストロフィン	筋ジストロフィー (例えば、デュシェンヌ 型筋ジストロフィー 又はベッカー型筋 ジストロフィー)	1756	P11532
補体タンパク質、 例えば、補体因子 C1	補体 I 因子欠損症	3426	P05156
補数因子 H	非典型溶血性尿毒症 症候群	3075	P08603
シスチノシン(リソソ ムシスチントランス ポーター)	シスチノーシス	1497	O60931
精巣上体分泌 タンパク質 1(HE1; NPC2 タンパク質)	ニーマン・ピック病 C2 型	10577	P61916
GDP-フコース トランスポーター-1	N-グリコシル化 CDG IIc の先天性異常 (ランバン・ハシャロン 症候群)	55343	Q96A29

【 0 4 6 4 】

【表 8 9】

GM2 アクチベータ タンパク質	GM2 アクチベータタ ンパク質欠損症(テイ・ サックス病 AB 変異 体, GM2A)	2760	Q17900
リソソーム膜貫通 CLN3 タンパク質	若年型セロイドリポフ スチン症(CLN3, バッテン病, フォーク ト・シュピールマイヤー 病)	1207	Q13286
リソソーム膜貫通 CLN5 タンパク質	遅発型乳児型セロイド リポフスチン症バリア ント, フィンランド型 (CLN5)	1203	O75503
リン酸ナトリウム 共輸送体, シアリン	乳児シアル酸蓄積症	26503	Q9NRA2
リン酸ナトリウム 共輸送体, シアリン	シアル酸尿症フィンラ ンド型(サラ病)	26503	Q9NRA2
NPC1 タンパク質	ニーマン・ピック病 C1 型/D 型	4864	O15118
オリゴマーゴルジ 複合体-7	N-グリコシル化 CDG Ile の先天性異常	91949	P83436
プロサポシン	プロサポシン欠損症	5660	P07602
保護タンパク質/ カテプシン A(PPCA)	ガラクトシアリドーシス (ゴールドバーグ症候 群, 複合型ノイラミニ ダーゼ及び β -ガラクト シダーゼ欠損症)	5476	P10619
マンノース-P-ドリコ ール使用に關与する タンパク質	N-グリコシル化 CDG If の先天性異常	9526	O75352

【 0 4 6 5 】

10

20

30

40

50

【表 9 0】

サボシン B	サボシン B 欠損症 (スルファチドアクチベ ータ欠損症)	5660	P07602
サボシン C	サボシン C 欠損症 (ゴーシェアクチベータ 欠損症)	5660	P07602
スルファターゼ-修飾 因子-1	ムコスルファチドー シス(多発性スルファタ ーゼ欠損症)	285362	Q8NBK3
膜貫通 CLN6 タンパク質	遅発型乳児型セロイド リボフスチン症バリア ント(CLN6)	54982	Q9NWW5
膜貫通 CLN8 タンパク質	知的障害を伴うセロイ ドリボフスチン症進行 性てんかん	2055	Q9UBY8
vWF	フォン・ヴィレブランド 病	7450	P04275
第Ⅰ因子 (フィブリノーゲン)	無フィブリノーゲン 血症	2243, 2244, 2266	P02671, P02675, P02679
エリスロポエチン (hEPO)			

10

20

30

【0 4 6 6】

一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、エリスロポエチン（EPO）、例えば、ヒトエリスロポエチン（hEPO）、又はその機能性変異体を含む。一部の実施形態では、エリスロポエチン、又はその機能性変異体をコード化するアネロベクターを、赤血球生成を刺激するために使用する。一部の実施形態では、エリスロポエチン、又はその機能性変異体をコード化するアネロベクターを、疾患又は障害、例えば、貧血の治療に使用する。一部の実施形態では、アネロベクターを用いて、EPO又はその機能性変異体を標的細胞、例えば、赤血球に送達する。

【0 4 6 7】

一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、表 5 5 に記載のポリペプチド、又はその機能性変異体、例えば、ホモログ（例えば、オーソログ若しくはパラログ）又は断片を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、その UniProt ID を参照して、表 5 5 に列挙されるアミノ酸配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 % の配列同一性を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、表 5 5 に記載のポリペプチド、又はその機能性変異体をコード化するアネロベクターを、表 5 5 に記載の疾患又は障害の治療に使用する。一部の実施形態では、アネロベクターを用いて、SMN 又はその機能性変異体を標的細胞、例えば、脊髄及び／又は運動ニューロンに送達する。一部の実施形態では、アネロベクターを用いて、マイクロジストロフィンを標的細胞、例えば、筋細胞に送達する。

40

【0 4 6 8】

50

例示的なマイクロジストロフィンは、Duan, “Systemic AAV Micro-dystrophin Gene Therapy For Duchenne Muscular Dystrophy.” Mol Ther. 2018 Oct 3; 26 (10) : 2337-2356. doi: 10.1016/j.ymthe.2018.07.011. Epub 2018 Jul 17に記載されている。

【0469】

一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、凝固因子、例えば、本明細書の表54又は表55に列挙される凝固因子を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、変異すると、リソソーム蓄積症を引き起こすタンパク質、例えば、本明細書の表A又は表Bに列挙されるタンパク質を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のエフェクターは、輸送タンパク質、例えば、本明細書の表Bに列挙される輸送タンパク質を含む。

10

【0470】

一部の実施形態では、野生型タンパク質の機能性変異体は、野生型タンパク質の1つ若しくは複数の活性を有するタンパク質を含み、例えば、機能性変異体は、例えば、野生型タンパク質より少なくとも10%、20%、30%、40%、若しくは50%低い割合で、対応する野生型タンパク質と同じ反応を触媒する。一部の実施形態では、機能性変異体は、例えば、同じ条件下の同じ結合パートナーに対して、対応する野生型タンパク質のK_dより多くとも10%、20%、30%、40%、若しくは50%高いK_dで、野生型タンパク質によって結合されるものと同じ結合パートナーに結合する。一部の実施形態では、機能性変異体は、野生型ポリペプチドのそれと少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一のポリペプチド配列を有する。一部の実施形態では、機能性変異体は、対応する野生型タンパク質のホモログ（例えば、オーソログ又はパラログ）を含む。一部の実施形態では、機能性変異体は、融合タンパク質である。一部の実施形態では、融合物は、対応する野生型タンパク質、第2、異種領域に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の同一性を有する第1領域を含む。一部の実施形態では、機能性変異体は、対応する野生型タンパク質の断片を含むか、又はそれから構成される。

20

【0471】

再生、修復、及び線維化因子

本明細書に記載の治療用ポリペプチドには、例えば、表56に開示されるような成長因子、又はその機能性変異体、例えば、UniProt IDを参照して表56に開示されるタンパク質配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%の同一性を有するタンパク質も含まれる。また、そのような成長因子に対する抗体若しくはその断片、又は再生及び修復を促進するmiRNAも含まれる。

30

【0472】

40

50

【表 9 1】

表 56. 再生、修復、及び線維化因子

標的	遺伝子アクセッション#	タンパク質アクセッション#
VEGF-A	NG_008732	NP_001165094
NRG-1	NG_012005	NP_001153471
FGF2	NG_029067	NP_001348594
FGF1	遺伝子 ID: 2246	NP_001341882
miR-199-3p	MIMAT0000232	
miR-590-3p	MIMAT0004801	
mi-17-92	MI0000071	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2732113/figure/F1/
miR-222	MI0000299	
miR-302-367	MIR302A 及び MIR367	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4400607/

10

20

30

【0 4 7 3】

形質転換因子

本明細書に記載の治療用ポリペプチドには、形質転換因子、例えば、線維芽細胞を分化細胞に形質転換するタンパク質因子、例えば、表 5 7 に開示される因子又はその機能性変異体、例えば、UniProt ID を参照して表 5 7 に開示されるタンパク質配列に対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 % の同一性を有するタンパク質も含まれる。

40

【0 4 7 4】

50

【表 9 2】

表 57. 例示的な形質転換因子

標的	適応症	遺伝子アクセッション#	タンパク質アクセッション#
MESP1	線維芽細胞の形質転換による臓器修復	遺伝子 ID:55897	EAX02066
ETS2	線維芽細胞の形質転換による臓器修復	遺伝子 ID:2114	NP_005230
HAND2	線維芽細胞の形質転換による臓器修復	遺伝子 ID:9464	NP_068808
MYOCARDIN	線維芽細胞の形質転換による臓器修復	遺伝子 ID:93649	NP_001139784
ESRRA	線維芽細胞の形質転換による臓器修復	遺伝子 ID:2101	AAH92470
miR-1	線維芽細胞の形質転換による臓器修復	MI0000651	n/a
miR-133	線維芽細胞の形質転換による臓器修復	MI0000450	n/a
TGFb	線維芽細胞の形質転換による臓器修復	遺伝子 ID:7040	NP_000651.3
WNT	線維芽細胞の形質転換による臓器修復	遺伝子 ID:7471	NP_005421
JAK	線維芽細胞の形質転換による臓器修復	遺伝子 ID:3716	NP_001308784
NOTCH	線維芽細胞の形質転換による臓器修復	遺伝子 ID:4851	XP_011517019

【0 4 7 5】

細胞再生を刺激するタンパク質

本明細書に記載の治療用ポリペプチドには、細胞再生を刺激するタンパク質、例えば、表 5 8 に開示されるタンパク質、又はその機能性変異体、例えば、UniProt ID を参照して表 5 8 に開示されるタンパク質配列に対して少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 7 %、9 8 %、9 9 % の同一性を有するタンパク質も含まれる。

【0 4 7 6】

10

20

30

40

50

【表 9 3】

表 58. 細胞再生を刺激する例示的なタンパク質

標的	遺伝子アクセッション#	タンパク質アクセッション#
MST1	NG_016454	NP_066278
STK30	遺伝子 ID:26448	NP_036103
MST2	遺伝子 ID:6788	NP_006272
SAV1	遺伝子 ID:60485	NP_068590
LATS1	遺伝子 ID:9113	NP_004681
LATS2	遺伝子 ID:26524	NP_055387
YAP1	NG_029530	NP_001123617
CDKN2b	NG_023297	NP_004927
CDKN2a	NG_007485	NP_478102

10

20

30

【0477】

STINGモジュレータエフェクター

一部の実施形態では、本明細書に記載される分泌エフェクターは、STING/cGASシグナル伝達を調節する。一部の実施形態では、STINGモジュレータは、ポリペプチド、例えば、ウイルスポリペプチド又はその機能性変異体である。例えば、エフェクターは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Maringer et al. “Message in a bottle: lessons learned from antagonism of STING signalling during RNA virus infection” Cytokine&Growth Factor Reviews 第25巻, 第6号, 2014年12月, 669-679ページに記載されるSTINGモジュレータ（例えば、阻害剤）を含んでもよい。追加のSTINGモジュレータ（例えば、アクチベータ）は、例えば、Wang et al. “STING activator c-di-GMP enhances the anti-tumor effects of peptide vaccines in melanoma-bearing mice.” Cancer Immunol Immunother. 2015 Aug; 64 (8) : 1057-66. doi:10.1007/s00262-015-1713-5. Epub 2015年5月19日; Bose “cGAS/STING Pathway in Cancer: Jekyll and Hy

40

50

de Story of Cancer Immune Response” Int J Mol Sci. 2017年11月;18(11):2456;及びFu et al. “STING agonist formulated cancer vaccines can cure established tumors resistant to PD-1 blockade” Sci Transl Med. 2015年4月15日;7(283):283ra52に記載され、それぞれその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0478】

ペプチドの一部の例として、限定はされないが、蛍光タグ若しくはマーカ、抗原、ペプチド治療薬、天然の生物活性ペプチド由来の合成若しくはアナログペプチド、アゴニスト若しくはアンタゴニストペプチド、抗微生物ペプチド、ターゲティング若しくは細胞傷害性ペプチド、分解若しくは自滅ペプチド及び分解若しくは自滅ペプチドが挙げられる。また、本明細書に記載される本発明で有用なペプチドとして、抗原結合ペプチド、例えば、抗原結合抗体又は抗体様断片、例えば、一本鎖抗体、ナノボディも挙げられる（例えば、Steel et al. 2016. Nanobodies as therapeutics: big opportunities for small antibodies. Drug Discov Today: 21(7):1076-113を参照）。こうした抗原結合ペプチドは、サイトゾル抗原、核抗原、又はオルガネラ内抗原に結合し得る。

【0479】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、低分子ペプチド、ペプチド模倣物（例えば、ペプトイド）、アミノ酸、及びアミノ酸類似体をコード化する配列を含む。こうした治療薬は、概して、モル当たり約5,000グラム未満の分子量、モル当たり約2,000グラム未満の分子量、モル当たり約1,000グラム未満の分子量、モル当たり約500グラム未満の分子量、並びにこうした化合物の塩、エステル、及び他の薬学的に許容される形態を有する。こうした治療薬として、限定はされないが、神経伝達物質、ホルモン、薬物、毒素、ウイルス若しくは微生物粒子、合成粒子、及びそれらのアゴニスト又はアンタゴニストが挙げられる。

【0480】

一部の実施形態では、本明細書に記載の組成物又はアネロベクターは、特定の位置、組織、又は細胞をターゲティングすることができるリガンドに連結したポリペプチドを含む。

【0481】

遺伝子編集構成体

アネロベクターの遺伝子エレメントは、遺伝子編集システムの1構成体をコード化する1つ又は複数の遺伝子を含んでもよい。例示的な遺伝子編集システムとして、クラスター化規則間隔短回文反復（clustered regulatory interspaced short palindromic repeat）（CRISPR）システム、ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ZFN）、及び転写アクチベータ様エフェクターベースヌクレアーゼ（TALEN）がある。ZFN、TALEN、及びCRISPRに基づく方法は、例えば、Gaj et al. Trends Biotechnol. 31.7(2013):397-405に記載されており；遺伝子編集のCRISPR法は、例えば、以下：Guan et al., Application of CRISPR-Cas system in gene therapy: Pre-clinical progress in animal model. DNA Repair 2016 Oct;46:1-8. doi:10.1016/j.dnarep.2016.07.004;Zheng et al., Precise gene deletion and replacement using the CRISPR/Cas9 system in human cells. BioTechniques, Vol. 57, No. 3, September 2014, pp. 115-124に記載されている。

【0482】

C R I S P Rシステムは、初め細菌及び古細菌で発見された適応防御システムである。C R I S P Rシステムは、C R I S P R関連又は「C a s」エンドヌクレアーゼ（例えば、C a s 9若しくはC p f 1）と呼ばれるRNA誘導ヌクレアーゼを用いて、外来DNAを切断する。典型的なC R I S P R／C a sシステムにおいて、エンドヌクレアーゼは、一本鎖若しくは二本鎖DNA配列をターゲティングする配列特異的なノンコーディング「ガイドRNA」により、標的ヌクレオチド配列（例えば、ゲノム内で配列編集しようとする部位）に向けられる。3つのクラス（I～III）のC R I S P Rシステムが同定されている。クラスII C R I S P Rシステムは、単一のC a sエンドヌクレアーゼ（複数のC a sタンパク質ではなく）を使用する。或るクラスII C R I S P Rシステムは、C a s 9、C R I S P R RNA（「c r RNA」）、及びトランス活性化c r RNA（「t r a c r RNA」）などのII型C a sエンドヌクレアーゼを含む。c r RNAは、「ガイドRNA」、典型的には、標的DNA配列に対応する約20ヌクレオチドRNA配列を含む。c r RNAはまた、t r a c r RNAに結合して部分的に二本鎖の構造を形成する領域も含有し、これは、R N a s e IIIにより切断されて、c r RNA／t r a c r RNAハイブリッドが形成される。次に、c r RNA／t r a c r RNAハイブリッドは、C a s 9エンドヌクレアーゼを指令して、標的DNA配列を認識させ、切断させる。標的DNA配列は、概して、所与のC a sエンドヌクレアーゼに特異的な「プロトスペーサ隣接モチーフ」（「P A M」）に隣接していなければならない；しかし、P A M配列は、所与のゲノム全体に出現する。

10

20

【0483】

一部の実施形態では、アネロベクターは、C R I S P Rエンドヌクレアーゼの遺伝子を含む。例えば、様々な原核生物種から同定されるいくつかのC R I S P Rエンドヌクレアーゼは、ユニークなP A M配列要件を有し；P A M配列の例として、5'－N G G（化膿レンサ球菌（*S t r e p t o c o c c u s p y o g e n e s*））、5'－N N A G A A（ストレプトコッカス・サーモフィルス（*S t r e p t o c o c c u s t h e r m o p h i l u s*）C R I S P R1）、5'－N G G N G（ストレプトコッカス・サーモフィルス（*S t r e p t o c o c c u s t h e r m o p h i l u s*）C R I S P R3）、及び5'－N N N G A T T（髄膜炎菌（*N e i s s e r i a m e n i n g i d i t i s*））が挙げられる。いくつかのエンドヌクレアーゼ、例えば、C a s 9エンドヌクレアーゼは、GリッチP A M部位、例えば、5'－N G Gに結合しており、P A M部位（その5'側）から上流の3ヌクレオチド位置で標的DNAの平滑末端切断を実施する。別のクラスII C R I S P Rシステムは、C a s 9より小さいV型エンドヌクレアーゼC p f 1を含み；例として、A s C p f 1（アシダミノコッカス種（*A c i d a m i n o c o c c u s s p .*）由来）及びL b C p f 1（ラクノスピラ科種（*L a c h n o s p i r a c e a e s p .*）由来）が挙げられる。C p f 1エンドヌクレアーゼは、TリッチP A M部位、例えば、5'－T T Nと結合している。C p f 1はまた、5'－C T A P A Mモチーフを認識することができる。C p f 1は、4－又は5－ヌクレオチド5'オーバーハングを伴うオフセット又はスタグガー二本鎖切断を導入し、例えば、コード鎖のP A M部位（その3'側）から下流の18ヌクレオチドで、且つ相補鎖のP A M部位から下流の23ヌクレオチドに位置する5－ヌクレオチドオフセット又はスタグガーカットで標的DNAを切断することにより、標的DNAを切断し；こうしたオフセット切断によって生じた5－ヌクレオチドオーバーハングは、平滑末端切断されたDNAでの挿入と比較して、相同組換えによるDNA挿入による正確なゲノム編集を可能にする。例えば、Z e t s c h e e t a l.（2015）C e l l，163：759－771を参照されたい。

