

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2022-512395
(P2022-512395A)

(43)公表日 令和4年2月3日(2022.2.3)

(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	15/18 (2006.01)	C 1 2 N	15/18		4 C 0 8 4
C 1 2 N	15/34 (2006.01)	C 1 2 N	15/34		4 C 0 8 5
C 1 2 N	7/01 (2006.01)	C 1 2 N	7/01		4 C 0 8 6
A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 K	31/7088		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全445頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2021-533524(P2021-533524)	(71)出願人	519397987		
(86)(22)出願日	令和1年12月12日(2019.12.12)		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3年7月29日(2021.7.29)		ベーションズ ブイ, インコーポレイテ		
(86)国際出願番号	PCT/US2019/065919		ッド		
(87)国際公開番号	WO2020/123773		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2年6月18日(2020.6.18)		1 4 2, ケンブリッジ, ケンブリッジ		
(31)優先権主張番号	62/778,866		パークウェイ 5 5, 8 ティーエイチ		
(32)優先日	平成30年12月12日(2018.12.12)		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	62/778,869	(74)代理人	100113413		
(32)優先日	平成30年12月12日(2018.12.12)		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】 分泌治療モダリティを送達するためのアネロソーム

(57)【要約】

本発明は、概してアネロソーム並びにそれらの組成物及び使用に関する。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エフェクター（例えば、分泌タンパク質）を送達するために用いることができるアネロソーム、例えば、合成アネロソームを提供する。アネロソームを用いて、送達することができる例示的な分泌治療薬として、例えば、抗体分子、酵素、ホルモン、サイトカイン分子、補体阻害剤、増殖因子、又は増殖因子阻害剤が挙げられる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下：

(I) 以下：

(a) プロモータエレメントと、

(b) 外性エフェクターをコード化する核酸配列であって、前記核酸配列が、前記プロモータエレメントに作動可能に連結されており、前記外性エフェクターが、成長ホルモン（例えば、hGH）である、核酸配列と；

(c) 以下：

配列番号 54 のヌクレオチド 323～393 の核酸配列、若しくはそれに対して少なくとも 90% 同一の核酸配列を含む 5' UTR ドメインと、
を含む遺伝子エレメント；

(II) 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、例えば ORF1 分子を含むタンパク質性外層を含む合成アネロソームにおいて；

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おり；且つ

前記合成アネロソームが、前記遺伝子エレメントをヒト細胞内に送達することができる、合成アネロソーム。

【請求項 2】

前記 ORF1 分子が、配列番号 217 のアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも 90% の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の合成アネロソーム。

【請求項 3】

前記 ORF1 分子が、配列番号 54 のヌクレオチド 612～2612 によりコード化される、請求項 1～2 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

【請求項 4】

前記遺伝子エレメントが、配列番号 54 のヌクレオチド 2868～2929 の核酸配列、又はそれ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、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

【請求項 5】

前記 ORF1 分子が、表 16 に列挙される arg リッチ領域、ゼリーロールドメイン、超可変ドメイン、N22 ドメイン、及び／又は C 末端ドメインのアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列のうち 1 つ若しくは複数を含むアミノ酸配列を含む、請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

【請求項 6】

前記 ORF1 分子が、配列番号 58 のアミノ酸配列、又はそれ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、請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

【請求項 7】

表 16 に列挙される ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF1/1、若しくは ORF1/2 のアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドをさらに含む、請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

【請求項 8】

前記遺伝子エレメントが、表 16 に列挙される ORF1、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF1/1、若しくは ORF1/2 のアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列をコード化する、請求項 1～7 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

【請求項 9】

前記合成アネロソームが、表 16 に列挙される ORF2、ORF2/2、ORF2/3、TAIP、ORF1/1、若しくは ORF1/2 のアミノ酸配列、又はそれに対して少な

くとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドを含まない、請求項 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

【請求項 10】

前記遺伝子エレメントが、表 16 に列挙される ORF 1、ORF 2、ORF 2 / 2、ORF 2 / 3、ORF 1 / 1、若しくは ORF 1 / 2 のアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも 85% の同一性を有するアミノ酸配列をコード化しない、請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

【請求項 11】

前記 ORF 1 分子が、アミノ酸配列 YNPX²DXGX²N（配列番号 829）（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、請求項 1 ～ 10 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

10

【請求項 12】

前記 ORF 1 分子が、アミノ酸配列 YNPX²DXGX²N（配列番号 829）とフランキングする第 1 β 鎖及び第 2 β 鎖をさらに含み、例えば、前記第 1 β 鎖は、前記アミノ酸配列 YNPX²DXGX²N（配列番号 829）のチロシン（Y）残基を含み、且つ／又は前記第 2 β 鎖は、前記アミノ酸配列 YNPX²DXGX²N（配列番号 829）の第 2 アスパラギン（N）残基（N から C）を含む、請求項 11 に記載の合成アネロソーム。

【請求項 13】

前記 ORF 1 分子が、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、請求項 1 ～ 12 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

20

【請求項 14】

前記遺伝子エレメントが、宿主細胞内でのローリングサークル複製により増幅されて、例えば、少なくとも 8 コピーを産生することができる、請求項 1 ～ 13 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

【請求項 15】

前記遺伝子エレメントが、一本鎖である、請求項 1 ～ 14 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

【請求項 16】

前記遺伝子エレメントが、環状である、請求項 1 ～ 15 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

30

【請求項 17】

前記遺伝子エレメントが、DNA である、請求項 1 ～ 16 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

【請求項 18】

前記遺伝子エレメントが、マイナス鎖 DNA である、請求項 1 ～ 17 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

【請求項 19】

前記遺伝子エレメントが、前記細胞に進入する前記アネロソームの 10%、8%、6%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.2%、0.1% 未満の頻度で組み込まれ、例えば、前記合成アネロソームは非統合性である、請求項 1 ～ 18 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

40

【請求項 20】

前記遺伝子エレメントが、表 16-1 に示すコンセンサス 5' UTR 核酸配列の配列を含む、請求項 1 ～ 19 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

【請求項 21】

前記遺伝子エレメントが、表 16-2 に示すコンセンサス GC リッチ領域の配列を含む、請求項 1 ～ 20 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム。

【請求項 22】

前記遺伝子エレメントが、少なくとも 100 ヌクレオチド長の配列を含み、これは、少な

50

くとも70%（例えば、約70～100%、75～95%、80～95%、85～95%、若しくは85～90%）の位置のG又はCから構成される、請求項1～21のいずれか1項に記載の合成アネロソーム。

【請求項23】

前記遺伝子エレメントが、配列番号120の核酸配列を含む、請求項1～22のいずれか1項に記載の合成アネロソーム。

【請求項24】

前記プロモータエレメントが、野生型アネロウイルス（Aneellovirus）に対して外性である、請求項1～23のいずれか1項に記載の合成アネロソーム。

【請求項25】

前記プロモータエレメントが、野生型アネロウイルス（Aneellovirus）に対して内在性である、請求項1～24のいずれか1項に記載の合成アネロソーム。

【請求項26】

前記遺伝子エレメントが、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、又は4.5～5.0 kbの長さを有する、請求項1～25のいずれか1項に記載の合成アネロソーム。

【請求項27】

前記合成アネロソームが、例えば、インビトロで、ヒト細胞、例えば、血液細胞、皮膚細胞、筋肉細胞、神経細胞、脂肪細胞、内皮細胞、免疫細胞、肝細胞、肺上皮細胞に感染することができる、請求項1～26のいずれか1項に記載の合成アネロソーム。

【請求項28】

実質的に非免疫原性であり、例えば、実施例4に記載の方法に従って検出される場合、例えば、検出可能な及び／又は不要な免疫応答を誘導しない、請求項1～27のいずれか1項に記載の合成アネロソーム。

【請求項29】

前記実質的に非免疫原性のアネロソームが、被験者において、免疫応答が欠損する対照被験者における効力の少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、又は100%である効力を有する、請求項28に記載の合成アネロソーム。

【請求項30】

少なくとも1000の前記アネロソームの集団が、少なくとも約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、又は1000コピー）の遺伝子エレメントを1つ若しくは複数のヒト細胞内に送達することができる、請求項1～29のいずれか1項に記載の合成アネロソーム。

【請求項31】

以下：

（I）以下：

（a）プロモータエレメントと、

（b）外性エフェクターをコード化する核酸配列であって、前記核酸配列は、前記プロモータエレメントに作動可能に連結されており、

前記外性エフェクターが、以下：

（i）増殖因子若しくは増殖因子受容体、又はサイトカイン若しくはサイトカイン受容体に結合する抗体分子；

（ii）酵素若しくはその機能性変異体；

（iii）ホルモン若しくはその機能性変異体；

（iv）サイトカイン若しくはその機能性変異体）；

（v）補体阻害剤；

（vi）増殖因子、

10

20

30

40

50

(v i) 増殖因子阻害剤、
(v i i) 凝固因子、又は
(v i i i) S T I N G / c G A S シグナル伝達のもジュレータ
から選択される分泌治療薬である、核酸配列と、

(c) 以下：

配列番号 5 4 のヌクレオチド 3 2 3 ~ 3 9 3 の核酸配列、若しくはそれに対して少なくとも 8 5 % 同一の核酸配列を含む 5 ' U T R ドメインと、
を含む遺伝子エレメント；

(I I) O R F 1 核酸によりコード化されるポリペプチド、例えば、O R F 1 分子を含む
タンパク質性外層

を含む合成アネロソームにおいて、

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おり；且つ

前記合成アネロソームが、前記遺伝子エレメントをヒト細胞に送達することができる、合
成アネロソーム。

【請求項 3 2】

請求項 1 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソーム、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。

【請求項 3 3】

少なくとも 1 0 3、1 0 4、1 0 5、1 0 6、1 0 7、1 0 8、又は 1 0 9 の合成アネロ
ソームを含む、請求項 3 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 4】

前記医薬組成物が、予め定めた比の粒子：感染性単位（例えば、< 3 0 0 : 1、< 2 0 0
: 1、< 1 0 0 : 1、若しくは < 5 0 : 1）を有する、請求項 3 2 又は 3 3 に記載の医薬
組成物。

【請求項 3 5】

以下：

(i) 請求項 1 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソームの前記遺伝子エレメント
の配列を含む第 1 核酸（例えば、二本鎖又は一本鎖環状 D N A）、及び

(i i) 例えば、表 1 6 に列挙される 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 から選択されるアミノ酸配列、又はそれに対して
少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列の 1 つ若しくは複数をコード化する
第 2 核酸配列

を含む、反応混合物。

【請求項 3 6】

前記第 1 核酸及び第 2 核酸が、同じ核酸分子中にある、請求項 3 5 に記載の反応混合物。

【請求項 3 7】

前記第 1 核酸及び第 2 核酸が、異なる核酸分子である、請求項 3 5 に記載の反応混合物。

【請求項 3 8】

前記第 1 核酸及び第 2 核酸が、異なる核酸分子であり、且つ、前記第 2 核酸が、二本鎖環
状 D N A として提供される、請求項 3 5 に記載の反応混合物。

【請求項 3 9】

前記第 1 核酸及び第 2 核酸が、異なる核酸分子であり、且つ、前記第 1 及び第 2 核酸が、
二本鎖環状 D N A として提供される、請求項 3 5 に記載の反応混合物。

【請求項 4 0】

前記第 2 核酸配列が、ヘルパー細胞又はヘルパーウイルスに含まれる、請求項 3 7 に記載
の反応混合物。

【請求項 4 1】

合成アネロソームを作製する方法であって、前記方法が、以下：

a) 以下：

(i) 請求項 1 ~ 4 1 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソームの遺伝子エレメントの前

10

20

30

40

50

記核酸配列を含む第 1 核酸分子と、

(i i) 例えば、表 16 のいずれかに列挙される、ORF 1、ORF 2、ORF 2 / 2、ORF 2 / 3、ORF 1 / 1、若しくは ORF 1 / 2 から選択されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも 85 % の配列同一性を有するアミノ酸配列の 1 つ若しくは複数をコード化する第 2 核酸分子と、

を含む宿主細胞を用意するステップ；及び

b) 合成アネロソームを作製するのに好適な条件下で前記宿主細胞をインキュベートするステップを含み、

それによって前記合成アネロソームを作製する方法。

【請求項 42】

ステップ (a) の前に、前記第 1 核酸分子及び／又は前記第 2 核酸分子を前記細胞に導入するステップをさらに含む、請求項 41 に記載の方法。

【請求項 43】

前記第 2 核酸分子が、前記第 1 核酸分子の前に、それと同時に、又はその後に前記宿主細胞に導入される、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 44】

前記第 2 核酸分子が、前記宿主細胞のゲノム中に組み込まれる、請求項 41 又は 42 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 45】

前記第 2 核酸分子が、ヘルパー（例えば、ヘルパープラスミド又はヘルパーウイルスのゲノム）である、請求項 41 ～ 44 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 46】

第 2 核酸分子が、アミノ酸配列 [W / F] X⁷ H X³ C X¹ C X⁵ H（配列番号 949）（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 ORF 2 分子をコード化する、請求項 41 ～ 44 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 47】

合成アネロソーム調製物を製造する方法であって、前記方法が、以下：

a) 請求項 1 ～ 31 のいずれか 1 項に記載の複数の合成アネロソーム、請求項 32 ～ 34 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物、又は請求項 35 ～ 40 のいずれか 1 項に記載の反応混合物を用意するステップ；

b) 任意選択で、以下：本明細書に記載の混入物、光学密度測定値（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）のうち 1 つ又は複数について前記複数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、前記複数の合成アネロソームを製剤化するステップ

を含む、方法。

【請求項 48】

以下：

(i) 請求項 1 ～ 47 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソームの遺伝子エレメントの前記核酸配列を含む第 1 核酸分子、及び

(i i) 任意選択で、表 16 のいずれかに列挙される ORF 1、ORF 2、ORF 2 / 2、ORF 2 / 3、ORF 1 / 1、若しくは ORF 1 / 2 から選択されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも 85 % の配列同一性を有するアミノ酸配列の 1 つ若しくは複数をコード化する第 2 核酸分子；

を含む宿主細胞。

【請求項 49】

外性エフェクター（例えば、治療用外性エフェクター）を哺乳動物細胞に送達する方法において、以下：

(a) 請求項 1 ～ 48 のいずれか 1 項に記載の合成アネロソームを用意するステップ；及

10

20

30

40

50

び

(b) 哺乳動物細胞を前記合成アネロソームと接触させるステップ

を含み；

ここで、前記合成アネロソームは、前記遺伝子エレメントを前記哺乳動物細胞に送達することができる；

任意選択で、前記遺伝子エレメントを宿主細胞中の前記タンパク質性外層内に閉じ込めるのに好適な条件下で、前記遺伝子エレメントを前記宿主細胞に導入することにより、前記合成アネロソームが生産され；

これによって、前記治療用外性エフェクターを前記哺乳動物細胞に送達する、方法。

【請求項50】

前記遺伝子エレメントの宿主細胞への送達を目的とする、請求項1～31のいずれか1項に記載の合成アネロソーム又は請求項32～34のいずれか1項に記載の医薬組成物の使用。

【請求項51】

被験者の疾患又は障害の治療を目的とする、請求項1～31のいずれか1項に記載の合成アネロソーム又は請求項32～34のいずれか1項に記載の医薬組成物の使用。

【請求項52】

被験者の疾患又は障害の治療に使用するための、請求項1～31のいずれか1項に記載の合成アネロソーム又は請求項32～34のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項53】

被験者の疾患又は障害を治療する方法であって、前記方法が、請求項1～31のいずれか1項に記載の合成アネロソーム又は請求項32～34のいずれか1項に記載の医薬組成物を前記被験者に投与するステップを含む、方法。

【請求項54】

被験者の疾患又は障害の治療のための薬剤の製造における請求項1～31のいずれか1項に記載の合成アネロソーム又は請求項32～34のいずれか1項に記載の医薬組成物の使用。

【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、2018年12月12日に出願された米国仮特許出願第62／778，869号明細書、及び2018年12月12日に出願された米国仮特許出願第62／778，866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

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、2019年12月9日に作成され、V2057-7002WO__SL.txtと題し、そのサイズは、825，822バイトである。

【背景技術】

【0003】

患者に治療用遺伝物質を送達するための好適なベクターを開発するニーズが依然として存在する。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【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

10

20

30

40

50

、又は治療薬若しくは治療エフェクター（例えば、分泌タンパク質）を送達するために用いることができるアネロソーム、例えば、合成アネロソームを提供する。アネロソームを用いて、送達することができる例示的な分泌治療薬として、例えば、抗体分子、酵素、ホルモン、サイトカイン分子、補体阻害剤、増殖因子、又は増殖因子阻害剤が挙げられる。

【0005】

一部の実施形態では、アネロソーム（例えば、粒子、例えば、ウイルス粒子、例えば、アネロウイルス（Ane ll o v i r u s）粒子）は、タンパク質性外層（例えば、アネロウイルス（Ane ll o v i r u s）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（Ane ll o v i r u s）ORF1タンパク質又はアネロウイルス（Ane ll o v i r u s）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、治療用DNAを含む遺伝子エレメント）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。一部の実施形態では、アネロソームは、アネロウイルス（Ane ll o v i r u s）ORF1核酸（例えば、アルファトルクウイルス（Al ph a t o r q u e v i r u s）、ベータトルクウイルス（Be t a t o r q u e v i r u s）、又はガンマトルクウイルス（Ga m m a t o r q u e v i r u s）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（Al ph a t o r q u e v i r u s）クレード1、アルファトルクウイルス（Al ph a t o r q u e v i r u s）クレード2、アルファトルクウイルス（Al ph a t o r q u e v i r u s）クレード3、アルファトルクウイルス（Al ph a t o r q u e v i r u s）クレード4、アルファトルクウイルス（Al ph a t o r q u e v i r u s）クレード5、アルファトルクウイルス（Al ph a t o r q u e v i r u s）クレード6、若しくはアルファトルクウイルス（Al ph a t o r q u e v i r u s）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粒子である。本開示のアネロソームの遺伝子エレメントは、典型的に、環状及び／又は一本鎖DNA分子（例えば、環状且つ一本鎖）であり、概して、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含み、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。一部の事例では、遺伝子エレメントは、環状又は線状である。一部の事例では、遺伝子エレメントは、例えば、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、又はポリペプチドエフェクター、例えば、タンパク質）を含むか、又はコード化する。一部の実施形態では、エフェクターは、例えば、本明細書に記載のような、治療薬又は治療用エフェクター（例えば、分泌治療薬、例えば分泌ポリペプチド）である。一部の事例では、エフェクターは、例えば、野生型アネロウイルス（Ane ll o v i r u s）又は標的細胞に対して、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 ll 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、アネロソームは、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、実施例3及び4に記載されるように）。別の例では、アネロソームは、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、実施例19及び28に記載されるように）。アネロソームは、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

10

20

30

40

50

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。

【0006】

本発明はさらに、合成アネロソームを提供する。合成アネロソームは、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（*Anellovirus*））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、合成アネロソームは、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、アネロソームは、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、 $\text{TNF-}\alpha$ 、 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、アネロソームは、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。

10

【0007】

一態様では、本発明は、(i) タンパク質性外層；(b) プロモータエレメントと、外性エフェクターをコード化する核酸配列（例えば、DNA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を含む、アネロソームを特徴とし；ここで、外性エフェクターは、以下：抗体分子、酵素、ホルモン、サイトカイン分子、補体阻害剤、増殖因子、又は増殖因子阻害剤、又はそれらのいずれかの機能性変異体から選択される分泌ポリペプチドを含み；その際、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；アネロソームは、遺伝子エレメントを真核細胞に送達するように構成されている。任意選択で、遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、修飾（例えば、酵素的修飾）、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン若しくはその部分（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5'UTR、オープンリーディングフレーム（ORF）、ポリ（A）シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を有する。

20

30

【0008】

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、内在性若しくは外性エフェクター）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；及び(ii) タンパク質性外層を含む合成アネロソームを特徴とし；ここで、遺伝子エレメントは、タンパク質性外層（例えば、キャプシド）内に閉じ込められており；且つアネロソームは、遺伝子エレメントを真核生物（例えば、哺乳動物、例えば、ヒト）細胞内に送達することができる。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、一本鎖及び／又は環状DNAである。これに代わり、又はこれと組み合わせて、遺伝子エレメントは、下記特性の1つ、2つ、3つ、又は全部を有する：環状である、一本鎖である、細胞に進入する遺伝子エレメントの約0.0001%、0.001%、0.005%、0.01%、0.05%、0.1%、0.5%、1%、1.5%、又は2%未満の頻度で細胞のゲノム中に組み込まれる、且つ／又はゲノム当たり1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、若しくは30コピー未満で標的細胞のゲノム中に組み込まれる。一部の実施形態では、組込み頻度は、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決定される。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、タンパク質性外層内に閉じ込められる。一部の実施形態では、アネロソームは、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。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、野生型

40

50

アネロウイルス (Anellovirus) の配列 (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、表 A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1~B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは 17 のいずれかに挙げる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核酸配列 (例えば、300~4000ヌクレオチド、例えば、300~3500ヌクレオチド、300~3000ヌクレオチド、300~2500ヌクレオチド、300~2000ヌクレオチド、300~1500ヌクレオチドの核酸配列) を含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス (Anellovirus) の配列 (例えば、表 A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1~B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは 17 のいずれかに挙げる、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核酸配列 (例えば、少なくとも 300ヌクレオチド、500ヌクレオチド、1000ヌクレオチド、1500ヌクレオチド、2000ヌクレオチド、2500ヌクレオチド、3000ヌクレオチド以上の核酸配列) を含む。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。

10

20

30

40

50

【0009】

一態様では、本発明は、アネロウイルス (Anellovirus) 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 (ヒト細胞に対して) 粒子を特徴とし、キャプシドは、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。一部の実施形態では、粒子は、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。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス (Anellovirus) に対して約 6% 未満 (例えば、6%、5.5%、5%、4.5%、4%、3.5%、3%、2.5%、2%、1.5% 未満) の同一性を有する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス (Anellovirus) に対して 1.5%、2%、2.5%、3%、3.5%、4%、4.5%、5%、5.5% 又は 6% 以下の同一性を有する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス (Anellovirus) に対して少なくとも約 2%~少なくとも約 5.5% (例えば、2~5%、3~5%、4~5%) の同一性を有する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、非ウイルス配列 (例えば、非アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列) の約 2000、3000、4000、4500、若しくは 5000 超のヌクレオチドを有する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、非ウイルス配列 (例えば、非アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列) の約 2000~5000、2500~4500、3000~4500、2500~4500、3500、又は 4000、4500 (例えば、約 3000~4500) 超のヌクレオチドを有する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、一本鎖、環状 DNA である。これに代わり、又は組み合わせて、遺伝子エレメントは、下記特性の 1つ、2つ若しくは 3つを有する：環状である、一本鎖である、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%、又は 2% 未満の頻度で細胞のゲノム中に組み込まれる、ゲノム当たり 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、若しくは 30 コピー未満で標的細胞のゲ

ノム中に組み込まれる、又は細胞に進入する遺伝子エレメントの約 0.0001%、0.001%、0.005%、0.01%、0.05%、0.1%、0.5%、1%、1.5%、又は 2% 未満の頻度で組み込まれる。一部の実施形態では、組込み頻度は、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決定される。

【0010】

本明細書にはまた、アネロウイルス (Ane ll o v i r u s) に基づくウイルスベクター及びウイルス粒子も記載され、これらを用いて、薬剤 (例えば、外性エフェクター若しくは内在性エフェクター、例えば、治療用エフェクター) を細胞 (例えば、治療又は予防目的で処置しようとする被験者の細胞) に送達することができる。一部の実施形態では、アネロウイルス (Ane ll o v i r u s) 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。

10

【0011】

一態様では、本発明は、以下のものを (例えば、連続して) 含むポリペプチド (例えば、合成ポリペプチド、例えば、ORF1) を特徴とする：

(i) アルギニンリッチ領域、例えば、本明細書に記載されるアルギニンリッチ領域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アミノ酸配列、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 アミノ酸の配列を含む第 1 領域、

20

(ii) ゼリーロール (j e l l y - r o l l) ドメイン、例えば、本明細書に記載されるゼリーロール領域配列に対して少なくとも 30% (例えば、少なくとも約 30、35、40、50、60、70、80、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、又は少なくとも 6 つの β 鎖を含む配列を含む第 2 領域、

(iii) 本明細書に記載される N22 ドメイン配列に対して少なくとも 30% (例えば、少なくとも約 30、35、40、50、60、70、80、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第 3 領域、

(iv) 本明細書に記載されるアネロウイルス (Ane ll o v i r u s) ORF1 C 末端ドメイン (CTD) 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アミノ酸配列を含む第 4 領域、並びに

30

(v) 任意選択で、上記ポリペプチドは、本明細書に記載される野生型アネロウイルス (Ane ll o v i r u s) ORF1 タンパク質に対して 100%、99%、98%、95%、90%、85%、80% 未満の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0012】

一部の実施形態では、ポリペプチドは、本明細書に記載される (表 A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1~C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20~37、若しくは D1~D10 のいずれかに列挙される) アネロウイルス (Ane ll o v i r u s) ORF1 分子に対して少なくとも約 70、80、90、95、96、97、98、99、若しくは 100% の配列同一性を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載される (表 A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1~C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20~37、若しくは D1~D10 のいずれかに列挙される) アネロウイルス (Ane ll o v i r u s) ORF1 分子の部分配列 (例えば、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)) に対して少なくとも約 70、80、90、95、96、97、98、99、若しくは 100% の配列同一性を含む。一実施形態では、(i)、(ii)、(iii)、及び (iv) 領域のアミノ酸配列は、それら各々の参照配列に対して少なくとも約 90% の配列同一性を有し、ポリペプチドは、本明

40

50

細書に記載される野生型アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 タンパク質に対して 100%、99%、98%、95%、90%、85%、80%未満の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0013】

一態様では、本発明は、本明細書に記載のポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 分子）、並びにプロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA 配列）と、タンパク質結合配列と、を含む遺伝子エレメントを含む複合体を特徴とする。

【0014】

本開示はさらに、核酸配列（例えば、本明細書に記載の遺伝子エレメントを含む核酸分子、又は本明細書に記載のタンパク質性外部タンパク質をコード化する配列を含む核酸分子）も提供する。本発明の核酸分子は、(a) 本明細書に記載の遺伝子エレメント、及び (b) 本明細書に記載のタンパク質性外部タンパク質をコード化する核酸配列の一方又は両方を含み得る。

【0015】

一態様では、本発明は、エフェクター、例えば、ペイロードをコード化する配列に作動可能に連結したプロモータエレメントと、外部タンパク質結合配列と、を含む遺伝子エレメントを含む単離された核酸分子を特徴とする。一部の実施形態では、外部タンパク質結合配列は、本明細書に開示されるアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) の 5' UTR 配列と少なくとも 75%（少なくとも 80%、85%、90%、95%、97%、100%）同一の配列を含む。複数の実施形態において、遺伝子エレメントは、一本鎖 DNA である、環状である、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、且つ／又はゲノム当たり 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、若しくは 30 コピー未満で標的細胞のゲノム中に組み込まれるか、或い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、組み込み頻度は、W a n g e t a l . (2004, G e n e T h e r a p y 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決定される。複数の実施形態において、エフェクターは、T T V 由来ではなく、また、S V 40-miR-S1 ではない。複数の実施形態において、核酸分子は、T T M V-L Y 2 のポリヌクレオチド配列を含まない。複数の実施形態において、プロモータエレメントは、真核生物（例えば、哺乳動物、例えば、ヒト）細胞でのエフェクターの発現を指令することができる。

【0016】

一部の実施形態では、核酸分子は、環状である。一部の実施形態では、核酸分子は、線状である。一部の実施形態では、本明細書に記載の核酸分子は、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。

【0017】

一部の実施形態では、核酸分子は、O R F 1 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 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含む。一部の実施形態では、核酸分子は、O R F 2 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 2 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含む。一部の実施形態では、核酸分子は、O R F 3 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 3 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含む。一態様では、本発明は、以下の 1つ、2つ、若しくは 3つを含む遺伝子エレメントを特徴とする：(i) プロモータエレメントと、エフェクター、例えば、外性若しくは内在性エフェクターをコード化する配列；(ii) 野生型アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 配列に対して少なくとも 75%（例えば、少なくと

10

20

30

40

50

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、少なくとも72個の連続した核酸(例えば、少なくとも72、73、74、75、76、77、78、79、80、90、100、若しくは150ヌクレオチド);又は野生型アネロウイルス(*Anellovirus*)配列に対して少なくとも72%(例えば、少なくとも72、73、74、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、少なくとも100個(例えば、少なくとも300個、500個、1000個、1500個)の連続した核酸;並びに(iii)タンパク質結合配列、例えば、外部タンパク質結合配列、ここで、核酸構築物は、一本鎖DNAである;並びに、核酸構築物は、環状であり、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%、又は2%の頻度で組み込まれる、且つ/又はゲノム当たり1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、若しくは30コピー未満で標的細胞のゲノム中に組み込まれる。一部の実施形態では、エフェクター(例えば、外性若しくは内在性エフェクター)をコード化する遺伝子エレメントは、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、環状である。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、例えば、本明細書に記載されるアネロベクターを含む。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、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、ORF1分子(例えば、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含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、ORF2分子(例えば、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含む。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、ORF3分子(例えば、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含む。

10

20

30

40

【0018】

一態様では、本発明は、以下:(a)ORF1分子、ORF2分子、若しくはORF3分子の1つ又は複数のコード化する配列(例えば、本明細書に記載のアネロウイルス(*Anellovirus*)ORF1をコード化する配列)を含む核酸(ここで、核酸は、プラスミドであるか、ウイルス核酸であるか、又はヘルパー細胞染色体中に組み込まれる)及び(b)遺伝子エレメントを含む宿主細胞又はヘルパー細胞を特徴とし、ここで、遺伝子エレメントは、(i)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)をコード化する核酸配列(例えば、DNA配列)と作動可能に連結したプロモータエレメントと、(ii)(a)のポリペプチドに結合するタンパク質結合配列と、を含み、任意選択で、遺伝子エレメントは、ORF1ポリヌクレオチド(例えば、ORF1タンパク質)をコード化しない。例えば、宿主細胞又はヘルパー細胞は、(a)及び(b)をcis(同じ核酸分子の两部分)又はtrans(異なる核酸分子の各部分)のいずれかで含む。複数の実施形態において、(b)の遺伝子エレメントは、環状、一本鎖DNAである。一部の実施形態では、宿主細胞は、生産細胞株である。一部の実施形態では、宿主細胞又はヘルパー細胞は、接着性若しくは懸濁状態、又はその両方である。一部の実施形態では、宿主細胞又はヘルパー細胞は、マイクロキャリア中で増殖させる。一部の実施形態では、宿主細胞又はヘルパー細胞は、cGMP製造規範に適合している。一部の実施形態では、宿主細胞又はヘルパー細胞は、細胞増殖を促進するのに好適な培地中で増殖させる。特定の実施形態では、宿主細胞又はヘルパー細胞が十分に(例えば、適切な細胞密度まで)増殖したら、培地を、宿主細胞又はヘルパー細胞によるアネロソームの産生に好適な培地と交換してもよい。

【0019】

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ソーム(例えば、合成アネロソーム)を含む医薬組成物を特徴とする。複数の実施形態において、医薬組成物は、薬学

50

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10⁵～10¹⁴ゲノム当量を含む単位用量を含む。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ソーム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。

【0020】

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、アネロソーム、例えば、本明細書に記載されるような例えば合成アネロソームを被験者に投与するステップを含む。

【0021】

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、アネロソーム、例えば、本明細書に記載されるような例えば合成アネロソームを被験者に投与するステップを含み、ここで、アネロソームは、エフェクターをコード化する核酸を含む。複数の実施形態において、ペイロードは、核酸である。複数の実施形態において、ペイロードは、ポリペプチドである。

【0022】

一態様では、本発明は、アネロソームを細胞に送達する方法を特徴とし、これは、アネロソーム、例えば、本明細書に記載されるような例えば合成アネロソームを細胞、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。

【0023】

一態様では、アネロソーム、例えば、合成アネロソームを製造する方法を特徴とする。この方法は、以下：

a) 以下：

(i) アネロソーム、例えば、本明細書に記載される合成アネロソームの遺伝子エレメントの核酸配列を含む第1核酸分子と、

(ii) 第1核酸、又は例えば、表16のいずれかに列挙されるように、ORF1、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF1／1、若しくはORF1／2から選択されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも70％（例えば、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の1つ若しくは複数をコード化する第2核酸分子と

を含む宿主細胞を用意するステップ；及び

b) アネロソームを作製するのに好適な条件下で宿主細胞をインキュベートするステップを含む。

【0024】

一部の実施形態では、本方法は、ステップ(a)の前に、第1核酸分子及び／又は第2核酸分子を宿主細胞に導入するステップをさらに含む。一部の実施形態では、第2核酸分子は、第1核酸分子の前に、それと同時に、又はその後に宿主細胞に導入する。他の実施形態では、第2核酸分子は、宿主細胞のゲノム中に組み込む。一部の実施形態では、第2核酸分子は、ヘルパー（例えば、ヘルパープラスミド又はヘルパーウイルスのゲノム）である。

【0025】

別の態様では、本発明は、アネロソーム組成物を製造する方法を特徴とし、これは、以下：

10

20

30

40

50

a) アネロソーム、例えば、本明細書に記載される合成アネロソームの1つ若しくは複数の成分（例えば、全成分）を含む、例えば、発現する宿主細胞を用意するステップを含む。例えば、宿主細胞は、(a) 本明細書に記載のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1をコード化する配列を含む核酸（ここで、核酸は、プラスミドであるか、ウイルス核酸であるか、又はヘルパー細胞染色体中に組み込まれる）；及び(b) 遺伝子エレメントを含み、ここで、遺伝子エレメントは、(i) 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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA配列）に動可能に連結したプロモータエレメントと、(i) (a) のポリペプチドに結合するタンパク質結合配列と、を含み、その際、宿主細胞又はヘルパー細胞は、(a) 及び(b) をcis又はtransのいずれかで含む。複数の実施形態において、(b) の遺伝子エレメントは、環状、一本鎖DNAである。一部の実施形態では、宿主細胞は、生産細胞株であり；

10

b) 宿主細胞からアネロソームの調製物を生産するのに好適な条件下で宿主細胞を培養し（ここで、調製物のアネロソームは、遺伝子エレメント（例えば、本明細書に記載される通り）を包膜するタンパク質性外層（例えば、ORF1分子を含む）を含む）、それにより、アネロソームの調製物を製造するステップ；並びに任意選択で、c) 例えば、被験者への投与に好適な医薬組成物として、アネロソームの調製物を製剤化するステップ。

【0026】

一部の実施形態では、生産の時点でアネロソームの成分を宿主細胞に導入する（例えば、一過性トランスフェクションにより）。一部の実施形態では、宿主細胞は、アネロソームの成分を安定して発現する（例えば、その場合、アネロソームの成分をコード化する1つ若しくは複数の核酸が、宿主細胞、又はその前駆細胞に、例えば、安定なトランスフェクションによって導入される）。

20

【0027】

一部の実施形態では、本方法は、さらに、1つ又は複数の精製ステップ（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）を含む。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、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。

30

【0028】

一態様では、本発明は、アネロソーム組成物を製造する方法を特徴とし、これは、以下：
a) 本明細書に記載される複数のアネロソーム、又は本明細書に記載されるアネロソームの調製を提供するステップ；並びにb) アネロソーム若しくはその調製を、例えば、被験者への投与に好適な医薬組成物として製剤化するステップを含む。

【0029】

一態様では、本発明は、アネロソームを含む宿主細胞、例えば、第1宿主細胞又はプロデューサ細胞（例えば、図12に示すものなど）、例えば、第1宿主細胞の集団を作製する方法を特徴とし、本方法は、例えば、本明細書に記載の通り、遺伝子エレメントを宿主細胞に導入するステップと、アネロソームの産生に好適な条件下で宿主細胞を培養するステップと、を含む。複数の実施形態では、本方法は、ヘルパー、例えば、ヘルパーウイルスを宿主細胞に導入するステップをさらに含む。複数の実施形態では、導入ステップは、アネロソームを用いた宿主のトランスフェクション（例えば、化学的トランスフェクション）又はエレクトロポレーションを含む。

40

【0030】

一態様では、本発明は、アネロソームを作製する方法を特徴とし、本方法は、例えば、本明細書に記載の通り、アネロソームを含む宿主細胞、例えば、第1宿主細胞又はプロデューサ細胞（例えば、図12に示す通り）を提供するステップと、宿主細胞からアネロソーム

50

ムを精製するステップと、を含む。一部の実施形態では、本方法は、提供ステップの前に、宿主細胞を、例えば、本明細書に記載されるアネロソームと接触させるステップと、アネロソームの産生に好適な条件下で宿主細胞をインキュベートするステップをさらに含む。複数の実施形態では、宿主細胞は、前述した宿主細胞の作製方法に記載される第1宿主細胞又はプロデューサ細胞である。複数の実施形態では、宿主細胞からアネロソームを精製するステップは、宿主細胞を溶解させるステップを含む。

【0031】

一部の実施形態では、本方法は、第1宿主細胞又はプロデューサ細胞により産生されたアネロソームを第2宿主細胞、例えば、許容細胞（例えば、図12に示す通り）、例えば、第2宿主細胞の集団と接触させる第2ステップをさらに含む。一部の実施形態では、本方法は、アネロソームの産生に好適な条件下で第2宿主細胞をインキュベートするステップをさらに含む。一部の実施形態では、本方法は、さらに、第2宿主細胞からアネロソームを精製して、例えば、これによりアネロソームシード集団を生産するステップを含む。複数の実施形態では、第1宿主細胞の集団からのものと比較して、第2宿主細胞の集団から少なくとも約2〜100倍多いアネロソームが産生される。複数の実施形態では、第2宿主細胞からアネロソームを精製するステップは、第2宿主細胞を溶解させるステップを含む。一部の実施形態では、本方法は、第2宿主細胞により産生されたアネロソームを第3宿主細胞、例えば、許容細胞（例えば、図12に示す通り）、例えば、第3宿主細胞の集団と接触させるステップをさらに含む。一部の実施形態では、本方法は、アネロソームの産生に好適な条件下で第3宿主細胞をインキュベートするステップをさらに含む。一部の実施形態では、本方法は、第3宿主細胞からのアネロソームを精製して、例えば、これによりアネロソームストック集団を生産するステップを含む。複数の実施形態では、第3宿主細胞からのアネロソームの精製は、第3宿主細胞を溶解させるステップを含む。複数の実施形態では、第2宿主細胞の集団からのものと比較して、第3宿主細胞の集団から少なくとも約2〜100倍多いアネロソームが生成される。

【0032】

一部の実施形態では、宿主細胞は、細胞増殖を促進するのに好適な培地中で増殖させる。特定の実施形態では、宿主細胞又はヘルパー細胞が十分に（例えば、適切な細胞密度まで）増殖したら、培地を、宿主細胞又はヘルパー細胞によるアネロソームの産生に好適な培地と交換してもよい。一部の実施形態では、宿主細胞により産生されたアネロソームは、第2宿主細胞と接触させる前に、宿主細胞から分離する（例えば、宿主細胞を溶解することによって）。一部の実施形態では、宿主細胞により産生されたアネロソームは、精製ステップの介入なしに、第2宿主細胞と接触させる。

【0033】

一態様では、本発明は、医薬アネロソーム調製物を作製する方法を特徴とする。この方法は、（a）本明細書に記載のようにアネロソーム調製物を作製するステップ、（b）1つ若しくは複数の医薬品質管理パラメータ、例えば、同一性、純度、力価、効力（例えば、アネロソーム粒子当たりのゲノム当量で）、及び／又はアネロソームに含まれる遺伝子エレメントからの核酸配列について、調製物（例えば、医薬アネロソーム調製物、アネロソームシード集団若しくはアネロソームストック集団）を評価するステップ、並びに（c）予め定めた基準を満たす、例えば、医薬品規格を満たす評価の医薬品用途のために調製物を製剤化するステップを含む。一部の実施形態では、同一性を評価するステップは、アネロソームの遺伝子エレメントの配列、例えば、エフェクターをコード化する配列を評価する（例えば、確認する）ことを含む。一部の実施形態では、純度を評価するステップは、不純物、例えば、マイコプラズマ、内毒素、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）、複製可能な因子（RCA）、例えば、複製可能なウイルス若しくは不要なアネロソーム（例えば、所望のアネロソーム、例えば、本明細書に記載の合成アネロソーム以外のアネロソーム）、遊離ウイルスクャプシドタンパク質、偶発性物質、及び凝集体の量を評価するステップを含む。一部の実施形態では、力価を評価するステップは、調製物中の機

能性及び非機能性（例えば、感染性及び非感染性）アネロソームの比を評価すること（例えば、HPLCによる評価など）を含む。一部の実施形態では、効力を評価するステップは、調製物中検出可能なアネロソーム機能のレベル（例えば、そこにコード化されたエフェクターの発現及び／又は機能又はゲノム当量）を評価することを含む。

【0034】

複数の実施形態において、製剤化された調製物は、実質的に病原体、宿主細胞混入物若しくは不純物を含まず；予め定めたレベルの非感染性粒子又は予め定めた比の粒子：感染性単位（例えば、＜300：1、＜200：1、＜100：1、若しくは＜50：1）を有する。一部の実施形態では、複数のアネロソームを単一バッチ中に生産することができる。複数の実施形態では、バッチ中に生産されたアネロソームのレベルを評価することができる（例えば、個別に、又は一緒に）。

10

【0035】

一態様では、本発明は、以下：

(i) 本明細書に記載されるアネロソームの遺伝子エレメントの核酸配列を含む第1核酸分子、及び

(ii) 任意選択で、表16のいずれかに列挙されるORF1、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF1／1、若しくはORF1／2から選択されるアミノ酸配列、又はそれ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アミノ酸配列の1つ若しくは複数のコード化する第2核酸分子

20

を含む宿主細胞を特徴とする。

【0036】

一態様では、本発明は、本明細書に記載されるアネロソーム及びヘルパーウイルスを含む反応混合物を特徴とし、ここで、ヘルパーウイルスは、ポリヌクレオチド、例えば、外部タンパク質（例えば、外部タンパク質結合配列に結合することができる外部タンパク質、及び任意選択で、脂質エンベロープ）をコード化するポリヌクレオチド、複製タンパク質（例えば、ポリメラーゼ）をコード化するポリヌクレオチド、又はこれらの任意の組合せを含む。

【0037】

一部の実施形態では、アネロソーム（例えば、合成アネロソーム）を単離する、例えば、宿主細胞から単離する、及び／又は溶液（例えば、上清）中の他の構成要素から単離する。一部の実施形態では、アネロソーム（例えば、合成アネロソーム）を、例えば、溶液（例えば、上清）から精製する。一部の実施形態では、溶液中の他の構成要素に対してアネロソームを溶液中で濃縮する。

30

【0038】

前述したアネロソーム、アネロベクター、組成物又は方法のいずれかの一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、例えば、実施例9に記載される方法に従って同定されるようなアネロソームゲノムを含む。複数の実施形態において、アネロソームゲノムは、TTV-tth8核酸配列のヌクレオチド3436～3707の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、若しくは100%の欠失を有するTTV-tth8核酸配列、例えば、表5に示されるTTV-tth8核酸配列を含む。複数の実施形態において、アネロソームゲノムは、TTMV-LY2核酸配列のヌクレオチド574～1371、1432～2210、574～2210、及び／又は2610～2809の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、若しくは100%の欠失を有するTTMV-LY2核酸配列、例えば、表15に示されるTTMV-LY2核酸配列を含む。複数の実施形態において、アネロソームゲノムは、自己複製及び／又は自己増幅が可能なアネロソームゲノムである。複数の実施形態において、アネロソームゲノムは、自己複製及び／又は自己増幅が不可能である。複数の実施形態において、アネロソームゲノムは、transで、例えば、ヘルパー、例えば、ヘルパーウイルスの存在下で複製及び／又は増

40

50

幅することができる。

【0039】

前述したアネロソーム、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。

【0040】

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。

【0041】

実施形態の列挙

10

1. 以下：

(a) タンパク質性外層；

(b) プロモータエレメントと、外性エフェクターをコード化する核酸配列（例えば、DNA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

を含むアネロソームにおいて；

外性エフェクターが、以下：抗体分子、酵素、ホルモン、サイトカイン分子、補体阻害剤、増殖因子、若しくは増殖因子阻害剤、又はそれらのいずれかの機能性変異体から選択される分泌ポリペプチドを含み；

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おり；

20

アネロソームが、遺伝子エレメントを真核細胞に送達するように構成されており；

任意選択で、遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス（Anellovirus）ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5'UTR、オープンリーディングフレーム（ORF）、ポリ（A）シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を含む、アネロソーム。

【0042】

2. 以下：

30

(a) タンパク質性外層；

(b) 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）をコード化する異種核酸配列（例えば、DNA配列）に作動可能に連結したプロモータエレメントを含む遺伝子エレメント

を含むアネロソームにおいて；

外性エフェクターが、抗体分子、酵素、ホルモン、サイトカイン、補体阻害剤、増殖因子、又は増殖因子阻害剤、又はそれらのいずれかの機能性変異体から選択される分泌ポリペプチドを含み；

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おり；

任意選択で、遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス（Anellovirus）ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5'UTR、オープンリーディングフレーム（ORF）、ポリ（A）シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を有する、アネロソーム。

40

【0043】

3. 以下：

(a) タンパク質性外層；

(b) プロモータエレメントと、外性エフェクターをコード化する核酸配列（例えば、D

50

N A 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

を含むアネロソームにおいて;

外性エフェクターが、分泌ポリペプチドを含み;

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おり;

アネロソームが、遺伝子エレメントを真核細胞に送達するように構成されており;

任意選択で、遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列 (例えば、本明細書に記載の通り) 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)、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び/又は欠失、例えば、特定のドメイン (例えば、T A T A ボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR、オープンリーディングフレーム (ORF)、ポリ (A) シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数) の欠失を含む、アネロソーム。

【0044】

4. 抗体分子が、サイトカイン、例えば、表Aのサイトカイン、例えば、IL-6に結合するか、又は抗体分子が、サイトカイン受容体、例えば、表Aの受容体、例えば、IL-6Rに結合する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0045】

5. エフェクターが、表Aのサイトカイン、又はその機能性変異体を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0046】

6. エフェクターが、表Bのホルモン、又はその機能性変異体を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0047】

7. 抗体分子が、増殖因子、例えば、表Cの増殖因子、例えば、VEGFに結合する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0048】

8. 抗体分子が、増殖因子受容体、例えば、表Cの増殖因子受容体、例えば、VEGFに結合する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0049】

9. エフェクターが、以下:

(i) 抗体分子、例えば、抗VEGFR抗体分子、抗VEGF抗体分子、抗サイトカイン抗体分子 (例えば、抗IL6抗体分子)、サイトカイン受容体に結合する抗体分子 (例えば、抗IL6R抗体分子)、又は抗TNF α 抗体分子;

(ii) 酵素、例えば、ADAMTS13若しくはその機能性変異体;

(iii) ホルモン (例えば、ペプチドホルモン、例えば、心房性ナトリウム利尿ペプチド若しくはその機能性変異体);

(iv) サイトカイン (例えば、IL2若しくはTNF α 若しくはその機能性変異体);

(v) 補体阻害剤 (例えば、C3阻害剤、例えば、コンプスタチン若しくはpan-補体阻害剤、例えば、Pge)、又は

(iv) 増殖因子阻害剤、例えば、アンジオポエチン結合ペプチド、例えば、A11アンジオポエチン阻害剤ペプチド

を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0050】

10. 被験者の疾患又は障害を治療する方法であって、本方法は、有効量のアネロソーム組成物を被験者に投与するステップを含み、ここで、アネロソーム組成物は、以下:

(a) タンパク質性外層;

(b) プロモータエレメントと、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) をコード化する核酸配列 (例えば、DNA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

10

20

30

40

50

を含む複数のアネロソームを含有し；

エフェクターが、以下：

抗体分子、酵素、ホルモン、サイトカイン、補体阻害剤、増殖因子、又は増殖因子阻害剤、又はそれらのいずれかの機能性変異体から選択される分泌ポリペプチドを含み；

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おり；

任意選択で、遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5'UTR、オープンリーディングフレーム（ORF）、ポリ（A）シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を有する、方法。

10

【0051】

11．疾患又は障害が、癌、血液障害、炎症性障害（例えば、関節リウマチ）、心臓血管疾患及び／又は代謝疾患、自己免疫疾患若しくは障害、又は繊維症若しくは障害である、実施形態10に記載の方法。

【0052】

12．被験者にエフェクターを送達する方法であって、本方法は、有効量のアネロソーム組成物を被験者に投与するステップを含み、

ここで、アネロソーム組成物は、以下：

20

（a）タンパク質性外層；

（b）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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA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を含む複数のアネロソームを含有し；

外性エフェクターが、以下：

抗体分子、酵素、ホルモン、サイトカイン、補体阻害剤、増殖因子、又は増殖因子阻害剤、又はそれらのいずれかの機能性変異体から選択される分泌ポリペプチドを含み；

任意選択で、遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5'UTR、オープンリーディングフレーム（ORF）、ポリ（A）シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を有し；

30

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おり；

これによってエフェクターを被験者に送達する、方法。

【0053】

13．被験者、例えば、被験者の生物学的機能を調節することにより治療可能な疾患又は障害を有する被験者の生物学的機能を調節、例えば、阻害若しくは増強する方法であって、本方法は、有効量のアネロソーム組成物（例えば、本明細書に記載の通り）を被験者に投与するステップを含み、

40

ここで、アネロソーム組成物は、以下：

（a）タンパク質性外層；

（b）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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA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を含む複数のアネロソームを含有し；

エフェクターが、以下：

抗体分子、酵素、ホルモン、サイトカイン、補体阻害剤、増殖因子、又は増殖因子阻害剤、又はそれらのいずれかの機能性変異体から選択される分泌ポリペプチドを含み；

50

任意選択で、遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス（A n e l l o v i r u s）ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、T A T Aボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' U T R、オープンリーディングフレーム（O R F）、ポリ（A）シグナル、若しくはG Cリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を有し；

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おり；

これによって被験者の生物学的機能を調節、例えば、阻害若しくは増強する、方法。

【0054】

14．抗体分子が、サイトカイン、例えば、表Aのサイトカイン、例えば、I L - 6に結合する、実施形態10～13のいずれかに記載のアネロソーム。

10

【0055】

15．抗体分子が、サイトカイン受容体、例えば、表Aの受容体、例えば、I L - 6 Rに結合する、実施形態10～14のいずれかに記載のアネロソーム。

【0056】

16．エフェクターが、表Aのサイトカイン、又はその機能性変異体を含む、実施形態10～15のいずれかに記載のアネロソーム。

【0057】

17．エフェクターが、表Bのホルモン、又はその機能性変異体を含む、実施形態10～16のいずれかに記載のアネロソーム。

20

【0058】

18．抗体分子が、増殖因子、例えば、表Cの増殖因子、例えば、V E G Fに結合する、実施形態10～17のいずれかに記載のアネロソーム。

【0059】

19．抗体分子が、増殖因子受容体、例えば、表Cの増殖因子受容体、例えば、V E G F Rに結合する、実施形態10～18のいずれかに記載のアネロソーム。

【0060】

20．エフェクターが、以下：

（i）抗体分子、例えば、抗V E G F R抗体分子、抗V E G F抗体分子、抗サイトカイン抗体分子（例えば、抗I L 6抗体分子）、サイトカイン受容体に結合する抗体分子（例えば、抗I L 6 R抗体分子）、又は抗T N F α 抗体分子；

30

（i i）酵素、例えば、A D A M T S 1 3又はその機能性変異体；

（i i i）ホルモン（例えば、ペプチドホルモン、例えば、心房性ナトリウム利尿ペプチド又はその機能性変異体）；

（i v）サイトカイン（例えば、I L 2若しくはT N F α 又はその機能性変異体）；

（v）補体阻害剤（例えば、C 3阻害剤、例えば、コンプスタチン又はp a n - 補体阻害剤、例えば、P g E）、及び／又は

（i v）増殖因子阻害剤、例えば、アンジオポエチン結合ペプチド、例えば、A 1 1アンジオポエチン阻害剤ペプチド

を含む、実施形態10～19のいずれかに記載の方法。

40

【0061】

21．エフェクターが、以下：V E G Fシグナル伝達（例えば、この場合、エフェクターは、抗V E G F R抗体分子若しくは抗V E G F抗体分子、例えば、ベバシズマブ若しくはその機能性変異体、例えば、s c F v；又はF n 3阻害剤を含む）、I L - 6シグナル伝達（例えば、この場合、エフェクターは、抗I L 6抗体分子、例えば、オロキズマブ若しくはその機能性変異体、例えば、s c F v；抗I L 6 R抗体分子、例えば、トシリズマブ若しくはその機能性変異体、例えば、s c F v；を含む）、T N F - α シグナル伝達（例えば、この場合、エフェクターは、抗T N F α 抗体分子、例えば、アダリムマブ若しくはその機能性変異体、例えば、s c F vを含む）、補体シグナル伝達（例えば、補体タンパク質、例えば、補体タンパク質5若しくは補体タンパク質3に結合する抗体分子）、補体

50

5 シグナル伝達（例えば、この場合、エフェクターは、抗補体タンパク質 C 5 抗体分子、例えば、エクリズマブ若しくはその機能性変異体を含む）、補体 3 シグナル伝達（例えば、この場合、エフェクターは、C 3 結合ポリペプチド、例えば、コンプスタチン若しくはその機能性変異体を含む）、補体 C 1 シグナル伝達（例えば、この場合、エフェクターは、C 1 阻害剤、例えば、pan-補体シグナル伝達（例えば、この場合、エフェクターは、補体阻害剤、例えば、SERPING 1 若しくはその機能性変異体を含む）、Pg t E 若しくはその機能性変異体を含む）、インターフェロナー γ シグナル伝達、D P P - I V シグナル伝達（例えば、D D P - I V のペプチド阻害剤、例えば、3 ~ 8 アミノ酸長のペプチド阻害剤）、又はアンジオポエチンシグナル伝達（例えば、この場合、エフェクターは、アンジオポエチン阻害剤、例えば、A 1 1 ペプチド若しくはその機能性変異体を含む）を下方制御するように構成される、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は方法。

10

【0062】

22. エフェクターが、以下：心房性ナトリウム利尿ペプチド（例えば、この場合、エフェクターは、心房性ナトリウム利尿ペプチド若しくはその機能性変異体を含む）、インターフェロナー γ シグナル伝達（例えば、この場合、エフェクターは、インターフェロナー γ シグナル若しくはその機能性変異体を含む）、エリスロポエチンシグナル伝達（例えば、E P O 若しくはその機能性変異体を含む）、G L P - 1 シグナル伝達（例えば、G L P - 1 若しくはその機能性変異体）、増殖因子シグナル伝達（例えば、エフェクターは、増殖因子、例えば、表 C の増殖因子若しくはその機能性変異体を含む）、S T I N G / c G A S シグナル伝達（例えば、この場合、エフェクターは、S T I N G / c G A S 経路のペプチドアクチベータを含む）、又はサイトカインシグナル伝達、例えば、I L - 2 シグナル伝達（例えば、この場合、エフェクターは、I L - 2 若しくはその機能性変異体を含む）を上方制御するように構成される、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は方法。

20

【0063】

23. エフェクターが、以下：腫瘍標的（例えば、この場合、エフェクターは、抗 V E G F R 抗体分子若しくは抗 V E G F 抗体分子、インターフェロナー γ 若しくはその機能性変異体、I L - 2 若しくはその機能性変異体、又は S T I N G / c G A S シグナル伝達のアクチベータを含む）、又は自己免疫若しくは繊維症標的（例えば、この場合、エフェクターは、A D A M T S 1 3 若しくはその機能性変異体、抗 T N F α 抗体分子、抗 I L 6 抗体分子、抗 I L 6 R 抗体分子、コンプスタチン若しくはその機能性変異体、抗補体タンパク質 C 抗体分子、又は P g t E 若しくはその機能性変異体を含む）を調節するように構成される、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は方法。

30

【0064】

24. エフェクターが、プロテアーゼ阻害剤、例えば、α - 1 アンチトリプシン又はその機能性変異体を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は方法。

【0065】

25. エフェクターが、分泌ポリペプチド酵素、例えば、A D A M T S 1 3 又はその機能性変異体を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は方法。

40

【0066】

26. 被験者の疾患又は障害を治療する方法であって、本方法は、有効量のアネロソーム組成物又は単離核酸分子（例えば、発現ベクター）を被験者に投与するステップを含み、ここで、アネロソーム組成物又は単離核酸は、プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA 配列）と、を含む遺伝子エレメントを含み；
その際、

（i）疾患又は障害は、癌を含み、エフェクターは、抗 V E G F 抗体分子、抗 V E G F R 抗体分子）、I F N - γ 若しくはその機能性変異体（例えば、疾患又は障害は、白血病若しくはリンパ腫である）、I L 2 若しくはその機能性変異体、S T I N G / c G A S 経路

50

のペプチドアクチベータ、又は A 1 1 アンジオポエチン阻害剤ペプチドを含み；

(i i) 疾患又は障害は、心臓血管疾患若しくは代謝疾患（例えば、2 型糖尿病）であり、エフェクターは、G L P - 1 を含むか、又はそれに結合し；

(i i i) 疾患又は障害は、自己免疫疾患若しくは繊維症であり、エフェクターは、A D A M T S 1 3（例えば、この場合、疾患又は障害は、血栓性血小板減少性紫斑病である）、抗 T N F α 抗体分子、抗 I L 6 α 抗体分子、抗 I L - 6 R（例えば、抗可溶性 I L - 6 R）抗体分子、又は S T I N G / c G A S シグナル伝達の阻害剤（例えば、抗 S T I N G 抗体分子若しくは阻害性ペプチド）を含み；

(i v) 疾患又は障害は、 α 1 - アンチトリプシン欠乏症であり、エフェクターは、 α - 1 アンチトリプシン又はその機能性変異体を含み；

(v) 疾患又は障害は、網膜症であり、エフェクターは、A 1 1 アンジオポエチン阻害剤ペプチドを含み；

(v i) 疾患又は障害は、加齢黄斑変性（例えば、ウェット型 A M D 若しくはドライ型 A M D）であり、エフェクターは、補体阻害剤、例えば、C 3 阻害剤、例えば、コンプスタチン若しくはその機能性変異体を含み；

(v i i) 疾患又は障害は、遺伝性血管性浮腫であり、エフェクターは、C 1 阻害剤、例えば、S E R P I N G 若しくはその機能性変異体を含み；

(v i i i) 疾患又は障害は、ウイルス性疾患、例えば、肝炎、例えば、B 型肝炎若しくは C 型肝炎であり、エフェクターは、I F N - γ 若しくはその機能性変異体を含み；

(i x) 疾患又は障害は、炎症性疾患、例えば、関節リウマチであり、エフェクターは、抗 T N F α 抗体分子、例えば、アダリムマブ若しくはその機能性変異体、例えば、s c F v；又は抗 I L 6 R 抗体分子（例えば、抗可溶性 I L 6 R）、例えば、トシリズマブ若しくはその機能性変異体、例えば、s c F v を含み；

それにより、被験者の疾患又は障害を治療する方法。

【 0 0 6 7 】

2 7 . 疾患又は障害を有する被験者に、エフェクターを送達する方法であって、本方法は、有効量のアネロソーム組成物又は単離核酸分子（例えば、発現ベクター）を被験者に投与するステップを含み、

ここで、アネロソーム組成物又は単離核酸分子は、プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、D N A 配列）と（例えば、各々本明細書に記載される通り）、を含む遺伝子エレメントを含み；

その際、

(i) 疾患又は障害は、癌を含み、エフェクターは、抗 V E G F 抗体分子、抗 V E G F R 抗体分子）、I F N - γ 若しくはその機能性変異体（例えば、疾患又は障害は、白血病若しくはリンパ腫である）、I L 2 若しくはその機能性変異体、S T I N G / c G A S 経路のペプチドアクチベータ、又は A 1 1 アンジオポエチン阻害剤ペプチドを含み；

(i i) 疾患又は障害は、心臓血管疾患若しくは代謝疾患（例えば、2 型糖尿病）であり、エフェクターは、G L P - 1 を含むか、又はそれに結合し；

(i i i) 疾患又は障害は、自己免疫疾患若しくは繊維症であり、エフェクターは、A D A M T S 1 3（例えば、この場合、疾患又は障害は、血栓性血小板減少性紫斑病である）、抗 T N F α 抗体分子、抗 I L 6 α 抗体分子、抗 I L - 6 R（例えば、抗可溶性 I L - 6 R）抗体分子、又は S T I N G / c G A S シグナル伝達の阻害剤（例えば、抗 S T I N G 抗体分子若しくは阻害性ペプチド）を含み；

(i v) 疾患又は障害は、 α 1 - アンチトリプシン欠乏症であり、エフェクターは、 α - 1 アンチトリプシン又はその機能性変異体を含み；

(v) 疾患又は障害は、網膜症であり、エフェクターは、A 1 1 アンジオポエチン阻害剤ペプチドを含み；

(v i) 疾患又は障害は、加齢黄斑変性（例えば、ウェット型 A M D 若しくはドライ型 A M D）であり、エフェクターは、補体阻害剤、例えば、C 3 阻害剤、例えば、コンプスタ

10

20

30

40

50

チン若しくはその機能性変異体を含み；

(v i i) 疾患又は障害は、遺伝性血管性浮腫であり、エフェクターは、C 1 阻害剤、例えば、S E R P I N G 若しくはその機能性変異体を含み；

(v i i i) 疾患又は障害は、ウイルス性疾患、例えば、肝炎、例えば、B 型肝炎若しくは C 型肝炎であり、エフェクターは、I F N - γ 若しくはその機能性変異体を含み；

(i x) 疾患又は障害は、炎症性疾患、例えば、関節リウマチであり、エフェクターは、抗 T N F α 抗体分子、例えば、アダリムマブ若しくはその機能性変異体、例えば、s c F v；又は抗 I L 6 R 抗体分子（例えば、抗可溶性 I L 6 R）、例えば、トシリズマブ若しくはその機能性変異体、例えば、s c F v を含み；

それにより、被験者の疾患又は障害を治療する方法。

10

【0068】

28. アネロソーム組成物を製造する方法であって、本方法は、以下：

a) 先行実施形態のいずれかに記載のアネロソームの成分をコード化する 1 つ若しくは複数の核酸分子を含む宿主細胞を用意するステップ；

b) 細胞が、1 つ若しくは複数のアネロソームを産生することを可能にする条件下で宿主細胞を維持（例えば、培養）し、それにより、アネロソームを作製するステップ；並びに

c) 例えば、被験者への投与に好適な医薬組成物として、アネロソームの調製物を製剤化するステップ

を含む、方法。

20

【0069】

29. アネロソーム組成物を製造する方法であって、本方法は、以下：

a) 先行実施形態のいずれかに記載の複数のアネロソーム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、光学密度測定値（例えば、O D 2 6 0）、粒子数（例えば、H P L C により）、感染力（例えば、粒子：感染単位比）のうち 1 つ又は複数について上記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、複数のアネロソームを製剤化するステップ

を含む、方法。

【0070】

30. アネロソーム組成物が、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} 、又は 10^{15} 個のアネロソームを含む、実施形態 28 に記載の方法。

30

【0071】

31. アネロソーム組成物が、少なくとも 10 ml、20 ml、50 ml、100 ml、200 ml、500 ml、1 L、2 L、5 L、10 L、20 L、又は 50 L を含む、実施形態 28 又は 30 に記載の方法。

【0072】

32. 遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、T A T A ボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' U T R、オープンリーディングフレーム (O R F)、ポリ (A) シグナル、若しくは G C リッチ領域のうち 1 つ若しくは複数）の欠失を有する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は方法。

40

【0073】

33. 遺伝子エレメントが、核酸配列：

(i) C G C G C T G C G C G C G C C G C C C A G T A G G G G G A G C C A T G C (配列番号 160)；

(i i) G C G C T X₁ C G C G C G C G C G C C G G G G G C T G C G C C C C C C C (配列番号 164) (X₁ は、T、G、若しくは A から選択される)

50

(i i i) G C G C T T C G C G C G C C G C C C A C T A G G G G G C G T T G C G C G (配列番号 1 6 5) ;

(i v) G C G C T G C G C G C G C C G C C C A G T A G G G G G C G C A A T G C G (配列番号 1 6 6) ;

(v) G C G C T G C G C G C G C G G C C C C C G G G G G A G G C A T T G C C T (配列番号 1 6 7) ;

(v i) G C G C T G C G C G C G C G C G C C G G G G G G C G C C A G C G C C C (配列番号 1 6 8) ;

(v i i) G C G C T T C G C G C G C G C G C C G G G G G G C T C C G C C C C C C C (配列番号 1 6 9) ;

(v i i i) G C G C T T C G C G C G C G C G C C G G G G G G C T G C G C C C C C C C (配列番号 1 7 0) ;

(i x) G C G C T A C G C G C G C G C G C C G G G G G G C T G C G C C C C C C C C (配列番号 1 7 1) ; 若しくは

(x) G C G C T A C G C G C G C G C G C C G G G G G G C T C T G C C C C C C C C (配列番号 1 7 2) ;

又はそれらと少なくとも 7 5、7 6、7 7、7 8、7 9、8 0、8 5、9 0、9 1、9 2、9 3、9 4、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核酸配列

の少なくとも 1 0、1 5、2 0、2 5、3 0、3 1、3 2、3 3、3 4、3 5、若しくは 3 6 個の連続したヌクレオチドを含む領域を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は方法。

【 0 0 7 4 】

3 4 . 遺伝子エレメントが、少なくとも 7 0 %、7 1 %、7 2 %、7 3 %、7 4 %、7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、若しくは 8 0 . 6 % の G C 含有率を有する少なくとも 2 0、2 5、3 0、3 1、3 2、3 3、3 4、3 5、又は 3 6 個の連続したヌクレオチドを含む配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は方法。

【 0 0 7 5 】

3 5 . 遺伝子エレメントが、少なくとも 8 0 % の G C 含有率を有する少なくとも 2 0、2 5、3 0、3 1、3 2、3 3、3 4、3 5、又は 3 6 個の連続したヌクレオチドを含む、実施形態 3 4 に記載のアネロソーム又は方法。

【 0 0 7 6 】

3 6 . 遺伝子エレメントが、少なくとも 7 0 %、7 1 %、7 2 %、7 3 %、7 4 %、7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、又は 8 0 . 6 % の G C 含有率を有する少なくとも 3 6 個の連続したヌクレオチドを含む、実施形態 3 4 に記載のアネロソーム又は方法。

【 0 0 7 7 】

3 7 . 遺伝子エレメントが、少なくとも 8 0 % の G C 含有率を有する少なくとも 3 6 個の連続したヌクレオチドを含む、実施形態 3 4 に記載のアネロソーム又は方法。

【 0 0 7 8 】

3 8 . エフェクターが、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、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は方法。

【 0 0 7 9 】

1 0 0 0 . 以下 :

(a) 本明細書に記載されるアルギニンリッチ領域配列 (例えば、M P Y Y Y R R R R Y N Y R R P R W Y G R G W I R R P F R R R F R R K R R V R (配列番号 2 1 6) 若しくは

10

20

30

40

50

【化 1】

MAWGWWRKRRRWFRKRWTRGRLRRRWPRSAARRRPRRRRVRRRRRWRRGRKTRTYRRRR
RFRRRGRK (配列番号186)

、又は表 A 2、A 4、A 6、A 8、A 10、A 12、C 1～C 5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくは D 1～D 10 のいずれかに列挙される通り) 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アミノ酸配列、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 40 個のアミノ酸の配列を含む第 1 領域、

10

(b) 本明細書に記載されるゼリーロール領域配列 (例えば、

【化 2】

PTYTTIPLKQWQPPYKRTCYIKGQDCLIIYSNLRLGMNSTMYEKSIVPVHWPGGGSFSVSMLTLD
ALYDIHKLRCRNWWTSTNQDLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHTELPANSNKLTYPNTHPLM
MMMSKYKHIIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPPPQFENKWFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNPFVKP
DKLSNNVTLSLNT (配列番号217)

20

、又は表 A 2、A 4、A 6、A 8、A 10、A 12、C 1～C 5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくは D 1～D 10 のいずれかに列挙される通り) に対して少なくとも 30% (例えば、少なくとも約 30、35、40、50、60、70、80、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、又は少なくとも 6 つ (例えば、少なくとも 6、7、8、9、10、11、若しくは 12) の β 鎖を含む配列を含む第 2 領域；

(c) 本明細書に記載される N 2 2 ドメイン配列 (例えば、

【化 3】

TMALTPFNEPIFTQIQYNPDRDTGEDTQLYLLSNATGTGWDPPGIPELILEGFPLWLIYWGFADFQ
KNLKKVTNIDTNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVILNDTFVEGNSPYEKQPLPEDNIKWYPQVQYQL
EAQNKLLQTGPFTPNIQGQLSDNISMFYKFYFK (配列番号219)

30

、又は表 A 2、A 4、A 6、A 8、A 10、A 12、C 1～C 5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくは D 1～D 10 のいずれかに列挙される通り) に対して少なくとも 30% (例えば、少なくとも約 30、35、40、50、60、70、80、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第 3 領域；並びに

(d) 本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 C 末端ドメイン (CTD) 配列 (例えば、

40

【化 4】

WGGSPPKAINVENPAHQIQYPIPRNEHETTSLSQSPGEAPESILYSFDYRHGNYTTTALSRSISQDWA
LKDTVSKITEPDRQQLLKQALECLQISEETQEKKKEKEVQQLISNLRQQQQLYRERIISLLKDQ
(配列番号220)

、又は表 A 2、A 4、A 6、A 8、A 10、A 12、C 1～C 5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくは D 1～D 10 のいずれかに列挙される通り) に対して少なくとも 30% (例えば、少なくとも約 30、35、40、50、60、70、80、90、95、96、97、98、99、若しくは 100%) の配列同一性

50

を有するアミノ酸配列を含む第 4 領域

のうち 1 つ又は複数を含むポリペプチド、例えば、O R F 1 分子であって、O R F 1 分子が、野生型 O R F 1 タンパク質（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、化学若しくは酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、本明細書に記載されるように、例えば、アルギニンリッチ領域、ゼリーロールドメイン、H V R、N 2 2、若しくは C T D のうち 1 つ若しくは複数）の欠失を有する、ポリペプチド。

【0080】

1 0 0 0 A. (a)、(b)、(c)、及び (d) の領域のアミノ酸配列が、それぞれの参照配列に対して少なくとも 9 0 % の配列同一性を有する、実施形態 1 0 0 0 に記載のポリペプチド。

10

【0081】

1 0 0 1. ポリペプチドが、以下：

- (i) 第 1 領域及び第 2 領域；
- (i i) 第 1 領域及び第 3 領域；
- (i i i) 第 1 領域及び第 4 領域；
- (i v) 第 2 領域及び第 3 領域；
- (v) 第 2 領域及び第 4 領域；
- (v i) 第 3 領域及び第 4 領域；
- (v i i) 第 1 領域、第 2 領域、及び第 3 領域；
- (v i i i) 第 1 領域、第 2 領域、及び第 4 領域；
- (i x) 第 1 領域、第 3 領域、及び第 4 領域；
- (x) 第 2 領域、第 3 領域、及び第 4 領域

20

を含む、実施形態 1 0 0 0 に記載のポリペプチド。

【0082】

1 0 0 2. 以下：

(a) 本明細書に記載されるアルギニンリッチ領域配列（例えば、M P Y Y Y R R R R Y N Y R R P R W Y G R G W I R R P F R R R F R R K R R V R（配列番号 2 1 6）若しくは

30

【化 5】

MAWGWWKRRRRWWFRKRWTRGRLRRRWPRSAARRRPRRRRVRRRRRWRRGRKTRTYRRRR
RFRRRGRK (配列番号186)

、又は表 A 2、A 4、A 6、A 8、A 1 0、A 1 2、C 1 ~ C 5、2、4、6、8、1 0、1 2、1 4、1 6、1 8、2 0 ~ 3 7、若しくは D 1 ~ D 1 0 のいずれかに列挙される通り）に対して少なくとも 7 0 %（例えば、少なくとも約 7 0、8 0、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アミノ酸配列、又は少なくとも 6 0 %、7 0 %、若しくは 8 0 % 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 4 0 個のアミノ酸の配列を含む第 1 領域、

40

(b) 本明細書に記載されるゼリーロール領域配列（例えば、

【化 6】

PTYTTIPLKQWQPPYKRTCYIKGQDCLIYYSNLRLGMNSTMYEKSIVPVHWPGGGSFSVSMLTLD
ALYDIHKLRCRNWWTSTNQDLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHTELPANSNKLTYPNTHPLM
MMMSKYKHIIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPPPQFENKWYFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNPFVKP
DKLSNNVTLSLNT (配列番号217)

、又は表 A 2、A 4、A 6、A 8、A 1 0、A 1 2、C 1 ~ C 5、2、4、6、8、1 0

50

、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙される通り)に対して少なくとも30% (例えば、少なくとも約30、35、40、50、60、70、80、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、又は少なくとも6つのβ鎖を含む配列を含む第2領域；

(c) 本明細書に記載されるN22ドメイン配列 (例えば、
【化7】

TMALTPFNEPIFTQIQYNPDRDTGEDTQLYLLSNATGTGWDPPIPELILEGFPLWLIYWGFADFQ
KNLKKVTNIDTNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVLNDTFVEGNSPYEKQPLPEDNIKWYPQVQYQL
EAQNKLLQTGPFTPNIQGQLSDNISMFYKFYFK (配列番号219)

10

、又は表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙される通り)に対して少なくとも30% (例えば、少なくとも約30、35、40、50、60、70、80、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第3領域；並びに

(d) 本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 C末端ドメイン (CTD) 配列 (例えば、
【化8】