30

40

【0484】

様々なC R I S P R結合（C a s）遺伝子をアネロベクターに含有させてもよい。遺伝子の具体的な例は、クラスIIシステムからのC a sタンパク質をコード化するものであり、C a s 1、C a s 2、C a s 3、C a s 4、C a s 5、C a s 6、C a s 7、C a s 8、C a s 9、C a s 10、C p f 1、C 2 C 1、又はC 2 C 3が挙げられる。一部の実

50

施形態では、アネロベクターは、Casタンパク質、例えば、Cas9タンパク質をコード化する遺伝子を含み、これは、多様な原核生物種のいずれに由来するものでもよい。一部の実施形態では、アネロベクターは、特定のCasタンパク質、例えば、特定のCas9タンパク質をコード化する遺伝子を含み、これは、特定のプロトスペーサ隣接モチーフ（PAM）配列を認識するように選択される。一部の実施形態では、アネロベクターは、2つ以上の異なるCasタンパク質をコード化する核酸、又は2つ以上のCasタンパク質を含み、例えば、同じ、類似する若しくは異なるPAMモチーフを含む部位の認識及び修飾を可能にするために、アネロベクターを細胞、接合子、胚、又は動物に導入してもよい。一部の実施形態では、アネロベクターは、不活性化ヌクレアーゼ、例えば、ヌクレアーゼ欠失Cas9を含む修飾Casタンパク質をコード化する遺伝子を含む。

10

【0485】

野生型Cas9タンパク質は、gRNAによりターゲティングされた特定のDNA配列に二本鎖切断（DSB）を生成するが、修飾された機能性を有するいくつかのCRISPRエンドヌクレアーゼが知られており、例えば、Casエンドヌクレアーゼ（例えば、Cas9）の「ニッカーゼ」バージョンは、一本鎖切断しか生成せず；触媒能のないCasエンドヌクレアーゼ、例えば、Cas9（「dCas9」）は、標的DNAを切断しない。dCas9をコード化する遺伝子を、エフェクタードメインをコード化する遺伝子と融合させて、標的遺伝子の発現を抑制（CRISPRi）又は活性化（CRISPRa）することができる。例えば、遺伝子は、転写サイレンサー（例えば、KRABドメイン）又は転写アクチベータ（例えば、dCas9-VP64融合物）とのCas9融合体をコード化し得る。FokIヌクレアーゼに融合した触媒能のないCas9（dCas9）をコード化する遺伝子（「dCas9-FokI」）を含有させて、2つのgRNAに対して相同的な標的配列にDSBを生成することができる。例えば、Addgeneリポジトリ（Addgene, 75 Sidney St., Suite 550A, Cambridge, MA 02139; addgene.org/crispr/）に開示され、そこから一般に入手可能な多数のCRISPR/Cas9プラスミドを参照されたい。各々が個別のガイドRNAにより指令される2つの個別の二本鎖切断を導入する「ダブルニッカーゼ」Cas9は、Ran et al. (2013) Cell, 154:1380-1389によって、より正確なゲノム編集を達成するものとして記載されている。

20

【0486】

真核細胞の遺伝子を編集するためのCRISPR技術は、以下：米国特許出願公開第2016/0138008A1号明細書及び同第2015/0344912A1号明細書、並びに米国特許第8,697,359号明細書、同第8,771,945号明細書、同第8,945,839号明細書、同第8,999,641号明細書、同第8,993,233号明細書、同第8,895,308号明細書、同第8,865,406号明細書、同第8,889,418号明細書、同第8,871,445号明細書、同第8,889,356号明細書、同第8,932,814号明細書、同第8,795,965号明細書、及び同第8,906,616号明細書に開示されている。Cpf1エンドヌクレアーゼ並びに対応するガイドRNA及びPAM部位は、米国特許出願公開第2016/0208243A1号明細書に開示されている。

30

40

【0487】

一部の実施形態では、アネロベクターは、本明細書に記載のポリペプチド、例えば、標的化ヌクレアーゼをコード化する遺伝子、例えば、Cas9、例えば、野生型Cas9、ニッカーゼCas9（例えば、Cas9 D10A）、不活性Cas9（dCas9）、eSpCas9、Cpf1、C2C1、又はC2C3、及びgRNAを含む。ヌクレアーゼをコード化する遺伝子、及びgRNAの選択は、標的化突然変異がヌクレオチドの欠失、置換、又は付加、例えば、標的化配列に対するヌクレオチドの欠失、置換、又は付加であるか否かによって決定される。（1つ又は複数の）エフェクタードメイン（例えば、VP64）の全部又は一部（例えば、その生物活性部分）と係留された触媒能のないエンドヌクレアーゼ、例えば、不活性Cas9（dCas9、例えば、D10A；H840A）

50

をコード化する遺伝子は、1つ又は複数の標的核酸配列の活性及び／又は発現を調節することができるキメラタンパク質を産生する。

【0488】

一部の実施形態では、アネロベクターは、本明細書に記載の方法に有用なキメラタンパク質を作製するために、1つ又は複数のエフェクタードメインの全部又は一部（例えば、完全長野生型エフェクタードメイン、又はその断片若しくは変異体、例えば、その生物学的活性部分）と d C a s 9 の融合物をコード化する遺伝子を含む。従って、一部の実施形態では、アネロベクターは、d C a s 9－メチラーゼ融合物をコード化する遺伝子を含む。他の一部の実施形態では、アネロベクターは、内在性遺伝子をターゲティングする部位特異的 g R N A を含む d C a s 9－酵素融合物をコード化する遺伝子を含む。

10

【0489】

他の態様では、アネロベクターは、d C a s 9 と融合した 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、又はそれ以上のエフェクタードメイン（全部又は生物活性部分）をコード化する遺伝子を含む。

【0490】

調節配列

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、調節配列、例えば、プロモータ又はエンハンサーを含み、エフェクターをコードする配列に作動可能に連結される。一部の実施形態では、例えば、遺伝子エレメントが m R N A である場合、プロモータは遺伝子エレメントに非存在であってもよい。一部の実施形態では、遺伝子エレメント構築物は、R N A 遺伝子エレメントの生産を駆動するために使用されるプロモータを含む。

20

【0491】

一部の実施形態では、プロモータは、発現産物をコード化する D N A に隣接して位置する D N A 配列を含む。プロモータは、隣接する D N A 配列と作動可能に連結してもよい。プロモータは、典型的に、プロモータが存在しないときに発現された産物の量と比較して、D N A 配列から発現される産物の量を増加させる。1つの生物由来のプロモータを使用して、別の生物に由来する D N A 配列からの産物の発現を増大することができる。例えば、脊椎動物プロモータは、脊椎動物においてクラゲ G F P の発現のために用いることができる。従って、1プロモータエレメントは、1つ又は複数の産物の発現を増大することができる。当業者には、複数のプロモータエレメントが周知である。

30

【0492】

一実施形態では、高レベルの構成性発現が要望される。こうしたプロモータの例として、限定はしないが、レトロウイルスラウス肉腫ウイルス (R o u s s a r c o m a v i r u s) (R V S) 長末端反復 (L T R) プロモータ／エンハンサー、サイトメガロウイルス (C M V) 中間体初期プロモータ／エンハンサー（例えば、B o s h a r t e t a l., C e l l, 41:521-530 (1985) を参照）、S V 40 プロモータ、ジヒドロ葉酸レダクターゼプロモータ、細胞質βアクチンプロモータ及びホスホグリセロールキナーゼ (P G K) プロモータが挙げられる。

【0493】

別の実施形態では、誘導性プロモータが要望される場合もある。誘導性プロモータは、シス又はトランスのいずれかで提供され、外部から供給される化合物により調節されるものであり、限定はしないが、亜鉛誘導性ヒツジメタロチオン (M T) プロモータ；デキサメタゾン (D e x) 誘導性マウス乳腺腫瘍ウイルス (M M T V) プロモータ；T7ポリメラーゼプロモータシステム（国際公開第98／10088号パンフレット）；テトラサイクリン抑制性システム (G o s s e n e t a l., P r o c. N a t l. A c a d. S c i. U S A, 89:5547-5551 (1992)) ；テトラサイクリン誘導性システム (G o s s e n e t a l., S c i e n c e, 268:1766-1769 (1995)) ；また、H a r v e y e t a l., C u r r. O p i n. C h e m. B i o l., 2:512-518 (1998)) も参照) ；R U 4 8 6 誘導性システム (W

40

50

ang et al., Nat. Biotech., 15:239-243 (1997) 及び Wang et al., Gene Ther., 4:432-441 (1997)] ; 並びにラパマイシン誘導性システム (Magari et al., J. Clin. Invest., 100:2865-2872 (1997); Rivera et al., Nat. Medicine, 2:1028-1032 (1996)) が挙げられる。本発明に関して有用となり得る他のタイプの誘導性プロモータは、特定の生理的状態、例えば、温度、急性相によって、又は複製細胞においてのみ調節されるものである。

【0494】

一部の実施形態では、目的の遺伝子又は核酸配列のネイティブプロモータを使用する。ネイティブプロモータは、遺伝子又は核酸配列の発現が、ネイティブ発現を模倣すべきであることが要望される場合に使用することができる。ネイティブプロモータは、遺伝子又は他の核酸配列の発現を一過性若しくは発展的に、又は組織特異的に、又は特定の転写刺激に応答して調節しなければならない場合に使用することができる。別の実施形態では、ネイティブ発現を模倣するために、他のネイティブ発現制御エレメント、例えば、エンハンサーエレメント、ポリアデニル化部位又はコザック (Kozak) コンセンサス配列を用いてもよい。

【0495】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、組織特異的プロモータに作動可能に連結された遺伝子を含む。例えば、骨格筋での発現が要望される場合、筋肉において活性のプロモータを用いることができる。こうしたものとして、骨格 α アクチン、ミオシン軽鎖2A、ジストロフィン、筋クレアチンキナーゼをコード化する遺伝子由来のプロモータ、並びに天然のプロモータより高い活性を有する合成筋肉プロモータが挙げられる。Li et al., Nat. Biotech., 17:241-245 (1999) を参照されたい。組織特異的であるプロモータの例は、中でも、以下のものについて知られている：肝臓アルブミン、Miyatake et al. J. Virol., 71:5124-32 (1997); B型肝炎ウイルスコアプロモータ、Sandig et al., Gene Ther. 3:1002-9 (1996); α フェトプロテイン (AFP)、Arbuthnot et al., Hum. Gene Ther., 7:1503-14 (1996)]、骨 (オステオカルシン、Stein et al., Mol. Biol. Rep., 24:185-96 (1997); 骨シアロタンパク質、Chen et al., J. Bone Miner. Res. 11:654-64 (1996))、リンパ球 (CD2、Hansal et al., J. Immunol., 161:1063-8 (1998); 免疫グロブリン重鎖; T細胞受容体 α 鎖)、神経 (ニューロン特異的エノラーゼ (NSE) プロモータ、Andersen et al. Cell. Mol. Neurobiol., 13:503-15 (1993); ニューロフィラメント軽鎖遺伝子、Piccioli et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:5611-5 (1991); ニューロン特異的 vgf 遺伝子、Piccioli et al., Neuron, 15:373-84 (1995)]。

【0496】

遺伝子エレメントコンストラクトは、エンハンサー、例えば、遺伝子をコード化する DNA 配列に隣接して位置する DNA 配列を含んでもよい。エンハンサーエレメントは、典型的に、プロモータエレメントの上流に位置するか、又はコーディング DNA 配列 (例えば、1つ若しくは複数の産物に転写若しくは翻訳された DNA 配列) の下流、又はその内部に位置してもよい。従って、エンハンサーエレメントは、産物をコード化する DNA 配列上流又は下流の100塩基対、200塩基対、若しくは300塩基対若しくはそれ以上に位置することができる。エンハンサーエレメントは、プロモータエレメントによってもたらされる発現増大を上回って、DNA 配列から発現される組換え産物の量を増大することができる。複数のエンハンサーエレメントが当業者には容易に入手可能である。

【0497】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、本明細書に記載の発現産物をコード化する

配列にフランキングする1つ又は複数の逆方向末端反復（ITR）を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、本明細書に記載の発現産物をコード化する配列にフランキングする1つ又は複数の長末端反復（LTR）を含む。用いることができるプロモータ配列の例として、限定はされないが、サルウイルス40（SV40）初期プロモータ、マウス乳腺腫瘍ウイルス（MMTV）、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）長末端反復（LTR）プロモータ、MoMuLVプロモータ、トリ白血病ウイルスプロモータ、エプスタイン・バーウイルス（Epstein-Barr virus）前初期プロモータ、及びラウス肉腫ウイルス（Rous sarcoma virus）プロモータが挙げられる。

【0498】

その他の配列

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、産物をコード化する核酸（例えば、リボザイム、タンパク質をコード化する治療用mRNA、外性遺伝子）をさらに含む。

【0499】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、宿主又は宿主細胞中のアネロベクターの種及び／若しくは組織及び／若しくは細胞指向性（例えば、キャプシドタンパク質配列）、感染力（例えば、キャプシドタンパク質配列）、免疫抑制／活性化（例えば、調節核酸）、ウイルスゲノム結合及び／又はパッケージング、免疫回避（非免疫原性及び／又は寛容性）、薬物動態、エンドサイトーシス及び／又は細胞接着、核内進入、細胞内調節及び局在化、エキソサイトーシス調節、増殖、並びに核酸保護に影響を及ぼす1つ又は複数の配列を含む。

【0500】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、DNA、RNA、又は人工核酸を含む他の配列を含んでもよい。他の配列として、限定はされないが、ゲノムDNA、cDNA、又はtRNA、mRNA、rRNA、miRNA、gRNA、siRNA、若しくはその他のRNA分子をコード化する配列を挙げることができる。一実施形態では、遺伝子エレメントは、調節核酸と同じ遺伝子発現産物の異なる遺伝子座をターゲティングするために、siRNAをコード化する配列を含む。一実施形態では、遺伝子エレメントは、調節核酸とは異なる遺伝子発現産物をターゲティングするために、siRNAをコード化する配列を含む。

【0501】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、以下：1つ若しくは複数のmiRNAをコード化する配列、1つ若しくは複数の複製タンパク質をコード化する配列、外性遺伝子をコード化する配列、治療薬をコード化する配列、調節配列（例えば、プロモータ、エンハンサー）、内在性遺伝子（siRNA、lncRNA、shRNA）をターゲティングする1つ若しくは複数の調節配列をコード化する配列、並びに治療用mRNA若しくはタンパク質をコード化する配列のうち1つ又は複数を含む。

【0502】

他の配列は、約2～約5000nt、約10～約100nt、約50～約150nt、約100～約200nt、約150～約250nt、約200～約300nt、約250～約350nt、約300～約500nt、約10～約1000nt、約50～約1000nt、約100～約1000nt、約1000～約2000nt、約2000～約3000nt、約3000～約4000nt、約4000～約5000nt、又はこれらの間の任意の範囲の長さを有し得る。

【0503】

コードされた遺伝子

例えば、遺伝子エレメントは、シグナル伝達生化学経路に関連する遺伝子、例えば、シグナル伝達生化学経路関連遺伝子又はポリヌクレオチドを含んでもよい。例として、疾患関連遺伝子又はポリヌクレオチドがある。「疾患関連」遺伝子又はポリヌクレオチドは、非疾患対照の組織若しくは細胞と比較して、疾患に罹患した組織由来の細胞において異常なレベル又は異常な形態で転写若しくは翻訳産物をもたらしているあらゆる遺伝子又はポ

10

20

30

40

50

リヌクレオチドを指す。これは、異常に高いレベルで発現される遺伝子であってもよいし；異常に低いレベルで発現される遺伝子であってもよく、その際、改変された発現は、疾患の発生及び／又は進行と相関する。疾患関連遺伝子はまた、遺伝子プロセッシング突然変異又は遺伝子変異とも呼ばれ、これは、疾患の直接の原因であるか、又は病因となる遺伝子との連関不均衡状態にある。

【0504】

疾患関連遺伝子及びポリヌクレオチドは、McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, Md.) 及び National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (Bethesda, Md.) から入手可能である。疾患関連遺伝子又はポリヌクレオチドの例は、米国特許第8,697,359号明細書の表A及びBに列挙されており、これらは、その全体を参照により本明細書に組み込むものとする。疾患別の情報は、McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, Md.) 及び National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (Bethesda, Md.) から入手可能である。シグナル伝達生化学経路関連遺伝子及びポリヌクレオチドの例は、米国特許第8,697,359号明細書の表A～Cに列挙されており、これらは、その全体を参照により本明細書に組み込むものとする。

【0505】

さらに、遺伝子エレメントは、本明細書の他所に記載する通り、ターゲティング部分をコード化することができる。これは、例えば、糖、糖脂質、又は抗体などのタンパク質をコード化するポリヌクレオチドを挿入することによって達成することができる。当業者は、ターゲティング部分の更なる作製方法について周知している。

【0506】

ウイルス配列

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、少なくとも1つのウイルス配列を含む。一部の実施形態では、これらの配列は、一本鎖DNAウイルス、例えば、アネロウイルス (Anellovirus)、ビドナウイルス (Bidnavirus)、サーコウイルス (Circovirus)、ジェミニウイルス (Geminivirus)、ゲノモウイルス (Genomovirus)、イノウイルス (Inovirus)、ミクロウイルス (Microvirus)、ナノウイルス (Nanovirus)、パルボウイルス (Parvovirus)、及びスピラウイルス (Spiravirus) 由来の1つ若しくは複数の配列に対して相同性又は同一性を有する。一部の実施形態では、配列は、二本鎖DNAウイルス、例えば、アデノウイルス (Adenovirus)、アンブラウイルス (Ampullavirus)、アスコウイルス (Ascovirus)、アスファウイルス (Asfarvirus)、バキュロウイルス (Baculovirus)、フセロウイルス (Fusellovirus)、グロブロウイルス (Globulovirus)、グッタウイルス (Guttavirus)、ヒトロサウイルス (Hytrosavirus)、ヘルペスウイルス (Herpesvirus)、イリドウイルス (Iridovirus)、リポスリックスウイルス (Lipothrixvirus)、ニマウイルス (Nimavirus)、及びボックスウイルス (Poxvirus) 由来の1つ若しくは複数の配列に対して相同性又は同一性を有する。一部の実施形態では、配列は、RNAウイルス、例えば、アルファウイルス (Alphavirus)、フロウイルス (Furovirus)、肝炎ウイルス (Hepatitis virus)、ホルデイウイルス (Hordeivirus)、トバモウイルス (Tobamovirus)、トブラウイルス (Tobravirus)、トリコルナウイルス (Tricornavirus)、ルビウイルス (Rubivirus)、ビルナウイルス (Birnavirus)、

シストウイルス (Cystovirus)、パルティティウイルス (Partitivivirus)、及びレオウイルス (Reovirus) 由来の1つ若しくは複数の配列に対して相同性又は同一性を有する。

【0507】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、非病原性ウイルス、例えば、共生ウイルス、例えば、片利共生ウイルス、例えば、ネイティブウイルス、例えば、アネロウイルス (Anellovirus) 由来の1つ又は複数の配列を含んでもよい。近年命名に変更がなされ、ヒト細胞に感染することができる3つのアネロウイルス (Anellovirus) は、アネロウイルス科 (Anelloviridae) ウイルスのアルファトルクウイルス属 (Alphatorquevirus) (TT)、ベータトルクウイルス属 (Betatorquevirus) (TTM)、及びガンマトルクウイルス属 (Gammatorquevirus) (TTMD) に分類された。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、環状マイナスセンスゲノムを有する非包膜一本鎖DNAウイルスであるトルク・テノウイルス (Torque Teno Virus) (TT) に対して相同性又は同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、SENウイルス、センチネルウイルス (Sentinel virus)、TTV様ミニウイルス、及びTTウイルスに対して相同性又は同一性を有する配列を含み得る。TTウイルス遺伝子型6、TTウイルス群、TTV様ウイルスDXL1、及びTTV様ウイルスDXL2をはじめとする様々なタイプのTTウイルスが記載されている。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、より小さなウイルス、トルク・テノ様ミニウイルス (Torque Teno-like Mini Virus) (TTM)、又はトルク・テノ様ミディウイルス (Torque Teno-like Midi Virus) (TTMD) と呼ばれる、TTVとTTMVの中間のゲノムサイズを有する第3のウイルスに対して相同性又は同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、本明細書において、例えば、ヌクレオチド配列のいずれか1つに対して少なくとも約60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%及び99%のヌクレオチド配列同一性を有する非病原性ウイルス由来の1つ若しくは複数の配列又は1配列の断片を含んでもよい。

【0508】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、本明細書、例えば、表41に記載されるヌクレオチド配列のいずれか1つに対して少なくとも約60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、及び99%のヌクレオチド配列同一性を有する実質的に非病原性ウイルス由来の1つ若しくは複数の配列又は配列の断片を含み得る。

【0509】

10

20

30

40

50

【表 9 4】

表 41: アネロウイルス(*Anellovirus*)及びその配列の例。 アクセッション番号及び関連配列情報は、2018 年 12 月 11 日に参照される通り、www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/から得ることができる。

アクセッション#	記述
AB017613.1	トルク・テノウイルス(<i>Torque teno virus</i>) 16 DNA, 完全ゲノム, 単離株:TUS01
AB026345.1	ORF1 及び ORF2 の TT ウイルス遺伝子, 完全 cds, 単離株:TRM1
AB026346.1	ORF1 及び ORF2 の TT ウイルス遺伝子, 完全 cds, 単離株:TK16
AB026347.1	ORF1 及び ORF2 の TT ウイルス遺伝子, 完全 cds, 単離株:TP1-3
AB028669.1	ORF1 及び ORF2 の TT ウイルス遺伝子, 完全ゲノム, 単離株:TJN02
AB030487.1	pORF2a, pORF2b, pORF1 の TT ウイルス遺伝子, 完全 cds, クローン:JaCHCTC19
AB030488.1	pORF2a, pORF2b, pORF1 の TT ウイルス遺伝子, 完全 cds, クローン:JaBD89
AB030489.1	pORF2a, pORF2b, pORF1 の TT ウイルス遺伝子, 完全 cds, クローン:JaBD98
AB038340.1	ORF2s, ORF1, ORF3 の TT ウイルス遺伝子, 完全 cds
AB038622.1	ORF2, ORF1, ORF3 の TT ウイルス遺伝子, 完全 cds, 単離株:TTVyon-LC011
AB038623.1	ORF2, ORF1, ORF3 の TT ウイルス遺伝子, 完全 cds, 単離株:TTVyon-KC186
AB038624.1	ORF2, ORF1, ORF3 の TT ウイルス遺伝子, 完全 cds, 単離株:TTVyon-KC197
AB041821.1	VP1 の TT ウイルス mRNA, 完全 cds
AB050448.1	ORF1, ORF2, ORF3, ORF4 のトルク・テノウイルス(<i>Torque teno virus</i>)遺伝子, 完全 cds, 単離株:TYM9
AB060592.1	ORF1, ORF2, ORF3, ORF4 のトルク・テノウイルス(<i>Torque teno virus</i>)遺伝子, クローン:SAa-39
AB060593.1	ORF1, ORF2, ORF3, ORF4 のトルク・テノウイルス(<i>Torque teno virus</i>)遺伝子, 完全 cds, クローン:SAa-38
AB060595.1	ORF1, ORF2, ORF3 の TT ウイルス遺伝子, ORF4, 完全 cds, クローン:SAj-30
AB060596.1	ORF1, ORF2, ORF3, ORF4 の TT ウイルス遺伝子, 完全 cds, クローン:SAf-09
AB064596.1	トルク・テノウイルス(<i>Torque teno virus</i>) DNA, 完全ゲノム, 単離株:CT25F
AB064597.1	トルク・テノウイルス(<i>Torque teno virus</i>) DNA, 完全ゲノム, 単離株:CT30F
AB064599.1	トルク・テノウイルス(<i>Torque teno virus</i>) DNA, 完全ゲノム, 単離株:JT03F
AB064600.1	トルク・テノウイルス(<i>Torque teno virus</i>) DNA, 完全ゲノム, 単離株:JT05F
AB064601.1	トルク・テノウイルス(<i>Torque teno virus</i>) DNA, 完全ゲノム, 単離株:JT14F

【 0 5 1 0 】

10

20

30

40

50

【表 9 5】

AB064602.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) DNA, 完全ゲノム, 単離株:JT19F
AB064603.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) DNA, 完全ゲノム, 単離株:JT41F
AB064604.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) DNA, 完全ゲノム, 単離株:CT39F
AB064606.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) DNA, 完全ゲノム, 単離株:JT33F
AB290918.1	トルク・テノ・ミディウイルス(Torque teno midi virus) 1 DNA, 完全ゲノム, 単離株:MD1-073
AF079173.1	TT ウイルス株 TTVCHN1, 完全ゲノム
AF116842.1	TT ウイルス株 BDH1, 完全ゲノム
AF122914.3	TT ウイルス 単離株 JA20, 完全ゲノム
AF122917.1	TT ウイルス 単離株 JA4, 完全ゲノム
AF122919.1	TT ウイルス 単離株 JA10 不明遺伝子
AF129887.1	TT ウイルス TTVCHN2, 完全ゲノム
AF247137.1	TT ウイルス 単離株 TUPB, 完全ゲノム
AF254410.1	TT ウイルス ORF2 タンパク質及び ORF1 タンパク質遺伝子, 完全 cds
AF298585.1	TT ウイルス Polish 単離株 P/1C1, 完全ゲノム
AF315076.1	TTV 様ウイルス DXL1 不明遺伝子
AF315077.1	TTV 様ウイルス DXL2 不明遺伝子
AF345521.1	TT ウイルス 単離株 TCHN-G1 Orf2 及び Orf1 遺伝子, 完全 cds
AF345522.1	TT ウイルス 単離株 TCHN-E Orf2 及び Orf1 遺伝子, 完全 cds
AF345525.1	TT ウイルス 単離株 TCHN-D2 Orf2 及び Orf1 遺伝子, 完全 cds
AF345527.1	TT ウイルス 単離株 TCHN-C2 Orf2 及び Orf1 遺伝子, 完全 cds
AF345528.1	TT ウイルス 単離株 TCHN-F Orf2 及び Orf1 遺伝子, 完全 cds
AF345529.1	TT ウイルス 単離株 TCHN-G2 Orf2 及び Orf1 遺伝子, 完全 cds
AF371370.1	TT ウイルス ORF1, ORF3, 及び ORF2 遺伝子, 完全 cds
AJ620212.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth6, 完全ゲノム
AJ620213.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth10, 完全ゲノム
AJ620214.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth11g2, 完全ゲノム
AJ620215.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth18, 完全ゲノム
AJ620216.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth20, 完全ゲノム
AJ620217.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth21, 完全ゲノム
AJ620218.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth3, 完全ゲノム
AJ620219.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth9, 完全ゲノム
AJ620220.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth16, 完全ゲノム
AJ620221.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth17, 完全ゲノム

【 0 5 1 1 】

10

20

30

40

50

【表 9 6】

AJ620222.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth25, 完全ゲノム
AJ620223.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth26, 完全ゲノム
AJ620224.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth27, 完全ゲノム
AJ620225.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth31, 完全ゲノム
AJ620226.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth4, 完全ゲノム
AJ620227.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth5, 完全ゲノム
AJ620228.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth14, 完全ゲノム
AJ620229.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth29, 完全ゲノム
AJ620230.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth7, 完全ゲノム
AJ620231.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth8, 完全ゲノム
AJ620232.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth13, 完全ゲノム
AJ620233.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth19, 完全ゲノム
AJ620234.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth22g4, 完全ゲノム
AJ620235.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus), 単離株 tth23, 完全ゲノム
AM711976.1	TT ウイルス sle1957 完全ゲノム
AM712003.1	TT ウイルス sle1931 完全ゲノム
AM712004.1	TT ウイルス sle1932 完全ゲノム
AM712030.1	TT ウイルス sle2057 完全ゲノム
AM712031.1	TT ウイルス sle2058 完全ゲノム
AM712032.1	TT ウイルス sle2072 完全ゲノム
AM712033.1	TT ウイルス sle2061 完全ゲノム
AM712034.1	TT ウイルス sle2065 完全ゲノム
AY026465.1	TT ウイルス 単離株 L01 ORF2 及び ORF1 遺伝子, 完全 cds
AY026466.1	TT ウイルス 単離株 L02 ORF2 及び ORF1 遺伝子, 完全 cds
DQ003341.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) クローン P2-9-02 ORF2 (ORF2), ORF1A (ORF1A), 及び ORF1B (ORF1B)遺伝子, 完全 cds
DQ003342.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) クローン P2-9-07 ORF2 (ORF2), ORF1A (ORF1A), 及び ORF1B (ORF1B)遺伝子, 完全 cds
DQ003343.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) クローン P2-9-08 ORF2 (ORF2), ORF1A (ORF1A), 及び ORF1B (ORF1B)遺伝子, 完全 cds
DQ003344.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) クローン P2-9-16 ORF2 (ORF2), ORF1A (ORF1A), 及び ORF1B (ORF1B)遺伝子, 完全 cds

【 0 5 1 2 】

10

20

30

40

50

【表 9 7】

DQ186994.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)クローン P601 ORF2 (ORF2)及び ORF1 (ORF1)遺伝子, 完全 cds
DQ186995.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)クローン P605 ORF2 (ORF2)及び ORF1 (ORF1)遺伝子, 完全 cds
DQ186996.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)クローン BM1A-02 ORF2 (ORF2)及び ORF1 (ORF1)遺伝子, 完全 cds
DQ186997.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)クローン BM1A-09 ORF2 (ORF2)及び ORF1 (ORF1)遺伝子, 完全 cds
DQ186998.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)クローン BM1A-13 ORF2 (ORF2)及び ORF1 (ORF1)遺伝子, 完全 cds
DQ186999.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)クローン BM1B-05 ORF2 (ORF2)及び ORF1 (ORF1)遺伝子, 完全 cds
DQ187000.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)クローン BM1B-07 ORF2 (ORF2)及び ORF1 (ORF1)遺伝子, 完全 cds
DQ187001.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)クローン BM1B-11 ORF2 (ORF2)及び ORF1 (ORF1)遺伝子, 完全 cds
DQ187002.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)クローン BM1B-14 ORF2 (ORF2)及び ORF1 (ORF1)遺伝子, 完全 cds
DQ187003.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)クローン BM1B-08 ORF2 (ORF2)遺伝子, 完全 cds; 及び 非機能性 ORF1 (ORF1)遺伝子, 完全配列
DQ187004.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)クローン BM1C-16 ORF2 (ORF2)及び ORF1 (ORF1)遺伝子, 完全 cds
DQ187005.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)クローン BM1C-10 ORF2 (ORF2)及び ORF1 (ORF1)遺伝子, 完全 cds
DQ187007.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)クローン BM2C-25 ORF2 (ORF2)遺伝子, 完全 cds; 及び 非機能性 ORF1 (ORF1)遺伝子, 完全配列
DQ361268.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)単離株 ViPi04 ORF1 遺伝子, 完全 cds
EF538879.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)単離株 CSC5 ORF2 及び ORF1 遺伝子, 完全 cds
EU305675.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)単離株 LTT7 ORF1 遺伝子, 完全 cds
EU305676.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)単離株 LTT10 ORF1 遺伝子, 完全 cds
EU889253.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)単離株 ViPi08 非機能性 ORF1 遺伝子, 完全配列
FJ392105.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)単離株 TW53A25 ORF2 遺伝子, 部分 cds; 及び ORF1 遺伝子, 完全 cds

【 0 5 1 3 】

10

20

30

40

50

【表 9 8】

FJ392107.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)単離株 TW53A27 ORF2 遺伝子, 部分 cds; 及び ORF1 遺伝子, 完全 cds
FJ392108.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)単離株 TW53A29 ORF2 遺伝子, 部分 cds; 及び ORF1 遺伝子, 完全 cds
FJ392111.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)単離株 TW53A35 ORF2 遺伝子, 部分 cds; 及び ORF1 遺伝子, 完全 cds
FJ392112.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)単離株 TW53A39 ORF2 遺伝子, 部分 cds; 及び ORF1 遺伝子, 完全 cds
FJ392113.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)単離株 TW53A26 ORF2 遺伝子, 完全 cds; 及び 非機能性 ORF1 遺伝子, 完全配列
FJ392114.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)単離株 TW53A30 ORF2 及び ORF1 遺伝子, 完全 cds
FJ392115.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)単離株 TW53A31 ORF2 及び ORF1 遺伝子, 完全 cds
FJ392117.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)単離株 TW53A37 ORF1 遺伝子, 完全 cds
FJ426280.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) strain SIA109, 完全ゲノム
FR751500.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)完全ゲノム, 単離株 TTV-HD23a (rheu215)
GU797360.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus)クローン 8-17, 完全ゲノム
HC742700.1	国際公開第 2010044889 号パンフレットからの配列 7
HC742710.1	国際公開第 2010044889 号パンフレットからの配列 17
JX134044.1	TTV 様ミニウイルス 単離株 TTMV_LY1, 完全ゲノム
JX134045.1	TTV 様ミニウイルス 単離株 TTMV_LY2, 完全ゲノム
KU243129.1	TTV 様ミニウイルス 単離株 TTMV-204, 完全ゲノム
KY856742.1	TTV 様ミニウイルス 単離株 zhenjiang, 完全ゲノム
LC381845.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) Human/Japan/KS025/2016 DNA, 完全ゲノム
MH648892.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctdc048, 完全ゲノム
MH648893.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctdh007, 完全ゲノム
MH648897.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctc038, 完全ゲノム
MH648900.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctf019, 完全ゲノム
MH648901.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbb022, 完全ゲノム
MH648907.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctf040, 完全ゲノム
MH648911.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 cthi018, 完全ゲノム
MH648912.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctea38, 完全ゲノム
MH648913.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbg006, 完全ゲノム
MH648916.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbg020, 完全ゲノム