WGGSPKAINVENPAHQIQYPIPRNEHETSLQSPGEAPESILYSFDYRHGNYTTTALSRSISQDWA
LKDTVSKITEPDRQQLLKQALECLQISEETQEKKEKEVQQLISNLRQQQLYRERIISLLKDKQ
(配列番号220)

20

、又は表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙される通り)に対して少なくとも30% (例えば、少なくとも約30、35、40、50、60、70、80、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第4領域

を含むポリペプチド、例えば、ORF1分子であって、

ORF1分子が、野生型ORF1タンパク質 (例えば、本明細書に記載の通り)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)、例えば、挿入、置換、化学若しくは酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン (例えば、本明細書に記載されるように、例えば、アルギニンリッチ領域、ゼリーロールドメイン、HVR、N22、若しくはCTDのうち1つ若しくは複数)の欠失を有する、ポリペプチド。

30

【0083】

1002A. (a)、(b)、(c)、及び(d)領域のアミノ酸配列が、それぞれの参照配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有する、実施形態1002に記載のポリペプチド。

40

【0084】

1003. 第1領域が、表16に列挙されるORF1配列のアミノ酸1～38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アミノ酸配列を含み；

第2領域が、表16に列挙されるORF1配列のアミノ酸39～246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アミノ酸配列を含み；

第3領域が、表16に列挙されるORF1配列のアミノ酸375～537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アミノ酸配列を含み；且つ／又は

50

第4領域が、表16に列挙されるORF1配列のアミノ酸538～666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アミノ酸配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0085】

1003A. 第1、第2、第3及び第4領域のアミノ酸配列が、それぞれの参照配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有する、実施形態1003に記載のポリペプチド。

【0086】

1004. 第1領域が、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙されるアルギニンリッチ領域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アミノ酸配列を含み；

第2領域が、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙されるゼリーロール領域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アミノ酸配列を含み；

第3領域が、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙されるN22ドメイン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アミノ酸配列を含み；

第4領域が、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙されるCTD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アミノ酸配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0087】

1004A. 第1、第2、第3及び第4領域のアミノ酸配列が、それぞれの参照配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有する、実施形態1004に記載のポリペプチド。

【0088】

1005. ポリペプチドが、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、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0089】

1006. 少なくとも1つの相違が、野生型ORF1タンパク質のアルギニンリッチ領域と比較して、第1領域に少なくとも1つの相違を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0090】

1007. 第1領域は、上記ポリペプチド、又は第1領域を除くその部分が、最大の配列同一性を有する野生型アネロウイルス（Anellovirus）以外のアネロウイルス（Anellovirus）のORF1タンパク質由来の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ポリペプチド。

【0091】

1008. 第1領域は、上記ポリペプチドが、最大の配列同一性を有する野生型アネロウイルス（Anellovirus）以外のアネロウイルス（Anellovirus）のアルギニンリッチ領域に対して少なくとも70%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ポリペプチド。

【0092】

1009. 第1領域は、野生型アネロウイルスゲノム（例えば、本明細書に記載の通り）

10

20

30

40

50

に対して15%未満（例えば、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、若しくは1%未満）の配列同一性を有するポリペプチド、又は第1領域と同じアミノ酸長を有するその部分を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0093】

1010. 第1領域が、DNA結合活性及び／又は核局在化活性を有する、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0094】

1011. 第1領域が、DNA結合領域及び／又は核局在化配列を有する、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0095】

1012. 少なくとも1つの相違が、野生型ORF1タンパク質のゼリーロール領域と比較して、第2領域に少なくとも1つの相違を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0096】

1013. 第2領域は、上記ポリペプチド、又は第2領域を除くその部分が、最大の配列同一性を有する野生型アネロウイルス（Anellovirus）以外のアネロウイルス（Anellovirus）のORF1タンパク質由来のゼリーロール領域を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0097】

1014. 第2領域は、上記ポリペプチドが、最大の配列同一性を有する野生型アネロウイルス（Anellovirus）以外のアネロウイルス（Anellovirus）のゼリーロール領域に対して少なくとも70%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ポリペプチド。

【0098】

1015. 第2領域は、野生型アネロウイルスゲノム（例えば、本明細書に記載の通り）に対して15%未満（例えば、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、若しくは1%未満）の配列同一性を有するポリペプチド、又は第2領域と同じアミノ酸長を有するその部分を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0099】

1016. 少なくとも1つの相違が、野生型ORF1タンパク質のN22ドメインと比較して、第3領域に少なくとも1つの相違を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0100】

1017. 第3領域は、上記ポリペプチド、又は第3領域を除くその部分が、最大の配列同一性を有する野生型アネロウイルス（Anellovirus）以外のアネロウイルス（Anellovirus）のORF1タンパク質由来のN22ドメイン領域を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0101】

1018. 第3領域は、上記ポリペプチドが、最大の配列同一性を有する野生型アネロウイルス（Anellovirus）以外のアネロウイルス（Anellovirus）のN22領域に対して少なくとも70%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ポリペプチド。

【0102】

1019. 第3領域は、野生型アネロウイルスゲノム（例えば、本明細書に記載の通り）に対して15%未満（例えば、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、若しくは1%未満）の配列同一性を有するポリペプチド、又は第3領域と同じアミノ酸長を有するその部分を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

10

20

30

40

50

【0103】

1020. 少なくとも1つの相違が、野生型ORF1タンパク質のCTDドメインと比較して、第4領域に少なくとも1つの相違を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0104】

1021. 第4領域は、上記ポリペプチド、又は第4領域を除くその部分が、最大の配列同一性を有する野生型アネロウイルス (Anellovirus) 以外のアネロウイルス (Anellovirus) のORF1タンパク質由来のCTDドメイン領域を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0105】

1022. 第4領域は、上記ポリペプチドが、最大の配列同一性を有する野生型アネロウイルス (Anellovirus) 以外のアネロウイルス (Anellovirus) のCTD領域に対して少なくとも70%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ポリペプチド。

【0106】

1023. 第4領域は、野生型アネロウイルスゲノム (例えば、本明細書に記載の通り) に対して15%未満 (例えば、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、若しくは1%未満) の配列同一性を有するポリペプチド、又は第4領域と同じアミノ酸長を有するその部分を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0107】

1024. アミノ酸配列、例えば、超可変領域 (HVR) 配列 (例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1分子のHVR配列) をさらに含み、ここで、アミノ酸配列は、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、若しくは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、60~140アミノ酸) を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0108】

1025. HVR配列が、第2領域と第3領域の間に位置する、実施形態1024に記載のポリペプチド。

【0109】

1026. HVR配列は、ORF1タンパク質が、最大の配列同一性を有する野生型アネロウイルス (Anellovirus) 以外のアネロウイルス (Anellovirus) のHVR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アミノ酸配列を含む、実施形態1024又は1025に記載のポリペプチド。

【0110】

1027. HVR配列が、第1領域、第2領域、第3領域、及び／又は第4領域の1つ若しくは複数に対して異種である、実施形態1024~1026のいずれかに記載のポリペプチド。

【0111】

1028. 少なくとも1つの相違が、野生型ORF1タンパク質 (例えば、本明細書に記載されるように、例えば、野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム由来の) のHVRの配列と比較して、HVR配列に少なくとも1つの相違を含む、実施形態1024~1027のいずれかに記載のポリペプチド。

【0112】

1029. HVR配列は、上記ポリペプチド、又はHVR配列を除くその部分が、最大の配列同一性を有する野生型アネロウイルス (Anellovirus) 以外のアネロウイ

10

20

30

40

50

ルス (A n e l l o v i r u s) の O R F 1 タンパク質由来の H V R を含む、実施形態 1 0 2 4 ~ 1 0 2 8 のいずれかに記載のポリペプチド。

【 0 1 1 3 】

1 0 3 0 . H V R 配列は、上記ポリペプチドが最大の配列同一性を有する野生型アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 以外のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 由来の H V R に対して少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 1 0 2 4 ~ 1 0 2 9 のいずれかに記載のポリペプチド。

【 0 1 1 4 】

1 0 3 1 . H V R が、表 A 2、A 4、A 6、A 8、A 1 0、A 1 2、C 1 ~ C 5、2、4、6、8、1 0、1 2、1 4、1 6、1 8、2 0 ~ 3 7、若しくは D 1 ~ D 1 0 のいずれかに列挙される H V R 配列に対して少なくとも 7 0 % (例えば、少なくとも約 7 0、8 0、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アミノ酸配列を含む、実施形態 1 0 2 4 ~ 1 0 3 0 のいずれかに記載のポリペプチド。

【 0 1 1 5 】

1 0 3 2 . H V R 配列は、表 1 6 に列挙される O R F 1 配列のアミノ酸 2 4 7 ~ 3 7 4 に対して少なくとも 7 0 % (例えば、少なくとも約 7 0、8 0、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アミノ酸配列を含む、実施形態 1 0 2 4 ~ 1 0 3 1 のいずれかに記載のポリペプチド。

【 0 1 1 6 】

1 0 3 3 . 異種ポリペプチド、例えば、第 1 領域、第 2 領域、第 3 領域、及び／又は第 4 領域の 1 つ若しくは複数に対して異種である、且つ／又は上記ポリペプチドを含むアネロソームに対して外性であるポリペプチドをさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【 0 1 1 7 】

1 0 3 4 . ポリペプチドが、アネロウイルス H V R 配列を欠いている、実施形態 1 0 3 3 に記載のポリペプチド。

【 0 1 1 8 】

1 0 3 5 . 異種ポリペプチドが、アネロソームの外層上に存在する、実施形態 1 0 3 3 に記載のポリペプチド。

【 0 1 1 9 】

1 0 3 6 . 異種ポリペプチドが、アネロソームの内層上に存在する、実施形態 1 0 3 3 に記載のポリペプチド。

【 0 1 2 0 】

1 0 3 7 . 異種ポリペプチドが、アネロソーム又は野生型アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) に対して外性である官能基を有する、実施形態 1 0 3 3 ~ 1 0 3 6 のいずれかに記載のポリペプチド。

【 0 1 2 1 】

1 0 3 8 . 異種ポリペプチドが、約 1 4 0 以下のアミノ酸 (例えば、1 0 0、1 1 0、1 2 0、1 2 5、1 3 0、1 3 5、1 3 6、1 3 7、1 3 8、1 3 9、1 4 0、1 4 5、1 5 0、1 5 5、又は 1 6 0 以下のアミノ酸) から構成される、実施形態 1 0 3 3 ~ 1 0 3 7 のいずれかに記載のポリペプチド。

【 0 1 2 2 】

1 0 3 9 . 異種ポリペプチドのサイズが、例えば、本明細書に記載のされるアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) の野生型 H V R 領域と比較して、5 0 ~ 1 5 0 % である、実施形態 1 0 3 3 ~ 1 0 3 8 のいずれかに記載のポリペプチド。

【 0 1 2 3 】

1 0 3 9 A . 異種ポリペプチドが、第 2 領域と第 3 領域の間に位置する、実施形態 1 0 3 3 ~ 1 0 3 9 のいずれかに記載のポリペプチド。

【 0 1 2 4 】

1 0 4 0 . 第 1 領域と第 2 領域の間の 1 つ若しくは複数のアミノ酸、第 2 領域と第 3 領域

10

20

30

40

50

との間の1つ若しくは複数のアミノ酸、及び／又は第3領域と第4領域との間の1つ若しくは複数のアミノ酸をさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0125】

1041. 第1領域に対してN末端側に位置する1つ又は複数のアミノ酸をさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0126】

1042. 第4領域に対してN末端側に位置する1つ又は複数のアミノ酸をさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0127】

1043. 例えば、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙される野生型アネロウイルス (Anellovirus) ORF1アミノ酸配列の対応する部分配列に対して100%の配列同一性を有する少なくとも4 (例えば、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、若しくは30) 個の連続したアミノ酸から成る複数の部分配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

10

【0128】

1044. 例えば、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙される野生型アネロウイルス (Anellovirus) ORF1アミノ酸配列の対応する部分配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有する少なくとも10 (例えば、10、15、20、25、30、40、若しくは50) 個の連続したアミノ酸から成る複数の部分配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

20

【0129】

1045. 例えば、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙される野生型アネロウイルス (Anellovirus) ORF1アミノ酸配列の対応する部分配列に対して少なくとも60%の配列同一性を有する少なくとも20 (例えば、20、25、30、40、50、60、70、80、90、若しくは100) 個の連続したアミノ酸から成る複数の部分配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

30

【0130】

1046. 複数の部分配列が、第1領域、第2領域、第3領域、及び／又は第4領域内に位置する、実施形態1043～1045のいずれかに記載のポリペプチド。

【0131】

1047. 第1領域が、少なくとも40個のアミノ酸 (例えば、少なくとも約50、60、70、80、90、若しくは100個のアミノ酸、例えば、約40～100、40～90、40～80、40～70、50～100、50～70、60～100、60～90、60～80、又は60～70個のアミノ酸) を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0132】

1048. 第1領域が、少なくとも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、リシン、又はそれらの組合せ) を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

40

【0133】

1049. 第1領域が、少なくとも70% (例えば、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、又は100%) のアルギニン残基を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0134】

1050. ポリペプチドが、ポリペプチドの追加コピーと共にホモ多量体を形成する、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

50

【0135】

1051. 第1領域が、ポリペプチドの追加コピー上の対応する第1領域に結合する、実施形態1050に記載のポリペプチド。

【0136】

1052. ホモ多量体が、例えば、核酸、例えば、遺伝子エレメント若しくはアネロウイルス (Anellovirus) ゲノム又はそれらの部分を包膜するキャプシドを形成する、実施形態1050に記載のポリペプチド。

【0137】

1053. ポリペプチドが、キャプシドタンパク質であるか、又はキャプシドの1部分を形成することができる、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0138】

1054. ポリペプチドが、レプリカーゼ活性を有する、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0139】

1055. ポリペプチドが、核酸 (例えば、DNA) に結合する、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

【0140】

1056. 以下：

(a) 先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、及び

(b) プロモータエレメントと、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) をコード化する核酸配列 (例えば、DNA配列) と、タンパク質結合配列と、を含む遺伝子エレメントを含む複合体。

【0141】

1057. 以下：

(a) ORF1分子、及び

(b) プロモータエレメントと、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) をコード化する核酸配列 (例えば、DNA配列) と、タンパク質結合配列と、を含む遺伝子エレメントを含む複合体であって、

ORF1分子が、遺伝子エレメントに結合 (例えば、非共有結合により) し、ORF1分子、遺伝子エレメント、又はORF1分子と遺伝子エレメントの両方が、野生型ORF1タンパク質、野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム、又は野生型ORF1タンパク質と野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノムの両方と、それぞれ比較して (例えば、本明細書に記載の通り)、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)、例えば、挿入、置換、化学若しくは酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン (例えば、本明細書に記載のように、例えば、アルギニンリッチ領域、ゼリーロール領域、HVR、N22、若しくはCTDのうち1つ若しくは複数) 又はゲノム領域 (例えば、本明細書に記載のように、例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5'UTR、オープンリーディングフレーム (ORF)、ポリ (A) シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数) の欠失を有する、複合体。

【0142】

1058. 複合体が、インビトロであり、例えば、複合体は、実質的に無細胞組成物中にある、実施形態1056又は1057に記載の複合体。

【0143】

1059. 複合体が、細胞、例えば、宿主細胞、例えば、ヘルパー細胞、例えば、細胞の核中に存在する、実施形態1056～1058のいずれかに記載の複合体。

【0144】

1060. ORF1分子が、タンパク質性外層の一部である、実施形態1056～105

10

20

30

40

50

9のいずれかに記載の複合体。

【0145】

1061．遺伝子エレメントが、複製を経ている、実施形態1056～1060のいずれかに記載の複合体。

【0146】

1062．複合体が、アネロソームである、実施形態1056～1061のいずれかに記載の複合体。

【0147】

1063．遺伝子エレメントが、ポリペプチドをコード化する核酸をさらに含む、実施形態1056～1062のいずれかに記載の複合体。

【0148】

1064．遺伝子エレメントが、ポリペプチドをコード化する核酸を含まない、実施形態1056～1063のいずれかに記載の複合体。

【0149】

1065．遺伝子エレメントが、例えば、本明細書に記載されるGCリッチ領域を含む、実施形態1056～1064のいずれかに記載の複合体。

【0150】

1066．GCリッチ領域が、以下：

(i) CGCGCTGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGAGCCATGC (配列番号160)

(ii) GCGCTX₁CGCGCGCGCGCGCCGGGGGGCTGCGCCCCCCC (配列番号164) (X₁は、T、G、若しくはAから選択される)

(iii) GCGCTTCGCGCGCGCGCCGCCCCACTAGGGGGCGTTTGC GCG (配列番号165)；

(iv) GCGCTGCGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGCGCAATGCG (配列番号166)；

(v) GCGCTGCGCGCGCGCGGGCCCCCGGGGGAGGGCATTGCTT (配列番号167)；

(vi) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCGCCAGCGCCCC (配列番号168)；

(vii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTCCGCCCCCCC (配列番号169)；

(viii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTGCGCCCCCCC (配列番号170)；

(ix) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTGCGCCCCCCCC (配列番号171)；若しくは

(x) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTCTGCCCCCCCC (配列番号172)

のいずれかの核酸配列；

又はそれらと少なくとも75、76、77、78、79、80、85、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核酸配列

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、実施形態1065に記載の複合体。

【0151】

1067．以下：

(a) タンパク質性外層；

(b) 先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド又は複合体；

(c) エフェクター（例えば、本明細書に記載のように、例えば、内在性エフェクター又は外性エフェクター）をコード化する核酸配列（例えば、DNA配列）に作動可能に連結

10

20

30

40

50

したプロモータを含む遺伝子エレメント
を含み；

ここで、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ソーム。

【0152】

1068. 以下：

(a) タンパク質性外層；

(b) 以下：

(i) エフェクター（例えば、本明細書に記載のように、例えば、内在性エフェクター又は外性エフェクター）をコード化する核酸配列（例えば、DNA配列）に作動可能に連結したプロモータ、及び

(ii) 先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチドをコード化する核酸を含む遺伝子エレメント

を含み；ここで、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ソーム。

【0153】

1069. 以下：

(a) タンパク質性外層；

(b) ORF1分子又はORF1分子をコード化する核酸；

(c) エフェクターをコード化する異種核酸配列（例えば、DNA配列）に作動可能に連結したプロモータを含む遺伝子エレメント

を含み；

ここで、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ソーム。

【0154】

1070. 以下：

(a) タンパク質性外層；

(b) ORF1分子又はORF1分子をコード化する核酸；

(c) プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA配列）と、核酸配列：

(i) CGCGCTGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGGAGCCCATGCG（配列番号160）

(ii) GCGCTX₁CGCGCGCGCGCGCCGGGGGGCTGCGCCCCCCC（配列番号164）（X₁は、T、G、若しくはAから選択される）

(iii) GCGCTTCGCGCGCGCCGCCCCACTAGGGGGGCGTTTGCGCG（配列番号165）；

(iv) GCGCTGCGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGGCGCAATGCG（配列番号166）；

(v) GCGCTGCGCGCGCGCGGGCCCCCGGGGGAGGGCAATTGCCT（配列番号167）；

(vi) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCGCGGGGGGGGCGCCAGCGCCCC（配列番号168）；

(vii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCGGGGGGGCTCCGCCCCCCC（配列番号169）；

(viii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCGGGGGGGCTGCGCCCCCCC（配列番号170）；

(ix) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCGGGGGGGCTGCGCCCCCCCC（配列番号171）；若しくは

(x) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCGGGGGGGCTCTGCCCCCCCC（配列番号172）；

又はそれらと少なくとも75、76、77、78、79、80、85、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

10

20

30

40

50

核酸配列

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領域と、を含む遺伝子エレメントを含むアネロソームにおいて；

遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR、オープンリーディングフレーム（ORF）、ポリ（A）シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を有し；

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おり；

アネロソームが、真核細胞中に遺伝子エレメントを送達するように構成されており；任意選択で、遺伝子エレメントは、以下：

（i）例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTV-tth8ゲノム配列と比較してヌクレオチド3436～3607の欠失を含まない；

（ii）例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較してヌクレオチド1432～2210の欠失を含まない；且つ／又は

（iii）例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較して少なくとも101個のヌクレオチドの欠失を含まない、アネロソーム。

【0155】

1071. 以下：

（a）タンパク質性外層；

（b）ORF1分子又はORF1分子をコード化する核酸；

（c）プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸（例えば、DNA配列）と、少なくとも70%（例えば、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、若しくは80.6%）のGC含有率を有する少なくとも20（例えば、少なくとも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配列と、を含む遺伝子エレメント

を含むアネロソームにおいて；

遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR、オープンリーディングフレーム（ORF）、ポリ（A）シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を有し；

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おり；

アネロソームが、真核細胞中に遺伝子エレメントを送達するように構成されており；任意選択で、遺伝子エレメントは、以下：

（i）例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTV-tth8ゲノム配列と比較してヌクレオチド3436～3607の欠失を含まない；

（ii）例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較してヌクレオチド1432～2210の欠失を含まない；且つ／又は

（iii）例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較して少なくとも101個のヌクレオチドの欠失を含まない、アネロソーム。

【0156】

1072. 以下：

（a）タンパク質性外層；

（b）ORF1分子又はORF1分子をコード化する核酸であって、

（i）ORF1分子のアミノ酸の少なくとも30%（例えば、少なくとも30%、35%

10

20

30

40

50

、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、90%、若しくはそれ以上)が、β鎖の一部であり；

(i i) ORF 1分子の二次構造が、少なくとも3つ(例えば、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、若しくは20)のβ鎖を含み；

(i i i) ORF 1分子の二次構造が、少なくとも1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、若しくは10:1のβ鎖:αヘリックスの比を含む、

ORF 1分子又はORF 1分子をコード化する核酸；並びに

(c) プロモータエレメントと、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)をコード化する核酸配列(例えば、DNA配列)と、タンパク質結合配列と、を含む遺伝子エレメント

を含むアネロソームにおいて；

遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス(Ane ll o v i r u s)ゲノム配列(例えば、本明細書に記載の通り)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)、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン(例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5'UTR、オープンリーディングフレーム(ORF)、ポリ(A)シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数)の欠失を有し；

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おり；

アネロソームが、真核細胞中に遺伝子エレメントを送達するように構成されており；任意選択で、遺伝子エレメントは、以下：

(i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTV-t t h 8ゲノム配列と比較してヌクレオチド3436～3607の欠失を含まない；

(i i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-L Y 2ゲノム配列と比較してヌクレオチド1432～2210の欠失を含まない；且つ／又は

(i i i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-L Y 2ゲノム配列と比較して少なくとも101個のヌクレオチドの欠失を含まない、アネロソーム。

【0157】

1073. 以下：

(a) タンパク質性外層；

(b) ORF 1分子又はORF 1分子をコード化する核酸；

(c) プロモータエレメントと、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)をコード化する核酸(例えば、DNA配列)と、タンパク質結合配列と、を含む遺伝子エレメント

を含むアネロソームにおいて；

遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス(Ane ll o v i r u s)ゲノム配列(例えば、本明細書に記載の通り)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)、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン(例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5'UTR、オープンリーディングフレーム(ORF)、ポリ(A)シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数)の欠失を有し；

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おり；

アネロソームが、真核細胞中に遺伝子エレメントを送達するように構成されており；任意選択で、遺伝子エレメントは、以下：

(i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTV-t t h 8ゲノム配列と比較してヌクレオチド3436～3607の欠失を含まない；

(i i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-L Y 2ゲノム配列と比較してヌクレオチド1432～2210の欠失を含まない；且つ／又は

(i i i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-L Y 2ゲノム配列と

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

(i i) G C G C T X ₁ C G C G C G C G C G C C G G G G G G C T G C G C C C C C C C
C (配列番号 164) (X₁ は、T、G、若しくは A から選択される)

(iv) GCGCTGCGCGCGCCGCCAGTAGGGGGCGCAATGCG
(配列番号166) ;

(v i) G C G C T G C G C G C G C G C C G G G G G G C G C C A G C G C C C
(配列番号 168) ;

(vii) GCGCTTCGCGCGCGCGCCGGGGGGCTCCGCCCCCCC
C (配列番号169) ;

(viii) GCGCTTCGCGCGCGCGCCGGGGGGCTGCGCCCCC
CC (配列番号170) ;

(ix) GCGCTACGCGCGCGCGCCGGGGGGCTGCGCCCCCCC
(配列番号171) ; 若しくは

(x) G C G C T A C G C G C G C G C G C C G G G G G G C T C T G C C C C C C C (配列番号 172) ;

又はそれらと少なくとも 75、76、77、78、79、80、85、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
核酸配列

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領域と、を含む遺伝子エレメントを含むアネロソームにおいて；

遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR、オープンリーディングフレーム（ORF）、ポリ（A）シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を有し；

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おり；

アネロソームが、真核細胞中に遺伝子エレメントを送達するように構成されており；

任意選択で、遺伝子エレメントは、以下：

(i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTV-tth8 ゲノム配列と比較してヌクレオチド 3436～3607 の欠失を含まない；

(ii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較してヌクレオチド1432～2210の欠失を含まない；且つ／又は

(iii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTMV-LY2 ゲノム配列と比較して少なくとも 101 個のヌクレオチドの欠失を含まない、アネロソーム。

1 0 7 5 . 以下 :

(a) タンパク質性外層；

(b) プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸（例えば、DNA配列）と、少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、若しくは80.6%のGC含有率を有する少なくとも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配列と、を含む遺伝子エレメント

を含むアネロソームにおいて；

遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR、オープンリーディングフレーム（ORF）、ポリ（A）シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を有し；

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おり；

アネロソームが、真核細胞内に遺伝子エレメントを送達するように構成されており；

任意選択で、遺伝子エレメントは、以下：

(i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTV-tth8ゲノム配列と比較してヌクレオチド3436～3607の欠失を含まない；

(ii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較してヌクレオチド1432～2210の欠失を含まない；且つ／又は

(iii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較して少なくとも101個のヌクレオチドの欠失を含まない、アネロソーム。

【0160】

1076. 以下：

(a) タンパク質性外層；

(b) プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸（例えば、DNA配列）と、を含む遺伝子エレメントを含むアネロソームにおいて；

遺伝子エレメントが、以下：

核酸配列：CGCGCTGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGAGCCATGC（配列番号160）

に対して少なくとも95%（例えば、少なくとも95、96、97、98、99、若しくは100%）の配列同一性を有する領域（例えば、エフェクターをコード化する核酸配列に対して3'側に位置する、例えば、パッケージング領域）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おり；

ここで、アネロソームは、真核細胞中に遺伝子エレメントを送達するように構成されている、アネロソーム。

【0161】

1076A. 以下：

(i) プロモータエレメントと、治療用外性エフェクターをコード化する核酸配列を含む遺伝子エレメント（遺伝子エレメントは、本明細書に記載のアネロウイルス（*Anellovirus*）（例えば、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに列挙される通り）由来の5' UTRヌクレオチド配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む）；及び／又は

(ii) 本明細書に記載のアネロウイルス（*Anellovirus*）（例えば、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに列挙される通り）のORF1遺伝子によりコード化されるポリペプチドと少なくとも95%の配列同一性を有するポリペプチドを含むタンパク質性外層

10

20

30

40

50

を含むアネロソームにおいて；

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おり；

任意選択で、アネロソームは、哺乳動物細胞内に遺伝子エレメントを送達することができる、アネロソーム。

【0162】

1076B. 以下：

(I) 以下：

(a) プロモータエレメントと、(b) 外性エフェクター（例えば、本明細書に記載される外性エフェクター）をコード化する核酸配列であって、核酸配列が、プロモータエレメントに作動可能に連結する核酸配列と；(c) 以下：

(c) (i) 配列番号54のヌクレオチド323～393の核酸配列、若しくはそれに対して少なくとも85%同一の核酸配列；

(c) (ii) 配列番号113、配列番号114、配列番号115、配列番号116、配列番号117、配列番号118、配列番号119のいずれかの核酸配列若しくはそれに対して少なくとも85%同一の核酸配列；又は

(c) (iii) 配列番号61のヌクレオチド117～187の核酸配列、若しくはそれに対して少なくとも85%同一の核酸配列

を含む5'UTRドメインと、を含む遺伝子エレメント；

(II) ORF1分子を含むタンパク質性外層

を含むアネロソームにおいて、

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おり；且つ

合成アネロソームが、遺伝子エレメントを哺乳動物、例えば、ヒト細胞内に送達することができる、アネロソーム。

【0163】

1077. タンパク質性外層が、ORF1分子を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0164】

1078. タンパク質性外層中のタンパク質の少なくとも60%（例えば、少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%）が、ORF1分子を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0165】

1079. タンパク質性外層中のタンパク質の1%以下（例えば、1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、若しくは40%以下）が、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF2t/3、及び/又はORF3分子を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0166】

1080. ORF1分子が、表A1～A12、B1～B5、C1～C5、1～18、20～37、又はD1～D10のいずれかに列挙されるか、又は列挙される配列によりコード化されるORF1タンパク質に対して少なくとも70%（例えば、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%）の同一性を有するアミノ酸を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0167】

1081. ORF1分子が、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチドを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0168】

1082. 遺伝子エレメントが、ORF1分子をコード化する核酸配列をさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0169】

1083. 遺伝子エレメントが、ORF1分子をコード化する核酸配列を含まない、先行

10

20

30

40

50

実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0170】

1084. 遺伝子エレメントが、少なくとも80%のGC含有率を有する少なくとも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、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0171】

1085. 遺伝子エレメントが、少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、若しくは80.6%のGC含有率を有する少なくとも36個の連続したヌクレオチドを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0172】

1086. 遺伝子エレメントが、少なくとも80%のGC含有率を有する少なくとも36個の連続したヌクレオチドを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0173】

1087. 先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチドをコード化する核酸を含む（例えば、1、2、若しくはそれ以上の核酸分子を含む）単離核酸組成物において、任意選択で、単離核酸組成物は、野生型アネロウイルス（Anellovirus）ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5'UTR、オープンリーディングフレーム（ORF）、ポリ（A）シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を有し；任意選択で、核酸分子は、以下：

（i）例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTV-tth8ゲノム配列と比較してヌクレオチド3436～3607の欠失；

（ii）例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較してヌクレオチド1432～2210の欠失；及び／又は

（iii）例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較して少なくとも101個のヌクレオチドの欠失を含まない、単離核酸組成物。

【0174】

1088. （例えば、1、2、若しくはそれ以上の核酸分子を含む）単離核酸組成物において、単離核酸組成物が、ORF1分子をコード化する遺伝子エレメントを含み；ここで、

（i）ORF1分子のアミノ酸の少なくとも30%（例えば、少なくとも30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、90%、若しくはそれ以上）が、βシートの一部であり；

（ii）ORF1分子の二次構造が、少なくとも3つ（例えば、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、若しくは20）のβシートを含み；

（iii）ORF1分子の二次構造が、少なくとも1：1、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み；

遺伝子エレメントが、プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列と、タンパク質性外層と、を含み；遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス（Anellovirus）ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5'UTR、オープンリーディングフレーム（ORF）、ポリ（A）シグナ

10

20

30

40

50

ル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数)の欠失を有し；

任意選択で、核酸分子は、以下：

(i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTV-tth8ゲノム配列と比較してヌクレオチド3436～3607の欠失；

(ii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較してヌクレオチド1432～2210の欠失；及び／又は

(iii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較して少なくとも101個のヌクレオチドの欠失を含まない、単離核酸組成物。

【0175】

1089. 以下：

(a) ORF1分子をコード化する遺伝子エレメント；

(b) 核酸配列：

(i) CGCGCTGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGAGCCATGC (配列番号160)

(ii) GCGCTX₁GCGCGCGCGCGCCGGGGGGCTGCGCCCCC C (配列番号164) (X₁は、T、G、若しくはAから選択される)

(iii) GCGCTTCGCGCGCGCCGCCCCACTAGGGGGCGTTGCGCG (配列番号165)；

(iv) GCGCTGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGCGCAATGCG (配列番号166)；

(v) GCGCTGCGCGCGCGCGCCCGGGGGAGGGCAATTGCCCT (配列番号167)；

(vi) GCGCTGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCGCCAGCGCCCC (配列番号168)；

(vii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTCCGCCCCC C (配列番号169)；

(viii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTGCGCCCCC C (配列番号170)；

(ix) GCGCTACGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTGCGCCCCC C (配列番号171)；若しくは

(x) GCGCTACGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTCTGCCCCCCC C (配列番号172)；

又はそれらと少なくとも75、76、77、78、79、80、85、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核酸配列

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；並びに

(c) 野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列 (例えば、本明細書に記載の通り) 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)、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン (例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR、オープンリーディングフレーム (ORF)、ポリ (A) シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数) の欠失

を含む (例えば、1、2、若しくはそれ以上の核酸分子を含む) 単離核酸組成物において；

任意選択で、核酸分子は、以下：

(i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTV-tth8ゲノム配列と比較してヌクレオチド3436～3607の欠失；

(ii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比

10

20

30

40

50

較してヌクレオチド 1 4 3 2 ~ 2 2 1 0 の欠失；及び／又は

(i i i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 T T M V - L Y 2 ゲノム配列と比較して少なくとも 1 0 1 個のヌクレオチドの欠失を含まない、単離核酸組成物。

【 0 1 7 6 】

1 0 9 0 . 以下：

(a) O R F 1 分子をコード化する遺伝子エレメント；

(b) 少なくとも 7 0 %、7 1 %、7 2 %、7 3 %、7 4 %、7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、若しくは 8 0 . 6 % の G C 含有率を有する少なくとも 2 0、2 5、3 0、3 1、3 2、3 3、3 4、3 5、若しくは 3 6 個の連続したヌクレオチドを含む（例えば、1、2、若しくはそれ以上の核酸分子を含む）単離核酸組成物において；単離核酸組成物が、野生型アネロウイルス（A n e l l o v i r u s）ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、T A T A ボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' U T R、オープンリーディングフレーム（O R F）、ポリ（A）シグナル、若しくは G C リッチ領域のうち 1 つ若しくは複数）の欠失を有し；

任意選択で、核酸分子は、以下：

(i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 T T V - t t h 8 ゲノム配列と比較してヌクレオチド 3 4 3 6 ~ 3 6 0 7 の欠失；

(i i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 T T M V - L Y 2 ゲノム配列と比較してヌクレオチド 1 4 3 2 ~ 2 2 1 0 の欠失；及び／又は

(i i i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 T T M V - L Y 2 ゲノム配列と比較して少なくとも 1 0 1 個のヌクレオチドの欠失を含まない、単離核酸組成物。

【 0 1 7 7 】

1 0 9 0 A . （例えば、1、2、若しくはそれ以上の核酸分子を含む）単離核酸組成物であって、単離核酸組成物が、本明細書に記載されるアネロウイルス（A n e l l o v i r u s）（例えば、表 A 1、A 3、A 5、A 7、A 9、A 1 1、B 1 ~ B 5、1、3、5、7、9、1 1、1 3、1 5、若しくは 1 7 のいずれかに列挙される通り）由来の 5' U T R ヌクレオチド配列を含む遺伝子エレメントを含む、単離核酸組成物。

【 0 1 7 8 】

1 0 9 1 . (a) 及び (b) が、同じ核酸の一部である、実施形態 1 0 8 9 ~ 1 0 9 0 のいずれかに記載の単離核酸組成物。

【 0 1 7 9 】

1 0 9 2 . (a) 及び (b) が、異なる核酸の一部である、実施形態 1 0 8 9 ~ 1 0 9 1 のいずれかに記載の単離核酸組成物。

【 0 1 8 0 】

1 0 9 3 . 遺伝子エレメントが、以下：T A T A ボックス、イニシエータエレメント、キャップ部位、転写開始部位、5' U T R 保存ドメイン、O R F 1 コード化配列、O R F 1 / 1 コード化配列、O R F 1 / 2 コード化配列、O R F 2 コード化配列、O R F 2 / 2 コード化配列、O R F 2 / 3 コード化配列、O R F 2 / 3 t コード化配列、3 オープンリーディングフレーム領域、ポリ（A）シグナル、及び／又は本明細書に記載されるアネロウイルス（A n e l l o v i r u s）（例えば、表 A 1、A 3、A 5、A 7、A 9、A 1 1、B 1 ~ B 5、1、3、5、7、9、1 1、1 3、1 5、若しくは 1 7 のいずれかに列挙される通り）由来の G C リッチ領域、又はそれに対して少なくとも 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 % の同一性を有する配列のうち 1 つ若しくは複数を含む、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸組成物。

【 0 1 8 1 】

1094. 遺伝子エレメントが、アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列 (例えば、本明細書に記載されるように、例えば、表 A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17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70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の同一性を有する配列をさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸組成物。

【0182】

1095. アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム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%の同一性を有する配列の少なくとも1つの追加コピー (例えば、1、2、3、4、5、若しくは6コピー) をさらに含む、実施形態1094に記載の単離核酸組成物。

10

【0183】

1096. 遺伝子エレメントの少なくとも1つの追加コピー (例えば、合計1、2、3、4、5、若しくは6コピー) をさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸組成物。

【0184】

1097. 核酸配列:

(i) CGCGCTGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGAGCCATGC (配列番号160)

20

(ii) GCGCTX₁CGCGCGCGCGCGCCGGGGGGCTGCGCCCCC (配列番号164) (X₁は、T、G、若しくはAから選択される)

(iii) GCGCTTCGCGCGCGCGCCCCACTAGGGGGCGTTGCGCG (配列番号165);

(iv) GCGCTGCGCGCGCGCGCCCCAGTAGGGGGCGCAATGCG (配列番号166);

(v) GCGCTGCGCGCGCGCGGGCCCCCGGGGGAGGGCATTGCGCT (配列番号167);

(vi) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGGGCGCCAGCGCCCC (配列番号168);

30

(vii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGGGCTCCGCCCCC (配列番号169);

(viii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGGGCTGCGCCCCC (配列番号170);

(ix) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGGGCTGCGCCCCC (配列番号171); 若しくは

(x) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGGGCTCTGCCCCC (配列番号172);

又はそれらと少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、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核酸配列

40

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; 並びに

野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列 (例えば、本明細書に記載の通り) 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)、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び/又は欠失、例えば、特定のドメイン (例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5'UTR、オープンリーディングフレーム (ORF)、ポリ(A)シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数) の欠失

を含む (例えば、1、2、若しくはそれ以上の核酸分子を含む) 単離核酸組成物において

50

;

任意選択で、核酸分子は、以下：

(i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTV-tth8 ゲノム配列と比較してヌクレオチド 3436~3607 の欠失；

(ii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTMV-LY2 ゲノム配列と比較してヌクレオチド 1432~2210 の欠失；及び／又は

(iii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTMV-LY2 ゲノム配列と比較して少なくとも 101 個のヌクレオチドの欠失を含まない、単離核酸組成物。

【0185】

1098. 70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、若しくは 80.6% の GC 含有率を有する少なくとも 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（例えば、1、2、若しくはそれ以上の核酸分子を含む）単離核酸組成物において；

単離核酸組成物が、野生型 アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATA ボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR、オープンリーディングフレーム (ORF)、ポリ (A) シグナル、若しくは GC リッチ領域のうち 1 つ若しくは複数）の欠失を含み；

任意選択で、核酸分子は、以下：

(i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTV-tth8 ゲノム配列と比較してヌクレオチド 3436~3607 の欠失；

(ii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTMV-LY2 ゲノム配列と比較してヌクレオチド 1432~2210 の欠失；及び／又は

(iii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTMV-LY2 ゲノム配列と比較して少なくとも 101 個のヌクレオチドの欠失を含まない、単離核酸組成物。

【0186】

1099. ORF1 分子は、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチドを含む、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸組成物。

【0187】

1100. 少なくとも 80% の GC 含有率を有する少なくとも 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、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸組成物。

【0188】

1101. 70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、若しくは 80.6% の GC 含有率を有する少なくとも 36 個の連続したヌクレオチドを含む、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸組成物。

【0189】

1102. 少なくとも 80% の GC 含有率を有する少なくとも 36 個の連続したヌクレオチドを含む、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸組成物。

【0190】

1103. プロモータエレメント、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）をコード化する核酸配列、及び／又はタンパク質結合配列（例えば、外部タンパク質結合配列）のうち 1 つ若しくは複数をさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸組成物。

【0191】

1104. 野生型 アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列、又はそれに対して少なくとも 75、76、77、78、79、80、85、90、91、92、93、

10

20

30

40

50

94、95、96、97、98、99、若しくは100%の配列同一性を有する核酸配列の少なくとも約100、150、200、250、300、350、400、450、若しくは500個の連続したヌクレオチドを含む、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸組成物。

【0192】

1105. 核酸配列：

(i) CGCGCTGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGAGCCATGC (配列番号160)

(ii) GCGCTX₁CGCGCGCGCGCGCCGGGGGGCTGCGCCCCC C (配列番号164) (X₁は、T、G、若しくはAから選択される)

(iii) GCGCTTCGCGCGCGCGCCGCCCCACTAGGGGGCGTTGCGCG (配列番号165)；

(iv) GCGCTGCGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGCGCAATGCG (配列番号166)；

(v) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCCCGGGGGAGGGCAATTGCCT (配列番号167)；

(vi) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCGCCAGCGCCC (配列番号168)；

(vii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTCCGCCCCC C (配列番号169)；

(viii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTGCGCCCCC C (配列番号170)；

(ix) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTGCGCCCCC C (配列番号171)；若しくは

(x) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTCTGCCCCC C (配列番号172)；

に対して少なくとも95%（例えば、少なくとも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、単離核酸分子（例えば、発現ベクター）。

【0193】

1106. 単離核酸分子が、環状である、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸組成物。

【0194】

1107. 以下：

(a) 先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチドをコード化する核酸（核酸はプラスミドであるか、ウイルス核酸であるか、又は細胞染色体中に組み込まれている）、及び

(b) 遺伝子エレメントであって、遺伝子エレメントは、プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA配列）と、タンパク質結合配列と、を含み、任意選択で、遺伝子エレメントは、ORF1ポリペプチド（例えば、ORF1タンパク質）をコード化する遺伝子エレメント

を含む、単離細胞。

【0195】

1108. 以下：

(a) ORF1分子をコード化する核酸（核酸はプラスミドであるか、ウイルス核酸であるか、又は細胞染色体中に組み込まれている）、及び

(b) 遺伝子エレメントであって、遺伝子エレメントは、プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA配列）と、タンパク質結合配列と、を含む遺伝子エレメント

を含む単離細胞、例えば、宿主細胞。

10

20

30

40

50

【0196】

1109. 以下：

(a) ORF1分子をコード化する核酸（核酸はプラスミドであるか、ウイルス核酸であるか、又は細胞染色体中に組み込まれている）、及び

(b) ORF1分子をコード化しない遺伝子エレメントであって、遺伝子エレメントは、プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA配列）と、タンパク質結合配列と、を含む遺伝子エレメント

を含む単離細胞、例えば、宿主細胞。

【0197】

1109A. 以下：

(i) 本明細書に記載されるアネロソームの遺伝子エレメント（例えば、ORF1分子をコード化しない遺伝子エレメント）の核酸配列を含む核酸分子（例えば、第1核酸分子）、及び

(ii) 任意選択で、例えば、表16のいずれかに列挙されるように、ORF1、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF1/1、若しくはORF1/2から選択されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも70%（例えば、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の1つ若しくは複数をコード化する核酸分子、例えば、第2核酸分子

を含む単離細胞、例えば、宿主細胞。

【0198】

1110. ORF1分子をコード化しない遺伝子エレメントが、ORF1分子の断片、例えば、キャプシドを形成しない断片、例えば、1000、900、800、700、600、500、400、300、200、100、50、20、若しくは10ヌクレオチド未満の断片をコード化する、先行実施形態のいずれかに記載の単離細胞。

【0199】

1111. ORF1分子をコード化する核酸（例えば、核酸はプラスミドであるか、ウイルス核酸であるか、又は細胞染色体中に組み込まれている）を含む単離細胞、例えば、宿主細胞において、単離細胞が、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF2t/3、及び/又はORF3分子のうち1つ若しくは複数を含まない、単離細胞。

【0200】

1112. 先行実施形態のいずれかに記載の核酸組成物を含む単離細胞、例えば、宿主細胞。

【0201】

1113. ORF1分子をコード化するヘルパー核酸（例えば、プラスミド又はウイルス核酸）であって、単離細胞が、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF2t/3、及び/又はORF3分子のうち1つ若しくは複数を含まない、ヘルパー核酸。

【0202】

1114. 以下：

(a) 本明細書に記載される単離細胞、及び

(b) 本明細書に記載されるアネロソーム

を含む組成物。

【0203】

1115. 以下：

(a) ORF1分子をコード化する核酸（例えば、核酸はプラスミドであるか、ウイルス核酸であるか、又は細胞染色体中に組み込まれている）を含む細胞、及び

(b) ORF1分子をコード化しない遺伝子エレメント（例えば、細胞内又は細胞外、例

10

20

30

40

50

例えば、細胞培地中の)であって、遺伝子エレメントが、プロモータエレメントと、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)をコード化する核酸配列(例えば、DNA配列)と、タンパク質結合配列と、を含む遺伝子エレメントを含む組成物。

【0204】

1116. 先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム若しくは単離核酸と、薬学的に許容される担体及び／又は賦形剤とを含む医薬組成物。

【0205】

1117. ORF1分子を製造する方法であって、本方法は、以下：

(a) 先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチドをコード化する核酸を含む宿主細胞(例えば、本明細書に記載される宿主細胞)を用意するステップ、及び

(b) 細胞がポリペプチドを産生することを可能にする条件下で宿主細胞を維持し、これによってORF1分子を製造するステップ

を含む方法。

【0206】

1118. ORF1分子を製造する方法であって、本方法は、以下：

(a) 先行実施形態のいずれかに記載の核酸組成物を含む宿主細胞(例えば、本明細書に記載される宿主細胞)を用意するステップ、及び

(b) 細胞がポリペプチドを産生することを可能にする条件下で宿主細胞を維持し、これによってORF1分子を製造するステップ

を含む方法。

【0207】

1119. 宿主細胞が、ヘルパー細胞である、実施形態1117又は1118に記載の方法。

【0208】

1120. ヘルパー細胞が、例えば、本明細書に記載されるように、野生型アネロウイルス(Ane ll o v i r u s)の1つ若しくは複数の追加ORF(例えば、ORF1／1、ORF1／2、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF2t／3、及び／又はORF3分子)をコード化する1つ若しくは複数の追加核酸を含む、実施形態1119に記載の方法。

【0209】

1121. 核酸が、宿主細胞のゲノム中に組み込まれる、実施形態1117～1120のいずれかに記載の方法。

【0210】

1122. 宿主細胞が、宿主細胞当たり少なくとも約10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、1000、10,000、50,000、100,000、500,000、又は1,000,000コピー(例えば、少なくとも約60コピー)のポリペプチドを産生する、実施形態1117～1121のいずれかに記載の方法。

【0211】

1123. 宿主細胞が、宿主細胞により産生されるアネロソーム当たり少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、1000、10,000、又は100,000コピー(例えば、少なくとも約60コピー)のポリペプチドを産生する、実施形態1117～1122のいずれかに記載の方法。

【0212】

1124. 方法が、複数の宿主細胞を用意するステップ、及び細胞当たり少なくとも1000コピーのポリペプチドの産生を可能にする条件下で宿主細胞を維持するステップを含む、実施形態1117～1123のいずれかに記載の方法。

【0213】

10

20

30

40

50

1125. 複数の宿主細胞が、少なくとも約 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 1×10^{10} 、 1×10^{11} 、又は 1×10^{12} コピーのポリペプチドを産生する、実施形態 1124 に記載の方法。

【0214】

1126. アネロソーム組成物を製造する方法であって、本方法は、以下：

- (a) ヘルパー細胞、例えば、本明細書に記載のヘルパー細胞を用意するステップ；
 - (b) 細胞がアネロソームを産生することを可能にする条件下で、遺伝子エレメントをヘルパー細胞に導入するステップ、並びに
 - (c) 例えば、被験者への投与に好適な医薬組成物として、アネロソームを製剤化するステップ
- を含み、
これにより、アネロソーム組成物を作製する方法。

【0215】

1127. アネロソーム組成物を製造する方法であって、本方法は、以下：

- (a) 宿主細胞を用意するステップ；
 - (b) ヘルパー細胞を宿主細胞に導入するステップ；
 - (c) 細胞がアネロソームを産生することを可能にする条件下で、遺伝子エレメントを宿主細胞に導入する（例えば、(b) の前、後、若しくはそれと同時に）ステップ、並びに
 - (d) 例えば、被験者への投与に好適な医薬組成物として、アネロソームを製剤化するステップ
- を含み、
これにより、アネロソーム組成物を作製する方法。

【0216】

1128. アネロソーム組成物を製造する方法であって、本方法は、以下：

- (a) ORF1 分子をコード化する核酸（例えば、核酸はプラスミドであるか、ウイルス核酸であるか、又はヘルパー細胞染色体中に組み込まれている）を含むヘルパー細胞を用意するステップ；
 - (b) 細胞がアネロソームを産生することを可能にする条件下で、ヘルパー細胞を宿主細胞に導入するステップであって、遺伝子エレメントは、ORF1 分子をコード化せず、遺伝子エレメントが、プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA 配列）と、タンパク質結合配列と、を含むステップ；並びに
 - (c) 例えば、被験者への投与に好適な医薬組成物として、アネロソームを製剤化するステップ
- を含み、
これにより、アネロソーム組成物を作製する方法。

【0217】

1129. アネロソーム組成物を製造する方法であって、本方法は、以下：

- (a) 宿主細胞を用意するステップ；
 - (b) ORF1 分子をコード化するヘルパー核酸（例えば、核酸はプラスミドであるか、又はウイルス核酸である）を宿主細胞に導入するステップ；並びに
 - (b) 細胞がアネロソームを産生することを可能にする条件下で、ヘルパー細胞を宿主細胞に導入する（例えば、(b) の前、後、若しくはそれと同時に）ステップであって、遺伝子エレメントは、ORF1 分子をコード化せず、遺伝子エレメントが、プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA 配列）と、タンパク質結合配列と、を含むステップ
- を含み、
これにより、アネロソームを作製する方法。

【0218】

1130. アネロソームをヘルパー細胞又は宿主細胞から分離するステップをさらに含む

10

20

30

40

50

、先行実施形態のいずれかに記載の方法。

【0219】

1131. ヘルパー細胞を用意するステップが、ヘルパー核酸を宿主細胞に導入するステップを含み、例えば、ヘルパー核酸が、ORF1分子をコード化する（例えば、核酸が、プラスミド、又はウイルス核酸である）、先行実施形態のいずれかに記載の方法。

【0220】

1132. ヘルパー細胞が、ORF1分子を含む、先行実施形態のいずれかに記載の方法。

【0221】

1133. 核酸が、以下：TATAボックス、イニシエータエレメント、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR保存ドメイン、ORF1コード化配列、ORF1／1コード化配列、ORF1／2コード化配列、ORF2コード化配列、ORF2／2コード化配列、ORF2／3コード化配列、ORF2／3tコード化配列、3オープンリーディングフレーム、ポリ（A）シグナル、及び／又は本明細書に記載されるアネロウイルス（Anellovirus）（例えば、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに列挙される通り）由来のGCリッチ領域、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%の同一性を有する配列のうち1つ若しくは複数を含む、先行実施形態のいずれかに記載の方法。

【0222】

1134. 核酸が、アネロウイルス（Anellovirus）ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り、例えば、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17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70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の同一性を有する配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載の方法。

【0223】

1135. 核酸が、アネロウイルス（Anellovirus）ゲノム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%の同一性を有する配列の少なくとも1つの追加コピー（例えば、計1、2、3、4、5、若しくは6コピー）を含む、先行実施形態のいずれかに記載の方法。

【0224】

1136. 宿主細胞又はヘルパー細胞が、核酸の少なくとも1つの追加コピー（例えば、計1、2、3、4、5、若しくは6コピー）を含む、先行実施形態のいずれかに記載の方法。

【0225】

1137. 核酸が、環状である、先行実施形態のいずれかに記載の方法。

【0226】

1137A. アネロソーム、例えば、合成アネロソームを作製する方法であって、以下：
a) 以下：

(i) アネロソーム、例えば、本明細書に記載される合成アネロソームの遺伝子エレメントの核酸配列を含む、核酸分子、例えば、第1核酸分子と、

(ii) 例えば、表16のいずれかに列挙されるように、ORF1、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF1／1、若しくはORF1／2から選択されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも70%（例えば、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の1つ若しくは複数を含む核酸分子、例えば、第2核酸分子と；

を含む宿主細胞を用意するステップ；及び

10

20

30

40

50

b) アネロソームを作製するのに好適な条件下で宿主細胞を培養するステップを含む方法。

【0227】

1137B. ステップ(a)の前に、第1核酸分子及び／又は第2核酸分子を宿主細胞に導入するステップをさらに含む、実施形態1137Aに記載の方法。

【0228】

1137C. 第2核酸分子が、第1核酸分子の前に、それと同時に、又はその後に宿主細胞に導入される、実施形態1137A又は1137Bに記載の方法。

【0229】

1137D. 第2核酸分子が、宿主細胞のゲノム中に組み込まれる、実施形態1137Cに記載の方法。

【0230】

1137E. 第2核酸分子が、ヘルパー（例えば、ヘルパープラスミド又はヘルパーウイルスのゲノム）である、実施形態1137Cに記載の方法。

【0231】

1137F. 第1核酸が、以下：本明細書に記載されるアネロウイルス（Anellovirus）（例えば、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに列挙される通り）由来のTATボックス、イニシエータエレメント、キャップ部位、転写開始部位、5'UTR保存ドメイン、及び／又はGCリッチ領域、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%の同一性を有する配列のうち1つ若しくは複数を含む、実施形態1137A～1137Eのいずれかに記載の方法。

【0232】

1138. エフェクターを被験者に送達する方法であって、以下：

(a) ORF1分子を含むタンパク質性外層；

(b) プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA配列）と、核酸配列：

(i) CGCGCTGCGCGCGCGCCGCGCCAGTAGGGGGAGCCCATGCG（配列番号160）

(ii) GCGCTX₁CGCGCGCGCGCGCCGGGGGGCTGCGCCCCC（配列番号164）（X₁は、T、G、若しくはAから選択される）

(iii) GCGCTTCGCGCGCGCGCCGCGCCACTAGGGGGGCGTTTGCGCG（配列番号165）；

(iv) GCGCTGCGCGCGCGCGCCGCGCCAGTAGGGGGGCGCAATGCG（配列番号166）；

(v) GCGCTGCGCGCGCGCGGGCCCCCGGGGGAGGGCAATTGCGCT（配列番号167）；

(vi) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCGCGGGGGGGGGCGCGCCAGCGCCCC（配列番号168）；

(vii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCGGGGGGGGGCTCCGCCCCC（配列番号169）；

(viii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCGGGGGGGGGCTGCGCCCCC（配列番号170）；

(ix) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCGGGGGGGGGCTGCGCCCCC（配列番号171）；若しくは

(x) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCGGGGGGGGGCTCTGCCCCC（配列番号172）；

又はそれらと少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、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

核酸配列

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領域と、を含む遺伝子エレメントを含むアネロソームを被験者に投与するステップを含み；

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；

任意選択で、遺伝子エレメントは、

(i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTV-tth8ゲノム配列と比較してヌクレオチド3436～3607の欠失を含まない；

(ii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較してヌクレオチド1432～2210の欠失を含まない；且つ／又は

(iii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較して少なくとも101個のヌクレオチドの欠失を含まず；

これにより、エフェクターを被験者に送達する方法。

【0233】

1139. エフェクターを被験者に送達する方法であって、以下：

(a) ORF1分子を含むタンパク質性外層；

(b) プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA配列）と、少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、若しくは80.6%のGC含有率を有する少なくとも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配列と、を含む遺伝子エレメント

を含むアネロソームを被験者に投与するステップを含み；

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；

任意選択で、遺伝子エレメントは、

(i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTV-tth8ゲノム配列と比較してヌクレオチド3436～3607の欠失を含まない；

(ii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較してヌクレオチド1432～2210の欠失を含まない；且つ／又は

(iii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較して少なくとも101個のヌクレオチドの欠失を含まず；

これにより、エフェクターを被験者に送達する方法。

【0234】

1140. エフェクターを被験者に送達する方法であって、以下：

(a) ORF1分子を含むタンパク質性外層；

(b) プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA配列）と、タンパク質結合配列と、を含む遺伝子エレメント

を含むアネロソームを被験者に投与するステップを含み；

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；

任意選択で、遺伝子エレメントは、

(i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTV-tth8ゲノム配列と比較してヌクレオチド3436～3607の欠失を含まない；

(ii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較してヌクレオチド1432～2210の欠失を含まない；且つ／又は

(iii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型TTMV-LY2ゲノム配列と比較して少なくとも101個のヌクレオチドの欠失を含まず；

これにより、エフェクターを被験者に送達する方法。

【0235】

1141. エフェクターを標的細胞に送達する方法であって、以下：

- (a) ORF 1 分子を含むタンパク質性外層；
- (b) プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA 配列）と、核酸配列：
- (i) CGCGCTGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGGAGCCCATGCG（配列番号 160）
- (ii) GCGCTX₁GCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGCTGCGCCCCCCC（配列番号 164）（X₁ は、T、G、若しくは A から選択される）
- (iii) GCGCTTCGCGCGCGCGCCCCACTAGGGGGGCGTTTGCGCGG（配列番号 165）；
- (iv) GCGCTGCGCGCGCGCGCCCCAGTAGGGGGGCGCAATGCGG（配列番号 166）；
- (v) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGAGGGCAATTGCCCT（配列番号 167）；
- (vi) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGGGCGCCAGCGCCCC（配列番号 168）；
- (vii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGGGCTCCGCCCCCCC（配列番号 169）；
- (viii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGGGCTGCGCCCCCCC（配列番号 170）；
- (ix) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGGGCTGCGCCCCCCCC（配列番号 171）；若しくは
- (x) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGGGCTCTGCCCCCCCCCC（配列番号 172）；
- 又はそれらと少なくとも 75、76、77、78、79、80、85、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核酸配列
- 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領域と、を含む遺伝子エレメント
- を含むアネロソームと標的細胞を接触させるステップを含み；
- 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；
- 任意選択で、遺伝子エレメントは、
- (i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTV-tth8 ゲノム配列と比較してヌクレオチド 3436～3607 の欠失を含まない；
- (ii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTMV-LY2 ゲノム配列と比較してヌクレオチド 1432～2210 の欠失を含まない；且つ／又は
- (iii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTMV-LY2 ゲノム配列と比較して少なくとも 101 個のヌクレオチドの欠失を含まず；
- これにより、エフェクターを標的細胞に送達する方法。
- 【0236】
1142. エフェクターを標的細胞に送達する方法であって、以下：
- (a) ORF 1 分子を含むタンパク質性外層；
- (b) プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA 配列）と、少なくとも 70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、若しくは 80.6% の GC 含有率を有する少なくとも 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配列と、を含む遺伝子エレメント
- を含むアネロソームと標的細胞を接触させるステップを含み；
- 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；
- 任意選択で、遺伝子エレメントは、

(i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTV-tth8 ゲノム配列と比較してヌクレオチド 3436～3607 の欠失を含まない；

(ii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTMV-LY2 ゲノム配列と比較してヌクレオチド 1432～2210 の欠失を含まない；且つ／又は

(iii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTMV-LY2 ゲノム配列と比較して少なくとも 101 個のヌクレオチドの欠失を含まず；

これにより、エフェクターを標的細胞に送達する方法。

【0237】

1143. エフェクターを標的細胞に送達する方法であって、以下：

(a) ORF1 分子を含むタンパク質性外層；

(b) プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA 配列）と、タンパク質結合配列と、を含む遺伝子エレメント

を含むアネロソームと標的細胞を接触させるステップを含み；

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；

任意選択で、遺伝子エレメントは、

(i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTV-tth8 ゲノム配列と比較してヌクレオチド 3436～3607 の欠失を含まない；

(ii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTMV-LY2 ゲノム配列と比較してヌクレオチド 1432～2210 の欠失を含まない；且つ／又は

(iii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTMV-LY2 ゲノム配列と比較して少なくとも 101 個のヌクレオチドの欠失を含まず；

これにより、エフェクターを標的細胞に送達する方法。

【0238】

1143A. エフェクターを標的細胞に送達する方法であって、以下：

(i) プロモータエレメントと、治療用外性エフェクターをコード化する核酸配列とを含む遺伝子エレメント（遺伝子エレメントは、本明細書に記載のアネロウイルス（Anellovirus）（例えば、表 A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは 17 のいずれかに列挙される通り）由来の 5' UTR ヌクレオチド配列に対して少なくとも 95% の配列同一性を有する配列を含む）；及び／又は

(ii) 本明細書に記載のアネロウイルス（Anellovirus）（例えば、表 A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは 17 のいずれかに列挙される通り）の ORF1 遺伝子によりコード化されるポリペプチドと少なくとも 95% の配列同一性を有するポリペプチドを含むタンパク質性外層

を含むアネロソームと標的細胞を接触させるステップを含み；

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；

任意選択で、遺伝子エレメントは、

(i) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTV-tth8 ゲノム配列と比較してヌクレオチド 3436～3607 の欠失を含まない；

(ii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTMV-LY2 ゲノム配列と比較してヌクレオチド 1432～2210 の欠失を含まない；且つ／又は

(iii) 例えば、本明細書に記載されるように、野生型 TTMV-LY2 ゲノム配列と比較して少なくとも 101 個のヌクレオチドの欠失を含まず；

これにより、エフェクターを標的細胞に送達する方法。

【0239】

1144. 遺伝子エレメントが、NCBI アクセッション番号 A7XCE8.1 のアミノ酸配列をコード化しない、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

10

20

30

40

50

【0240】

1145. ORF1分子が、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙されるORF1配列に対して少なくとも70%（例えば、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、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0241】

1146. ORF1分子のアミノ酸の少なくとも30%（例えば、少なくとも30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、90%、若しくはそれ以上）が、βシートの一部である、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

10

【0242】

1147. ORF1分子の二次構造が、少なくとも3つ（例えば、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、若しくは20）のβシートを含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0243】

1148. ORF1分子の二次構造が、少なくとも1:1、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、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

20

【0244】

1149. ORF1分子が、アルギニンリッチ領域（例えば、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙されるアルギニンリッチ領域配列に対して少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の同一性を有する）を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0245】

1150. アルギニンリッチ領域が、少なくとも40%（例えば、少なくとも40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、55%、60%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、75%、80%、85%、90%、又は95%）のアルギニン残基を含有する少なくとも15、20、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、又は50個の連続したヌクレオチドを含む、実施形態1149に記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

30

【0246】

1151. アルギニンリッチ領域が、ORF1分子のN末端又はC末端に位置する、実施形態1149又は1150に記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

40

【0247】

1152. アルギニンリッチ領域が、アミノ酸配列
TVVRRRGRSPRRRTTPSPRRRRRSQSPPRRRRRSQSRESQ C（配列番号808）、
RRRYARPYRRRHIRRYRRRRRHFRRRR（配列番号809）、
MPYYYRRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFRRRFRRKRRVR（配列番号216）、又は

50

【化 9】

MAWGWWKRRRRWWFRKRWTRGRLRRRWPRSAARRRPRRRRVRRRRRWRRGRKTRTYRRRR
RFRRRGRK (配列番号186)

に対して少なくとも70%（例えば、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、実施形態1149～1151のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0248】

1153. アルギニンリッチ領域が、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙されるアルギニンリッチ領域配列に対して少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の同一性を有する、実施形態1149～1152のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0249】

1154. ORF1分子が、本明細書に記載のORF1分子のゼリーロールドメイン、例えば、アミノ酸配列

【化10】

PTYTTIPLKQWQPPYKRTCYIKGQDCLIIYSNLRLGMNSTMYEKSIVPVHWPGGGSFSVSMLTLD
ALYDIHKLRCRNWWTSTNQDLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHTELPANSNKLTYPNTHPLM
MMMSKYKHIIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPPPQFENKWFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNPVKP
DKLSNNVTLWSLNT (配列番号217)

を有するゼリーロールドメインのアミノ酸配列、又は表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙されるゼリーロールドメイン配列に対して少なくとも30%（例えば、少なくとも約30、35、40、50、60、70、80、90、95、96、97、98、99、若しくは100%）の配列同一性を有する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ポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0250】

1155. ORF1分子が、本明細書に記載のORF1分子のN22ドメイン、例えば、アミノ酸配列

【化11】

TMALTPFNEIFTQIQYNPDRDTGEDTQLYLLSNATGTGWDPPGIPILILEGFPLWLIYWGFADFQ
KNLKKVTNIDTNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVILNDTFVEGNSPYEKQPLPEDNIKWYPQVQYQL
EAQNKLLQTGPFTPNIQGQLSDNISMFYKFYFK (配列番号219)

を有するN22ドメインのアミノ酸配列、又は表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙されるN22ドメイン配列に対して少なくとも30%（例えば、少なくとも約30、35、40、50、60、70、80、90、95、96、97、98、99、若しくは100%）の配列同一性を有するN22ドメインを含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0251】

1156. ORF1分子が、細胞の核に局在化する、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0252】

1157. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、例えば、本明細書に記載される野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列の約500、1000、1100、1200、1210、若しくは1219個の連続したヌクレオチドに対して50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%以下の配列同一性を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0253】

1158. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、例えば、本明細書に記載される野生型アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus) (例えば、クレード1、2、若しくは3アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus)) ゲノム配列の約500、1000、1500、2000、2100、2200、2300、2400、2500、2600、2700、2800、2900、3000、3100、3200、3300、3400、3450、3460、3470、3480、3490、3500、3510、3520、3530、3540、3550、3560、3570、若しくは3580個の連続したヌクレオチドに対して50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%以下の配列同一性を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0254】

1159. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、例えば、本明細書に記載される野生型ベータトルクウイルス (Betatorquevirus) ゲノム配列の約500、1000、1100、1200、1210、若しくは1219個の連続したヌクレオチドに対して50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%以下の配列同一性を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0255】

1160. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、例えば、本明細書に記載される野生型ガンマトルクウイルス (Gammatorequevirus) ゲノム配列の約500、1000、1500、2000、2100、2200、2300、2400、2500、2600、2700、2800、2900、3000、3100、3120、3130、3140、3141、若しくは3142個の連続したヌクレオチドに対して50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%以下の配列同一性を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0256】

1161. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、例えば、本明細書に記載される野生型アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus) (例えば、クレード1、2、若しくは3アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus)) ゲノム配列の約500、1000、1500、2000、2100、2200、2300、2400、2500、2600、2700、2800、2900、3000、3100、3200、3300、3400、3450、3460、3470、3480、3490、3500、3510、3520、3530、3540、3550、3560、3570、若しくは3580個の連続したヌクレオチド (例えば、約500~3580、1000~3580、1500~3580、2000~3580、若しくは3000~3580個の連続したヌクレオチド) に対して少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物

10

20

30

40

50

、又は方法。

【0257】

1162. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、例えば、本明細書に記載される野生型ベータトルクウイルス (Betatorquevirus) ゲノム配列の約500、1000、1100、1200、1210、若しくは1219個の連続したヌクレオチド (例えば、約500～1000、500～1100、500～1200、500～1219、1000～1100、1000～1200、若しくは1000～1219個の連続したヌクレオチド) に対して少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

10

【0258】

1163. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、例えば、本明細書に記載される野生型ガンマトルクウイルス (Gammatorequevirus) ゲノム配列の約500、1000、1500、2000、2100、2200、2300、2400、2500、2600、2700、2800、2900、3000、3100、3120、3130、3140、3141、若しくは3142個の連続したヌクレオチド (例えば、約500～3142、1000～3142、1500～3142、2000～3142、若しくは2500～3142個の連続したヌクレオチド) に対して少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

20

【0259】

1164. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、例えば、本明細書に記載される野生型TTMV-LY2ゲノム配列の約500、1000、1100、1200、1210、若しくは1219個の連続したヌクレオチドに対して50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%以下の配列同一性を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0260】

1165. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、例えば、本明細書に記載される野生型TTV-tth8ゲノム配列の約500、1000、1500、2000、2100、2200、2300、2400、2500、2600、2700、2800、2900、3000、3100、3200、3300、3400、3500、3550、3560、3570、3580、若しくは3581個の連続したヌクレオチドに対して50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%以下の配列同一性を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

30

【0261】

1166. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、例えば、本明細書に記載される野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列と比較して、少なくとも1578、1579、1580、1590、1600、1650、1700、1750、若しくは2000ヌクレオチドの欠失を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

40

【0262】

1167. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、例えば、本明細書に記載される野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列と比較して、1～99、1～90、1～80、1～70、1～60、1～50、10～99、10～90、10～80、10～70、10～60、10～50、20～99、20～90、20～80、20～70、20～60、20～50、30～99、30～90、30～80、30～70、30～

50

60、30～50、40～99、40～90、40～80、40～70、40～60、又は40～50ヌクレオチドの欠失を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0263】

1168. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、例えば、本明細書に記載される野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列と比較して、100ヌクレオチド欠失、172ヌクレオチド欠失、又は1577ヌクレオチド欠失を含まない、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0264】

1169. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、例えば、本明細書に記載される野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列と比較して、3つ以上の欠失を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0265】

1170. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、核酸配列：

(i) CGCGCTGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGAGCCATGC (配列番号160)

(ii) GCGCTX₁CGCGCGCGCGCGCCGGGGGGCTGCGCCCCC C (配列番号164) (X₁は、T、G、若しくはAから選択される)

(iii) GCGCTTCGCGCGCGCGCCGCCCCACTAGGGGGCGTTGCGCG (配列番号165)；

(iv) GCGCTGCGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGCGCAATGCG (配列番号166)；

(v) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCCCGGGGGAGGGCATTGCTT (配列番号167)；

(vi) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCGCCAGCGCCC (配列番号168)；

(vii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTCCGCCCCC C (配列番号169)；

(viii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTGCGCCCCC C (配列番号170)；

(ix) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTGCGCCCCC C (配列番号171)；若しくは

(x) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTCTGCCCCC C (配列番号172)；

に対して少なくとも75% (例えば、少なくとも75、76、77、78、79、80、85、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領域を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0266】

1171. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、核酸配列：

(i) CGCGCTGCGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGAGCCATGC (配列番号160)

(ii) GCGCTX₁CGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTGCGCCCCC C (配列番号164) (X₁は、T、G、若しくはAから選択される)

(iii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCGCCCCACTAGGGGGCGTTGCGCG (配列番号165)；

(iv) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGCGCAATGCG (配列番号166)；

10

20

30

40

50

1176. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、少なくとも80%のGC含有率を有する少なくとも36個の連続したヌクレオチドを含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0272】

1177. アネロウイルス (Anellovirus)、例えば、本明細書に記載される野生型アネロウイルス (Anellovirus) のORF1、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF2t/3、及び/又はORF3をコード化する核酸配列をさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0273】

1178. プロモータエレメント、エフェクターをコード化する核酸配列、又はタンパク質結合配列が、それぞれ、例えば、本明細書に記載される表A1~A12、B1~B5、C1~C5、若しくは1~18のいずれかのアネロウイルス (Anellovirus) のプロモータエレメント、エフェクターをコード化する核酸配列、又はタンパク質結合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、85、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、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0274】

1179. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、エフェクターをコード化する核酸配列に対して3'側に位置するパッケージング領域を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0275】

1180. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、エフェクターをコード化する核酸配列に対して5'側に位置するパッケージング領域を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0276】

1181. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、例えば、本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) のORF1、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF2t/3、及び/又はORF3のアミノ酸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、85、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アネロウイルス (Anellovirus) タンパク質をコード化する核酸配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0277】

1182. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、一本鎖DNAを含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0278】

1183. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、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%、又は2%未満の頻度で、真核細胞のゲノムに組み込まれる、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0279】

1184. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、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 Tenovirus) (TTV)、トルク・テノミニウイルス (Torque Tenomini virus) (TTMV)、又はTTMDV配列、例えば、野生型アネロウイルス (An

10

20

30

40

50

e l l o v i r u s) 配列、例えば、表 A 1、A 3、A 5、A 7、A 9、A 11、B 1～B 5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは 17 のいずれかに列挙される通り)、又はそれらに由来する約 50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1000、1100、1200、1300、1400、1500、1600、1700、1800、1900、2000、2100、2200、2300、2400、2500、2600、2700、2800、2900、若しくは 3000 個の連続したヌクレオチドから構成されるその 1 部分に対して、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、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

10

【0280】

1185. タンパク質結合配列が、表 20 に示されるコンセンサス 5' UTR 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、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0281】

1186. タンパク質結合配列が、表 21 に示されるコンセンサス GC リッチ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、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

20

【0282】

1187. タンパク質結合配列が、表 38 に示されるコンセンサス 5' UTR 配列及び表 39 に示される GC リッチ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、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0283】

1188. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、表 A 1、A 3、A 5、A 7、A 9、A 11、B 1～B 5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは 17 のいずれかの核酸配列のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 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配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

30

【0284】

1189. 遺伝子エレメント又は単離核酸分子が、表 A 1、A 3、A 5、A 7、A 9、A 11、B 1～B 5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは 17 のいずれかの核酸配列のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) GC リッチ領域に対して少なくとも 85% の配列同一性を有する配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

40

【0285】

1190. プロモータエレメントが、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、組織特異的、U6 (p o l l I I I)、アクチベータタンパク質 (T e t R-V P 16、G a l 4-V P 16、d C a s 9-V P 16 など) に対する上流 DNA 結合部位を有する最小 CMV プロモータを含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0286】

50

1191. エフェクターが、治療薬、例えば、治療用ペプチド若しくはポリペプチド、又は治療用核酸をコード化する、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0287】

1192. エフェクターが、調節核酸、例えば、miRNA、siRNA、mRNA、lncRNA、RNA、DNA、アンチセンスRNA、gRNA；蛍光タグ若しくはマーカ、抗原、ペプチド、天然の生物活性ペプチド由来の合成若しくは類似ペプチド、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、孔形成ペプチド、二環式ペプチド、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、小分子、免疫エフェクター（例えば、免疫応答／シグナルに対する感受性に影響を与える）、細胞死誘導タンパク質（アポトーシス若しくは壊死の誘導物質）、腫瘍の非溶解性阻害剤（例えば、癌タンパク質の阻害剤）、後成的修飾剤、後成的酵素、転写因子、DNA若しくはタンパク質修飾酵素、DNA挿入剤、排出ポンプ阻害剤、核受容体アクチベータ若しくは阻害剤、プロテアソーム阻害剤、1酵素の競合阻害剤、タンパク質合成エフェクター若しくは阻害剤、ヌクレアーゼ、タンパク質断片若しくはドメイン、リガンド、抗体、受容体、又はCRISPR系若しくは成分を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

10

【0288】

1193. アネロソームが、自律的に複製することができる、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

20

【0289】

1194. 発現ベクターが、プラスミド、コスミド、人工染色体、ファージ及びウイルスからなる群から選択される、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸分子。

【0290】

1195. 先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸又はアネロソームを含む、単離細胞。

【0291】

1196. 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）のORF1／1、ORF1／2、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF2t／3、及び／又はORF3をさらに含む、実施形態195に記載の単離細胞。

30

【0292】

1197. 被験者にエフェクターを送達する方法であって、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、単離細胞、又は組成物を被験者に投与するステップを含み；遺伝子エレメント又は単離核酸分子は、エフェクターをコード化し、且つエフェクターが、被験者において発現される、方法。

【0293】

1198. 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、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、単離細胞、又は組成物を被験者に投与するステップを含み；遺伝子エレメント又は単離核酸分子は、治療薬をコード化し、且つ治療薬が、被験者において発現される、方法。

40

【0294】

1199. エクスビボの細胞又は細胞の集団（例えば、被験者から採取した細胞又は細胞の集団）にエフェクターを送達する方法であって、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、単離細胞、又は組成物を細胞又は細胞の集団に導入するステップを含み；遺伝子エレメント又は単離核酸分子は、エフェクターをコード化し、且つエフェクターが、細胞又は細胞の集団において発現される、方法。

【0295】

1200. 遺伝子エレメントが、一本鎖DNAであり、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

50

． 0.5 %、0.1 %、0.5 %、1 %、1.5 %、又は2 %未満の頻度で、真核細胞のゲノム中に組み込まれる、のうちの一方又は両方を有する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0296】

1201．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、野生型アネロウイルス (Anellovirus) 配列、例えば、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに列挙される通り) 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、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

10

【0297】

1202．タンパク質結合配列が、表38に示されるコンセンサス5' UTR配列、若しくは表39に示されるコンセンサスGCリッチ配列、又は表38に示されるコンセンサス5' UTR配列と表39に示されるコンセンサスGCリッチ配列の両方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、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

20

【0298】

1203．プロモータエレメントが、RNAポリメラーゼIII-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、組織特異的、U6 (polIII)、アクチベータタンパク質 (TetR-VP16、Gal4-VP16、dCas9-VP16など) に対する上流DNA結合部位を有する最小CMVプロモータを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0299】

1204．プロモータエレメントが、TATAボックスを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

30

【0300】

1205．プロモータエレメントが、野生型アネロウイルス (Anellovirus) 、例えば、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、6、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに列挙される野生型アネロウイルス (Anellovirus) 配列に対して内在性である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0301】

1206．プロモータエレメントが、野生型アネロウイルス (Anellovirus) 、例えば、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、6、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに列挙される野生型アネロウイルス (Anellovirus) 配列に対して外性である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

40

【0302】

1207．エフェクターが、治療薬、例えば、治療用ペプチド若しくはポリペプチド、又は治療用核酸をコード化する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0303】

1208．エフェクターが、調節核酸、例えば、miRNA、siRNA、mRNA、lncRNA、RNA、DNA、アンチセンスRNA、gRNA；蛍光タグ若しくはマーカ、抗原、ペプチド、天然の生物活性ペプチド由来の合成若しくは類似ペプチド、アゴニス

50

ト若しくはアンタゴニストペプチド、抗微生物ペプチド、孔形成ペプチド、二環式ペプチド、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、小分子、免疫エフェクター（例えば、免疫応答／シグナルに対する感受性に影響を与える）、細胞死誘導タンパク質（アポトーシス若しくは壊死の誘導物質）、腫瘍の非溶解性阻害剤（例えば、癌タンパク質の阻害剤）、後成的修飾剤、後成的酵素、転写因子、DNA若しくはタンパク質修飾酵素、DNA挿入剤、排出ポンプ阻害剤、核受容体アクチベータ若しくは阻害剤、プロテアソーム阻害剤、1酵素の競合阻害剤、タンパク質合成エフェクター若しくは阻害剤、ヌクレアーゼ、タンパク質断片若しくはドメイン、リガンド、抗体、受容体、又はCRISPR系若しくは成分を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

10

【0304】

1209. エフェクターが、miRNAを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0305】

1210. エフェクター、例えば、miRNAが、宿主遺伝子をターゲティングする、例えば、遺伝子の発現を調節する、例えば、遺伝子の発現を増大又は低減する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0306】

1211. エフェクターが、miRNAを含み、宿主遺伝子の発現を低減する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

20

【0307】

1212. エフェクターが、約20～200、30～180、40～160、50～140、又は60～120ヌクレオチド長の核酸配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0308】

1213. エフェクターをコード化する核酸配列が、約20～200、30～180、40～160、50～140、又は60～120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ソーム。

【0309】

1214. エフェクターをコード化する配列が、少なくとも約100ヌクレオチドのサイズを有する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

30

【0310】

1215. エフェクターをコード化する配列が、少なくとも約100～約5000ヌクレオチドのサイズを有する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0311】

1216. エフェクターをコード化する配列が、約100～200、200～300、300～400、400～500、500～600、600～700、700～800、800～900、900～1000、1000～1500、又は1500～2000ヌクレオチドのサイズを有する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0312】

1217. エフェクターをコード化する配列が、以下：遺伝子エレメントのORF1遺伝子座（例えば、ORF1遺伝子座のC末端）、miRNA遺伝子座、TATAボックス上流の5'ノンコーディング領域、5'UTR、ポリ-A領域下流の3'ノンコーディング領域、若しくはGCリッチ領域上流のノンコーディング領域の1つ若しくは複数に、その内部、又はそれに隣接して（例えば、5'若しくは3'側で）位置する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

40

【0313】

1218. エフェクターをコード化する配列が、遺伝子エレメントのポリ-A領域とGCリッチ領域の間に位置する、実施形態1217に記載のアネロソーム。

【0314】

50

1219. タンパク質結合配列が、野生型アネロウイルス (Anellovirus)、例えば、表 A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、6、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに挙げる野生型アネロウイルス (Anellovirus 配列の 5' UTR 保存ドメイン又は GCリッチドメイン) 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核酸配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0315】

1220. 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が、以下：

- (i) 表 38 に示されるコンセンサス 5' UTR 核酸配列；
- (ii) 表 38 に示される例示的な TTV 5' UTR 核酸配列；
- (iii) 表 38 に示される TTV-CT30F 5' UTR 核酸配列；
- (iv) 表 38 に示される TTV-HD23a 5' UTR 核酸配列；
- (v) 表 38 に示される TTV-JA20 5' UTR 核酸配列；
- (vi) 表 38 に示される TTV-TJN02 5' UTR 核酸配列；
- (vii) 表 38 に示される TTV-tth8 5' UTR 核酸配列；
- (viii) 表 39 に示されるコンセンサス GCリッチ領域；
- (ix) 表 39 に示される例示的な TTV GCリッチ領域；
- (x) 表 39 に示される TTV-CT30F GCリッチ領域；
- (xi) 表 39 に示される TTV-JA20 GCリッチ領域；
- (xii) 表 39 に示される TTV-TJN02 GCリッチ領域；
- (xiii) 表 39 に示される TTV-HD23a GCリッチ領域；
- (xiv) 表 39 に示される TTV-tth8 GCリッチ領域

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、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0316】

1221. タンパク質性外層が、タンパク質結合配列と特異的に結合することができる外部タンパク質を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0317】

1222. タンパク質性外層が、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、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、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0318】

1223. タンパク質性外層が、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/若しくはそれとの結合、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、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0319】

1224. タンパク質性外層が、以下：1つ若しくは複数の機能、例えば、種及び/若しくは組織及び/若しくは細胞指向性、遺伝子エレメント結合及び/若しくはパッケージング、免疫回避 (実質的な非免疫原性及び/若しくは寛容性)、薬物動態、エンドサイトーシス及び/若しくは細胞接着、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、並びに核酸保護を提供する少なくとも1つの機能性ドメインを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0320】

10

20

30

40

50

1225. エフェクターを除く遺伝子エレメントの部分が、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）、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、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0321】

1226. 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ソーム。

【0322】

1227. 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ソーム。

【0323】

1228. 遺伝子エレメントが、DNAである、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0324】

1229. 遺伝子エレメントが、マイナス鎖DNAである、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0325】

1230. 遺伝子エレメントが、エピソームを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0326】

1231. アネロソームが、10%、5%、2%、若しくは1重量%未満の脂質含有率を有し、例えば、脂質二重層を含まない、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0327】

1232. アネロソームが、外側脂質二重層を含むウイルス粒子、例えば、レトロウイルス（retrovirus）と比較して、界面活性剤（例えば、中性洗剤、例えば、胆汁酸塩、例えば、デオキシコール酸ナトリウム）による分解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ソーム。

【0328】

1233. 界面活性剤（例えば、0.5重量%の界面活性剤）と37℃で30分間のインキュベーション後に、アネロソームの少なくとも約50%（例えば、少なくとも約50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、若しくは99.9%）が分解されない、実施形態58に記載のアネロソーム。

【0329】

1234. 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TTV配列又は野生型TTMV配列と比較して、少なくとも1つのエレメント、例えば、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに列挙されるエレメントの欠失を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0330】

1235. 遺伝子エレメントが、以下：

(i) TTV-teth8配列、例えば、表5に示される核酸配列のヌクレオチド3436～3607；

(ii) TTMV-LY2配列、例えば、表15に示される核酸配列のヌクレオチド574～1371及び／又はヌクレオチド1432～2210；

(iii) TTMV-LY2配列、例えば、表15に示される核酸配列のヌクレオチド1372～1431；又は

(iv) TTMV-LY2配列、例えば、表15に示される核酸配列のヌクレオチド2610～2809

10

20

30

40

50

に対応する核酸配列を含む欠失を含む、実施形態 1 2 3 4 に記載のアネロソーム。

【0331】

1 2 3 6 . 遺伝子エレメントが、野生型アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 配列、例えば、野生型トルク・テノウイルス (T o r q u e T e n o v i r u s) (T T V)、トルク・テノミニウイルス (T o r q u e T e n o m i n i v i r u s) (T T M V)、又は T T M D V 配列、例えば、表 A 1、A 3、A 5、A 7、A 9、A 11、B 1 ~ B 5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは 17 のいずれかに挙げる 1 配列の少なくとも 7 2 ヌクレオチド (例えば、少なくとも 7 3、7 4、7 5 n t など、任意選択で、ゲノムの完全長未満) を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

10

【0332】

1 2 3 7 . 遺伝子エレメントが、さらに、以下の配列：1 つ若しくは複数の m i R N A 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 (s i R N A、l n c R N A、s h R N A) 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、治療用 m R N A 若しくはタンパク質をコード化する配列、細胞溶解性／細胞傷害性 R N A 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、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0333】

1 2 3 8 . アネロソームが、さらに、第 2 の遺伝子エレメント、例えば、タンパク質性外層内に閉じ込められた第 2 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ソーム。

20

【0334】

1 2 3 9 . 遺伝子エレメントが、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、例えば、本明細書に記載の通り、例えば 5' U T R 保存ドメイン又は G C リッチ領域を含む、実施形態 1 2 3 8 に記載のアネロソーム。

【0335】

1 2 4 0 . アネロソームが、検出可能な程度で細菌細胞に感染せず、例えば、細菌細胞の 1 %、0.5 %、0.1 %、又は 0.01 % 未満に感染する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

30

【0336】

1 2 4 1 . アネロソームが、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞、例えば、免疫細胞、肝細胞、上皮細胞に、例えば、インビトロで感染することができる、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0337】

1 2 4 2 . 遺伝子エレメントが、細胞に進入するアネロソームの 10 %、8 %、6 %、4 %、3 %、2 %、1 %、0.5 %、0.2 %、0.1 % 未満の頻度で組み込まれ、例えば、アネロソームは非統合性である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0338】

1 2 4 3 . 遺伝子エレメントが、例えば、定量 P C R アッセイにより測定される場合、細胞当たり少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、60、70、80、90、10²、2×10²、5×10²、10³、2×10³、5×10³、又は 10⁴ ゲノム当量の遺伝子エレメントを複製することができる (例えば、ローリングサークル複製により)、例えば、産生することができる、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

40

【0339】

1 2 4 4 . 遺伝子エレメントが、例えば、定量 P C R アッセイにより測定される場合、細胞内への遺伝子エレメントの送達前にアネロソーム中に存在したものと比較して、1 細胞中に少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、60、70、80、90、10²、2×10²、5×10²、10³、2×10³、5×

50

103、又は104多いゲノム当量の遺伝子エレメントを複製することができる（例えば、ローリングサークル複製により）、例えば、産生することができる、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0340】

1244A．タンパク質性外層が、遺伝子エレメントに対して*cis*及び／又は*trans*で供給される、実施形態1243又は1244に記載のアネロソーム。

【0341】

1244B．細胞中のヘルパー核酸（例えば、ヘルパーウイルス）が、タンパク質性外層又はその1部分（例えば、ORF1分子）をコード化する、実施形態1243～1244Aのいずれかに記載のアネロソーム。

【0342】

1244C．1つ又は複数の複製因子（例えば、レプリカーゼ）が、遺伝子エレメントに対して*cis*及び／又は*trans*で供給される、実施形態1243～1244Bのいずれかに記載のアネロソーム。

【0343】

1244D．細胞中のヘルパー核酸（例えば、ヘルパーウイルス）が、1つ又は複数の複製因子をコード化する、実施形態1244Cに記載のアネロソーム。

【0344】

1245．遺伝子エレメントが複製不可能であり、例えば、遺伝子エレメントが、複製起点で改変されているか、又は複製起点がない、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0345】

1246．遺伝子エレメントが、自己複製不可能であり、例えば、宿主細胞ゲノムに組み込まれることなく、複製されることが可能である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0346】

1247．アネロソームが、実質的に非病原性であり、例えば、被験者の検出可能な有害な症状（例えば、アネロソームに曝露されていない被験者と比較して、例えば、細胞死又は毒性の増大）を誘導しない、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0347】

1248．アネロソームが、実質的に非免疫原性であり、例えば、実施例4に記載の方法に従って検出される場合、例えば、検出可能な及び／又は不要な免疫応答を誘導しない、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0348】

1249．実質的に非免疫原性のアネロソームが、被験者において、免疫応答が欠損する対照被験者における効力の少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、又は100%である効力を有する、実施形態1248に記載のアネロソーム。

【0349】

1250．免疫応答が、以下：アネロソームに対して特異的な抗体若しくはその部分、又はその核酸によりコード化される産物；アネロソーム若しくはアネロソームを含む細胞に対する細胞応答（例えば、免疫エフェクター細胞（例えば、T細胞若しくはNK細胞）応答）；又はアネロソーム若しくはアネロソームを含む細胞のマクロファージ貪食のうち1つ若しくは複数を含む、実施形態1248又は1249に記載のアネロソーム。

【0350】

1251．アネロソームが、AAVより免疫原性が低く、例えば、本明細書に記載のアッセイにより測定した場合、同等量のAAVについて検出されるものを下回る免疫応答を誘発し、本明細書に記載のアッセイにより測定した場合、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）を誘導するか、又は実質的に非免疫原性である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム

10

20

30

40

50

ム。

【0351】

1252. 少なくとも1000のアネロソームの集団が、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、若しくは1000コピー）の遺伝子エレメントを1つ又は複数の真核細胞内に送達することができる、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0352】

1253. アネロソームの集団（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、若しくは1000ゲノム当量の遺伝子エレメント）が、真核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、例えば、その際、真核細胞は、実施例22に記載されるように、HEK293T細胞である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

10

【0353】

1254. アネロソームの集団（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、若しくは1000ゲノム当量の遺伝子エレメント）が、真核細胞の集団に、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 以上のコピーの遺伝子エレメントを送達することができ、例えば、その際、真核細胞は、実施例22に記載されるように、HEK293T細胞である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

20

【0354】

1255. アネロソームの集団（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、若しくは1000ゲノム当量の遺伝子エレメント）が、真核細胞の集団に、細胞当たり1~3、1~4、1~5、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 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ コピーの遺伝子エレメントを送達することができ、例えば、その際、真核細胞は、実施例22に記載されるように、HEK293T細胞である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

30

【0355】

1256. アネロソームが、少なくとも2つの継代後に存在する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0356】

1257. アネロソームが、少なくとも2つの継代を含むプロセスにより生産される、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

40

【0357】

1258. アネロソームが、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ソーム。

【0358】

1259. 真核細胞が、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0359】

1260. アネロソーム、又はそのコピーが、細胞内への送達から24時間（例えば、1

50

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）後に検出可能である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0360】

1261. アネロソームが、例えば、感染力アッセイ、例えば、実施例7に記載のアッセイを用いた場合、感染から3～4日後に、例えば、細胞に感染させるために用いられるアネロソームの量に対して、少なくとも約10⁸倍（例えば、約10⁵倍、10⁶倍、10⁷倍、10⁸倍、10⁹倍、若しくは10¹⁰倍）のゲノム当量/mLで、細胞ペレット及び上清中に産生される、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0361】

1262. 先行実施形態のいずれかに記載のアネロソームを含む組成物。

10

【0362】

1263. 先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム、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。

【0363】

1264. 少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくはそれ以上のアネロソーム、例えば、アネロソームを含む、実施形態1262又は1263に記載の組成物又は医薬組成物。

【0364】

1265. 少なくとも10³、10⁴、10⁵、10⁶、10⁷、10⁸、又は10⁹個のアネロソームを含む、実施形態1262～1264のいずれかに記載の組成物又は医薬組成物。

20

【0365】

1266. 以下の特徴：

- a) 医薬組成物が、医薬又は適正製造基準（GMP）を満たすこと；
- b) 医薬組成物が、適正製造基準（GMP）に従って製造されていること；
- c) 医薬組成物が、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) 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こと；
- e) 医薬組成物が、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、≤200：1、≤100：1、若しくは<50：1）を有すること、或いは
- 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

30

の1つ又は複数を含む、実施形態1262～1265のいずれかに記載の組成物又は医薬組成物。

【0366】

1267. 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1262～1266のいずれかに記載の組成物又は医薬組成物。

40

【0367】

1268. 混入物が、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不要なアネロソーム（所望のアネロソーム、例えば、本明細書に記載するようなアネロソーム以外のアネロソーム）、遊離ウイルスキャプシドタンパク質、外来性汚染生物、及び凝集体からなる群から選択される、実施形態1267に記載の組成物又は医薬組成物。

【0368】

1269. 混入物が、宿主細胞DNAであり、閾値量が、医薬組成物の用量当たり約10 ngの宿主細胞DNAである、実施形態1268に記載の組成物又は医薬組成物。

50

【0369】

1270. 医薬組成物が、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1262～1269のいずれかに記載の組成物又は医薬組成物。

【0370】

1271. 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ソーム、組成物、又は医薬組成物の使用。

【0371】

1272. 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ソーム、組成物、又は医薬組成物。 10

【0372】

1273. 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ソーム（例えば、合成アネロソーム）、又は医薬組成物を被験者に投与するステップを含む方法。

【0373】

1274. 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ソーム（例えば、合成アネロソーム）又は医薬組成物を被験者に投与するステップを含む方法。 20

【0374】

1275. アネロソームが、外性エフェクターを含まない、実施形態1273～1274のいずれかに記載の方法。

【0375】

1276. アネロソームが、例えば、本明細書に記載される野生型アネロウイルス（Anellovirus）を含む、実施形態1273～1275のいずれかに記載の方法。

【0376】

1277. アネロソーム、例えば、合成アネロソームの投与により、被験者の標的細胞の集団の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、若しくはそれ以上への遺伝子エレメントの送達が達成される、実施形態1273～1276のいずれかに記載の方法。 30

【0377】

1278. アネロソーム、例えば、合成アネロソームの投与により、被験者の標的細胞の集団の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、若しくはそれ以上へのエフェクターの送達が達成される、実施形態1273～1277のいずれかに記載の方法。

【0378】

1279. 標的細胞が、例えば、インビトロで、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞、例えば、血液細胞、皮膚細胞、筋肉細胞、神経細胞、脂肪細胞、内皮細胞、免疫細胞、肝細胞、肺上皮細胞を含む、実施形態1277又は1278に記載の方法。 40

【0379】

1280. 標的細胞が、肝臓又は肺に存在する、実施形態1277～1279のいずれかに記載の方法。

【0380】

1281. 遺伝子エレメントが送達される標的細胞が各々、少なくとも10、50、100、500、1000、10,000、50,000、100,000、又はそれ以上の遺伝子エレメントのコピーを受ける、実施形態1273～1280のいずれかに記載の方法。

【0381】

1282. エフェクターが、miRNAを含み、且つmiRNAが、例えば、アネロソーム 50

ムが送達される細胞又は細胞の集団中の標的タンパク質又はRNAのレベルを、例えば、少なくとも10%、20%、30%、40%、若しくは50%低下させる、実施形態1273～1281のいずれかに記載の方法。

【0382】

1283. アネロソーム、例えば、合成アネロソームを細胞に送達する方法であって、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソームを細胞、例えば、真核細胞、例えば、哺乳動物細胞と接触させるステップを含む、方法。

【0383】

1284. ヘルパーウイルスを細胞と接触させるステップをさらに含み、ここで、ヘルパーウイルスが、ポリヌクレオチド、例えば、外部タンパク質をコード化するポリヌクレオチド、例えば、外部タンパク質結合配列に結合することができる外部タンパク質、並びに任意選択で、脂質エンベロープを含む、実施形態1283に記載の方法。

【0384】

1285. アネロソームを細胞と接触させるステップの前、それと同時、又はその後に、ヘルパーウイルスを細胞と接触させる、実施形態1284に記載の方法。

【0385】

1286. ヘルパーポリヌクレオチドを細胞と接触させるステップをさらに含む、実施形態1283に記載の方法。

【0386】

1287. ヘルパーポリヌクレオチドが、外部タンパク質をコード化する配列ポリヌクレオチド、例えば、外部タンパク質結合配列に結合することができる外部タンパク質と、脂質エンベロープとを含む、実施形態1286に記載の方法。

【0387】

1288. ヘルパーポリヌクレオチドが、RNA（例えば、mRNA）、DNA、プラスミド、ウイルスポリヌクレオチド、又はこれらの任意の組合せである、実施形態1286に記載の方法。

【0388】

1289. アネロソームを細胞と接触させるステップの前、それと同時、又はその後に、ヘルパーポリヌクレオチドを細胞と接触させる、実施形態1286～1288のいずれかに記載の方法。

【0389】

1290. ヘルパータンパク質（例えば、成長因子）を細胞と接触させるステップをさらに含む、実施形態123～129のいずれかに記載の方法。

【0390】

1291. ヘルパータンパク質が、ウイルス複製タンパク質又はキャプシドタンパク質を含む、実施形態1290に記載の方法。

【0391】

1292. 先行実施形態のいずれかに記載のアネロソームを含む宿主細胞。

【0392】

1293. プロモータエレメント、エフェクター（例えば、ペイロード）をコード化する配列、及び外部タンパク質結合配列を含む核酸分子であって、核酸分子が、一本鎖DNAであり、また、核酸分子は、環状である、且つ／又は細胞に進入する核酸分子の約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；エフェクターは、TTV由来ではなく、しかもSV40-miR-S1ではなく；核酸分子は、TTMV-LYのポリヌクレオチド配列を含まず；プロモータエレメントは、真核細胞におけるエフェクターの発現を指令することができる、核酸分子。

【0393】

1294. 以下：

10

20

30

40

50

(i) プロモータエレメント、及びエフェクター（例えば、ペイロード）をコード化する配列（任意選択で、エフェクターは、野生型アネロウイルス（A n e l l o v i r u s）配列に対して外性である）と、

(i i) 野生型アネロウイルス（A n e l l o v i r u s）配列に対して少なくとも75%の配列同一性を有する少なくとも72個の連続したヌクレオチド（例えば、少なくとも72、73、74、75、76、77、78、79、80、90、100、若しくは150ヌクレオチド）；又は野生型アネロウイルス（A n e l l o v i r u s）配列に対して少なくとも72%（例えば、少なくとも72、73、74、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少なくとも100の連続したヌクレオチドと；

(i i i) 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において、

核酸構築物が、一本鎖DNAであり；

核酸構築物が、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%未満の頻度で組み込まれる、遺伝子エレメント。

【0394】

1295. アネロソーム組成物を製造する方法において、以下：

a) アネロソーム、例えば、本明細書に記載される合成アネロソームの成分をコード化する1つ若しくは複数の核酸分子を含む宿主細胞を用意するステップであって、例えば、アネロソームは、タンパク質性外層、及び遺伝子エレメント、例えば、プロモータエレメントと、エフェクター（例えば、内在性若しくは外性エフェクター）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を含むステップ；

b) 宿主細胞からアネロソームを産生させ、これによって、アネロソームを作製するステップ；並びに

c) アネロソームを、例えば、被験者への投与に好適な医薬組成物として製剤化するステップ

を含む、方法。

【0395】

1296. 合成アネロソーム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ソーム、組成物、又は医薬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、指定される閾値を満たしていれば、複数のアネロソームを、例えば、被験者への投与に好適な医薬組成物として製剤化するステップ

を含む、方法。

【0396】

1297. アネロソーム組成物が、少なくとも105、106、107、108、109、1010、1011、1012、1013、1014、又は1015個のアネロソームを含むか、又はアネロソーム組成物が、mL当たり少なくとも105、106、107、108、109、1010、1011、1012、1013、1014、又は1015個のアネロソームゲノムを含む、実施形態1296に記載の方法。

【0397】

1298. アネロソーム組成物が、少なくとも10mL、20mL、50mL、100mL、200mL、500mL、1L、2L、5L、10L、20L、若しくは50Lを含

10

20

30

40

50

む、実施形態 1 2 9 6 又は 1 2 9 7 に記載の方法。

【0 3 9 8】

1 2 9 9. 先行実施形態のいずれかに記載のアネロソームとヘルパーウイルスとを含む反応混合物であって、ヘルパーウイルスが、ポリヌクレオチド、例えば、外部タンパク質（例えば、外部タンパク質配列に結合することができる外部タンパク質）をコード化するポリヌクレオチドと、任意選択で、脂質エンベロープとを含む、反応混合物。

【0 3 9 9】

1 3 0 0. 先行実施形態のいずれかに記載のアネロソームと、表 A 2、A 4、A 6、A 8、A 1 0、A 1 2、C 1 ~ C 5、2、4、6、8、1 0、1 2、1 4、1 6、1 8、2 0 ~ 3 7、若しくは D 1 ~ D 1 0 のいずれかの O R F 2、O R F 2 / 2、O R F 2 / 3、O R F 2 t / 3、O R F 1、O R F 1 / 1、若しくは O R F 1 / 2 から選択されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも 7 5 %（例えば、少なくとも約 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アミノ酸配列の 1 つ若しくは複数をコード化する第 2 核酸分子と、を含む反応混合物。

10

【0 4 0 0】

1 3 0 1. 第 2 の核酸配列が、遺伝子エレメントの一部である、実施形態 1 3 0 0 に記載の反応混合物。

【0 4 0 1】

1 3 0 2. 第 2 の核酸配列が、遺伝子エレメントの一部ではなく、例えば、第 2 の核酸配列は、ヘルパー細胞又はヘルパーウイルスに含まれる、実施形態 1 3 0 1 に記載の反応混合物。

20

【0 4 0 2】

1 3 0 3. 以下：

（i）非病原性外部タンパク質をコード化する配列と、（i i）遺伝子エレメントを非病原性外部タンパク質に結合させる外部タンパク質結合配列と、（i i i）エフェクター、例えば、調節核酸をコード化する配列と、を含む遺伝子エレメント；及び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、合成アネロソーム。

【0 4 0 3】

1 3 0 4. 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、（i i）遺伝子エレメントを非病原性外部タンパク質に結合させる外部タンパク質結合配列と、（i i i）エフェクター、例えば、調節核酸をコード化する配列と、を含む遺伝子エレメント；及び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、アネロソーム；並びに

30

b）製剤用賦形剤を含む、医薬組成物。

【0 4 0 4】

1 3 0 5. 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、（i i）遺伝子エレメントを非病原性外部タンパク質に結合させる外部タンパク質結合配列と、（i i i）エフェクター、例えば、調節核酸をコード化する配列と、を含む遺伝子エレメント；及び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、少なくとも 1 0 3、1 0 4、1 0 5、1 0 6、1 0 7、1 0 8、又は 1 0 9 個のアネロソーム（例えば、本明細書に記載の合成アネロソーム）

40

b）製剤用賦形剤、並びに任意選択で、

c）予め定めた量に満たない量の以下：マイコプラズマ、外毒素、宿主細胞核酸（例えば、宿主細胞 D N A 及び／又は宿主細胞 R N A）、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（R C A）、例えば、複製可能ウイル

50

ス若しくは不要なアネロソーム、遊離ウイルスキャプシドタンパク質、偶発性物質、及び／又は凝集体を含む医薬組成物。

【0405】

1306. 以下の特徴：遺伝子エレメントが、一本鎖DNAであること；遺伝子エレメントが、環状であること；アネロソームが、非統合性であること；アネロソームが、アネロウイルス（anellovirus）又は他の非病原性ウイルスに基づく配列、構造及び／又は機能を有すること、並びにアネロソームが、非病原性であること、の少なくとも1つをさらに含む、先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソーム又は組成物。

【0406】

1307. タンパク質性外層が、非病原性外部タンパク質を含む、先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソーム又は組成物。

【0407】

1308. タンパク質性外層が、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、先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソーム又は組成物。

【0408】

1309. タンパク質性外層が、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分子と相互作用して、宿主細胞内への進入を媒介する分子の認識及び／若しくはそれとの結合、脂質分子の欠失、炭水化物の欠失、1つ若しくは複数の所望の炭水化物の含有（例えば、グリコシル化）、pH及び温度安定性、界面活性剤抵抗性、及び宿主における非免疫原性若しくは非病原性のうち1つ又は複数を含む、先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソーム又は組成物。

【0409】

1310. 非病原性外部タンパク質をコード化する配列が、表19に挙げる1つ若しくは複数の配列又はその断片に対して少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%同一の配列を含む、先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソーム又は組成物。

【0410】

1311. 非病原性外部タンパク質が、1つ若しくは複数の機能、例えば、種及び／若しくは組織及び／若しくは細胞指向性、ウイルスゲノム結合及び／若しくはパッケージング、免疫回避（非免疫原性及び／若しくは寛容性）、薬物動態、エンドサイトーシス及び／若しくは細胞接着、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、並びに核酸保護を提供する少なくとも1つの機能性ドメインを含む、先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソーム又は組成物。

【0411】

1312. エフェクターが、調節核酸、例えば、miRNA、siRNA、mRNA、IncRNA、RNA、DNA、アンチセンスRNA、gRNA；治療薬、例えば、蛍光タグ若しくはマーカー、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、孔形成ペプチド、二環式ペプチド、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、及び複数の分解若しくは自滅ペプチド、小分子、免疫エフェクター（例えば、免疫応答／シグナルに対する感受性に影響を与える）、細胞死誘導タンパク質（例えば、アポトーシス若しくは壊死の誘導物質）、腫瘍の非溶解性阻害剤（例えば、癌タンパク質の阻害剤）、後成的修飾剤、後成的酵素、転写因子、DNA若しくはタンパク質修飾酵素、DNA挿入剤、排出ポンプ阻害剤、核受容体アクチベーター若しくは阻害剤、プロテアソーム阻害剤、1酵素の競合阻害剤、タンパク質合成エフェクター若しくは阻害剤、ヌクレアーゼ、タンパク質断片若しくはドメイン、リガンド若しくは受容体、並びにC

10

20

30

40

50

R I S P R系若しくは構成体を含む、先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソーム又は組成物。

【0412】

1312b. エフェクターが、V E G F又はV E G F Rに結合する抗体分子を含む、先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソーム又は組成物。

【0413】

1313. エフェクターが、本明細書に記載のm i R N A配列の1つ又は複数に対して少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の同一性を有する配列を含む、先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソーム又は組成物。

10

【0414】

1314. エフェクター、例えば、m i R N Aが、宿主遺伝子をターゲティングする、例えば、遺伝子の発現を調節する、先行実施形態に記載のアネロソーム又は組成物。

【0415】

1315. m i R N Aが、本明細書に記載のm i R N A配列の1つ又は複数に対して少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の同一性を有する配列を含む、先行実施形態に記載のアネロソーム又は組成物。

【0416】

1316. 遺伝子エレメントが、さらに、以下の配列：1つ若しくは複数のm i R N A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（s i R N A、l n c R N A、s h R N A）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、治療用m R N A若しくはタンパク質をコード化する配列、細胞溶解性及び／若しくは細胞傷害性R N A若しくはタンパク質のうち1つ又は複数を含む、先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソーム又は組成物。

20

【0417】

1317. 遺伝子エレメントが、以下の特徴：宿主細胞のゲノムと非統合性であること、エピソーム核酸であること、一本鎖DNAであること、約1～10kbであること、細胞の核内に存在すること、内在性タンパク質と結合することができること、及び宿主遺伝子をターゲティングするm i c r o R N Aを産生することのうち1つ又は複数を含む、先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソーム又は組成物。

30

【0418】

1318. 遺伝子エレメントが、少なくとも1つのウイルス配列又は表23に列挙される少なくとも1つ若しくは複数の配列に対して少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%の同一性、或いはその断片（例えば、O R F 1／1、O R F 1／2、O R F 2、O R F 2／2、O R F 2／3、O R F 2 t／3、及び／又はO R F 3分子をコード化する断片、及び／又はT A T Aボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' U T R、オープンリーディングフレーム（O R F）、ポリ（A）シグナル、若しくはG Cリッチ領域の1つ若しくは複数を含む断片）を含む、先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソーム又は組成物。

40

【0419】

1319. ウイルス配列が、一本鎖DNAウイルス（例えば、アネロウイルス（A n e l l o v i r u s）、ビドナウイルス（B i d n a v i r u s）、サーコウイルス（C i r c o v i r u s）、ジェミニウイルス（G e m i n i v i r u s）、ゲノモウイルス（G e n o m o v i r u s）、イノウイルス（I n o v i r u s）、ミクロウイルス（M i c r o v i r u s）、ナノウイルス（N a n o v i r u s）、パルボウイルス（P a r v o v i r u s）、及びスピラウイルス（S p i r a v i r u s））、二本鎖DNAウイルス（例えば、アデノウイルス（A d e n o v i r u s）、アンブラウイルス（A m p u l l

50

avirus)、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)、リボスリックスウイルス(Lipothrixvirus)、ニマウイルス(Nimavirus)、及びポックスウイルス(Poxvirus))、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(Paritivirus)、及びレオウイルス(Reovirus))の少なくとも1つに由来する、先行実施形態に記載のアネロソーム又は組成物。

10

【0420】

1320. ウイルス配列が、1つ又は複数の非アネロウイルス、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)、例えば、レンチウイルス(lentivirus)などのRNAウイルス、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)に由来する、先行実施形態に記載のアネロソーム又は組成物。

20

【0421】

1321. タンパク質結合配列が、タンパク質性外層のアルギニンリッチ領域と相互作用する、先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソーム又は組成物。

【0422】

1322. アネロソームが、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞において複製可能である、先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソーム又は組成物。

30

【0423】

1323. アネロソームが、宿主細胞において非病原性且つ／又は非統合性である、先行実施形態に記載のアネロソーム又は組成物。

【0424】

1324. アネロソームが、宿主において非免疫原性である、先行実施形態に記載のアネロソーム又は組成物。

【0425】

1325. アネロソームが、宿主又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、選択性、例えば、感染力、例えば、免疫抑制／活性化を阻害／増強する、先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソーム又は組成物。

40

【0426】

1326. アネロソームが、(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、先行実施形態に記載のアネロソーム又は組成物。

【0427】

1327. ウイルス、例えば、アネロソームの変異体、例えば、片利共生／ネイティブウイルスのゲノムを含む少なくとも1つのウイルス又はベクターをさらに含む、先行実施形態のいずれか1つに記載の組成物。

【0428】

50

1328. 異種部分、少なくとも1つの小分子、抗体、ポリペプチド、核酸、ターゲティング剤、イメージング剤、ナノ粒子、及びこれらの組合せをさらに含む、先行実施形態のいずれか1つに記載の組成物。

【0429】

1329. (i) 非病原性外部タンパク質をコード化する配列と、(ii) 遺伝子エレメントを非病原性外部タンパク質と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、調節核酸をコード化する配列とを含む、遺伝子エレメントを含むベクター。

【0430】

1330. 遺伝子エレメントが、宿主細胞のゲノムと統合することができない、先行実施形態に記載のベクター。

【0431】

1331. 遺伝子エレメントが、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞において複製可能である、先行実施形態のいずれか1つに記載のベクター。

【0432】

1332. 例えば、遺伝子、例えば、ヒト遺伝子の発現を調節するように選択された、外性核酸配列をさらに含む、先行実施形態のいずれか1つに記載のベクター。

【0433】

1333. 先行実施形態のいずれか1つに記載のベクターと製剤用賦形剤を含む、医薬組成物。

【0434】

1334. ベクターが、宿主細胞において非病原性且つ／又は非統合性である、先行実施形態に記載の組成物。

【0435】

1335. ベクターが、宿主において非免疫原性である、先行実施形態のいずれか1つに記載の組成物。

【0436】

1336. ベクターが、(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、先行実施形態に記載の組成物。

【0437】

1337. ウイルス、例えば、アネロソームの変異体、片利共生／ネイティブウイルス、ヘルパーウイルス、非アネロウイルスのゲノムを含む少なくとも1つのウイルス又はベクターをさらに含む、先行実施形態のいずれか1つに記載の組成物。

【0438】

1338. 異種部分、少なくとも1つの小分子、抗体、ポリペプチド、核酸、ターゲティング剤、イメージング剤、ナノ粒子、及びこれらの組合せをさらに含む、先行実施形態のいずれか1つに記載の組成物。

【0439】

1339. 先行実施形態のいずれか1つに記載のアネロソームを生産、増殖、及び回収する方法。

【0440】

1340. 先行実施形態のいずれか1つに記載のベクターを設計し、作製する方法。

【0441】

1341. 先行実施形態のいずれか1つに記載の組成物を有効量で被験者に投与するステップを含む方法。

【0442】

1342. 標的細胞、組織又は被験者に、核酸若しくはタンパク質ペイロードを送達する方法であって、本方法は、(a) ウイルス由来の第1DNA (第1DNAは、標的細胞、

10

20

30

40

50

組織又は被験者に感染することができる粒子の産生を可能にするのに十分である) 及び (a) 核酸若しくはタンパク質ペイロードをコード化する第2 DNA 配列を含む核酸組成物と、標的細胞、組織又は被験者を接触させるステップを含み、改善が、以下：

第1 DNA 配列が、表 A 1、A 3、A 5、A 7、A 9、A 11、B 1～B 5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに挙げる対応する配列に対して少なくとも80% (例えば、少なくとも85%、90%、95%、97%、99%、100%) の配列同一性を有する少なくとも500 (少なくとも600、700、800、900、1000、1200、1400、1500、1600、1800、2000) ヌクレオチドを含むか、又は

第1 DNA 配列が、表 A 2、A 4、A 6、A 8、A 10、A 12、C 1～C 5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD 1～D 10に挙げるORFに対して少なくとも80% (例えば、少なくとも85%、90%、95%、97%、99%、100%) の配列同一性を有する配列をコード化するか、或いは

第1 DNA 配列が、表 19に挙げるコンセンサス配列に対して少なくとも90% (例えば、少なくとも95%、97%、99%、100%) の配列同一性を有する配列を含む、方法。

【0443】

1343. 標的細胞、組織又は被験者に、核酸若しくはタンパク質エフェクターを送達する方法であって、本方法は、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は(a) ウイルス由来の第1 DNA 配列 (第1 DNA 配列は、標的細胞、組織又は被験者に感染することができる先行実施形態のいずれかに記載のアネロソームの産生を可能にするのに十分である) 及び (a) 核酸若しくはタンパク質エフェクターをコード化する第2 DNA 配列を含む核酸組成物と、標的細胞、組織又は被験者を接触させるステップを含む、方法。

【0444】

1344. 野生型アネロウイルス (Anellovirus) ORF 1、ORF 2、又はORF 3アミノ酸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%の同一性を有するアミノ酸配列をコード化するコドン最適化核酸分子。

【0445】

1345. 例えば、表 A 2、A 4、A 6、A 8、A 10、A 12、C 1～C 5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD 1～D 10のいずれかに列挙される、野生型アネロウイルス (Anellovirus) ORF 1アミノ酸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%の同一性を有するアミノ酸配列をコード化する、実施形態1344に記載のコドン最適化核酸分子。

【0446】

1346. 以下：

(a) アネロソーム、例えば、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム、及び
(b) 小胞、脂質ナノ粒子 (LNP)、赤血球、エキソソーム (例えば、哺乳動物若しくは植物エキソソーム)、又はフソソームから選択される担体を含む、医薬組成物。

【0447】

2001. 以下：

(a) タンパク質性外層；
(b) 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若しくは外性エフェクター) をコード化する核酸配列 (例えば、DNA 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を含むアネロソームであって、

遺伝子エレメントが、以下：

(i) 表 A 1に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列に対して少な

10

20

30

40

50

くとも72.2%（例えば、少なくとも72.2、72.3、72.4、72.5、73、74、75、76、77、78、79、80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、若しくは100%）の配列同一性；

（i i）表A3に列挙されるアネロウイルス（*Anellovirus*）配列に対して少なくとも68.4%（例えば、少なくとも68.4、68.5、68.6、68.7、68.8、68.9、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、若しくは100%）の配列同一性；

（i i i）表A5に列挙されるアネロウイルス（*Anellovirus*）配列に対して少なくとも81.7%（例えば、少なくとも81.7、81.8、81.9、82、83、84、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、若しくは100%）の配列同一性；

（i v）表A7に列挙されるアネロウイルス（*Anellovirus*）配列に対して少なくとも92.6%（例えば、少なくとも92.6、92.7、92.8、92.9、93、94、95、96、97、98、99、若しくは100%）の配列同一性；

（v）表A9に列挙されるアネロウイルス（*Anellovirus*）配列に対して少なくとも65%（例えば、少なくとも65、66、67、68、69、70、75、76、77、78、79、80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、若しくは100%）の配列同一性；又は

（v i）表A11に列挙されるアネロウイルス（*Anellovirus*）配列に対して少なくとも65%（例えば、少なくとも65、66、67、68、69、70、75、76、77、78、79、80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、若しくは100%）の配列同一性を有し；

任意選択で、遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス（*Anellovirus*）ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5'UTR、オープンリーディングフレーム（ORF）、ポリ（A）シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を含み；

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おり；

アネロソームが、真核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、アネロソーム。

【0448】

2002. 以下：

（a）タンパク質性外層；

（b）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若しくは外性エフェクター）をコード化する核酸配列（例えば、DNA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

を含むアネロソームであって、

遺伝子エレメントが、以下：

（i）表A1に列挙されるアネロウイルス（*Anellovirus*）配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1000、1010、1011、1012、1013、1014、1015、1016、若しくは1017以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

（i i）表A3に列挙されるアネロウイルス（*Anellovirus*）配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20

10

20

30

40

50

、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1000、1100、1110、1120、1130、1140、1150、11160、11170、11171、11172、11173、若しくは11174以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

(iii) 表A5に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、610、620、630、640、650、660、670、671、若しくは672以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

(iv) 表A7に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、260、270、271、272、273、274、275、276、277、278、279、若しくは280以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

(v) 表A9に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、若しくは1000以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；又は

(vi) 表A11に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、若しくは1000以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失

を含み；

任意選択で、遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR、オープンリーディングフレーム (ORF)、ポリ (A) シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を含み；

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おり；

アネロソームが、真核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、アネロソーム。

【0449】

2002. 以下：

(a) タンパク質性外層；

(b) 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若しくは外性エフェクター）をコード化する核酸配列（例えば、DNA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を含むアネロソームであって、

遺伝子エレメントが、以下：

(i) 表B1に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、15

10

20

30

40

50

0、175、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1000、1010、1011、1012、1013、1014、1015、1016、若しくは1017以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

(i i) 表B2に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1000、1100、1110、1120、1130、1140、1150、11160、11170、11171、11172、11173、若しくは11174以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

(i i i) 表B3に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、610、620、630、640、650、660、670、671、若しくは672以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

(i v) 表B4に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、260、270、271、272、273、274、275、276、277、278、279、若しくは280以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；又は

(v) 表B5に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、若しくは1000以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

を含み；

任意選択で、遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列 (例えば、本明細書に記載の通り) 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)、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン (例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR、オープンリーディングフレーム (ORF)、ポリ (A) シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数) の欠失を含み；

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おり；

アネロソームが、真核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、アネロソーム。

【0450】

2003. 遺伝子エレメントが、天然に存在する配列ではない (例えば、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、表B1～B5、A1、A3、A5、A7、A9、A11、1、3、5、7、9、11、若しくは13のいずれかに列挙されるような例えば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)、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン (例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR、オープンリーディングフレーム (ORF)、ポリ (A) シグナル、若しくはGCリ

ッチ領域のうち1つ若しくは複数)の欠失を含む)、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0451】

2004. アネロウイルス (Anellovirus) ORF1分子のアミノ酸配列 (例えば、表C1~C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかに列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1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アミノ酸配列を含むポリペプチドを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0452】

2005. タンパク質性外層が、ポリペプチドを含む、実施形態2004に記載のアネロソーム。

【0453】

2006. タンパク質性外層中のタンパク質の少なくとも60% (例えば、少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) が、ポリペプチドを含む、実施形態2005に記載のアネロソーム。

【0454】

2007. タンパク質性外層中のタンパク質の少なくとも60% (例えば、少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%) が、ORF1分子を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0455】

2008. アネロウイルス (Anellovirus) ORF1分子のアミノ酸配列 (例えば、表C1~C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかに列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1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アミノ酸配列をコード化する核酸分子 (例えば、遺伝子エレメント中の) を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0456】

2009. 遺伝子エレメントが、核酸配列:

(i) CGCGCTGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGAGCCATGC (配列番号160);

(ii) GCGCTX₁CGCGCGCGCGCGCCGGGGGGCTGCGCCCCC (配列番号164) (X₁は、T、G、若しくはAから選択される)

(iii) GCGCTTCGCGCGCGCGCCCACTAGGGGGCGTTGCGCG (配列番号165);

(iv) GCGCTGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGCGCAATGCG (配列番号166);

(v) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCCCGGGGGAGGGCATTTGCCCT (配列番号167);

(vi) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCGCCAGCGCCCC (配列番号168);

(vii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTCCGCCCCCCC (配列番号169);

(viii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTGCGCCCCC (配列番号170);

(ix) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTGCGCCCCC (配列番号171); 若しくは

(x) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTCTGCCCCCCC (

10

20

30

40

50

配列番号 172) ;

又はそれらと少なくとも 75、76、77、78、79、80、85、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核酸配列

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領域を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム。

【0457】

2010. 遺伝子エレメントが、本明細書に記載される（例えば、それぞれ表 38 若しくは 39 に列挙される）5' UTR 領域及び／又は GC 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ソーム。

【0458】

2011. 以下：

(i) 表 A1 に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列に対して少なくとも 72.2% (例えば、少なくとも 72.2、72.3、72.4、72.5、73、74、75、76、77、78、79、80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、若しくは 100%) の配列同一性；

(ii) 表 A3 に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列に対して少なくとも 68.4% (例えば、少なくとも 68.4、68.5、68.6、68.7、68.8、68.9、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、若しくは 100%) の配列同一性；

(iii) 表 A5 に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列に対して少なくとも 81.7% (例えば、少なくとも 81.7、81.8、81.9、82、83、84、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、若しくは 100%) の配列同一性；

(iv) 表 A7 に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列に対して少なくとも 92.6% (例えば、少なくとも 92.6、92.7、92.8、92.9、93、94、95、96、97、98、99、若しくは 100%) の配列同一性；

(v) 表 A9 に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列に対して少なくとも 65% (例えば、少なくとも 65、66、67、68、69、70、75、76、77、78、79、80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、若しくは 100%) の配列同一性；又は

(vi) 表 A11 に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列に対して少なくとも 65% (例えば、少なくとも 65、66、67、68、69、70、75、76、77、78、79、80、85、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を含む単離核酸分子（例えば、発現ベクター）であって；

任意選択で、遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATA ボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR、オープンリーディングフレーム (ORF)、ポリ (A) シグナル、若しくは GC リッチ領域のうち 1 つ若しくは複数）の欠失を含む、単離核酸分子。

【0459】

2012. 以下：

(i) 表 A1 に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、15

10

20

30

40

50

0、175、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1000、1010、1011、1012、1013、1014、1015、1016、若しくは1017以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

(i i) 表A3に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1000、1100、1110、1120、1130、1140、1150、11160、11170、11171、11172、11173、若しくは11174以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

10

(i i i) 表A5に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、610、620、630、640、650、660、670、671、若しくは672以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

(i v) 表A7に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、260、270、271、272、273、274、275、276、277、278、279、若しくは280以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

20

(v) 表A9に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、若しくは1000以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；又は

(v i) 表A11に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、若しくは1000以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失

30

を含む遺伝子エレメントを含む単離核酸分子（例えば、発現ベクター）であって；

任意選択で、遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR、オープンリーディングフレーム (ORF)、ポリ (A) シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を含む、単離核酸分子。

40

【0460】

2012A. 以下：

(i) 表B1に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1000、1010、1011、1012、1013、1014、

50

1015、1016、若しくは1017以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

(i i) 表B2に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1000、1100、1110、1120、1130、1140、1150、11160、1170、1171、1172、1173、若しくは1174以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

(i i i) 表B3に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、610、620、630、640、650、660、670、671、若しくは672以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

(i v) 表B4に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、260、270、271、272、273、274、275、276、277、278、279、若しくは280以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；又は

(v) 表B5に列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) 配列と比較して、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、若しくは1000以下のヌクレオチド相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失；

を含む遺伝子エレメントを含む単離核酸分子（例えば、発現ベクター）であって；

任意選択で、遺伝子エレメントは、野生型アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列（例えば、本明細書に記載の通り）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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR、オープンリーディングフレーム (ORF)、ポリ (A) シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を含む、単離核酸分子。

【0461】

2013. 遺伝子エレメントが、天然に存在する配列ではない（例えば、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、表B1～B5、A1、A3、A5、A7、A9、A11、1、3、5、7、9、11、若しくは13のいずれかに列挙されるような例えば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）、例えば、挿入、置換、酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン（例えば、TATAボックス、キャップ部位、転写開始部位、5' UTR、オープンリーディングフレーム (ORF)、ポリ (A) シグナル、若しくはGCリッチ領域のうち1つ若しくは複数）の欠失を含む）、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸分子。

【0462】

2014. 単離核酸分子が、ORF1分子（例えば、表C1～C5、A2、A4、A6、

A 8、A 10、若しくはA 12のいずれかに列挙されるORF 1分子、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ポリペプチド)をコード化する遺伝子エレメントを含み；

ここで、

(i) ORF 1分子のアミノ酸の少なくとも30% (例えば、少なくとも30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、90%、若しくはそれ以上) が、βシートの一部であり；

(ii) ORF 1分子の二次構造が、少なくとも3つ (例えば、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、若しくは20) のβシートを含み；

(iii) ORF 1分子の二次構造が、少なくとも1:1、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、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸分子。

【0463】

2015. 核酸配列：

(i) CGCGCTGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGAGCCCATGCG (配列番号160)；

(ii) GCGCTX₁CGCGCGCGCGCGCCGGGGGGCTGCGCCCCCCC (配列番号164) (X₁は、T、G、若しくはAから選択される)

(iii) GCGCTTCGCGCGCGCGCCGCCCCACTAGGGGGCGTTTGGCGCG (配列番号165)；

(iv) GCGCTGCGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGCGCAATGCGG (配列番号166)；

(v) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCCCGGGGGGGAGGGCAATTGCCT (配列番号167)；

(vi) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCGCCAGCGCCCC (配列番号168)；

(vii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTCCGCCCCCCC (配列番号169)；

(viii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTGCGCCCCCCC (配列番号170)；

(ix) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTGCGCCCCCCCC (配列番号171)；若しくは

(x) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTCTGCCCCCCCC (配列番号172)；

又はそれらと少なくとも75、76、77、78、79、80、85、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核酸配列

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、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸分子。

【0464】

2016. 少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、若しくは80.6%のGC含有率を有する少なくとも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、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸分子。

【0465】

2017. 遺伝子エレメントが、以下：本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) (例えば、表B1~B5、A1、A3、A5、A7、A9、若しくはA11のいずれかに列挙される通り) 由来のTATAボックス、イニシエータエレメント、

10

20

30

40

50

キャップ部位、転写開始部位、5'UTR保存ドメイン、ORF1コード化配列、ORF1/1コード化配列、ORF1/2コード化配列、ORF2コード化配列、ORF2/2コード化配列、ORF2/3コード化配列、ORF2/3tコード化配列、3オープンリーディングフレーム領域、ポリ(A)シグナル、及び/又はGCリッチ領域、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のうち1つ若しくは複数をさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸分子。

【0466】

2018. 遺伝子エレメントが、アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム配列 (例えば、本明細書に記載され、例えば、表B1~B5、A1、A3、A5、A7、A9、A11、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17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70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%配列の同一性を有する配列の少なくとも1つ若しくは2つのコピー (例えば、1、2、3、4、5、若しくは6コピー) をさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸分子。

10

【0467】

2019. 遺伝子エレメントの少なくとも1つの追加コピー (例えば、合計1、2、3、4、5、若しくは6コピー) をさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸分子。

【0468】

2020. 単離核酸分子が、環状である、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸分子。

20

【0469】

2021. 先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸分子を含む、(例えば、1、2、又はそれ以上の核酸分子を含む) 単離核酸組成物。

【0470】

2022. 遺伝子エレメントが、プロモータエレメント、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) をコード化する核酸配列 (例えば、DNA配列)、及び/又はタンパク質結合配列 (例えば、外部タンパク質結合配列) をさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸。

30

【0471】

2022A. 遺伝子エレメントが、ORF1の超可変ドメイン (HVD) に挿入又は置換を含む、先行実施形態のいずれかに記載の単離核酸分子。

【0472】

2023. 遺伝子エレメントが、例えば、表B1~B5、A1、A3、A5、A7、A9、若しくはA11のいずれかに列挙される通り、TATAボックス、イニシエータエレメント、5'UTR保存ドメイン、ORF1、ORF2、ORF2下流配列、ORF2、ORF3、及び/又はGCリッチ領域、又はそれに対して少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の同一性を有する配列のうち1つ若しくは複数を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸分子。

40

【0473】

2024. 表C1~C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかのORF1、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF2t/3、及び/又はORF3から選択されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも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1つ若しくは複数のポリペプチドを含む (例えば、タンパク質性外層中に) か、又はコード化する、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸。

【0474】

50

2025. 遺伝子エレメントが、少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、若しくは80.6%のGC含有率を有する少なくとも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配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸。

【0475】

2026. 遺伝子エレメントが、少なくとも80%のGC含有率を有する少なくとも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配列を含む、実施形態2025に記載のアネロソーム又は単離核酸。

【0476】

2027. 遺伝子エレメントが、少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、若しくは80.6%のGC含有率を有する少なくとも36個の連続したヌクレオチドを含む、実施形態2025に記載のアネロソーム又は単離核酸。

【0477】

2028. 遺伝子エレメントが、少なくとも80%のGC含有率を有する少なくとも36個の連続したヌクレオチドを含む、実施形態2025に記載のアネロソーム又は単離核酸。

【0478】

2029. 遺伝子エレメントが、核酸配列：

(i) CGCGCTGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGAGCCCATGCG (配列番号160)

(ii) GCGCTX₁CGCGCGCGCGCGCCGGGGGGCTGCGCCCCCCC (配列番号164) (X₁は、T、G、若しくはAから選択される)

(iii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCCCCACTAGGGGGCGTTTGCGCG (配列番号165)；

(iv) GCGCTGCGCGCGCGCGCCCCAGTAGGGGGCGCAATGCG (配列番号166)；

(v) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGAGGGCAATTGCCCT (配列番号167)；

(vi) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGGGCGCCAGCGCCCC (配列番号168)；

(vii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGGGCTCCGCCCCCCC (配列番号169)；

(viii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGGGCTGCGCCCCCCC (配列番号170)；

(ix) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGGGCTGCGCCCCCCCC (配列番号171)；若しくは

(x) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCCCGGGGGGGGCTCTGCCCCCCCCC (配列番号172)；

又はそれらと少なくとも75、76、77、78、79、80、85、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核酸配列

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領域（例えば、パッケージング領域）を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸。

【0479】

2030. パッケージング領域が、エフェクターをコード化する核酸配列に対して3'側に位置する、実施形態2029に記載のアネロソーム又は単離核酸。

【0480】

10

20

30

40

50

2031. 以下：

(a) 本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1分子 (例えば、表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかに列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1配列) のアルギニンリッチ領域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アミノ酸配列を含む第1領域；

(b) 本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1分子 (例えば、表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかに列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1配列) のゼリーロール領域配列に対して少なくとも30% (例えば、少なくとも約30、35、40、50、60、70、80、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第2領域；

(c) 本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1分子 (例えば、表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかに列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1配列) のN22ドメイン配列に対して少なくとも30% (例えば、少なくとも約30、35、40、50、60、70、80、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第3領域；及び／又は

(d) 本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1分子 (例えば、表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかに列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1配列) のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 C末端ドメイン (CTD) 配列に対して少なくとも30% (例えば、少なくとも約30、35、40、50、60、70、80、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第4領域

のうち1つ若しくは複数を含むポリペプチドであって；

ORF1分子が、野生型ORF1タンパク質 (例えば、本明細書に記載の通り) 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)、例えば、挿入、置換、化学若しくは酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特定のドメイン (例えば、本明細書に記載されるように、例えば、アルギニンリッチ領域、ゼリーロールドメイン、HVR、N22、若しくはCTDのうち1つ若しくは複数) の欠失を含む、ポリペプチド。

【0481】

2031A. 以下：

(a) 本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1分子 (例えば、表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかに列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1配列) のアルギニンリッチ領域配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第1領域；

(b) 本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1分子 (例えば、表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかに列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1配列) のゼリーロール領域配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第2領域；

(c) 本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1分子 (例えば、表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかに列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1配列) のN22ドメイン配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第3領域；及び／又は

(d) 本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1分子 (

例えば、表 C 1 ～ C 5、A 2、A 4、A 6、A 8、A 10、若しくは A 12 のいずれかに
 列挙されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 配列) のアネロウイルス
 (Anellovirus) ORF 1 C 末端ドメイン (CTD) 配列に対して少なくと
 も 90% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 4 領域

のうち 1 つ若しくは複数を含むポリペプチドであって；

ORF 1 分子が、野生型 ORF 1 タンパク質 (例えば、本明細書に記載の通り) 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)、例えば、挿入、置換、化学若しくは酵素的修飾、及び／又は欠失、例えば、特
 定のドメイン (例えば、本明細書に記載されるように、例えば、アルギニンリッチ領域、
 ゼリーロールドメイン、HVR、N22、若しくは CTD のうち 1 つ若しくは複数) の欠
 失を含む、実施形態 2031 に記載のポリペプチド。

10

【0482】

2032. ポリペプチドが、以下：

- (i) 第 1 領域及び第 2 領域；
- (ii) 第 1 領域及び第 3 領域；
- (iii) 第 1 領域及び第 4 領域；
- (iv) 第 2 領域及び第 3 領域；
- (v) 第 2 領域及び第 4 領域；
- (vi) 第 3 領域及び第 4 領域；
- (vii) 第 1 領域、第 2 領域、及び第 3 領域；
- (viii) 第 1 領域、第 2 領域、及び第 4 領域；
- (ix) 第 1 領域、第 3 領域、及び第 4 領域；
- (x) 第 2 領域、第 3 領域、及び第 4 領域

20

を含む、実施形態 2031 に記載のポリペプチド。

【0483】

2033. ポリペプチドが、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、実施形態 2031 又は 2032 に記載のポリペプチド。

【0484】

2034. アミノ酸配列、例えば、超可変領域 (HVR) 配列 (例えば、本明細書に記載
 される通り、例えばアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 分子の HVR 配
 列) をさらに含み、ここで、アミノ酸配列が、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、若しくは
 65) のアミノ酸 (例えば、約 45 ～ 160、50 ～ 160、55 ～ 160、60 ～ 16
 0、45 ～ 150、50 ～ 150、55 ～ 150、60 ～ 150、45 ～ 140、50 ～
 140、55 ～ 140、若しくは 60 ～ 140 アミノ酸) を含む、先行実施形態のいずれ
 かに記載のポリペプチド。

30

【0485】

2035. HVR が、本明細書に記載されるアネロウイルス (Anellovirus)
 ORF 1 分子のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 HVR 配列 (例え
 ば、表 C 1 ～ C 5、A 2、A 4、A 6、A 8、A 10、若しくは A 12 のいずれかに列挙
 されるアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 配列) に対して少なくとも 3
 0% (例えば、少なくとも約 30、35、40、50、60、70、80、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
 、実施形態 2034 に記載のポリペプチド。

40

【0486】

2036. HVR 配列が、第 2 領域と第 3 領域の間に位置する、実施形態 2034 又は 2
 035 に記載のポリペプチド。

【0487】

2037. HVR が、本明細書に記載される HVR の 1 つ又は複数の特徴を含む、実施形
 態 2034 ～ 2036 のいずれかに記載のポリペプチド。

50

【0488】

2038. 表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかのORF1、ORF1／1、ORF1／2、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF2t／3、及び／又はORF3のアミノ酸配列を含むか、又はそれに対して少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有するポリペプチドであって、ポリペプチドが、野生型アネロウイルス（Anellovirus）ORF1、ORF1／1、ORF1／2、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF2t／3、及び／又はORF3配列（例えば、本明細書に記載されるように、例えば、表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかに列挙される通り）と比較して、少なくとも1つの相違（例えば、突然変異若しくは化学修飾）、例えば、共役、付加、挿入、置換、及び／又は欠失、例えば、特定のドメインの欠失をさらに含む、ポリペプチド。

10

【0489】

2039. 表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかのORF1、ORF1／1、ORF1／2、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF2t／3、及び／又はORF3のアミノ酸配列を含むか、又はそれに対して少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有するポリペプチド。

【0490】

2040. 表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかのORF1、ORF2、ORF2、又はORF3から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、若しくは98%、且つ99%以下の配列同一性を有するポリペプチド。

20

【0491】

2041. 表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかのORF1、ORF1／1、ORF1／2、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF2t／3、及び／又はORF3から選択されるアミノ酸配列と比較して、少なくとも1つ、且つ2、5、10、20、50、又は100以下のアミノ酸相違、例えば、置換、挿入若しくは欠失を有するポリペプチド。

【0492】

2042. ポリペプチドが、単離ポリペプチドである、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド。

30

【0493】

2043. 以下：

- (a) 先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、及び
- (b) プロモータエレメントと、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）をコード化する核酸配列（例えば、DNA配列）と、タンパク質結合配列と、を含む遺伝子エレメントを含む複合体。

【0494】

2044. 複合体が、本明細書に記載される複合体の1つ又は複数の特徴を含む、実施形態2043に記載の複合体。

40

【0495】

2045. 表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかのORF1、ORF1／1、ORF1／2、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF2t／3、及び／又はORF3分子から選択されるか、又はそれに対して少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する第1アミノ酸配列と、異種部分とを含む、融合タンパク質。

【0496】

50

2046. 表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかのORF1分子から選択されるか、又はそれに対して少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する第1アミノ酸配列と、異種部分とを含む、融合タンパク質。

【0497】

2047. 異種部分が、ターゲティング部分を含む、先行実施形態のいずれかに記載の融合タンパク質。

【0498】

2048. 第1アミノ酸配列が、野生型アネロウイルス (Anellovirus) ORF1、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF2t/3、及び/又はORF3配列 (例えば、本明細書に記載されるように、例えば、表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかに列挙される通り) と比較して、少なくとも1つの相違 (例えば、突然変異若しくは化学修飾)、例えば、共役、付加、挿入、置換、及び/又は欠失、例えば、特定のドメインの欠失をさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載の融合タンパク質。

【0499】

2049. 先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム、単離核酸、融合タンパク質、又はポリペプチドを含む、宿主細胞。

【0500】

2050. 先行実施形態のいずれかに記載のアネロソームと、ヘルパーウイルスとを含む反応混合物であって、ヘルパーウイルスが、ポリヌクレオチド、例えば、外部タンパク質、例えば、外部タンパク質結合配列、及び任意選択で、脂質エンベロープに結合する外部タンパク質をコード化するポリヌクレオチドを含む、反応混合物。

【0501】

2051. 被験者の疾患又は障害を治療する方法であって、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム、単離核酸分子、融合タンパク質、若しくはポリペプチド、又は先行実施形態のいずれかに記載の医薬組成物を被験者に投与するステップを含む、方法。

【0502】

2052. 疾患又は障害が、免疫障害、感染症、炎症性障害、自己免疫疾患、癌 (例えば、固形腫瘍)、及び胃腸障害から選択される、実施形態2051に記載の方法。

【0503】

2053. 被験者の疾患又は障害の治療を目的とする、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム、単離核酸分子、融合タンパク質、又はポリペプチドの使用。

【0504】

2054. 疾患又は障害が、免疫障害、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)、及び胃腸障害から選択される、実施形態2053に記載の使用。

【0505】

2055. 被験者の疾患又は障害の治療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ソーム、単離核酸分子、組成物、又は医薬組成物。

【0506】

2055A. 薬剤として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ソーム、単離核酸分子、組成物、又は医薬組成物。

【0507】

2056. 被験者の生物学的機能を調節、例えば、阻害若しくは増強する方法であって、本方法は、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム、単離核酸分子、融合タンパク質、若しくはポリペプチド又は先行実施形態のいずれかに記載の医薬組成物を被験者に投与するステップを含む、方法。

【0508】

2057. アネロソームを細胞に送達する方法であって、先行実施形態のいずれかに記載

10

20

30

40

50

のアネロソーム、単離核酸分子、融合タンパク質、又はポリペプチドを細胞、例えば、真核細胞、例えば、哺乳動物細胞と接触させるステップを含む、方法。

【0509】

2058. ヘルパーウイルスを細胞と接触させるステップをさらに含み、ここで、ヘルパーウイルスが、ポリヌクレオチド、例えば、外部タンパク質、例えば、外部タンパク質結合配列に結合する外部タンパク質、及び任意選択で、脂質エンベロープをコード化するポリヌクレオチドを含む、実施形態2057に記載の方法。

【0510】

2059. アネロソームと細胞の接触前、同時、又はその後に、ヘルパーウイルスを細胞と接触させる、実施形態2058に記載の方法。

【0511】

2060. ヘルパーポリヌクレオチドを細胞と接触させるステップをさらに含む、実施形態2057に記載の方法。

【0512】

2061. ヘルパーポリヌクレオチドが、外部タンパク質、例えば、外部タンパク質結合配列に結合する外部タンパク質及び脂質エンベロープをコード化する配列ポリヌクレオチドを含む、実施形態2060に記載の方法。

【0513】

2062. ヘルパーポリヌクレオチドが、RNA（例えば、mRNA）、DNA、プラスミド、ウイルスポリヌクレオチド、又はそれらの任意の組合せである、実施形態2060に記載の方法。

【0514】

2063. アネロソームと細胞の接触前、同時、又はその後に、ヘルパーポリヌクレオチドを細胞と接触させる、実施形態2060～2062のいずれかに記載の方法。

【0515】

2064. ヘルパータンパク質を細胞と接触させるステップをさらに含む、実施形態2057～2063のいずれかに記載の方法。

【0516】

2065. ヘルパータンパク質が、ウイルス複製タンパク質又はキャプシドタンパク質を含む、実施形態2064に記載の方法。

【0517】

2066. 核酸又はタンパク質エフェクターを標的細胞、組織又は被験者に送達する方法であって、本方法は、（a）ウイルス由来の第1DNA配列（第1DNA配列は、標的細胞、組織又は被験者に感染することができる粒子の産生を可能にするのに十分である）及び（a）核酸若しくはタンパク質エフェクターをコード化する第2DNA配列を含む核酸組成物と、標的細胞、組織又は被験者を接触させるステップを含み、改善は、以下：

第1DNA配列が、表B1～B5、A1、A3、A5、A7、A9、若しくはA11のいずれかに列挙される対応する配列に対して少なくとも80%（少なくとも85%、90%、95%、97%、99%、100%）の配列同一性を有する少なくとも500（少なくとも600、700、800、900、1000、1200、1400、1500、1600、1800、2000）ヌクレオチドを含むか、又は

第1DNA配列が、アネロウイルス（Anellovirus）ORF1、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF2t/3、及び/又はORF3分子（例えば、表C1～C5、A2、A4、A6、A8、A10、若しくはA12のいずれかに列挙される）に対して少なくとも80%（例えば、少なくとも85%、90%、95%、97%、99%、100%）の配列同一性を有する配列をコード化すること

を含む、方法。

【0518】

2067. アネロソーム組成物を製造する方法において、以下：

10

20

30

40

50

a) 先行実施形態のいずれかに記載のアネロソームの成分をコード化する配列を含む1つ若しくは複数の核酸分子を含む宿主細胞を用意するステップであって、アネロソームが、タンパク質性外層と、遺伝子エレメント、例えば、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）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を含む、ステップ；

b) 宿主細胞からアネロソームを生産し、それによってアネロソームを作製するステップ；並びに

c) 例えば、被験者への投与に好適な医薬組成物として、アネロソームを製剤化するステップ

を含み；

任意選択で、1つ若しくは複数の核酸分子が、ヘルパータンパク質をコード化する、方法。

10

【0519】

2068. アネロソーム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ソームを用意するステップ；

b) 任意選択で、以下：本明細書に記載の混入物、光学密度測定値（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）のうち1つ又は複数について上記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、複数のアネロソームを製剤化するステップを含む、方法。

20

【0520】

2069. アネロソーム組成物が、少なくとも10⁵、10⁶、10⁷、10⁹、10¹⁰、10¹¹、10¹²、10¹³、10¹⁴、又は10¹⁵個のアネロソームを含む、実施形態2068に記載の方法。

【0521】

2070. アネロソーム組成物が、少なくとも10ml、20ml、50ml、100ml、200ml、500ml、1L、2L、5L、10L、20L、又は50Lを含む、実施形態2068又は2069に記載の方法。

30

【0522】

2071. 遺伝子エレメントが、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞を複製するように構成される、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸。

【0523】

2072. 遺伝子エレメントが、例えば、遺伝子、例えば、ヒト遺伝子の発現を調節するように選択された外性核酸配列をさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸。

【0524】

2073. タンパク質結合配列の少なくとも60%（例えば、少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、又は100%）が、G又はCから構成される、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸。

40

【0525】

2074. 遺伝子エレメントが、少なくとも80、90、100、110、120、130、又は140ヌクレオチド長の配列を含み、これが、少なくとも70%（例えば、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%）又は約70～100%、75～95%、80～95%、85～95%、若しくは85～90%の位置のG又はCから構成される、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸。

【0526】

2075. タンパク質結合配列が、タンパク質性外層のアルギニンリッチ領域に結合する

50

、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸。

【0527】

2076．タンパク質性外層が、タンパク質結合配列と特異的に結合することができる外部タンパク質を含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸。

【0528】

2077．エフェクターを除く遺伝子エレメントの部分が、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、若しくは約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、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸。

10

【0529】

2078．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ソーム又は単離核酸。

【0530】

2079．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ソーム又は単離核酸。

【0531】

2080．遺伝子エレメントが、DNAである、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸。

20

【0532】

2081．遺伝子エレメントが、マイナス鎖DNAである、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸。

【0533】

2082．遺伝子エレメントが、エピソームを含む、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸。

【0534】

2083．アネロソームが、他の器官又は組織と比較して、所望の器官又は組織中に、より高レベルで存在する（例えば、好ましくは、蓄積する）、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸。

30

【0535】

2084．真核細胞が、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞である、先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸。

【0536】

2085．先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸を含む組成物。

【0537】

2086．先行実施形態のいずれかに記載のアネロソーム又は単離核酸、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。

【0538】

2087．以下：

40

a) 先行実施形態のいずれかに記載の少なくとも103、104、105、106、107、108、又は109個のアネロソーム；

b) 製剤用賦形剤、並びに任意選択で、

c) 予め定めた量に満たない量のマイコプラズマ、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、複製可能ウイルス又は不要なアネロソーム、遊離ウイルスキャプシドタンパク質、偶発性物質、及び／又は凝集体

を含む医薬組成物。

【0539】

50

2088. 少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくはそれ以上のアネロソーム、例えば、合成アネロソームを含む、実施形態2085又は2086に記載の組成物又は医薬組成物。

【0540】

2089. 少なくとも103、104、105、106、107、108、又は109個のアネロソームを含む、実施形態2085～2088のいずれかに記載の組成物又は医薬組成物。