【 0 5 1 4 】

10

20

30

40

50

【表 9 9】

MH648925.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctei019, 完全ゲノム
MH648932.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctid031, 完全ゲノム
MH648946.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctdb017, 完全ゲノム
MH648957.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctch017, 完全ゲノム
MH648958.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbh011, 完全ゲノム
MH648959.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbc020, 完全ゲノム
MH648962.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctif015, 完全ゲノム
MH648966.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctei055, 完全ゲノム
MH648969.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctjg000, 完全ゲノム
MH648976.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcj064, 完全ゲノム
MH648977.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbj022, 完全ゲノム
MH648982.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbf014, 完全ゲノム
MH648983.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbd027, 完全ゲノム
MH648985.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctch016, 完全ゲノム
MH648986.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbd020, 完全ゲノム
MH648989.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctga035, 完全ゲノム
MH648990.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 cthf001, 完全ゲノム
MH648995.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbd067, 完全ゲノム
MH648997.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctce026, 完全ゲノム
MH648999.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctfb058, 完全ゲノム
MH649002.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctjj046, 完全ゲノム
MH649006.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcf030, 完全ゲノム
MH649008.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbg025, 完全ゲノム
MH649011.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbh052, 完全ゲノム
MH649014.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctba003, 完全ゲノム
MH649017.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbb016, 完全ゲノム
MH649022.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctch023, 完全ゲノム
MH649023.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbd051, 完全ゲノム
MH649028.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbf9, 完全ゲノム
MH649038.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbi030, 完全ゲノム
MH649039.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctca057, 完全ゲノム
MH649040.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctch033, 完全ゲノム
MH649042.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctjd005, 完全ゲノム

10

20

30

40

【 0 5 1 5 】

【表 100】

MH649045.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctdc021, 完全ゲノム
MH649051.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctdg044, 完全ゲノム
MH649056.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcc062, 完全ゲノム
MH649061.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctid009, 完全ゲノム
MH649062.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctdc018, 完全ゲノム
MH649063.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbf012, 完全ゲノム
MH649068.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcc066, 完全ゲノム
MH649070.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctda011, 完全ゲノム
MH649077.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbh034, 完全ゲノム
MH649083.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctdg028, 完全ゲノム
MH649084.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctii061, 完全ゲノム
MH649085.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 cteh021, 完全ゲノム
MH649092.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbg012, 完全ゲノム
MH649101.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctif053, 完全ゲノム
MH649104.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctei657, 完全ゲノム
MH649106.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctca015, 完全ゲノム
MH649114.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbf050, 完全ゲノム
MH649122.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctdc002, 完全ゲノム
MH649125.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbb15, 完全ゲノム
MH649127.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctba013, 完全ゲノム
MH649137.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbb000, 完全ゲノム
MH649141.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbc019, 完全ゲノム
MH649142.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctid026, 完全ゲノム
MH649144.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctff004, 完全ゲノム
MH649152.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcl13, 完全ゲノム
MH649156.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctci006, 完全ゲノム
MH649157.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbd025, 完全ゲノム
MH649158.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbf005, 完全ゲノム
MH649161.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcf045, 完全ゲノム
MH649165.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcc29, 完全ゲノム
MH649169.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctib021, 完全ゲノム
MH649172.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbh857, 完全ゲノム
MH649174.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbj049, 完全ゲノム

10

20

30

40

【0516】

50

【表 101】

MH649178.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctfc006, 完全ゲノム
MH649179.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbe000, 完全ゲノム
MH649183.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbb031, 完全ゲノム
MH649186.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcb33, 完全ゲノム
MH649189.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcc12, 完全ゲノム
MH649196.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctc060, 完全ゲノム
MH649199.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbb017, 完全ゲノム
MH649203.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 cthc018, 完全ゲノム
MH649204.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbj003, 完全ゲノム
MH649206.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbg010, 完全ゲノム
MH649208.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctid008, 完全ゲノム
MH649209.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbg056, 完全ゲノム
MH649210.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctda001, 完全ゲノム
MH649212.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctc004, 完全ゲノム
MH649217.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbe029, 完全ゲノム
MH649223.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctc016, 完全ゲノム
MH649224.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctce11, 完全ゲノム
MH649228.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctc013, 完全ゲノム
MH649229.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcb036, 完全ゲノム
MH649241.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctda027, 完全ゲノム
MH649242.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbf003, 完全ゲノム
MH649254.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctjb007, 完全ゲノム
MH649255.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbb023, 完全ゲノム
MH649256.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctca002, 完全ゲノム
MH649258.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcg010, 完全ゲノム
MH649263.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctgh3, 完全ゲノム
MK012439.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbe000, 完全ゲノム
MK012440.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctjd008, 完全ゲノム
MK012448.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctch012, 完全ゲノム
MK012457.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctda009, 完全ゲノム
MK012458.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcd015, 完全ゲノム
MK012485.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctf011, 完全ゲノム
MK012489.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctba003, 完全ゲノム

10

20

30

40

【0517】

【表 102】

MK012492.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctbb005, 完全ゲノム
MK012493.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcj014, 完全ゲノム
MK012500.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcb001, 完全ゲノム
MK012504.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcj010, 完全ゲノム
MK012516.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.)単離株 ctcf003, 完全ゲノム
NC 038336.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) 5 単離株 TCHN-C1 Orf2 及び Orf1 遺伝子, 完全 cds
NC 038338.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) 11 単離株 TCHN-D1 Orf2 及び Orf1 遺伝子, 完全 cds
NC 038339.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) 13 単離株 TCHN-A Orf2 及び Orf1 遺伝子, 完全 cds
NC 038340.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) 20 ORF4, ORF3, ORF2, ORF1 遺伝子, 完全 cds, クローン:SAa-10
NC 038341.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) 21 単離株 TCHN-B ORF2 及び ORF1 遺伝子, 完全 cds
NC 038342.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) 23 ORF2, ORF1 遺伝子, 完全 cds, 単離株: s-TTV CH65-2
NC 038343.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) 24 ORF4, ORF3, ORF2, ORF1 遺伝子, 完全 cds, クローン:SAa-01
NC 038344.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) 29 ORF2, ORF1, ORF3 遺伝子, 完全 cds, 単離株:TTVyon-KC009
NC 038345.1	トルク・テノ・ミニウイルス(Torque teno mini virus) 10 単離株 LIL-y1 ORF2, ORF1, ORF3, 及び ORF4 遺伝子, 完全 cds
NC 038346.1	トルク・テノ・ミニウイルス(Torque teno mini virus) 11 単離株 LIL-y2 ORF2, ORF1, 及び ORF3 遺伝子, 完全 cds
NC 038347.1	トルク・テノ・ミニウイルス(Torque teno mini virus) 12 単離株 LIL-y3 ORF2, ORF1, ORF3, 及び ORF4 遺伝子, 完全 cds
NC 038350.1	トルク・テノ・ミディウイルス(Torque teno midi virus) 3 単離株 2PoSMA ORF2 及び ORF1 遺伝子, 完全 cds
NC 038351.1	トルク・テノ・ミディウイルス(Torque teno midi virus) 4 単離株 6PoSMA ORF2, ORF1, 及び ORF3 遺伝子, 完全 cds
NC 038352.1	トルク・テノ・ミディウイルス(Torque teno midi virus) 5 DNA, 完全ゲノム, 単離株:MDJHem2
NC 038353.1	トルク・テノ・ミディウイルス(Torque teno midi virus) 6 DNA, 完全ゲノム, 単離株:MDJHem3-1
NC 038354.1	トルク・テノ・ミディウイルス(Torque teno midi virus) 7 DNA, 完全ゲノム, 単離株:MDJHem3-2
NC 038355.1	トルク・テノ・ミディウイルス(Torque teno midi virus) 8 DNA, 完全ゲノム, 単離株:MDJN1
NC 038356.1	トルク・テノ・ミディウイルス(Torque teno midi virus) 9 DNA, 完全ゲノム, 単離株:MDJN2
NC 038357.1	トルク・テノ・ミディウイルス(Torque teno midi virus) 10 DNA, 完全ゲノム, 単離株:MDJN14
NC 038358.1	トルク・テノ・ミディウイルス(Torque teno midi virus) 11 DNA, 完全ゲノム, 単離株:MDJN47
NC 038359.1	トルク・テノ・ミディウイルス(Torque teno midi virus) 12 DNA, 完全ゲノム, 単離株:MDJN51

【0518】

10

20

30

40

50

【表 103】

NC_038360.1	トルク・テノ・ミディウイルス(Torque teno midi virus) 13 DNA, 完全ゲノム, 単離株:MDJN69
NC_038361.1	トルク・テノ・ミディウイルス(Torque teno midi virus) 14 DNA, 完全ゲノム, 単離株:MDJN97
NC_038362.1	トルク・テノ・ミディウイルス(Torque teno midi virus) 15 DNA, 完全ゲノム, 単離株:Pt-TTMDV210

10

【0519】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、1つ又は複数の非アネロウイルス (Aneeloviruses)、例えば、アデノウイルス (Adenovirus)、ヘルペスウイルス (Herpesvirus)、ポックスウイルス (Poxvirus)、ワクシニアウイルス (Vaccinia virus)、SV40、パピローマウイルス (papilloma virus)、レトロウイルス (retrovirus) などのRNAウイルス、例えば、レンチウイルス (lenti virus)、一本鎖RNAウイルス、例えば、肝炎ウイルス (Hepatitis virus)、又は二本鎖DNAウイルス、例えば、ロタウイルス (rotavirus) 由来の1つ若しくは複数の配列に対して相同性又は同一性を有する1つ又は複数の配列を含む。一部の実施形態では、組換えレトロウイルス (retrovirus) は、欠損していることから、感染性粒子を産生するために補助を提供することができる。こうした補助は、例えば、LTR内で調節配列の制御下、レトロウイルス (retrovirus) の構造遺伝子全てをコード化するプラスミドを含むヘルパー細胞を用いることによって提供することができる。本明細書に記載のアネロベクターを複製するために好適な細胞株としては、当技術分野で公知の細胞株、例えば、A549があり、これは、本明細書に記載されるように修飾することができる。前記遺伝子エレメントは、さらに、所望の遺伝子エレメントを同定することができるように、選択マーカをコード化する遺伝子も含み得る。

20

【0520】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、配列が、最初のヌクレオチド配列によりコード化されたポリペプチドに対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%同一であるか、又はそうでなければ、本発明を実施する上で有用である限り、非サイレント突然変異、例えば、コード化されたポリペプチドにアミノ酸変化をもたらす塩基置換、欠失、又は付加を含む。これに関して、いくつかの保存的アミノ酸置換を実施することができ、これらは一般に、タンパク質機能全体を、例えば、陽荷電アミノ酸（及びその逆）、すなわち、リシン、アルギニン及びヒスチジンに関して；陰荷電アミノ酸（及びその逆）、すなわち、アスパラギン酸及びグルタミン酸に関して；並びにいくつかの中性荷電アミノ酸群（及びあらゆるケース、またその逆）、すなわち（1）アラニン及びセリン、（2）アスパラギン、グルタミン、及びヒスチジン、（3）システイン及びセリン、（4）グリシン及びプロリン、（5）イソロイシン、ロイシン及びバリン、（6）メチオニン、ロイシン及びイソロイシン、（7）フェニルアラニン、メチオニン、ロイシン、及びチロシン、（8）セリン及びトレオニン、（9）トリプトファン及びチロシン、（10）並びに例えば、チロシン、トリプトファン及びフェニルアラニンに関して、不活性化しないことが認められている。アミノ酸は、物理的特性並びに二次及び三次タンパク質構造への寄与に従って分類することができる。保存的置換は、類似の特性を有する別のアミノ酸による1アミノ酸の置換として、当技術分野では認識されている。

30

40

【0521】

同一の若しくは指定パーセンテージのヌクレオチド、又は同一の（比較ウィンドウ又は

50

指定領域にわたる最大一致について比較し、アラインメントした場合、指定領域にわたって約60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくはそれ以上の同一性）アミノ酸残基を有する2つ以上の核酸又はポリペプチド配列の同一性は、以下に記載するデフォルトパラメータを有するBLAST若しくはBLAST 2.0配列比較アルゴリズムを用いて、又は手動アラインメント及び視覚検査によって測定することができる（例えば、NCBIウェブサイト www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/などを参照）。同一性はまた、試験配列の補体を指すこともあり、或いは補体に適用され得る。同一性はまた、欠失及び／又は付加を有する配列、並びに置換を有する配列も含む。本明細書に記載するように、アルゴリズムはギャップなどを考慮する。同一性は、少なくとも約10アミノ酸又はヌクレオチド長、約15アミノ酸又はヌクレオチド長、約20アミノ酸又はヌクレオチド長、約25アミノ酸又はヌクレオチド長、約30アミノ酸又はヌクレオチド長、約35アミノ酸又はヌクレオチド長、約40アミノ酸又はヌクレオチド長、約45アミノ酸又はヌクレオチド長、約50アミノ酸又はヌクレオチド長、若しくはそれ以上の領域にわたって存在し得る。遺伝子コードは、縮重であることから、相同性ヌクレオチド配列は、任意の数のサイレント塩基変更、すなわち、やはり同じアミノ酸をコード化するヌクレオチド置換を含むことができる。

10

【0522】

タンパク質性外層

一部の実施形態では、アネロベクター、例えば、合成アネロベクターは、遺伝子エレメントを閉じ込めるタンパク質性外層を含む。タンパク質性外層は、哺乳動物において免疫応答を誘発することができない実質的に望ましくない非病原性の外部タンパク質を含むことができる。アネロベクターのタンパク質性外層は、典型的に、実質的に非病原性のタンパク質を含み、これは、自己集合して、タンパク質性外層を構成する二十面体を形成し得る。

20

【0523】

一部の実施形態では、タンパク質性外層タンパク質は、アネロベクターの遺伝子エレメントの配列によりコード化される（例えば、遺伝子エレメントとシスである）。他の実施形態では、タンパク質性外層タンパク質は、アネロベクターの遺伝子エレメントとは別の核酸配列によりコード化される（例えば、遺伝子エレメントとトランスである）。

30

【0524】

一部の実施形態では、タンパク質、例えば、実質的に非病原性のタンパク質及び／又はタンパク質性外層タンパク質は、1つ又は複数、例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、若しくはそれ以上のグリコシル化アミノ酸を含む。

【0525】

一部の実施形態では、タンパク質、例えば、実質的に非病原性のタンパク質及び／又はタンパク質性外層タンパク質は、少なくとも1つの親水性DNA結合領域、アルギニンリッチ領域、トレオニンリッチ領域、グルタミンリッチ領域、N末端ポリアルギニン配列、可変領域、C末端ポリグルタミン／グルタミン酸配列、及び1つ又は複数のジスルフィド架橋を含む。

【0526】

一部の実施形態では、タンパク質は、本明細書に記載されるキャプシドタンパク質をコード化するヌクレオチド配列、例えば、表1～18、A1～A12、B1～B5、C1～C5、D1～D10、若しくは20～37のいずれかに列挙されるアネロウイルス（Anellovirus）ORF1分子及び／又はキャプシドタンパク質配列のいずれか1つによりコード化されるタンパク質に対して少なくとも約60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する配列を有する。一部の実施形態では、タンパク質又はキャプシドタンパク質の機能性断片は、本明細書に記載されるヌクレオチド配列、例えば、本明細書に列挙されるアネロウイルス（Anellovirus）キャプシド配列又はキャプシドタンパク質配列のいずれか1つに対して少なくとも約60%、70%、80%、85%、

40

50

90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有するヌクレオチド配列によりコード化される。

【0527】

一部の実施形態では、アネロベクターは、キャプシドタンパク質若しくはキャプシドタンパク質の機能性断片をコード化するヌクレオチド配列、又は本明細書に記載されるようなアネロウイルス (Anellovirus) ORF1分子に対して少なくとも約60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する配列を含む。

【0528】

一部の実施形態では、配列同一性がより低いアミノ酸の範囲は、本明細書に記載される特性の1つ又は複数、及び細胞／組織／種特異性 (例えば、向性) の相違をもたらし得る。

10

【0529】

一部の実施形態では、アネロベクターは、タンパク性外層中に脂質が存在しない。一部の実施形態では、アネロベクターには、脂質二重層、例えば、ウイルスエンベロープが存在しない。一部の実施形態では、アネロベクターの内部は、タンパク性外層によって完全に (例えば、100%) 覆われている。一部の実施形態では、アネロベクターの内部は、外部タンパク質によって100%未満、例えば、95%、90%、85%、80%、70%、60%、50%以下の被覆率で覆われている。一部の実施形態では、タンパク性外層は、遺伝子エレメントが、アネロベクター内に保持されている限り、間隙又は不連続 (例えば、水、イオン、ペプチド、又は小分子に対する透過性を可能にするもの) を含む。