【0541】

2090. 以下：

a) 先行実施形態のいずれかに記載の少なくとも103、104、105、106、107、108、又は109個のアネロソーム；

b) 製剤用賦形剤、並びに任意選択で、

c) 予め定めた量に満たない量のマイコプラズマ、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、複製可能ウイルス又は不要なアネロソーム、遊離ウイルスキャプシドタンパク質、偶発性物質、及び／又は凝集体

を含む医薬組成物。

【0542】

2091. 以下の特徴：

a) 医薬組成物が、医薬又は適正製造基準（GMP）を満たすこと；

b) 医薬組成物が、適正製造基準（GMP）に従って製造されていること；

c) 医薬組成物が、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) 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こと；

e) 医薬組成物が、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、≤200：1、≤100：1、若しくは＜50：1）を有すること、或いは

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つ又は複数を有する、実施形態2085～2090のいずれかに記載の組成物又は医薬組成物。

【0543】

2092. 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2085～2091のいずれかに記載の組成物又は医薬組成物。

【0544】

2093. 混入物が、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不要なアネロソーム（所望のアネロソーム、例えば、本明細書に記載するようなアネロソーム以外のアネロソーム）、遊離ウイルスキャプシドタンパク質、偶発性物質、及び凝集体からなる群から選択される、実施形態92に記載の組成物又は医薬組成物。

【0545】

2094. 混入物が、宿主細胞DNAであり、閾値量が、医薬組成物の用量当たり約500 ngの宿主細胞DNAである、実施形態2093に記載の組成物又は医薬組成物。

【0546】

2095. 医薬組成物が、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2085～209

10

20

30

40

50

4のいずれかに記載の組成物又は医薬組成物。

【0547】

2096. アネロソームが、外性エフェクターを含まない、先行実施形態のいずれかに記載の方法。

【0548】

2097. アネロソーム、例えば、合成アネロソームの投与により、被験者の標的細胞の集団の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、若しくはそれ以上への遺伝子エレメントの送達が達成される、先行実施形態のいずれかに記載の方法。

【0549】

2098. アネロソーム、例えば、合成アネロソームの投与により、被験者の標的細胞の集団の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、若しくはそれ以上への外性エフェクターの送達が達成される、先行実施形態のいずれかに記載の方法。

【0550】

2099. 標的細胞が、例えば、インビトロで、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞、例えば、免疫細胞、肝細胞、肺上皮細胞を含む、実施形態2097又は2098に記載の方法。

【0551】

2100. 標的細胞が、肝臓又は肺に存在する、実施形態2097～2099のいずれかに記載の方法。

【0552】

2101. 遺伝子エレメントが送達される標的細胞が各々、少なくとも10、50、100、500、1000、10,000、50,000、100,000、又はそれ以上の遺伝子エレメントのコピーを受ける、実施形態2097～2100のいずれかに記載の方法。

【0553】

2102. エフェクターが、miRNAを含み、且つ任意選択で、miRNAが、例えば、アネロソームが送達される細胞又は細胞の集団中の標的タンパク質又はRNAのレベルを、例えば、少なくとも10%、20%、30%、40%、若しくは50%低下させる、先行実施形態のいずれかに記載の方法。

【0554】

2103. 遺伝子エレメント（例えば、遺伝子エレメントの5'UTR）が、タンパク質性外層（例えば、タンパク質性外層中のORF1分子）と物理的に会合（例えば、結合）する、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0555】

2104. 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、例えば、Martin et al. (2013, Hum. Gene Ther. Methods 24(4): 253-269; その全体が参照により本明細書に組み込まれる)に記載される方法に従って決定されるように、エンドヌクレアーゼ消化に対して耐性であり; 任意選択で、使用されるDNaseの量が約60 U/ml又は約300 Uである、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0556】

2105. 遺伝子エレメントが、少なくとも100ヌクレオチド長の配列を含み、それは、少なくとも80%の位置のG又はCから構成される、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0557】

2106. 遺伝子エレメントが、環状、一本鎖DNAである、先行実施形態のいずれかに

10

20

30

40

50

記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0558】

2107. 遺伝子エレメントが、1つ若しくは複数の細菌プラスミドエレメント（例えば、細菌複製起点又は選択マーカー、例えば、細菌耐性遺伝子）を含まない、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0559】

2108. 遺伝子エレメントが、哺乳動物細胞に進入するアネロソームの1%未満の頻度で組み込まれる、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0560】

2109. プロモータエレメントが、野生型アネロウイルス (Anellovirus) に対して外性又は内在性である、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0561】

2110. 外性エフェクターが、治療用外性エフェクター、例えば、治療用ペプチド、治療用ポリペプチド、又は治療用核酸（例えば、miRNA）である、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0562】

2111. 少なくとも1000（例えば、少なくとも1000、1500、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10,000、20,000、50,000、75,000、100,000、200,000、500,000、1,000,000以上）のアネロソームの集団が、遺伝子エレメントの少なくとも100（例えば、少なくとも100、150、200、250、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10,000、50,000、100,000以上）のコピーを哺乳動物細胞の1つ又は複数に送達する、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0563】

2112. アネロソームが、アネロウイルス (Anellovirus) ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF1、ORF1/1、若しくはORF1/2（例えば、本明細書に記載される通り）から選択されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列の1つ若しくは複数を含む1つ若しくは複数のポリペプチドを含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0564】

2113. 遺伝子エレメントが、アネロウイルス (Anellovirus) ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF1、ORF1/1、若しくはORF1/2（例えば、本明細書に記載される通り）から選択されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも95%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配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0565】

2114. アネロソームが、複製因子及びキャプシドタンパク質の一方若しくは両方をコード化するポリヌクレオチドを含まないか、又はアネロソームが、複製欠損である、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0566】

10

20

30

40

50

2115. アネロソームをインビトロ又はインビボで細胞と接触させる、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0567】

2116. アネロソームが、アネロウイルス (Anellovirus) ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF1/1、若しくはORF1/2 (例えば、本明細書に記載される通り) に対して少なくとも95%の配列同一性を有するポリペプチドを含まない、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0568】

2117. 遺伝子エレメントが、ローリングサークル複製 (例えば、細胞、例えば、宿主細胞、例えば、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞、例えば、HEK293T若しくはA549細胞) により増幅されて、例えば、少なくとも2、4、8、16、32、64、128、256、518、若しくは1024コピーを産生することができる、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0569】

2118. 遺伝子エレメントが、二本鎖環状DNA分子から生産される、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0570】

2119. 二本鎖環状DNA分子が、インビトロ環状化によって生産される、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0571】

2118. 遺伝子エレメントが、遺伝子エレメントの核酸配列の2コピーを含むDNA分子から生産される、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0572】

2119. 遺伝子エレメントの核酸配列の2コピーが、DNA分子内にタンデムで配置される、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

【0573】

2120. アネロソーム遺伝子エレメント (例えば、先行実施形態のいずれかに記載の遺伝子エレメント) の5'UTRを含む核酸配列の2コピーを含む、核酸分子。

【0574】

2121. プロモータエレメント; 外性エフェクターをコード化する核酸配列; 表B1~B5のいずれかに列挙される5'UTR、又はそれに対して少なくとも85% (例えば、少なくとも85%、90%、95%、96%、97%、99%、若しくは100%) の同一性を有する核酸配列; 並びに表B1~B5のいずれかに列挙されるGCリッチ領域、又はそれに対して少なくとも85% (例えば、少なくとも85%、90%、95%、96%、97%、99%、若しくは100%) の同一性を有する核酸配列を含む、核酸分子。

【0575】

2122. 核酸分子が、一本鎖又は二本鎖である、実施形態2121に記載の核酸。

【0576】

2123. 核酸分子が、環状である、実施形態2121に記載の核酸。

【0577】

2124. 遺伝子エレメントが、

10

20

30

40

50

【化 1 4】

CGGGAGCCX₁CGAGGTGAGTGAAACCACCGAGGTCTAGGGGCAATTCGGGGCTAGGGC
AGTCTAGCGGAACGGG

(X₁ は、C であるか、又は存在しない)

の核酸配列、

又はそれに対して少なくとも 95% の同一性を有する核酸配列

を含む 5' UTR を含む、先行実施形態のいずれかに記載のポリペプチド、複合体、アネロソーム、単離核酸、細胞、組成物、又は方法。

10

【0578】

3001. 以下：

(I) 以下：

(a) プロモータエレメントと、

(b) 外性エフェクターをコード化する核酸配列であって、核酸配列が、プロモータエレメントに作動可能に連結されており、

外性エフェクターが、以下：

(i) 増殖因子（例えば、VEGF）若しくは増殖因子（例えば、VEGF）受容体（例えば、VEGFR）、又はサイトカイン若しくはサイトカイン受容体に結合する抗体分子；

20

(ii) 酵素、例えば、ADAMTS13 又はその機能性変異体；

(iii) ホルモン、例えば、表 B のホルモン、又はその機能性変異体；

(iv) サイトカイン、例えば、表 A からサイトカイン（例えば、IL6R 抗体分子若しくは TNF α ）、若しくはその機能性変異体；

(v) 補体阻害剤、例えば、C3 阻害剤（例えば、コンプスタチン）若しくは pan-補体阻害剤（例えば、PgTE）；

(vi) 増殖因子、例えば、表 C の増殖因子、

(vii) 増殖因子阻害剤、例えば、表 C の増殖因子阻害剤、

(viii) 凝固因子、例えば、表 D の凝固因子、又は

(viii) STING/cGAS シグナル伝達のモジュレータ

30

から選択される分泌治療薬である、核酸配列と、

(c) 以下：

(i) 配列番号 54 のヌクレオチド 323～393 の核酸配列、若しくはそれに対して少なくとも 85% 同一の核酸配列；

(ii) 配列番号 113、配列番号 114、配列番号 115、配列番号 116、配列番号 117、配列番号 118、配列番号 119 のいずれかの核酸配列若しくはそれに対して少なくとも 85% 同一の核酸配列；又は

(iii) 配列番号 61 のヌクレオチド 117～187 の核酸配列、若しくはそれに対して少なくとも 85% 同一の核酸配列

を含む 5' UTR ドメインと、

40

を含む遺伝子エレメント；

(II) ORF1 分子を含むタンパク質性外層

を含む合成アネロソームにおいて；

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おり；且つ

合成アネロソームが、遺伝子エレメントをヒト細胞内に送達することができる、合成アネロソーム。

【0579】

3002. 外性エフェクターが、増殖因子又は増殖因子受容体、例えば、VEGF 又は VEGFR に結合する抗体分子である、実施形態 3001 に記載の合成アネロソーム。

【0580】

50

3003. 分泌治療薬が、分泌ポリペプチドである、実施形態3001に記載の合成アネロソーム。

【0581】

3004. ORF1分子が、配列番号217のアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態3001に記載の合成アネロソーム。

【0582】

3005. ORF1分子が、配列番号54のヌクレオチド612～2612によってコード化される、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0583】

3006. 遺伝子エレメントが、配列番号54のヌクレオチド2868～2929の核酸配列、又はそれに対して少なくとも85%の同一性を有する核酸配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0584】

3007. ORF1分子が、表16に列挙されるargリッチ領域、ゼリーロールドメイン、超可変ドメイン、N22ドメイン、及び／又はC末端ドメインのアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列のうち1つ若しくは複数を含むアミノ酸配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0585】

3008. ORF1分子が、配列番号58のアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも85%の同一性を有する核酸配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0586】

3009. 表16に列挙されるORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF1／1、若しくはORF1／2のアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドをさらに含む、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0587】

3010. 遺伝子エレメントが、表16に列挙されるORF1、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF1／1、若しくはORF1／2のアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列をコード化する、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0588】

3011. 合成アネロソームが、表16に列挙されるORF2、ORF2／2、ORF2／3、TAIP、ORF1／1、若しくはORF1／2のアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドを含まない、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0589】

3012. 遺伝子エレメントが、表16に列挙されるORF1、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF1／1、若しくはORF1／2のアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列をコード化しない、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0590】

3013. ORF1分子が、アミノ酸配列YNPX²DXGX²N（配列番号829）（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合成アネロソーム。

【0591】

3014. ORF1分子が、アミノ酸配列YNPX²DXGX²N（配列番号829）とフランキングする第1β鎖及び第2β鎖をさらに含み、例えば、第1β鎖は、アミノ酸配列YNPX²DXGX²N（配列番号829）のチロシン（Y）残基を含み、且つ／又は

10

20

30

40

50

第2β鎖は、アミノ酸配列YNPX₂DXGX₂N（配列番号829）の第2アスパラギン（N）残基（NからC）を含む、実施形態3013に記載の合成アネロソーム。

【0592】

3015．ORF1分子が、N末端からC末端方向の順で、第1β鎖、第2β鎖、第1αヘリックス、第3β鎖、第4β鎖、第5β鎖、第2αヘリックス、第6β鎖、第7β鎖、第8β鎖、及び第9β鎖を含む、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0593】

3016．遺伝子エレメントが、宿主細胞内でのローリングサークル複製により増幅されて、例えば、少なくとも8コピーを産生することができる、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0594】

3017．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合成アネロソーム。

【0595】

3018．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合成アネロソーム。

【0596】

3019．遺伝子エレメントが、DNAである、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0597】

3020．遺伝子エレメントが、マイナス鎖DNAである、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0598】

3021．遺伝子エレメントが、細胞に進入するアネロソームの10%、8%、6%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.2%、0.1%未満の頻度で組み込まれ、例えば、合成アネロソームが非統合性である、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0599】

3022．遺伝子エレメントが、表16-1に示されるコンセンサス5'UTR核酸配列の配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0600】

3023．遺伝子エレメントが、表16-2に示されるコンセンサスGCリッチ領域の配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0601】

3024．遺伝子エレメントが、少なくとも100ヌクレオチド長の配列を含み、これが、少なくとも70%（例えば、約70～100%、75～95%、80～95%、85～95%、若しくは85～90）の位置のG又はCから構成される、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0602】

3025．遺伝子エレメントが、配列番号120の核酸配列を含む、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0603】

3026．プロモータエレメントが、野生型アネロウイルス（Anellovirus）に対して外性である、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0604】

3027．プロモータエレメントが、野生型アネロウイルス（Anellovirus）に対して内在性である、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0605】

3028．外性エフェクターが、ペプチド、天然の生物活性ペプチド由来の合成若しくは類似ペプチド、アゴニスト若しくはアンタゴニストペプチド、1酵素の競合阻害剤、リガ

10

20

30

40

50

ンド、又は抗体を含む、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0606】

3029. 外性エフェクターをコード化する核酸配列が、約20~200、30~180、40~160、50~140、60~120、200~2000、200~500、500~1000、1000~1500、又は1500~2000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合成アネロソーム。

【0607】

3030. 遺伝子エレメントが、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、又は4.5~5.0 kbの長さを有する、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

10

【0608】

3031. 合成アネロソームが、例えば、インビトロで、ヒト細胞、例えば、血液細胞、皮膚細胞、筋肉細胞、神経細胞、脂肪細胞、内皮細胞、免疫細胞、肝細胞、肺上皮細胞に感染することができる、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0609】

3032. 実質的に非免疫原性である、例えば、実施例4に記載される方法に従って検出した場合、例えば、検出可能及び／又は不要な免疫応答を誘導しない、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

【0610】

3033. 実質的に非免疫原性のアネロソームが、被験者において、免疫応答が欠損する対照被験者における効力の少なくとも約10%、20%、30%、40%、50である%、60%、70%、80%、90%、95%、若しくは100%の効力を有する、実施形態3032に記載の合成アネロソーム。

20

【0611】

3034. 少なくとも1000のアネロソームの集団が、少なくとも約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、又は1000コピー）の遺伝子エレメントを1つ若しくは複数のヒト細胞内に送達することができる、先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム。

30

【0612】

3035. 先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソーム、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。

【0613】

3036. 少なくとも10³、10⁴、10⁵、10⁶、10⁷、10⁸、又は10⁹の合成アネロソームを含む、実施形態3035に記載の合成アネロソーム。

【0614】

3037. 医薬組成物が、予め定めた比の粒子：感染性単位（例えば、<300：1、<200：1、<100：1、若しくは<50：1）を有する、実施形態3035又は3036に記載の医薬組成物。

40

【0615】

3038. 以下：

(i) 先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソームの遺伝子エレメントの配列を含む第1核酸分子（例えば、二本鎖又は一本鎖環状DNA）、及び

(ii) 例えば、表16に列挙されるORF1、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、ORF1／1、若しくはORF1／2から選択されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも85%の配列同一性を有するアミノ酸配列の1つ若しくは複数のコード化する第2核酸分子

を含む、反応混合物。

【0616】

50

3039. 第1核酸及び第2核酸が、同じ核酸分子中にある、実施形態3038に記載の反応混合物。

【0617】

3040. 第1核酸及び第2核酸が、異なる核酸分子である、実施形態3038に記載の反応混合物。

【0618】

3041. 第1核酸及び第2核酸が、異なる核酸分子であり、且つ、第2核酸が、二本鎖環状DNAとして提供される、実施形態3038に記載の反応混合物。

【0619】

3042. 第1核酸及び第2核酸が、異なる核酸分子であり、且つ、第1及び第2核酸が、二本鎖環状DNAとして提供される、実施形態3038に記載の反応混合物。 10

【0620】

3043. 第2核酸配列が、ヘルパー細胞又はヘルパーウイルスに含まれる、実施形態3040に記載の反応混合物。

【0621】

3044. 合成アネロソームを作製する方法であって、本方法は、以下：

a) 以下：

(i) 先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソームの遺伝子エレメントの核酸配列を含む第1核酸分子と、

(ii) 表16のいずれかに列挙される、ORF1、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF1/1、若しくはORF1/2から選択されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも85%の配列同一性を有するアミノ酸配列の1つ若しくは複数をコード化する第2核酸分子と、 20

を含む宿主細胞を用意するステップ；及び

b) 合成アネロソームを作製するのに好適な条件下で宿主細胞をインキュベートするステップを含み、

それによって合成アネロソームを作製する方法。

【0622】

3045. ステップ(a)の前に、第1核酸分子及び／又は第2核酸分子を細胞に導入するステップをさらに含む、実施形態3044に記載の方法。 30

【0623】

3046. 第2核酸分子が、第1核酸分子の前に、それと同時に、又はその後に宿主細胞に導入される、実施形態3045に記載の方法。

【0624】

3047. 第2核酸分子が、宿主細胞のゲノム中に組み込まれる、実施形態3044又は3045に記載の方法。

【0625】

3048. 第2核酸分子が、ヘルパー（例えば、ヘルパープラスミド又はヘルパーウイルスのゲノム）である、実施形態3044～3047のいずれかに記載の方法。

【0626】

3049. 第2核酸分子が、アミノ酸配列[W/F]X⁷HX³CX¹CX⁵H（配列番号949）（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ORF2分子をコード化する、実施形態3044～3047のいずれかに記載の方法。 40

【0627】

3050. 合成アネロソーム調製物を製造する方法であって、本方法は、以下：

a) 実施形態3001～3034に記載の複数の合成アネロソーム、実施形態3035～3037のいずれかに記載の医薬組成物、又は実施形態3038～3043のいずれかに記載の反応混合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、光学密度測定値（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）のう 50

ち1つ又は複数について上記複数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、複数の合成アネロソームを製剤化するステップを含む、方法。

【0628】

3051. 以下：

(i) 先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソームの遺伝子エレメントの核酸配列を含む第1核酸分子、及び

(ii) 任意選択で、表16のいずれかに列挙されるORF1、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF1/1、若しくはORF1/2から選択されるアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも85%の配列同一性を有するアミノ酸配列の1つ若しくは複数をコード化する第2核酸分子；

を含む宿主細胞。

【0629】

3052. 外性エフェクター（例えば、治療用外性エフェクター）を哺乳動物細胞に送達する方法において、以下：

(a) 先行実施形態のいずれかに記載の合成アネロソームを用意するステップ；及び

(b) 哺乳動物細胞を合成アネロソームと接触させるステップ

を含み；

ここで、合成アネロソームは、遺伝子エレメントを哺乳動物細胞に送達することができ；任意選択で、遺伝子エレメントを宿主細胞中のタンパク質性外層内に閉じ込めるのに好適な条件下で、遺伝子エレメントを宿主細胞に導入することにより、合成アネロソームが生産され；

これによって、治療用外性エフェクターを哺乳動物細胞に送達する、方法。

【0630】

3053. 遺伝子エレメントの宿主細胞への送達を目的とする、実施形態3001～3034のいずれかに記載の合成アネロソーム又は実施形態3035～3037のいずれかに記載の医薬組成物の使用。

【0631】

3054. 被験者の疾患又は障害の治療を目的とする、実施形態3001～3034のいずれかに記載の合成アネロソーム又は実施形態3035～3037のいずれかに記載の医薬組成物の使用。

【0632】

3055. 疾患又は障害が、癌、例えば、固形腫瘍である、実施形態3054に記載の使用。

【0633】

3056. 被験者の疾患又は障害の治療に使用するための、実施形態3001～3034のいずれかに記載の合成アネロソーム又は実施形態3035～3037のいずれかに記載の医薬組成物。

【0634】

3057. 被験者の疾患又は障害を治療する方法であって、本方法は、実施形態3001～3034のいずれかに記載の合成アネロソーム又は実施形態3035～3037のいずれかに記載の医薬組成物を被験者に投与するステップを含み、ここで、疾患又は障害が、癌、例えば、固形腫瘍である、方法。

【0635】

3058. 被験者の疾患又は障害の治療を目的とする薬剤の製造における実施形態3001～3034のいずれかに記載の合成アネロソーム又は実施形態3035～3037のいずれかに記載の医薬組成物の使用であって、任意選択で、疾患又は障害が、癌、例えば、固形腫瘍である、使用。

【0636】

10

20

30

40

50

3059. 疾患又は障害が、健康な組織と比較して、VEGFのレベル又は活性の変化に関連し、例えば、レベル又は活性の変化が、レベル又は活性の増大である、実施形態3052～3058のいずれかに記載の方法、使用のための組成物、又は使用。

【0637】

3060. 疾患又は障害が、血管形成の増大に関連する、実施形態3052～3058のいずれかに記載の方法、使用のための組成物、又は使用。

【0638】

3061. 外性エフェクターが、VEGF阻害剤、例えば、VEGF又はVEGF受容体に対する抗体分子を含む、実施形態3052～3058のいずれかに記載の方法、使用のための組成物、又は使用。

【0639】

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。

【0640】

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。

【0641】

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。

【0642】

特許又は出願人ファイルは、カラーで作成された少なくとも1つの図面を含む。カラー図面を含む本特許又は特許出願公開のコピーは、要請及び必要料金の支払いに応じて当局から提供される。

【図面の簡単な説明】

【0643】

【図1A-B】 [図1A] キャプシドタンパク質配列のアミノ酸領域の配列類似性(%)を示す図である。 [図1B] キャプシドタンパク質配列の配列類似性(%)を示す図である。

【図2】 アネロソームの一実施形態を示す図である。

【図3】 TTMiniVのLY1株をコード化するカナマイシンベクター(「アネロソーム1」)の概略図を描く。

【図4】 TTMiniVのLY2株をコード化するカナマイシンベクター(「アネロソーム2」)の概略図を描く。

【図5】 293T及びA549細胞における合成アネロソームのトランスフェクション効率を描く。

【図6A】 合成アネロソームによる293T細胞の感染達成を示す定量PCR結果を描く。

【図6B】 同上。

【図7A】 合成アネロソームによるA549細胞の感染達成を示す定量PCR結果を描く。

【図7B】 同上。

【図8A】 合成アネロソームによるRaji細胞の感染達成を示す定量PCR結果を描く。

【図8B】 同上。

【図9A】 合成アネロソームによるJurkat細胞の感染達成を示す定量PCR結果を

10

20

30

40

50

描く。

【図 9 B】 同上。

【図 10 A】 合成アネロソームによる C h a n g 細胞の感染達成を示す定量 P C R 結果を描く。

【図 10 B】 同上。

【図 11 A - 11 B】 T T M V - L Y 2 Δ 5 7 4 - 1 3 7 1、Δ 1 4 3 2 - 2 2 1 0、2 6 1 0 : : n L u c でトランスフェクトした又は感染させた細胞からのルシフェラーゼ発現を示す一連のグラフである。感染した細胞にルミネセンスが観察され、これは、複製及びパッケージングの達成を示している。

【図 11 C】 アルファトルクウイルス (A l p h a t o r q u e v i r u s) (トルク・テノウイルス (T o r q u e T e n o V i r u s ; T T V) の系統樹を描く図であり、クレードをハイライトした。少なくとも 100 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 株が表示される。幾つかのクレードからの例示的な配列を例えば、本明細書の表 A 1、A 1 2、B 1 ~ B 5、及び 1 ~ 8 に提供する。

【図 12】 アネロソーム (例えば、本明細書に記載の複製可能又は複製欠損アネロソーム) 生産のための例示的なワークフローを示す概略図である。

【図 13】 T T V 及び T T M V ゲノム当量の定量のために設計されるプライマーセットに対してプライマー特異性を示すグラフである。S Y B R グリーンケミストリーに基づく定量 P C R は、それぞれのゲノムをコード化するプラスミドに対し、表示の通り、T T M V 若しくは T T V 特異的プライマーを用いる増幅産物各々について 1 つの明瞭なピークを示す。

【図 14】 q P C R による T T V ゲノム当量の定量における P C R 効率を示す一連のグラフである。プライマーの漸増濃度及び加水分解プローブの定濃度 (250 nM) を 2 つの異なる市販の q P C R マスターミックスと一緒に使用した。90 ~ 110 % の効率によって定量工程中に生じた誤差伝搬は、最小であった。

【図 15】 ゲノム当量濃度の 7 l o g 10 にわたる T T M V (標的 1) 又は T T V (標的 2) の線形増幅の例示的な増幅プロットを示すグラフである。ゲノム当量は、高い P C R 効率及び線形性で、7 10 倍希釈物について定量した (R² T T M V : 0.996 ; R² T T V : 0.997) 。

【図 16 A】 アネロソームストック中の T T M V ゲノム当量の定量を示す一連のグラフである。(A) 各々 1 : 10 で希釈し、2 回反復で実施した 2 つのストックの増幅プロットである。(B) パネル A に示すものと同じ 2 つのサンプルであり、ここでは、線形範囲に関して示す。2 つの代表的なサンプルでの上限及び下限を示す。P C R 効率 : 99.58 %、R² : 0.988 。

【図 16 B】 同上。

【図 17】 表示のプラスミドでトランスフェクトされた H E K 2 9 3 T 細胞における m i R - 6 2 5 発現の倍率変化を示すグラフである。

【図 18】 各アルファトルクウイルス (A l p h a t o r q u e v i r u s) クレード由来の代表的配列のアラインメントについてのペアワイズ同一性を示す図である。T T V - C T 3 0 F、T T V - P 1 3 - 1、T T V - t t h 8、T T V - H D 2 0 a、T T V - 1 6、T T V - T J N 0 2、及び T T V - H D 1 6 d の DNA 配列をアラインメントした。50 b p スライディングウィンドウにわたるペアワイズ同一性 (%) をアラインメントの長さに沿って示す。上のブラケットは、表示のペアワイズ同一性を有するノンコーディング及びコーディング領域を示す。下のブラケットは、高度配列保存の領域を示す。

【図 19】 7 つのアルファトルクウイルス (A l p h a t o r q u e v i r u s) クレード間の推定タンパク質についてのアミノ酸アラインメントのペアワイズ同一性を示す図である。T T V - C T 3 0 F、T T V - P 1 3 - 1、T T V - t t h 8、T T V - H D 2 0 a、T T V - 1 6、T T V - T J N 0 2、及び T T V - H D 1 6 d 由来の推定タンパク質のアミノ酸配列をアラインメントした。15 a a スライディングウィンドウにわたるペアワイズ同一性 (%) を各アラインメントの長さに沿って示す。オープンリーディングフレ

10

20

30

40

50

ームDNA配列及びタンパク質アミノ酸配列の両方のペアワイズ同一性を示す。(*)推定ORF2t/3アミノ酸配列は、TTV-CT30F、TTV-tth8、TTV-16、及びTTV-TJN02についてアラインメントした。

【図20】5'UTR内のドメインが、7つのアルファトルクウイルス(Alphatorquevirus)クレード(出現順に、配列番号810~817)の間で高度に保存されていることを示す図である。各代表的アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus)の71bp5'UTR保存ドメイン配列をアラインメントした。配列は、7つのクレード間で95.2%のペアワイズ同一性を有する。

【図21】7つのアルファトルクウイルス(Alphatorquevirus)クレード由来のGCリッチドメインのアラインメントを示す図である。各アネロウイルス(Aneellovirus)は、ORFの下流にGC含有率が70%超こえる領域を有する。TTV-CT30F、TTV-P13-1、TTV-tth8、TTV-HD20a、TTV-16、TTV-TJN02、及びTTV-HD16d由来のGCリッチ領域のアラインメントを示す。これらの領域は長さがまちまちであるが、それらがアラインメントすると、75.4%のペアワイズ同一性を示す。

【図22】n-myc相互作用タンパク質(NMI)をターゲティングするmiRNAをコード化するアネロソームによるRaji B細胞の感染を示す図である。NMImiRNAコード化アネロソームによるRaji B細胞(矢印)又は対照細胞の感染後に検出されたアネロソームのゲノム当量の定量を示す。

【図23】n-myc相互作用タンパク質(NMI)をターゲティングするmiRNAをコード化するアネロソームによるRaji B細胞の感染を示す図である。ウエスタンブロットから、NMIに対するmiRNAをコード化するアネロソームが、Raji B細胞におけるNMIタンパク質発現を低減したのに対して、miRNAが欠失したアネロソームに感染したRaji B細胞は、対照と同等のNMIタンパク質発現を示したことがわかる。

【図24】内在性miRNAコード化配列を含むアネロソーム、及び内在性miRNAコード化配列が欠失した対応するアネロソームによる感染後に宿主細胞中に産生されたアネロソーム粒子の定量を示す一連のグラフである。

【図25A】ナノールシフェラーゼと融合したTTMV-LY2からのORFの細胞内局在化を示す一連の図である。(A) Vero細胞において、ORF2(上の列)は、細胞質に局在化することがわかったのに対し、ORF1/1(下の列)は、核に局在化することがわかった。(B) HEK293細胞では、ORF2(上の列)は、細胞質に局在化することがわかったのに対し、ORF1/1(下の列)は、核に局在化することがわかった。(C) 細胞におけるORF1/2及びORF2/2の局在化パターン。

【図25B】同上。

【図25C】同上。

【図26】TTV-tth8の3'ノンコーディング領域(NCR)における連続的欠失対照を示す一連の図である。一番上の列は、野生型TTV-tth8アネロウイルス(Aneellovirus)の構造を示す。2番目の列は、3'NCRのGCリッチ領域に36ヌクレオチドの欠失を有するTTV-tth8($\Delta 36nt(GC)$)を示す。3番目の列は、36ヌクレオチド欠失とmiRNA配列の追加欠失を有し、計78ヌクレオチドの欠失となったTTV-tth8($\Delta 36nt(GC) \Delta miR$)を示す。4番目の列は、3'NCRからの171ヌクレオチドの欠失を有するTTV-tth8(これは、36ヌクレオチド欠失領域とmiRNA配列の両方を含む)($\Delta 3'NCR$)を示す。

【図27A-27D】TTV-tth8の3'NCR中の連続的欠失が、アネロウイルス(Aneellovirus)ORF転写物レベルに有意な影響を有することを示す一連の図である。第2日のORF1及びORF2(A)、第2日のORF1/1及びORF2/2(B)、第2日のORF1/2及びORF2/3(C)、並びに第2日のORF2t3(D)の発現を示す。

【図28A】ナノールシフェラーゼを発現するアネロソームを生産するのに使用される構

10

20

30

40

50

築物（A）及び細胞をトランスフェクトするために使用される一連のアネロソーム／プラスミド組合せ（B）を示す一連の図である。

【図28B】同上。

【図29A】アネロソームを注射したマウスにおけるナノールシフェラーゼ発現を示す一連の図である。（A）注射後0～9日のマウスにおけるナノールシフェラーゼ発現。（B）表示される通り、様々なアネロソーム／プラスミド構築物組合せを注射したマウスにおけるナノールシフェラーゼ発現。（C）注射後のマウスに検出されたナノールシフェラーゼ発光の定量。A群は、TTMV-LY2ベクター±ナノールシフェラーゼを受けた。B群は、ナノールシフェラーゼタンパク質とTTMV-LY2 ORFを受けた。

【図29B】同上。

【図29C】同上。

【図29D-1】7つの異なるアルファトルクウイルス（*Alphatorquevirus*）クレード由来の代表的なアネロのゲノム機構の概略図である。TTV-CT30F、TTV-P13-1、TTV-tth8、TTV-HD20a、TTV-16、TTV-TJN02、及びTTV-HD16dの配列をアラインメントし、重要な領域をアノテートした。推定オープンリーディングフレーム（ORF）を薄いグレーで、TATAボックスを濃いグレーで表示し、重要な推定調節領域は、中間のグレーで示すが、これは、イニシエータエレメント、5' UTR保存ドメイン、及びGCリッチ領域（例えば、表示の通り）を含む。

【図29D-2】同上。

【図30】アネロウイルス（*Anellovirus*）pre-miRNAの内在性標的を決定するための例示的なワークフローを示す概略図である。

【図31A-31B】タンデムアネロウイルス（*Anellovirus*）プラスミドが、アネロウイルス又はアネロソーム生産を増大し得ることを示す一連の図である。（A）例示的なタンデムアネロウイルス（*Anellovirus*）プラスミドのプラスミドマップ。（B）タンデムアネロウイルス（*Anellovirus*）プラスミドによるHEK293T細胞のトランスフェクションは、単一コピー保有プラスミドと比較して、4倍のウイルスゲノム数の生産をもたらした。

【図31C】TTMV-LY2プラスミドpVL46-063及びpVL46-240の環状化を示すゲル電気泳動画像である。

【図31D】サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）により決定される、線状及び環状TTMV-LY2構築物のコピー数を示すクロマトグラムである。

【図32】9つのアネロウイルス（*Anellovirus*）ゲノム配列由来の36ヌクレオチドGCリッチ領域のアラインメントと、それに基づくコンセンサス配列（出現順に、それぞれ配列番号818～827）を示す図である。

【図33】アネロウイルス（*Anellovirus*）株LY2及びCBD203由来のORF1構造を示す一連の図である。推定ドメインは標識されている：表示のように、アルギニンリッチ領域（argリッチ）、ゼリーロールドメインを含むコア領域、超可変ドメイン（HVR）、N22領域、及びC末端ドメイン（CTD）。

【図34】ベータトルクウイルス（*Betatorquevirus*）株CBS203由来のORF1構造を示す図である。1セットの110ベータトルクウイルスの間で高い類似性を示す残基を示す。評価した全ての株の間で、60～79.9%類似性の残基、80～99.9%類似性の残基、100%類似性の残基を示す。

【図35】濃いグレー（100%）、中間のグレー（80～99.9%）、薄いグレー（60～80%）でハイライトした高い類似性スコアの残基を有するアルファトルクウイルス（*Alphatorquevirus*）の258配列のアラインメントからコンセンサス配列（配列番号828）を示す図である。推定ドメインをボックス内に示す。また、同意性（%）も、コンセンサス配列の下ボックスグラフにより示し、中間グレーのボックスが100%同一性を、薄いグレーのボックスが30～99%同一性を、また濃いグレーのボックスが30%未満の同一性を示す。

10

20

30

40

50

【図 36】 アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 分子のドメインと、異なるアネロウイルス (Anellovirus) 由来の超可変ドメインで置換しようとする超可変領域とを示す概略図である。

【図 37】 ORF1 のドメインと、非アネロウイルス由来の目的のタンパク質又はペプチド (POI) で置換されることになる超可変領域とを示す概略図である。

【図 38】 アネロウイルス (Anellovirus) ゲノムに基づく例示的なアネロソーム遺伝子エレメントの設計を示す一連の図である。アネロウイルスゲノムからはタンパク質コーディング領域が欠失されて (左)、ウイルスプロモータ、5' UTR 保存ドメイン (5CD)、及び GC リッチ領域を含め、アネロウイルスノンコーディング領域 (NCR) が残った。ペイロード DNA がタンパク質コーディング遺伝子座のノンコーディング領域に挿入された (右)。得られたアネロソームは、ペイロード DNA (オープンリーディングフレーム、遺伝子、ノンコーディング RNA などを含む) 並びに必須アネロウイルス cis 複製及びパッケージングエレメントを保有したが、複製及びパッケージングのための必須タンパク質エレメントを欠いた。

【図 39】 外性ヒトイムノアドヘンシをコード化する遺伝子エレメントを含むアネロソームが、ヒト肺由来の細胞株 EKVX の形質導入を達成したことを示す棒グラフである。

【図 40】 ヒトエリスロポエチン (hEpo) をコード化する配列を含有するように改変された tth8 若しくは LY2 に基づくアネロソームが、機能性トランスジーンを哺乳動物細胞に送達することができたことを示すグラフである。

【図 41A-41B】 マウスに投与された改変アネロソームが、静脈内注射から 7 日後に検出可能であったことを示す一連のグラフである。

【図 42】 hGH をコード化する操作アネロソームの静脈内投与から 7 日後の全血の細胞画分中に hGH mRNA が検出されたこと示すグラフである。

【図 43A-43D】 アネロウイルス (Anellovirus) ORF2 中の高度に保存されたモチーフを示す一連の図である。図 43 は、配列番号 949 を開示する。

【図 44A-44B】 ヒト組織中の完全長 ORF1 mRNA 発現のエビデンスを示す一連の図である。

【図 45】 インビトロ環状化 (IVC) TTV-tth8 ゲノム (IVC TTV-tth8) が、プラスミド中の TTV-tth8 ゲノムと比較して、HEK293T 細胞中に予想密度で TTV-tth8 ゲノムコピーを産生する能力を示すグラフである。

【図 46】 インビトロ環状化 (IVC) LY2 ゲノム (WT LY2 IVC) 及びプラスミド (WT LY2 プラスミド) 内の野生型 LY2 ゲノム (WT LY2 プラスミド) が、Jurkat 細胞中に予想密度で LY2 ゲノムコピーを産生する能力を示す一連の図である。

【図 47】 アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus)、ベータトルクウイルス (Betatorquevirus)、及びガンマトルクウイルス (Gammatorquevirus) 由来のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 タンパク質のゼリーロールドメインの二次構造のアラインメント (配列番号 950~975) を示す図である。これらの二次構造エレメントは、高度に保存されている。

【図 48】 N22 ドメイン内に位置する ORF1 モチーフの保存配列及び二次構造 (出現順に、それぞれ配列番号 976~1000 及び 851) を示す図である。ヒト TTV ORF1 の保存 YNPXXDXGXN (配列番号 829) モチーフは、保存された二次構造を有する。特に、モチーフ内のチロシンは β 鎖を切断し、第 2 β 鎖が、モチーフの末端アスパラギンで開始する。

【発明を実施するための形態】

【0644】

定義

具体的な実施形態に関して、いくつかの図を参照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。

10

20

30

40

50

【0645】

「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。

【0646】

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。

【0647】

「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。

【0648】

本明細書で使用される場合、「サイトカイン分子」は、野生型サイトカイン又は野生型サイトカインと同じ受容体に結合するその変異体を含む。一部の実施形態では、サイトカイン分子は、野生型サイトカインに対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するポリペプチドを含む。一部の実施形態では、変異体は、野生型サイトカインに対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する第1領域と、野生型サイトカインに対して異種の第2領域とを有する融合ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、サイトカイン分子は、野生型サイトカインの断片を含むか、又はそれから構成される。

【0649】

「・・・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。

【0650】

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(Aneelovirus) ORF1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。

10

20

30

40

50

【0651】

本明細書で使用される場合、用語「アネロソーム」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、エピソーム、例えば、環状DNAを含むビヒクルを指す。「合成アネロソーム」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（Aneellovirus））と異なる配列を有するアネロソームを指す。一部の実施形態では、合成アネロソームは、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（Aneellovirus）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、アネロソームは精製され、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%）。

10

【0652】

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（例えば、キャプシド）内へのパッケージングを可能にする上で十分な、アネロウイルス（Aneellovirus）ゲノム配列又はその連続した部分由来の、若しくはそれと高度に類似する（例えば、それと少なくとも85%、90%、95%、97%、99%、若しくは100%同一の）核酸配列を含み、さらに異種配列を含むベクターを指す。一部の実施形態では、アネロベクターは、ウイルスベクター又はネイキッド核酸である。一部の実施形態では、アネロベクターは、ネイティブアネロウイルス（Aneellovirus）配列又はそれと高度に類似する（例えば、それと少なくとも85%、90%、95%、97%、99%、若しくは100%同一の）配列の少なくとも約50、60、70、71、72、73、74、75、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200、1300、1400、1500、1600、1700、1800、1900、2000、2500、3000、若しくは3500個の連続したヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、アネロベクターは、アネロウイルス（Aneellovirus）ORF1、ORF2、又はORF3のうち1つ若しくは複数をさらに含む。一部の実施形態では、異種配列は、多重クローニング部位を含み、異種プロモータを含み、治療用タンパク質のコーディング領域を含むか、又は治療用核酸をコード化する。一部の実施形態では、キャプシドは、野生型アネロウイルス（Aneellovirus）キャプシドである。複数の実施形態では、アネロベクターは、本明細書に記載される遺伝子エレメントを含み、例えば、プロモータと、治療用エフェクターをコード化する配列と、キャプシド結合配列と、を含む遺伝子エレメントを含む。

20

30

【0653】

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、scFv）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。複数の実施形態では、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

50

【0654】

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。

【0655】

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。

10

【0656】

「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、アネロソームの他の（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。

20

【0657】

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、一般に、アネロソーム内の核酸配列を指す。遺伝子エレメントをネイキッドDNA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、アネロソーム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。

30

【0658】

本明細書で使用される場合、用語「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、例えば、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙される、アネロウイルス（Anellovirus）ORF1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。ORF1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）ORF1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）ORF1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、ORF1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、アネロソームは、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ORF1分子を含む。ORF1分子は、一部の事例において、アネロウイルス（Anellovirus）ORF1核酸（例えば、表A1、A3、

40

50

A 5、A 7、A 9、A 11、B 1～B 5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに列挙される通り）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（Anellovirus）ゲノム）によりコード化されるORF 1タンパク質、例えば、表A 2、A 4、A 6、A 8、A 10、A 12、C 1～C 5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD 1～D 10のいずれかに列挙されるか、又は表A 1、A 3、A 5、A 7、A 9、A 11、B 1～B 5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに列挙されるORF 1遺伝子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。

【0659】

本明細書で使用される場合、「ORF 2分子」は、アネロウイルス（Anellovirus）ORF 2タンパク質（例えば、本明細書に記載される、例えば、表A 2、A 4、A 6、A 8、A 10、A 12、C 1～C 5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD 1～D 10のいずれかに列挙される、アネロウイルス（Anellovirus）ORF 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。本明細書で使用される「アネロウイルス（Anellovirus）ORF 2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（Anellovirus）ゲノム）によりコード化されるORF 2タンパク質、例えば、表A 2、A 4、A 6、A 8、A 10、A 12、C 1～C 5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD 1～D 10のいずれかに列挙されるか、又は表A 1、A 3、A 5、A 7、A 9、A 11、B 1～B 5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに列挙されるORF 2遺伝子によりコード化されるアミノ酸配列を有するORF 2タンパク質を指す。

【0660】

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。

【0661】

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。複数の実施形態では、発現産物は、RNA又はタンパク質を含む。

【0662】

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。

【0663】

本明細書で使用される場合、用語「複製タンパク質」は、感染、ウイルスゲノム複製／発現、ウイルスタンパク質合成、及び／又はウイルス構成体のアセンブリ中に使用されるタンパク質、例えば、ウイルスタンパク質を指す。

【0664】

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、ヒトに検出可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ソーム）、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ソームの投与によって、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。

【0665】

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

10

20

30

40

50

えば、ヒトにおいて検出可能な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。

【0666】

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ソーム（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。

10

【0667】

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ソーム）、又はそれらの構成体を指す。複数の実施形態では、実質的に非免疫原性の生物、粒子、又は構成体は、検出可能な免疫応答を生成しない。複数の実施形態では、実質的に非免疫原性のアネロソームは、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1-B5、1、3、5、7、9、11、13、15、又は17のいずれかに示す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検出可能な免疫応答を生成しない。複数の実施形態では、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. Virol. 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、抗アネロソーム抗体の存在又はレベル、例えば、本明細書に記載のアネロソームに対する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 (Anellovirus) 又はそれに基づくアネロソームに対する抗体もまた、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。

20

30

【0668】

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ぞ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 (Anellovirus) 由来の対応する部分配列）で置換することができる。

40

【0669】

本明細書で使用される場合、「治療（療法）」、「治療する（こと）」及びそれらの同等は、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を指す。この用語は、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）；並び

50

に支持療法（別の療法を補助するために使用される治療）を含む。

【0670】

本明細書で使用される場合、「ウイルス集団（ピローム）」は、特定の環境、例えば、身体の一部、例えば、生物、例えば、細胞、例えば、組織中のウイルスを指す。

【0671】

本発明は、概して、アネロソーム、例えば、合成アネロソーム、及びその使用に関する。本開示は、アネロソーム、アネロソームを含む組成物、及びアネロソームを作製する方法又は使用する方法を提供する。アネロソームは、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、アネロソームは、タンパク質性外層に閉じ込められた、核酸配列（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）を含む遺伝子エレメントを含有し得る。アネロソームは、アネロウイルス（*Anellovirus*）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。アネロソームは、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。

【0672】

目次

I. アネロソーム

A. アネロウイルス（*Anellovirus*）

B. ORF1分子

C. ORF2分子

D. 遺伝子エレメント

E. タンパク質結合配列

F. 5' UTR領域

G. GCリッチ領域

H. エフェクター

I. タンパク質性外層

II. ベクター

III. 組成物

IV. 宿主細胞

V. 使用方法

VI. 生産方法

VII. 投与／送達

【0673】

I. アネロソーム

一部の態様では、本明細書に記載される本発明は、組成物並びにアネロソーム、アネロソーム調製物、及び医薬組成物の使用及び製造方法を含む。一部の実施形態では、アネロソームは、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*）、例えば、表A1～12、B1～B5、C1～C5、1～18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに示される配列を含む核酸配列又はポリペプチド、又はその断片若しくは部分を含むアネロウイルス（*Anellovirus*））、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／又は機能を有する。一部の実施形態では、アネロウイルス（*Anellovirus*）ベースのアネロソームは、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、又はアネロソーム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*）ベースのアネロソームは、アネロウイルス（*Anellovirus*）

ovirus)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、アネロソームは、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。アネロソームは、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、アネロソームは、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、アネロソームは、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、アネロソームは、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、アネロソームは、複製欠損である。一部の実施形態では、アネロソームは、複製可能である。

10

【0674】

一部の実施形態では、アネロソームは、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。

【0675】

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ソームを含み、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；且つアネロソームは、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

30

【0676】

本明細書に記載されるアネロソーム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ソームからの約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、アネロソーム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。

40

【0677】

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、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1~B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに挙げる

50

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ソームを含み、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；且つアネロソームは、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。

【0678】

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

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

を含むアネロソームを含む。

【0679】

一部の実施形態では、アネロソームは、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)) から識別可能である。

【0680】

一部の実施形態では、アネロソームは、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、24 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。

【0681】

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 (polIII)、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。

【0682】

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。

【0683】

本明細書に記載されるアネロソーム、アネロソームを含む組成物、こうしたアネロソームを使用する方法などは、一部の事例において、異なるエフェクター、例えば、miRNA（例えば、IFN若しくはmiR-625に対する）、shRNAなどと、タンパク質結合配列、例えば、Q99153などのキャプシドタンパク質に結合するDNA配列を、タンパク質性外層、例えば、Arch Viro1（2007）152：1961-1975に開示されるキャプシドと組み合わせて、アネロソームを産生させる（次に、これは、エフェクターを細胞（例えば、動物細胞、例えば、ヒト細胞又はブタ若しくはマウス細胞などのヒト以外の細胞）に送達するために使用することができる）方法を説明する実施例に部分的に基づく。複数の実施形態では、エフェクターは、インターフェロンなどの因子の発現を抑制することができる。実施例はさらに、いかにして、例えば、アネロウイルス（Ane1lovirus）由来の配列にエフェクターを挿入することにより、アネロソームを製造することができるかも説明する。これらの実施例に基づいて、以下の説明は、特定の知見の様々な変形及び実施例で検討される組合せを考慮する。例えば、当業者は、実施例から、特定のmiRNAがエフェクターのほんの1例として使用されること、及びその他のエフェクターが、例えば、他の調節核酸又は治療用ペプチドであってもよいことを理解されるであろう。同様に、本実施例で使用される特定のキャプシドの代わりに、本明細書に後述する実質的に非病原性のタンパク質を使用してもよい。また、本実施例に記載する特定のアネロウイルス（Ane1lovirus）配列の代わりに、本明細書に後述するアネロウイルス（Ane1lovirus）配列を使用してもよい。これらの検討事項は、タンパク質結合配列、プロモータなどの調節配列などにも同様に適用される。それらから独立に、当業者は、本実施例に密接に関連するこうした実施形態を特に考慮するであろう。

【0684】

一部の実施形態では、アネロソーム、又はアネロソーム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、アネロソーム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、アネロソーム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、アネロソーム、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、アネロソーム、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、アネロソーム、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、アネロソーム、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、アネロソーム、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。

【0685】

一部の実施形態では、本明細書に記載のアネロソーム（例えば、合成アネロソーム）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 77:199-206; 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ソーム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ソームに対する抗体は、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

20

30

40

50

【0686】

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ORF2t/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、ヘルパー、例えば、ヘルパーウイルス若しくはヘルパープラスミド、又は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。

【0687】

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ORF2t/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ORF2t/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%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。

【0688】

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

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%、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

20

30

40

50

【0689】

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ソームは、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、アネロソームは、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、アネロソームは、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、アネロソームは、アネロソーム中の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。アネロウイルス（*Anellovirus*）は、ヒト疾患と関連付けられていない。しかし、アネロウイルス（*Anellovirus*）感染をヒト疾患と関連付ける試みは、対照コホート集団における無症候性アネロウイルス（*Anellovirus*）ウイルス血症の高い発生率、アネロウイルス（*anellovirus*）ウイルス科の著しいゲノム多様性、このウイルスをインビトロでの増殖がこれまで不可能であったこと、並びにアネロウイルス（*Anellovirus*）疾患の動物モデルがないことによって妨げられている（Yzebe et al., *Panminerva Med.* (2002) 44:167-177; Biagini, P., *Vet. Microbiol.* (2004) 98:95-101)。

【0690】

アネロウイルス（*Anellovirus*）は一般に、口鼻若しくは糞口感染、母子及び／又は子宮感染により伝播されると思われる（Gerner et al., *Ped. Infect. Dis. J.* (2000) 19:1074-1077）。感染した人は、場合により、長期（数ヵ月～数年）にわたるアネロウイルス（*Anellovirus*）ウイルス血症の特徴を有し得る。ヒトは、2つ以上の遺伝子群又は系統に同時感染する可能性がある（Saback, et al., *Scad. J. Infect. Dis.* (2001) 33:121-125）。これらの遺伝子群は、感染したヒトにおいて再結合し得ることが示唆されている（Rey et al., *Infect.* (2003) 31:226-233）。二本鎖イソ型（複製）中間体が、肝臓、末梢血単核細胞及び骨髄などのいくつかの組織で見出されている（Kikuchi et al., *J. Med. Vir*

ol. (2000) 61:165-170; Okamoto et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. (2002) 270:657-662; Rodriguez-Lnigo et al., Am. J. Pathol. (2000) 156:1227-1234)。

【0691】

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。

10

【0692】

一部の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、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、アネロソームは、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1~B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17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A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1~C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20~37、若しくはD1~D10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。

20

【0693】

一部の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、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A1~A12、B1~B5、C1~C5、若しくは1~18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TATA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、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 (例えば、表A1~A12、若しくは1~18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ORF1、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2/3、ORF2t/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又はORF2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A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1~C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20~37、若しくはD1~D10のいずれかに示すORF1若しくはORF2アミノ酸配列、又は表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1~B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに示す核酸配列によりコード化されるORF1若しくはORF2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

30

40

50

において、核酸分子は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1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A2、A4、A6、A8、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに示されるORF1アミノ酸配列、又は表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに示される核酸配列によりコード化されるORF1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。

【0694】

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ヌクレオチド配列（例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド574～2775）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（例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド574～699及び／又は2326～2775）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（例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド574～699及び／又は2552～2759）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（例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド335～703）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（例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド335～699及び／又は2326～2759）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（例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド335～699及び／又は2552～2957）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（例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド335～465及び／又は2552～2957）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（例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド77～81）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（例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド95～110）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（例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド105）に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90

10

20

30

40

50

%、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（例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド165～235）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（例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド2535～2746）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（例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド2953～2958）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）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド3620～3648）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

【0695】

複数の実施形態では、核酸分子は、表A3のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1ヌクレオチド配列（例えば、表A3の核酸配列のヌクレオチド599～2887）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A3のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1／1ヌクレオチド配列（例えば、表A3の核酸配列のヌクレオチド599～724及び／又は2414～2887）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A3のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1／2ヌクレオチド配列（例えば、表A3の核酸配列のヌクレオチド599～724及び／又は2643～2849）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A3のアネロウイルス（Anellovirus）ORF2ヌクレオチド配列（例えば、表A3の核酸配列のヌクレオチド342～728）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A3のアネロウイルス（Anellovirus）ORF2／2ヌクレオチド配列（例えば、表A3の核酸配列のヌクレオチド342～724及び／又は2414～2849）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A3のアネロウイルス（Anellovirus）ORF2／3ヌクレオチド配列（例えば、表A3の核酸配列のヌクレオチド342～724及び／又は2643～3057）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A3のアネロウイルス（Anellovirus）TATAボックスヌクレオチド配列（例えば、表A3の核酸配列のヌクレオチド87～91）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A3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（例えば、表A3の核酸配列のヌクレオチド10

20

30

40

50

5～120) 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A3のアネロウイルス (Anellovirus) 転写開始部位ヌクレオチド配列 (例えば、表A3の核酸配列のヌクレオチド115) 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A3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 (例えば、表A3の核酸配列のヌクレオチド175～245) 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A3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 (例えば、表A3の核酸配列のヌクレオチド2626～2846) 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A3のアネロウイルス (Anellovirus) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列 (例えば、表A3の核酸配列のヌクレオチド3052～3058) 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

【0696】

複数の実施形態では、核酸分子は、表A5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1ヌクレオチド配列 (例えば、表A5の核酸配列のヌクレオチド556～2904) 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A5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/1ヌクレオチド配列 (例えば、表A5の核酸配列のヌクレオチド556～687及び/又は2422～2904) 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A5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/2ヌクレオチド配列 (例えば、表A5の核酸配列のヌクレオチド556～687及び/又は2564～2878) 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A5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2ヌクレオチド配列 (例えば、表A5の核酸配列のヌクレオチド305～691) 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A5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/2ヌクレオチド配列 (例えば、表A5の核酸配列のヌクレオチド305～687及び/又は2422～2878) 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A5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/3ヌクレオチド配列 (例えば、表A5の核酸配列のヌクレオチド305～687及び/又は2564～3317) 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A5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2t/3ヌクレオチド配列 (例えば、表A5の核酸配列のヌクレオチド305～360及び/又は2564～3317) 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A5のアネロウイルス

30

40

50

ス (A n e l l o v i r u s) T A T A ボックスヌクレオチド配列 (例えば、表 A 5 の核酸配列のヌクレオチド 50 ~ 55) 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 A 5 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) イニシエータエレメントヌクレオチド配列 (例えば、表 A 5 の核酸配列のヌクレオチド 68 ~ 83) 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 A 5 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 転写開始部位ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 5 の核酸配列のヌクレオチド 78) 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 A 5 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 5' UTR 保存ドメインヌクレオチド配列 (例えば、表 A 5 の核酸配列のヌクレオチド 138 ~ 208) 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 A 5 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 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 (例えば、表 A 5 の核酸配列のヌクレオチド 2626 ~ 2846) 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 A 5 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列 (例えば、表 A 5 の核酸配列のヌクレオチド 3316 ~ 3319) 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

【0697】

複数の実施形態では、核酸分子は、表 A 7 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 7 の核酸配列のヌクレオチド 589 ~ 2889) 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 A 7 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 1 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 7 の核酸配列のヌクレオチド 589 ~ 711 及び / 又は 2362 ~ 2889) 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 A 7 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 7 の核酸配列のヌクレオチド 589 ~ 711 及び / 又は 2555 ~ 2863) 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 A 7 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 7 の核酸配列のヌクレオチド 353 ~ 715) 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 A 7 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 / 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 7 の核酸配列のヌクレオチド 353 ~ 711 及び / 又は 2362 ~ 2863) 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 A 7 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 / 3 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 7 の核酸配列のヌクレオチド 353 ~ 711 及び / 又は 2555 ~ 3065) 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。

30

40

50

。複数の実施形態では、核酸分子は、表 A 7 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 t / 3 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 7 の核酸配列のヌクレオチド 353 ~ 432 及び / 又は 2555 ~ 3065) 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 A 7 のアネロウイルス (Anellovirus) TATA ボックスヌクレオチド配列 (例えば、表 A 7 の核酸配列のヌクレオチド 86 ~ 90) 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 A 7 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 (例えば、表 A 7 の核酸配列のヌクレオチド 104 ~ 119) 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 A 7 のアネロウイルス (Anellovirus) 転写開始部位ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 7 の核酸配列のヌクレオチド 114) 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 A 7 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 (例えば、表 A 7 の核酸配列のヌクレオチド 174 ~ 244) 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 A 7 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 (例えば、表 A 7 の核酸配列のヌクレオチド 2555 ~ 2863) 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 A 7 のアネロウイルス (Anellovirus) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列 (例えば、表 A 7 の核酸配列のヌクレオチド 3062 ~ 3066) 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 A 7 のアネロウイルス (Anellovirus) GC リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 7 の核酸配列のヌクレオチド 3720 ~ 3742) 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

【0698】

複数の実施形態では、核酸分子は、表 A 9 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 9 の核酸配列のヌクレオチド 511 ~ 2793) 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 A 9 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 1 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 9 の核酸配列のヌクレオチド 511 ~ 711 及び / 又は 2326 ~ 2793) 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 A 9 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 9 の核酸配列のヌクレオチド 511 ~ 711 及び / 又は 2525 ~ 2767) 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 A 9 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 9 の核酸配列のヌクレオチド 272 ~ 637) 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 A 9 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 9 の核酸配列のヌクレオチド 272 ~ 633 及び / 又は 2326 ~ 2767) 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 A 9 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 3 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 9 の核酸配列のヌクレオチド 272 ~ 633 及び / 又は 2525 ~ 2984) 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 A 9 のアネロウイルス (Anellovirus) TATA ボックスヌクレオチド配列 (例えば、表 A 9 の核酸配列のヌクレオチド 12 ~ 17) 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 A 9 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 (例えば、表 A 9 の核酸配列のヌクレオチド 30 ~ 45) 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 A 9 のアネロウイルス (Anellovirus) 転写開始部位ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 9 の核酸配列のヌクレオチド 40) 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 A 9 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 (例えば、表 A 9 の核酸配列のヌクレオチド 100 ~ 171) 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 A 9 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 (例えば、表 A 9 の核酸配列のヌクレオチド 2525 ~ 2767) 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 A 9 のアネロウイルス (Anellovirus) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列 (例えば、表 A 9 の核酸配列のヌクレオチド 2981 ~ 2985) 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。

【0699】

複数の実施形態では、核酸分子は、表 A 11 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 11 の核酸配列のヌクレオチド 704 ~ 3001) 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 A 11 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 1 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 11 の核酸配列のヌクレオチド 704 ~ 826 及び / 又は 2534 ~ 3001) 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 A 11 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 11 の核酸配列のヌクレオチド 704 ~ 826 及び / 又は 2721 ~ 2975) 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 A 11 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 11 の核酸配列のヌクレオチド 465 ~ 830) 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 A 11 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 11 の核酸配列のヌクレオチド 465 ~ 826 及び / 又は 2534 ~ 2975) 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 A 11 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 3 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 11 の核酸配列のヌクレオチド 465 ~ 826 及び / 又は 2721 ~ 3192) 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 A 11 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 t / 3 ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 11 の核酸配列のヌクレオチド 465 ~ 595 及び / 又は 2721 ~ 3192) 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 A 11 のアネロウイルス (Anellovirus) TATA ボックスヌクレオチド配列 (例えば、表 A 11 の核酸配列のヌクレオチド 206 ~ 210) 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 A 11 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 (例えば、表 A 11 の核酸配列のヌクレオチド 224 ~ 239) 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 A 11 のアネロウイルス (Anellovirus) 転写開始部位ヌクレオチド配列 (例えば、表 A 11 の核酸配列のヌクレオチド 234) 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 A 11 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 (例えば、表 A 11 の核酸配列のヌクレオチド 294 ~ 364) 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 A 11 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 (例えば、表 A 11 の核酸配列のヌクレオチド 2721 ~ 2975) 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 A 11 のアネロウイルス (Anellovirus) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列 (例えば、表 A 11 の核酸配列のヌクレオチド 3189 ~ 3193) 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 A 11 のアネロウイルス (Anellovirus) GC リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 11 の核酸配列のヌクレオチド 3844 ~ 3895) 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。

【0700】

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ヌクレオチド配列（例えば、表B 1の核酸配列のヌクレオチド5 7 4～2 7 7 5）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（A n e l l o v i r u s）ORF 1／1ヌクレオチド配列（例えば、表B 1の核酸配列のヌクレオチド5 7 4～6 9 9及び／又は2 3 2 6～2 7 7 5）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（A n e l l o v i r u s）ORF 1／2ヌクレオチド配列（例えば、表B 1の核酸配列のヌクレオチド5 7 4～6 9 9及び／又は2 5 5 2～2 7 5 9）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（A n e l l o v i r u s）ORF 2ヌクレオチド配列（例えば、表B 1の核酸配列のヌクレオチド3 3 5～7 0 3）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（A n e l l o v i r u s）ORF 2／2ヌクレオチド配列（例えば、表B 1の核酸配列のヌクレオチド3 3 5～6 9 9及び／又は2 3 2 6～2 7 5 9）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（A n e l l o v i r u s）ORF 2／3ヌクレオチド配列（例えば、表B 1の核酸配列のヌクレオチド3 3 5～4 6 5及び／又は2 5 5 2～2 9 5 7）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（A n e l l o v i r u s）T A T Aボックスヌクレオチド配列（例えば、表B 1の核酸配列のヌクレオチド7 7～8 1）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（A n e l l o v i r u s）イニシエータエレメントヌクレオチド配列（例えば、表B 1の核酸配列のヌクレオチド9 5～1 1 0）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（A n e l l o v i r u s）転写開始部位ヌクレオチド配列（例えば、表B 1の核酸配列のヌクレオチド1 0 5）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（A n e l l o v i r u s）5' UTR保存ドメインヌクレオチド配列（例えば、表B 1の核酸配列のヌクレオチド1 6 5～2 3 5）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（A n e l l o v i r u s）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（例えば、表B 1の核酸配列のヌクレオチド2 5 3 5～2 7 4 6）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（A n e l l o v i r u s）ポリ（A）シグナルヌクレオチド配列（

10

20

30

40

50

例えば、表 B 1 の核酸配列のヌクレオチド 2 9 5 3 ~ 2 9 5 8) 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 (A n e l l o v i r u s) G C リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 B 1 の核酸配列のヌクレオチド 3 6 2 0 ~ 3 6 4 8) 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。

【0701】

複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 5 7 4 ~ 2 7 7 5) 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 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 1 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 5 7 4 ~ 6 9 9 及び / 又は 2 3 2 6 ~ 2 7 7 5) 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 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 5 7 4 ~ 6 9 9 及び / 又は 2 5 5 2 ~ 2 7 5 9) 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 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 3 3 5 ~ 7 0 3) 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 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 / 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 3 3 5 ~ 6 9 9 及び / 又は 2 3 2 6 ~ 2 7 5 9) 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 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 / 3 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 3 3 5 ~ 6 9 9 及び / 又は 2 5 5 2 ~ 2 9 5 7) 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 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 t / 3 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 3 3 5 ~ 4 6 5 及び / 又は 2 5 5 2 ~ 2 9 5 7) 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 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) T A T A ボックスヌクレオチド配列 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 7 7 ~ 8 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を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) イニシエータエレメントヌクレオチド配列 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 9 5 ~ 1 1 0) 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 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 転写開始部位ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 1 0 5) 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 2 のアネロウイルス (A n e l

10

20

30

40

50

lovirus) 5' UTR 保存ドメインヌクレオチド配列 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 165 ~ 235) 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 2 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 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 2535 ~ 2746) 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 2 のアネロウイルス (Anellovirus) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 2953 ~ 2958) 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 2 のアネロウイルス (Anellovirus) GC リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 3620 ~ 3648) 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

【0702】

複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 3 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 574 ~ 2775) 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 3 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 1 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 574 ~ 699 及び / 又は 2326 ~ 2775) 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 3 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 574 ~ 699 及び / 又は 2552 ~ 2759) 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 3 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 335 ~ 703) 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 3 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 335 ~ 699 及び / 又は 2326 ~ 2759) 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 3 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 3 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 335 ~ 699 及び / 又は 2552 ~ 2957) 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 3 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 t / 3 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 335 ~ 465 及び / 又は 2552 ~ 2957) 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 3 のアネロウイルス (Anellovirus) TATA ボックスヌクレオチド配列 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 77 ~ 81) 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

20

30

40

50

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 3 のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) イニシエータエレメントヌクレオチド配列 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 9 5 ~ 1 1 0) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 3 のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) 転写開始部位ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 1 0 5) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 3 のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) 5' UTR 保存ドメインヌクレオチド配列 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 1 6 5 ~ 2 3 5) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 3 のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) 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 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 2 5 3 5 ~ 2 7 4 6) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 3 のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 2 9 5 3 ~ 2 9 5 8) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 3 のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) GC リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 3 6 2 0 ~ 3 6 4 8) 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核酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【0703】

複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 4 のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 4 の核酸配列のヌクレオチド 5 7 4 ~ 2 7 7 5) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 4 のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 / 1 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 4 の核酸配列のヌクレオチド 5 7 4 ~ 6 9 9 及び / 又は 2 3 2 6 ~ 2 7 7 5) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 4 のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 / 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 4 の核酸配列のヌクレオチド 5 7 4 ~ 6 9 9 及び / 又は 2 5 5 2 ~ 2 7 5 9) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 4 のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 4 の核酸配列のヌクレオチド 3 3 5 ~ 7 0 3) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 4 のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 2 / 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 4 の核酸配列のヌクレオチド 3 3 5 ~ 6 9 9 及び / 又は 2 3 2 6 ~ 2 7 5 9) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 B 4 のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 2 / 3 ヌクレオチド配列 (例えば、表 B 4 の核酸配列のヌクレオチド 3 3 5 ~ 6 9 9 及び / 又は 2 5 5 2 ~ 2 9 5 7) に対して少なくとも約 7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9

6 %、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B4のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 2 t / 3ヌクレオチド配列 (例えば、表B4の核酸配列のヌクレオチド335～465及び／又は2552～2957) 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B4のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) T A T Aボックスヌクレオチド配列 (例えば、表B4の核酸配列のヌクレオチド77～81) 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B4のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) イニシエータエレメントヌクレオチド配列 (例えば、表B4の核酸配列のヌクレオチド95～110) 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B4のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) 転写開始部位ヌクレオチド配列 (例えば、表B4の核酸配列のヌクレオチド105) 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B4のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) 5' UTR保存ドメインヌクレオチド配列 (例えば、表B4の核酸配列のヌクレオチド165～235) 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B4のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) 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 (例えば、表B4の核酸配列のヌクレオチド2535～2746) 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B4のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列 (例えば、表B4の核酸配列のヌクレオチド2953～2958) 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B4のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) G Cリッチヌクレオチド配列 (例えば、表B4の核酸配列のヌクレオチド3620～3648) 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。

【0704】

複数の実施形態では、核酸分子は、表B5のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1ヌクレオチド配列 (例えば、表B5の核酸配列のヌクレオチド574～2775) 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B5のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 / 1ヌクレオチド配列 (例えば、表B5の核酸配列のヌクレオチド574～699及び／又は2326～2775) 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B5のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 / 2ヌクレオチド配列 (例えば、表B5の核酸配列のヌクレオチド574～699及び／又は2552～2759) 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B5のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 2ヌクレオチド配列 (例えば、表B5の核酸配列のヌクレオチド335～703) に対して少なくとも約70 %、75 %、8

0%、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B5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/2ヌクレオチド配列 (例えば、表B5の核酸配列のヌクレオチド335~699及び/又は2326~2759) 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B5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/3ヌクレオチド配列 (例えば、表B5の核酸配列のヌクレオチド335~699及び/又は2552~2957) 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B5のアネロウイルス (Anellovirus) TATAボックスヌクレオチド配列 (例えば、表B5の核酸配列のヌクレオチド77~81) 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B5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 (例えば、表B5の核酸配列のヌクレオチド95~110) 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B5のアネロウイルス (Anellovirus) 転写開始部位ヌクレオチド配列 (例えば、表B5の核酸配列のヌクレオチド105) 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B5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 (例えば、表B5の核酸配列のヌクレオチド165~235) 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B5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 (例えば、表B5の核酸配列のヌクレオチド2535~2746) 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B5のアネロウイルス (Anellovirus) ポリ(A)シグナルヌクレオチド配列 (例えば、表B5の核酸配列のヌクレオチド2953~2958) 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B5のアネロウイルス (Anellovirus) GCリッチヌクレオチド配列 (例えば、表B5の核酸配列のヌクレオチド3620~3648) 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。

【0705】

複数の実施形態では、核酸分子は、表1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1ヌクレオチド配列 (例えば、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。複数の実施形態では、核酸分子は、表1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/1ヌクレオチド配列 (例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド571~587及び/又は2

10

20

30

40

50

137～2613) 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。複数の実施形態では、核酸分子は、表1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/2ヌクレオチド配列 (例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド571～687及び/又は2339～2659) 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1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2ヌクレオチド配列 (例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド299～691) 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1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/2ヌクレオチド配列 (例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド299～687及び/又は2137～2659) 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1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/3ヌクレオチド配列 (例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド299～687及び/又は2339～2831) 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1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2t/3ヌクレオチド配列 (例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド299～348及び/又は2339～2831) 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1のアネロウイルス (Anellovirus) TATAボックスヌクレオチド配列 (例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド84～90) 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1のアネロウイルス (Anellovirus) Cap部位ヌクレオチド配列 (例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド107～114) 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1のアネロウイルス (Anellovirus) 転写開始部位ヌクレオチド配列 (例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド114) 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 (例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド177～247) 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 (例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド2325～2610) 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 (例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド2813～2818) 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1のアネロウイルス (Anellovirus) GCリッチヌクレオチド配列 (例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド3415～3570) に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%

10

20

30

40

50

、 99 %、若しくは 100 % の配列同一性を有する核酸配列を含む。

【0706】

複数の実施形態では、核酸分子は、表3のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1ヌクレオチド配列 (例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド729～2972) 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3のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 1ヌクレオチド配列 (例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド729～908及び／又は2490～2972) 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3のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 2ヌクレオチド配列 (例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド729～908及び／又は2725～3039) 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3のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2ヌクレオチド配列 (例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド412～912) 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3のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 / 2ヌクレオチド配列 (例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド412～908及び／又は2490～3039) 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3のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 / 3ヌクレオチド配列 (例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド412～908及び／又は2725～3208) 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3のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) T A T Aボックスヌクレオチド配列 (例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド112～119) 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3のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 開始要素ヌクレオチド配列 (例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド128～148) 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3のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 転写開始部位ヌクレオチド配列 (例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド148) 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3のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 5' UTR保存ドメインヌクレオチド配列 (例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド204～273) 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3のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 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 (例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド2699～2969) 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3のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列 (例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド3220～3225) に対して少なくとも約70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、若し

10

20

30

40

50

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3のアネロウイルス (Anellovirus) GCリッチヌクレオチド配列 (例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド3302~3541) 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。

【0707】

複数の実施形態では、核酸分子は、表5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1ヌクレオチド配列 (例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド599~2830) 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5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/1ヌクレオチド配列 (例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド599~715及び/又は2363~2830) 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5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/2ヌクレオチド配列 (例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド599~715及び/又は2565~2789) 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5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2ヌクレオチド配列 (例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド336~719) 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5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/2ヌクレオチド配列 (例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド336~715及び/又は2363~2789) 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5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/3ヌクレオチド配列 (例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド336~715及び/又は2565~3015) 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5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2t/3ヌクレオチド配列 (例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド336~388及び/又は2565~3015) 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5のアネロウイルス (Anellovirus) TATAボックスヌクレオチド配列 (例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド83~88) 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5のアネロウイルス (Anellovirus) Cap部位ヌクレオチド配列 (例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド104~111) 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5のアネロウイルス (Anellovirus) 転写開始部位ヌクレオチド配列 (例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド111) 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5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 (例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド170~240) に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若し

10

20

30

40

50

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5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（例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド2551～2786）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5のアネロウイルス（*Anellovirus*）ポリ（A）シグナルヌクレオチド配列（例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド3011～3016）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5のアネロウイルス（*Anellovirus*）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド3632～3753）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

【0708】

複数の実施形態では、核酸分子は、表7のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1ヌクレオチド配列（例えば、表7の核酸配列のヌクレオチド586～2928）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7のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1／1ヌクレオチド配列（例えば、表7の核酸配列のヌクレオチド586～717及び／又は2446～2928）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7のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1／2ヌクレオチド配列（例えば、表7の核酸配列のヌクレオチド586～717及び／又は2675～2902）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7のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF2ヌクレオチド配列（例えば、表7の核酸配列のヌクレオチド335～721）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7のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF2／2ヌクレオチド配列（例えば、表7の核酸配列のヌクレオチド335～717及び／又は2446～2902）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7のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF2／3ヌクレオチド配列（例えば、表7の核酸配列のヌクレオチド335～717及び／又は2675～3109）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7のアネロウイルス（*Anellovirus*）TATAボックスヌクレオチド配列（例えば、表7の核酸配列のヌクレオチド82～87）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7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（例えば、表7の核酸配列のヌクレオチド95～115）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7のアネロウイルス（*Anellovirus*）転写開始部位ヌクレオチド配列（例えば、表7の核酸配列のヌクレオチド115）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

20

30

40

50

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7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 (例えば、表7の核酸配列のヌクレオチド170~238) 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7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 (例えば、表7の核酸配列のヌクレオチド2640~2899) 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7のアネロウイルス (Anellovirus) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列 (例えば、表7の核酸配列のヌクレオチド3106~3114) 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7のアネロウイルス (Anellovirus) GCリッチヌクレオチド配列 (例えば、表7の核酸配列のヌクレオチド3768~3878) 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

【0709】

複数の実施形態では、核酸分子は、表9のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1ヌクレオチド配列 (例えば、表9の核酸配列のヌクレオチド588~2873) 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9のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/1ヌクレオチド配列 (例えば、表9の核酸配列のヌクレオチド588~722及び/又は2412~2873) 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9のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/2ヌクレオチド配列 (例えば、表9の核酸配列のヌクレオチド588~722及び/又は2638~2847) 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9のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2ヌクレオチド配列 (例えば、表9の核酸配列のヌクレオチド331~726) 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9のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/2ヌクレオチド配列 (例えば、表9の核酸配列のヌクレオチド331~722及び/又は2412~2847) 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9のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/3ヌクレオチド配列 (例えば、表9の核酸配列のヌクレオチド331~722及び/又は2638~3058) 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9のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2t/3ヌクレオチド配列 (例えば、表9の核酸配列のヌクレオチド331~380及び/又は2638~3058) 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9のアネロウイルス (Anellovirus) TATAボックスヌクレオチド配列 (例えば、表9の核酸配列のヌクレオチド82~86) に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97

20

30

40

50

%、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9のアネロウイルス（Anellovirus）開始要素ヌクレオチド配列（例えば、表9の核酸配列のヌクレオチド1100～115）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9のアネロウイルス（Anellovirus）転写開始部位ヌクレオチド配列（例えば、表9の核酸配列のヌクレオチド1115）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9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（例えば、表9の核酸配列のヌクレオチド170～240）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9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（例えば、表9の核酸配列のヌクレオチド2699～2969）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9のアネロウイルス（Anellovirus）ポリ（A）シグナルヌクレオチド配列（例えば、表9の核酸配列のヌクレオチド3230～3225）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9のアネロウイルス（Anellovirus）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表9の核酸配列のヌクレオチド3302～3541）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

【0710】

複数の実施形態では、核酸分子は、表11のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1ヌクレオチド配列（例えば、表11の核酸配列のヌクレオチド599～2839）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11のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1／1ヌクレオチド配列（例えば、表11の核酸配列のヌクレオチド599～727及び／又は2381～2839）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11のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1／2ヌクレオチド配列（例えば、表11の核酸配列のヌクレオチド599～727及び／又は2619～2813）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11のアネロウイルス（Anellovirus）ORF2ヌクレオチド配列（例えば、表11の核酸配列のヌクレオチド357～731）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11のアネロウイルス（Anellovirus）ORF2／2ヌクレオチド配列（例えば、表11の核酸配列のヌクレオチド357～727及び／又は2381～2813）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11のアネロウイルス（Anellovirus）ORF2／3ヌクレオチド配列（例えば、表11の核酸配列のヌクレオチド357～727及び／又は2619～3021）に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、9

6 %、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11のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 2 t / 3ヌクレオチド配列 (例えば、表11の核酸配列のヌクレオチド357 ~ 406及び / 又は2619 ~ 3021) 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11のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) T A T Aボックスヌクレオチド配列 (例えば、表11の核酸配列のヌクレオチド89 ~ 90) 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11のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) C a p部位ヌクレオチド配列 (例えば、表11の核酸配列のヌクレオチド107 ~ 114) 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11のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) 転写開始部位ヌクレオチド配列 (例えば、表11の核酸配列のヌクレオチド114) 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11のアネロウイルス (Ane 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 (例えば、表11の核酸配列のヌクレオチド174 ~ 244) 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11のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) 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 (例えば、表11の核酸配列のヌクレオチド2596 ~ 2810) 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11のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列 (例えば、表11の核酸配列のヌクレオチド3017 ~ 3022) 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11のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) G Cリッチヌクレオチド配列 (例えば、表11の核酸配列のヌクレオチド3691 ~ 3794) 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

【0711】

複数の実施形態では、核酸分子は、表13のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1ヌクレオチド配列 (例えば、表13の核酸配列のヌクレオチド599 ~ 2896) 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13のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 / 1ヌクレオチド配列 (例えば、表13の核酸配列のヌクレオチド599 ~ 724及び / 又は2411 ~ 2896) 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13のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 / 2ヌクレオチド配列 (例えば、表13の核酸配列のヌクレオチド599 ~ 724及び / 又は2646 ~ 2870) 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13のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 2ヌクレオチド配列 (例えば、表13の核酸配列のヌクレオチド357 ~ 728) に対して少なくとも約70 %、75 %、8

0%、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13のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/2ヌクレオチド配列 (例えば、表13の核酸配列のヌクレオチド357~724及び/又は2411~2870) 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13のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/3ヌクレオチド配列 (例えば、表13の核酸配列のヌクレオチド357~724及び/又は2646~3081) 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13のアネロウイルス (Anellovirus) TATAボックスヌクレオチド配列 (例えば、表13の核酸配列のヌクレオチド82~86) 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13のアネロウイルス (Anellovirus) 開始要素ヌクレオチド配列 (例えば、表13の核酸配列のヌクレオチド94~115) 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13のアネロウイルス (Anellovirus) 転写開始部位ヌクレオチド配列 (例えば、表13の核酸配列のヌクレオチド115) 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13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 (例えば、表13の核酸配列のヌクレオチド170~240) 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13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 (例えば、表13の核酸配列のヌクレオチド2629~2867) 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13のアネロウイルス (Anellovirus) ポリ(A)シグナルヌクレオチド配列 (例えば、表13の核酸配列のヌクレオチド3076~3086) 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13のアネロウイルス (Anellovirus) GCリッチヌクレオチド配列 (例えば、表13の核酸配列のヌクレオチド3759~3866) 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。

【0712】

複数の実施形態では、核酸分子は、表15のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1ヌクレオチド配列 (例えば、表15の核酸配列のヌクレオチド612~2612) 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15のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/1ヌクレオチド配列 (例えば、表15の核酸配列のヌクレオチド612~719及び/又は2274~2612) 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15のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/2ヌクレオチド配列 (例えば、表15の核酸配列のヌクレ

オチド 6 1 2 ~ 7 1 9 及び / 又は 2 4 4 9 ~ 2 5 8 9) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 1 5 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 1 5 の核酸配列のヌクレオチド 4 2 4 ~ 7 2 3) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 1 5 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 / 2 ヌクレオチド配列 (例えば、表 1 5 の核酸配列のヌクレオチド 4 2 4 ~ 7 1 9 及び / 又は 2 2 7 4 ~ 2 5 8 9) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 1 5 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 / 3 ヌクレオチド配列 (例えば、表 1 5 の核酸配列のヌクレオチド 4 2 4 ~ 7 1 9 及び / 又は 2 4 4 9 ~ 2 8 1 2) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 1 5 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) T A T A ボックスヌクレオチド配列 (例えば、表 1 5 の核酸配列のヌクレオチド 2 3 7 ~ 2 4 3) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 1 5 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) C a p 部位ヌクレオチド配列 (例えば、表 1 5 の核酸配列のヌクレオチド 2 6 0 ~ 2 6 7) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 1 5 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 転写開始部位ヌクレオチド配列 (例えば、表 1 5 の核酸配列のヌクレオチド 2 6 7) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 1 5 のアネロウイルス (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 (例えば、表 1 5 の核酸配列のヌクレオチド 3 2 3 ~ 3 9 3) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 1 5 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 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 (例えば、表 1 5 の核酸配列のヌクレオチド 2 4 4 1 ~ 2 5 8 6) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 1 5 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) ポリ (A) シグナルヌクレオチド配列 (例えば、表 1 5 の核酸配列のヌクレオチド 2 8 0 8 ~ 2 8 1 3) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 1 5 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) G C リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 1 5 の核酸配列のヌクレオチド 2 8 6 8 ~ 2 9 2 9) 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核酸配列を含む。

【 0 7 1 3 】

複数の実施形態では、核酸分子は、表 1 7 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 ヌクレオチド配列 (例えば、表 1 7 の核酸配列のヌクレオチド 4 3 2 ~ 2 4 5 3) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表 1 7 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F

10

20

30

40

50

1 / 1ヌクレオチド配列（例えば、表17の核酸配列のヌクレオチド432～584及び／又は1977～2453）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17のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1 / 2ヌクレオチド配列（例えば、表17の核酸配列のヌクレオチド432～584及び／又は2197～2388）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17のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF2ヌクレオチド配列（例えば、表17の核酸配列のヌクレオチド283～588）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17のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF2 / 2ヌクレオチド配列（例えば、表17の核酸配列のヌクレオチド283～584及び／又は1977～2388）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17のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF2 / 3ヌクレオチド配列（例えば、表17の核酸配列のヌクレオチド283～584及び／又は2197～2614）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17のアネロウイルス（*Anellovirus*）TATAボックスヌクレオチド配列（例えば、表17の核酸配列のヌクレオチド21～25）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17のアネロウイルス（*Anellovirus*）Cap部位ヌクレオチド配列（例えば、表17の核酸配列のヌクレオチド42～49）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17のアネロウイルス（*Anellovirus*）転写開始部位ヌクレオチド配列（例えば、表17の核酸配列のヌクレオチド49）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17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（例えば、表17の核酸配列のヌクレオチド117～187）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17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（例えば、表17の核酸配列のヌクレオチド2186～2385）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17のアネロウイルス（*Anellovirus*）ポリ（A）シグナルヌクレオチド配列（例えば、表17の核酸配列のヌクレオチド2676～2681）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17のアネロウイルス（*Anellovirus*）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表17の核酸配列のヌクレオチド3054～3172）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。

【0714】

20

30

40

50

複数の実施形態では、核酸分子は、表 A 6 のアネロウイルス (Anellovirus)

20

50

20

30

40

50

【 0 7 2 0 】

10

20

30

【 0 7 2 1 】

40

50

複数の実施形態では、核酸分子は、表C2のアネロウイルス（Anellovirus）ORF2／2アミノ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アミノ酸配列をコード化する核酸配列を含む。複数の実施形態では、核酸分子は、表C2のアネロウイルス（Anellovirus）ORF2／3アミノ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アミノ酸配列をコード化する核酸配列を含む。

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

【 0 7 3 4 】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 1 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 2 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 / 2 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 / 3 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。一部の実施形態では、ORF 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表 A 1 の核酸配列のヌクレオチド 574 ~ 2775 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表 A 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセッシングされた (例えば、タンパク質分解プロセッシングされた) 変異体を含む。

10

20

30

【0735】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 4 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 4 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 1 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 4 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 2 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 4 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 4 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 / 2 アミノ酸配列に対して少なくとも約 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、

40

50

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タンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表A4のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/3アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表A3の核酸配列のヌクレオチド599~2887のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表A4のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセッシングされた (例えば、タンパク質分解プロセッシングされた) 変異体を含む。

10

20

30

40

50

【0736】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表A6のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表A6のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/1アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表A6のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/2アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表A6のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表A6のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/2アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表A6のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/3アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表A6のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2t/3アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表A5の核酸配列のヌクレオチド556~2904のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表A6のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセッシングされた (例えば、タンパク質分解プロセッシングされた) 変異体を含む。

【0737】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表A8のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表A8のアネロウイルス (Anellovirus) ORF

1 / 1 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 8 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 2 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 8 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 8 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 2 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 8 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 3 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 8 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 t / 3 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。一部の実施形態では、ORF 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表 A 7 の核酸配列のヌクレオチド 589 ~ 2889 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表 A 8 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセッシングされた (例えば、タンパク質分解プロセッシングされた) 変異体を含む。

10

20

【0738】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 10 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 10 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 1 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 10 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 2 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 10 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 10 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 2 アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 10 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 3 アミノ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アミノ酸配列を含

30

40

50

むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 1 0 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 t / 3 アミノ酸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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。一部の実施形態では、O R F 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表 A 9 の核酸配列のヌクレオチド 5 1 1 ~ 2 7 9 3 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、O R F 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表 A 1 0 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセシングされた (例えば、タンパク質分解プロセシングされた) 変異体を含む。

10

【0739】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 1 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 アミノ酸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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 1 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 1 アミノ酸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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 1 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 2 アミノ酸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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 1 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 アミノ酸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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 1 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 / 2 アミノ酸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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 1 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 / 3 アミノ酸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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 A 1 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 t / 3 アミノ酸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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。一部の実施形態では、O R F 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表 A 1 1 の核酸配列のヌクレオチド 7 0 4 ~ 3 0 0 1 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、O R F 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表 A 1 2 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセシングされた (例えば、タンパク質分解プロセシングされた) 変異体を含む。

20

30

40

【0740】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 C 1 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 アミノ酸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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 C 1 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 1 アミノ酸配列に対して少なくとも約 7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9

50

5 %、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有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 / 2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2 / 2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2 / 3アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2 t / 3アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) TAIPアミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表B1の核酸配列のヌクレオチド512 ~ 2545のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表C1のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセッシングされた (例えば、タンパク質分解プロセッシングされた) 変異体を含む。

10

20

30

40

50

【0741】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C2のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C2のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 / 1アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C2のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 / 2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C2のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C2のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2 / 2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のア

ネロソームは、表 C 2 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 3 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 C 2 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 t / 3 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 C 2 のアネロウイルス (Anellovirus) T A I P アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、ORF 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 501 ~ 2489 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表 C 2 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセッシングされた (例えば、タンパク質分解プロセッシングされた) 変異体を含む。

10

【0742】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 C 3 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 C 3 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 1 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 C 3 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 C 3 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 C 3 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 C 3 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 3 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 C 3 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 t / 3 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表 C 3 のアネロウイルス (Anellovirus) T A I P アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、ORF 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 572 ~ 2758 のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 核酸配列によりコー

20

30

40

50

ド化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF 1分子（例えば、アネロソーム内に含まれる）は、表C 3のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセッシングされた（例えば、タンパク質分解プロセッシングされた）変異体を含む。

【0743】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C 4のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C 4のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 / 1アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C 4のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 / 2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C 4のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C 4のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 2 / 2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C 4のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 2 / 3アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C 4のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 2 t / 3アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、ORF 1分子（例えば、アネロソーム内に含まれる）は、表B 4の核酸配列のヌクレオチド581～2884のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF 1分子（例えば、アネロソーム内に含まれる）は、表C 4のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセッシングされた（例えば、タンパク質分解プロセッシングされた）変異体を含む。

【0744】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C 5のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C 5のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 / 1アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソーム

は、表C5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1／2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2／2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2／3アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表C5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2t／3アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表B5の核酸配列のヌクレオチド614～2911のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表C5のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセッシングされた (例えば、タンパク質分解プロセッシングされた) 変異体を含む。

10

20

【0745】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表2のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表2のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1／1アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表2のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1／2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表2のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表2のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2／2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表2のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2／3アミノ酸配列に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、9

30

40

50

8 %、99 %、若しくは100 %の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表2のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 2 t / 3 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、O R F 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表1の核酸配列のヌクレオチド571～2613のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、O R F 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表2のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセッシングされた (例えば、タンパク質分解プロセッシングされた) 変異体を含む。

10

【0746】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表4のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表4のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 / 1 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表4のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 / 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表4のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表4のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 2 / 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表4のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 2 / 3 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、O R F 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表3の核酸配列のヌクレオチド729～2972のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、O R F 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表4のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセッシングされた (例えば、タンパク質分解プロセッシングされた) 変異体を含む。

20

30

40

【0747】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表6のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表6のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 / 1 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表6のアネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 / 2 アミノ酸配列に対して少

50

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有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表6のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表6のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表6のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/3アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表5の核酸配列のヌクレオチド599~2830のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表6のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセッシングされた (例えば、タンパク質分解プロセッシングされた) 変異体を含む。

10

20

【0748】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表8のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表8のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/1アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表8のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表8のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表8のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表8のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/3アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表7の核酸配列のヌクレオチド586~2928のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表8のアネロウイルス (An

30

40

50

e l l o v i r u s) O R F 1 タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセシングされた (例えば、タンパク質分解プロセシングされた) 変異体を含む。

【0749】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表10のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表10のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 1 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表10のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表10のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表10のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 / 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表10のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 / 3 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表10のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 t / 3 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、O R F 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表9の核酸配列のヌクレオチド588~2873のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、O R F 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表10のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセシングされた (例えば、タンパク質分解プロセシングされた) 変異体を含む。

【0750】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表12のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表12のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 1 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表12のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1 / 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表12のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 2 アミノ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1

00%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表12のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/2アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表12のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/3アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表12のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2t/3アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表11の核酸配列のヌクレオチド599~2839のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表12のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセシングされた (例えば、タンパク質分解プロセシングされた) 変異体を含む。

10

【0751】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表14のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表14のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/1アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表14のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1/2アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表14のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表14のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/2アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表14のアネロウイルス (Anellovirus) ORF2/3アミノ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アミノ酸配列を含むタンパク質を含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表13の核酸配列のヌクレオチド599~2896のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF1分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表14のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセシングされた (例えば、タンパク質分解プロセシングされた) 変異体を含む。

20

30

40

【0752】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表16のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1アミノ酸配列に対して少なくとも約70%、75%、80

50

%、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有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表16のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 1 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表16のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表16のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表16のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表16のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 3 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。一部の実施形態では、ORF 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表15の核酸配列のヌクレオチド612~2612のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF 1 分子 (例えば、アネロソーム内に含まれる) は、表16のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセッシングされた (例えば、タンパク質分解プロセッシングされた) 変異体を含む。

10

20

【0753】

複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表18のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表18のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 1 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表18のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 1 / 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表18のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表18のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 2 アミノ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アミノ酸配列を有するタンパク質を含む。複数の実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、表18のアネロウイルス (Anellovirus) ORF 2 / 3 アミノ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アミノ酸配列を有す

30

40

50

るタンパク質を含む。一部の実施形態では、ORF 1 分子（例えば、アネロソーム内に含まれる）は、表 17 の核酸配列のヌクレオチド 432～2453 のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 核酸配列によりコード化されるポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ORF 1 分子（例えば、アネロソーム内に含まれる）は、表 18 のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 タンパク質又はそのスプライス変異体若しくは翻訳後プロセッシングされた（例えば、タンパク質分解プロセッシングされた）変異体を含む。

【0754】

一部の実施形態では、本明細書に記載のポリペプチドは、本明細書に記載のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 アミノ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、本明細書に記載のポリペプチドは、表 2 のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 アミノ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、本明細書に記載のポリペプチドは、表 4 のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 アミノ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、本明細書に記載のポリペプチドは、表 6 のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 アミノ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、本明細書に記載のポリペプチドは、表 8 のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 アミノ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、本明細書に記載のポリペプチドは、表 10 のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 アミノ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、本明細書に記載のポリペプチドは、表 12 のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 アミノ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、本明細書に記載のポリペプチドは、表 14 のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 アミノ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、本明細書に記載のポリペプチドは、表 16 のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 アミノ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、本明細書に記載のポリペプチドは、表 18 のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 アミノ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、本明細書に記載のポリペプチドは、表 A2 のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 アミノ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、本明細書に記載のポリペプチドは、表 A4 のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1 アミノ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、本明細書に記載のポリペプチド

10

20

30

40

50

30

50

50

9 %、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、本明細書に記載のポリペプチドは、表B3に挙げるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 核酸によりコード化されるORF1 分子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、本明細書に記載のポリペプチドは、表B4に挙げるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 核酸によりコード化されるORF1 分子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、本明細書に記載のポリペプチドは、表B5に挙げるアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 核酸によりコード化されるORF1 分子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。

10

【0756】

一部の実施形態では、ポリペプチドは、表2、4、6、8、10、12、14、16、若しくは18のいずれかに示されるアミノ酸配列（例えば、ORF1、ORF1 / 1、ORF1 / 2、ORF2、ORF2 / 2、ORF2 / 3、若しくはORF2 t / 3 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。

20

【0757】

【表1】

表A1. 新たなアネロウイルス(Anellovirus)核酸配列(アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus))

名称	TTV-RTx1
属/クレード	アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus), クレード 6
アクセッション番号	SRR2167793

全配列: 3648 bp

30

```

1           10           20           30           40           50
|           |           |           |           |
CGTCACTAACCACGTGACTCCCACAGGCCAACACAGTGTAACGTGATTCA
CTTCCTGGGAGTGGTTTACATTATAATATAAGCAACTGCACTTCCGAATG
GCTGAGTTTTTCCACGCGCGTCCGCGAGCGAGAACACACGAGGGGAGTCC
GCGCGTCCCGTGGGCGGGTGCCGAAGGTGAGTTTACACACCGCAGTCAAG
GGGCAATTTCGGGCACGGGACTGGCCGGGCTATGGGCAAGGCTCTTAAAAA
GCTATGTTTTCTTGGTAGGCCGTACCGAAAGAAAAGGAACTGCTACTGCT

```

【0758】

40

50

【表 2】

ACCACTGCATTCTACACCGAAAACTAGCCGGGTTATGAGCTGGTCTAGGC
 CTGTACATAAATGCCACAGGCATTGAAAAGAACTGGTGGGAGTCTGTCTT
 AGATCCCACGCAAGTTCTTGTGGCTGCGGTAATTTTGTAAATCATATTAA
 TGTACTGGCTAATCGGTATGGCTTTTGTGGTTCCACGGAGACGCCGGGTA
 ATCTCGGCCCAGGCCCGGTACTGAGCTCCACCACCAGCACTCTCTACC
 GATCAATCCAGACCAGCTCTACCATGGCATGGGGAATCTGGTGGAGAAGG
 CGTTCTGGAGACCCCGCAGGAGATGGAGAACGTGGCGCCGAGAAGGAG
 ACTACGGCCCAGAAGATCTAGACGCATTTTCGACGCACTCGACGAAGAG
 TAAGGAGCGGACGGTGGGGGAGGCGTGCACGCAGGCGGGGATGGCGACGC
 AGGACTTATATTAGAGCCAGGCGACGCAGGAGACGAAAAAGACTTGTACT
 GACTCAGTGGCATCCCGCAGTTAGAAGAAAATGTAAAAATTACAGGCTACA
 TGCCTATAGTATACTGTGGACATGGCAGAGCTAGTTTTAACTATGCCTGG
 CACTCTGATGACTGTATAAAAACAACCACTACCCTTGGAGGCTCACTATC
 TACAGTGTCTTCAACCTAAAAGTACTATTTGACGAAAACCAAGAGGAC
 TAAACAAATGGAGCTACCCAAATGACCAACTAGACCTCGCCAGATACAAA
 GGTGTAGACTAACATTTTACAGAAAAAAAACACAGACTACATAGCTCA
 ATATGACATATCAGAACCTTATCAACTAGACAAATATAGCTGTGCAACT
 ATCACCCCTCAAAAATGATGTTTGCAAAAAACAAAATTTTAACTCCTAGC
 TATGATACAAAACCTAGAGGCAGACAAAGAGTTAGAGTTAGAATAGGGCC
 CCTAAACTATTTACAGACAAGTGGTACAGTCAATCAGACTTATGCAAGG
 TAAACCTTGTGTCACTTGGGTTTTCTGCGGCTTCTTTCTCCACCCATT
 GGCTCACCACAACTGCCAACTTTTGTGCAACCTTCCAGGTGCTGCAACC
 GTTCTACTACCAGGCTATAGGCATTAGTTCTACAAAACACTCAGAAGTTA
 TAGACATTTTATATAAGAAAAATACATACTGGCAAAGCAACATTAACCTC
 TGGTTTTTAACTAATGTTAAAAACCCAAAAATATGTCCACAAAAATGTT
 TGAGGACATTAATGTTAAATCAAACAAAGACAGTAATTATGACTGGTTTC
 CATTTACCCCATACACTACAGAAAACCTATTCAAAAATTCAAAATGCAGCT
 CAAGAATACTGGAAATATTTAACTAGTGACCACCCACAAGCTACTAATAG
 CAATGAAGGCTTAGTACAACCATGGACTAATGCCACTATAAAAACAATATG
 AATACCACCTCGGTATGTTTAGTCTTATTTATAGGACCTACCAGAGCT
 AAAACTAAATTTAAAAACAGCATACTTTGACTGCACCTATAACCCACTACT
 AGACAAAGGAATGGGAAACAGAATATGGTATCAATACGCAACCAAAGCTG
 ACACACAAATATCAAAAACAGGGTGTACTGCATGTTAGAAGACATTCCA
 ATATATGCAGCATTTTATGGATACGTAGACTTTATAGAAATGGAAATAGG
 TAAAGGACAAGACATTAAAGAGAACGACTTATTGTGCTATGTAGAT
 ACACAGACCCCCCAATGTACAATGAACAACATCCAGACATGGGATTTGTA
 TTTTATAACACTAACTTTGAAATGGAAATGGATAGATGGACGGGGCGA
 CATACCTACTTACTGGATGCAAGATGGAGACCTGTGTATTATTTCAAA
 CTGATGTTATTAGAGACTTAGTAGAACTGGACCTTTTAGTTACAAAGAT
 GACCTAGCAAAATACCTCACTGACTATGAAATATGAATTCATTTTACCTG
 GGGCGGAAACAGGCGTACCACCAGACAATCAAAAACCTTGTAAAGACG
 AAGGTACCGGACCCCATAGACAGCCTAGAGACGTACAAGTTACGGACCCG
 ACAACCGTGGGACCTGAATATGTGTTCCACGCGTGGGACTGGAGACGGGG
 CTTCCTTAGCGAGCGAGCTCTCAGACGCATGTTCCGAAAAACCTCTCAACT
 ATGATGAGTATTCTAAAAAACCAAAAAGACCTAGAATAATTCTCTCAACA
 GAAACAGAGTCCCGAAACCAAGAGCTCGAAGAAAGCTCGCTTTCAGAGGA
 AGAAAAGTGCCTACTCTCCACAGAAGAGATCCAGAAAAGAGGAGATACAGC
 GACAGTTCAAGCGACAGCTCAAGCGACAGCTGCGCCTCGGGCAGCAGCTC
 AAACCTCTCCAACAACACTCCTCAAGACGCAAGCGGGCCTGCACCTAAA
 CCCCTTTTCATATTTCCCGCAATAAATAAAGTGTACCTGTTCCAGACAG
 AGTCCCAAAACCTAAACCCACCTCTGGAGACTGGGAAACAGAGTATGCAG
 CTTCAGTGCCTTTACAGACCCGCTAGAACCAACCTTAGCTCACCCCTT
 TACTACCCAGGAGTACCTACTCCTGGCAAGTAAATTCAGCCTTAAATT
 TCAATAAAGTGCATTTTACTACAGCTGGGCCGTGGGAATTTCACTTGT
 GGTGTCTACCTCTTAAGGTCACCTAAGCACTCCGAGCGCAGCGAGGAGTGC
 GACCTTAACCTGGGTCAACGCCTTCGGAGCCGCGCGCTACGCCTTCGG
 CTGCGCGCGGCACCTCAGACCCCGCTCGTGCTGACGCGCTTGGCGCGCT

10

20

30

40

【 0 7 5 9 】

【表 3】

CAGACCACTTCGGGCTCGCGGGGGTCGGGAACCTTTGCTAACAGACTCCGA
 GGTGCCATTGGACACAGAGTGGGCGTTCAGCAACGAAAGTGAGTGGGGCC
 AGACTTCGCCATAAGGCCTTTATCTTCTTGCCATTTGTCAGTATAAGGGG
 TTGCCATAGGCTTCGGCCTCAATTTTAGGCCTTCGGGACTACCAAAATGG
 CCGATTTAGTGACGTCACGGCGGCCATTTTAAGTAAGGCGGAAGTAATC
 CACTATTTACAAAATGGCGGCGGAGCACTTCGGGCTTGCCAAAATGGCG
 GCAAAAAACATCCGGGTCAAAGGTCGTTACCACGTCACAAGTCACGTGGG
 AGGGTGGTGCTGTAAACCCGGAAGCAATCCTCTCACGTGGCTAGTCACGT
 GACTAACACGTCACACCCGCCATTTTGTTTTACAAAATGGCCGACTTCCT
 TCCGCTTTTTTAAAAATAACGGCTCAGCGGCGGCGCGCGCTACGCG
 (配列番号830)

10

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

TATAボックス

77 – 81

イニシエータエレメント

95-110

転写開始部位

105

5' UTR 保存ドメイン

165 - 235

20

ORF2

335 - 703

ORF2/2

335 – 699 ; 2326 – 2759

ORF2/3

335 – 699 ; 2552 – 2957

ORF2t/3

335-465 ; 2552 - 2957

ORF1

574 – 2775

ORF1/1

574 – 699 ; 2326 – 2775

ORF1/2

574 – 699 ; 2552 – 2759

3オープンリーディングフレーム領域

2535 – 2746

30

ポリ(A)シグナル

2953 - 2958

GCリッチ領域**

3620 – 3648

【 0 7 6 0 】

40

50

【表 4】

表 A2. 新たなアネロウイルス(*Anellovirus*) アミノ酸配列 (アルファトルクウイルス(*Alphatorquevirus*), クレード 6)

TTV-RTx1 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 6)	
ORF2	MSWSRPVHNATGIERNWWESCLRSHASSCGCGNFVNHINVLANRYGFAGST ETPGNPRPRPPVLSSTTSTPTDQSRPALPWHGDTGGEGASGDPAGDGERGAA EGDYGPEDLDALFDALDEE (配列番号 831)
ORF2/2	MSWSRPVHNATGIERNWWESCLRSHASSCGCGNFVNHINVLANRYGFAGST ETPGNPRPRPPVLSSTTSTPTDQSRPALPWHGDTGGEGASGDPAGDGERGAA EGDYGPEDLDALFDALDEEQSKTLVKTKVPDPIDSLETYKLRTRQPWDLNM CSTRGTGDGASLASELSDACSKNLSTMMSILKNQKDLEYFLQQKQSPETKSS KKARFQRKKSRYSPPQKRSRKRRYSDSSSDSSSDSCASGSSSNSSNNNSSRRKR ACT (配列番号 832)
ORF2/3	MSWSRPVHNATGIERNWWESCLRSHASSCGCGNFVNHINVLANRYGFAGST ETPGNPRPRPPVLSSTTSTPTDQSRPALPWHGDTGGEGASGDPAGDGERGAA EGDYGPEDLDALFDALDEENRVPKPRARRKLAFRGRKVATLHRRDPERGDT ATVQATAQATAAPRAAAQTPPTTTPQDASGPAPKPPFIFPAINKVYLFPPDRAP KPKPTSGDWETEYAACSAFDRPARTNLSSPPYYPGVPTPWQVKFSLKFQ (配列番号 833)

【 0 7 6 1 】

【表 5】

ORF2t/3	MSWSRPVHNATGIERNWWESCLRSHASSCGGNFVNHNVLANRNRVPKPR ARRKLAFRGRKVATLHRRDPERGDTATVQATAQATAAPRAAAQTPPTTTPQ DASGPAPKPPFIFPAINKVYLFPDRAPKPKPTSGDWETEYAACSAFDRPARTN LSSPPYYPGVPTPWQVKFSLKFQ (配列番号 834)
ORF1	MAWGYWRRRFWRPRRRWRTWRRRRRLRPRRSRRTFRRTRRRVRRRRW GRRARRRGWRRRTYIRARRRRRRKRLVLTQWHPAVRRKCKITGYMPIVYC GHGRASFNYAWHSDDCIKQPLPFGGSLSTVSFNLKVLFDENQRGLNKWSYP NDQLDLARYKGCRLTFYRKKNTDYIAQYDISEPYQLDKYSCANYHPSKMMF AKNKILIPSYDTKPRGRQVRVRIGPPKLFTDKWYSQSDLCKVNLVSLAVSA ASFLHPFGSPQTANFCATFQVLQPFYYQAIGISSTKHSEVIDILYKKNYQWS NITSWFLTNNVKNPKNMSTKMFEDINVKSNKDSNYDWFPFTPYTTENYSKIQN AAQEYWKYLTSDHPQATNSNEGLVQPWTNATIKQYEHLMFSPIFIGPTR AKTKFKTAYFDCTYNPLLDKGMGNRIWYQYATKADTQISKTCYCMLEDIP IYAAFYGYVDFIEMEIGKGQDIKENGLICCRYTDPPMYNEQHPDMGFVY NTNFGNGKWIDGRGDIPTYWMQRWRPVVLFQTDVIRDLVETGPFYSKDDL ANTSLTMKYEFYFTWGGNQAYHQTIKNPCKDEGTGPHRQPRDVQVTDPTT VGPEYVFHAWDWRRGFLSERALRRMFEEKPLNYDEYSKKPKRPRIFPPTETES RNQELEEESLSEEEKSLLSTEEIQKEEIQRQFKRQLKRQLRLGQQLKLLQQQL LKTQAGLHLNPLSYFPQ (配列番号 835)
ORF1/1	MAWGYWRRRFWRPRRRWRTWRRRRRLRPRRSRRTFRRTRRRTIKNPCK DEGTGPHRQPRDVQVTDPTTVGPEYVFHAWDWRRGFLSERALRRMFEEKPL NYDEYSKKPKRPRIFPPTETESRNQELEEESLSEEEKSLLSTEEIQKEEIQRQFK RQLKRQLRLGQQLKLLQQQLLKTQAGLHLNPLSYFPQ (配列番号 836)
ORF1/2	MAWGYWRRRFWRPRRRWRTWRRRRRLRPRRSRRTFRRTRRRKQSPETK SSKKARFQRKKSRYSPQKRSRKRRYSDDSSDSSSDSCASGSSSNSSNNSSRR KRACT (配列番号 837)

【0762】

10

20

30

40

50

【表 6】

表A3. 新たなアネロウイルス(*Anellovirus*)核酸配列(*アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus)*)

名称	TTV-RTx2
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>), クレード 6
アクセッション番号	SRR3479021

全配列: 3704 bp

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
CCCCGAAGTCCGTCACAAACCACGTGACTCCACAGGCCAATCAGATGCT
ATGTCGTGCACTTCCTGGGCTGTGTCTACGTCCCTCATAAAGTAACTGCA
CTTCCGAATGGCTGAGTTTTCCACGCCCGTCCGCAGCGGCAGCACCCAGG
AGGGTGATCCCCCGCTCCCGTGGGCGGGTGCCCGACGTCAGTTTACACAC
CGCACTCAAGGGGCAATTCGGGCACGGGACTGGCCGGGCTATGGCCAAGG
CTCTTAAAAAGCTATGTTCTTCGGTAGGTGCTGGAGAAAAGAAAAGGAAAG
TGCTTCTGCAAGATCTGTCAACTCCACCGAAAAAACCTGCTATGAGTGTG
TGGCTTCCTCCCATAGACAATGTTACCGAGCGTGAGAGGAGCTGGCTCTC
TAGCATTCTTCAGTCTCACAGAGCTTTTTGTGGGTGCCATGATGCTATCT
ATCATCTTAGCAGTCTGGCTGCTCGCTTTAATATGCAACCAGGGCCGTCG
CCGGGTGGTGATTCTAGGCCGCCGCGACCGCCACTAAGACGCCTGCCCGC
GCTCCCGGGTCCCAGAGACCCCCCTAGCGACACCAACAACCGCAGGTCAI
GGCCTACTGGGGATGGTGGAGACGGAGGCGCTGGCCAAGGCGCAGGTGGA
GGCGCTACCGCTACCGAAGAAGACTACCGCGCCGAAGACCTAGACGAGCT
GTACGCCGCCCTCGAAGGAGACGAGTAAGGAGGCGCCGCGGTAGGGGGTG
GTACAGAGGGCGACGCTACTCCCGCAGACGGTACAGACGTAGATATGTGA
GGCGAAAGAGAAAAGACTCTAGTTTGGAGACAGTGGCAGCCTCAAAATATC
AGAAAATGCAGGATCAGGGGCATAATTCCCATCCTGATATGCGGACACGG
GAGGGGGGCCAGAAACTATGCGCTCCACAGCGACGACAATAACCCCCAGA
ACACCCCTTCGGGGGAGGACTGAGCACACCTCCTGGAGCCTAAAACCTG
CTATATGACCAGCACACCAGGGGACTCAACAGGTGGTCTGCCAGTAACGA
GAGCCTAGACCTTGCCAGATACAATGGCTGTAGTTTCACTTTCTACAGAG
ACAAAAAGACTGACTTTATAGTGACCTATGACACCTCTGCTCCCTACAAA
CTAGACAAATACAGCTCCCCCAGCTACCACCCAGGGTCCATGATGCTCAT
GACAAAACACAAAATCCTGATCCCCAGTTTTTGACACAAAACCCAAAGGTC
CTGCCAAAATTAGAGTCAGAATCAAGCCCCCAAAATGTTCTTAGATAAA
TGGTACACTCAAGACGACCTCTGTTCCGTTAATCTTGTGTCACTTGGCGT
TAGCGCAGCTTCCTTTACACATCCGTTCTGCCACCACTAACTGACACTC
CTTGTGTAACGCTGCAGGTGTTGAAAGACTTCTACTACACAACCATAGGC
TACTCCTCTAATGCAGACAAAGTAGAGTCTGTATTCACTAACACTCTCTA
CAAACACTGCTGCTACTATCAGTCCTTTCTCACCCTCAATTTATAGCCA
AAATCACTCGCACACCAGATGGACAACCACTAGCCACATCTCTCCTCCT

```

【0763】

【表 7】

ACCTCTTTCCCTGGCACAACCTGTAACAAAAAGTTCCATAGAATCATTTAA
 CCAATGGGTAACCTCCACAGGTACAAGTGGCTGGCTAACAAATGCAAAACC
 AACACTTTTCATTTCTGTAACTATAAACAGATGCCACAAAGCTAAAAATGG
 CTCAGACAGTACTACTTTGACTGGGAAACATACAAATTAGCAGATGTAAA
 GCCAGACGGCCTTACACCCCTCAGTAACTGGTATGAGTACAGAATAGGCC
 TCTTTAGTCCTATTTTCTGTAGCCCCCTTCAGATCTAGCAGTCTAGACTTT
 CCCAGAGCCTACCAGGATGTGAACATAACCCCTGGTAGACAAAGGAGT
 GGGCAACATCATATGGTTCCAATACAACACAAAACCAGACACACAGCTGT
 CAGTACCCAGCTGCAAGTGTGTATAGAAGACAAACCCCTATGGGCAGCC
 TTCTATGGCTACAGTGAATTTGTACAACAAGAGATAGGAGACTACACAGA
 CGCAGAGGCCGTGGGCTTCGTCTGTGTCTCTGTCCATACACAAACCCCT
 CTCATAAAAAACCCAGACAACCCCTATGCAAGGGTTTCATATCTATGACAGC
 CTTTTCGGCAATGGCAAGTGGATAGATGGCACGGGGCACGTCCCCCTTTA
 CTGGCAGAGCAGGTGGAGGCCAGAGATGCTCTTCCAAGAAAACACCATGA
 GAGACATCACACTATCTGGGCCCTTCAGCTACAAGGACGACTATAAGAAC
 TGTGTACTGACTTGCAATACAAATTTAACTTTTCGATTGGGGGCAATCT
 TCTCCACGAACAGACGATCAGAAACCCATGCCCCACGGACGGACATCCCA
 GTACCGGTAGACAGCCTAGAGACGTACAAGTGGTTGACCCGATCAAAGTG
 GGCCCCGGTTCGTGTCCACTCCTGGGACTGGCGCAGAGGCTACCTTAG
 CCCAGCAGCTCTCAAAGAATTGGAGAGCAACCGCTCGATTATGAAGCTT
 ATTCGTACCGCCCAAAGAGACCTAGAAATCTTCTCCACAGAAGGAGAC
 CAGCTCGCCCGAAGTCGAGAAGAAAGACTCATTTTCAGAGGAAGAAAGTCC
 CCAATATCTCGTTTGAAGAGGGGCAGGAACCGAAAGCCAGGCGGTACAGC
 AGCACCTCCTCCGACACCTCAGAAAGCAGCGAGAAGTCCGAAAGCGACTC
 CGAGCCCTGTTCCAAAGCCTCCAAAGACGCGAGGCGGGCTCCACGTAAA
 TCCATTATTATTCAACCAGCCTGCAATCAGGTTCTGATGTTCACAGAGAT
 GGGGCCTAAGCCAGCTCCCACTGCCCAAGACTGGCAGTGCGAATACGAGA
 CATGTAAGCACTGGGATAGACCCCCAGAAAGTTTCTACAGACCCCCCT
 TTCTATCCCTGGGCCCCCTACTACTTACAATGTATCTTTCAAGCTAAACTT
 CAAATAAACTAGGCCGTGGGAGTCTCACTTGTCTGGTGTCTACCTCTTAAG
 GTCATAAGCACTCCGAGCGTCAGCGAGGAGTGGCACCCTTCCCCCTGGT
 GCAACGCCCCCTCGCGGGCCGCGCGCTACGCCCTTCGGCTGCGCGCGGCACCT
 CGGACCCCCGCTCCTGCTGACCGGCTCGCGCGGCTCAGACCACTTCGGGC
 TCGCGGGGGTTCGGAAATTTGCTAAACAGACTCCGAGTTGCCATTGGACA
 CAGGAGCTGTGAATCAGTAACGAAAGTGAGTGGGGCCAGACTTCGCCATA
 AGGCCCTTATCTTCTTCCATTGTCTCGTGAGGAGGGGTCCGCAAGACGC
 GGACCCCGTTTTTCGGACCTTCCGAATACCAAAATGGCCGATTCAAGTGAC
 GTCACGGCAGCCATTTTGTGTAAGCACCGCCAGGACAGACGTACAGTT
 CAAAGGTCATCCTCGAGCGGAATTAACAGAAAATGGCGGTCAATTGCTTC
 CGGGTCAAAGGTCACGCCCTACGTCATAAGTCACGTGGTGGAGGCTACTGC
 GCATACACGGAAGTAGGCCCGCCACGTGACCGACACGTGGGTGCTGCG
 TCACGGCCGCCATTTTGTATCACAAAATGGCCGACTTCCTTCTCTTTT
 CAAA (配列番号838)

10

20

30

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

TATAボックス

87 - 91

イニシエータエレメント

105-120

転写開始部位

115

5' UTR 保存ドメイン

175 - 245

40

【 0 7 6 4 】

【表 8】

ORF2	342 - 728
ORF2/2	342 - 724 ; 2414 - 2849
ORF2/3	342 - 724 ; 2643 - 3057
ORF1	599 - 2887
ORF1/1	599 - 724 ; 2414 - 2887
ORF1/2	599 - 724 ; 2643 - 2849
3オープンリーディングフレーム領域	2626 - 2846
ポリ(A)シグナル	3052 - 3058

10

【 0 7 6 5 】

【表 9】

表 A4. 新たなアネロウイルス(*Anellovirus*) アミノ酸配列(アルファトルクウイルス(*Alphatorquevirus*), クレード 6)

TTV-RTx2 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 6)	
ORF2	MSVWLPPIDNVTERERSWLSSILQSHRAFCGCHDAIYHLSSLAARFNMQPGPSP GGDSRPPRPPLRRLPALPGPRDPPSDTNNRRSWPTGDGGDGGAGQGAGGGATA TEEDYRAEDLDEL YAALEGDE (配列番号 839)
ORF2/2	MSVWLPPIDNVTERERSWLSSILQSHRAFCGCHDAIYHLSSLAARFNMQPGPSP GGDSRPPRPPLRRLPALPGPRDPPSDTNNRRSWPTGDGGDGGAGQGAGGGATA TEEDYRAEDLDEL YAALEGDERSETHAPRTDIPVPVDSLETYKWLTRSKWAPG SCSTPGTGAEATLAQQLSKELESNRSIMKLIRTAQRDLESFLPQKETSSPEVEKK THFQRKKVPISRSKRGRNRKPRRYSSTSSDTSESENSESDSEPCSKASKRRRRVS T (配列番号 840)
ORF2/3	MSVWLPPIDNVTERERSWLSSILQSHRAFCGCHDAIYHLSSLAARFNMQPGPSP GGDSRPPRPPLRRLPALPGPRDPPSDTNNRRSWPTGDGGDGGAGQGAGGGATA TEEDYRAEDLDEL YAALEGDERPARPKSRRRLIFRGRKSPYLVRRGAGTESPG GTAAPPPTPQKAARTPKATPSVPKPPKDAGGSPRKSIIIQACNQVLMFPEMGP KPAPTAQDWQCEYETCKHWDPRPRKFLTDPPFYWPAPTTYNVSFKLNEK (配列 番号 841)

20

30

40

【 0 7 6 6 】

50

【表 10】

ORF1	MAYWGWRRRRWPRRRWRRYRYRRRLPRRRPRRAVRRPRRRRVRRRGRG WYRGRYSRRRYRRRYVRRKRKTLVWRQWQPQNIRKCRIRGIIPILICGHGRGA RNYALHSDDITPQNTPFGGGLSTTSWSLKVLYDQHTRGLNRWSASNESLDLAR YNGCSFTFYRDKKTDFIVTYDTSAPYKLDKYSSPSYHPGSMMLMTKHKILIPSF DTKPKGPAKIRVRIKPPKMFLDKWYTQDDLCSVNLVSLAVSAASFTHPFCPPLT DTPCVTLQVLKDFYYTTIGYSSNADKVESVFTNTLYKHCCYYQSFLTQTFIAKIT RTPDGQPVATFSPPTSFPGTTVTKSSIESFNQWVTSTGTSGWLTNANQHFHFCN YKPDATKLKWLQRYYFDWETYKLADV KPDGLTPSVNWYEYRIGLFSPIFLSPF RSSSLDFPRAYQDVNYNPLVDKGVGNIIWFQYNTKPDQLSVPSCCKVIEDKPL WAAFYGYSDFVQQEIGDYTDAEAVGFVCVICPYTKPPLKNPDNPMQGFIFYDSL FGNGKWIDGTGHVPLYWQSRWRPEMLFQENTMRDITLSGPFYSYKDDYKNCVL TCKYKFNFREFGGNLLHEQTIRNPCPTDGH PSTGRQPRDVQVVDPIKVGPRFVFH SWDWRRGYLSPAALKRIGEQPLDYEAYSYPKRPRIFPPTEGDQLARSREEDSF SEEE SPHISFEEGQEPKAQAVQQHLLRHLRKQREL RKRLRALFQSLQKTQAGLH VNPLL FNQPAIRF (配列番号 842)
ORF1/1	MAYWGWRRRRWPRRRWRRYRYRRRLPRRRPRRAVRRPRRRRTIRNPCPTD GHPSTGRQPRDVQVVDPIKVGPRFVFHSDWRRGYLSPAALKRIGEQPLDYE AYSYPKRPRIFPPTEGDQLARSREEDSFSEEE SPHISFEEGQEPKAQAVQQHLLRH LRKQREL RKRLRALFQSLQKTQAGLHV NPLL FNQPAIRF (配列番号 843)
ORF1/2	MAYWGWRRRRWPRRRWRRYRYRRRLPRRRPRRAVRRPRRRRKETSSPEVE KKTHFQRKKVPISRKRGRNRKPRRYSSTSSDTSSESSENSES DSEPCSKASKRRR RVST (配列番号 844)

10

20

30

40

50

【0767】

【表 1 1】

表A5. 新たなアネロウイルス(*Anellovirus*)核酸配列(*アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus)*)

名称	TTV-RTx3
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>), クレード 4
アクセッション番号	SRR3479781

全配列: 3653 bp

10

```

1           10           20           30           40           50
|           |           |           |           |           |
CCAACCAGAGTCTATGTCGTGCACTTCCTGGGCATGGTCTACGTAATAAT
ATAAAGCGGTGCACTTCCGAATGGCTGAGTTTTCCACGCCCGTCCGCAGC
GAGATCGCGACGGAGGAGCGATCGAGCGTCCCGAGGGCGGGTGCCGGAGG
TGAGTTTACACACCGCAGTCAAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGG

```

【0 7 6 8】

20

30

40

50

【表 1 2】

GCTATGGGCAAGGCTCTTAAAAAGCCATGTTTCTCGGTAAACTTTACAGG
 CAGAAAAGGAAACTGCTACTGCAGCCTGTGCGTGCTCCACAGACGCCATC
 TTCCATGAGCTCTACCTGGCGAGTGCCCCGCGCGATGTCTCCGCCCGCG
 AGCTATGTTGGTACCGCTCAGTTGAGAGAGCCACGATGCTTTTGTGGC
 TGTGCTGATCTGTTTTTCATCTTTCTGCTCTGGCTGCACGTTCTAACCA
 TCAGGGACCTCCGACGCCCCCACGGACGAGCGCCCGTCCGGCGTCTACCC
 CAGTGAGGCGCCTGCTGCCGCTGCCCTCCTACCCGCGGAGGGTCCCCAG
 GCTAGATGGCTGGTGGGGATGGAGAAGGCGCTGGTGGCGCCCGCGGAGG
 CGCTGGAGATGGCGCGCCCGCGCAGGCGAAGAAGAGTACCGGCCCGAAG
 ACCTCGACGAGCTGTTCCAGCTATCGAACAAGAACAGTAAGGAGACGGA
 GCGGAGGGTGGCGGAGGGGCTACAGGCGCCGTTACAGACTGAGACGCTAC
 CGTAGAAGGGGCGAGGCGACGCAAAAAAATAGTACTGACTCAGTGGAACCC
 CCAGACTGTCTAGAAAGTGCTTTATCAGAGGACTGATGCCAGTACTATGGG
 CGGCCATGGGCACGGGGGGCCACAACCTACGCCCTCCGCTCAGATGACTTT
 GTGGTAGACAGAGGCTTCGGGGGCTCCTTCGCCACAGAACTTTCTCCCT
 GAGGGTCTCTTTGACCAGTACCAGAGAGGATTTAATAGGTGGTCTCACA
 CCAACGAAGACCTAGACCTGGCCCGCTACACGGGCTGCAATGGACATTT
 TACAGACACCAAGACACAGACTTTATAGTGACTTTACAAACAATCCCCC
 CATGAAAACCAACCAGCACACAGCCCTCTCACAACCTCCAGGCATGCTCA
 TGAGGAGCAAGTATAAAATACTAGTGCCAGTTTTAAACCAAGACCAAAG
 GGAGAAAAACAGTGCTCAGTGAGAGTAGACCCCCAAACTGTTTCAGGA
 CAAATGGTATACTCAACAGGACCTCTGTCCAGTACCCCTCGTCCAACTGA
 ACGTGACCGCAGCGGATTTACACATCCGTTCCGGCTCACCCTAACTGAC
 ACCGCTTGCATAAGATTCCAAGTTTTAGGGAACCTATACAAACAAGTGCCT
 AAATATAGATCTTCCGCAATTTGATGAGGACGGTGAGTACTCACTTCAA
 CACTTTATAACAGAGAAAAACAAAGAAGATCTTAAAAAGCTTTATAAACT
 CTATTTGTAGATGAACACGAGGCAATTATTGGCAGACATTTCTAACCAA
 CACAATGGTAAAGTCACACATAGATGCAACCAAGCAAGACATACGATC
 AAGAAAAAACTGCTGCAGAACAAAGGTAAAGACCCCTTCCCAACAAACCCA
 CCAAAAGACCAATTCACTACCTGGAACAAGAACTAGTAGACCTAGAGA
 CAGCAACTTTCTCTTTGCCACATATCACCAAAAAACATTAATAAGCTA
 TAAAAACCATGAGAGACAAACCTTTGCTCTCACCACAGGCAAAATGAC
 ATATATGGAGACTACACCGCGGCTACACCAGAAACACCCACATGCTAGA
 CTACTACCTAGGCTTTTATAGCCCATATTTCTTCCAGCGGTAGGTCCA
 ACACAGAGTTCTGGACCGCTACAGAGACATAGTATATAATCCCTCTTA
 GACAAAGGCACAGGCAACATGATCTGGTTCCAATATCACACAAAAACAGA
 CAATATATACAAAAACAGAGTGCCACTGGGAGATACTAGACATGCCCC
 TGTGGGCCCTCTGCAACGGGTATGTAGAGTACCTAGAGAGCCAAATAAAG
 TACGGGGACATCCTAGTAGAGGGCAAAGTCTCATCAGATGCCCTACAC
 CAAACCCGCACTGGTAGACCCCAATAACAGCCTAGCTGGTTACGTGGTAT
 TCAACACCACCTTCGGCCAGGGAAATGGATAGATGGCAAAGGCTACATC
 CCCCTACACGAGAGGAGCAAGTGGTACGTCTGCTCAGATACCAGACCGA
 CGTACTCCATGACATAGTGAATGCTGGACCCCTGGCAGTACACAGACGATA
 ACAAAAACTCTCAGCTAATAGCCAAGTACAGATTCAAGTTCTACTGGGA
 GGTAACATGGTACATTCTCAGGTCTCAGAAACCGTGCAAAGACACCCA
 AGTATCCGACCCCGCTCGACAGCCTCGCGAAGTACAAGTCGTTGACCCGC
 AACTCATTACCGCGCGTGGGTCTTCCACTCGTTCCAGACGAGACGAGGA
 ATGTTTACTGCAGGAGCTATCAAACGTCTGCTCAAGCAACCAATACCTGG
 CGAGTATGCTCTACCACTCAGGGTCCCGCTCTCTTTCCCTCTCAG
 AGTCCAGCGAGAGGGAGAAGATGCAGAAAGCGGCTCAGGTTACCAACCC
 AAGAGACCCGCACTCTGGCAGGAAGAGGCCAACCAGACGCAACCGGAGTC
 CTCGGAGGGGCGGGGAGACGACGAGGGAGCTCTCGAGCGAAAGCTCA
 GAGAGCAGCGAGTCTCAACCTCCAACCTCAGCATGTGCGAGTACAACCTC
 GCCAAAACCAAGCGAACCTCCACATAAACCCCTATTATACTCCAGCC
 TTAACAAAGTGATCTATTCCCCCTGACAAGCCACTCCCATACAGNN
 NNNNNNNNNNNNNNNAACACAGAGTTCGAAGCCTGCCAGGCTTCGACA
 GACCACCTAGAAAATACCTCTCAGACACACCTACCTACCTTGGCTCCCC

10

20

30

40

【0 7 6 9】

【表 13】

GTCCCCAATCCTGAAAATAAGGTCAGCTTTAAGCTCGGTTTCAAATCTTA
 CAAGGCCGTGGGAGTTTCACTGGTCGGTGTCTACCTCTTAAGGTCATAA
 GCACTCCGAGCGTCAGCGAGGAGTGCAGACCTTCCCCCTGGTGCAACGCC
 CTCGGCGGGCCGCGCGCTACGCCTTCGGCTGCGCGCGGCACCTCGGACCCC
 CGCTCGTGCTGACGCGCTCGCGCGCTCAGACCACCTTCGGGCTCGCGGGG
 GTCGGGAATTTTGCTAAACAGACTCCGAGTTGCCATTGGACACTGTAGCT
 GTGAATCAGTAACGAAAGTGAGTGGGGCCAGACTTCGCCATAAGGCCTTT
 ATCTTCTTGCCATTGGTCCGTGTAGGGGGTCGCCATAGGCTTCGGGTTCG
 GTTTTAGGCCCTTCGGGACTACAAAAATGGCGGATTAGTGACGTCACGGC
 CGCCATTTTAAGTAGGTGCCGTCCAGGACTGCTGTTCGGGGTCACAGGGC
 ATCCTCGGCGGAACCTACACAAAATGGCGGTCAAAAACATCCGGGTCAA
 GGTCGCAGCTACGTCATAAGTCACGTGCAGGGGTCTGCTGCGTCATATG
 CGG (配列番号845)

10

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

TATAボックス

50 - 55

イニシエータエレメント

68-83

転写開始部位

78

20

5' UTR 保存ドメイン

138 - 208

ORF2

305 - 691

ORF2/2

305 - 687 ; 2422 - 2878

ORF2/3

305 - 687 ; 2564 - 3317

ORF2t/3

305 - 360 ; 2564 - 3317

ORF1

556 - 2904

ORF1/1

556 - 687 ; 2422 - 2904

30

ORF1/2

556 - 687 ; 2564 - 2878

3オープンリーディングフレーム領域

2626 - 2846

ポリ(A)シグナル

3316 - 3319

【0770】

40

50

【表 1 4】

表 A6. 新たな 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 4)

TTV-RTx3 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 4)	
ORF2	MSSTWRVPRGDVSARELCWYRSVRESHDAFCGCRDPVFHLSRLAARSNHQ GPPTPPTDERPSASTPVRLLPLPSYPGEGPQARWPGGDGEGAGGARGGAGD GGARAGEEEYRPEDLDELFDIAIEQEQ (配列番号 846)
ORF2/2	MSSTWRVPRGDVSARELCWYRSVRESHDAFCGCRDPVFHLSRLAARSNHQ GPPTPPTDERPSASTPVRLLPLPSYPGEGPQARWPGGDGEGAGGARGGAGD GGARAGEEEYRPEDLDELFDIAIEQEQSSETRAKTPKYDPVDSLAKYKSLTR NSLRRRGSSTRSTRDEECLLQELSNVCSSNQYLASMLLHHSGSRSSFPPQSSS EREKMQKAAQVHHPRDRDSGRKRPTRRKRSPRRGRRRRRGSSSSSESSESSES STSNSSMSQYNPKPKRTST (配列番号 847)
ORF2/3	MSSTWRVPRGDVSARELCWYRSVRESHDAFCGCRDPVFHLSRLAARSNHQ GPPTPPTDERPSASTPVRLLPLPSYPGEGPQARWPGGDGEGAGGARGGAGD GGARAGEEEYRPEDLDELFDIAIEQEQSYQTSQAQATNTWRVCSYTTQGPAPLS LLRVPARGRRCRKRLRFTTQETATLAGRGQPDANGVLGGAGGDDEGAPRA KAQRAASPQPPTACRSTTRQNPSEPPHKPPIILPALNKVYLFPPDKPTPIQXX XXXXNTEFEACQAFDRPPRYLSDTPTYWLPVPNPEIKVSFKLGFKSYKAV GVSLVGVYLLRSLSTPSVSEECDPSPWCNALGGRALRLRLRAAPRTPARADA LARVRPLRARGGREFC (配列番号 848)
ORF2t/3	MSSTWRVPRGDVSARELCWSYQTSQAQATNTWRVCSYTTQGPAPLSLLRVP ARGRRRCRKRLRFTTQETATLAGRGQPDANGVLGGAGGDDEGAPRAKAQRA ASPQPPTACRSTTRQNPSEPPHKPPIILPALNKVYLFPPDKPTPIQXXXXXXXXN TEFEACQAFDRPPRYLSDTPTYWLPVPNPEIKVSFKLGFKSYKAVGVSLV GVYLLRSLSTPSVSEECDPSPWCNALGGRALRLRLRAAPRTPARADALARVR PLRARGGREFC (配列番号 849)

【0 7 7 1】

10

20

30

40

50

【表 15】

ORF1	MAWWGWRRRWWRPRRRWRWRRPRRRRRVPARRPRRAVRRYRTRTVRRR RRGWRRGYRRRYRLRRYRRRGRRRKIVLTQWNPQTVRKCFIRGLMPVLW AGMGTTGGHNYAVRSDDFVDRGFGGSFATETFSLRVLFDQYQRGFNRWSH TNEDLDLARYTGCKWTFYRHQDTEFIVYFTNNPPMKTNQHTAPLTTPGML MRSKYKILVPSFKTRPKGRKTVSVRVRPPKLFQDKWYTQQDLCPVPLVQ LNVTAADFTHPFGSPLTDTPCIRFQVLGNLYNKCLNIDLPQFDEDEGEILTSTPY NRENKEDLKKLYKTLFVDEHAGNYWQTFLTNTMVKSHIDANQAKTYDQEK TAAEQGKDPFPTNPPKDQFTTWNKKLVDPRDSNFLFATYHPKNIKKAIKTM RDNNFALTTGKNDIYGDYTAAAYTRNTHMLDYLLGFYSPIFLSSGRSNTFEWT AYRDIVYNPLLDKGTGNMIWFQYHTKTDNIYKKPECHWEILDMPLWALCN GYVEYLESQIKYGDILVEGKVLIRCPYTKPALVDPNNSLAGYVVFNTTFGQG KWIDGKGYIPLHERSKWYVMLRYQTDVLHDIVTCGPWQYRDDNKNSQLIA KYRFKFYWGGNMVHSQVIRNPCKDTQVSGPRRQPREVQVVDLPQLITPPWVL HSFDQRRGMFTAGAIKRLKQPIPGEYAPTPLRVPLLFPSSEFQREGEDAESG SGSPPKRPRLWQEEANQTQTESSEGAETTRELLERKLREQRVNLQLQHVA VQLAKTQANLHINPLLYSQP (配列番号 850)	10
ORF1/1	MAWWGWRRRWWRPRRRWRWRRPRRRRRVPARRPRRAVRRYRTRTVIRN PCKDTQVSGPRRQPREVQVVDLPQLITPPWVLHSFDQRRGMFTAGAIKRLK QPIPGEYAPTPLRVPLLFPSSEFQREGEDAESGSGSPPKRPRLWQEEANQTQT ESSEGAETTRELLERKLREQRVNLQLQHVAVQLAKTQANLHINPLLYSQP (配列番号 852)	20
ORF1/2	MAWWGWRRRWWRPRRRWRWRRPRRRRRVPARRPRRAVRRYRTRTELSN VCSSNQYLASMLLHHSGRSSFPQSSSEREKMQKAAQVHHPRDRDSGRKR PTRRKRSPPRGRRRRRGSSSESSESSESSTSNSSMSQYNPKPKRTST (配列 番号 853)	30

【0772】

【表 16】

表A7. 新たなアネロウイルス(*Anellovirus*)核酸配列(*アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus)*)

名称	TTV-RTx4
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>), クレード 4
アクセッション番号	SRR3481579

全配列: 3742 bp