20

【0530】

一部の実施形態では、タンパク性外層は、宿主細胞内への遺伝子エレメントの進入を媒介するために、宿主細胞を特異的に認識及び／又はそれに結合する1つ若しくは複数のタンパク質又はポリペプチド、例えば、相補的タンパク質又はポリペプチドを含む。

【0531】

一部の実施形態では、タンパク性外層は、例えば、本明細書に記載されるような、例えばORF1分子の、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1アルギニンリッチ領域、ゼリーロール領域、N22ドメイン、超可変領域、及び／又はC末端ドメインの1つ又は複数を含む。一部の実施形態では、タンパク性外層は、以下：1つ若しくは複数のグリコシル化タンパク質、親水性DNA-結合領域、アルギニンリッチ領域、トレオニンリッチ領域、グルタミンリッチ領域、N-末端ポリアルギニン配列、可変領域、C-末端ポリグルタミン／グルタミン酸配列、及び1つ若しくは複数のジスルフィド架橋のうち1つ又は複数を含む。例えば、タンパク性外層は、例えば、本明細書に記載のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1核酸によりコード化されるタンパク質を含む。

30

【0532】

一部の実施形態では、タンパク性外層は、以下の特徴：正二十面体対称、1つ若しくは複数の宿主細胞と相互作用して、宿主細胞内への進入を媒介する分子の認識及び／又はそれとの結合、脂質分子の欠失、炭水化物の欠失、pH及び温度不安定性、界面活性剤抵抗性、及び宿主細胞において実質的に非免疫原性若しくは実質的に非病原性であることのうち1つ又は複数を含む。

40

【0533】

III. 使用方法

本明細書に記載のアネロベクター及びアネロベクターを含む組成物は、例えば、それを必要とする被験者 (例えば、哺乳動物被験者、例えば、ヒト被験者) の疾患、障害、又は状態を治療する方法に用いることができる。本明細書に記載の医薬組成物の投与は、例えば、非経口 (静脈内、腫瘍内、腹腔内、筋肉内、体腔内、及び皮下を含む) 投与により実施してよい。アネロベクターは、単独で投与してもよいし、又は医薬組成物として製剤化してもよい。

50

【0534】

アネロベクターは、単位用量非経口組成物などの単位用量組成物の形態で投与してもよい。こうした組成物は、一般に、混合により調製した後、非経口投与のために好適に適合させることができる。こうした組成物は、例えば、注射液及び注入液若しくは懸濁液又は座薬又はエアゾールの形態であってもよい。

【0535】

一部の実施形態では、アネロベクター又は例えば、本明細書に記載する通り、これを含む組成物の投与により、例えば、被験者の標的細胞に対して、アネロベクターに含まれる遺伝子エレメントの送達を達成することができる。

【0536】

例えば、エフェクター（内在性若しくは外性エフェクター）を含む、本明細書に記載のアネロベクター又はその組成物は、細胞、組織、又は被験者にエフェクターを送達するために使用することができる。一部の実施形態では、アネロベクター又はその組成物を用いて、骨髄、血液、心臓、胃腸又は皮膚にエフェクターを送達する。本明細書に記載のアネロベクター組成物の投与によるエフェクターの送達によって、細胞、組織、又は被験者におけるノンコーディングRNA又はポリペプチドの発現レベルを調節（例えば、増大若しくは低減）することができる。この様式での発現レベルの調節は、エフェクターが送達される細胞の機能活性の改変をもたらし得る。一部の実施形態では、調節される機能活性は、天然の酵素、構造、又は調節活性であってよい。

【0537】

一部の実施形態では、アネロベクター、又はそのコピーは、細胞内への送達から24時間（例えば、1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週間、2週間、3週間、4週間、30日、又は1ヵ月）後に細胞内で検出可能である。複数の実施形態では、アネロベクター又はその組成物は、標的細胞に対する作用を媒介し、その作用は、少なくとも1、2、3、4、5、6、若しくは7日、2、3、若しくは4週間、又は1、2、3、6、若しくは12ヵ月間持続する。一部の実施形態（例えば、アネロベクター又はその組成物が、外性タンパク質をコード化する遺伝子エレメントを含む）では、作用は、1、2、3、4、5、6、若しくは7日、2、3、若しくは4週間、又は1、2、3、6、若しくは12ヵ月間未満持続する。

【0538】

本明細書に記載のアネロベクター、又はアネロベクターを含む組成物を用いて治療することができる疾患、障害、及び状態の例として、限定はしないが、以下：免疫障害、インターフェロン症（例えば、I型インターフェロン症）、感染症、炎症性障害、自己免疫疾患、癌（例えば、固形腫瘍、例えば肺癌、非小細胞肺癌、例えば、mIR-625、例えば、カスパーゼ-3に対して応答性の遺伝子を発現する腫瘍）、及び胃腸障害が挙げられる。一部の実施形態では、アネロベクターは、アネロベクターを接触させた細胞の活性又は機能を調節（例えば、増大若しくは低減）する。一部の実施形態では、アネロベクターは、アネロベクターを接触させた細胞中の分子（例えば、核酸若しくはタンパク質）のレベル又は活性を調節（例えば、増大若しくは低減）する。一部の実施形態では、アネロベクターは、アネロベクターを接触させた細胞、例えば、癌細胞の生存能を例えば、少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、又はそれ以上低減する。一部の実施形態では、アネロベクターは、エフェクター、例えば、miRNA、例えば、miR-625を含み、これは、アネロベクターを接触させた細胞、例えば、癌細胞の生存能を例えば、少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、又はそれ以上低減する。一部の実施形態では、アネロベクターは、アネロベクターを接触させた細胞、例えば、癌細胞のアポトーシスを、例えば、カスパーゼ-3活性を増大することにより、例えば、少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、又はそれ以上増大する。一部の実施形態では、アネロベクターは、エフェクター、例えば、miRNA、例えば、miR-625を含み、これは

、アネロベクターを接触させた細胞、例えば、癌細胞のアポトーシスを例えば、カスパーゼー3活性を増大することにより、例えば、少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、又はそれ以上増大する。

【0539】

IV. 投与／送達

組成物（例えば、本明細書に記載のアネロベクターを含む医薬組成物）は、薬学的に許容される賦形剤を含むように、製剤化してもよい。医薬組成物は、任意選択で、1つ又は複数の追加活性物質、例えば、治療及び／又は予防に有効な物質を含んでもよい。本発明の医薬組成物は、滅菌及び／又はパイロジェンフリーであってもよい。医薬剤の製剤化及び／又は製造に関する一般指針は、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2005（参照により本明細書に組み込む）に見出すことができる。

10

【0540】

本明細書に提供される医薬組成物の説明は、主として、ヒトへの投与に好適な医薬組成物に関するが、当業者には、こうした組成物が、一般に、任意の他の動物、例えば、ヒト以外の動物、例えば、ヒト以外の哺乳動物への投与に好適であることは理解されよう。組成物を様々な動物への投与に好適にする目的での、ヒトへの投与に好適な医薬組成物の修飾は十分に理解されており、通常の技能を有する獣医薬理学者は、あったとしても通常の実験を行うだけで、こうした修飾を設計及び／又は実施することができる。医薬組成物の投与が考慮される被験者として、限定はされないが、ヒト及び／又は他の霊長類；商業関連の哺乳動物、例えば、畜牛、ブタ、ウマ、ヒツジ、ネコ、イヌ、マウス、及び／若しくはラットを含む哺乳動物；並びに／又は商業関連のトリ、例えば、家禽、ニワトリ、アヒル、ガチョウ、及び／若しくはシチメンチョウを含むトリが挙げられる。

20

【0541】

本明細書に記載の医薬組成物は、薬理学の分野で公知の、又は以後開発される任意の方法によって調製することができる。一般に、こうした調製方法は、活性成分を賦形剤及び／又は1つ若しくは複数の他の補助成分と結合させるステップ、並びに必要な場合及び／又は望ましい場合、次に、生成物を分割、造形及び／又は包装するステップを含む。

30

【0542】

一態様では、本発明は、アネロベクターを被験者に送達する方法を特徴とする。この方法は、本明細書に記載のアネロベクターを含む医薬組成物を、被験者に送達するステップを含む。一部の実施形態では、投与されたアネロベクターは、被験者において複製する（例えば、被験者のウイルス集団の一部となる）。

【0543】

医薬組成物は、野生型若しくはネイティブウイルスエレメント及び／又は修飾ウイルスエレメントを含み得る。アネロベクターは、配列（例えば、核酸配列若しくはそのアミノ酸配列をコード化する核酸配列）、又は少なくとも約60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、及び99%のヌクレオチド配列同一性を有する配列と相補的な配列のうちの1つ又は複数を含み得る。アネロベクターは、1つ又は複数のアネロウイルス（Ane ll o v i r u s）配列（例えば、アネロウイルス（Ane ll o v i r u s）ORF1核酸配列）に対して少なくとも約60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、及び99%の配列同一性を有する核酸配列を含む核酸分子を含み得る。アネロベクターは、アネロウイルス（Ane ll o v i r u s）アミノ酸配列（例えば、アネロウイルス（Ane ll o v i r u s）ORF1分子のアミノ酸配列）に対して少なくとも約60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、及び99%の配列同一性を有するアミノ酸配列をコード化する核酸分子を含み得る。アネロベクターは、アネロウイルス（Ane ll o v i r u s）アミノ酸配列（例えば、アネ

40

50

ロウイルス (Anellovirus) ORF1分子のアミノ酸配列) に対して少なくとも約60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、及び99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドを含み得る。

【0544】

一部の実施形態では、アネロベクターは、内在性遺伝子及びタンパク質発現を、参照基準、例えば、健常な対照と比較して、少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、若しくはそれ以上増大する（刺激する）上で十分である。いくつかの実施形態では、アネロベクターは、内在性遺伝子及びタンパク質発現を、参照基準、例えば、健常な対照と比較して、少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、若しくはそれ以上低減する（阻害する）上で十分である。

10

【0545】

一部の実施形態では、アネロベクターは、宿主若しくは宿主細胞において1つ又は複数のウイルス特性、例えば、向性、感染力、免疫抑制／活性化を、参照基準、例えば、健常な対照と比較して、少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、若しくはそれ以上阻害／増強する。

【0546】

一部の実施形態では、ウイルス遺伝子情報に示されていない1つ又は複数のウイルス株をさらに含む医薬組成物を被験者に投与する。

20

【0547】

一部の実施形態では、本明細書に記載のアネロベクターを含む医薬組成物は、ウイルス感染を調節する上で十分な用量及び時間で投与される。ウイルス感染のいくつかの非限定的な例を以下に挙げる；アデノ関連ウイルス、アイチウイルス (Aichi virus)、オーストラリアコウモリ・リッサウイルス (Australian bat lyssavirus)、BKポリオーマウイルス (BK polyomavirus)、バンナウイルス (Banna virus)、バーマ森林ウイルス (Barmah forest virus)、ブンヤムウェラウイルス (Bunyamwera virus)、ブンヤウイルス・ラ・クロス (Bunyavirus La Crosse)、カンジキウサギブンヤウイルス (Bunyavirus snowshoe hare)、オナガザルヘルペスウイルス (Cercopithecine herpesvirus)、チャンドイブラウイルス (Chandipura virus)、チクングニアウイルス (Chikungunya virus)、コーサウイルスA (Cosavirus A)、牛痘ウイルス (Cowpox virus)、コサッキーウイルス (Coxsackievirus)、クリミアーコンゴ出血熱ウイルス (Crimean-Congo hemorrhagic fever virus)、デング熱ウイルス (Dengue virus)、ドーリウイルス (Dhori virus)、デュグベウイルス (Dugbe virus)、デュベンヘイジウイルス (Duvenhage virus)、東部ウマ脳炎ウイルス (Eastern equine encephalitis virus)、エボラウイルス (Ebola virus)、エコーウイルス (Echovirus)、脳心筋炎ウイルス (Encephalomyocarditis virus)、エプスタイン・バーウイルス (Epstein-Barr virus)、ヨーロッパコウモリ・リッサウイルス (European bat lyssavirus)、GBウイルスC／G型肝炎ウイルス (GB virus C／Hepatitis G virus)、ハンタウイルス (Hantaan virus)、ヘンドラウイルス (Hendra virus)、A型肝炎ウイルス (Hepatitis A virus)、B型肝炎ウイルス (Hepatitis B virus)、C型肝炎ウイルス (Hepatitis C virus)、E型肝炎ウイルス (Hepatitis E virus)、D型肝炎ウイルス (Hepatitis delta virus)、ウマポックスウイルス (Horsepox virus)、ヒトアデノウイルス (Human a

30

40

50

denovirus)、ヒトアストロウイルス (Human astrovirus)、ヒトコロナウイルス (Human coronavirus)、ヒトサイトメガロウイルス (Human cytomegalovirus)、ヒトエンテロウイルス68 (Human enterovirus 68)、ヒトエンテロウイルス70 (Human enterovirus 70)、ヒトヘルペスウイルス1型 (Human herpes virus 1)、ヒトヘルペスウイルス2型 (Human herpesvirus 2)、ヒトヘルペスウイルス6型 (Human herpesvirus 6)、ヒトヘルペスウイルス7型 (Human herpesvirus 7)、ヒトヘルペスウイルス8型 (Human herpesvirus 8)、ヒト免疫不全ウイルス (Human immunodeficiency virus)、ヒトパピローマウイルス1型 (Human papillomavirus 1)、ヒトパピローマウイルス2型 (Human papillomavirus 2)、ヒトパピローマウイルス16型 (Human papillomavirus 16)、ヒトパピローマウイルス18型 (Human papillomavirus 18)、ヒトパラインフルエンザウイルス (Human parainfluenza)、ヒトパルボウイルスB19 (Human parvovirus B19)、ヒト呼吸器合胞体ウイルス (Human respiratory syncytial virus)、ヒトライノウイルス (Human rhinovirus)、ヒトSARSコロナウイルス (Human SARS coronavirus)、ヒトスプマレトロウイルス (Human spumaretrovirus)、ヒトT-リンパ好性ウイルス (Human T-lymphotropic virus)、ヒトトロウイルス (Human torovirus)、A型インフルエンザウイルス (Influenza A virus)、B型インフルエンザウイルス (Influenza B virus)、C型インフルエンザウイルス (Influenza C virus)、イスファンウイルス (Isfahan virus)、JCポリオーマウイルス (JC polyomavirus)、日本脳炎ウイルス (Japanese encephalitis virus)、フニンアレナウイルス (Junin arenavirus)、KIポリオーマウイルス (KI Polyomavirus)、クンジンウイルス (Kunjin virus)、ラゴスコウモリウイルス (Lago sbat virus)、レイク・ビクトリア・マールブルグウイルス (Lake Victoria marburgvirus)、ランガトウイルス (Langat virus)、ラッサウイルス (Lassa virus)、ローズデールウイルス (Lord sdale virus)、跳躍病ウイルス (Louping ill virus)、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (Lymphocytic choriomeningi tis virus)、マチュポウイルス (Machupo virus)、マヤロウイルス (Mayaro virus)、MERSコロナウイルス (MERS corona virus)、麻疹ウイルス (Measles virus)、メンゴ脳心筋炎ウイルス (Mengo encephalomyocarditis virus)、メルケル細胞ポリオーマウイルス (Merkel cell polyomavirus)、モコラウイルス (Mokola virus)、伝染性軟属腫ウイルス (Molluscum contagiosum virus)、サル痘ウイルス (Monkeypox virus)、ムンプスウイルス (Mumps virus)、マレー渓谷脳炎ウイルス (Murray valley encephalitis virus)、ニューヨークウイルス (New York virus)、ニパウイルス (Nipah virus)、ノーウォークウイルス (Norwalk virus)、オニヨン-ニヨンウイルス (O' nyong-nyong virus)、オルフウイルス (Orf virus)、オロポーシャウイルス (Oropouche virus)、ピチンデウイルス (Pichi nde virus)、ポリオウイルス (Poliovirus)、プンタ・トロ・フレボウイルス (Punta toro phlebovirus)、プーマラウイルス (P uumala virus)、狂犬病ウイルス (Rabies virus)、リフトバレー熱ウイルス (Rift valley fever virus)、ロサウイルスA

10

20

30

40

50

(Rosavirus A)、ロスリバーウイルス(Ross river virus)、ロタウイルスA(Rotavirus A)、ロタウイルスB(Rotavirus B)、ロタウイルスC(Rotavirus C)、ルベラウイルス(Rubella virus)、サギヤマウイルス(Sagiyama virus)、サリウイルスA(Salivirus A)、砂バエ熱シチリアウイルス(Sandfly fever sicilian virus)、サッポロウイルス(Sapporo virus)、セムリキ森林ウイルス(Semliki forest virus)、ソウルウイルス(Seoul virus)、サル泡沫状ウイルス(Simian foamy virus)、サルウイルス5型(Simian virus 5)、シンドビスウイルス(Sindbis virus)、サウサンプトンウイルス(Southampton virus)、セントルイス脳炎ウイルス(St. Louis encephalitis virus)、ダニ媒介ポワッサンウイルス(Tick-borne powassan virus)、トルク・テノウイルス(Torque teno virus)、トスカーナウイルス(Toscana virus)、ウークニエミウイルス(Uukuniemi virus)、ワクシニアウイルス(Vaccinia virus)、水痘帯状疱疹ウイルス(Varicella-zoster virus)、天然痘ウイルス(Variola virus)、ベネズエラウマ脳炎ウイルス(Venezuelan equine encephalitis virus)、水痘性口炎(Vesicular stomatitis virus)、西部ウマ脳炎ウイルス(Western equine encephalitis virus)、WUポリオーマウイルス(WU polyomavirus)、西ナイルウイルス(West Nile virus)、ヤバサル腫瘍ウイルス(Yaba monkey tumor virus)、ヤバ様疾患ウイルス(Yaba-like disease virus)、黄熱病ウイルス(Yellow fever virus)、及びジカウイルス(Zika Virus)。

いくつかの実施形態では、アネロベクターは、被験者に既に存在するウイルスを、参照標準と比較して、例えば、少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、若しくはそれ以上駆逐及び／又は移動させる上で十分である。いくつかの実施形態では、アネロベクターは、慢性又は急性ウイルス感染と競合する上で十分である。いくつかの実施形態では、アネロベクターは、ウイルス感染（例えば、プロウイルス感染）から防御するために予防的に投与してもよい。一部の実施形態では、アネロベクターは、（例えば、表現型、ウイルスレベル、遺伝子発現、他のウイルス、病態との競合などを少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、若しくはそれ以上）調節するのに十分な量で存在する。一部の実施形態では、治療（療法）、治療すること、及びそれらの同等物は、例えば、疾患、病的状態、若しくは障害の改善、緩和、安定化、予防又は治癒を意図する、被験者の医学的管理（例えば、アネロベクター、例えば、本明細書に記載されるように作製されたアネロベクターを投与することによる）を含む。一部の実施形態では、治療は、積極的治療（疾患、病的状態、若しくは障害の改善に向けた治療）、原因療法（関連疾患、病的状態、若しくは障害の原因に向けた治療）、緩和療法（症状の緩和のために設計される治療）、予防療法（関連疾患、病的状態、若しくは障害の発生の予防、最小化又は部分的若しくは完全な阻害に向けた治療）、及び／又は支持療法（別の療法を補助するために使用される治療）を含む。

【0548】

本明細書で引用する全ての参考文献及び刊行物は参照により本明細書に組み込むものとする。

【0549】

本発明のいくつかの実施形態をさらに詳しく説明するために、以下の実施例を提供するが、これらは、本発明の範囲を何ら制限することは意図されず；それらの例示的な性質から、当業者には周知の他の手順、方法、技術が代替的に使用され得ることは理解されよう。

10

20

30

40

50

【実施例】

【0550】

目次

実施例1：バキュロウイルス（*Baculovirus*）を使用して生産されたORF1を使用したアネロベクターのインビトロアセンブリ

実施例2：mRNAをキャプシドで包むRing2 ORF1ベースのアネロベクターのインビトロアセンブリ

実施例3：修飾されたORF1タンパク質を使用したmRNAキャプシド形成アネロベクターのインビトロアセンブリ

実施例4：修飾されたmRNAを使用したmRNAキャプシド形成アネロベクターのインビトロアセンブリ

実施例5：アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1キャプシドタンパク質の構造解析

【0551】

実施例1：バキュロウイルス（*Baculovirus*）を使用して生産されたORF1を使用したアネロベクターのインビトロアセンブリ

この例では、アネロウイルス（*Anellovirus*）タンパク質（例えば、ORF1）の発現に好適なバキュロウイルス（*Baculovirus*）構築物をインビトロアセンブリによって生成した。

【0552】

第1の例では、N末端HIS₆タグに融合したRing2 ORF1（HIS-ORF1）をコード化するDNAを昆虫発現用にコドン最適化し、製造者の指示（ThermoFisher Scientific）に従ってバキュロウイルス（*Baculovirus*）発現ベクターpFASTbacシステムにクローニングした。10リットルの昆虫細胞培養物（Sf9）をRing2 HIS-ORF1バキュロウイルス（*Baculovirus*）に感染させ、感染の3日後に遠心分離により細胞を回収した。細胞を溶解し、キレート樹脂カラムを使用して当技術分野における標準的方法を使用して溶解物を精製した。HIS-ORF1を含有する溶出画分を透析し、DNaseで処理して、宿主細胞DNAを消化した。得られた物質を、キレート樹脂カラムを使用して再度精製し、ORF1を含有する画分を核酸のキャプシド形成及びウイルスベクターの精製のために保持した。ORF1含有画分もネガティブ染色電子顕微鏡で分析した。

【0553】

第2の例では、N末端HIS₆タグに融合したRing10 ORF1（HIS-ORF1）をコード化するDNAを昆虫発現用にコドン最適化し、製造者の指示（ThermoFisher Scientific）に従ってバキュロウイルス（*Baculovirus*）発現ベクターpFASTbacシステムにクローニングした。昆虫細胞（Sf9）をRing HIS-ORF1バキュロウイルス（*Baculovirus*）に感染させ、感染の3日後に遠心分離により細胞を回収した。細胞を溶解し、キレート樹脂アフィニティカラム（HisTrap, GE Healthcare）を使用して、当技術分野の標準的な方法を使用してタンパク質を精製した。得られた物質をヘパリンアフィニティカラム（Heparin HiTrap, GE Healthcare）を使用して再度精製し、ORF1を含有する画分をネガティブ染色電子顕微鏡で分析した。

【0554】

第3の例では、N末端HIS₆-Flagタグに融合したニワトリ貧血ウイルス（Chicken Anemia Virus）（CAV）キャプシドタンパク質（Vp1）（HIS-Flag-Vp1）とヘルパータンパク質（Vp2）とをコード化するDNAを、哺乳動物発現用にコドン最適化し、CMVプロモータを使用して哺乳動物発現ベクターにクローニングした。哺乳動物細胞（293expi）をCAV Vp1及びVp2発現ベクターでトランスフェクトした。感染の3日後に遠心分離により細胞を回収した。細胞を溶解し、キレート化及びヘパリン精製プロセスを使用して溶解物を精製した。ニワトリ

貧血ウイルス (Chicken Anemia Virus) (CAV) Vp1 を含有する溶出画分をネガティブ染色電子顕微鏡で分析した。

【0555】

図1に示すように、Ring2 ORF1及びRing10 ORF1は、いずれも約35nmのウイルス様粒子を形成する傾向を示した。

【0556】

核酸のキャプシド形成及びウイルスベクターの精製：Ring ORF1（野生型タンパク質、キメラタンパク質、又はそれらの断片）は、VLP又はウイルスキャプシドを解離して核酸積荷との再アセンブリを可能にするのに十分な条件で処理される。核酸積荷は、例えば、治療薬として送達したい目的の遺伝子をコード化するRNAと定義できる。規定濃度の核酸積荷は、規定濃度のRing ORF1と組み合わせられ、核酸キャプシド形成を可能にするのに十分な条件で処理され、得られた粒子（ウイルスベクターとして定義される）は、その後、標準的なウイルス精製手順を使用して精製される。

10

【0557】

実施例2：mRNAをキャプシドで包むRing2 ORF1ベースのアネロベクターのインビトロアセンブリ

Ring2 ORF1を、500mM NaClを含むトリspH8.0、500mM NaClと0.1%SDSを含むトリspH8.0、150mM NaClを含むCAPS緩衝液pH10.5、500mM NaClを含むCAPS緩衝液pH10.5、又は500mM NaClと0.1%SDSを含むCAPS緩衝液pH10.5を含む移動相を用いたサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）によって精製して、ウイルス粒子又はVLPを分散タンパク質又はキャプソマーに解離する。

20

【0558】

第1の例では、ORF1を、mRNA、蛍光標識mRNA、又はベクター形成を誘導できるように実施例1に示すssDNAのセグメントに化学的に結合したmRNA導入遺伝子と混合する。ウイルスベクターは、透析及びトリspH8.0緩衝液を使用するSEC精製によって形成されて、RNAをキャプシドで包むアネロベクターを単離する（例えば、保持蛍光吸収によって測定される）。アネロベクターのアセンブリは、DLS又は電子顕微鏡などの生物物理学的評価によってさらに評価される。

【0559】

第2の例では、精製されたORF1を、0.1%SDSを含む1M NaClで処理して、オリゴマー又はVLPを分散タンパク質又はキャプソマーに解離させる。次に、ORF1を、目的の遺伝子（例えば、レポーター遺伝子、例えば、GFP、mCherry；又は目的のエフェクター、例えば、EPO）を翻訳するmRNAなどのmRNAと混合し、150mM NaClを含むトリspH8.0に対して透析して、VLPの形成を可能にする。続く複合体は、トリspH8.0緩衝液を使用するSECによって精製されて、mRNAをキャプシドに包むAVベクターが単離される。アネロベクターベクターのアセンブリは、インビトロ又はインビボ読み出しによって、例えば、細胞に形質導入し、レポーター遺伝子（例えば、mCherry又はGFP）の発現を観察することによって、又は目的のエフェクターの発現を通じて（例えば、EPOなどの遺伝子の発現を検出するためにELISAを使用して）、さらに評価され得る。

30

【0560】

GFP mRNAをキャプシドで包むRing2 ORF1ベースのアネロベクターのインビトロアセンブリ

さらなる例では、Ring2 ORF1タンパク質を昆虫細胞で完全長タンパク質として発現させ、アセンブルされたVLPを、ヘパリンアフィニティカラム及びその後Tris緩衝液移動相を用いたサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）によって精製した。単離されたRing2 ORF1タンパク質から形成されたVLPは、ネガティブ染色電子顕微鏡法（EM）で観察され、 10^{10} 粒子/mL（pts/mL；図4A）の推定粒子力価を有していた。VLPを2モル濃度（2M）尿素で処理して、VLPを分解した。E

40

50

Mによる再画像化では、VLPが観察されないことが示された（図4B）。次に、尿素処理したVLPを透析して、mRNAの非存在下（図4C）又はGFPをコード化する約10倍過剰のmRNAの存在下（図4D及び4E）で、尿素を除去した。尿素で処理し、mRNAの非存在下で透析したVLPサンプルについては、EMによって粒子はほとんど観察されなかった（ 10^8 粒子/ml未満；図4C）。対照的に、過剰なmRNAの存在下での透析により、EMによる実質的に高い力価の粒子（約 $10^9 \sim 10^{10}$ 粒子/ml；図4D及び4E）が観察された。これらのデータは、VLPの分解及び再アセンブリがmRNAの存在下でより効率的であることを実証し、アネロウイルス（Anellovirus）ORF1タンパク質を使用してインビトロでmRNAをキャプシドで包んで、アネロベクターを形成できることを示す。

10

【0561】

実施例3：修飾されたORF1タンパク質を使用したmRNAキャプシド形成アネロベクターのインビトロアセンブリ

この例では、mRNAに結合する接触残基を保持するようにORF1タンパク質を修飾することにより、mRNA遺伝子エレメントのパッケージングが改善される。この例では、mRNAの効率的な結合及びパッケージングを可能にするために、ssDNA接触残基並びに／又はssDNA及び／若しくはN末端アルギニンリッチモチーフ（ARM）と接触するゼリーロールベータ鎖を、mRNA結合ウイルスタンパク質又は他のmRNA結合タンパク質の成分で置換することができる。次に、このmRNA結合キメラORF1を、0.1% SDSを含む1M NaClで処理して、オリゴマー又はVLPを分散タンパク質又はキャプソマーに解離させる。次に、キメラORF1を、目的の遺伝子（例えば、レポーター遺伝子、例えば、GFP、mCherry；又は目的のエフェクター、例えば、EPO）をコード化するmRNAなどのmRNAと混合し、150mM NaClを含むトリス pH 8.0 に対して透析して、VLPの形成を可能にする。続く複合体は、トリス pH 8.0 緩衝液を使用するSECによって精製されて、mRNAをキャプシドに包むアネロベクターが単離される。アネロベクターのアセンブリは、インビトロ又はインビボ読み出しによって、例えば、細胞に形質導入し、レポーター遺伝子（例えば、mCherry又はGFP）の発現を観察することによって、又は目的のエフェクターの発現を通じて（EPOなどの遺伝子の発現を検出するためのELISAの使用など）、さらに評価することができる。

20

30

【0562】

ORF1分子に対する例示的な修飾：本明細書に記載される方法で使用され得るRing ORF1分子には、例えば、いくつかの野生型アネロウイルス（Anellovirus）ORF1タンパク質；CAVキャプシドタンパク質（VP1）変異体；アセンブリ効率、収量、又は安定性を改善するための変異を有するアネロウイルス（Anellovirus）ORF1タンパク質；及びキメラORF1株又はその機能性断片が含まれる。一部の事例では、アフィニティタグは、例えばN末端で、ORF1分子に結合される（配列番号561～562）。一部の事例では、ORF1分子は、タグ付けされていないタンパク質である。環状ORF1分子は、単独で、又はアネロウイルス（Anellovirus）ORF2及び／又はORF3タンパク質を含むがこれらに限定されない任意の数のヘルパータンパク質と組み合わせて、発現され得る。

40

【0563】

アセンブリ効率を改善するための変異を保有するRing ORF1タンパク質は、ARGアームのpIを変更し、pH感受性の核酸結合を可能にして粒子アセンブリを誘発し得る、N末端アルギニンリッチモチーフ（ARM）に導入された変異を保有するORF1タンパク質（配列番号563～565）を含み得るが、これらに限定されない。一部の実施形態では、安定性を改善する変異を保有するORF1タンパク質は、例えば、プロトマー表面の疎水性状態を変化させ、且つ／又はより熱力学的に有利なキャプシド形成を行うために、例えば、標準的なゼリーロールベータバレルのベータ鎖F及びG（F及びGベータ鎖）に接触するプロトマー間への変異を含み得る。

50

【0564】

キメラORF1タンパク質は、BFDVキャプシドタンパク質などの別のキャプシドタンパク質、E型肝炎キャプシドタンパク質の同等の部分で置換されたその配列の一部又は複数の部分（例えば、ARGアーム及び／又はF及びGベータ鎖、又はその同等の成分）を有する、ORF1タンパク質を含み得るが、これらに限定されない。キメラORF1タンパク質はまた、別のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1タンパク質の同等の部分で置換されたその配列の一部又は複数の部分Ring9 ORF1の同等の部分で置換されたRing2 ORF1のゼリーロール断片又はC末端部分など；例えば、配列番号568～575を参照）を有するORF1タンパク質も含み得る。

【0565】

一般に、ORF1分子は、キレート精製、ヘパリン精製、勾配沈降精製及び／又はSEC精製を含むがこれらに限定されない精製技術を使用して精製することができる。

【0566】

実施例4：修飾されたmRNAを使用したmRNAキャプシド形成アネロベクターのインビトロアセンブリ

この例では、mRNAベースの遺伝子エレメントのキャプシド形成は、mRNA分子をssDNAに結合することによって、又はバックボーンのセクションが野生型ORF1のssDNA接触残基に結合できるように、mRNA導入遺伝子を修飾することによって、最適化される。mRNAは、一般に、レポーター遺伝子（例えば、GFP又はmCherry）、及び／又はエフェクター遺伝子（例えば、EPO）などの目的の遺伝子をコード化する。

【0567】

一例では、その糖鎖バックボーンによりORF1に結合できるが、非共有結合的にmRNAと対合することもできる修飾ssDNAを、目的のmRNAと混合して、mRNA/DNA複合体を生産する。次いで、このmRNA/DNA複合体は、例えば以下に記載されるように、Ring ORF1を使用してキャプシドで包まれて、アネロベクターを形成することができる。

【0568】

別の例では、mRNA分子は、送達される遺伝子（例えば、レポーター遺伝子又はエフェクター遺伝子）をコード化するmRNAの部分を持しながら、ORF1との結合及びキャプシド形成を可能にするDNAバックボーンを有するmRNA分子の1つ又は複数のセクションを用いて合成される。次いで、このmRNA/DNAハイブリッド分子は、例えば以下に記載されるように、Ring ORF1を使用してキャプシドで包まれて、アネロベクターを形成することができる。

【0569】

インビトロアセンブリによるキャプシド形成：次に、前述したmRNA/DNA遺伝子エレメントは、インビトロアセンブリによってキャプシドに包まれる。手短には、次に、アネロベクターORF1を、0.1% SDSを含む1M NaClで処理して、オリゴマー又はVLPを分散タンパク質又はキャプソマーに解離させる。次に、ORF1を合成mRNA複合体又はハイブリッド分子と混合し、150mM NaClを含むトリスpH8.0に対して透析して、VLPの形成を可能にする。続く粒子は、トリスpH8.0緩衝液を使用するSECによって精製されて、mRNAをキャプシドに包むアネロベクターが単離される。アネロベクターのアセンブリは、例えば、本明細書に記載されるように、細胞に形質導入し、レポーター遺伝子又はエフェクター遺伝子の発現を観察することによるインビトロ又はインビボ読み出しによって、さらに評価することができる。