```

1          10          20          30          40          50
|          |          |          |          |
AAAGTGCTACGTCACTAACCACGTGACACCCACAGGCCAACCGAATGCTA
TGTCGTGCACTTCCTGGGSCCGGTCTACGTCTCATATAACTACCTGCAC
TTCCGAATGGCTGAGTTTTCACGCCCCGTCCGCAGCGGTGAAGCCACGGA
GGGAGATCAGCGCGTCCCGAGGGCGGGTGCCGAAGGTGAGTTTACACACC
GAAGTCAAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCTATGGGCAAGGC
TCTGAAAAAAGCATGTTTATTGGCAGGCATTACAGAAAGAAAAGGGCGCT
GCCACTGTGTGCTGTGCGATCAACAAAGAAGGCTTGCAAACCTACTAATAG
TAATGTGGACCCACCTCGCAATGACCAACAGTACCTTAAGTGGCAATGG
TACTCAAGTATACTTAGCTCCACGCTGCTATGTGCGGGTGCCCCACCT
TGTTGCTCATTTTAATCATCTTGCTTCTGTGCTTCGCGCCCCGCAAAATC
CACCCCCACCGGTCCCCAGCGAAACCTGCCCTCCGACGGCTGCCGGCT
CTCCCGGCTGCGCCAGAGGCGCCCGGAGATAGAGCACCAAGGCCTATGGC
TGGTGGCGCCGGAGGAGAAGACGGTGGCGCAGGTGGAGACGCAGACCATG
GAGGCGCCGCTGGAGGACCAGAAGACGCAGACCTGTTAGACGCGGTGGCC
GCCGCAGAAACGTAAGGAGACGCCGCAGAGGAGGGAGGTGGAGGAGGAGG
TACAGGAGATGGAAAAGAAAGGGCAGACGCAGAAAAAAAGCTAAAATAAT
AATAAGACAATGGCAACCTAACTACAGAAGGAGATGTAACATAGTAGGCT
ATATTCCTGTACTGATAAGTGCGCGAAAATACTGTACAGCAGAACTATGCC

```

10

20

【0773】

30

40

50

【表 17】

ACACACTCAGACGATACTAACTACCCAGGACCCCTTTGGGGGGGTATGAC
 TACAGACAAATTTACCTTAAAGATTCTGTATGACGAGTACAAAAGGTTTA
 TGAACATATTGGACAGCATCTAATGAAGACCTAGACCTCTGTAGATATCTA
 GGAGTAAACCTGTACTTTTTFAGACACCCAGAAGTAGACTTTATTATAAA
 AATAAATACCATGCCCTTTTCTAGACACAGAACTAACAGCTCCTAGCA
 TACACCCAGGAATGCTAGCCTTAGACAAAAGAGCAAGATGGATACCTAGC
 TTAAATCTAGACCAGGAAAAAAACACTATATTAATAAAGAGTAGGGGC
 GCCTAAAATGTTACAGATAAATGGTACCCCAACAGATCTTGTGACA
 TGGTGTCTAAGTGTCTATGCAACCGCAGCGGATATGCAATATCCGTTT
 GGCTCACCCTAACTGACTCTGTGGTTGTGAAGTCCAGGTTCTGCAATC
 CATGTATGATGAACCATTAGCATATTACCAGATCAAAGGAGAAAAGAA
 TAACGCTGCTCACTAGTATAGCCTTTTATAACACCACACAACTATAGCC
 CAATTAAGCCATTTATAGATGCAGGCAATATGACTTCAACTACAACAGC
 AACACATGGGATCATACATAAACACAACCAAAATTTAATACAGCAGCCA
 CTACAACATACACATAACCCAGGCAGTACTACAACACAGTAACTATGTTA
 ACTTGTAAATGACTCCTGGTACAGAGGAACAGTATATAACGACCAAATTA
 AAATTTACCAAAGGAAGCAGCTCAATTATACTTAAAGCAACAAAAACCT
 TACTAGGAAACACCTTACAAAATGACGACCACACACTAGAATACCATGGA
 GGACTGTACAGCTCAATTTGGCTGTCCCGGCAGATCTTACTTTGAAAC
 ACCAGGAGCATACACAGACATAAAATACAACCCATTTACAGACAGAGGAG
 AAGGAAACATGCTATGGATAGACTGGCTAAGCAAAAAAATATGAACTAT
 GACAACTACAAAGTAAATGTTAATATCAGACCTACCTTTATGGGCAGC
 AGCATATGGATATTTAGAAATTTTGTGCAAAAAGTACAGGAGACCAAAATA
 TACACATGAATGCCAGACTACTAATAAGAAGTCCCTTTACAGACCCCAAA
 CTACTAGTACACACAAACCCCAAAAAGGCTTTTGTCCCTACTCTTTAAA
 CTTTGGAATGGTAAATGCCAGGAGGTAGTAGTAATGTTCCCTATTAGAA
 TGAGAGCTAAATGGTATCCAACATTGTTTACCAGCAAGAAGTACTAGAG
 GCCTTAGCACAGTCAGGCCCTTTGCATACCACTCAGACATTAAGAAAGT
 ATCTCTGGGTATGAAATACCGTTTTAAGTGGATCTGGGTGGAAACCCCG
 TTCGCAACAGGTTGTTAGAAATCCCTGCAAAAGACTCCCACTCCTCGGTC
 AATAGAGTCCCTAGAAGCTTACAAATCGTTGACCCGAAATACAACCTACC
 GGAACCTCACATTCATACGTTGGGACTTCAGACGTGGCTCTTTGGCCAGA
 AAGCTATTGAGCAATGCAACAACAACCAACAACCTACTGACATTTTTTCA
 GCAGGCCGCAAGAGACCCAGGAGGGACACCGAGGTGTACCCTCCAGCCA
 AGAAGGGGAGCAAAAAGAAAGCTTACTTTTCCCCCAGTCAAGCTCCTCA
 GACGAGTCCCCCGTGGGAAGACTCGCAGCAGGAGGAAAGCGGGTCGCAA
 AGCTCAGAGGAAGAGACGCAGACCGTCTCCAGCAGCTCAAGCAGCAGCT
 GCAGCAACAGCGAATCCTGGGAGTCAAACCTCATACTCCTGTTCACCAAG
 TCCAAAAAATCCAACAAATCAAGATATCAACCTTACCTTGTACCAAGG
 GGGGGGATCTAGCATCCTTATTTCAAATAGCACCAATAACATGTTTGGA
 GACCCCAACCTTACAACCTTCCAGTAATGACTGGAAAGAGGAGTATGA
 GGCTGTAGAATATGGGACAGACCCCAAGAGGCAATCTAAGAGACACCC
 CCTTTTACCCCTGGGCCCCCAAGAAAACCAAGTACCCTGTAACTTTTAAA
 CTTGGATTTCAATAAAGCTAGGCCGTGGGACTTTCACTTGTGGGTGTCTG
 CTTATAAAGTAACCAAGCACTCCGAGCGAAGCGAGGAGTGCAGCCCTTG
 GGGGCTCAACGACTTCGGAGCCGCGCGTTAAGCCTTCGGCTGCGCGCGGC
 ACCTCAGACCCCCGCTCGTGCTGACACGCTTGCGCGTGTGAGACCACTTC
 GGGCTCGCGGGGGTGGGAAATTTATTAAACAGACTCCGAGTTGCCATTG
 GACACAGTAGTCTATGAACGCAACGAAAGTGAGTGGGGCCAGACTTCGC
 CATAAGGCCTTTATCTTCTTGCCATTTGTCACTATAGAGGGTCGCCATAG
 GCTTCGGTCTCCATTTTAACTGTAAAACTACCAAAATGGCCGTTCAG
 TGACGTGACAGCCGCCATTTTAAGTAGCTGACGTCAAGGATTGACGTAAA
 GGTAAAGGTATCTCTCGGCGGAAGCTACACAAAATGGTGGACAACATCT
 TCCGGGTCAAAGGTGCTGACACGTCAAAAGTCACGTGGTGGGACCCGCT
 TGTAACCCGGAAGTAGGCCCCGTACGTGATTTGTACGCTGTGTACACGT
 CACAGCCGCCATTTTGTTTTACAAAATGGCTGACTTCTCTCTTTTTT
 GAAAAAAGGCGCCAAAAAAGGCTCCGCCCCCGGCCCCCCC (配列番号854)

10

20

30

40

【0774】

50

【表 18】

アノテーション:		
推定ドメイン	塩基範囲	
TATAボックス	86 – 90	
イニシエータエレメント	104 – 119	
転写開始部位	114	
5' UTR 保存ドメイン	174 – 244	
ORF2	353 – 715	10
ORF2/2	353 – 711 ; 2362 – 2863	
ORF2/3	353 – 711 ; 2555 – 3065	
ORF2t/3	353 – 432; 2555 – 3065	
ORF1	589 – 2889	
ORF1/1	589 – 711 ; 2362 – 2889	
ORF1/2	589 – 711 ; 2555 – 2863	
3オープンリーディングフレーム領域	2555 – 2863	20
ポリ(A)シグナル	3062 – 3066	
GCリッチ領域、又はその1部分**	3720 – 3742	

【0775】

30

40

50

【表 19】

表 A8. 新たなアネロウイルス(*Anellovirus*) アミノ酸配列 (アルファトルクウイルス(*Alphatorquevirus*), クレード 4)

TTV-RTx4 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 4)	
ORF2	MWTPPRNDQQYLNWQWYSSILSSHAAMCGCPDVVAHFNHLASVLRAPQNP PPPGPQRNLPLRRLPALPAAPEAPGDRAPWPMAGGAGGEDGGAGGDADHG GAAGGPEDADLLDAVAAAET (配列番号 855)
ORF2/2	MWTPPRNDQQYLNWQWYSSILSSHAAMCGCPDVVAHFNHLASVLRAPQNP PPPGPQRNLPLRRLPALPAAPEAPGDRAPWPMAGGAGGEDGGAGGDADHG GAAGGPEDADLLDAVAAAETLLEIPAKTPTPRSIESLEAYKSLTRNTTHRNSH SIRGTSDVASLARKLLRECNNNQQLTFFQQAARDPGGTTPRCTTPAKKGSKK KAYFSPQSSSSDESPRGKTRSRRKAGRKAQRKRRRPSPPSSSSSSCSNSESWE NSYSCSTKSKKSNKIKISTLPCYQGGGI (配列番号 856)
ORF2/3	MWTPPRNDQQYLNWQWYSSILSSHAAMCGCPDVVAHFNHLASVLRAPQNP PPPGPQRNLPLRRLPALPAAPEAPGDRAPWPMAGGAGGEDGGAGGDADHG GAAGGPEDADLLDAVAAAETPQETQEGHRGVPLQPRRGAKRKLTFPPSQAP QTSPVGRLAAGGKRVAKLRGRDADRLPAAQAAAAATANPGSQTHTPVQP SPKNPTKSRYQPYLVTKGGGSSILISNSTINMFGDPKPYNPSSNDWKEEYEAC RIWDRPPRGNLRDTPFYWPAPKENQYRVNFKLGFQ (配列番号 857)

【0776】

10

20

30

40

50

【表 20】

ORF21/3	MWTPPRNDQQYLNWQWYSSILSSHAAMPQETQEGHRGVPLQPRRGAKRKL TFPPSQAPQTSPPVGRLAAGGKRVAKLGRDADRLPAAQAAAAATANPGSQ THTPVQSPKNPTKSRYQPYLVTKGGGSSILISNSTINMFGDPKYPNPSSNDW KEEYEACRIWDRPPRGNLRDTPFYWPAPKENQYRVNFKLGFQ (配列番号 858)
ORF1	MAYGWWRRRRRRWRRWRRRPWRRRWRTRRRRPVRRRGRRRNVRRRRRG GRWRRRYRRWKRKGRRRKKAKIIIRQWQPNYRRRCNIVGYIPVLICGENTVS RNYATHSDDTNYPGPFGGGMTTDKFTLRILYDEYKRFMNYWTASNEDLDL CRYLGVNL YFFRHPEVDFIIKINTMPPFLDTEL TAPSIHPGMLALDKRARWIPS LKS RPGKKHYIKIRVGAPKMFTDKWYPQTDLCMVLLTVYATAADMQYPF GSPLTDSVVVNFQVLQSMYDETISILPDQKEKRITLLTSIAFYNTTQTIAQLKP FIDAGNMTSTTTATTWGSYINTTKFNTAATTTYTPGSTTTTVMMLTCNDSW YRGTVYNDQIKNLPKEAAQLYLKATKTLLGNTFTNDHTLEYHGGLYSSIW LSPGRSYFETPGAYTDIKYNPFTDRGEGNMLWIDWLSKKNMNYDKLQSKCL ISDLPLWAAAYGYLEFCAKSTGDQNIHMNARLLIRSPFTDPQLLVHTNPTKG FVPYSLNFGNGKMPGGSSNVPIRMRAKWYPTLFHQEVLEALAQSGPFAYH SDIKKVSLGMKYRFKWIWGGNPVRQQVVRNPCKDSHSSVNRVPRSLQIVDP KYNPELTFHTWDFRRGLFGQKAIERMQQQPTTTDIFSAGRKRPRRDTEVYH SSQEGEQKESLLFPPVKLLRRVPPWEDSQQEESGSQSSEEETQTVSQQLKQQL QQQRILGVKLILLFNQVQKIQQNQDINPTLLPRGGDLASLFQIAP (配列番号 859)
ORF1/1	MAYGWWRRRRRRWRRWRRRPWRRRWRTRRRRPVRRRGRRRNVVRNPCK DSHSSVNRVPRSLQIVDPKYNPELTFHTWDFRRGLFGQKAIERMQQQPTTT DIFSAGRKRPRRDTEVYHSSQEGEQKESLLFPPVKLLRRVPPWEDSQQEESGS QSSEEETQTVSQQLKQQLQQQRILGVKLILLFNQVQKIQQNQDINPTLLPRGG DLASLFQIAP (配列番号 860)
ORF1/2	MAYGWWRRRRRRWRRWRRRPWRRRWRTRRRRPVRRRGRRRNAARDPGG TPRCTTPAKKGSKKKA YFSPQSSSSDES PRGKTRSRKAGRKAQRKRRRPS SSSSSSCSNSESWESNSYSCSTKSKKSNKIKISTLPCYQGGGI (配列番号 861)

10

20

30

40

【0777】

50

【表 2 1】

表A9. 新たなアネロウイルス(*Anellovirus*)核酸配列(*アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus)*)

名称	TTV-RTx5b
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>), クレード 5
アクセッション番号	SRR3481639
全配列: 3553 bp	

1	10	20	30	40	50	10
ATACCTCATCATATAAAGCGGCGCACTTCCGAATGGCTGAGTTTTCCACG						
CCCGTCCGCAGCGAGATCGCGACGGAGGAGCGATCGAGCGTCCCGAGGGC						
GGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAGTCAAGGGGCAATTCCGGCTC						
GGGACTGGCCGGGCTATGGGGCAAGACTCTTAAAAAAGCCATGTTTCTCG						
GTAACTTTACAGAAAGAAAAGGGCACTGTCACTGCTACGCGTGCGAGCT						
CCAGAGGCGAAACCACCTGCTATGAGTTGGAGACCCCGGTGCACAACCC						
CAATGGGATCGAGAGAAACCTGTGGGAGGCATTCTTTCGCATGCATGCTT						
CAGCTTGTGGTTGTGGCGATCTTGTGGCCATCTTACTGTAAGTGGCTGGT						
CGGTATGGTGCTCCTCCTCGTCCCCCGGGCCCCCGGCGCTCCCAGACCAAC						
GCTGATACGCCAGCTGGCCCTTCCGGCGCCCCCGCCGATCCTCAACAGG						
CTAACCCACAATGGCTTGGTGGGGACGGTGGAGAAGATGGCGCTGGAGGC						
CCCGCCGCTGGCGGGCGCCGTCGCAGACGCCGAGTACCAAGAAGACGAGCT						20
CAACGCCCTGTTTCGACGCCGTCGAGCAAGAAGAGTAAGGAGGAGGGCGATG						
GGGGAGGCGGAGGTGGAGACGGGGGTACAGACGCAGACTGAGACTAAGAC						
GCAGACGCAGACGAAAGCGAAAGATAGTACTAAGTCAAGTGAATCCCCGCC						
AAAGTGGCGAGGTGTACTATTAAGGGAGTTCTGCCCATCATCCTGTGCGG						
GGCGGGGCGCTCGGGGTTTAACTACGGACTGCACAGCGACGACTACACTC						
TACAGAAGCCCCCTTGGCCAGAACCCCCACGGGGGCGGCATGAGTACAGTG						
ACTTTTAGCCTACAGGTGCTCTATGACCAGTACCAGAGSTTTATGAACAA						
GTGGTCTGTAAGTCCAACGACAGCTAGACCTCGCCAGGTACTTTGGCTGCA						
CCTTCTGGTTCTACAGACACCCAGAGGTGGACTTTGTAGCTCAGTTTGAC						
AACGTTCCCCCATGAAAATGGACGAGAACACAGCCCCAAACACTCATCC						
CTCTTTCTTACTACAGAACAACACAAGGTTAAAAATCCCAGCTTTAAAA						
CAAAGCCTTTTGGTAAAAAAGAGTTAGAGTTACAGTAGGGCCCCCAAA						
CTGTTTGAAGATAAGTGGTACAGCCAACATGACTTGTGTAAGGTGCCCCCT						30
AGTCAGTTGGCGGTTAACCGCAGCTGACTTCAGGTTCGCTTCTCTCAC						
CACAAACTGACAACCTTGCTACACCTTCCAGGTAATGTCATGAAGAGTAT						
TACCCAGTAATAGGCACTTCTGCTTTAGAAAACGGCAGTAAGTACAATAG						
CTCAGCTATAACAGCCTTAGAAAAATTCTTATATGAAAAATGCACACACT						
ATCAAACATTTGCCACAGACACCAGACTTAATCCTCAGCGACCAGTGTCA						
TCTACAAATGCAAACAAAACATACACCCCTCAGGCTCCCAAGAAACAAT						
AGTGTGGGGGCGAGTCAGATTTTAATTTATTTAAAAAGCACACAGACAGCA						
ACTATGGCTACTGCACCTACTGTCCTACCAATGACTTAGCTACAAAAATT						
AAAAAGTACAGAGACAAAAGATTGCACTGGCTAACAAACATGCCAGTAAC						
AAACACCTGCCACATAAATGCCACCTTCGCCCCGAGGCAAAATTAAAGAAT						
GGGAGTACCACCTAGGGTGGTTCTCAAACATCTTTATAGGCAACCTGAGA						
CACAACCTAGCATTCGGGGCCGCATACATAGACATCCTANACAGACAA						
GGGAGAAGGCAACATTATCTGGTTCCAGTACCTCACTAAACCCACCACAG						40

【0 7 7 8】

【表 2 2】

AGTACATAGAAGCCCAAGCAAAGTGCTCCATCACAAACATACCCCTGTAT
 GCTGCTTTTTATGGCTACGAAGACTACCTCCAGAGAACACTAGGCCCTTA
 CCAAGATGTAGAAACCCTAGGTATAATCTGTGTTAAATGTCCCTACACAG
 ATCCCCCTCTAGTTTACAAGTCTACAGATAAAAAAGAATGGGGCTACGTG
 TTCTACGACGTGCACTTTGGCAACGGAAGACCCAGAGGGACTGGGCCA
 GGTGCACCCCTTACTGGATGCAGAGGTGGAGACCCTACGTACAGTTTCAGA
 AAGACACTATGAACAAAATAGCCAGGACGGGACCGTTTACGTACAGAGAC
 GAGACGCCTTCCATCACCCCTGACCGCCGGGTACAAGTTTCATTTTAACTG
 GGGGGGCGACTCTATAATTCCACAGATTATTAAAAACCCTGCCAGACA
 GCGGGGTACGACCTTCATCCAGTAGAGAGCGTCTCAGTACAAGTCGTT
 AGCCCGCTCACAAATGGGGCCAGAGTACATATTCACCGGTGGGACTGGCG
 ACGGGGGTTCTTTAATCAAAAAGCTCTCAAAAGAAATGCTGAAAAATCAA
 TTAATGATGGAGAGTATCCAACAGGCCCAAGGTCCCTCGATGGTTTCCC
 CCACTCCGACAACCAAGAGCAAGAAGCGCCCTCAGTTTACAGGACACAAC
 GTCCGAGTCCCTCGCAAGAAGAAGCCGCTCAAGAAGCCCTCCAAGAAGTCC
 AAGAGGCGTCTGCTACAGCAGCACCTCCTCCAGCAGTACCGAGAGCAGCGA
 CGGATCGGAAAGCAACTCCAACCTCGTCATGCTGCAGCTACCAAGACGCA
 GAGCAACCTGCACATAAACCCCCGTGTTCTTGGCCATGCATAAATAAAGT
 CTACATGTTTTCCCCCGACAAGCCCATGCCCATACACGGGTACCACGGGT
 GGGAGACGGAGTACCAGGCCCTGCAAGGCCCTCAACAGGCCCCCCAGAAAC
 TACCTTTTACAGACAAACCCATCTACCCCTTGGCTCCCTCGCCCCGAACCCGA
 AATAATAGTGAGCTTTAGGTTTGGTTTCAATAAACAAGGCCGCAATAA
 ACAAGGCCGTGGGAGTTTCACTGGTTCGGTGTCTACCTCTTAAGGTCACTA
 AGCACTCCGAGCGTTAGCGAGGAGTGCAGCCCTTCCCCCTGGTGCCACGC
 CCTCGGCGGCGCGCGCTACGCCCTNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 GGCCAGACTTCGCCATAAGGCCCTTATCTTCTTGCCATTGGTCCGTGTGG
 GGAGTCGCCATAGGCTTCGGGCTCGGTTTTAGGCCCTTCGGACTACAAAA
 ACCGCCATTTTAGTGACGTACGGCGGCCATTTTAAGTAAGCATGGCGGG
 CGGTGACGTACAAGTTGAAAGGTCACCGCGCTTCCGTGTTTACTCAAAAT
 GGTGGCCAACTGCTTCCGGGTCAAAGGTCGGCGGCCACCTCATAAGTCAC
 GTGGGAGGGCTGCGTCACAAACACGGAAGTGGCTGTCCACGTGACTTGT
 CACGTGATTGCTACCTCACGGCCGCCATTTTAGTTTACAAAAATGCCCGAC
 TTC (配列番号862)

10

20

アノテーション:

推定ドメイン	塩基範囲	
TATAボックス	12 – 17	
イニシエータエレメント	30 – 45	
転写開始部位	40	
5' UTR 保存ドメイン	100 – 171	
ORF2	272 – 637	
ORF2/2	272 – 633 ; 2326 – 2767	
ORF2/3	272 – 633 ; 2525 – 2984	
ORF2t/3	272 – 633 ; 2525 – 2984	
ORF1	511 – 2793	

40

【0 7 7 9】

【表 2 3】

ORF1/1	511 – 711 ; 2326 – 2793
ORF1/2	511 – 711 ; 2525 – 2767
3オープンリーディングフレーム領域	2525 – 2767
ポリ(A)シグナル	2981 – 2985
不明の配列	3125-3176

*注: リーディングフレームを維持するために
実施された修飾:

-“C” をORF2に挿入

430

-“N” をORF1に挿入

1842

10

【 0 7 8 0 】

20

30

40

50

【表 2 4】

表 A10. 新たなアネロウイルス(*Anellovirus*) アミノ酸配列 (アルファトルクウイルス(*Alphatorquevirus*), クレード 5)

TTV-RTx5b (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 5)	
ORF2	MSWRPPVHNPNGIERNLWEAFFRMHASACGCGDLVGHLTVLAGRYGAPPRP PAPGAPRPPLIRQLALPAPPADPQQANPQWPGGDGGEDGAGGPAAGGAVAD AEYQEDELNALFDAVEQEE (配列番号 863)
ORF2/2	MSWRPPVHNPNGIERNLWEAFFRMHASACGCGDLVGHLTVLAGRYGAPPRP PAPGAPRPPLIRQLALPAPPADPQQANPQWPGGDGGEDGAGGPAAGGAVAD AEYQEDELNALFDAVEQEELLKTPAQTAGYDLHPVESVAQYKSLARSQWGQ STYSTGGTGDGGSLLKKLSKECLKNQLMMESIQQAQRSLDGFPSTTKSKKAP QVQRRQGRSPRKKKPLKKPSKKSKRRRYSSTSSSSTESSDGSESNSNSSCCSSP RRRATCT (配列番号 864)
ORF2/3	MSWRPPVHNPNGIERNLWEAFFRMHASACGCGDLVGHLTVLAGRYGAPPRP PAPGAPRPPLIRQLALPAPPADPQQANPQWPGGDGGEDGAGGPAAGGAVAD AEYQEDELNALFDAVEQEEPKGPSMVSPTRQPRARRRLRFRGDKVAVLARRS RSRSPRSPRGVATAAPPPAVPRAATDRKATPTRHAAAHQDAEQPAHKPPCS WPCINKVYMFPPDKPMPIHG YHGWET EYQACKAFNRPPRNYLSDKPIYPWLP RPEPEIIVSFRFGFK (配列番号 865)
ORF2t/3	MSWRPPVHNPNGIERNLWEAFFRMHASACGCGDLVGHLTVLAGRPKGPSMV SPTRQPRARRRLRFRGDKVAVLARRSRSRSPRSPRGVATAAPPPAVPRAATD RKATPTRHAAAHQDAEQPAHKPPCSWPCINKVYMFPPDKPMPIHG YHGWET EYQACKAFNRPPRNYLSDKPIYPWLPRPEPEIIVSFRFGFK (配列番号 866)

【0 7 8 1】

10

20

30

40

50

【表 2 5】

ORF1	MAWWGRWRRWRWRPRRWRRRRRRRVRPRRAQRPVRRRRARRVRRRRWG RRRWRRGYRRRLRLRRRRRRRKIKIVLTQWNPAKVRRCTIKGVLPMILCGAGR SGFNYGLHSDDYTVQKPLGQNPBGGMSTVTFSLQVLYDQYQRFMNKWSYS NDQLDLARYFGCTFWFYRHPEVDFVAQFDNVPPMKMDENTAPNTHPSFLLQ NKHKVKIPSFKTKPFGKKRVRVTVGPPKLFEDKWYSQHDLCVPLVSWRLTA ADFRFPFCSPQTDNPCYTFQVLHEEYYPVIGTSALENGSNYNSSAITALEKFLY EKCTHYQTFATDTRLNPQRPVSSTNANKTYTPSGSQETIVWGQSDFNLFKKHT DSNYGYCTYCPTNDLATKIKKYRDKRFDWLTNMPVTNTCHINATFARGKIKE WEYHLGWFSNIFIGNLRHNLAFRAAYIDITXTDKGEGNIIWFQYLTKPTTEYIE AQAKCSITNIPLYAAFYGYEDYLQRTLGPYQDVETLGIICVKCPYTDPPLVHKS TDKKNWGYVFYDVHFGNGKTPEGLGQVHPYWMQRWRPYVQFQKDTMNKI ARTGPFSYRDETPSITLTAGYKFHFNWGGDSIFPQIIKNPCPD SGVRPSSSRERR SVQVVSPLTMGPEYIFHRWDWRRGFFNQKALKRMLEKSINDGEYPTGPKVPR WFPPLDNQEQEGASGSEETRSQSSQEEAAQEALQEVQEASLQQHLLQQYREQ RRIGKQLQLVMLQLTKTQSNLHINPRVLGHA (配列番号 867)	10
ORF1/1	MAWWGRWRRWRWRPRRWRRRRRRRVRPRRAQRPVRRRRARRIKNPCPDS GVRPSSSRERRSVQVVSPLTMGPEYIFHRWDWRRGFFNQKALKRMLEKSIND GEYPTGPKVPRWFPPLDNQEQEGASGSEETRSQSSQEEAAQEALQEVQEASLQ QHLLQQYREQRRIGKQLQLVMLQLTKTQSNLHINPRVLGHA (配列番号 868)	20
ORF1/2	MAWWGRWRRWRWRPRRWRRRRRRRVRPRRAQRPVRRRRARRAQRSLDGF PHSTTKSKKAPQVQRRQGRSPRKKKPLKKPSKKSKRRRYSSTSSSTESSDGSE SNSNSSCCSSPRRRATCT (配列番号 869)	30

【0782】

【表 2 6】

表A11. 新たなアネロウイルス(*Anellovirus*)核酸配列(アルファトルクウイルス(*Alphatorquevirus*))

名称	TTV-RTx6
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>), クレード 5
アクセッション番号	SRR3438066

40

【0783】

【表 2 7】

全配列: 3896 bp

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
TAAACTTCCTCTTTTAATAGGAAACCACAAAATTTGCATTGCCGACCACA
AACGCATATGCAAATTTACTTCCCCAAAACTCAACCACAAAATTTGCAT
TGCCGCCCACAAACGTCTACTTTAACCACATCCTCTAACATGTTAGAAAC
TCCACCCAACTACTTCATTAGTATACAGCATCACAAAGGGAGGAGCCAAAC
AACTATATAACCAAGTGTACTTCCGAATGGCTGAGTTTATGCCGCCAGAC
GGAGACGGGATCGCGACGGAGGAGCGATCGAGCGTCCCAGGGCGGGTGC
CGGAGGTGAGTTTACACACCGCAGTCAAGGGGCAATTCGGGCTCGGGAAT
GGCCGGGCTATGGGCAAGGCTCTTAAAAAAGCCATGTTTCTCGGTGACC
TTACAGAAAGAAAACGGCACTGTCACTGCTACCGCTGCCAGCTCCAGAGG
CGAACCACCTGCTATGAGCTGGAGGGCCCCGGTGCAACCCCTAATGGG
ATCCAGAGAAACCTGTGGGAGGCATTCTTTCGCATGCATGCTGCAGCTTG
TGGTTGTGGCGATCTTGTGGCCATATTACTGTACTGGCTGGTTCGTATG
GTGCTCCTCCTCGTCCCCCGGGGGCTCCCAGACCACCGCTGATA
CGCCAGCTGGCCCTTCCGGCGCCCCCGCGATCCTCAACAGGCTAACCC
ACAATGGCCTGTGGGGACGTTGGAGAAGATGGCGCTGGAGGCCCGCCG
CTGGCGGCGCGTGCAGACGCGGAGTACCAAGAAGACGAGCTCAACGCC
CTGTTTCGACGCGCTCGAGCAAGAAGAGTAAGGAGGAGGCGATGGGGGAGG
CGGAGGTGGAGACGGGGGTACAGACGCAGACTAAGACTGAGACGCAGACG
CAGACGAAACAAAATAAGACTGACTCAGTGAACCCAGCCAAAGTCAGGA
GATGTACTATTAAAGGGGTGTACCCATGATCTTAAGCGCGCCGGCCGC
TCGGGGTTTAACTATGSACTGCACAGCGACGACTACACGGTGCAGAAACC
CCTGGGGCAGAACCCCCACGGGGCGGCATGAGCACAGTAACTTTAGCC
TACAAGTACTATTGACCAAGTACCAGAGGTTTATGAACCGGTGGTGTAC
TCCAACGACCAGCTAGACCTCGCCAGGTACTTTGGCTGCACCTTCTACTT
TTACAGACACCTGAAATTGACTTTGTAGCTCAGTATGACAATGTACCCC
CAATGAAAATGGACGAGAACACGGCNCCTAACACTCACCCCTCTTTCTA
CTACAAAACAAACGCAAAATTAATAATCCCCAGCTTTAAACCAAGCCATT
TGGCAGAAAAAGACTAAAAGTAACAGTGGGCCCCCCTAACTGTTTGAAG
ATAATGGTACAGCCAGCATGACTTGTGTAAGGTGCCCTAGTCAGTTGG
CGGTTAACCGCATGTGACTTCAGGTTTCCGTTCTGCTCACCCTAACTGA
CAACCTTGTCTACACCTTCCAGGTATTGCATGAAAATATTACCCAGTCA
TAGGCACTTCCTCTTTAGAAAACGGTACAAACTACAATAACACTGCTATA
ACTACCTTGTAGACATGGCTATATGGAAAATGCACACACTATCAACATT
TGCCACAGACACCAGACTTAATCCACAGAGACCTGTATCTTCAAGTAATG
CAAATGAAACTTATACCTCTAGTGGTTCTAAAGAACTCAATAATATGGGGA
CAGTCTGACTGGGCAAACTTTAAAAAGAACACAGACAGCAACTATGGCTA
CTGTTCTCTACTGCCCCCTCAAATGGCACTAACGGAACAGTAGATAAAATTA
AAAAATACAGAGACCAAGATTTAGATGGCTTACAGAAATGCCAGTACCT
AACACCTGTACATACATGCCACCTTCGCCCAGGCACTATTAAATACTG
GGAGTACCACCTAGGCTGGTACTCAAACATATTTATTGGCAACCTCAGAC
ACAACCTAGCCTTCAGACCAGCTACATAGACATTACCTACAATCCCATC
ACTGACAAAGGAGAGGGCAACATTATCTGGTTCCAGTACCTCACTAAGCC
CACCACAGAATACATAGAAACCCAGGCAAAATGCACCATTAATAACATTC
CCCTTTATGCTGCTTTCTATGGCTACGAAGACTACCTCCAGAGAACTA
GGCCCCTACCAAGATGTAGAAACCTAGGCATAATCTGTGTTAAATGTCC
CTACACAGATCCCCCTCTAGTTCACAAAGACAAAAGTAAAACCAACTGGG
GCTACGTATTCTACGACGCCCCTTTGGCAACGGAAGACCCCAGAGGGA
CTAGGCCAAGTACACCCCTTACTGGATGCAGAGATGGAGACCCTATGTACA
GTTTCAAAAAGACACCATGACAAAAATATCCAGAACGGGACCCCTCAGCT
ACAGAGACGACACGCCCTTCCATCACCCCTCACTGCCGAATACAAGTTTCGT
TTTAACTGGGGGGCGACTCTATATTTCCACAGATTATTAATAAACCCCTG
CCCAGACACCGGGGTTCCGACCTTCAACCGGTAGAGACCGTCTGCTCAGTAC

```

10

20

30

40

【0 7 8 4】

50

【表 28】

[illegible]

10

20

アノテーション:

推定ドメイン	塩基範囲
TATAボックス	206 – 210
イニシエータエレメント	224 – 239
転写開始部位	234
5' UTR 保存ドメイン	294 – 364
ORF2	465 – 830
ORF2/2	465 – 826 ; 2534 – 2975
ORF2/3	465 – 826; 2721 – 3192
ORF2 <i>t</i> /3	465 – 595 ; 2721 – 3192
ORF1	704 – 3001
ORF1/1	704 – 826; 2534 – 3001
ORF1/2	704 – 826; 2721 – 2975
3オープンリーディングフレーム領域	2721 – 2975
ポリ(A)シグナル	3189 – 3193
不明の配列	3198 – 3655
GCリッチ領域、又はその1部分**	3844 – 3895

30

40

【 0 7 8 5 】

【表 2 9】

表 A12. 新たなアネロウイルス(*Anellovirus*) アミノ酸配列 (アルファトルクウイルス(*Alphatorquevirus*), クレード 5)

TTV-RT _x 6 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 5)	
ORF2	MSWRPPVHNPNGIQRNLWEAFFRMHAAACGCGDLVGHITVLAGRYGAPPRP PAPGAPRPPLIRQLALPAPPADPQQANPQWPGGDGGEDGAGGPAAGGAVAD AEYQEDELNALFDAVEQEE (配列番号 871)
ORF2/2	MSWRPPVHNPNGIQRNLWEAFFRMHAAACGCGDLVGHITVLAGRYGAPPRP PAPGAPRPPLIRQLALPAPPADPQQANPQWPGGDGGEDGAGGPAAGGAVAD AEYQEDELNALFDAVEQEELLKTPAQTPGFDLQPVETVAQYKSLARSQWDPS LYSTHGTGDGGSIIKKLSKECLKNQLMMENIQQAQRCLDGFPHSTTKSKKAS QIQRQPRSPRKKKPLKKPSKKSKRRRYSSTSSSSTESSEESNSNSSCSNSPR RRATCT (配列番号 872)
ORF2/3	MSWRPPVHNPNGIQRNLWEAFFRMHAAACGCGDLVGHITVLAGRYGAPPRP PAPGAPRPPLIRQLALPAPPADPQQANPQWPGGDGGEDGAGGPAAGGAVAD AEYQEDELNALFDAVEQEEISNRPKGASMVSPTRQPRARRRLRYRDDNLAVL ARRSRSPRSPRGVATAAPPPAVPRAAKNRKATPTRHAPTHQDAEQPAHKS PCPWPCINKVYMFPEKPMPIHGYHGWETEQACKAFDRPPRNYLSDKPIYP WLPRSQPEFKVSFKLGCQ (配列番号 873)
ORF2t/3	MSWRPPVHNPNGIQRNLWEAFFRMHAAACGCGDLVGHITVLAGRISNRPKG ASMVSPTRQPRARRRLRYRDDNLAVLARRSRSPRSPRGVATAAPPPAVPR AAKNRKATPTRHAPTHQDAEQPAHKSPCPWPCINKVYMFPEKPMPIHGYHG WETEQACKAFDRPPRNYLSDKPIYPWLPRSQPEFKVSFKLGCQ (配列番号 874)

【0 7 8 6】

10

20

30

40

50

【表 3 0】

ORF1	MAWWGRWRRWRWRPRRWRRRRRRRVPRRRAQRPVRRRRARRVRRRRWG RRRWRRGYRRRLRLRRRRRRKKIRLTQWNPAKVRRCTIKGVLPMLCGAGRS GFNYGLHSDDYTVQKPLGQNP HGGGMSTVTFSLQVLFDQYQRFMNRWSYSN DQLDLARYFGCTFYFYRHPEIDFVAQYDNVPPMKMDENTAPNTHPSFLLQNK RKIKIPSFKTKPFGRKRVKVTVGPPKLFEDKWYSQHDLCCKVPLVSWRLTACDF RFPFCSP L TDNPCYTFQVLHENYYPVIGTSSLENGTNYNNTAITTLETWLYGKC THYQTFATDTRLNPQRPVSSSNANETYTPSGSKESI IWGQSDWANFKKNTDSN YGYCSYCPSNGTNGTVDKIKKYRDQFRWLTEMPVPNTCHIHATFARGTIKY WEYHLGWYSNIFIGNLRHNLAFRPA YIDITYNPITDKGEGNIIWFQYLTKPTTE YIETQAKCTITNIPLYAAFYGYEDYLQRTLGPYQDVETLGIICVKCPYTD PPLV HKDKSKTNWGYVFYDAHFGNGKTPEGLGQVHPYWMQRWRPYVQFQKDTM HKISRTGPF SYRDDTPSITLTA EYKFRFNWGGDSIFPQIIKNPCPDTGVRPSTGR DRRSVQVVSPLTMGPQFIFHSWDWRRGFFNQKTLKRMLEKPVNDGEYPTGPK VPRWFPPLDNQE QEGVSDTETTTTSQSSQEEAAQEALQEVQEASLQQHLLQQY REQRRIGKQLQLVMLQLTKTQSNLHINPRVLGHA (配列番号 875)
ORF1/1	MAWWGRWRRWRWRPRRWRRRRRRRVPRRRAQRPVRRRRARRRIKNPCPDT GVRPSTGRDRRSVQVVSPLTMGPQFIFHSWDWRRGFFNQKTLKRMLEKPVND GEYPTGPKVPRWFPPLDNQE QEGVSDTETTTTSQSSQEEAAQEALQEVQEASLQ QHLLQQYREQRRIGKQLQLVMLQLTKTQSNLHINPRVLGHA (配列番号 876)
ORF1/2	MAWWGRWRRWRWRPRRWRRRRRRRVPRRRAQRPVRRRRARRNIQQAQRC LDGFPHSTTKSKKASQIQRRQPRSPRKKKPLKKPSKKSKRRRYSSTSSSSESSE ESESNSNSSCSNSPRRRATCT (配列番号 877)

【 0 7 8 7 】

10

20

30

40

50

【表 3 1】

表1. 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1)

名称	TTV-CT30F
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>), クレード 1
アクセッション番号	AB064597.1
全配列: 3570 bp	

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
ATTTTGTGCAGCCCGCCAATTCTCGTTCAAACAGGCCAATCAGGAGGCTC
TACGTACACTTCCTGGGGTGTGTCTTCGAAGAGTAATAAGCAGAGGCGG
TGACGAATGGTAGAGTTTTTCCTGGCCCGTCCGCGGCGAGAGCGCGAGCG
GAGCGAGCGATCGAGCGTCCCGTGGGCGGGTGCCGTAGGTGAGTTTACAC
ACCGCAGTCAAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCTATGGGCAA
GATTCTTAAAAAATTCCTCCGATCCCTCTGTGCGCCAGGACATAAAAAACAT
GCCGTGGAGACCGCCGGTGCATAGTGTCCAGGGGCGAGAGGATCAGTGGT
TCGCGAGCTTTTTTTCAGGCCACGCTTCATTTTGCGGTGCGGTGACGCT
GTTGGCCATCTTAATAGCATTGCTCCTCGCTTTCCTCGCGCCGGTCCACC
AAGGCCCCCTCCGGGGCTAGAGCAGCCTAACCCCCCGCAGCAGGGCCCCGG
CCGGGCCCGGAGGGCCGCCGCCATCTTGGCGCTGCCGGCTCCGCCCGCG
GAGCCTGACGACCCGCAGCCACGGCGTGGTGGTGGGGACGGTGGCGCCGC
CGCTGGCGCCGCAGGCGACCGTGGAGACCGAGACTACGACGAAGAAGAGC

```

10

20

30

40

50

【 0 7 8 8 】

【表 3 2】

TAGACGAGCTTTTCCGCGCCGCCGCCGAAGACGATTTGTAAGTAGGAGAT
 GGGCGCCGCCCTTACAGGCGCAGGAGGAGACGCGGGCGACGACGACGAGA
 CGCAGACGCGAGACATAAGCCCAACCTAGTACTCAGACAGTGGCAACCTGA
 CGTTATCAGACACTGTAAGATAACAGGACGGATGCCCCCTATTATCTGTG
 GAAAGGGGTCCACCCAGTTCAACTACATCACCCACGCGGACGACATCACC
 CCCAGGGGAGCCTCCTACGGGGGCAACTTCACAAACATGACTTTCTCCCT
 GGAGGCAATATACGAACAGTTTCTGTACCACAGAAACAGGTGGTCAGCCT
 CCAACCACGACCTCGAACTCTGCAGATACAAGGGTACCACCTAAAACCTG
 TACAGGCACCCAGATGTAGACTACATAGTCACCTACAGCAGAACGGGACC
 CTTTGAGATCAGCCACATGACCTACCTCAGCACTCACCCCTTCTCATGC
 TGCTAAACAAACACCACATAGTGGTGCCCGAGCTAAAGACTAAGCCAGG
 GGCAGAAAGGCCATAAAAGTCAGAATAAGACCCCCCAAATCATGAACAA
 CAAGTGGTACTTCACCAGAGACTTCTGTAACATAGGCCCTTCCAGCTCT
 GGGCCACAGCTTACAACTCAGAAACCCCTGGCTCAGAATCAGCACCTC
 AGCCCCCTGCATAGGCTTCAATGTCTTAAAAACAGCATTTACACAAACCT
 CAGCAACCTACCTCAGCACAGAGAAGACAGACTTAACATTATTAACAACA
 CATTACACCCACATGACATAACAGGACCAACAAATAAAAAATGGCAGTAC
 ACATATACCAAACCTCAAGGGCCCCATTTACTATTACGCAAAACAGGGCCAG
 CACCTATGACTTACTACGAGAGTATGGCCTCTACAGTCCATACTACCTAA
 ACCCCACAAGGATAAACCTTGACTGGATGACCCCCACACACACGTCAGG
 TACAATCCACTAGTAGACAAGGGCTTCGGAACAGAATATACATACAGTG
 GTGCTCAGAGGCAGATGTAAGCTACAACAGGACTAAATCCAAGTGTCTCT
 TACAAGACATGCCCCGTGTTTTTCAITGTGCTATGGCTACATAGACTGGGCA
 ATTA AAAACACAGGGCTCTCCTCCTAGCGAGACGCCAGAATCTGCAT
 CAGGTGTCCCTACACAGAGCCACAGCTGGTGGGCTCCACAGAAGACATAG
 GGTTCCGTACCCATCACAGAGACCTTCATGAGGGGCGACATGCCGGTACTT
 GCACCATACATACCGTTGAGCTGGTTTTGCAAGTGGTATCCCAACATAGC
 TCACCAGAAGGAAGTACTTGAGGCAATCATTTCTGCAGCCCCCTTCATGC
 CCCGTGACCAGGGCATGAACGGTTGGGATATTACAATAGGTTACAAAATG
 GACTTCTTATGGGGCGGTTCCCTCTCCCTCAGAGCCATCGACGACCC
 CTGCCAGCAGGGAACCCACCCGATTCCCGACCCCGATAAGCACCCCTCGCC
 TCTTACAAGTGTGCAACCCGAAACTGCTCGGACCGAGGACAGTGTTCAC
 AACTGGGACATCAGACCTGGGCAGTTTAGCAAAAGAAGTATTAAGAGCT
 GTCAGAATACTCATCGSATGATGAATCTCTTGCGCCAGGTCTCCCATCAA
 AGCGAAACAAAGCTCGACTCGGCCCTCAGAGGAGAAAACCCAGAGCAAAAA
 GAATGCTATTCTCTCTCAAAGCACTCGAGGAAGAAGAGACCCCAAGAAGA
 AGAAGAACCAGCACCCCAAGAAAAAGCCAGAAAGAGGAGCTACTCCACC
 AGCTCCAGCTCCAGAGACGCCACCAGCGAGTCTCAGACGAGGGCTCAAG
 CTGCTCTTTACAGACACTCTCCGACTCCGCCAGGGAGTCCACTGGAACCC
 CGAGCTCACATAGAGCCCCACCTTACATACCAGACCTACTTTTTTCCAA
 TACTGGTAAAAAATAAATTTCTCTCCCTTCGACTGGGAAACGGAGGCC
 AGCTAGCAGGGATATTCAAGCTCCTATGCGCTTCTATCCCTCAGACACC
 CCTCACTACCCGTGGTTACCCCCCAAGCGCGATATCCCGAAAATATGTAA
 CATAAACTTCAAAATAAAGCTGCAAGAGTGAGTGATTGAGGGCCCTCCTC
 TGTTCACTTAGCGGTGCTACCTCTTAAAGTACCAAGCACTCCGAGCGT
 CAGCGAGGAGTGCGACCTCCACCAAGGGGCAACTTCTCGGGGTCCGGC
 GCTACGCGCTTCGCGCTGCGCCGACGCTCGGACCCCCCCCCGACCCGA
 ATCGCTCGCGCGATTTCGACCTGCGGCTCGGGGGGGGTCGGGGGCTTTA
 CTAAACAGACTCCGAGTTGCCACTGGACTCAGGAGCTGTGAATCAGTAAC
 GAAAGTGAGTGGGGCCAGACTTCGCCATAGGGCCTTAACTTGGGGTCGT
 CTGTCGGTGGCTTCGGGTCCGCTGGGCGCCGCCATTTAGCTTTAGAC
 GCCATTTTAGGCCCTCGCGGGCACCCGTAGGCGCGTTTTTAATGACGTCAC
 GGCAGCCATTTTGTCTGACGTTTGAGACACGTGATGGGGGCGTGCCATAA
 ACCCGGAAGCATCCCTGGTCACGTGACTCTGACGTACGGCGGCCATTTT
 GTGCTGTCCGCCATCTGTGACTTCCTTCGGCTTTTCAAAAAAAGAG
 GAAGTATGACAGTAGCGCGGGGGGGCGGCCGCTTCGCGCGCCGCCAC
 CAGGGGTGCTGCGCGCCCCCCCCCGCGCATGCGCGGGGGCCCCCCCCGG

10

20

30

40

【0 7 8 9】

【表 3 3】

GGGGGCTCCGCCCCCGGCCCCCGGTGCTAAACCCACCGCGCATGC
GCGACCACGCCCCGCGGCC (配列番号1)

アノテーション:

推定ドメイン	塩基範囲	
TATAボックス	84 – 90	
Cap部位	107 – 114	
転写開始部位	114	10
5' UTR 保存ドメイン	177 – 247	
ORF2	299 – 691	
ORF2/2	299 – 687 ; 2137 – 2659	
ORF2/3	299 – 687 ; 2339 – 2831	
ORF2t/3	299 – 348 ; 2339 – 2831	
ORF1	571 – 2613	
ORF1/1	571 – 687 ; 2137 – 2613	20
ORF1/2	571 – 687 ; 2339 – 2659	
3オープンリーディングフレーム領域	2325 – 2610	
ポリ(A)シグナル	2813 – 2818	
GCリッチ領域	3415 – 3570	

【 0 7 9 0 】

30

40

50

【表 3 4】

表 2. 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 1)

TTV-CT30F (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 1)	
ORF2	MPWRPPVHSVQGREDDQWFASFFHGHASFCGCGDAVGHLNSIAPRFPRAGPPRPPPG LEQPNPPQQGPAGPGGPPAILALPAPPAEPDDPQPRRGGGDGGAAAGAAGDRGDRD YDEEELDELFRAAAEDDL (配列番号 2)
ORF2/2	MPWRPPVHSVQGREDDQWFASFFHGHASFCGCGDAVGHLNSIAPRFPRAGPPRPPPG LEQPNPPQQGPAGPGGPPAILALPAPPAEPDDPQPRRGGGDGGAAAGAAGDRGDRD YDEEELDELFRAAAEDDFQSTTPASREPTRFPTISTLASYSKCRTRNCSDRGQCSTSG TSDVGS�AKEVLKECQNTHRMMNLLRQVSHQSETSSTRPSEEKTQSKKNAILSSKH SRKKRPQKKKNQHPKKKPRKRSYSTSSSSRDATSESSDEGSSSSLQTSSDSARESTGT PSSHRAPTLHTRPTFSQYW (配列番号 3)
ORF2/3	MPWRPPVHSVQGREDDQWFASFFHGHASFCGCGDAVGHLNSIAPRFPRAGPPRPPPG LEQPNPPQQGPAGPGGPPAILALPAPPAEPDDPQPRRGGGDGGAAAGAAGDRGDRD YDEEELDELFRAAAEDDLSPKAKQARLGLQRRKPRAKRMFLSPQSTRGRRDPRRR RTSTPRKSPERGATPPAPAPETPPASPQTRAQARLYRHPPTPPGSPLEPRAHIEPPPYIP DLLFPNTGKKKKFSPFDWETEAQLAGIFKRPMRFYPSDTPHYWLPKRDIPKICNIN FKIKLQE (配列番号 4)

10

20

【0 7 9 1】

30

40

50

【表 3 5】

ORF21/3	MPWRPPVHSVQGREDDQWSPKAKQARLGLQRRKPRAKRMLFSPQSTRGRRDPRRR RTSTPRKSPERGATPPAPAPETPPASPQTRAQARL YRHPPTPPGSPLEPRAHIEPPPYIP DLLFPNTGKKKKFSPFDWETEAQLAGIFKRPMRFYPSDTPHYPLWPPKRDIPKICNIN FKIKLQE (配列番号 5)
ORF1	TAWWWGRWRRRWRRRRPWRPRLRRRRARRAFPRRRRRRFVSRRWRRPYRRRRR RGRRRRRRRRRRHKPTLVLRQWQPDVIRHCKITGRMPLIICGKGSTQFNYYTHADDIT PRGASYGGNFTNMTFSLEAIYEQFLYHRNRWSASNHDLELCRYKGTTLKL YRHPD VDYIVTYSRTGPFESHMTYLSTHPLLMLLNKHHIVVPSLKTTPRGRKAIVRIRPPK LMNNK WYFTRDFCNIGLFQLWATGLELRNPWLRMSTLSPCIGFNVLKNISYTNLSN LPQHREDRLNIINNTLHPHDITGPNKKWQYTYTKLMAPIYYSANRASTYDLLREY GLYSPYYLNPTRLNDWMTPTHYVRYNPLVDKGFGRNRIYIQCSEADVSYNRTKSK CLLQDMPLFFMCYGYIDWAIKNTGVSSLARDARICIRCPYTEPQLVGSTEDIGFVPIT ETFMRGDMPVLAPYIPLSWFCKWYPNIAHQKEVLEAIISCSPFMPRDQGMNGWDITI GYKMDFLWGGSPGPSQIDDPCCQGGTHPIPDHPRLQVSNPKLLGPRTVPHKW DIRRGQFSKRSIKRVSEYSSDDESLAPGLPSKRNLDSAFRGENPEQKECYSLLKALE EEETPEEEEPAPQEKAQKEELLHQLQLQRRHQRLRRGLKL VFTDILRLRQGVHWN PELT (配列番号 6)
ORF1/1	TAWWWGRWRRRWRRRRPWRPRLRRRRARRAFPRRRRRRFIDDPCCQGGTHPIPD DKHPRLQVSNPKLLGPRTVPHKWDIRRGQFSKRSIKRVSEYSSDDESLAPGLPSKR NLDSAFRGENPEQKECYSLLKALEEEETPEEEEPAPQEKAQKEELLHQLQLQRRH QRLRRGLKL VFTDILRLRQGVHWNPELT (配列番号 7)
ORF1/2	TAWWWGRWRRRWRRRRPWRPRLRRRRARRAFPRRRRRRFVSHQSETSSSTRPSEE KTQSKKNAILSSKHSRKKRPQKKKNQHPKKKPRKRSYSTSSSRDATSESSDEGSSS SLQTSSDSARESTGTPSSHRAPTLHTRPTFSQYW (配列番号 8)

10

20

30

【0792】

【表 3 6】

表3. 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 2)

名称	TTV-P13-1
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>), クレード 2
アクセッション番号	KT163896.1

40

【0793】

【表 3 7】

全配列: 3451 bp

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
AATTTTGCTAAACAGACTCCGAGGTGCTCTTGGCACTGAGTGGGCGTAC
AGCAACGAAAAGTGAGTGGGGCCAGACTTCGCCATAAGGCCTTTATCTTCG
GGTCTACATCATAATAAAAGATGTGCACTTCCGAATGGCTGAGTTTTTTC
ACGCCATTCCGCAGCGGTGGAGCAGCGCAGCCACGACCCCGCGTCCCGA
GGGCGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAGTCAAGGGGCAATTTCG
GCTCGGGACTGGCCGGGGCCGGGCAAGGCTCTTAAAGCGAAACCATGTTT
CTCGGCAGGCCCTACCGCCACAGAAAGCGGCACCAGGCCGGCAAGAAAGG
GCCACTGCCACTGCCAAATCTGCAACCTGCACAGGAGAAACGGGCTGGTG
GTCCGTCTTTGATGGCCTCCGGACGCAGGGGATGGATGCCCCCGGACCTG
ACGCTCCAGGACAGGGAGGATGCCCTGTTGGACCAGCTTCTCGCGTAGCCA
CCGCAGCTTTTGTAGCTGCGACGATCCTGTGGGCCATAATAACTCTCG
CCCGCGATAATAGTCTCTGGCCAGACTCCTACTACAACTTCAGGCCAG
GGGCGCGCCGCGCCGCTACGCCTCCGCGGACGCGGGGCGCGCCCTGG
GTCTGCTCCGGACAGGGGGAAGGATCAGGGCCTCTGACCTACCCCC
TAGCCCCCGGAGGTCCCGGTAGCACGCCATGGCCTACTGGTGGGGCCGGA
GACGCCGGTGCGCCGCTGGAGGAGGCGCGCGCTCTCTCGCCGCGCGC
CGGCGGTGGCGGAGAAGGCGACGCTGGCCAGAAAGGCGCCGGTGGAGGCG
AAGGAGACGACGTGCGAGACCTGCTCGCCGCTATCGAAGGAGACGTGGGC
GCAGACGGGTAAAGGAGACGCGCTCGCCCCAGAAACTAGTACTGACTCAG
TGGAATCCCCAGACTGTGAGAAAGTGTCTTATTAGCGGCTTTCTGCCCC
GTTCTTCTGCGGACAGGGGGCTACACAGAACTTTACAGACCACTATG
ACGATGTGTTCCCCAAGGGACCCAGCGGAGGTGGGCACGGGAGCATGGTG
TTCAACCTGTCTTTCTGTACCAAGAGTTTAAAGACACCACAATAAGTG
TGCGCGCAGCAACCTGGACTTTGACTTAGTGAGATACAAGGGCACAGTGA
TAAAGCTGTACAGACACCAGGACTTTGACTACATAGTGTGGATAAGCAGG
ACCCCTCCCTTCCAGGAGAGCCTGCTCACAGTAATGACCCACCAGCCCAG
CGTCATGCTGAGGCAAAAAAGTGATAATAGTAAAGAGCTACAGGACCC
ACCCGGGGGGGCAAAACCTATGTAAGTGAAGGTTAGGCCCCCCAGACTC
CTAACTGACAAGTGGTACTTCCAGTCAGACTTCTGCAACGTTCCGCTTTT
TAGCCTACAGTTTGCCCTTGCGGAACCTGCGGTTTCCGATCTGCTCACCAC
AACTGACACCAATTGCATTAAGTCTCTGGTGTAGATGACATCTACTAC
AAGTTTCTAGATAATAAGCCTAAACAGAGTTCAGACCCCTAATGACGAAAA
CAGAATAAAATTCTGGCACGGCCTATGGTCCACTAGAGATATTTAAACA
CCACCTACATAAACACACTGTTTCCAGGCACAGACAGTCTAGTGGCCGCC
AAAGATACTGACAATAGTGTAAATAAATACCCAGCACAGCCACTAAACA
GCCCTACAAAGACAGTCAGTACATGCAAAATATATGGAATACATCAAAAA
TACATGCCTTATATACGTGGGTAGCAGAGACAACTACAAAAGACTGCAG
GCCTACTACACACAGACCTACGGAGGCTACAGAGACAATTTTTCACAGG
AAAACAGTACTCGGACTACAGAGTAGGCATGTTTACTCCAGCCTTCTGTA
GCTCCAGCAGACTAAATCCCCAGAACCCAGGGGATACACAGAGGTCTCC
TACAACCCCTGGACAGACGAGGGCACGGGCAACGTAGTGTGCTGCAGTA
TCTGACTAAAGAGACCTCAGACTACAAACCAGGTGGTGGGAGCAAGTTCT
GCATAGAAGGTGTGCCCTATGGGCAGCGCTGGTGGGATACGTAGACATG
TGTAAGGAGAGGGCAAGGACCCGGGCATCAGACTAACTGTCTCTCTGTT
AGTCAAGTGTCCCTATACAAAGCCTCAGCTGTATGACAAAAAAACCCCG
AGAAACTGTTTGTACCTTACTCCTATAACTTTGGGCACGGCAAGATGCCG
GGGGGAGACAAATACATACCCATAGAGTTCAAAGACAGGTGGTACCCCTG
CCTGCTCCACCAAGAGGAGTGGATAGAGGACATTGTCAGGTGGGACCCCT
TCGTTTCCAAAAGACATGCCAGCAGCGTCACCTGCATGATGAGGTACAGC
TCTCTTTTAACTGGGGCGGTAATATAATCCAAGAACAGGCCGTGGAAGA
CCCTGTAAAGAAAGGCACCTTCGTGCTTCCCGGAACCAAGTGGCATCGCTC
GCATACTACAAGTCAGCAACCCGGCCAAGCAGACCCACGACAACCTGG
CACTCGTGGGACTGGAGACGATCCCTCTTTACAGAGACGGGTCTTAAAG

```

10

20

30

40

【0 7 9 4】

【表 3 8】

AATGCGCGAACAACAACCATATGATGAACTGTCTTATACGGGGCCCTAAAA
 AGCCAAAACCTGTCCCTTCCCGCAGGGCCCGCCGTCCCCGGTGCCGCCGCTC
 GCCTCCTCCTGGTGGGAAACAAAACAGGTACCTTCGCCAGACGTACAGCGA
 GACGGAGACCGAAGCAGAAGCCCACCAAGAGGAAGAGACGGAGCCGGAGG
 AGGGAGTCCAGCTCCAGCAGCTGTGGGAGCAGCAACTCCTGCAAAAGCGA
 CAGCTGGGAGTCTGTGTCCAGCAACTCCTCCGACTCAGACAGGGGGCGGA
 GATCCACCCGGGCCCTCCTATAATTCTGGGCCCCAGAACCCGTACCTGCT
 TTTCCCGGAGCAGGCCCTCCAAAAGTGCCTATTTTGACCCCTTTGGTC
 AGAAAACAGAGCTAGAGCTGTGCGGCTGCTTCGACAGGCCGCCAGGAAC
 AACCCCTACGACCACCCCTTCTACCCCTGGCTGCCCAAAGAGCCTCCCTC
 CTACTACCAGGGCTACAAAAGTGTCTTTCAAACTAGGGTCCACCCAGACA
 AGCATGTGTGAACCCCGCCAATAAACCACTGCTGCTACACTGATTCTTAG
 GCCGTGGGAGTCTCAGTGGTGGTGTCTACCTCTTAAGGTCACTAAGCAC
 TCCGAGCGTTAGCGAGGAGTGCAGCCCTACCCCTGGGCCCCACTTCTTCG
 GAGCCGCGCGCTACGCCTTCGGCTGCGCGCGGCACCTCAGACCCCGCTC
 GTGCTGACACGCTTGCSCGTGTGAGACCACTTCGGGCTCGCGGGGGTGG
 G (配列番号9)

10

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

TATAボックス

112 – 119

20

イニシエータエレメント

128-148

転写開始部位

148

5' UTR 保存ドメイン

204 – 273

ORF2

412-912

ORF2/2

412 – 908 ; 2490 – 3039

ORF2/3

412 – 908 ; 2725 – 3208

ORF1

729 – 2972

ORF1/1

729 – 908 ; 2490 – 2972

30

ORF1/2

729 – 908 ; 2725 – 3039

3オープンリーディングフレーム領域

2699 – 2969

ポリ(A)シグナル

3220 - 3225

GCリッチ領域

3302 – 3541

【 0 7 9 5 】

40

50

【表 3 9】

表 4. 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 2)

TTV-P13-1 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 2)	
ORF2	MASGRRGWMPPDLTVQEREDAWWTSFCASHRSFCSCDDPVGHINTLARDN SPLAQTPTTTTGQGGPPPPPTPPRTPGPRPGSAPDQGGIRASWTYPLAPGGPGS TPWPTGGAGDAGGAAGGGAGVLSAAAGGGGEGDAGPEGAGGGEGDDVR DLLAAIEGDVGADG (配列番号 10)
ORF2/2	MASGRRGWMPPDLTVQEREDAWWTSFCASHRSFCSCDDPVGHINTLARDN SPLAQTPTTTTGQGGPPPPPTPPRTPGPRPGSAPDQGGIRASWTYPLAPGGPGS TPWPTGGAGDAGGAAGGGAGVLSAAAGGGGEGDAGPEGAGGGEGDDVR DLLAAIEGDVGADGPWKTPVRKAPSSFPEPVASLAYKSA TRPSRPPRQPGT RGTGDDPSLQRRVLKECANNNHMMNCLIRALKSQNCFPQGPSPVPPSPPP GGKQNRSPRQTSARRRPKQKPTKRKRRSRRRESSSSSSCGSSNSCKSDSWESC SSNSSDSRGRSTRASYNWAPVPAPFGAGPSKSAYF (配列番号 11)
ORF2/3	MASGRRGWMPPDLTVQEREDAWWTSFCASHRSFCSCDDPVGHINTLARDN SPLAQTPTTTTGQGGPPPPPTPPRTPGPRPGSAPDQGGIRASWTYPLAPGGPGS TPWPTGGAGDAGGAAGGGAGVLSAAAGGGGEGDAGPEGAGGGEGDDVR DLLAAIEGDVGADGARRPRCRRRLLLVGNTGHLARRQRDGRSRSPPRGR DGAGGGSPAPAAVGAATPAKATAGSRVPATPPTQTGGGDPPGPRIIPGPQNP YLLFPEQAPPKVPIFDPFGQKTELELCGCFDRPPRNNPYDHPFY PWLPKEPPS YYQGYKVSFKLGFHPDKHV (配列番号 12)

10

20

30

【0 7 9 6】

40

50

【表 40】

ORF1	MAYWWGRRRRWRRWRRRRRPLRRRRRWRRRRRWPRRRRWRRRRRRARP ARRYRRRRGRRRVRRRRRPQKL VLTQWNPQTVRKCVIRGFLPLFFCGQGAY HRNFTDHYDDVFPKGPSGGGHGSMVFNL SFL YQEFKKHHNKWSRSNLDFD LVRYKGTVIKLYRHQDFDYIVWISRTPPFQESLL TVMTHQPSVMLQAKKCII VKSyrthPGGKPYVTAKVRPPRLT DKWYFQSDFCNVPLFSLQFALAE LRFP ICSPQTD TNCINFLVLDDIYYKFLDNKPKQSSDPNDENRIKFWHGLWSTMRY LNTTYINTLFP GTDSLVA AKD TDNSVNKY PSTATKQPYKDSQYMQNIWNTS KIHALYTWVAETNYKRLQAYYTQTYGGYQRQFFT GKQYWDYRVGMFSPA FLSPSRLNPQNPGAYTEVSYNPWTDEGTGNVVCLQYLTKETSDYKPGGGGSK FCIEGVPLWAALVGYVDMCKKEGKDPGIRLNCLLLVKCPYTKPQLYDKKNP EKLFPYSYNFGHGKMPGGDKYIPIEFKDRWYPCLLHQEEWIEDIVRSGPFV PKDMPSSVTCMMRYSSLFNWGGNIIQEQA VEDPCKKGT FVPGTSGIARILQ VSNPAKQTPTTTWHSWDWRRSLFTETGLKRMREQQPYDELSYTGPKKPKLS LPAGPAVPGA AVASSWWETKQVTSPDVSETETEA EAHQEEETEPEEGVQLQ QLWEQQLLQKRQLGVVFQQLLR LRQGAEIHPGLV (配列番号 13)	10
ORF1/1	MAYWWGRRRRWRRWRRRRRPLRRRRRWRRRRRWPRRRRWRRRRRRARP ARRYRRRRGRRRAVEDPCKKGT FVPGTSGIARILQVSNPAKQTPTTTWHS WDWRRSLFTETGLKRMREQQPYDELSYTGPKKPKLSLPAGPAVPGA AVASS WWETKQVTSPDVSETETEA EAHQEEETEPEEGVQLQQLWEQQLLQKRQLG VVFQQLLR LRQGAEIHPGLV (配列番号 14)	20
ORF1/2	MAYWWGRRRRWRRWRRRRRPLRRRRRWRRRRRWPRRRRWRRRRRRARP ARRYRRRRGRRRGPPSPVPPSPPPGGKQNRSPRQTSARRRPKQKPTKRKRRS RRRESSSSSCGSSNSCKSDSWESCSSNSSDSRGRSTRASYN SWAPEPVPAF PGAGPSKSAYF (配列番号 15)	30

【0797】

【表 4 1】

表5. 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	TTV-tth8
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
|      |      |      |      |      |
TGCTACGTCACCTAACCCACGTGTCCTCTACAGGCCAATCGCAGTCTATGT
CGTGCACTTCCTGGGCATGGTCTACATAAATTATATAAATGCTTGCACTTC
CGAATGGCTGAGTTTTTGCTGCCCCGTCCGCGGAGAGGAGCCACGGCAGGG
GATCCGAACGTCCTGAGGGCGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGAAG
TCAAGGGGCAATTCGGGCTCAGGACTGGCCGGGCTTTGGGCAAGGCTCTT
AAAAATGCACTTTTCTCGAATAAAGCAGAAAAGAAAAGGAAAGTGCTACTGC
TTTGCGTGCCAGCAGCTAAGAAAAAACCAACTGCTATGAGCTTCTGGAAA
CCTCCGGTACACAAATGTCACGGGGATCCAACGCATGTGGTATGAGTCCTT
TCACCGTGGCCACGCTTCTTTTGTGGTTGTGGGAACTCTATACTTCACA
TTACTGCACTTGCTGAAACATATGGCCATCCAACAGGCCCGAGACCTTCT
GGGCCACCGGGAGTAGACCCCAACCCCAACATCCGTAGAGCCAGGCCTGC
CCCGGCCGCTCCGGAGCCCTCACAGGTTGATTGAGACCAGCCCTGACAT
GGCATGGGGATGGTGAAGCGACGGAGGCGCTGGTGGTTCCGGAAGCGGT
GGACCCGTGGCAGACTTCGCAGACGATGGCCTCGATCAGCTCGTCGCCGC
CCTAGACGACGAAGAGTAAGGAGGCGCAGACGGTGGAGGAGGGGGAGACG
AAAAACAAGGACTTACAGACGCAGGAGACGCTTTAGACGCAGGGGACGAA
AAGCAAACTTATAATAAACTGTGGCAACCTGCAGTAATTAAAAAGATGC
AGAATAAAGGGATACATACCACTGATTATAAGTGGGAACGGTACCTTTGC
CACAACTTTACCACTCACATAAATGACAGAATAATGAAAGGCCCTTCG
GGGGAGGACACAGCACTATGAGGTTTCACTCTACATTTTGTGTTGAGGAG
CACCTCAGACACATGAACCTTCTGGACCAGAAGCAACGATAACCTAGAGCT
AACCAGATACTTGGGGGCTTCAGTAAAAATATACAGGCACCCAGACCAAG
ACTTTATAGTAATAACAAACAGAAGAACCCTCTAGGAGGCAACATCTAC
ACAGCACCCCTCTCTACACCCAGGCAATGCCATTTTACCAAAACACAAAAT
ATTAGTACCAAGTTTACAGACAAGACCAAGGGTAGAAAAGCAATTAGAC
TAAGAATAGCACCCCCACACTCTTTACAGACAAGTGGTACTTTCAAAAG
GACATAGCCGACCTCACCCTTTTCAACATCATGGCAGTTGAGGCTGACTT
GCGGTTTCCGTTCTGCTCACCACAACTGACAACACTTGCAATCAGCTTCC
AGGTCTTAGTTCCGTTTACAACAACCTACCTCAGTATTAATACCTTTAAT
AATGACAACCTCAGACTCAAAGTTAAAGAATTTTAAATAAAGCATTTC

```

10

20

30

40

50

【0798】

【表 4 2】

AACAAACAGGCACAAAAGGAACAAGTTTAAATGCACTAAATACATTTAGAA
 CAGAAGGATGCATAAGTCACCCACAACATAAAAAACCAAACCCACAAATA
 AACAAACCATTAGAGTCACAATACTTTGCACCTTTAGATGCCCTCTGGGG
 AGACCCCATATATATAATGATCTAAATGAAAACAAAAGTTTGAACGATA
 TCATTGAGAAAACTACTAATAAAAAACATGATTACATACCATGCAAACTA
 AGAGAATTTCCAAATTCATACCAAGGAAACAAGGCCCTTTGCCACCTAAC
 AGGCATATACAGCCACCATACCTAAACCAAGGCAGAATATCTCCAGAAA
 TATTTGGACTGTACACAGAAATAATTTACAACCCCTTACACAGACAAAGGA
 ACTGGAACAAAGTATGGATGGACCCACTAACTAAAGAGAACAACATATA
 TAAAGAAGGACAGAGCAAATGCCTACTGACTGACATGCCCTATGGACTT
 TACTTTTGGATATACAGACTGGTGTAAGGACACTAATAACTGGGAC
 TTACCACTAACTACAGACTAGTACTAATATGCCCTTATACCTTTCCAAA
 ATTGTACAATGAAAAAGTAAAGACTATGGGTACATCCCGTACTCCTACA
 AATTCGGAGCGGCTCAGATGCCAGACGGCACTACATACCTTTTCAG
 TTTAGAGCAAAGTGGTACCCACAGTACTACACCAGCAACAGGTAATGGA
 GGACATAAGCAGGAGCGGGGCCCTTTGCACCTAAGGTAGAAAAACCAAGCA
 CTCAGCTGGTAATGAAGTACTGTTTAACTTTAACTGGGGCGGTAAACCT
 ATCATTGAACAGATTGTTAAAGACCCAGCTTCCAGCCACCTATGAAAT
 ACCCGGTACCGGTAAACATCCCTAGAAGAATACAAGTCATCGACCCGCGGG
 TCCTGGGACCGCACTACTCGTTCCGGTTCATGGGACATGCGCAGACACACA
 TTTAGCAGAGCAAGTATTAAGAGAGTGTGAGAACAACAAGAACTTCTGA
 CCTTGTATTCTCAGGCCCAAAAAGCCTCGGGTCGACATCCCAAAACAAG
 AAACCCAAGAAGAAAGCTCACATTCAC'TCCAAAGAGAAATCGAGACCGTGG
 GAGACCCAGCAAGCAAAAGCGAGACAGAAGCCCTCTCGCAACAGAGCCAACA
 GGTCCCTTTCCAACAGCAGTTGCAGCAGCAGTACCAAGAGCAGCTCAAGC
 TCAGACAGGGAATCAAAGTCTCTTCGAGCAGCTCATAGGACCCAACAA
 GGGGTCCATGTAAACCCATGCCACGGTAGGTCCCAGGCAGTGGCTGTTT
 CCAGAGAGAAAGCCAGCCCCAGCTCCTAGCAGTGGAGACTGGGCCATGGA
 GTTTCTCGCAGCAAAAATATTTGATAGGCCAGTTAGAAGCAACCTTAAAG
 ATACCCCTTACTACCCATATGTAAAAACCAATACAATGTCTACTTTGAC
 CTTAAATTTGAATAAACAGCAGCTTCAAACCTTGCAAGGCCGTGGGAGTTT
 CACTGTGCGGTGTCTACCTCTAAAGGTCACTAAGCACTCCGAGCGTAAGC
 GAGGAGTGGCACCCTCCCCCTCGAACAACCTTCTTCGAGTCCGGCGCTA
 CGCCTTCGGCTGCGCCGGACACCTCAGACCCCCCTCCACCCGAAACGCT
 TGGCGCTTTTCGGACCTTCGGCTCGGGGGGTGCGGAGCTTTATTAAACG
 GACTCCGAAGTGCTCTTGGACACTGAGGGGGTGAACAGCAACGAAAGTGA
 GTGGGGCCAGACTTCGCCATAAGGCCTTTATCTTCTTGGCATTGTGTCAGT
 GTCCGGGGTCGCCATAGGCTTCGGGCTCGTTTTTAGGCCTTCCGGACTAC
 AAAAATCGCCATTTTGGTGACGTACGGCCGCCATCTTAAGTAGTTGAGG
 CGGACGGTGGCGTGAGTTCAAAGGTCACCATCAGCCACACCTACTCAAAA
 TGGTGGACAATTTCTTCGGGTCAAAGGTTACAGCCGCCATGTTAAAAACA
 CGTGACGTATGACGTACGGCCGCCATTTTGTGACACAAGATGGCCGACT
 TCCTTCCTCTTTTCAAAAAAAGCGGAAGTGCCTCCCGCGCGCGCGCGG
 GCGCGCGCTGCGCGCGCGCGCCAGTAGGGGGAGCCATGCGCCCCCCCCC
 CGCATGCGCGGGGCCCCCCCCCGCGGGGGCTCCGCCCCCGGCCCCC
 CCG (配列番号16)

10

20

30

40

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

TATAボックス

83 – 88

Cap部位

104 – 111

転写開始部位

111

5' UTR 保存ドメイン

170 – 240

【 0 7 9 9 】

【表 4 3】

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
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

10

【0 8 0 0】

【表 4 4】

表 6. 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)

20

TTV-tth8 (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 DDGLDQLVAALDDEELLKTPASSPPMKYPVPVTSLEEYKSSSTRGSWDRRTTRSGHGT CADTHLAEQVLRECQNNKKLLTLYSQAQKSLGSTSQNKPKKKAHIHSKENRDRG RPRKKARQKPSRKRAKRSPSNSSCSSTKSSSSSDRESKSSSSSS (配列番号 18)
ORF2/3	MSFWKPPVHNVTGIQRMWYESFHRGHASFCGCGNPILHITALAETYGHPTGPRPSG PPGVDPNPHIRRARPAPAAPEPSQVDSRPALTWHGDGGSDGGAGGSGSGGPVADFA DDGLDQLVAALDDEEPKKASGRHPKTRNPRRKLTFTPKRIETVGDRGRKRDRSPLA REPRGPLPTAVAAAVPRAAQAQTGNQSPLRAAHKDPTRGPCKPMPTVGPRQWLFP ERKPAPAPSSGDWAMEFLAAKIFDRPVRSNLKDTPIYPYVKNQYNVYFDLKFE (配列番号 19)
ORF2t/3	MSFWKPPVHNVTGIQRMWPKKASGRHPKTRNPRRKLTFTPKRIETVGDRGRKRDR SPLAREPRGPLPTAVAAAVPRAAQAQTGNQSPLRAAHKDPTRGPCKPMPTVGPRQ WLFPERKPAPAPSSGDWAMEFLAAKIFDRPVRSNLKDTPIYPYVKNQYNVYFDLK FE (配列番号 20)

30

40

【0 8 0 1】

50

【表 4 5】

ORF1	MAWGWWKRRRRWWFRKRWTRGRLRRRWPRSARRRPRRRRVRRRRRWRRGRRK TRTYRRRRRRFRRRGRKAKLIKLWQPAVIKRCRIKGYIPLIISGNGTFATNFTSHINDR IMKGPFGGGHSTMRFSLYILFEEHLRHMNFWTRSDNLELTRYLGA SVKIYRHPDQ DFIVIYNRRTPPLGGNIYTAPSLHPGNAILAKHKILVPSLQTRPKGRKAIRLRIAPPTLFT DKWYFQKDIADLT LFNIMAVEADLRFPFCSPQTDNTCISFQVLSSVYNNYLSINTFN NDNSDSKLKEFLNKAFTTGTGKGTSLNALNTFRTEGCISHPQLKKPNPQINKPLESQ YFAPLDALWGDPIYYNDL NENKSLNDIIEKILIKNMITYHAKLREFPNSYQGNKAFC HLTGIYSPPYLNQGRISPEIFGLYTEIYNPYTDKGTGNKVWMDPLTKENNIYKEGQS KCLLTDMPLWTLLFGYTDWCKKDTNNWDLPLNYRLVLICPYTFPKLYNEKVVDYG YIPYSYKFGAGQMPDGSNIYPFQFRAK WYPTVLHQQQVMEDISRSGPFAPKVEKPS TQLVMKYCFNFWGGNPIIEQIVKDPSFQPTYEIPGTGNIPRRIQVIDPRVLGPHYSFR SWDMRRHTFSRASIKRVSEQQETSDLVFSGPKKPRVDIPKQETQEESHSLQRESRP WETEESETEALSQESQEVFPQQQLQQQYQEQLKL RQGIKVLFEQLIRTQQGVHVN PCLR (配列番号 21)
ORF1/1	MAWGWWKRRRRWWFRKRWTRGRLRRRWPRSARRRPRRRRIVKDPSFQPTYEIPG TGNIPRRIQVIDPRVLGPHYSFRSWDMRRHTFSRASIKRVSEQQETSDLVFSGPKKPR VDIPKQETQEESHSLQRESRPWETEESETEALSQESQEVFPQQQLQQQYQEQLKL RQGIKVLFEQLIRTQQGVHVNCLR (配列番号 22)
ORF1/2	MAWGWWKRRRRWWFRKRWTRGRLRRRWPRSARRRPRRRRAQKSLGSTSQNKK PKKKAHIHSENDRDRGRPRKKARQKPSRKRKRSPSNSSCSTKSSSSSDRESKSS SSS (配列番号 23)

【0802】

【表 4 6】

表7. 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 4)

名称	TTV-HD20a
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>), クレード 4
アクセッション番号	FR751492.1

全配列: 3878 bp