【0570】

実施例5：アネロウイルス（Anellovirus）ORF1キャプシドタンパク質の構造解析

アネロウイルス（Anellovirus）は、鳥病原体嘴羽病ウイルス（Beak and Feather Disease Virus）（BFDV）又はニワトリ貧血

10

20

30

40

50

ウイルス (Chicken Anemia Virus) (CAV) などの、他のよく特徴付けられたウイルスと予測される構造的特徴を共有している。

【0571】

アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 キャプシドタンパク質は、BFDV のものと同様の N 末端 ARM 配列を含有する。二次構造の予測は、ORF1 の最初の約 250 残基は株に依存し、8 つの予測ベータ鎖を含むことを示した (図 3)。ゼリーロールドメインの命名規則に従って B から I と名付けられた ORF1 の 8 つの予測ベータ鎖が、BFDV 及び Hep E のキャプシドタンパク質に対する二次構造予測に基づいてアラインメントされると、ORF1 内の保存されたリシン及びアルギニン残基は、BFDV 及び Hep E キャプシドタンパク質の既知の ssDNA 接触残基とアラインメントする (図 3、アスタリスクで示す)。

10

【0572】

配列

以下に列挙される配列は、下記の通りアノテートされる。太字且つ下線付きのテキストは、キレート精製に使用される His6 タグ (HHHHHH) と、例えば低発現タンパク質のウエスタンブロット検出に使用される強力なエピトープである Flag タグ (DYKDDDDK) とを含む配列を示す。太字且つ斜体の配列は、Ring9 ORF1 配列又はその一部を示す。太字でなく、下線のない配列は、Ring2 配列又はその一部である。太字でない、下線付きの配列は、嘴羽病ウイルス (Beak and Feather Disease Virus) (BFDV) に由来する。グレーのハイライトは、例えばアルギニンリッチ領域及び Ring9 ORF1 の第 1 のベータ鎖における、リシンからヒスチジンへの変異の位置を示す。

20

【0573】

配列番号 561 :

Ring2 N 末端 H I S - F L A G - 3 C プロテアーゼ - O R F 1 :
【化 1】

MGSSHHHHHHGSDYKDDDDKSGSLEVLFGPSGMPYYRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFRFRFRKRVRPTYT
TIPLKQWQPPYKRTCYIKGQDCLIIYSNLRGLMNSTMYEKSIVPVHWPGGGSFSVSMILTDALYDIHKLCRNWWTSTN
QDLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHTELPANSNKLTYPNTHPLMMMMSKYKHIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPPQFE
NKWYFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNPVFKPKLSNNVTLWSLNTISIQNRNMSVDQGSWPFKILGTQSFYFYFTGA
NLPGDTTQIPVADLLPTNPRNPGQSLNEAKITDHITFEYKNKFTNYWGNPFNKHIQEHLDMLILSLKSPEAIKNEWT
TENMKWNQLNNAAGTMALTPFNEIFTQIQYNPDRDTGEDTQLYLLSNATGTGWDPPGIPELILEGFPLWLIYWGAFD
FQKNLKKVTNIDTNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVLNDTFVEGNSPYEKQPLPEDNIKWYPQVQYQLEAQNKLLQTGPFT
PNIQGGQLSDNISMFKYFKWGGSPKAINVENPAHQIQYPIPRNEHETSLQSPGEAPESILYSFDYRHGNYTTTALSRI
SQDWALKDVTSKITEPDRQQLLKQALECLQISEETQEKEKEVQQLISNLRQQQLYRERIISLLKDQ

30

配列番号 562 :

Ring9 N 末端 H I S - F L A G - 3 C プロテアーゼ - O R F 1 :
【化 2】

MGSSHHHHHHGSDYKDDDDKSGSLEVLFGPSGMPPYWRQKYRRRRYPFSWRTRRIIQRKRWRRYRKPRKTY
WRRKLVRKRFRYKRKLKKIVLKQFQPKIIRRCTIFGTICLFQGSPEANNNYIQTISYVPDKEPGGGGWTLITESSSL
WEDWEHLKNVWTQSNAGLPLVRYGGVTLYFYQSAYTDYIAQVFNCYPMTDTKYTHADSAPNRMLLKKHVIRVPS
RETRKKRKPYKRVRVGPPSQMQNKWYFQRDICEIPLIMIAATAVDFRYPFCASDCASNLTCLNPLLQFNQDFDH
PSDTQGYFPKPGVYLYSTQRSNKPSSSDCIYLGNTKDNQEGKSASSLMTLKTQKITDWGNPFWHHYIDGSKKIFSYFK
PPSQLDSSDFEHMTELAEPMFQVRYNPERDTGQGNLIYVTENFRGQHWDPSSDNLKLDGFPLYDMCWGFIDWI
EKVHETENLLTNYCFIRSSAFNEKKTVPFVDHSLTGFSPYETPVKSSDQAHWHPQIRFQTKSINDICLTGPGCARSP
YGNYMQAQMSYKFHVKGWGGCPKTYEKPYDPCSQPNWTIPHNLNETIQIQNPNTCPQTELQEWDRRDIVTKKAI
ERIRQHTEPHETLQISTGSKHNPPVHRQTSPWTDSETDSEEEKDQTQEIQIQLNKLKHKHQHLKQQLKQYLKPNIE

50

配列番号 5 6 3 :

R i n g 9 の A R G アームを有する R i n g 2 O R F 1 (R i n g 2 9 1)

【化 3】

MGSSHHHHHGS**DKDDDDKSGS****LEVLFG****GPSG****MPPYWRQKYYRRRYRPF****SWRTRRIIQR****RRKRWRYRKPRKTY**
WRRKLRVRKRRVR**PPTYTTIPLKQWQPPYKRTCYIKGQDCLIIYSNLR****LMNSTMYEKSIVPVHWP****GGGSFSVSM****LTLD**
ALYDIHKLCRN**WWTSTNQDLP****LVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHTELPANSNKLTYPNTHPL****MMMMSKYKHIIP****SRQT**
RRKKKPYTKIFVKPPPQFENK**WYFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNP****FKPDKLSNNVTLWSLNTISIQNRNMSVD****QGGQS**
WP**KILGTQSFYFYFYTGANLP****GD****TTQIPVADLLPTNPRINRPGQSLNEAKITDHITFTEYKNKFTNYWGNP****FNKHIQE**
HLD**MILYSLKSPEAIKNEWTTENMKWNQLN****NAGTMALTPFNEIFTQIQYNPDRDTG****EDTQLYLLSNATGTGW****DPPG**
IPE**LILEGFPLWLIYWGFAD****FQKNLKKVTNIDTNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVILNDTFVEGNSPYEKQPL****PEDNIKWYP**
QVQYQLEAQNKLLQTGPFT**PNIQGQLSDNISMFYKFKWGGSP****PKAINVENPAHQIQYPIPRNEHETTS****LQSPGEAPE**
SILYSF**DYRHGNYTTALSRISQDWALKDTVSKITEPDRQQLLKQALECLQISEETQE****KEKEVQQLISNLRQQQ****LYRERI**
ISLLKDQ

10

配列番号 5 6 4 :

R i n g 9 の A R G アーム及びベータ鎖 1 + 2 7 2 2 エピトープを有する R i n g 2 O R F 1 (R i n g 2 9 2)

【化 4】

MGSSHHHHHGS**DKDDDDKSGS****LEVLFG****GPSG****MPPYWRQKYYRRRYRPF****SWRTRRIIQR****RRKRWRYRKPRKTY**
WRRKLRVRKRFYKRKLKIVLKQFQPKIIR**CTIFGTICLFQGS****NLR****LMNSTMYEKSIVPVHWP****GGGSFSVSM****LTLD**
LYDIHKLCRN**WWTSTNQDLP****LVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHTELPANSNKLTYPNTHPL****MMMMSKYKHIIP****SRQTR**
RKKKPYTKIFVKPPPQFENK**WYFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNP****FKPDKLSNNVTLWSLNTISIQNRNMSVD****QGGQSW**
P**FKILGTQSFYFYFYTGANLP****GD****TTQIPVADLLPTNPRINRPGQSLNEAKITDHITFTEYKNKFTNYWGNP****FNKHIQEH**
DM**ILYSLKSPEAIKNEWTTENMKWNQLN****NAGTMALTPFNEIFTQIQYNPDRDTG****EDTQLYLLSNATGTGW****DPPGIP**
EL**ILEGFPLWLIYWGFAD****FQKNLKKVTNIDTNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVILNDTFVEGNSPYEKQPL****PEDNIKWYPQV**
QYQLEAQNKLLQTGPFT**PNIQGQLSDNISMFYKFKWGGSP****PKAINVENPAHQIQYPIPRNEHETTS****LQSPGEAPESIL**
YSF**DYRHGNYTTALSRISQDWALKDTVSKITEPDRQQLLKQALECLQISEETQE****KEKEVQQLISNLRQQQ****LYRERIIS**
LKDQ

20

30

配列番号 5 6 5 :

A R G アーム及び第 1 のベータ鎖に L Y S / H I S 変異を有する R i n g 9

【化 5】

MGSSHHHHHGS**DKDDDDKSGS****LEVLFG****GPSG****MPPYWRQKYYRRRYRPF****SWRTRRIIQR****RRHRWRYRKPRHTY**
WRRHLRVRHRFYHRHLHHIVLKQFQPKIIR**CTIFGTICLFQGS****PERANN****NYIQTIYSYVPDKEP****GGGGWTLITESL**
WEDWEHLKNVWTQSNAGLPLVRYGGVTLYFYQ**SAYTDYIAQVFNCYPMTDTKYTHADSAPNRM****LLKKHVIRVPS**
RETRKKRKP**YKRVRVGPPSQMQNKWYFQR****DICEIPLIMIAATAVD****FRYPFCASDCASNNLT****LTCLNPLLFQNQDFDH**
PSDTQGYFPKPGVYLYSTQRSNKPSSDCIYLGNTKDNQEGKSASSL**MTLKTQKITDWGNPFWHYYIDGSKKIFSYFK**
PPSQLDSSDFEHMTELAEP**MFQVRYNPERDTGQGNLIYVTENFRGQHWDPPSSDNLKLDG****FPLYDMCWGFIDWI**
EKVHETENLLTNYCFCIRSSAFNEKTVFIPVDH**SFLTGFSPYETPVKSSDQAHWHPQIRFQTKSINDICLTGPGCARSP**
YGNYMQA**KMSYKFHVKGWGGCPKTYEKPYDPCSQPNWTIPHNLNETIQIQNPNTCPQTELQEW****DWRRDIVTKKAI**
ERIRQHTEPHETLQISTGSKHNPPVHRQTSPWTDSETDSEEEKDQTQEIQIQLNKL**RKHQQHLKQQLKQYLKPQ****QNI**

40

配列番号 5 6 6 :

B F D V の A R G アームを有する R i n g 9 :

50

【化 6】

MGSSHHHHHHGSDYKDDDDKSGSLEVLFGPSGMMWGTSNCACAKFQIRRRYARPYRRRIIRRYRRRRRIIFRR
RRFTTNRRRKRFYKRKLKKIVLKQFQPKIIRRCTIFGTICLFQGSPERANNNYIQTIYSYVPDKEPGGGGWTLITESLSS
WEDWEHLKNVWTQSNAGLPLVRYGGVTLYFYQSAYTDYIAQVFNCYPMTDTKYTHADSAPNRMLLKKHVIRVPS
RETRKKRKPYPYKRVRVGPPSQMQNKWYFQRDICEIPLIMIAATAVDFRYPFCASDCASNNLTCLNPLLFQNQDFDH
PSDTQGYFPKPGVYLYSTQRSNKPSSSDCIYLGNTKDNQEGKSASSLMTLKTQKITDWGNPFWHYYIDGSKKIFSYFK
PPSQLDSSDFEHMTELAEPMFQVRYNPERDTGQGNLIYVTENFRGQHWDPPSSDNLKLDGFPLYDMCWGFIDWI
EKVHETENLLTNYCFCIRSSAFNEKKTVFIPVDHSFLTGFSPYETPVKSSDQAHWHPQIRFQTKSINDICLTGPGCARSP
YGNYMQAKMSYKFHVKGWGGCPKTYEKPYPDPCSQPNWTIPHNLNETIQIQNPNTCPQTELQEDWRRDIVTKKAI
ERIRQHTEPHETLQISTGSKHNPPVHRQTSPWTDSETDSEEEKDQTQEIQQLNKLKHKHQHLKQQLKQYLKPQNI

10

配列番号 5 6 7 :

B F D V キャプシドタンパク質のベータストランド F 及び G を有する R i n g 9 :

【化 7】

MGSSHHHHHHGSDYKDDDDKSGSLEVLFGPSGMPPYWRQKYRRRRYRPFSWRTRRIIQRKRWRYRKPRKTY
WRRKLVRKRFYKRKLKKIVLKQFQPKIIRRCTIFGTICLFQGSPERANNNYIQTIYSYVPDKEPGGGGWTLITESLSS
WEDWEHLKNVWTQSNAGLPLVRYGGVTLYFYQSAYTDYIAQVFNCYPMTDTKYTHADSAPNRMLLKKHAKKWES
RETRKKRKPGFKRLGPPSQMQNKWYFQRDICEIPLIMIAATAVDFRYPFCASDCASNNLTCLNPLLFQNQDFDHP
SDTQGYFPKPGVYLYSTQRSNKPSSSDCIYLGNTKDNQEGKSASSLMTLKTQKITDWGNPFWHYYIDGSKKIFSYFKP
PSQLDSSDFEHMTELAEPMFQVRYNPERDTGQGNLIYVTENFRGQHWDPPSSDNLKLDGFPLYDMCWGFIDWIE
KVHETENLLTNYCFCIRSSAFNEKKTVFIPVDHSFLTGFSPYETPVKSSDQAHWHPQIRFQTKSINDICLTGPGCARSPY
GNYMQAKMSYKFHVKGWGGCPKTYEKPYPDPCSQPNWTIPHNLNETIQIQNPNTCPQTELQEDWRRDIVTKKAI
RIRQHTEPHETLQISTGSKHNPPVHRQTSPWTDSETDSEEEKDQTQEIQQLNKLKHKHQHLKQQLKQYLKPQNI

20

配列番号 5 6 8 :

R i n g 9 のベータ C を有するリング 2 :

【化 8】

MGSSHHHHHHGSDYKDDDDKSGSLEVLFGPSGMPYYYRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFFFFRRKRRRVRPTYT
TIPLKQWQPPYKRRCTIFGTICLFQGSNLRLGMNSTMYEKSIVPVHWPGGGSFSVSMLTLDALYDIHKLCRNWWTSTN
QDLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHELPANSNKLTYPNTHPLMMMMSKYKHIIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPPPQFE
NKWYFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNPFKPKLSNNVTLWSLNTISIQNRNMSVDQQSWPFKILGTQSFYFYFYTG
NLPGDTTQIPVADLLPLTNPRINRPGQSLNEAKITDHITFEYKNKFTNYWGNPFNKHIQEHLDMILYSLKSPEAIKNEWT
TENMKWNQLNNAGTMALTPFNEPIFTQIQYNPDRDTGEDTQLYLLSNATGTGWDPPGIPELILEGFPLWLIWGFAD
FQKNLKKVTNIDTNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVLNDTFVEGNSPYEKQPLPEDNIKWYPQVQYQLEAQNKLLQTGPFT
PNIQGQLSDNISMFYKFYFKWGGSPKAINVENPAHQIQYPIRNEHETTSLQSPGEAPESILYSFDYRHGNYTTTALSRI
SQDWALKDTVSKITEPDRQQLLKQALECLQISEETQEKKKEVQQLISNLRQQQLYRERIISLLKDQ

30

40

配列番号 5 6 9 :

R i n g 9 のリンカー 1 を有する R i n g 2 :

50

【化 9】

MGSSHHHHHHGSDYKDDDDKSGSLEVLFGPSGMPYYYRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFRFRFRKRRVRPTYT
TIPLKQWQPPYKRTCYIKGQDCLIIY**SPERANNYIQTISYVPDKEPGGGWTLITESLSSLWEDWEHLKNVWTQSN**
AGLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHTELPANSNKLTYPNTHPLMMMMSKYKHIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPPPQFE
NKWYFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNPVFKPDKLSNNVTLWSLNTISIQNRNMSVDQGQSWPFKILGTQSFYFYFTGA
NLPGDTTQIPVADLLPLTNPRINRPGQSLNEAKITDHITFEYKNKFTNYWGNPFNKHIQEHLDMILYSLKSPEAIKNEWT
TENMKWNQLNNAAGTMALTPFNEPIFTQIQYNPDRDTGEDTQLYLLSNATGTGWDPGPIELILEGFPLWLIYWGAD
FQKNLKKVTNIDTNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVLNDTFVEGNSPYEKQPLPEDNIKWYPQVQYQLEAQNKLLQTGPFT
PNIQGQLSDNISMFYKFYFKWGGSPKAINVENPAHQIQYPIPRNEHETTSLSQSPGEAPESILYSFDYRHGNYTTTALSRI
SQDWALKDVTSKITEPDRQQLLKQALECLQISEETQEKKEKEVQQLISNLRQQQQLYRERIISLLKDQ