```

1           10           20           30           40           50
|           |           |           |           |           |
AAATACGTCACCTAACCACGTGACTCCACAGGCCAACACAGTCTATGTC
GTGCACTTCTGGGCACTGGTCTACGTGATAATATAAAGCGGTGCACTTCC
GAATGGCTGAGTTTTCCACGCCCGTCCGAGCGAGATCGCGACGTAGGAG
CGATCGAGCGTCCCGAGGGCGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAG
TCAAGGGGCAATTCCGGGCTCGGGAGGCCGGGCCATGGGCAAGGCTCTTAA
AAAGCTATGTTTCTCGGTAAAATCTACAGGAAGAAAAGGAACTGCTTCT
GCAGGCTGTGCGTGCTCCGCGAGCGCCATCTTCCATGAGCCGCTGCTGGT
GTCCCCCTCGGGGTGATGTCTCCTCCCGCGAGTCTCGATGGTACGAGGCG

```

【 0 8 0 3 】

【 表 4 7 】

GTTCGAGGAAGCCACGATGCTTTTTGTGGCTGTAGTGAACCTATTCTTCA
 TCTTTCTCGTCTGGCTGCACGTTTTAAACCATCAGGGACCTCCGACGCCCC
 CCACGGACGACCGTGCGCCGCAGAATACCCAGTGAGACGCGTGTGCGCT
 CTCCCCAGCTACCCCGGCGAGGGTCCCCAGGCTAGATGGCTGGTGGGGA
 TGGAGGCGCCGCTGGTGGCGACCGAAGAGAAGGTGGAGATGGCGGCGCGC
 GCGCCGCCGAAGACGAGTACCAGCCCGAAGACCTAGACGAGCTTTTCGGC
 GCTATCGAACAAAGACAGTAAGGAGGAGGCGAAGGGGGAGGCGGAGGGGC
 TACCGGCGCCGTTACAGACTGAGACGCTATGCCAGACGCGAGTTCCGACG
 CAAAAAGATAGTACTGACTCAGTGGAAACCCCGAGACTACCAGAAAAATGTA
 TAATAAGGGGCATGATGCCAGTACTGTGGGCCGGCATGGGTACGGGGGGC
 AGAACTATGCACTGAGGTGAGTACTATGTGGTGAACAAAGGGTTCCG
 GGGCTCCTTCGCCACGGAGACCTTCTCCCTGAAGGTCTCTATGACCAGT
 TTCAAAGGGGCTTCAACAGGTGGTCCCACTAACGAGGACCTAGACCTG
 GCCCGCTACAGGGGCTGCAAGGTGGACTTTTTACAGACATAAAGACACAGA
 CTTTATAGTGTACTTTACAAACAATCCTCCCATGAAGACCAACCAGTTCT
 CCGCGCCCTGACGACCCCGGCATGCTCATGCGCAGTAAATACAAAGTC
 CTATTCCCAGCTTCCAGACCAGACCAAGGGTCGCAAAACAGTAACCGT
 TAAAAAAGACCCCCAACTATTCAAGACAAGTGGTACCCAGCAGG
 ACCTGTGTTTCAGTTCTCTGTGCCAAGTGAACGTGACCGCAGCTGATTT
 ACACATCCGTTCCGGCTCACCCTAACTGAAACTCCTTGCGTAGAGTTCCA
 GGTGCTGGGTGACTTGTACAATACATGTCTCAATAACGACCTTCCGCAAT
 TTAGTGAATTAGGAGAAATAACTAGTGCCTACTCAAAACCAACTCAAAAT
 AACCTAAAAGAAATATACAAAGAATTTGTTACAAAAAGCCACATCAGGACA
 CTACTGGCAGACATTCATAACCAACAGCATGGTCAGACACACATAGATG
 CAGACAAAGCTAAAGAAGCACAAGAGCATCCACCACACCTCATACAAC
 AATGACCCCTTCCCCACAATACCTGTAAATCAGAGTTTGCACAGTGGAA
 AAAGAAATTCACAGACACTAGAGACAGCCCTTTCTTTTGGCCACTTACC
 ATCCCGAAGCTATAAAGACACAATATGAAAAATGAGAGAGAACAACTTT
 AAGCTAGAGACAGGACCCAATGACAAGTATGGAGACTACACAGCACAGTA
 CCAAGGAAACACACACATGCTAGACTACTACCTTGGCTTTTACAGCCCCA
 TATTCCTCTCAGATGGAAGGTCTAACGTAGAATCTTCACTGCCTACAGA
 GACATAGTATACAATCCCTTCTTAGACAAGGCCAGGGCAACATGGTGTG
 GTTTCAGTACCACACAAAGACAGACAACAAGTTTAAAAAACCAGAGTCCC
 ACTGGGAAATCAAGACATGCCCCGTGGGGCCCTCCTAAACGGATATGTA
 GACTACTTAGAGACTCAAATACAGTATGGTGACCTCAGTAAAGAAGGGAA
 AGTCTCATCAGGTGTCCCTACACCAAGCCAGCACTAGTAGACCCAGAG
 ACGACACTGCAGGATATGTAGTCTACAACAGAACTTTGGCAGAGGCAAG
 TGGATAGACGGAGGGGGCTACATCCCGCTGCACGAGAGGACAAAATGGTA
 CGTGATGCTCAGATACCAGACGGACGTCTTCCATGACATAGTGACCTGTG
 GGCCCTGGCAGTACAGAGACGACAACAAAACAGCCAGCTAGTGGCCAAA
 TACCGCTTCAGCTTTATATGGGGAGGTAACACTGTCCACTCTCAGGTCTAT
 CAGAAACCCGTGCAAGACAACCAAGTATCCGGTCCCCGTGACAGCCTA
 GGGATATACAAGTCTGTGACCCGCAACCCATCACGCCGCCGTGGCTCCTC
 CACAGCTTCGACCAGCGAAGAGGCCTCTTTACTGAAACAGCTCTCAGGCG
 CCTGCTCCAGGAACCTACCTGGCGAGTATGCTGTAGCACCTCAGGA
 CACCCCTCCTTTTCTACCCTCAGAATACCAGCGAGAAGACGGCGCTGCA
 GAAAGCGCCTCAGGTTACCCGGCCAAAAGACCCCGTATCTGGTCTAGAAGA
 GAGTCAGACGGAGACGATCTCTCGAGGAGAACCCGGCGGAGACGACGA
 GGGAGCTCCTCCAGCGAAAGCTCCGAGAGCAGCGAGCACTCCAGTTCCAA
 CTCCAGCACTTCGCGGTCCAACCTCGCCAAGACCCAGGCGAATCTCCACGT
 AAACCCCTGTTATCTTTCCCGCAATGAATAAGGTCTTTCTGTTTCCCC
 AGAGGGTCCCAAGCCCATCTTGGGCAAGAGGCTGGCAGGACGAGTACG
 AGACCTGCAGGGTCTGGAACAGACCTGCCAGAACCACACACAGACACC
 CCTTCTATCCTGGGCCCCCACAAAGTTCCATGTAAGCTTCAAACCTGG
 CTTCATAATAAATTACTAGGCCGTGGAACCTCTCAGTGGTGGGTCTACC
 TCTAAGGTCACTAAGCACTCCGAGCGTCAGCGAGGAGTGGACCCCTCTA
 CCCTGGTGCAACGCCCTCGGCGGCCGCGCTACGCCCTTCGGCTGCGCGC

10

20

30

40

【 0 8 0 4 】

50

【表 48】

GGCACCTCGGACCCCCGCTCGTGTGACGCGCTCGCGCGCGTTCAGACCAC
 TTCGGGGCTCGCGGGGGTTCGGGAATTTTGCTAAACAGACTCCGAGTTGCCA
 TTGGACACTGTAGCTGTGAATCAGTAACGAAAGTGAGTGGGGCCAGACTT
 CGCCATAGGGCCTTTATCTTCTTGCCATTGGTCCGTGTAGGGGGTTCGCCA
 TAGGCTTCGACCTCCCTTTTAGGCCTTCCGGACTACAAAAATGGCGGATT
 CAGTGACGTCACGGCCGCCATTTTAAGTAGGTGCCGTCCAGGACTGCAGT
 TCCGGGTGAGAGTGCACTCCTCGGCGGAACCTGCACAAAATGGCGGTCAAT
 ATCTTCCGGGTCAAAGGTACACCTACGTCATAAGTCACGTGACTGGGTC
 CTGCTACGTCATATGCGGAAGTAGGCCCCGCCACGTGACTCGTCACGTGG
 GCGCTGCGTCACGGCGGCCATTTTGTATCACAAAATGGCGGACTTCCTTC
 CTCTTTTTTAAAAATAACGGCCCAGCGGCGGCGCGCGCGCTTCGCGCGCG
 CGCGGGGGGGCTCCGCCCCCCCCCGCGCATGCGCGGGGGCCCCCCCCCGCG
 GGGGGCTCCGCCCCCGGTCCCCCCCCG (配列番号24)

10

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

TATAボックス

82 - 87

イニシエータエレメント

95-115

転写開始部位

115

20

5' UTR 保存ドメイン

170 - 238

ORF2

335 - 721

ORF2/2

335 - 717 ; 2446 - 2902

ORF2/3

335 - 717 ; 2675 - 3109

ORF1

586 - 2928

ORF1/1

586 - 717 ; 2446 - 2928

ORF1/2

586 - 717 ; 2675 - 2902

3オープンリーディングフレーム領域

2640 - 2899

30

ポリ(A)シグナル

3106 - 3114

GCリッチ領域

3768 - 3878

【0805】

40

50

【表 4 9】

表 8. 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 4)

TTV-HD20a (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>)クレード 4)	
ORF2	MSRCWCPPRGDVSSRESRWYEA VRGSHDAFCGCSDPILHLSRLAARFNHQQ PPTPPTDDRAPQNTTPVRLLPLPSYPGEGPQARWPGGDGGAAGGDRREGGD GGARAAEDEYQPEDLDELFGAIEQEQ (配列番号 25)
ORF2/2	MSRCWCPPRGDVSSRESRWYEA VRGSHDAFCGCSDPILHLSRLAARFNHQQ PPTPPTDDRAPQNTTPVRLLPLPSYPGEGPQARWPGGDGGAAGGDRREGGD GGARAAEDEYQPEDLDELFGAIEQEQSSETRAKTTKYPVPVDSLGIYKSLTR NASRRRGSSSTASTSEEASLLKQLSGACSRNHYLASMLLAPSGHPSSFYPQNTS EKTALQKAPQVHRPKDPVSGQKRVRRRRSPRRRTRRRRRGSSSESSESSEH SSSNSSTSRSNSPRPRRIST (配列番号 26)
ORF2/3	MSRCWCPPRGDVSSRESRWYEA VRGSHDAFCGCSDPILHLSRLAARFNHQQ PPTPPTDDRAPQNTTPVRLLPLPSYPGEGPQARWPGGDGGAAGGDRREGGD GGARAAEDEYQPEDLDELFGAIEQEQIPARRRRCRKRLRFTGQKTPYLVRE SDGDDLGGEPGGDDEGAPPAKAPRAASTPVPTPALRGPTRQDPGESPRKPP VIFPAMNKVFLFPPEGPKPILGKEAWQDEYETCRVWNRPARTHHTDTPFYF WAPHKFHVSKLGFQ (配列番号 27)

【0806】

10

20

30

40

50

【表 5 0】

ORF1	MAWWGWRRRWWRPKRRWRWRRARRRRRVPARRPRRAFRRYRTRTVRRR RRGRRRGYRRRYRLRRYARRRFRRKKIVLTQWNPQTTRKCIIRGMMPVLW AGMGTGGRNYAVRSDDYVVNKGFGGSFATETFSLKVL YDQFQRGFNRRSH TNEDLDLARYRGCRWTFYRHKDTDFIVYFTNNPPMKTNQFSAPLTTPGMLM RSKYKVLIPSFQTRPKGRKT VTKIRPPKLFQDKWYTQQDLCSVPLVQLNVT AADFTHPFGSPLTETPCVEFQVLGDL YNTCLNIDLPQFSELGEITSAYS KPNSN NLKELYKELFTKATSGHYWQTFITNSMVR AHIDADKAKEAQRAS TTPSYNN DPFPTIPVKSEFAQWKKKFTDTRDSPFLFATYHPEAIKDTIMKMRENNFKLET GPNDKYGDYTAQYQGNTHMLDY YLGFYSPIFLSDGRSNVEFFTA YRDIVYN PFLDKAQGNMVWFQYHTKTDNKFKKPECHWEIKDMPLWALLNGYVDYLE TQIQYGDLSKEGKVLIRCPYTKPALVDPRDDTAGYVVYNNRNFGRGKWIDGG GYIPLHERTKWYVMLRYQTDVFHDIVTCGPWQYRDDNKNSQLVAKYRFSFI WGGNTVHSQVIRNPCKDNQVSGPRRQPRDIQV VDPQRITPPWVLHSFDQRR GLFTETALRRLLEPLPGEYAVSTLRTPLLFLPSEYQREDGAAESASGSPAKR PRIWSEESQTETISSEENPAETTRELLQRKLREQRALQFQLQHFAVQLAKTQA NLHVNPLLSFPQ (配列番号 28)
ORF1/1	MAWWGWRRRWWRPKRRWRWRRARRRRRVPARRPRRAFRRYRTRTVIRN PCKDNQVSGPRRQPRDIQV VDPQRITPPWVLHSFDQRRGLFTETALRRLLE PLPGEYAVSTLRTPLLFLPSEYQREDGAAESASGSPAKRPRIWSEESQTETISS EENPAETTRELLQRKLREQRALQFQLQHFAVQLAKTQANLHVNPLLSFPQ (配列番号 29)
ORF1/2	MAWWGWRRRWWRPKRRWRWRRARRRRRVPARRPRRAFRRYRTRTNTSE KTALQKAPQVHRPKDPVSGQKRVRRRRSPRRRTRRRRRGSSSESSESSEHSS SNSSTSRSNSPRPRRIST (配列番号 30)

【0807】

10

20

30

40

50

【表 5 1】

表9. 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 5)

名称	TTV-16 (TUS01)
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>), クレード 5
アクセッション番号	AB017613.1

全配列: 3818 bp

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
AAGTCCGCCACTAACCACGTGACTCCCGCAGGCCAACCCAGTACTATGTC
GTCCACTTCCTGGGACGAGTCTACGTCTGATATAAGTAAGTGCACTTCC
GAATGGCTGAGTTTTCCACGCCCGTCCGCAGCGAGAACGCCACGGAGGGG
AGTCCGCGCGTCCCGAGGGCGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAG
TCAAGGGGGCAATTCCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCCCCGGGCAAGGCTCTT
AAAAAATGCACTTTCGCAGAGTGCAGCGAAAAGGAAACTGCTACTGCAA
GCTGTGCGAGCTCCACCGAAGGCACCTGCCATGAGCTTCACCACACCTAC
TATTAATGCCGGGATCCGAGAGCAGCAATGGTTCGAGTCCACCCTTAGAT
CCCACCACTCGTTCTGTGGCTGTGGTGATCCCGTGCTTCATTTTACTAAC
CTTGCTACTCGCTTTAACTATCTGCCTGTACCTCTTCGCCTCTGGACCC
TCCCGGCCAGCGCCGCGAGGCCGCCCGCGCTCCGCCGCTCCCGGCAC
TCCCTTCAGCCCCCGCGACCCCTTCTAGAGAAGTAGCATGGCCTACTGGT
TCAGAAGGTGGGGCTGGAGGCCGAGGCGCCGGTGGAGAAGGTGGCGCCGC
CGTCGAAGGAGACTACCGAGAAGAAGAACTAGACGAGCTGTTCGCGGCCCT
TGGAAGAAGACGCAAACCAAGGGTAAGGAGGCGCCGAGAACTCGCAGAC
GTACCTACAGACGGGGGTGGAGACGCAGGAGGTACATAAGACGGGGGCGA
CGAAAAAGAACTCATACTGACTCAGTGGAACCCGGCAATAGTTAAGAG
GTGCAACATTAAGGGCGGACTTCCAATAATTATATGCGGAGAGCCCAGGG
CAGCCTTTAACTATGGCTACCATATGGAGGACTACACTCCTCAACCTTTC
CCCTTCGGAGGGGGAATGAGCACAGTGACTTTCTCTCTGAAAGCCTTGTA
TGACCAGTACCTAAAAACACCAAAACAGGTGGACTTTCTCAAACGACCAGC
TAGACCTCGCCAGATACAGGGGCTGTAAACTAAGGTTCTACAGAAGCCCC
GTCTGTGACTTTATAGTACACTACAACCTAATACCTCCACTAAAAATGAA
CCAGTTCACAAGTCCCAACACGCACCCGGGACTACTCATGCTCAGCAAAC
ACAAGATAATAATTCCAGCTTTCAAACAAGACCTGGGGGCGAGACGCTTT
GTTAAAATAAGACTTAATCCCCCAAACCTATTTGAAGACAAGTGGTACAC
TCAGCAAGACCTGTGCAAGGTTCCGCTCGTTAGTATTACAGCAACTGCGG
CTGACTTGCGGTATCCGTTCTGCTCACCACAAACGAACAACCCTTGCAAC
ACCTTCCAGGTACTGCGCAAGAACTACAATACAGTTATAGGAACCTCCGT
AAAAGACCAAGAGTCCACACAAGACTTTGAAAATTGGCTTTATAAAACAG
ACTCACACTATCAAACATTTGCCACAGAGGCTCAACTAGGCAGAATTCCT
GCATTTAATCCTGATGGCACTAAAAACACTAAACAGCAGTCGTGGCAAGA
TAAGTGGAGCAAAAAAATTCACCATGGACAGGTAAGTACAGGTACATACC
CACAAACAACCAAGTGAATGTACAAAATTCATATGACAGTAAGTTCGGC

```

【0808】

10

20

30

40

50

【表 5 2】

TTTCCACATACAGAGCCCAAAAAGACTACATTTTAGAAAAGAGACAGTG
 CAACCTTTAACTATGAAGTTAATAATCCAGTTAGCAAAAAGTATGGCCAC
 AACCTAGTACAACAACACCCACAGTAGACTACTATGAATACCACTGTGGA
 TGGTTTCAGCAACATATTCATAGGCCCAACAGATACAACCTACAGTTTCA
 AACAGCATATGTAGACACCACATACAACCCACTAATGGACAAGGGCAAAG
 GCAACAAAATATGGTTTCAATATCTGTCTAAAAAGGGCACAGACTACAAT
 GAAAAACAATGCTACTGCACCCTAGAAGACATGCCCTATGGGCAATATG
 CTTTGGATACACTGACTATGTAGAGACTCAACTAGGACCCAATGTGGACC
 ATGAAACAGCAGGCTTAATAATTATGATCTGTCCAACACTCAACCACCT
 ATGTATGACAAAAACAGACCTAACTGGGGATACGTAGTCTATGACACAAA
 CTTTGGCAATGGAAAAATGCCCTCAGGAAGTGGCCAAGTCCCAGTATACT
 GGCATATGCCGATGGAGGCCATGTCTGTGGTTCCAACAACAAGTACTCAAT
 GACATCTCAAAGACTGGACCGTACGCCCTACAGAGACGAATATAAAAAATGT
 ACAACTGACTCTCTACTACAACCTTTATTTTTAACTCGGGGGCCGACATGT
 ATTACCCACAGGTCGTAAAAACCCCTGTGGAGACTCCGGAATCGTTCCC
 GGTTCGGTAGATTCACTCGAGAAGTACAAGTCGTAGCCCCGCTTTCCAT
 GGGACCGGCCTACATCTTCCACTACTTCGACTCCAGACGCGGGTTCTTTA
 GTGAAAAAGCTCTTAAAGAATGCAACAACAAGAATTGATGAATCT
 TTTACATTCAAACCTAAGAGACCCAACTTTCTACAGCAGCCGCAGAAAT
 CCTCCAGCTCGAAGAAGACTCGACTTCAGGGGAAGGAAAAATCGCCACTAC
 AGCAAGAAGAGAAAGAAGTCGAAGTCCTCCAAACGCCGACAGTACAGCTC
 CAGCTCCAGCGAAACATCCAGGAGCAGCTCGCAATCAAGCAGCAGCTCCA
 ATTCTCTTTGCTCCAACCTCTCAAACCCCAATCCAATTTGCATTTAAACC
 CACAAATTTTTAAGCCCTTCATAAAAATATGACATGTTTGGGGACCCCTTC
 CTCACCCCCCAACAGCCGAAGAGTGGGAACAGAGTACCAGTGTCTGAAG
 GCCTTTAAACAGACCACCTAGAACCAACCTAAAAGACACCCCTTCTACCC
 CTGGGTACCTAAACCTAAACCTCAATTCCGTGTATCTTTTAACTTGGTT
 TTCAATAACAAGGCCGTGGGAGTTTCACTTGTGGTGTCAACCTCTTAA
 GGTCACTAAGCACTCCGAGCGTAAGCGAGGAGTGCACCCCTCCCCCTGG
 GGCAACTCCCTCGAAGTCCGGCGCTACGCGCTTCGCGCTCGCCCGGACAT
 CTCGGACCCCTCCACCCGAAACGCTTTCGCGCTTTCGGACCTTCGGCG
 TCGGGGGGTTCGGGGCTTTACTAAACAGACTCCGAGGTGCCATTGGACA
 CTGAGGGGATGAACAGCAACGAAAGTGAGTGGGGCCAGACTTCGCCATAA
 GGCTTTTATCTTCTTGCCATTTGTCAATATAGAGGGTCCCATAGGCTTC
 GGCTTCCATTTTAACTCTAAAAACTACCAAAATGGCCGTTCCAGTGACG
 TCACAGCCGCCATTTTAAAGTAGCTGACGTCAAGGATTGACGTGAAGGTTA
 AAGGTCATCCTCGGCGGAAGCTACACAAAATGGTGGACAACATCTTCCGG
 GTCAAAGGTCTGTGCACACGTATAAGTCACGTGGTGGGGACCCGCTGTAA
 CCGGAAGTAGGCCCGTCACGTGATTTGTACGTGTGTACACGTACAA
 CCGCCATTTTGTTTTACAAAATGGCTGACTTCCTTCCTTTTTTAAAAA
 AAACGGCCGTGCGGCGGCGCGCGCTTCGCGCGCGCGCGGGGGGTGCC
 GCGCGCGCGCGCATGCGCGCGGGGCCCCCCCCCGCGGGGGGTCCGCC
 CCGCGCGCGCGCGCG (配列番号31)

10

20

30

アノテーション:

推定ドメイン	塩基範囲
TATAボックス	82 - 86
イニシエータエレメント	100-115
転写開始部位	115
5' UTR 保存ドメイン	170 - 240
ORF2	331- 726

40

【0809】

【表 5 3】

ORF2/2	331 – 722 ; 2412 – 2847
ORF2/3	331 – 722 ; 2638 – 3058
ORF2t/3	331 – 380 ; 2638 – 3058
ORF1	588 – 2873
ORF1/1	588 – 722 ; 2412 – 2873
ORF1/2	588 – 722 ; 2638 – 2847
3オープンリーディングフレーム領域	2699 – 2969
ポリ(A)シグナル	3220 – 3225
GCリッチ領域	3302 – 3541

10

【 0 8 1 0 】

【表 5 4】

表 10. 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 5)

20

TTV-16-TUS01 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 5)	
ORF2	MSFTTPTINAGIREQQWFESTLRSHHSFCGCGDPVLHFTNLATRFNYLPATSS PLDPPGPAPRGRPALARLPALPSAPATPSRELAWPTGSEGGAGGRGAGGEGG AAVEGDYREEELDELFAALEEDANQG (配列番号 32)
ORF2/2	MSFTTPTINAGIREQQWFESTLRSHHSFCGCGDPVLHFTNLATRFNYLPATSS PLDPPGPAPRGRPALARLPALPSAPATPSRELAWPTGSEGGAGGRGAGGEGG AAVEGDYREEELDELFAALEEDANQGSCLKTPVETPESFPVPVDSLEKYKSLA RFPWDRPTSSTTSTPDAGSLVKKLLKECENNKNLMNLLHSNLRDPNFLQQP QKSSSSKKTRLQGKENRHYSKKRKSKSSKRRQYSSSSSETSRSSSQSSSSN SSCSNSSKPNPICI (配列番号 33)
ORF2/3	MSFTTPTINAGIREQQWFESTLRSHHSFCGCGDPVLHFTNLATRFNYLPATSS PLDPPGPAPRGRPALARLPALPSAPATPSRELAWPTGSEGGAGGRGAGGEGG AAVEGDYREEELDELFAALEEDANQGSRRNPPARRRLDFRGRKIATTARRER SRSPNADSTAPAPAKHPGAARNQAAAPIPLAPTQNPIQFAFKPTIFKPIKY DMFGDPLPHPPTAEWEWETEQCKAFNRPPRTNLKDTPFYPWVPKPKPQFR VSFKLGFQ (配列番号 34)
ORF2t/3	MSFTTPTINAGIREQQCSRRNPPARRRLDFRGRKIATTARRERSRSPNADST APAPAKHPGAARNQAAAPIPLAPTQNPIQFAFKPTIFKPIKYDMFGDPLPHP PTAEWEWETEQCKAFNRPPRTNLKDTPFYPWVPKPKPQFRVSFKLGFQ (配列番号 35)

30

40

【 0 8 1 1 】

50

【表 5 5】

ORF1	MAYWFRRWGWPRRRWRRWRRRRRLPRRRTRRAVRGLGRRRKPRVRRR RRTRRRTYRRGWRRRRYIRRGRRKKLILTQWNPAIVKRCNIKGGLPPIICGE PRAAFNYGYHMEDYTPQFPFGGGMSTVTFSLKALYDQYLKHQNRWTFNS DQLDLARYRGCKLRFYRSPVCDIVHYNLIPPLKMNQFTSPNTHPGLMLSK HKIIIPSFQTRPGGRRFVKIRLNPPKLFEDKWYTQQDLCKVPLVSITATAADLR YPFCSPQTNNPCTTFQVLRKNYNTVIGTSVKDQESTQDFENWLKTDSDHYQ TFATEAQLGRIPAFNPDGTKNTKQQSWQDNWSKKNSPWTGNSGTYPQTTSE MYKIPYDSNFGFPTYRAQKDYILERRQCNFNVEVNNPVSKKVWPQPSTTTPT VDYIEYHCGWFSNIFGPNRYNLQFQTA YVDTTYNPLMDKGKGNKIWFQY LSKKGTDYNEKQCYCTLEDMP LWAICFGYTDYVETQLGPNVDHETAGLIIMI CPYTQPPMYDKNRPNWGYVVDYTNFNGKMPSGSGQVPVYWQCRWRPM LWFQQVLNDISKTPYAYRDEYKNVQLTLYYNFIFNWGGDMYYPQVVKN PCGDSGIVPGSGRFTREVQVVSPLSMGPA YIFHYFDSRRGFFSEKALKRMQQ QQEFDESFTFKPKRPKLSTAAAEILQLEEDSTSGEGKSPLQEEKEVEVLQTP TVQLQLQRNIQEQLAIKQQLQFLLQLLKTQSNLHLNPQFLSPS (配列番号 36)	10
ORF1/1	MAYWFRRWGWPRRRWRRWRRRRRLPRRRTRRAVRGLGRRRKPRVVK NPCGDSGIVPGSGRFTREVQVVSPLSMGPA YIFHYFDSRRGFFSEKALKRMQ QQEFDESFTFKPKRPKLSTAAAEILQLEEDSTSGEGKSPLQEEKEVEVLQT PTVQLQLQRNIQEQLAIKQQLQFLLQLLKTQSNLHLNPQFLSPS (配列番号 37)	20
ORF1/2	MAYWFRRWGWPRRRWRRWRRRRRLPRRRTRRAVRGLGRRRKPRQPQK SSSSKTRLQGKENRHYSKKRKKSKSSKRRQYSSSSSETSRSSSQSSSSSNSSC SNSSKPNPICI (配列番号 38)	30

【0812】

【表 5 6】

表11. 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 6)

名称	TTV-TJN02
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>), クレード 6
アクセッション番号	AB028669.1

【0813】

10

20

30

40

50

【表 5 7】

全配列: 3794 bp

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
CCCCAAGTCCGTCACTAACCACGTGACTCCTGTCCGCCAATCAGAGTGTA
TGTCGTGCATTTCTTGGGCATGGTCTACATCTGTGATAAATAAGTGCAC
TTCCGAATGGCTGAGTTTCCACGCCCGTCCGCAGCGAGGGAGCGACGGA
GGAGCTCCCCAGCGTCCCAGGGCGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACC
GCAGTCAAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCTATGGGCAAGGC
TCTTAGGGTCTTTCATCTTAATATGTTTCTTGGCAGAGTTACCGCCACA
AGAAAAGGAAAGTGCTACTGTCCACACTGCGAGCTCCACAGGCGTCTCGC
AGGGCTATGAGTTGGCGACCCCGGTACACGATGCACCCGGCATCGAGCG
CAATTGGTACGAGGCCTGTTTTCAGAGCCACGCTGGAGCTTGTGGCTGTG
CCAATTTTATTATGCACCTTAATCTTTTGGCTGGCCGTATGTTTTTACT
CCGGGGTTCAGCGCCGCGAGGTGGTCTCTCTCCGGGCACCCCGCAGATAAG
GAGAGCCAGGCCTAGTCCCAGCCGACACAGAGCAGCCCGCTGCCCTACCAT
GGCATGGGATGGTGGAGATGGCGGCGCCGCTGGCCCGCCAGACGCTGGA
GGAGACGCCGTGCGCCGCGCCCGGTACGGAGAACAAGAGCTCGCCGACCT
GCTCGACGCTATAGAAGACGACGAACAGTAAGAACCAGGCGAAGGCGGTG
GGGGCGCAGACGGTACAGACGGGGCTGGAGACGCAGGACTTATGTGAGAA
AGGGGCGACACAGAAAAAAGAAAAAGAGACTGATACTGAGACAGTGGCAA
CCAGCCACAAGACGCAGATGTACCATAACTGGGTACCTGCCCATAGTGTT
CTGCGGCCACACTAGGGGCAATAAAAACTATGCACTACACTCTGACGACT
ACACCCCCCAAGGACAACCATTTGAGGGGCTCTAAGCACTACCTCATTC
TCTTTAAAAGTACTATTTGACCAGCATCAGAGAGGACTAAACAAGTGGTC
TTTTCCAAACGACCAACTAGACCTCGCCAGATATAGAGGCTGCAAAATTA
TATTTTATAGAACAAAACAACTGACTGGGTGGGCCAGTATGACATATCA
GAACCTACAAGCTAGACAAATACAGCTGCCCAACTATCACCCCTGGAAA
CATGATTAAAGGCAAGCACAAATTTTAAATACCAAGCTATGACACTAATC
CTAGAGGCAGACAAAAAATTATAGTTAAAATTCCCCCCAGACCTCTTT
GTAGACAAGTGGTACACTCAAGAGGATCTGTGTTCCGTAAATCTTGTGTC
ACTTGGCGTTTCTGCGGCTTCTTTCTCCACCCATTCCGCTCACCACAAA
CTGACAACCCCTTGCTACACCTTCCAGGTGTTGAAAGACTTCTACTATCAG
GCAATAGGCTTCTCTGCAAGCACACAAGCAATGACATCAGTATTAGACAC
GCTATACACACAAAACAGTTATTGGGAATCTAATCTAACTCAGTTTTATG
TACTTAATGCAAAAAAAGGCAGTGATACAACACAGCCTTAACTAGCAAT
ATGCCAACTCGTGAAGAGTTTATGGCAAAAAAATAACCAATTACAACCTG
GTATACATACAAGGCCGCGTCAGTAAAAATAAACTACATCAAAATGAGAC
AAACCTATTTTGAGGAGTTAACCCTCTAAGGGGCCACAAACAACAAAAAGT
GAGGAAGGCTACAGTCAGCACTGGACCACCCCTCCACAAAACGCCTACGA
ATATCACTTAGGAATGTTTAGTGCAATATTTCTAGCCCCAGACAGGCCAG
TACCTAGATTTCCATGCGCCTACCAAGATGTAACCTACAACCCCTTAATG
GACAAAGCGCTGGGAAACCACATTTGCTTTCACTACAACACAAAGGCACA
CACTCAGCTAATAGTCACAGGAGGTCCTGCAAAGCACACATACAAGACA
TACCACTGTGGGCGGCTTCTATGGATACAGTGACTTTATAGAGTCAGAA
CTAGGCCCTTTGTAGATGCAGAGACGGTAGGCTTAGTGTGTGTAATATG
CCCTTATACAAAACCCCATGTACAACAAGACAAACCCCGCCATGGGCT
ACGTGTTCTATGACAGAACTTTGGTGACGGAAAAATGGACTGACGGACGG
GGCAAAATAGAGCCCTACTGGCAAGTTAGGTGGAGGCCCGAAATGCTTTT
CCAAGAACTGTAATGGCAGACCTAGTTCAGACTGGGCCCTTTAGCTACA
AAGACGAACTTAAAAACAGCACCTAGTGTGCAAGTACAAATCTATTTT
ACCTGGGGAGGTAACATGATGTTCCAACAGACGATCAAAAACCCGTGCAA
GACGGACGGACAACCCACCGACTCCAGTAGACACCTTAGAGGAATACAAG
TGGCGGACCCGGAACAAATGGGACCCCGCTGGGTGTTCCACTCCTTTGAC
TGGCGAAGGGGCTATCTTAGCGAGAAAGCTCTCAAACGCCTGCAAGAAAA
ACCTCTTGACTATGACGAATATTTTACACAACCAAAAAGACCTAGAATCT
TTCTCCAACAGAATCAGCAGAGGGAGAGTTCGAGAGCCCGAAAAAGGC

```

10

20

30

40

【0 8 1 4】

【表 5 8】

TCGTATTTCAGAGGAAGAAAGGTCGCAAGCCTCTGCCGAAGAGCAGACGCA
 GGAGGCGACAGTACTCCTCCTCAAGCGACGACTCAGAGAGCAACAGCAGC
 TCCAGCAGCAGCTCCAAATCCCTCACCCGAGAAATGTTCAAAACGCAAGCG
 GGTCTCCACCTAAACCCCTATGTTATTAAACCAGCGATAAACCAAGTGTAC
 CTGTTTCCAGAGAGGGCCCCAAAACCCCTCCTAGCAGCCAAGACTGGCA
 GCAGGAGTACGAGGCCTGCGCAGCCTGGGACAGGCCCCCTAGATACAATC
 TGTCTCTCCTCCTTTCTACCCAGCTGCCCTTCAAAATTCTGTGTAAAA
 TTCAGCCTTGGCTTTAAATAAATGGCAACTTTACTGTGCAAGGCCGTGGG
 AGTTTCACTGGTCGGTGTCTACCTCTAAAGGTCCTAAGCACTCCGAGCG
 TTAGCGAGGAGTGCAGCCCTTCCCCCTGACTCAACTTCTTCGGAGCCGCG
 CGCTACGCCTTCGGCTCGCGCGCGCACCTCAGACCCCCGCTCGTGCTGAC
 ACGCTCGCGCGTGTCTAGACCACTTCGGGCTCGCGGGGGTTCGGGAATTTTG
 CTAAACAGACTCCGAGTTGCTCTTGGACACTGAGGGGGCATATCAGTAAC
 GAAAGTGAGTGGGGCCAGACTTCGCCATAAGGCCTTTATCTTCTTGCCAT
 TGGATAGTATCGAGGGTTGCCATAGGCTTCGACCTCCATTTTAGGCCTTC
 CGGACTACAAAAATGGCCGTTTGTAGTGACGTCACGGCCGCCATTTTAAGT
 AAGGCGGAAGCAGCTCGGCGTACACAAAATGGCGGCGGAGCACTTCCGGC
 TTGCCCCAAAATGGTGGGCAACTTCTTCCGGGTCAAAGGTCACAGCTACGT
 CACAAGTCACGTGGGGAGGGTTGGCGTTTAACCCGGAAGCCAATCCTCTT
 ACGTGGCCTGTACAGTACGTTGTACGTCACGACCACCATTTTGTTTTACA
 AAATGGCCGACTTCCCTTCTCTTTTAAATAACGTTTCGGCGGCGGC
 GCGCGCGCTACGCGCGCGCGCGGGGGGCTGCCGCCCCCCCCCGCGCAT
 GCGCGGGGGCCCCCCCCCGCGGGGGCTCCGCCCCCGGCCCCC (配列番号39)

10

アノテーション:

20

推定ドメイン	塩基範囲
TATAボックス	89 – 90
Cap部位	107 – 114
転写開始部位	114
5' UTR 保存ドメイン	174 – 244
ORF2	357 – 731
ORF2/2	357 – 727 ; 2381 – 2813
ORF2/3	357 – 727 ; 2619 – 3021
ORF2t/3	357 – 406 ; 2619 – 3021
ORF1	599 – 2839
ORF1/1	599 – 727 ; 2381 – 2839
ORF1/2	599 – 727 ; 2619 – 2813
3オープンリーディングフレーム領域	2596 – 2810
ポリ(A)シグナル	3017 – 3022
GCリッチ領域	3691 – 3794

30

40

【 0 8 1 5 】

【表 5 9】

表 12. 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 6)

TTV-TJN02 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 6)	
ORF2	MSWRPPVHDAPGIERNWYEACFRAHAGACGCGNFIMHLNLLAGRYGFTPGSAPPG GPPPQTPQIRRARPSAAPEQPAALPWHGDGGDGAAGPPDAGGDAVAGAPYGEQ ELADLLDAIEDDEQ (配列番号 40)
ORF2/2	MSWRPPVHDAPGIERNWYEACFRAHAGACGCGNFIMHLNLLAGRYGFTPGSAPPG GPPPQTPQIRRARPSAAPEQPAALPWHGDGGDGAAGPPDAGGDAVAGAPYGEQ ELADLLDAIEDDEQSKTRARRTDNPTTPVDITLEEYKWRTRNKWDPAGCSTPLTGE GAILARKLSNACKKNLLTMTNILHNQKDLESFLQNNQRESSESPPKKARIQRKKGR KPLPKSRRRRRQYSSSSDDSESNNSSSSSSNSSPEKCSKRKRVT (配列番号 41)
ORF2/3	MSWRPPVHDAPGIERNWYEACFRAHAGACGCGNFIMHLNLLAGRYGFTPGSAPPG GPPPQTPQIRRARPSAAPEQPAALPWHGDGGDGAAGPPDAGGDAVAGAPYGEQ ELADLLDAIEDDEHGRVPRARKRLVFRGRKVASLCRRADAGGDSTPPQATTQRAT AAPAAPIPHPRNVQNASGSPPKPYVIKPAINQVYLFPERAPKPPSSQDWQQEYEA CAAWDRPPRYNLSSPPFYSPCSKFCVKFSLGFK (配列番号 42)
ORF2t/3	MSWRPPVHDAPGIERNCRGRVPRARKRLVFRGRKVASLCRRADAGGDSTPPQATT QRATAAPAAPIPHPRNVQNASGSPPKPYVIKPAINQVYLFPERAPKPPSSQDWQQ EYEACAAWDRPPRYNLSSPPFYSPCSKFCVKFSLGFK (配列番号 43)
ORF1	MAWGWWRRRRWPARRWRRRRRRRPVRRTRARRPARRYRRRRRTVRTRRRRWG RRRYRRGWRRRTYVRKGRHRKKKKRLILRQWQPATRRRCTITGYLPIVFCGHTRG NKNYALHSDDYTPQGQPFGGALSTTSFSLKVLFDQHQRGLNKWSFPNDQLDLARY RGCKFIFYRTKQTDWVGQYDISEPYKLDKYSCP NYHPGNMIKAKHKFLIPSYDTNP RGRQKIIVKIPPPDLFVDK WYTQEDLCSVNLVSLAVSAASFLHPFGSPQTDNPNCTF QVLKEFYQYQAIGFSASTQAMTSVLDTLYTQNSYWESNLTQFYVLNAKKGSDTTQPL TSNMPTREEFMAKKNTNYNWYTYKAASVKNKLHQMRTYFEELTSKGPQTTKSE EGYSQHWTTPTSTNAYEYHLGMFSAIFLAPDRPVPRFPCAYQDVTYNPLMDKG VGN HIWFQYNTKADTQLIVTGGSCKAHIQDIPLWAAFYGYSDFIESELGPFVDAETVGLV CVICPYTKPPMYNKNPAMGYVFYDRNFGDGK WTDGRGKIEPYWQVRWRPEMLF QETVMADLVQTGPFSYKDELKNSTLVCKYKFYFTWGGNMMFQQTIKNPCKTDGQ PTDSSRHPRGIQVADPEQMGPWWVFHSFDWRRGYLSEKALKRLQEKPLDYDEYFT QPKRPRIFPPTESAEGEFREPEKGSYSEEERSQASAEETQEATVLLLKRRRLREQQQL QQQLQFLTREMFKTQAGLHLNPMMLNQR (配列番号 44)

【 0 8 1 6 】

10

20

30

40

50

【表 6 0】

ORF1/1	MAWGWWRRRRWPARRWRRRRRRRPVRRTRARRPARRYRRRRRTTIKNPCKTDG QPTDSSRHPRGIQVADPEQMGPWWVFHSDWRRGYLSEKALKRLQEKPLDYDEYF TQPKRPRIFPPTESAEGEFREPEKGSYSEEERSQASAEETQEATVLLKRRRLREQQQ LQQQLQFLTREMFKTQAGLHLNPMMLNQR (配列番号 45)
ORF1/2	MAWGWWRRRRWPARRWRRRRRRRPVRRTRARRPARRYRRRRRTQRESSESPPK ARIQRKKGRKPLPKSRRRRRQYSSSSDDSESNSSSSSSSNSPEKCSKRKRVT (配列 番号 46)

10

【 0 8 1 7】

【表 6 1】

表13. 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 7)

名称	TTV-HD16d
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>), クレード 7
アクセッション番号	FR751479.1

20

全配列: 3866 bp

```

1          10          20          30          40          50
|          |          |          |          |          |
AAGTCCGTCACCTAACACGCTGACTCCCGCAGGCCAATCAGAGTCTATGTC
GTGCACTTCCTGGGCAAGGTCTACGTTCTCATATAACTAACTGCACTTCC
GAATGGCTGAGTTTTCCACGCGCGTCCCGCAGCGGCAGCACCACGGAGGGT
GATCCCCGCGTCCCGAGGGCGGGTGCCGAAGGTGAGTTACACACCGCAG
TCAAGGGGCAATTCCGGCTCGGGACTGGCCGGGCTATGGGCAAGGCTCTT
AGGGCTTTTCATTGTTAAAAATGTTTCTCGGCAGGCCTTACAGGAGAAAGA
AAAGGGCGCTGTCACTGCCTGGCGTGCGAGCTGCACAGGCGAAACAACCT
GGTGATATGAGCTGGAGCCGTCAGTACATAATGCCGCCGGGATCGAAAG
GCACTGGTTTCAATCCACCTTTAGATCCACGCTACTTCTCTGCGCTCCG
GCAATTTTGTAAATCATATTAATGTACTGGCTGCTCGCTACGGCTTTACT
GGGGGGCCGACGCGCGCAGGTGGTCTGGGCCGCGTCCACAACCTGAGGCC
CGCGCTTCCCGCGCCGACCCCGACCCCGAGGCGCCCAACCGTGAGCCAT
GGCGTGAGCTGGTGGTGGCAACGATGGAGAAGGCGCCGCTGGAAACCCA
GGAGGCGCCGCTGGAGACGTCTACGATGGAGAAGACCTAGACGCGCTGTT
CGCCGCGCTCGTCGAGGACGTAGAGTAAGGAGGCGGAGGTGGGCGCGTAG
ACGGGGGGGACCGCAGACCGTACGCCACCAGACGAAAGACACCTTATAGGG
GTCGCGCTTTAAAAAGAACTAGTACTGACTCAGTGGCACCCCTAATACC
ATGAGACGCTGCTTAATCAAGGGCATAGTCCCCCTGGTAATATGCGGCCA
CACCAGGTGGAACCTACAACCTACGCCCTCCATAGCAAGGACTACACAGAGG
AGGGTCGCTACCCTCACGGGGGGGGCCCTCAGCACCCTACGTGGTCCCTT
AAGGTGCTGTATGACGAGCACCTCAAACACCACGACTTCTGGGGCTATCC
CAACAACCAGCTAGACCTGGCCAGGTACAAGGGGGCCAAGTTCACCTTCT
ACAGACACAAAAAGACTGACTTTATAATATTCTTTAACAGAAAGCCTCCC
TTTAAGCTAAACAAGTACAGCTGTGCCTCCTATCACCAGGCATGCTGAT
GCAGCAGAGACACAAGATCCTGCTACCCAGCTACGAACTAAACCCAAGG
GCAGGCCAAAGATAACAGTTAGAATAAAGCCCCCACTCTGTTAGAGGAC
AAGTGCTACACCCAGCAGGACCTGTGCGACGTTAACCTGTTGCACTTGT
GGTCACTGCGGCTGACTTTCGACATCCACTCTGCTCACCACAAACGAACA
CTCCAACCACAACCTTCCAGGTGTTGAAAGACATCTATTATGACACTATG

```

30

40

【 0 8 1 8】

50

【表 6 2】

AGCATATCTGAACCCACAGACTCCTACACTAGTGTAAACAATAAAAGTAC
 AACACAAACTTTTACTAATACTCAAACACCTTAGAAAAACATTCTGTACA
 CACGAGCCTCCTACTGGAACCTCGTTCCACGCCACTGAAACCTAAACCCC
 AACATCATATACAAAAACGGTGAAAACTATTCAAAGAACATGAAGACTT
 AATAACCTGGATGACCCAACTAACAATACCGGGTTTCTAACTAAAAACA
 ACACAGCTTTTGGCAACAACAGCTACAGGCCAATGCAGACAAAATTA
 AAAGCCAGAAAGACATACTGGAACGCCCTAATAGGCACCAACGACCTGGC
 CACTAATATAGGCCAGGCCAGAGCAGAAAGGTTTCGAGTACCACCTAGGCT
 GGTACTCCCCCATATTTCTCAGCAGACACAGGAGCAACATGAACTTTGCC
 AGGGCCTACCAAGACGTCACATACAACCCCAACTGTGACAGGGGAGTTAA
 CAACAGGGTGTGGGTTCAGCCTCTAACTAAACCCACCACAGAGTTGACG
 AGAAAAGGTGTAAGTGGTGTAGTGCAGCACCTGCCTCTGTGGGCGGCTCTG
 TACTGCTACCAAGACTTTGTAGAGGAGGAGCTGGGGTCTCTCCTCAGAGAT
 ATTAAATTTCATGCCTACTGGTATTACAGTGCCTTACACCTTTCCCCCAA
 TGTATGACAAAAAGCTACCAGACAAGGGATTCTGTGTTTATGACTCCCTT
 TTTGGAGACGGCAAAATGTCTGACGGACGCGGACAGGTGGACATTTTCTG
 GCAACAGCGATGGTACCCCTCGCTTAGCCACTCAGATGCAAGTCATGCACG
 ACATCACCATGACGGGGCCCTTCTCCTACCGAGACGAGCTAGTTAGCACC
 CAACTGACTGCCAAGTACACCTTTGACTTTATGTGGGGCGGAAATATGAT
 CTCCACACAGATCATCAAGAACCCCTGCAAGACAGTGGACTGGAACCCG
 CCTACCCCGGTAGACAGCGTCCGCACTTACAAATTGTTGACCCATACTCC
 ATGGGGCCCCAATTCTCGTTCCACAACCTGGGACTACAGACATGGCCCTTT
 TGGCCAGAGCGTATCGACAGAGTGTCTAAACAACCAAAAGATGATGACG
 ACTATCCTAACCCATACAAAAGGCCTAGATATTTTCCACCCACAGACCAA
 GCGGCCCAAGAGCAAGAAAAAGACTTCAGTTTCTCCTCAAAACAGCACCGTC
 GAACTCAGAAGAGAGCGATCAAGAAGTCTCTCAAGAAACGCAAGTACTCC
 GATTCCAGCCAGAGCAGCACAAGCAACTCCACCTGCAGCTCGCAGAGCGG
 CAGCGAATCGGAGAGCAACTCCGATACCTACTCCAACAGATGTTCAAAAC
 TCAGGCCAATCTCCACCTAAACCCATATACATTTACCCAGCTGTAAAGCA
 GGTGTTTATGTTTGACCCCCGGGCCCTAAGGCTATCTCGGGCGCCAAGG
 CCTGGGAGGACGAGTTCTCACCAGCAAAAGTGTGGAACCGCCCGGTACGC
 AAGTACTACTCAGACACCCCTACTACCCCTGGGGCCCCAAACCCAGTA
 CTCTGTCTAGTTTCAAACCTCGGCTGGAAATAAAAAAGCCTGCTCCACTGT
 ACTAGGCCGTGGGAGTTTCACTCGTGGTGTCTACCTCTTAAGGTACCA
 AGCACTCCGAGCGTCAGCGAGGAGTGCAGCCCTTGGGGGTGGGTGCAACG
 CCCTCGGCGGGCGCGCGCTACGCCCTTCGGCTGCGCGCGGCACCTCGGACC
 CCGCTCGTGTCTGACCGGCTTGGCGCGCTCAGACCACTTCGGGCTCGCGG
 GGGTCGGAAATTTTGTAAACAGACTCCGAGTTGCCATTGGACACTGGAG
 CCGTGAATCAGTAACGAAAGTGAGTGGGGCCAGACTTCGCCATAAGGCCT
 TTATCTTTTTGCCATTTGTCCGTGGGGAAGGGTCGCTGCAAGCGCGGACC
 CCGTTTTACCCCTTCGGACTACAAAATAGCGCATTAGTGACGTACG
 GCGGCCATTTAAGTAAGGCGGAAGCAACTCCACTTTCTCACAAAATGGC
 GGCGGAGCACTTCGGGCTTGCCAAAATGGCCGCCAAAACATCCGGGTC
 AAAGTTCGCCGCTACGTCATAAGTCACGTGACTGGCGAGGTACTTAAACA
 CGGAAGTATCCTCAACCACGTAACCTGGTCACGTGGTGGCGACGTACCGG
 AACCATTTTGTTTTACAAAATGGCGCATTTCTTCTCTTTTTTAAAAAT
 TAACCGTTGGCGGGCGCGCGCGCTACGCGCGCGCGCGGGGAGCTCTG
 CCCCCCCCCGCGCATGCGCGCGGGTCCCCCCCCCGCGGGGGGCTCCGCCC
 CCGGTCCCCCCCCCG (配列番号47)

10

20

30

40

【0819】

50

【表 6 3】

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

TATAボックス

82 – 86

イニシエータエレメント

94-115

転写開始部位

115

5' UTR 保存ドメイン

170 - 240

ORF2

357 - 728

10

ORF2/2

357 – 724 ; 2411 – 2870

ORF2/3

357 – 724 ; 2646 – 3081

ORF1

599 – 2896

ORF1/1

599 – 724 ; 2411 – 2896

ORF1/2

599 – 724 ; 2646 – 2870

3オープンリーディングフレーム領域

2629 – 2867

ポリ(A)シグナル

3076 - 3086

20

GCリッチ領域

3759 – 3866

【 0 8 2 0 】

30

40

50

【表 6 4】

表 14. 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 7)

TTV-HD16d (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 7)	
ORF2	MSWSRPVHNAAGIERQWFESTFRSHASCCGCGNFVNHINVLAARYGFTGGP TPPGGPGPRPQLRPALPAPDPDPQAPNREPWRGAGGGNDGEGAAGNPGGAA GDVYDGEDLDALFAAVVEDVE (配列番号 48)
ORF2/2	MSWSRPVHNAAGIERQWFESTFRSHASCCGCGNFVNHINVLAARYGFTGGP TPPGGPGPRPQLRPALPAPDPDPQAPNREPWRGAGGGNDGEGAAGNPGGAA GDVYDGEDLDALFAAVVEDVESSRTPAKTVDWNPPTPVDSVATYKLLTHTP WAPNSRSTTGTTDMAFLAKTLSTECLNNQKMMQTILTHTKGLDIFHPQTKPP KSKKKTSSVSSKQHRRTQKRAIKKSSKKRKYSDSSQSSTSNSTCSSQSGSESES NSDTYSNRCSKLRPIST (配列番号 49)
ORF2/3	MSWSRPVHNAAGIERQWFESTFRSHASCCGCGNFVNHINVLAARYGFTGGP TPPGGPGPRPQLRPALPAPDPDPQAPNREPWRGAGGGNDGEGAAGNPGGAA GDVYDGEDLDALFAAVVEDVEPSRPRARKRLQFPQNSTVELRRERSRSPPRN ASTPIPARAAQATPPAARRAAANRRATPIPTPTDVQNSGQSPPKPIYIYPAVK QVFMFDPPGPKAISGAKAWEDEFLTAKVWNRPVRYYSSTPYYPWAPKPQ YSVSFKLGWK (配列番号 50)

10

20

【0 8 2 1】

30

40

50

【表 6 5】

ORF1	MAWSWWWQRWRRRRWKPRRRRWRLRWRRPRRAVRRRRRGRRVRRRR WARRRGRRRRYATRRKRRYRGRRFKKKLVLTQWHPNTMRRCLIKGIVPLVI CGHTRWNYNYALHSKDYTEEGRYPHGGALSTTTWSLKVLYDEHLKHDF WGYPNQLDLARYKGAKFTFYRHKKTDFFNRKPPFKLNKYSCASYHPG MLMQQRHKILLPSYETPKGRPKITVRIKPPTLLEDKWYTQQDLCDVNLLQL VVTAADFRHPLCSPQTNPTTTTFQVLKDIYYDTMSISEPTDSYTSVNNKSTTQ TFTNYSNTLENILYTRASYWNSFHATEYLNPNIIYKNGEKLKEHEDLITWM TQTNNTGFLTKNNTAFGNNSYRPNADKIKKARKTYWNALIGTNDLATNIGQ ARAERFEYHLGWYSPIFLSRHRSNMNFARAYQDVTYNPNCDRGVNNRVWV QPLTKPTTEFDEKRCKCVVQHLPLWAALYCYQDFVEEELGSSSEILNSCLLV LQCPYTFPPMYDKKLPDKGFVFYDSLFGDGKMSDGRGQVDIFWQQRWYPR LATQMVMHDITMTGPFYSRDELVSTQLTAKYTFDFMWGGNMISTQIIKNP CKDSGLEPAPGRQRRDLQIVDPYSMGPQFSFHNWDYRHGLFGQDAIDRVSK KQPKDDADYPNPYKRPRYFPPTDQAAQEKEKDFSFLKTAPSNSEESDQEVLLQ ETQVLRFPQEQHKQLHLQLAERQRIGEQLRYLLQQMFKTQANLHLNPYTFT QL (配列番号 51)
ORF1/1	MAWSWWWQRWRRRRWKPRRRRWRLRWRRPRRAVRRRRRGRRIKNPC KDSGLEPAPGRQRRDLQIVDPYSMGPQFSFHNWDYRHGLFGQDAIDRVSK QPKDDADYPNPYKRPRYFPPTDQAAQEKEKDFSFLKTAPSNSEESDQEVLLQ TQVLRFPQEQHKQLHLQLAERQRIGEQLRYLLQQMFKTQANLHLNPYTFTQ L (配列番号 52)
ORF1/2	MAWSWWWQRWRRRRWKPRRRRWRLRWRRPRRAVRRRRRGRRTKPPKS KKKTSVSSKQHRRTQKRAIKSSKKRKYSDSSQSSTSNSTCSSQSGSESESNS DTYSNRCSKLRPIST (配列番号 53)

【0822】

10

20

30

40

50

【表 6 6】

表15. 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	TTMV-LY2
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
全配列: 2797 bp	

```

1           10           20           30           40           50
|           |           |           |           |           |
TAATAAATATTCAACAGGAAAACCACTAATTAAATTGCCGACCACAAA
CCGTCACCTAGTTCCTCTTTTGCAACAACCTCTGCTTTTCCAACTGC
CGGAAAACACATAAATTTGCAATGGCTAACCACAACTGATATGCTAATTA
ACTTCCACAAAACAACCTTCCCTTTTAAAACCACTACAAATTAATTA
TTAAACACAGTCACATCCTGGGAGGTACTACCACACTATAATACCAAGTG
CACTTCCGAATGGCTGAGTTTATGCCGCTAGACGGGAGAACGCATCAGTTA
CTGACTGCCGACTGAACCTGGGCGGGTGCCGAAGGTGAGTGAAACCAACCG
AAGTCAAGGGGCAATTCCGGGCTAGTTCAGTCTAGCGGAACGGGCAAGAAA
CTTAAATATATTTTATTTTTCAGATGAGCGACTGCTTTAAACCAACATGC
TACAACAACAAAACAAAGCAAACCTCACTGGATTAAACCTGCATTTAAC
CCACGACCTGATCTGCTTCTGCCAACCACTAGACACTTATTACTAG
CTTTAGCAGAACAAACAAAGAAACAAATTGAAGTGCTAAACAAAGAAAGAA
AAAATAACAAGATGCCCTTATTACTACAGAAGAAGACGGTACAACTACAGA
CGTCCTAGATGGTATGGACGAGGTGGATTAGACGCCCTTTTCGCAGAAG
ATTTTCGAAGAAAAGAAGGGTAAGACCTACTTATACTACTATTCTCTAA
AGCAATGGCAACCGCCATATAAAAGAACATGCTATATAAAAGGACAAGAC
TGTTTAATATACTATAGCAACTTAAGACTGGGAATGAATAGTACAATGTA
TGAAAAAAGTATTGTACCTGTACATTGGCCGGGAGGGGGTCTTTTTCTG
TAAGCATGTTAACTTTAGATGCCCTGTATGATATACATAAACTTTGTAGA
AACTGGTGGACATCCACAAACCAAGACTTACCCTAGTAAGATATAAAGG
ATGCAAAATAACATTTTATCAAAGCACATTTACAGACTACATAGTAAGAA
TACATACAGAAGTACCAGCTAACAGTAACAAACTAACATACCCAAACACA
CATCCACTAATGATGATGATGCTAAGTACAAACACATTATACCTAGTAG
ACAAACAAGAAGAAAAAGAAACCATACACAAAAATTTGTAAAACCAAC
CTCCGCAATTTGAAAACAAATGGTACTTTGTACAGACCTCTACAAATTT
CCATTACTACAAATACACTGCACAGCATGCAACTTACAAAACCCATTTGT
AAAACAGACAAATTTATCAAACAATGTTACATTATGGTCACTAAACACCA
TAAGCATACAAAAAGAAACATGTGAGTGGATCAAGGACAATCATGGCCA
TTTAAATACTAGGAACACAAAGCTTTTATTTTACTTTTACACCGGAGC
AAACCTACCAGGTGACACAACACAAATACCAGTAGCAGACCTATTACCAC
TAACAAACCCAAAGATAAACAGACCAGGACAACTCACTAAATGAGGCAAAA
ATTACAGACCATACTACTTTACAGAATACAAAAACAAATTTACAAATTA
TTGGGGTAACCACTTAATAAACACATTCAAGAACACCTAGATATGATAC
TATACTCACTAAAAAGTCCAGAAGCAATAAAAAACGAATGGACAACAGAA
AACATGAAATGGAACCAATTAAACAATGCAGGAACAATGGCATTACACC
ATTTAACGAGCCAATTTACACAAATACAATATAACCCAGATAGAGACA
CAGGAGAAGACACTCAATTATACCTACTCTCTAACGCTACAGGAACAGGA
TGGGACCCACCAGGAATTCAGAAATTAATACTAGAAGGATTTCCACTATG
GTTAATATATTGGGGATTTGCAGACTTTCAAAAAACCTAAAAAAGTAA
CAAACATAGACACAAATTACATGTTAGTAGCAAAAAACAAATTTACACAA
AAACCTGGCACATCTACTTAGTAATACTAAATGACACCTTTGTAGAAGG
CAATAGCCCATATGAAAAACAACTTTACCTGAAGACAAACATTAATGGT
ACCCACAAGTACAATACCAATTAGAAGCACAAACAACTACTACAACT
GGGCCATTTACACCAAAACATACAGGACAACCTATCAGACAATATATCAAT
GTTTTATAAATTTTACTTTAAATGGGGAGGAAGCCCAACAAAGCAATTA
ATGTTGAAAATCCTGCCACCAGATTCAATATCCCATACCCGTAACGAG

```

10

20

30

40

【0823】

【表 6 7】

CATGAAACAACCTTCGTTACAGAGTCCAGGGGAAGCCCCAGAATCCATCTT
 ATACTCCTTCGACTATAGACACGGGAACTACACAACAACAGCTTTGTCAC
 GAATTAGCCAAGACTGGGCACTTAAAGACACTGTTTCTAAAATTACAGAG
 CCAGATCGACAGCAACTGCTCAAACAAGCCCTCGAATGCCTGCAAATCTC
 GGAAGAAACGCAGGAGAAAAAAGAAAAAGAAGTACAGCAGCTCATCAGCA
 ACCTCAGACAGCAGCAGCAGCTGTACAGAGAGCGAATAATATCATTATTA
 AAGGACCAATAACTTTTAACTGTGTAAAAAAGGTGAAATTGTTTGATGAT
 AAACCAAAAAACCGTAGATTTACACCTGAGGAATTTGAACTGAGTTACA
 AATAGCAAAATGGTTAAAGAGACCCCCAAGATCCTTTGTAAATGATCCTC
 CCTTTTACCCATGTTTACCACCTGAACCTGTTGTAACTTTAAGCTTAAT
 TTTACTGAATAAAGGCCAGCATTAAATTCACCTTAAGGAGTCTGTTTATTTA
 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

Cap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

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

20

30

【 0 8 2 4 】

40

50

【表 6 8】

表 16. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*) アミノ酸配列 (ベータトルクウイルス(*Betatorquevirus*))

TTMV-L Y2 (ベータトルクウイルス(<i>Betatorquevirus</i>))	
ORF2	MSDCFKPTCYNNKTKQTHWINNLHLTHDLICFCPTPTRHLLALAEQQETIEVSKQE KEKITRCLITTEEDGTTTDDVLDGMDEVGLDALFAEDFEEKEG (配列番号 55)
ORF2/2	MSDCFKPTCYNNKTKQTHWINNLHLTHDLICFCPTPTRHLLALAEQQETIEVSKQE KEKITRCLITTEEDGTTTDDVLDGMDEVGLDALFAEDFEEKEGFNIPYPVTSMKQLRY RVQGKPQNPSYTPSTIDTGTQQLCHELAKTGHLKTLFLKLQSQIDSNCNKSNA CKSRKKRRRKKKKKYSSSSATSDSSSSCTESE (配列番号 56)
ORF2/3	MSDCFKPTCYNNKTKQTHWINNLHLTHDLICFCPTPTRHLLALAEQQETIEVSKQE KEKITRCLITTEEDGTTTDDVLDGMDEVGLDALFAEDFEEKEGARSTATAQTSRMPA NLGRNAGEKRKRSTAAHQQPQTAAAAVQRANNIIKGPITFNCVKKVKLFDDKPKN RRFTPEEFETELQIAKWLRPPRSFVNDPPFYPLPPEPVVNFKNFTE (配列番号 57)
ORF1	MPYYYRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFRFRFRKRRVRPTYTTIPLKQWQPPYKR TCYIKGQDCLIIYSNLRLGMNSTMYEKSIVPVHWPGGGSFSVSMILTALYDIHKL CRNWWTSTNQDLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHTELPANSNKLTYPNTHPLM MMMSKYKHIIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPPPQFENKWFATDLYKIPLLQIHCTACN LQNPVFKPKLSNNVTLSLNTISIQNRNMSVDQGQSWPFKILGTQSFYFYFYTG NLPGDTTQIPVADLLPLTNPRINRPGQSLNEAKITDHITFTEYKNKFTNYWGNPFNK HIQEHLDMILYSLKSPEAIKNEWTENMKWNQLNAGTMALTPFNEPFTQIQYNPD RDTGEDTQLYLLSNATGTGWDPPGIPELILEGFPLWLIYWGFADFQKNLKKVTNIDT NYMLVAKTKFTQKPGTFYLVLNDTFVEGNSPYEKQPLPEDNIKWYPQVQYQLEAQ NKLLQTGPFTPNIQGQLSDNISMFYKFYFKWGGSPKAINVENPAHQIQYPIPRNEHE TTSLQSPGEAPESILYSFDYRHGNYTTTALSRSISQDWALKDTVSKITEPDRQQLLKQ ALECLQISEETQEKKEKEVQQLISNLRQQQQLYRERIISLLKDQ (配列番号 58)
ORF1/1	MPYYYRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFRFRFRKRRRIQYPIPRNEHETTSLSQSGE APESILYSFDYRHGNYTTTALSRSISQDWALKDTVSKITEPDRQQLLKQALECLQISEE TQEKKEKEVQQLISNLRQQQQLYRERIISLLKDQ (配列番号 59)
ORF1/2	MPYYYRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFRFRFRKRRSQIDSNCNKSNAACKSRK KRRRKKKKKYSSSSATSDSSSSCTESE (配列番号 60)

【0 8 2 5】

10

20

30

40

50

【表 6 9】

表17. 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	TTMDV-MD1-073
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	AB290918.1
全配列: 3242 bp	

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
AGGTGGAGACTCTTAAGCTATATAACCAAGTGGGGTGGCGAATGGCTGAG
TTTACCCCGCTAGACGGTGCAGGGACCGGATCGAGCGCAGCGAGGAGGTC
CCCGGCTGCCCCGTGGGCGGGAGCCCGAGGTGAGTGAAACCACCGAGGTCT
AGGGGCAATTCGGGCTAGGGCAGTCTAGCGGAACGGGCAAGAACTTAAA
AATATTTCTTTTACAGATGCAAAACCTATCAGCCAAAGACTTCTACAAAC
CATGCAGATACAACTGTGAACTAAAAACCAAATGTGGATGTCTGGCATT
GCTGACTCCCATGACAGTTGGTGTGACTGTGATACTCCTTTTGCTCACCT
CCTGGCTAGTATTTTTCCTCCTGGTCACACAGATCGCACACGAACCATCC

```

10

【 0 8 2 6 】

20

30

40

50

【表 7 0】

AAGAAATACTTACCAGAGATTTTAGGAAAACATGCCTTCTGGTGGGGCC
 GACGCAACAAATTTGGTATGGCCGAAACTATAGAAGAAAAAGAGAAGA
 TTTCCAAAAAGAGAAAAAGAGATTTTACAGAAGAACAAATATAGAAG
 ACCTGCTCGCCGCGTCCGAGACGCAGAAGGAAGGAAGAAGAAAAAA
 AAACCTCTTATAGTAAGACAATGGCAGCCAGACTCTATTGTACTCTGTAAA
 ATTAAGGGTATGACTCTATAATATGGGGAGCTGAAGGCACACAGTTTCA
 ATGTTCTACACATGAAATGTATGAATATACAAGACAAAAGTACCCTGGGG
 GAGGAGGATTTGGTGTACAACCTTACAGCTTAGAGTATTTGTATGACCAA
 TGGAAACTTAGAAATAATATATGGACTAAAACAAATCAACTCAAAGATTT
 GTGTAGATACTTAAATGTGTATGACCTTTTACAGACACCAACACATAG
 ATTTTGTAAATGTATATGAAAGACAACCCCATTTGAAATAGATAAACTA
 ACATACATGAAATATCATCCATATATGTTATTACAAGAAAGCATAAAAT
 AATTTTACCTAGTCAAACAACATACTTAGAGGTAAATTAAGAAAAAGGA
 AAACCTATTAAACCTCCCAACAAATGCTCAGCAAAATGTTTTTTTCAACAA
 CAATTTGCTAAATATGATCTACTACTTATTGCTGCAGCAGCATGTAGTTT
 AAGATACCTTAGAATAGGCTGCTGCAATGAAATAGAATGATAACCTTAT
 ACTGTTTAAATACAAATTTTATCAAGATACAGAAATGGGGAACACAAAA
 CAGGCCCCCCTACTTTAAACCATATGCAACAATTAATAATCCATGAT
 ATTTGTCTCTAACCTATGGAGGTAAAAAACAGAAATATAACATAGGCCAAT
 GGATAGAAACAGATATACCTGGAGAAGGTAATCTAGCAAGATACTACAGA
 TCAATAAGTAAAGAGGAGGTACTTTTTACCTAAAATACTGCAAGCATA
 TCAAAACAAAAGTAAAGTCTGTAGACTACAAACCTTTACCAATTGTTTTAG
 GTAGATATAACCCAGCAATAGATGATGGAAGGCAACAAAATTTACTTAA
 CAAACTATAATGAATGGCCATTGGGGCTTACCTCAAAAAACACCAGATTA
 TATAATAGAAGAGGTCCCTCTTTGGCTAGGCTTCTGGGGATACTATAACT
 ACTTAAACAAACAAAGAACTGAAGCTATATTTCCACTACACATGTTTGTA
 GTGCAAGCAAAATACATTCAAACACAACAAACAGAAACACCTAACAAATTT
 TTGGGCTATTATAGACAACAGCTTTATACAGGGCAAAACCCATGGGACT
 CAGTTATTACTTACTCAGAACAAAAGCTATGGTTTCTACAGTTGCATGG
 CAACATAAAACCAATAATGCTATTTGTGAAAGTGGACCATATGTACCTAA
 ACTAGACAATCAAACATATAGTACCTGGGAACAGCAACTCATTACTCAT
 TTCACTTTAAATGGGGTGGTCCACAGATATCAGACCAACCAGTTGAAGAC
 CCAGCAAAACAAAACAAATATGATGTGCCCGATACAAATCAAAGAAGCATT
 ACAAATTGTTAACCAGCAAAAAACATTGCTGCCACGATGTTCCATGACT
 GGGACTACAGACGGGTTGCATTACATCAACAGCTATTAAAGAAATGCAA
 CAAAACCTCCCAACTGATTCTCTCGAATCTGATTCAGACTCAGAACCC
 AGCACCCAAGAAAAAAGACTACTACAGTCCCTCCAGCAGCCACAAAAGA
 AAACGGAAAAAGATCAACCAATGTCTCCTCTCTCTCGCAAGAAAGTACA
 TGCCAGGAGCAGGAAACGGAGGAAACATCCTCAAGCTCATCCAGCAGCA
 GCAGCAGCAGCAGCAGAACTCAAGCACAACTCTTAGTACTAATCAAGG
 ACTTAAAGTGAAACAAAGATTATTACAACACAAACGGGGGTACTAGAA
 TAACCTTACCAGATTTAAACCAGGATTTGAGCAAGAAACTGAAAAAGAG
 TTAGCACAAGCATTAAACAGACCCCTAGACTGTTCAAAGAAGATAAACCC
 CTTTTACCCCTGGCTACCCAGATTTACACCCCTTGTAACCTTTACCTTA
 ATTTTAAAGGCTAGGCCCTACACTGCTCACTTAGTGGTGTATGTTTATTAA
 AGTTTGCACCCAGAAAAATTTGTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAATAAA
 AAATTGCAAAAAATTCGGCGCTCGCGCGCTGCGCGCGCGAGCGCCGTCA
 CGCGCCGCGCTCGCGCGCGCGCGGTATGTGCTAACACACCACGCACCTA
 GATTGGGGTGCAGCGGTAGCGCGCGCACCCCAATGCGCCCGCCCTCGTT
 CCGACCCGCTTGCAGCGGTGCGACCACTTCGGGCTCGGGGGGGCGCGCT
 GCGGCGCTTATTTACTAAACAGACTCCGAGTCCGCTTGGGCCCCCCTA
 AGCTCCGCCCCCTCATGAATATTCATAAAGGAAACCAAAAATTAGAAT
 TGCCGACCACAACTGCCATATGCTAATTAGTTCCCTTTTACACAGTAA
 AAAGGGGAAGTGGGGGGCAGAGCCCCCACCACCCCGCGGGGGGGGC
 AGAGCCCCCCCCGACCCCCCTACGTACAGGCCACGCCCCCGCGGCCA
 TCTTGGGTGCGGCAGGGCGGGGACTAAAAATGGCGGGACCAATCATTTTA
 TACTTTCACCTTTCAATTAACCCGCCACGTACACAAAAG (配列番号61)

10

20

30

40

【0827】

50

【表 7 1】

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

TATAボックス

21 – 25

Cap部位

42 – 49

転写開始部位

49

5' UTR 保存ドメイン

117 – 187

ORF2

283 – 588

ORF2/2

283 – 584 ; 1977 – 2388

ORF2/3

283 – 584 ; 2197 – 2614

ORF1

432 – 2453

ORF1/1

432 – 584 ; 1977 – 2453

ORF1/2

432 – 584 ; 2197 – 2388

3オープンリーディングフレーム領域

2186 – 2385

ポリ(A)シグナル

2676 – 2681

GCリッチ領域

3054 – 3172

10

20

【0 8 2 8】

【表 7 2】

表 18. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*) アミノ酸配列 (ガンマトルクウイルス(*Gammatorquevirus*))

TTMDV-MD1-073 (ガンマトルクウイルス(<i>Gammatorquevirus</i>))	
ORF2	MWMSGIADSHDSWCDCDTPFAHLLASIFPPGHTDRTRTIQEILTRDFRKTCLSGGAD ATNSGMAETIEEKREDFQKEEKEDFTEEQNIEDLLAAVADAEGR (配列番号 62)
ORF2/2	MWMSGIADSHDSWCDCDTPFAHLLASIFPPGHTDRTRTIQEILTRDFRKTCLSGGAD ATNSGMAETIEEKREDFQKEEKEDFTEEQNIEDLLAAVADAEGRYQTNQLKTQETK TNMMCPIQSKKHYYKLLTQKTLTPRCMTGTTDGVALLHQQLLKECNKTSQLIHLN LIQTQNHPRKKDYYSSTTHKRKRKRSTNVSSLSAKKVHARSRRRKTSSSSSSSS SSSSRNSSTTS (配列番号 63)
ORF2/3	MWMSGIADSHDSWCDCDTPFAHLLASIFPPGHTDRTRTIQEILTRDFRKTCLSGGAD ATNSGMAETIEEKREDFQKEEKEDFTEEQNIEDLLAAVADAEGRTSTQEKKTTTSP RPTKENGKDQPMSPSLRRKYMPGAGNGGKHPQAHAAAAAAETQAQPLSTNQ GLKSETKIITTTNGGTRITLTRFKPGFEQETEKELAQAFNRPPRLFKEDKPFYPWLPRF TPLVNFHLNFKG (配列番号 64)

30

40

【0 8 2 9】

50

【表 7 3】

ORF1	MPFWWGRRNKFYGRNYRRKKRRFPKRRKRRFYRRTKYRRPARRRRRRRRKVR RKKKTLIVRQWQPDSIVLCKIKGYDSIIWGAEGTQFQCSTHEMYEYTRQKYPGGGG FGVQLYSLEYLYDQWKLRRNNIWTKTNQLKDLCRYLKCVMTFYRHQHIDFVIVYER QPPFEIDKLTMYKYHPYMLLQRKHKIILPSQTTNPRGKLKKKKTIKPPKQMLSKWFF QQQFAKYDLLLLIAAAACSLRYPRIGCCNENRMITLYCLNTKFYQDTEWGTTKQAPH YFKPYATINKSMIFVSNYGGKKTEYNIGQWIETDIPGEGNLARYYRSISKEGGYFSPK ILQAYQTKVKSVDYKPLPIVLGRYNPAIDDGKGNKIYLTIMNGHWGLPQKTPDYII EEVPLWLGFWGYNYLKQTRTEAIFPLHMFVVQSKYIQTQQTETPNFVAFIDNSFI QGKNPWDSVITYSEQLWFPTVAWQLKTINAICESGPYVPKLDNQTYSTWELATHY SFHFKWGGPQISDQPVDPGNKNKYDVPDTIKEALQIVNPAKNIAATMFHDWDYR RGCITSTAIKRMQQNLPTDSSLESDDSEAPAKKKRLLPVLHDPQKKTEKINQCLLSL CEESTCQEETEENILKLIQQQQQQQKLKHNLLVLIKDLKVKQRLLQLQTGVLE (配列番号 65)
ORF1/1	MPFWWGRRNKFYGRNYRRKKRRFPKRRKRRFYRRTKYRRPARRRRRRRRKISD QPVEDPGNKNKYDVPDTIKEALQIVNPAKNIAATMFHDWDYRRGCITSTAIKRMQQ NLPTDSSLESDDSEAPAKKKRLLPVLHDPQKKTEKINQCLLSLCEESTCQEETEEN ILKLIQQQQQQQKLKHNLLVLIKDLKVKQRLLQLQTGVLE (配列番号 66)
ORF1/2	MPFWWGRRNKFYGRNYRRKKRRFPKRRKRRFYRRTKYRRPARRRRRRRRKISD QPVEDPGNKNKYDVPDTIKEALQIVNPAKNIAATMFHDWDYRRGCITSTAIKRMQQ NLPTDSSLESDDSEAPAKKKRLLPVLHDPQKKTEKINQCLLSLCEESTCQEETEEN ILKLIQQQQQQQKLKHNLLVLIKDLKVKQRLLQLQTGVLE (配列番号 67)

【0 8 3 0】

【表 7 4】

表B1. 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 環3.1
 属/クレード ガンマトルクウイルス(*Gammatorquevirus*)
 アクセッション番号
 全配列: 3264 bp