10

配列番号 570：

Ring 9 のベータ鎖 D を有する Ring 2：

【化 10】

MGSSHHHHHHGSDYKDDDDKSGSLEVLFGPSGMPYYYRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFRFRFRKRRVRPTYT
TIPLKQWQPPYKRTCYIKGQDCLIIY**SNLRLGMNSTMYEKSIVPVHWPGGGSFSVSMITLDALYDIHKLCRNWWTSTN**
QDLPLVRYGGVTLIFYQSTFTDYIVRIHTELPANSNKLTYPNTHPLMMMMSKYKHIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPPPQF
ENKWYFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNPVFKPDKLSNNVTLWSLNTISIQNRNMSVDQGQSWPFKILGTQSFYFYFTG
ANLPGDTTQIPVADLLPLTNPRINRPGQSLNEAKITDHITFEYKNKFTNYWGNPFNKHIQEHLDMILYSLKSPEAIKNE
WTENMKWNQLNNAAGTMALTPFNEPIFTQIQYNPDRDTGEDTQLYLLSNATGTGWDPGPIELILEGFPLWLIYWGAD
ADFQKNLKKVTNIDTNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVLNDTFVEGNSPYEKQPLPEDNIKWYPQVQYQLEAQNKLLQTG
PFTPNIQGQLSDNISMFYKFYFKWGGSPKAINVENPAHQIQYPIPRNEHETTSLSQSPGEAPESILYSFDYRHGNYTTTAL
SRISQDWALKDVTSKITEPDRQQLLKQALECLQISEETQEKKEKEVQQLISNLRQQQQLYRERIISLLKDQ

20

配列番号 571：

Ring 9 のリンカー 2 を有する Ring 2：

【化 11】

MGSSHHHHHHGSDYKDDDDKSGSLEVLFGPSGMPYYYRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFRFRFRKRRVRPTYT
TIPLKQWQPPYKRTCYIKGQDCLIIY**SNLRLGMNSTMYEKSIVPVHWPGGGSFSVSMITLDALYDIHKLCRNWWTSTN**
QDLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHNCYPMTDTKYTHADSAPNRMLLKKHKHIIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPPPQFE
NKWYFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNPVFKPDKLSNNVTLWSLNTISIQNRNMSVDQGQSWPFKILGTQSFYFYFTGA
NLPGDTTQIPVADLLPLTNPRINRPGQSLNEAKITDHITFEYKNKFTNYWGNPFNKHIQEHLDMILYSLKSPEAIKNEWT
TENMKWNQLNNAAGTMALTPFNEPIFTQIQYNPDRDTGEDTQLYLLSNATGTGWDPGPIELILEGFPLWLIYWGAD
FQKNLKKVTNIDTNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVLNDTFVEGNSPYEKQPLPEDNIKWYPQVQYQLEAQNKLLQTGPFT
PNIQGQLSDNISMFYKFYFKWGGSPKAINVENPAHQIQYPIPRNEHETTSLSQSPGEAPESILYSFDYRHGNYTTTALSRI
SQDWALKDVTSKITEPDRQQLLKQALECLQISEETQEKKEKEVQQLISNLRQQQQLYRERIISLLKDQ

30

40

配列番号 572：

Ring 9 のベータ鎖 G DNA 結合を有する Ring 2：

50

【化 1 2】

MGSSHHHHHHGSDYKDDDDKSGSLEVLFGGPSGMPYYYRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFRFRFRKRRVRPTYT
TIPLKQWQPPYKRTCYIKGQDCLIIYSNLRLGMNSTMYEKSIVPVHWPGGGSFSVSMITLDALYDIHKLCRNWWTSTN
QDLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHTELPANSNKLTYPNTHPLMMMSKYKHIPSRQTRRKKKPY**KRVVRVK**PPPQF
ENKWYFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNPVFKPKLSNNVTLSLNTISIQNRNMSVDQGGQSWPFKILGTQSFYFYFTG
ANLPGDTTQIPVADLLPLTNPRINRPGQSLNEAKITDHITFTYKKNFTNYWGNPFNKHIQEHLDMILYSLKSPEAIKNE
WTTENMKWNQLNNAAGTMALTPFNEIFTQIQYNPDRDTGEDTQLYLLSNATGTGWDPPGIPELILEGFPLWLIYWGF
ADFQKNLKKVTNIDTNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVLNDTFVEGNSPYEKQPLPEDNIKWYPQVQYQLEAQNKLLQTG
PFTPNIQGQLSDNISMFYKFYFKWGGSPKAINVENPAHQIQYPIPRNEHETTSLQSPGEAPESILYSFDYRHGNYTTAL
SRISQDWALKDVTSKITEPDRQQLLKQALECLQISEETQEKKEKEVQQLISNLRQQQQLYRERIISLLKDQ

10

配列番号 5 7 3 :

R i n g 9 の ベータ鎖 F インタープロトマー接触を有する R i n g 2 :

【化 1 3】

MGSSHHHHHHGSDYKDDDDKSGSLEVLFGGPSGMPYYYRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFRFRFRKRRVRPTYT
TIPLKQWQPPYKRTCYIKGQDCLIIYSNLRLGMNSTMYEKSIVPVHWPGGGSFSVSMITLDALYDIHKLCRNWWTSTN
QDLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHTELPANSNKLTYPNTHPLMMMSKYKHIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPPPQF
ENKWYFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNPVFKPKLSNNVTLSLNTISIQNRNMSVDQGGQSWPFKILGTQSFYFYFTG
ANLPGDTTQIPVADLLPLTNPRINRPGQSLNEAKITDHITFTYKKNFTNYWGNPFNKHIQEHLDMILYSLKSPEAIKNE
WTTENMKWNQLNNAAGTMALTPFNEIFTQIQYNPDRDTGEDTQLYLLSNATGTGWDPPGIPELILEGFPLWLIYWGF
ADFQKNLKKVTNIDTNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVLNDTFVEGNSPYEKQPLPEDNIKWYPQVQYQLEAQNKLLQTG
PFTPNIQGQLSDNISMFYKFYFKWGGSPKAINVENPAHQIQYPIPRNEHETTSLQSPGEAPESILYSFDYRHGNYTTAL
SRISQDWALKDVTSKITEPDRQQLLKQALECLQISEETQEKKEKEVQQLISNLRQQQQLYRERIISLLKDQ

20

配列番号 5 7 4 :

R i n g 9 の C 末端断片を有する鎖 H 及び I を有する R i n g 2 O R F 1 :

【化 1 4】

MGSSHHHHHHGSDYKDDDDKSGSLEVLFGGPSGMPYYYRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFRFRFRKRRVRPTYT
TIPLKQWQPPYKRTCYIKGQDCLIIYSNLRLGMNSTMYEKSIVPVHWPGGGSFSVSMITLDALYDIHKLCRNWWTSTN
QDLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHTELPANSNKLTYPNTHPLMMMSKYKHIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPPPQFE
NKWYFATDLYKI**PLIMIAATAVDFRYPFCASDCASNLTCLNPLLFQNQDFDHPSDTQGYFPKPGVYLYSTQRSNK**
PSSSDCIYLGNTKDNQEGKSASSLMTLKTQKITDWGNPFWHYIIDGSKKIFSFKPPSQLDSSDFEHMTLAEPMFIQ
VRYNPERDTGQGNLIYVTENFRGQHWDPSSDNLKLDGFPLYDMCWGFIDWIEKVHETENLLTNYCFCIRSSAFNEK
KTVFIPVDHSFLTGFSPYETPVKSSDQAHWHPQIRFQTKSINDICLTGPGCARSPYGNMQAKMSYKFHVKWGGCP
KTYEKPYDPCSQPNWTIPHNLNETIQIQNPNTCPQTELQEWDRRDIVTKKAIERIRQHTEPHETLQISTGSKHNPPV
HRQTSPWTDSETDSEEEKDQTQEIQIQLNKLKHKQHLKQQLKQYLKPQNI

30

40

配列番号 5 7 5 :

R i n g 9 の鎖 I 及び C 末端断片を有する R i n g 2 O R F 1 :

50

【化 1 5】

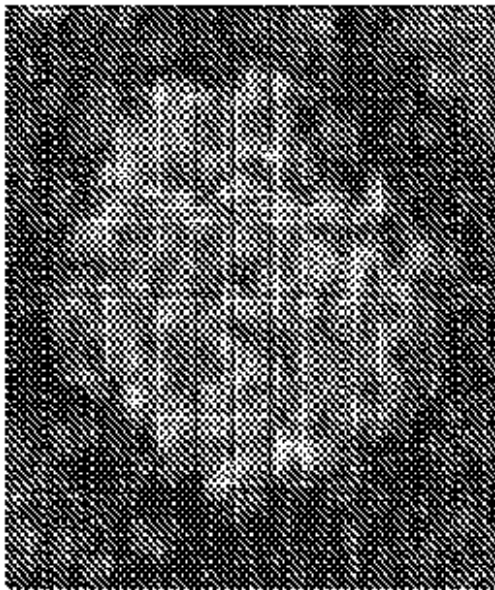
MGSSHHHHHGS**SDYKDDDDKSGS****LEVLFGGP****SG**MPYYYRRRRYNYRRRPRWYGRGWIRRPFFFFRRKRRVRPTYT
 TIPLKQWQPPYKRTCYIKGQDCLIIYSNLR LGMNSTMYEKSIVPVHWPGGGSFSVSM LLDALYDIHKLCRNWWTSTN
 QDLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHTELPANSNKLTYPNTHPLMMMSKYKHIIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPPQFE
 NKWYFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNP FVKPDKLSN**NLTCLNPLLFQ****NQDFDHP****SDTQGYFPKPGV****LYSTQ****RSNKP**
SSSDCIYLGNTKDNQEGKS**ASSLMTLKTQKITD****WGNPF****WHYYIDGSKKIFS****YFKPPS****QLDSSD****FEHMT****ELAEP****MF****IQV**
RYNPERDTGQGNLIYVTENFRGQ**HWDP****PSSDNLKLDG****FPLYDMC****WGFID****WIEK****VHETENLL****TNYC****F****CIRSS****A****FNEKK**
TVFIPVDHS**FLTGFSP****YETPVKSSDQA****HWH****PQIR****FQ****TKSINDICT****GPGCAR****SPYGN****YMQAK****MSYK****FHV****KWGG****CPK**
TYEKPYD**PCSQPN****WTIPH****N****NETIQ****NPNTCP****Q****TELQ****EDWRR****DIV****TKKA****IERIR****Q****HTE****P****HE****T****LQISTG****SKHN****PPV**
HRQTSP**WTD****SETD****SEEEKD****QTQEIQ****LN****KLRKH****Q****HLK****Q****QLK****Q****YLK****PQ****NIE**

10

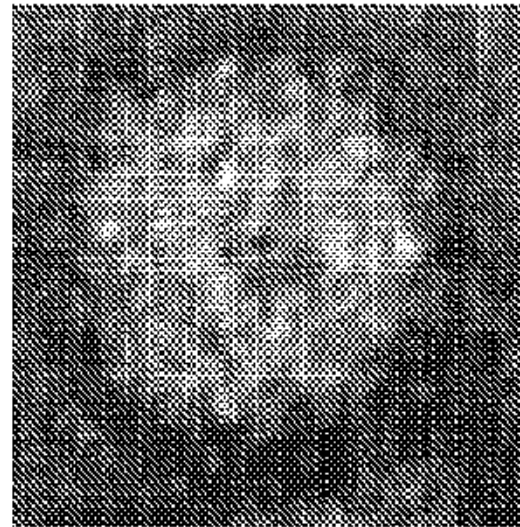
【図面】

【図 1 (A)】

【図 1 (B)】



(A) Ring 2 ORF1



(B) Ring 10 ORF1

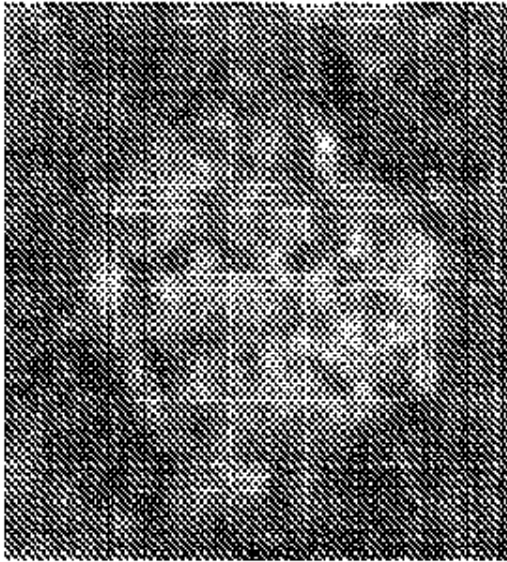
20

30

40

50

【図 1 (C)】



(C) CAV VP1

【図 2】

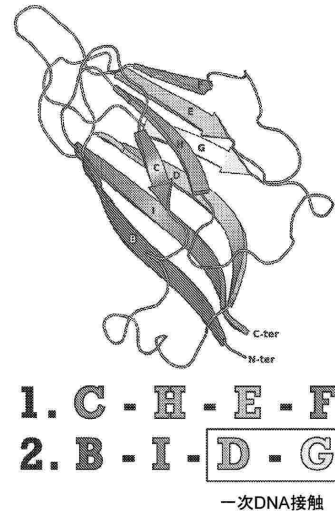
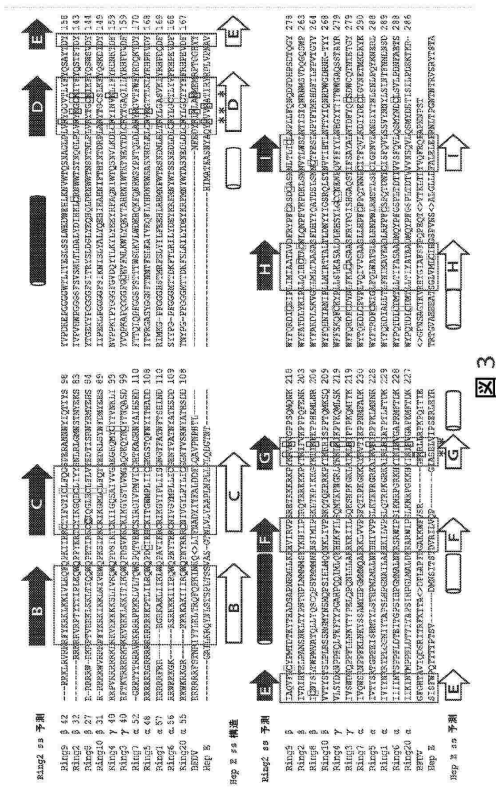
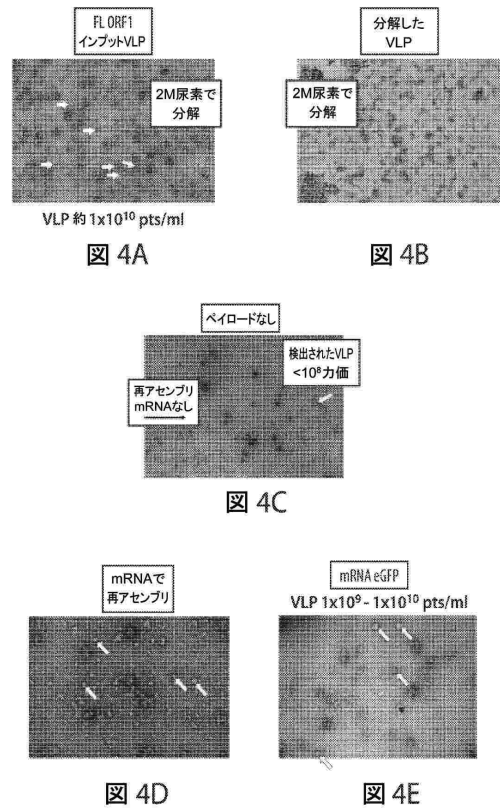


図 2

【図 3】



【図 4】



10

20

30

40

50

【配列表】
2024501287000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/064887

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A61K 35/76; C12N 7/00; C12N 15/11; C12N 15/86 (2022.01)

CPC - A61K 35/76; C07K 14/005; C12N 15/111; C12N 15/113; C12N 15/86; C12N 2750/00043 (2022.02)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

see Search History document

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

see Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

see Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2020/0188456 A1 (FLAGSHIP PIONEERING INNOVATIONS V INC.) 18 June 2020 (18.06.2020) entire document	1-3, 8
A	US 2020/0123203 A1 (FLAGSHIP PIONEERING INNOVATIONS V INC. et al) 23 April 2020 (23.04.2020) entire document	1-3, 8
A	US 2019/0085418 A1 (INSTITUT PASTEUR et al) 21 March 2019 (21.03.2019) entire document	1-3, 8
A	US 2016/0216263 A1 (VIRGINIA TECH INTELLECTUAL PROPERTIES INC.) 28 July 2016 (28.07.2016) entire document	1-3, 8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T"

later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&"

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 February 2022

Date of mailing of the international search report

MAR 08 2022

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Harry Kim

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2021/064887

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed:

☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2021/064887

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.: 4-7, 9 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: 1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims. 2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees. 3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.: 4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee. ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation. ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.	

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2019)

フロントページの続き

,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,D
K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O
A(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,B
B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD
,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,
LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,
RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,Z
W

弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ハジアル, ロジャー ジョゼフ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02142, ケンブリッジ, ケンブリッジ パークウェイ
55, 8ティーエイチ フロア

(72)発明者 デラ 그레이ブ, サイモン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02142, ケンブリッジ, ケンブリッジ パークウェイ
55, 8ティーエイチ フロア

(72)発明者 スワンソン, カート アダム

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02142, ケンブリッジ, ケンブリッジ パークウェイ
55, 8ティーエイチ フロア

Fターム (参考) 4B065 AA95X AB01 AC14 AC20 BA02 CA44 CA46