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |
TAAAATGGCGGCAACCAATCATTTTATACTTTTCACTTTCCAATTACAAGC
CGCCACGTCACAGAACAGGGGTGGAGACTTTAAAACTATATAACCAAGTG
ATGTGACGAATGGCTGAGTTTACCCCGCTAGACGGTGCAGGGACCGGATC
GAGCGCAGCGAGGAGGTCCCCGGCTGCCCGTGGGCGGGAGCCCGAGGTGA
GTGAAACCACCGAGGTCTAGGGGCAATTCGGGCTAGGGCAGTCTAGCGGA
ACGGGCAAGAAACTTAAAATATGTTTTGTTTCAGATGCAGACACCTGCTT
CACAGATAAGCTCAGACGACTTCTTTGTACACACTCCAATTAATGCAGTA
ACTAAACAGCAAATATGGATGTCTCAAATTGCTGATGGACATGACAACAT
TTGTCACTGCCACCGTCCTTTTGCTCACCTGCTTGCTAATATTTTTCCTC
CTGGTCATAAAGACAGGGATCTTACCATTAATCAAATACTTGCTAGAGAT
CTTACAGAAACATGCCATTCTGGTGGAGACGAAGGAACAAGCGGTGGTGG

```

10

20

30

40

50

【0 8 3 1】

【表 7 5】

GGTCGCGCTTCCGCTACCGCCGCTACAACAAATATAAAACCAGAAGGAG
 ACCGAGAATACCCAGAAGACGAAATAGAAGATTTACTAAGACACGCAGGA
 GAAGAAAAAGAAAGGTAAAGAAAGAACTTAAAAAATTACTATTAAA
 CAAATGGCAGCCAGATTCAGTGAAAAAATGTAAAAATTAAGGATATAGTAC
 TTTAGTTATGGGTGCACAAGGAAAAACAATACAACTGTTACACAAACCAAG
 CAAGTGACTATGTTTCAGCCTAAAGCACCACAAGGTGGGGGCTTTGGCTGT
 GAAGTATTTAATTTAAAAATGGCTATACCAAGAATACTGCACACAGAAA
 TATTTGGACAAAAACAATGAATATACAGACCTTTGTAGATACACTGGAG
 CTCAAATAATTTTATACAGGCACCCAGATGTTGATTTTATAGTCAGCTGG
 GACATCAGCCACCTTTTACTTAACAAATATACATAACAGAACTGCA
 ACCACAAAACCTTTTACTAGCTAGAAGGAAAAAGAAATATCTTAGTCAAA
 AATCAAAACCCAAAGGAAAACTAAGAAATTAACATAAGAAATACCACCACCA
 AAACAAATGATAACAAAATGGTTTTTTCAAGAGACTTTTGTGATGTGAA
 TCTGTTTAAACTATGTGCTTCTGCTGCTTCTTCCGCTACCCAGGTATCA
 GTCATGGAGCTCAAAGTACTATTTTTCTGCATATGCTTAAACACTGAC
 TTTTATCAATGCAGTGACTGGTGCCAACTAACACAGAACTGGCTACCT
 AAACATTAACACACAACAAATGCCACTATGGTTTCATTACAGAGAGGGTG
 GCAAAGAGAAATGGTATAAATACACCAACAAAGAACACAGACCATATACA
 AATACATATCTTAAAAGTATTAGCTATAATGATGGATTGTTTTCTCTAA
 AGCCATGTTTGCAATTTGAAGTAAAAGCGGGGGGTGAAGGAACAACAGAAC
 CACCACAAGGCGCCCAATTAATGCTAACCTTCCACTCATTGCACTAAGA
 TATAATCCACATGAAGACACAGGCCATGGCAATGAATTTACCTTACATC
 AACTTTTAAAGGTACATATGACAAACCTAAAGTTACTGATGCTCTATACT
 TTAACAATGTACCCTGTGGATGGGATTTTATGGCTACGGGACTTTATA
 TTACAAGAAACAAAAACAAGGTGTCTTTGATCAACATATGTTTGTGT
 TAAATGTCTGCTTAAGGCCATATCACAAGTCACAAAACAAGTATACT
 ACCCACTTGTAGACATGGACTTTGTTCAGGGAGACTGCCATTTGATGAA
 TATTTATCCAAAGACATTAAGTCAATTTGGTATCCCACAGCAGAAAGACA
 AACAGTTACAATAAATAATTTTGTACAGCAGGTCCATACATGCCTAAAT
 TTGAACCCACAGACAAAGACAGTACATGGCAATTAACATACACTATAAA
 TTTTTTTTTAAGTGGGGTGGTCCACAAGTCACAGACCCAACTGTTGAAGA
 CCCATGACAGCAGAAACAAATATCTGTCCCGATACAAAGCAACAAACAA
 TACAAATTAACAAACCTGAAAAGCTGCACCCAGCAACCTCTTCCATGAC
 TGGGACCTTAGAAGGGGCTTCAATACACAAGCAGCTATTAAGAAATGTC
 AGAAAACCTCCAAATTGATTATCTTTTGAATCTGATGGCAGAGAATCAC
 CCAAAAAAAGAAAAGATGCACCAAGAAATCCCAACACAAAACCAAAAG
 CAAGAAGAGATCCAAGAAATGTCTCTCTCACTCTGCGAAGAGCCTACATG
 CCAAGAAGAAACAGAGGACCTCCAGCTCTTCATCCAGCAGCAGCAGCAGC
 AGCAGTACAAGCTCAGAAAAACCTCTTCAAACCTCTCACTCACCTGAAA
 AAAGGACAGAGAATAAGTCAACTACAAACGGGACTTTTAGAGTAATACCA
 TTTAAACCAGGTTTGAACAAAGAAACAGAAAGAACTTGGCATAGCTTT
 CTGCAGACCACCTAGAAAATATAAAAAATGATCCCCCTTTTATCCCTGGT
 TACCATGGACACCCCTTGTACACTTTAACCTTAATACAAAGGCTAGGCC
 AACACTGTTCACTTAGTGGTGTATGTTAATAAAGTTTACCCCCAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAATGCAAAATTCG
 GCGCTCGCGCGCTGCGCGCGCGGAGCGCGCTCACGCGCGCGCGCTCG
 CGCGCGCGCGTATGTGCTAACACACCACGCACCTAGATTGGGGTGGCGG
 CGCTAGCGCGCGCACCCCAATGCGCCCCGCGCTCGTTCCGACCGCTTGC
 GCGGGTGGGACCACTTCGGGCTCGGGGGGGCGCGCTGCGCGCTTTTTT
 ACTAAACAGACTCCGAGCCGCCATTTGGCCCCCTTAAGCTCCGCCCCC
 TCATGAATATTCTATAAGGAAACACATAATTAGAATTCCCGACCAAAA
 TGGCATATGCTAATTAGTTCCCTTTTACACAGTAAAAAGGGGAAGTGG
 GGGGGCATAGCCCCCACACCCCCGCGGGGGGGGAGAGCCCCCCCC
 GCACCCCCCTACGTCACAATCCACGCCCGCGGCCATCTTGGGTGC
 GGCAGGGCGGGGGC (配列番号878)

10

20

30

40

【0832】

【表 7 6】

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

TATAボックス

87- 93

Cap部位

110 - 117

転写開始部位

117

5' UTR 保存ドメイン

185 - 255

ORF2

285 - 671

10

ORF2/2

285 - 667 ; 2063 - 2498

ORF2/3

285 - 667 ; 2295 - 2697

TAIP

385 - 585

ORF1

512 - 2545

ORF1/1

512 - 667 ; 2063 - 2545

ORF1/2

512 - 667 ; 2295 - 2498

3オープンリーディングフレーム領域

2295 - 2495

20

ポリ(A)シグナル

2729 - 2734

GCリッチ領域

3141 - 3264

【 0 8 3 3 】

30

40

50

【表 7 7】

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

環 3.1 (ガンマトルクウイルス(<i>Gammatorquevirus</i>))	
ORF2	MQTPASQISSDDFFVHTPFNAVTKQQIWMSQIADGHDNICHCHRPFAHLLAN IFPPGHKDRDLTINQ ILARDLTETCHSGGDEGTSGGGVAASATAATTNIKPEGDAEYPEDEIEDLLR HAGEEKERR (配列番号 879)
ORF2/2	MQTPASQISSDDFFVHTPFNAVTKQQIWMSQIADGHDNICHCHRPFAHLLAN IFPPGHKDRDLTINQ ILARDLTETCHSGGDEGTSGGGVAASATAATTNIKPEGDAEYPEDEIEDLLR HAGEEKERSGVVHKSQTQLLKTHAAETNILSPIQCNKQYKLKTLKSTQQPS SMTGTLEGASLHKQLLKECQKTSKLIHLSNLMAQNHPKKRKDAPKKSQHK KSKKRSKNVSSHSAKSLHAKKKQRTSSSSSSSSSSSTSSEKTSSNSSLT (配列 番号 880)
ORF2/3	MQTPASQISSDDFFVHTPFNAVTKQQIWMSQIADGHDNICHCHRPFAHLLAN IFPPGHKDRDLTINQ ILARDLTETCHSGGDEGTSGGGVAASATAATTNIKPEGDAEYPEDEIEDLLR HAGEEKERRITQKKEKMHQRNPNTKPKARRDPRMSPLTLRRAYMPRRNRGP PALHPAAAAAAVQAQKKPLQTPHSPEKRTENKSTTNGTFRVIPFKPGFEQET EKELAI AFCRPPRK YKNDPPFYPWLPWTPLVHFNLNYKG (配列番号 881)

10

20

【0 8 3 4】

30

40

50

【表 7 8】

TAIP	MDMTTFVTATVLLLTCLLIFLLVIKTGILPLIKYLLEILQKHAILVETKEQAV VGSPLPLPPLQQI (配列番号 882)
ORF1	MPFWWRRRNKRWWGRRFRYRRYNKYKTRRRRRIPRRRNRRFTKTRRRRK RKKVRRKLKKITIKQWQP DSVKKCKIKGYSTLVMGAQ GKQYNCYTNQASDYVQPKAPQGGGFGCEVFN LKWLYQEYTAHRNIWTKTNEYTDLCRYTGAQIILYRHPDVDFIVSWDNQPP FLLNKYTYPELQPQNLLARRKRIILSQKSNPKGKLRIKLRIPPPQMITKWFF QRDFCDVNLFKLCASAASFRYPGISHGAQSTIFSAYALNTDFYQCSDWCQTN TETGYLNIKTQQMPLWFHYREGGKEKWKYKYNKEHRPYTNTYLKSYSYND GLFSPKAMFAFEVKAGGEGTTEPPQGAQLIANLPLIALRYNPHEDTGHGNEI YLTSTFKGTYDKPKVTDALYFNNVPLWMGFYGYWDFILQETKNKG VFDQH MFVVKCPALRPISQVTKQVYYPLVDMDFCSGRLPFDEYLSKDIKSHWYPTA ERQTVTINNFTAGPYMPKFEPTDKDSTWQLNYHYKFFFKWGGPQVTDPTV EDPCSRNKYPVPDTMQQTIIQIKNPEKLHPATLFHDWDLRRGFITQAAIKRMS ENLQIDSSFESDGTESPKKKKRCTKEIPTQNQKQEEIQECLLSLCEEPTCQEET EDLQLFIQQQQQQQYKLRKNLFLKLLTHLKKGQRISQLQTGLLE (配列番号 883)
ORF1/1	MPFWWRRRNKRWWGRRFRYRRYNKYKTRRRRRIPRRRNRRFTKTRRRRK RKKWGGPQVTDPTVEDPCSRNKYPVPDTMQQTIIQIKNPEKLHPATLFHDWD LRRGFITQAAIKRMS ENLQIDSSFESDGTESPKKKKRCTKEIPTQNQKQEEIQE CLLSLCEEPTCQEETEDLQLFIQQQQQQQYKLRKNLFLKLLTHLKKGQRISQL QTGLLE (配列番号 884)
ORF1/2	MPFWWRRRNKRWWGRRFRYRRYNKYKTRRRRRIPRRRNRRFTKTRRRRK RKKNHPPKKRKDAPKKSQHKTKSKKRSKNVSSHSAKSLHAKKKQRTSSSSSS SSSSSTSSEKTSSNSSLT (配列番号 885)

【0 8 3 5】

10

20

30

40

50

【表 7 9】

表B2. 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 環4.0
 属/クレード ガンマトルクウイルス(*Gammatorquevirus*)
 アクセション番号
 全配列: 3176 bp

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
TAAAAATGGCGGGAGCCAAATCATTTTTATACTTTTCACTTTCCAATTAAAAAT
GGCCACGTCACAAACAAGGGTGGAGCCATTTAAACTATATACTAAGTC
GGGTGGCGAATGGCTGAGTTTACCCCGCTAGACGGTGCAGGGACCGGATC
GAGCGCAGCGAGGAGGTCCCCGGCTGCCCATGGCGGGAGCCGAGGTGAG
TGAAACCACCGAGGTCTAGGGGCAATTCCGGGCTAGGGCAGTCTAGCGGAA
CGGGCAAGAACTTAAACAATATTTGTTTACAGATGGTTAGTATATCC
TCAAGTGATTTTTTTAAGAAAACGAAATTTAATGAGGAGACGCAGAACCA
AGTATGGATGCTCAAATTGCTGACTCTCATGATAATACTGTCAGTTGCT
GGCATCCATTGCTCACCTTCTTGCTTCCATATTTCTCTGCCCACAAA
GATCGTGATCTTACTATTAAACCAATTCTTCTAAGAGATTATAAAGAAAA
ATGCCATTCTGCTGCAGAAGAAGGAGAAAATTCTGCACCAACAACAGCTT
TAATTACACCAAAAACAAGCATATACAAAAAGATGCCCCACAACGCCGCC
GCAGAAGAAGACCATACAGACGCCCTGTTCCGCCGCCCGTAGAAAACTT
CGAAAGGTAAAGAGAAAAAAAATCTTTAATTGTTAGACAATGGCAACC
AGACAGTATAGAAGCTTGTAATAATTATAGGACAGTCAGCTATAGTTGTTG
GGGCTGAAGGAAAGCAAATGTACTGTTATCTGTCAATAAGTTAATTAAT
GTGCCCCCAAAAACACCATATGGGGGAGGCTTTGGAGTAGACCAATACAC
ACTGAAATACTTATATGAAGAATACAGATTTGCACAAAACATTTGGACAC
AATCTAATGTACTGAAAGACTTATGCAGATACATAAATGTTAAGCTAATA
TTCTACAGAGACAACAAAACAGACTTTGTCCTTTCCCTATGACAGAAACCC
ACCTTTTCAACTAACAAAATTTACATACCCAGGAGCACACCCACAACAAA
TCATGCTTCAAAAACACCACAAATTCATACTATCACAATGACAAAGCCT
AATGGAAGACTAACAAAAAACTCAAAATTAACCTCCTAAACAAATGCT
TTCTAAATGGTTCTTTTCAAAAACAATTCTGTAAATACCCTTTACTATCTC
TTAAAGCTTTTGCAGTACCTTAGGCACTCTTACCTAGGCTGCTGTAAT
GAAAAATCCACAGGTATTTTTTTATTATTTAAACCATGGTACTACACAAT
AACAAACTGGGGAGCACAAATCCTCAACAGCATAACAGCCTAACTCCAAGG
TGACAGACACAACATACTACAGATACAAAAATGACAGAAAAAATATTAAC
ATTAAGGCCATGAATACGAAAAAGTATATCATAAGAAAACGGTTATTT
TCAATCTAGTTTCTTACAAACACAGTGCATATATACCACTGAGCGTGGTG
AAGCCTGTATAGCAGAAAAACCACTACGAATAGCTATTTACAATCCAGTA
AAAGACAATGGAGATGGTAATATGATATACCTTGTAAAGCACTCTAGCAAA
CACTTGGGACCAGCCTCCAAAAGACAGTGCTATTTAATACAAGGAGTAC
CCATATGGCTAGGCTTATTTGGATATTTAGACTACTGTAGACAAATTAAA
GCTGACAAAACATGGCTAGACAGTCATGTACTAGTAATTCAAAGTCCTGC
TATTTTTACTTTACCCAAATCCAGGAGCAGGCAAATGGTATTGTCCACTAT
CACAAAGTTTTATAAATGGCAATGGTCCGTTTAAATCAACCACCTACACTG
CTACAAAAGCAAAGTGGTTTCCACAAATACAATACCAACAAGAAATTAT
TAATAGCTTTGTAGAAACAGGACCATTGTTCCCAAATATGCAAAATCAA
CTGAAAGCAACTGGGAACATAAAATATAAATATGTTTTTACATTTAAGTGG
GGTGGACCACAATTTCCATGAACCAGAAATTGCTGACCTTAGCAACAAGA
GCAGTATGATGTCCCCGATACTTTCTACCAACAATACAAATTGAAGATC
CAGAAGGACAAGACCCAGATCTCTCATCCATGATTGGGACTACAGACGA
GGCTTTATTAAAGAAAGATCTCTTAAAGAAATGTCAACTTACTTCTCAAC
TCATACAGATCAGCAAGCAACTTCAGAGGAAGACAATCCCAAAAAGAAAA

```

10

20

30

40

【0836】

【表 80】

AGAGAATTGGACCCCAACTCACAGTCCCACAACAAAAAGAAGAGGAGACA
 CTGTTCATGTCTCCTCTCTCTCTGCAAAAAAGATACCTTCCAAGAAACAGA
 GACACAAGAAGACCTCCAGCAGCTCATCAAGCAGCAGCAGGAGCAGCAGC
 TCCTCCTCAAGAGAAACATCCTCCAGCTCATCCACAACTAAAAGAGAAT
 CAACAAATGCTTCAGCTTCACACAGGCATGTTACCTTAACCAGATTTAAA
 CCTGGATTTGAAGAGCAAACAGAGAGAGAATTAGCAATTATATTTCATAG
 GCCCCCTAGAACCTACAAAGAGGACCTTCCATTCTATCCCTGGCTACCAC
 CTGCACCCCTTGTACAATTTAACCTTAACCTCAAAGGCTAGGCCAACAAT
 GTACACTTAGTAAAGCATGTTTATTAAAGCACAACCCCCAAAATAAATGT
 AAAAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAATAAAAAATTGCAAAAATTCGGCGCT
 CGCGCGCATGTGCGCCTCTGGCGCAATCACGCAACGCTCGCGCGCCCGC
 GTATGTCCTTTTACCACGCACCTAGATTGGGGTGCAGCGCGCTAGCGCGCG
 CACCCCAATGCGCCCCGCCCTCGTTCCGACCCGCTTGCAGGGTTCGGACC
 ACTTCGGGCTCGGGGGGGCGCGCCTGCGGCGCTTTTTTACTAAACAGACT
 CCGAGCCGCCATTTGGCCCCCTAAGCTCCGCCCCCTCATGAATATTCAT
 AAAGGAAACCACATAATTAGAATTGCCGACCACAACTGCCATATGCTAA
 TTAGTTCCCTTTTACAAAGTAAAAGGGGAAGTGAACAAGCCCCACACC
 CGCAGGGGCAAGGCCCGCACCCCTACGTCACTAACCACGCCCCCGCCGC
 CATCTTGGGTGCGGCAGGGCGGGGGC (配列番号886)

10

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

TATAボックス

87- 93

Cap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

20

30

40

【0837】

50

【表 8 1】

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

環 4.0 (ガンマトルクウイルス(<i>Gammatorquevirus</i>))	
ORF2	MVSISSSDFFKKTKFNEETQNQVWMSQIADSHDNICSCWHPFAHLLASIFPPG HKDRDLTINQILLR DYKEKCHSGGEEGENSGPTTGLITPKEEDIEKDGPEGAAEEDHTDALFAAAV ENFER (配列番号 887)
ORF2/2	MVSISSSDFFKKTKFNEETQNQVWMSQIADSHDNICSCWHPFAHLLASIFPPG HKDRDLTINQILLR DYKEKCHSGGEEGENSGPTTGLITPKEEDIEKDGPEGAA EEDHTDALFAAAVENFESGVDHNSMNQKLLTLANKSSMMSPILSTKQYKLG IQKDKTPDLSSMIGTTDEALLKKDLLKECQLTSQLIQISKQLQRKTFPKRKRE LDPNSQSHNKKRRHCHVSSLSAKKIPSKKQRHKKTSSSSSSSSRSSSSSSRET SSSSSTN (配列番号 888)
ORF2/3	MVSISSSDFFKKTKFNEETQNQVWMSQIADSHDNICSCWHPFAHLLASIFPPG HKDRDLTINQILLR DYKEKCHSGGEEGENSGPTTGLITPKEEDIEKDGPEGAA EEDHTDALFAAAVENFERSASNFRGRHSQKEKENWTPHSPPTTKRRGDTVM SPLSLQKRYLPRNRDTRRPPAAHQAAAGAAAPPQEKHPPAHPQTKRESTNAS ASHRHVTLTRFKPGFEEQTERELAIIFHRPPRTYKEDLPFYPWLPPAPLVQFNL NFKG (配列番号 889)
TAIP	MRRRRTKYGCLKLLTLMIISAVAGIHLLTFLLPYFLLATKIVILLTKFF (配列 番号 890)

【0 8 3 8】

10

20

30

40

50

【表 8 2】

ORF1	MPFWWRRRRKFWTNNRFNYTKRRRYRKRWPRRRRRRRPYRRPVRRRRRK LRKVKRKKKSLIVRQWQPDSIRTCKIIGQSAIVVGAEGKQMYCYTVNKLINV PPKTPYGGGFGVDQYTLKYL YEEYRFAQNIWTQSNVLKDLCRYINVKLIFYR DNKTDFVLSYDRNPPFQLTKFTYPGAHPQQIMLQKHHKFILSQMTKPNGRLT KKLKIKPPKQMLSKWFFSKQFCKYPLLSLKASALDLRHSYLGCCNENPQVFF YYLNHGYTITNWGAQSSTAYRPNSKVTDTTYRYRYKNDRKNINIKSHEYEK SISYENGYFQSSFLQTQCIYTSERGEACIAEKPLGIAIYNPVKDNGDGNMIYLV STLANTWDQPPKDSAILIQGVPIWLGLFGYLDYCRQIKADKTWLDShVLVIQ SPAIFTYPNPGAGKWYCPLSQSFINGNGPFNPPTLLQKAKWFPQIQYQQEII NSFVESGPFVPKYANQTESNWELKYKYVFTFKWGGPQFHEPEIADPSKQEQ YDVPDTFYQTIQIEDPEGQDPRSLIHDWDYRRGFIKERSLKRMSYFSTHTDQ QATSEEDIPKKKKRIGPQLTVPQQKEEETLSCLLSLCKKDTFQETETQEDLQQ LIKQQQEQQLLKRNILQLIHKLKENQQMLQLHTGMLP (配列番号 891)	10
ORF1/1	MPFWWRRRRKFWTNNRFNYTKRRRYRKRWPRRRRRRRPYRRPVRRRRRK LRKWGGPQFHEPEIADPSKQEQYDVPDTFYQTIQIEDPEGQDPRSLIHDWDY RRGFIKERSLKRMSYFSTHTDQQATSEEDIPKKKKRIGPQLTVPQQKEEETL SCLLSLCKKDTFQETETQEDLQQLIKQQQEQQLLKRNILQLIHKLKENQQM LQLHTGMLP (配列番号 892)	20
ORF1/2	MPFWWRRRRKFWTNNRFNYTKRRRYRKRWPRRRRRRRPYRRPVRRRRRK LRKISKQLQRKTFPKRKR ELDPNSQSHNKKKRRHCHVSSLSAKKIPSKKQRHKKTSSSSSSSSRSSSSSSRE TSSSSSTN (配列番号 893)	30

【0839】

【表 8 3】

表B3. 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 1

名称 環5.2
 属/クレード アルファトルクウイルス(*Alphatorquevirus*) クレード 1
 アクセション番号
 全配列: 3696 bp

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
ATTTTGTTTCAGCCCGCCAATTTCTCTTTCAAACAGGCCAATCAGCTACTA
CTTCGTGCACCTTCCTGGGGCGTGTCTGCCGCTCTATAAAGCAGAGGCG
GTGACGAATGGTAGAGTTTTCTTGGCCCGTCCGCGGCAGAGCGCGAGC
GAAGCGAGCGATCGAGCGTCCCGAGGGCGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACA
CACCGCAGTCAAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCTATGGGCA
AGATTCTTAAAAAATTCCTCCGATCCCTTTGCCGCCAGGACATAAAAAACA
TGCCGTGGAGACCGCCGGTCCATAGTGTCCAGGGGCGAGAGGATCAGTGG
TTCGCAAGCTTTTTTTCACGGCCACGATTCGTTTTGCGGCTGCGGTGACCC
TCTTGGCCATATTAATAGCATTGCTCATCGCTTTCTCAGCGCCGGTCCAC
CAAGGCCCCCTCCGGGGCTAGATCAGCCTAACCCCCGGGAGCAGGGCCCG
GCCGGACCCGGAGGGCCGCCCGCCATCTTGGCCCTGCCGGCTCCGCCCCG
GGAGCCTGACGACCCGCGAGCCACGGCGTGGTGGTGGGGACGGTGCGCCG
CCGCTGGCGCCGCGAGACGACCATAACACACGAGACTACGACGAAGAAGAG
CTAGACGAGCTTTTCCGCGCCGCCGCCGAAGACGAATTGTAAAGTAGGAGA
TGGCGCCGGCCTTACAGGCGCAGGAGGAGACGCGGGCGACGCAGACGCAG
ACGCAGACGCAGACATAAGCCCACCCTAATACTCAGACAGTGGCAACCTG
ACTGTATCAGACACTGTAAAATAACAGGATGGATGCCCCCTCATTATCTGT

```

10

20

【0 8 4 0】

30

40

50

【表 8 4】

GGAAAGGGGTCCACCCAGTTCAACTACATACACCCAGCGGACGATATCAC
CCCCAGGGGAGGCTCTCTACGAGGCAATTTACAAACATGACTTTCTCCC
TGGAGGCCATATATGAACAGTTCTTATACCACAGAAACAGGTGGTGGCC
TCTAACCCAGACCTAGAAC'TGTGCAGATACAAGGGGACCACCTTAAACAT
CTACAGACACCCAGAAGTAGACTACATAGTTACCTACAGCAGAACAGGAC
CCTTTGAAATCAGCCACATGACCTACCTCAGCACTACCCCATGCTAATG
CTGCTAAACAAGCACCACATTGTGGTGGCCAGCTTAAAGACTAAGCCCAG
AGGCAGAAAGGCCATAAAAGTCAGGATAAGGCCCCCAAACTCATGAACA
ACAAAGTGGTACTTCACCAGAGACTTCTGTAACATAGGCCTCTCCAGCTC
TGGGCCACAGGCTTAGAACTCAGAAACCCCTGGCTCAGAATGAGCACCCCT
GAGCCCCTGCTAGGCTTTAATGTCTCTAAAAACAGCATTTACACAAACC
TCAGCAACCTGCCACAATACAAAAACGAAAGACTAAACATCATTAACAAC
ATACTTCACCCACAAGAAATTACAGGTACAAACAACAAAAGTGGCAGTA
CACATAACCAAACTCATGGCCCCATTACTATTACGAAACAGCGGCA
GCACCTATGACTGGGAAAAATTACAGCAAGAAACAAACTACAATAATACA
TATGTTAAATTTACCCAGAAAAGACAGGAAAAACTAACTAAAATTAGAAA
AGAGTGGCAGATGCTTTATCCACAACAACCCACAGCACTGCCAGACTCCT
ATGACCTCCTACAAGAGTATGGCCTCTACAGTCCATACCTAAACCCC
ACAAGAATAAACCTAGACTGGATGACCCCATACACACAGTCAGATACAA
TCCCCTAGTAGAACAGGGCTTTGGAAACAGAATATACATCCAGTGGTGCT
CAGAAGCAGATGTTAGCTACAACAGGACAAAATCCAAGTGTCTGCTACAA
GACATGCCCCCTGTTTTTCATGTGCTATGGCTACATAGACTGGGCAATAAA
AAACACTGGAGTGTCTCTAGTGAAGGACGCCAGAACTGTGCTCAGGT
GTCCCTACACAGAGCCACAACCTAGTTGGCTCCACACAACACATAGGCTTT
GTACCCATCTCAGAAACCTTCATGAGGGGCGACATGCCGTACTTGCACC
ATACATACCGTTAAGCTGGTTTTGCAAGTGGTATCCCAACATAGCTCACC
AAAAGGAAGTCTTGAGTCAATCATTTCTGACGCCCCCTTCATGCCCCGT
GACCAAGACATGAACGGTTGGGATATACAATCGGTACAAAATGGACTT
CTTATGGGGCGGTTCCCCCTCTCCCCCTCACAGCCAACTCGACGACCCCTGCC
AGCAGGGAACCCCAACCCGATTCCCGACCCCGATAAACACCCCTCGCTCCTA
CAAGTCTCGAACCCGAAACTACTCGGACCGAGGACAGTGTTCACAAAGTG
GGACATCAGACGTGGGCAGTTTAGCAAAAGAAGTATTAAAGAGTGTCTAG
AATACTCAAGCGATGATGAATCTCTTGCGCCAGGTCTCCCATCAAAGCGA
AACAAAGCTCGACTCGGCGTTCCGAGGAGAAAATCGAGAGCAAAAAGAATG
CTATTCTCTCTCTCAAAGCGCTCGAGGAAGAAAGAGACCCAGAAAGAAAG
AACCAGCACCCCAAGAAAAAGCCAGAAAGAGGAGCTACTCCACCAGCTC
CAGCTCCAGAGACGCCACCAGCGAGTCTCAGACGAGGCTCAAGCTCGT
CTTTACAGACATCTCTCCGACTCCGCCAGGGAGTCCACTGGAACCCGGAGC
TCACATAGCGCCCCACCTTACATACCAGACCTGCTTTTCCCAATACTG
GTAAAAAATAAAATTTCTCTCCCTTCGATTGGGAGACAGGGCGCAATA
GCGGGGTGGATGCGGCGGCCCATGCGCTTCTATCCCTCAGACACCCCTCA
CTACCCGTGGCTACCCCCGAGCGAGATATCCCGAAAAATATGTAACATAA
ACTTCAAAATAAAGCTTCAACAGTCACTGATTCCAGCGCCCTCTCTGTTC
ACTTAGCGGTGTCTACCTCTTAAGGTCACTAAGCACTCCGAGCGTAAGCG
AGGAGTTCGCAACCTCTACCAAGGGGCAACTTCTCGGGGTCCGGCGCTAC
GCGCTTCGCGCTGCGCGGACATCTCGGACCCCTCGACCCGAATCGCTTG
CGCGATTTCGACCTGCGGCTCGGGGGGTTCGGGGGCTTTACTAAACAGA
CTCCGAGGTGCCATTGGACACTGTAGGGGGTGAACAGCAACGAAAGTGAG
TGGGGCCAGACTTCGCCATAAGGCCTTTATCTTCTTGCCTTGGATAGTG
ACTTCCGGGTCCGCTTGGGGGCCGCAATTTAGCTTCGGCCGCCATTTTA
GGCCCTCGCGGCCCTCCGTAGGCGCGCTTTAGTGACGTACGGCAGCCAT
TTTGTCTGACGTTTGAGACACGTGATGGGGGCGTGCCTAACCCGGAAG
CATCCCTGGTCACTGACTCTGACGTACGGCGGCGCATCTTGTGCTGTCC
GCCATCTTGTAACCTTCTTCCGCTTTTTTCAAAAAAAGAGGAAGTGTGA
CGTAGCGGCGGGGGGCGGCGCGCTTCGCGCGCGCCACCAGGGGGCGCG
TGCGCGCCCCCGCGCATGCGCAGGGGCTCTCGAGGGGCTCCGCCCCC
CCCCGTGCTAAATTTACGCGCATGCGCGACACGCCCCCGCGCGC (配列番号894)

【 0 8 4 1 】

【表 8 5】

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

TATAボックス

85- 91

Cap部位

108 - 115

転写開始部位

115

5' UTR 保存ドメイン

178 - 248

ORF2

300 - 692

10

ORF2/2

300 - 688 ; 2282 - 2804

ORF2/3

300 - 688 ; 2484 - 2976

ORF2t/3

300 - 349 : 2484 - 2976

TAIP

322 - 471

ORF1

572 - 2758

ORF1/1

572 - 688 ; 2282 - 2758

ORF1/2

572 - 688 ; 2484 - 2804

20

3オープンリーディングフレーム領域

2484 - 2755

ポリ(A)シグナル

3018 - 3023

GCリッチ領域

3555 - 3696

【 0 8 4 2 】

30

40

50

【表 8 6】

表 C3. 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 1

環 5.2 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>)) クレード 1	
ORF2	MPWRPPVHSVQGREDDQWFASFFHGHDSFCGCGDPLGHINSIAHRFPFRAGPP RPPPGLDQPNPREQGPAGPGGPPAILALPAPPAEPDDPQPRRGGGDGGAAA GAADDHTQRDYDEEELDELFRAAAEDDL (配列番号 895)
ORF2/2	MPWRPPVHSVQGREDDQWFASFFHGHDSFCGCGDPLGHINSIAHRFPFRAGPP RPPPGLDQPNPREQGPAGPGGPPAILALPAPPAEPDDPQPRRGGGDGGAAA GAADDHTQRDYDEEELDELFRAAAEDDFQSTTPASREPTRFPTPINTLAS YKSRTNRNYSRGRQCSTSGTSDVGS�AKEVLRECQNTQAMMNLLRQVSHQSE TSSTRRSEEKIESKKNAILSSKRSRKKRPQKKKNQHPKKKPRKRSYSTSSSS RDATSESSDEGSSSSLQTSSDSARESTGTRSSHSAPTLHTRPAFSQYW (配列 番号 896)
ORF2/3	MPWRPPVHSVQGREDDQWFASFFHGHDSFCGCGDPLGHINSIAHRFPFRAGPP RPPPGLDQPNPREQGPAGPGGPPAILALPAPPAEPDDPQPRRGGGDGGAAA GAADDHTQRDYDEEELDELFRAAAEDDLSPIKAKQARLGVPRRKSRAR KMLFSPQSARGRRDPRRRRTSTPRKSPERGATPPAPAPETPPASPQTRAQAR LYRHPPTPPGSPLEPGAHIAPPPYIPDLLFPNTGKKKKFSPFDWETEAQIAGW MRRPMPRFYPSDTPHYPWLPPELDIPKICNINFKIKLQ (配列番号 897)
ORF2/3	MPWRPPVHSVQGREDDQWSPKAKQARLGVPRRKSRARMLFSPQSARGR RDPRRRRTSTPRKSPERGATPPAPAPETPPASPQTRAQARLYRHPPTPPGSPL EPGAHIAPPPYIPDLLFPNTGKKKKFSPFDWETEAQIAGWMRRPMPRFYPSD TPHYPWLPPELDIPKICNINFKIKLQ (配列番号 898)
TAIP	IVSRGERISGSQAFFATIRFAAAVTLAILIALLIAFLAPVHQGPLRG (配列 番号 899)

【0 8 4 3】

10

20

30

40

50

【表 8 7】

ORF1	TAWWWGRWRRRWRRRRPYTTTLRRRRARRAFPRRRRRRFVSRRWRRPY RRRRRRGRRRRRRRRRHKPTLILRQWQPCIRHCKITGWMPLIICGKGSTQ FNYITHADDITPRGASYGGNFTNMTFSLEAIYEQFLYHRNRWSASNHDLEL CRYKGTTLKLYRHPEVDYIVTYSRTGPFESHMTYLSSTHPMLMLLNKHHIV VPSLKTTPRGRKAIVRIRPPKLMNNKWYFTRDFCNIGLFQLWATGLELRN PWLRMSTLSPCIGFNVLKNSIYTNLSNLPQYKNERLNIINNILHPQEITGTNN KKWQYTYTKLMAPIYYSANRASTYDWENYSKETNYNNNTYVKFTQKRQE KLTIRKEWQMLYPQQPTALPDSYDLLQEYGLYSPYYLNPTRINLDWMT YTHVRYNPLVDKGFGNRIYQWCSEADVSYNRTKSKCLLQDMPLFFMCYG YIDWAIKNTGVSSLVKDARICIRCPYTEPQLVGSTEDIGFVPISETFMRGDM PVLAPYIPLSWFCKWYPNIAHQKEVLESIISCSPFMPRDQDMNGWDITIGYK MDFLWGGSPGPSQPIDPCQQGTHPIPDPKHPRLQVSNPKLLGPRTVVFH KWDIRRGQFSKRISKRVSEYSSDDESLAPGLPSKRNLDSAFRGENREQKE CYSLLKALEEEETPEEEEPAPQEKAQKEELLHQLQLQRRHQRVLRRLGLKL VFTDILRLRQGVHWNPELT (配列番号 900)	10
ORF1/1	TAWWWGRWRRRWRRRRPYTTTLRRRRARRAFPRRRRRRFPIDDPCQQT HPIPDPKHPRLQVSNPKLLGPRTVVFHKWDIRRGQFSKRISKRVSEYSSDD ESLAPGLPSKRNLDSAFRGENREQKECYSLLKALEEEETPEEEEPAPQEKA QKEELLHQLQLQRRHQRVLRRLGLKLVFTDILRLRQGVHWNPELT (配列番 号 901)	20
ORF1/2	TAWWWGRWRRRWRRRRPYTTTLRRRRARRAFPRRRRRRFVSHQSETSST RRSEEKIESKKNAILSSK RSRKKRPQKKKNQHPKKKPRKRSYSTSSSRDATSESSDEGSSSSLQTSSDS ARESTGTRSSHSAPTLHTRPAFSQYW (配列番号 902)	30

【0 8 4 4】

【表 8 8】

表B4. 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 環6.0
 属/クレード アルファトルクウイルス(*Alphatorquevirus*) – クレード 3
 アクセション番号
 全配列: 3828 bp

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |
GTGCTACGTCACCTAACCTACGTGTCCGTCTCCCATAGGCCGGACACCGTA
TACGTCATACACTTCTGGGCATGGTCTACGTGATAATATAAGTGGCTGC
ACTTCCGAATGGCTGAGTTTTCCACGCCCCGTCCGCAGCGAGGACGCCACG
GAGGGGGATCCGCGCGTCCCAGGGCGGGTGCCGGAGGTGAGTTACACA
CCGCAGTCAAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCTATGGGCAAG
GCTCTTAAAAATGCACTTTCTAGGTGCAGTAGAAAAGAAAGGACATTGT
CACTGCTACCACTGTACCATTCACAGAAAGCTAGGCCATCTGTGACAGGT
ATGTGGAGACCCCCGACTCGAAATGCGTTCAATATTCAACGTGACTGGTT
CTACAGTTGCTTTCACTCCCACGCTTCTATGTGCGGCTGTGCTGATTTTA
TTGGTCATTTCAATCATATCGCTGCTATGCTCGGCCGTCCGGAAGACCAG
AACCCTCCTCCGCCACCCGGGGCTCTGAGACCCCTACCCGCTCTCCCGGC
CTCTTCCGAGGCACCCGGTGATCGAGCGCCATGGCCTATGGGTGGTGGCG
GAGGCGACGGAGGCGCCCGTGGTGGAGGAGGAGATGGCGCCGCTGGAGAC
GCCGTCCGAGACCCCGCAGACGCGGACCTCGTCCCGCTATCGACGCGCGC
AGAACAGTAAGGAGGCGCGGCAGGGGGAGGTGGACTAGAGCACACAGGAG
ATGGCGCCGCAAGGGAAAACGCAGTCGCAAAAAAAGATTATTATAAGAC
AATGGCAGCCCACTACACTCGCAGATGCAACATAGTGGGCTACATGCCT
CTACTAATATGTGGGAAAATACTGTTGCTACAACTATGCCACCCACTC
AGACGACAGCTACTACCCCGGACCCTTTGGGGGGGGAATGACTACAGACA
AATTTACTCTAAGAATACTGTATGATGAGTACAAAAGGTTTCATGAAGTAC
TGGACCTCTTCAAACGAGGACCTAGACCTATGTAGATACTGGGATGCAC
TCTATATGTGTTTAGACACCCAGAAGTAGACTTTAATAATCATTATAAATA
CCTCTCCTCCATTTCCTAGACACAGAAATAACAGGGCCTAGCATACACCCA
GCTATGATGGCCCTTAACAAAAGAAGCAGATGCATACCTAGCATAAAAAA
CAGACCAGGCAGAAAGCACTATATAAAGATTAAAGTAGGAGCCCCCGAA
TGTTACAGATAAGTGGTACCCCAAACAGACCTCTGTGACATGACACTC
CTAACGATCTTTGCCAGTGGGCGGATATGCAATATCCGTTGGGCTCACC
ACTAACTGACACCATAGTTGTGTCATTCCAAGTTCTGCAATCCATGTACA
ACGACTGCCTGAGTGTACTTCTGATAATTTTGCAGAGACATCAGGCAAA
GGCACCCAACIACATGAGAACATAATACAACATCTGCCCTACTACAACAC
CACACAAACACAAGCACAAATTTAAAAGATTTATAGAAAACATGAATGCAA
CAAATGCAGACAATATATGGGCAAGCTACATAAACACAACCAAGTTCTCA
TCCGCAAACACTCCAAAGAATGACACAGGCATAGGAGGCCCTTACACTAC
ATATTCAGACTCATGGTACAAAGGCACAGTATACAATGACAAAATTAAAA
CCATACCAATAAAAAGCAAGCAAGTTATACTACGAGCAAACCAAAAACCTC
ATTGGCATTACATTCACTGGATCCACACACAGACTCCAATTACTGTGGAGG

```

【 0 8 4 5 】

10

20

30

40

50

【表 8 9】

CCTATACTCCTCCGTATGGCTATCAGCAGGTAGATCCTACTTTGAAACCA
 AAGGCCCATACACAGACATAACTTACAACCCCTTTTCAGACAGAGGAGAG
 GGTAAACATGCTATGGATAGACTGGCTAACTAAAAATGACTCAGTGACTC
 AAAAACCAAGTAGCAAGTGTCTTATAGAAAACCTGCCCCGTGGGGCTCAG
 TATACGGATATAAAGAATACTGCAGCAAGGTAACAGGAGACACAAACATA
 GAACACAACCTGTAGATGTGTTATCAGAAGCCCCCTACACAGTACCACAACCT
 GTTAGACCACAACAATCCCTTCAGAGGATACGTGCCTTATAGCTTCAACT
 TTGGAAATGGTAAATGCCAGGCGGTAGCAGCCTAGTGGCCATTAGAATG
 AGAGCCAAGTGGTACCCCACTCTGTCCACCAAAAAGAAGTTCTAGAAGC
 CATAGCACAGGCGGGCCCTTCGCATACCACTCAGATAATAAAAAAGTGT
 CCCTGGGCATAAAGTACAGATTTAAGTGGGTGTGGGGTGGCAACCCCGTG
 TCCCAACAGGTTGTTAGAAAACCCCTGCAAGACCACCCAAGTTCTCGGG
 CAATAGAGTGCCTCGAACAATACAAGTCGTTGACCCGCGGTACAACACGC
 CAGAACTCACCATACACCCGTGGGACTTCACACATCCGTTCTTTCCGAGA
 AAAGCTATTAAGAGAAAGCAAGAACAACCAATACCTCATGACACTTTTTC
 AGCAGGGTTCAAGCGCAGTCGCCGAGATACAGAAGCACTCCAATGCAGCC
 AAGAAGAGCAACAAAAAGAAACTTACTTTTCCAGTCCAGCAGCTCAAG
 CGAGTCCCCCGTGGGAGACCTCGCAAGAGAGCCAAAGCGAGGAAGAAAA
 CTCGCAAAAACAGGAGACCTCTCCAGCAACTCAGAGACCAGCTGCACA
 AGCAGCGGCTCATGGGAGAGCAACTCCGATCGCTCCCTACCAATGCAG
 AGGGTCCAACAAAATCAACACATAAACCCCTATGTTATTGCCAAAGGGTCT
 GGCATTAACCTTCTATTCTCACAATGTAATATAGATATGTTTGGTGACCC
 CAAACCTTACAAGCCCTCCTCCAATGACTGGAAGGAGGAGTACGAGGCCG
 CAAAGTACTGGGACAGACCCCCCAGACGCGACCTGAGGAGCACCCCTTC
 TACCCCTGGGCCCCCACCCTCAACCATACAATGTCAACTTTGCCCTCAA
 CTACAAATAAACGGTGGCCGTGGGAGTTTCACTTGTGGGTGTCTACCTCT
 TAAGGTCACTAAGCACTCCGAGCGTAAGCGAGGAGTGCACCCCTTACCA
 AGGGCAACTCCCTCGAAGTCCGGCGCTACGCGCTTCGCCTGCGCCGGAC
 ATCTCGGACCCCCCTCGACCCGAATCGCTTGCCTGATTCGGACCTGCGG
 CCTCGGGGGGTGCGGGGCTTTACTAAACAGACTCCGAGGTGCCATTGGA
 CACTGAGGGGGTGAACAGCAACGAAAGTGAAGTGGGGCCAGACTTCGCCAT
 AAGGCCTTTATCTTCTTGGCATTGTTCGCGGACCGGGGTTCGCTCCTAGG
 CGCGGACCCCGTTTCGGGGTCTTCCGGGTTCATCGCGCCGTTCCAGTG
 ACGTACGGGCGCCATGTTAAGTGGTGTGCGCGAGGATTGACGTACAG
 TTCAAAGGTCACTCTCGCGGTAACCGCAACATGGCGGTCAATCTCTTC
 CGGGTCAAAGGTGCTGCATACGTACATAAGTCACATGACAGGGGTCCACTT
 AAACACGGAAGTAGGCCCGACATGTGACTCGTCACGTGTGTACAGTCA
 CGGCCGCCATTTTGTTTTACAAAATGGCCGACTTCCTTCTGTTTTTAA
 AAAAAGCGCGAAAAAACCGTCGGCGGGGGCGCGCGCTGCGCGCGCGG
 AGGCCAATGCCTCCCCCCCCCGCGCGCATGCGCGCGGGTCCCCCCCCCTC
 CGGGGGGTCCGCCCCCGGCCCCCCCC (配列番号903)

10

20

30

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

TATAボックス

85 – 92

Cap部位

109 – 116

転写開始部位

116

5' UTR 保存ドメイン

176 – 246

ORF2

351 – 710

40

【 0 8 4 6 】

【表 9 0】

ORF2/2	351 – 706 ; 2360 – 2825
ORF2/3	351 – 706 ; 2556 – 3060
TAIP	373 – 528
ORF1	581 – 2884
ORF1/1	581 – 706 ; 2360 – 2884
ORF1/2	581 – 706 ; 2556 – 2825
3オープンリーディングフレーム領域	2556 – 2821
ポリ(A)シグナル	3055 – 3061
GCリッチ領域	3720 – 3828

10

【 0 8 4 7】

【表 9 1】

表 C4. 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

20

環 6.0 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>))	
ORF2	MWRPPTRNAFNIQRDWFYSCFHSHASMCGCADFIGHFNHIAAMLGRPEDQ NPPPPPGALRPLPALPASSEAPGDRAPWPMGGGGGDGGARGGGGDGAAG DAVGDPADADLVAAIDAAEQ (配列番号 904)
ORF2/2	MWRPPTRNAFNIQRDWFYSCFHSHASMCGCADFIGHFNHIAAMLGRPEDQ NPPPPPGALRPLPALPASSEAPGDRAPWPMGGGGGDGGARGGGGDGAAG DAVGDPADADLVAAIDAAEQ LLET PARPPKVPRAIECLDQYKSLTRGTTRQ NSPYTRGTSDMGSLAEKLLRECKNNQYLMTLFQQGSSAVAEIQKHSNAAK KSNKKKTYFSQSSSSSES PRGRPRKRAKARKKTRKNRRPSPSNSETSCTSSG SWESNSDRSSTKCRGSNKINT (配列番号 905)
ORF2/3	MWRPPTRNAFNIQRDWFYSCFHSHASMCGCADFIGHFNHIAAMLGRPEDQ NPPPPPGALRPLPALPASSEAPGDRAPWPMGGGGGDGGARGGGGDGAAG DAVGDPADADLVAAIDAAEQVQAQSPRYRSTPMQPRRATKRKLTFPSPAA QASPPVGD LAREPKRGRKLAKTGDPLPATQRPAAQAAAHGRATPIAPLPN AEGPTKSTHKPYVIAKGSGINFYFSQCNIDMFGDPKPYKPSSNDWKEEYEA AKYWDRPPRRDLRSTPFYPWAPTPKPYNVNFALNYK (配列番号 906)
TAIP	MRSIFNVTGSTVAFTPTLLCAAVLILLVISIISLLCSAVRKTRTLLRHPGL (配列番号 907)

30

40

【 0 8 4 8】

50

【表 9 2】

ORF1	MAYGWWRRRRRRPWRRRWRRWRRRRRPRRRRPRRRYRRRRTVRRRG RGRWTRAHRRWRRKGKRSRKKKIIIRQWQPNYTRRCNIVGYMPLLICGEN TVATNYATHSDDSYYPGPGGGMTTDKFTLRILYDEYKRFMNYWTSSNED LDLCRYLGCTLYVFRHPEVDFIIINTSPPFLDTEITGPSIHGMMALNKRSR WPSIKNRPGRKHYIKIKVGAPRMFTDKWYPQTDLCDMTLLTIFASAADMQ YPFGSPLTDTIVVSFQVLQSMYNDCLSVLPDNFAETSGKGTQLHENIIQHLP YYNTTQTQAQFKRFIENMNATNGDNIWASYINTTKFSSANTPKNDTGIGGP YTTYSDSWYKGTVYNDKIKTIPIKASKLYYEQTKNLGITFTGSTHRLHYCG GLYSSVWLSAGRSYFETKGPYTDITYNPFSDRGEGNMLWIDWLTKNDSVY SKTSSKCLINLPLWASVYGYKEYCSKVTGDTNIEHNCRCVIRSPYTPVQLL DHNNPFRGYVPYSFNGGNGKMPGGSSLVPIRMRAKWYPTLFHQKEVLEAI AQAGPFA YHSDIKK VSLGIK YRFK WVGGNPVSQQVVRNPCKTTQGSSG NRVPRSIQVVDPRYNTPELTIHAWDFRHGFFGRKAIKRMQEQPIPHDTFSA GFKRSRRDTEALQCSQEEQQKENLLFPVQQLKRVPPWETSQESQSEEENSQ KQETLSQQLRDQLHKQRLMGEQLRSLLYQMQRVQQNQHINPMLLPKGLA LTSISHNVI (配列番号 908)
ORF1/1	MAYGWWRRRRRRPWRRRWRRWRRRRRPRRRRPRRRYRRRRTVVRNP CKTTQGSSGNRVPRSIQVVDPRYNTPELTIHAWDFRHGFFGRKAIKRMQEQ PIPHDTFSAGFKRSRRDTEALQCSQEEQQKENLLFPVQQLKRVPPWETSQES QSEEENSQKQETLSQQLRDQLHKQRLMGEQLRSLLYQMQRVQQNQHINP MLLPKGLALTSISHNVI (配列番号 909)
ORF1/2	MAYGWWRRRRRRPWRRRWRRWRRRRRPRRRRPRRRYRRRRTGSSAV AEIQKHSNAAKKSNKKKTYFSQSSSSSES PRGRPRKRAKARKKTRKNRRPS PSNSETSCTSSGSWESNSDRSSTKCRGSNKINT (配列番号 910)

10

20

30

【0 8 4 9】

【表 9 3】

表B5. 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 7

名称	環7
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) – クレード 7
アクセッション番号	
全配列: 3815 bp	

40

```

1          10          20          30          40          50
|          |          |          |          |          |
AAGATCGTCACTAACCACGTGACTCCTCTCGCCCAATCAGTGTCTACGTC
GTCCATTTCCTGGGCATGGTCTACATCCTGATATAAAGCGATGCACTTCC
GAATGGCTGAGTTTTCCACGCCCGTCCGCGCGAGATCGCGACGGAGGAG

```

50

【 0 8 5 0 】

【 表 9 4 】

CGATCGAGCGTCCCAGGGCGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAG
 TCAAGGGGCAATTTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCTATGGGCAAGGCTCTT
 AAAGCGTACGTCCCCGCTATGTTTCTCGGCAGGGTGTGGAGGAAACAGA
 AAAGGAAAGTGTTCCTGCTGGCTGTGCGAGCTACACAGAAAACATCTTCC
 ATGAGTATCTGGCGTCCCCCCTTGGGAATGTCTCTACAGGGAGAGAAA
 TTGGCTTCAGGCCGTCSAAACATCCACAGTTCTTTTTGTGGCTGTGGTG
 ATTTTATCTTCATCTTACTAATTTGGCTGCACGCTTTGTCTCCAGGGG
 CCCCCGCCAGAGGGTGGTCCACCTCGGCCGAGGCCGCCGCTCCTGAGAGC
 GGTGCCGGCCCCGAGGTCCGAGGGAGACGCGCACAGAGAACCAGGGGCG
 CCTCCGGTGAGCCATGGCCTGGCGATGGTGGTGGCAGAGACGATGGCGCC
 GCCGCCGGTGGCCCCGAGACGGTGGAGACGCTACGACGCCGGAGACCT
 AGACGACCTGTTCGCCGCCGTGCAAGAAGAACACAGTAAGGAGGGCGAG
 GTGGAGGGGCGAGACGTGGGCGACGCACATACACCCGACGCGCGGTGAGAC
 GCAGACCCAGACCCAGAAAGAGACTTGTACTGACTCAGTGCAGCCCCAG
 ACAGTCAGAACTGCTCAATAAGGGGCATAGTCCCCATGGTAATATGCGG
 ACACACAAAAGCAGGTAGAACTATGCTATTATAGCGAGGACTTCACCA
 CACAGATACAACTTTCGGGGGCGAGTTTCAGCACGACCACCTGGTCCCTA
 AAAGTGCTGTGGGACGAGCACCAGAAATTCAGAACAGATGGTCTTACCC
 AAACACACAACTAGACCTGGCCAGATACAGAGGGGTACCTTCTGGTTCT
 ACAGAGACCAGAAAACAGACTATATAGTACAGTGGAGTAGGAATCCCCCT
 TTTAACTCAATAAATACAGCAGTCCCATGTACACCCGGGCATGATGAT
 GCAGGCCAAAAGGAACTAGTTGTACCTAGTTTCCAGACCAGACCCAAAG
 GCAAGAAGAGATACAGAGTCACAATAAAACCCCTAACATGTTTGTGTGAC
 AAGTGGTACACTCAAGAGGACCTGTGTCCGTACCTCTGTGCAAAATGCT
 GGTTTCTGCGCGGAGCCTGCTACATCCGTTCTGCCACCACAAACGAAACA
 ACCCTTGATCACCTTCCAGGTTTGAAGACATAATGATGAATGCATA
 GGAGTTAACGAACTATGAAAGATAAGTATAAGAAATTACAAACAACACT
 ATACACCCTTGCACATACTATCAAACAACACAAGTACGGCACAGCTAT
 CTCCTGCCTTTCAACCTGCTATGAAACCTACTACTACACAATCAGCAGCT
 ACAGGCCAACACTAGGAACTATGTACCAGAGTTAAAGTACAACAATGG
 CTCCTTTACACAGGACAAAACGCGAGTATTGCGCATGTGCTCATACAAAC
 CAACAGACAGCATAATGACAAAAGCTAATGGCTGGTTTGGCAAAACCTA
 ATGGTACACAAACCTACATAGTTCTTATGGCAAGGCAACATTAGAAATG
 CATGGAGTATCACACAGGCATATACAGCTCTATATTTCTAAGTCCACAAA
 GATCTTTAGAAATTCAGCAGCATAACCAAGCGTTACATACAACCTAAC
 GTGATAGAGCAGTTGGAACGTAGTTTGGTTTCAGTACAGCACTAAAAT
 GGATACAAATTTGATGAAACAAAATGTAAATGTGTCCTTAAAAACATTC
 CACTGTGGGGGGCCTTCAATGGCTACTCAGACTTTATAATGCAAGAACTC
 AGCATAAGTACAGAAAACCAACTTTGGCATAGTGTGCTTTCAGTGCCC
 GTACACTTTTCCCCCTGTTCATAAAAAACAAACCCCTAAAGGGGTACG
 TGTCTATGACACCACCTTTGGTAATGGAAAAATGCCAGACGGATCGGGG
 CACGTACCCATCTACTGGCAGCAGAGATGGTGGATCAGACTAGCCTTCCA
 GGTCCAGGTATGCATGACTTTGTACTAACAGGCCCTTTACCTACAAAG
 ATGACCTAGCAAAACACCACTCACAGCCAGATACAAATTAAATTCAAA
 TGGGGCGGCAATATCACTCCCTGAACAGATTATCAAGAACCCTGTACAG
 AGAGCAGTCCCTCGCTTCTATCCGATAGACAACGTGCGGACCTACAAG
 TTGTTGACCCATCAACCATGGGCCGATCTACACCTTCCACACATGGGAC
 TGGCGACGGGGGCTTTTGGTGCAGATGCTATCCAGAGAGTGTACAAAA
 ACCGGGAGATGCTCTCCGCTTTACAAACCTTTCAAGAGACCCAGATATC
 TTCCCCGACAGACAGAGAAGACTACCGACAAGAAGAACTTTCGCTTTA
 CAGGAAAAAAGACGGCGCACATCCACAGAAGAGCCAGGACGAGGAGAG
 CCCCCGGAAAGCGCGCGCTCCTACAGCAGCAGCAGCAGCAGCGGACGC
 TCTCAGTCCACCTCGCGGAGCAGCAGCGACTCGGAGTCCAACCTCCGATAC
 ATCCTCCAAGAGTCTTCAAAACGCAAGCGGTCTCCACCTAAACCCCT
 ATTATTAGGCCCCGACAAAACAAGGTCTATCTCTTTGAGCCCTCCAAAGG
 CCTACTCCCATAGTAGGAAAAGAGGCTGGGAGGACGAGTACTGCACCT
 GCAAGTACTGGGATCGCCCTCCAGAACCAACACCTAGACATCCCCACT

10

20

30

40

【 0 8 5 1 】

【表 9 5】

TATCCCTGGATGCCCACAACTTCAAAGTCAGCTTCAAACCTGGATTTAA
 ACCCTAAATAAAAAATACAAGGCCGTACACTGTTCACTTGTCCGTGTCTAC
 CTCTATAAGTCACTAAGCACTCCGAGCGCAGCGAGGAGTGCAGCCCTCAG
 CGGTGGGTGCAACGCCCTCGGCCGCCGCGCTACGCCCTCGGCTGCGCG
 CGGCACCTCGGACCCCCGCTCGTGCTGACACGCTCGCGCGTGTGACACCA
 CTTCCGGGCTCGCGGGGGTCCGGAATTTTGCTAAACAGACTCCGAGTTGCT
 CTTGGACACTGTAGCTGTGAATCAGTAACGAAAGTGAGTGGGGCCAGACT
 TCGCCATAAGGCCCTTTATCTTCTTGCCATTGGTCCGTCTCGGGGGTCCGC
 ATAGGCTTCGGGCTCGGTTTTAGGCCCTTCGGACTACCAAAATGGCGGAT
 TCCGTGACGTCATGGCCGCCATTTTAAGTAAGGCGGAACAGGCTGTCACC
 CCGTGTCAAAGTTCAGGGGTGAGCCTTCCGCTTTACACAAAATGGAGGTC
 AATATCTTCCGGGTCAAAGGTGCTACCGCGTCATAAGTCACGTGGGGAA
 GGCTGCTGTGAATCCGGAAGTAGCTGACCCACGTGACTTGTACGTGACT
 AGCACGTACGGCAGCCATTTTGAATCACAAAATGGCCGACTTCCTTCCT
 CTTTTTTAAAAATAACGGCCCGCGCGGCGCGCGCGCTTCGCGCCGCTC
 CGCCCCCCCCCGCATGCGCGGGACCCCCCCCCCGCGGGGGGCTCCGCCCC
 CCGGTCCCCCCCCCG (配列番号911)

10

アノテーション:

推定ドメイン

塩基範囲

20

TATAボックス

82 – 87

Cap部位

103 – 110

転写開始部位

110

5' UTR 保存ドメイン

170 – 240

ORF2

351 – 740

ORF2/2

351 – 737 ; 2378 – 2843

ORF2/3

351 – 737 ; 2526 – 3057

TAIP

379 - 543

30

ORF1

614 – 2911

ORF1/1

614 – 737 ; 2378 – 2911

ORF1/2

614 – 737 ; 2526 – 2843

3オープンリーディングフレーム領域

2526 – 2840

ポリ(A)シグナル

3056 – 3062

GCリッチ領域

3716 – 3815

40

【 0 8 5 2 】

【表 9 6】

表 C5. 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 7

環 7.0 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>))	
ORF2	MSIWRPPLGNVSYRERNWLQAVETSHSSFCGCGDFILHLTNLAARFALQGPP PEGGPPRPRPPLLRA LPAPEVRRETRTENRGASGEPWPGDGGGRDDGAAAGGPADGGDAYDAGDL DDLFAAVEEEQQ (配列番号 912)
ORF2/2	MSIWRPPLGNVSYRERNWLQAVETSHSSFCGCGDFILHLTNLAARFALQGPP PEGGPPRPRPPLLRA LPAPEVRRETRTENRGASGEPWPGDGGGRDDGAAAGGPADGGDAYDAGDL DDLFAAVEEEQQLSRTRVTESSPSLPIPIDNVATYKLLTHQPWARSTPSTHGT GDGGFLVQMLSRECHKNREMLSALQTLSRDPDIFPRQTEKTTDKKKTSLYR KKDGAHPQKKPRTRRAPRKARRSYSSSSSSGSSQSTSRSSSDSESNSDTSSKK SSKRKRVST (配列番号 913)
ORF2/3	MSIWRPPLGNVSYRERNWLQAVETSHSSFCGCGDFILHLTNLAARFALQGPP PEGGPPRPRPPLLRA LPAPEVRRETRTENRGASGEPWPGDGGGRDDGAAAGGPADGGDAYDAGDL DDLFAAVEEEQQCYPESVTKTGRCSPLYKPFQETQISSPDRQRRLPTRRRLRF TGKKTAHIHRRSPGRGEPGKRAAPTAASAAAAAALSPRGAAATRSPTPIHP PRSPQNASGSPPKPIIRPATNKVYLFEPKGLLPVIGKEAWEDEYCTCKYWD RPPRTNHLDIPTYPWMPNTNFKVSFKLGFKP (配列番号 914)
TAIP	MSPTGREIGFRPSKHPTVLFVAVVILFFILLIWLHALLSRGPRQRVVHLGRGR RS (配列番号 915)

10

20

30

【0 8 5 3】

40

50

【表 9 7】

ORF1	MAWRWWQRRWRRRRWPRRRWRRLRRRRPRRPVRRRRRRTTVRRRRWR GRRGRRTYTRRAVRRRRRPRKRLVLTQWSPQTVRNCISIRGIVPMVICGHTK AGRNYAIHSEDFTTQIQPFGGSFSTTTWSLKVLWDEHQKFQNRWSYPNTQL DLARYRGVTFWFYRDQKTDYIVQWSRNPPFKLNKYSSAMYHPGMMMMAQAK RKL VVPSFQTRPKGKKRYRVTIKPPNMFADKWYTQEDLCPVPLVQIVVSAA SLLHPFCPPQTNNPCITFQVLKDIYDECIGVNETMKDKYKKLQTTLYTTCTY YQTTQVLAQLSPAQFQAMKPTTTQSAATATTLGNYVPELKYNNGSFHTGQN AVFGMCSYKPTDSIMTKANGWFWQNLMDNNLHSSYGKATLECMYHTGI YSSIFLSPQRSLEFPAA YQDVTYNPNC DRAVGNVWFQYSTKMDTNFDETK CKCVLKNIP LWAAFNGYSDFIMQELSISTEIHNF GIVCFQCPYTFPPCFNKNKP LKG YV FYDTTFGNGKMPDGS GHVPIYWQQRW WIRLAFQVQVMHDFVLTG PFSYKDDLANTTLTARYKFKFKWGGNIIEQIIKNPCHREQSLASYPDRQRRD LQVVD PSTMGPIYTFHTWDWRRGLFGADAIQ RVSQKPGDALRFTNPFKRPR YLPPTDREDYRQEEDFALQE KRRRTSTEEAQDEESPPESAPLLQQQQQQRQL SVHLAEQQRLGVQLRYILQEVLKTQAGLHLNPLLLGPPQTRSISLSPPKAYSP (配列番号 916)
ORF1/1	MAWRWWQRRWRRRRWPRRRWRRLRRRRPRRPVRRRRRRTTIKNPCHR EQSLASYPDRQRRDLQVVD PSTMGPIYTFHTWDWRRGLFGADAIQ RVSQK GDALRFTNPFKRPRYLPPTDREDYRQEEDFALQE KRRRTSTEEAQDEESPPES APLLQQQQQQRQLSVHLAEQQRLGVQLRYILQEVLKTQAGLHLNPLLLGPP QTRSISLSPPKAYSP (配列番号 917)
ORF1/2	MAWRWWQRRWRRRRWPRRRWRRLRRRRPRRPVRRRRRRTTMLSRECH KNREMLSALQTL SRDPDIFPRQTEKTTDKK KTSLYRKKGDAHPQKKPRTRR APRKARRSYSSSSSSGSSQSTSRS SSSDSESNSDTSSKSSKRKRVT (配列番号 918)

10

20

30

【0854】

一部の実施形態では、アネロソームは、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、アネロソームは、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。

40

【0855】

一部の実施形態では、アネロソームは、例えば、実施例 9 に記載する方法に従って同定される通り、最小アネロウイルス (Anellovirus) ゲノムを含む。一部の実施形態では、アネロソームは、実施例 13 に記載の通り、アネロウイルス (Anellovirus) 配列、又はその一部を含む。

【0856】

一部の実施形態では、アネロソームは、例えば、表 19 に示す通り、コンセンサスアネロ

50

ウイルス (Anellovirus) モチーフを含む遺伝子エレメントを含む。一部の実施形態では、アネロソームは、例えば、表 19 に示す通り、コンセンサスアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 モチーフを含む遺伝子エレメントを含む。一部の実施形態では、アネロソームは、例えば、表 19 に示す通り、コンセンサスアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 / 1 モチーフを含む遺伝子エレメントを含む。一部の実施形態では、アネロソームは、例えば、表 19 に示す通り、コンセンサスアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 / 2 モチーフを含む遺伝子エレメントを含む。一部の実施形態では、アネロソームは、例えば、表 19 に示す通り、コンセンサスアネロウイルス (Anellovirus) ORF2 / 2 モチーフを含む遺伝子エレメントを含む。一部の実施形態では、アネロソームは、例えば、表 19 に示す通り、コンセンサスアネロウイルス (Anellovirus) ORF2 / 3 モチーフを含む遺伝子エレメントを含む。一部の実施形態では、表 19 に示される X は、任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、表 19 に示される Z は、グルタミン酸又はグルタミンを示す。一部の実施形態では、表 19 に示される B は、アスパラギン酸又はアスパラギンを示す。一部の実施形態では、表 19 に示される J は、ロイシン又はイソロイシンを示す。

10

【 0 8 5 7 】

【 表 9 8 】

表 19. アネロウイルス(Anellovirus) のオープンリーディングフレーム(ORF) 内のコンセンサスモチーフ

コンセンサス 閾値	オープン リーディング フレーム	位置	モチーフ	配列番号
50	ORF1	79	LIJRQWQPXXIRRCXIXGYXPLIXC	68
50	ORF1	111	NYXXHXD	69
50	ORF1	135	FSLXXLYDZ	70
50	ORF1	149	NXWTXSNXDLDLCRYXGC	71
50	ORF1	194	TXPSXHPGXMXLXKHK	72
50	ORF1	212	IPSLXTRPXG	73
50	ORF1	228	RIXPPXLFXDKWYFQXDL	74
50	ORF1	250	LLXIXATA	75
50	ORF1	260	LXXPFXSPXTD	76
50	ORF1	448	YNPXXDKGXGNXIW	77
50	ORF1	519	CPYTZPXL	78
50	ORF1	542	XFGXGXMP	79
50	ORF1	569	HQXEVXEX	80
50	ORF1	600	KYXFXFXWGGNP	81
50	ORF1	653	HSWDXRRG	82
50	ORF1	666	AIKRXXQQ	83

20

30

40

【 0 8 5 8 】

50

【表 9 9】

50	ORF1	750	XQZQXXLR	84
50	ORF1/1	73	PRXJQXXDP	85
50	ORF1/1	91	HSWDXRRG	86
50	ORF1/1	105	AIKRXXQQ	87
50	ORF1/1	187	QZQXXLR	88
50	ORF1/2	97	KXKRRRR	89
50	ORF2/2	158	PIXSLXXYKXXTR	90
50	ORF2/2	189	LAXQLLKECXKN	91
50	ORF2/3	39	HLNXL	92
50	ORF2/3	272	DRPPR	93
50	ORF2/3	281	DXPFYPWXP	94
50	ORF2/3	300	VXFKLXF	95
50	ORF2t/3	4	WXPPVHBVXGIERXW	96
50	ORF2t/3	37	AKRKLX	97
50	ORF2t/3	140	PSSXDWWXEY	98
50	ORF2t/3	156	DRPPR	99
50	ORF2t/3	167	PFYPW	100
50	ORF2t/3	183	NVXFKLXF	101
50	ORF1	84	JXXXXXWQPXXXXXCXIXGXXXJWQP	102
50	ORF1	149	NXWXXXNXXXXLXRY	103
50	ORF1	448	YNPXXDXG	104

【0859】

ORF1分子

一部の実施形態では、アネロソームは、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、例えば、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙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、例えば、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに列挙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、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、又はD1～D10のいずれかに示されるア

ネロウイルス (Ane l l o v i r u s) O R F 1 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。一部の実施形態では、O R F 1 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 (A l p h a t o r q u e v i r u s)、ベータトルクウイルス (B e t a t o r q u e v i r u s)、又はガンマトルクウイルス (G a m m a t o r q u e v i r u s) O R F 1 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。O R F 1 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、O R F 1 分子は、細胞の核に局在化する。特定の実施形態では、O R F 1 分子は、核小体に局在化する。

10

【0860】

理論に拘束されることは意図しないが、O R F 1 分子は、他の O R F 1 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 O R F 1 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) をキャプシドで包むことができる。一部の実施形態では、複数の O R F 1 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 (例えば、複数の異なる O R F 1 分子を含む) であり得る。また、O R F 1 分子は、レプリカーゼ活性を有し得ることも考えられる。

20

【0861】

O R F 1 分子は、一部の実施形態において、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 β 鎖 (例えば、4、5、6、7、8、9、10、11、又は 12 の β 鎖) を含む第 2 領域のうち 1 つ若しくは複数を含み得る。

【0862】

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。

【0863】

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 %、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；

(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

30

40

50

れる)。

【0864】

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。

【0865】

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。

10

【0866】

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。

20

【0867】

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。

【0868】

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。

30

【0869】

ORF1分子は、一部の実施形態において、超可変領域(HVR)、例えば、本明細書に記載される、例えば、アネロウイルス(Ane ll o v i r u s) 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。

40

【0870】

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%、

50

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。

【0871】

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。

【0872】

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。

【0873】

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。

【0874】

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つ若しくは複数は、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。

【0875】

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、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

10

20

30

40

50

～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（Aneellovirus）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（Aneellovirus）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。

【0876】

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野生型ORF1タンパク質（例えば、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20～37、若しくはD1～D10のいずれかに示される通り）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。

【0877】

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）（Xⁿ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。

【0878】

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、YNPX²DXGX²Nモチーフ（配列番号829）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1β鎖及び／又は第2β鎖を含む。一部の実施形態では、第1β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1β鎖は、YNPX²DXGX²N（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、YNPX²DXGX²N（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2β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2β鎖は、YNPX²DXGX²N（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。

【0879】

例示的なYNPX²DXGX²N（配列番号829）モチーフフランキング二次構造を実施例47及び図48に記載する。一部の実施形態では、ORF1分子は、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、YNPX²DXGX²N（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、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。

【0880】

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（Aneellovirus）ORF1タンパク質（例えば、本明細書に記

10

20

30

40

50

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1β鎖、第2β鎖、第1αヘリックス、第3β鎖、第4β鎖、第5β鎖、第2αヘリックス、第6β鎖、第7β鎖、第8β鎖、及び第9β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1β鎖、第2β鎖、第1αヘリックス、第3β鎖、第4β鎖、第5β鎖、第2αヘリックス、第6β鎖、第7β鎖、第8β鎖、及び／又は第9β鎖を含む二次構造を含む。

【0881】

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1β鎖及び第2β鎖は、より大きなβ鎖に含まれる。一部の実施形態では、第3β鎖及び第4β鎖は、より大きな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。

【0882】

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。

【0883】

例示的なゼリーロールドメイン二次構造を実施例47及び図47に記載する。一部の実施形態では、ORF1分子は、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。

【0884】

例示的なORF1配列

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20～37、又はD1～D10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ソームは、例えば、表20～37、又はD1～D10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
10 実施形態では、本明細書に記載のアネロソームは、例えば、表20～37、又はD1～D10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。

【0885】

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20～37、若しくはD1～D10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
20 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20～37、又はD1～D10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。一部の実施形態では、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
30 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、別のアネロウイルス（Anellovirus）由来のゼリーロールドメインとを含む。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、ゼリーロールドメイン、HVR、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。
40

【0886】

複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1部分配列は、表20のArgリッチ領域アミノ酸配列（例えば、表20のアミノ酸1～66）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1部分配列は、表21のArgリッチ領域アミノ酸配列に対して少なくとも約70%、
50

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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表20のゼリーロール領域アミノ酸配列 (例えば、表20のアミノ酸67~277) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表21のゼリーロール領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表20のHVRアミノ酸配列 (例えば、表20のアミノ酸278~347) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表21のHVRアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表20のN22ドメインアミノ酸配列 (例えば、表20のアミノ酸348~513) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表21のN22ドメインアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表20のCTDアミノ酸配列 (例えば、表20のアミノ酸513~680) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表21のCTD領域アミノ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アミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【0887】

複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表22のArgリッチ領域アミノ酸配列 (例えば、表22のアミノ酸1~69) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表23のArgリッチ領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表22のゼリーロール領域アミノ酸配列 (例えば、表22のアミノ酸70~279) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表23のゼリーロール領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表22のHVRアミノ酸配列 (例えば、表22のア

ミノ酸 280～411) 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。複数の実施形態では、1 つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 部分配列は、表 23 の HVR アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1 つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 部分配列は、表 22 の N22 ドメインアミノ酸配列 (例えば、表 22 のアミノ酸 412～578) 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。複数の実施形態では、1 つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 部分配列は、表 23 の N22 ドメインアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1 つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 部分配列は、表 22 の CTD アミノ酸配列 (例えば、表 22 のアミノ酸 579～747) 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。複数の実施形態では、1 つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 部分配列は、表 23 の CTD 領域アミノ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アミノ酸配列を含む。

10

20

【0888】

複数の実施形態では、1 つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 部分配列は、表 24 の Arg リッチ領域アミノ酸配列 (例えば、表 24 のアミノ酸 1～68) 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。複数の実施形態では、1 つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 部分配列は、表 25 の Arg リッチ領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1 つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 部分配列は、表 24 のゼリーロール領域アミノ酸配列 (例えば、表 24 のアミノ酸 69～280) 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。複数の実施形態では、1 つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 部分配列は、表 25 のゼリーロール領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1 つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 部分配列は、表 24 の HVR アミノ酸配列 (例えば、表 24 のアミノ酸 281～413) 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。複数の実施形態では、1 つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 部分配列は、表 25 の HVR アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1 つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 部分配列は、表 24 の N22 ドメインアミノ酸配列 (例えば、表 24 のアミノ酸 414～479) 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。複数の実施形態では、1 つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1 部分配列は、表 25

30

40

50

のN22ドメインアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1部分配列は、表24のCTDアミノ酸配列（例えば、表24のアミノ酸580～743）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1部分配列は、表25のCTD領域アミノ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アミノ酸配列を含む。

10

【0889】

複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1部分配列は、表26のArgリッチ領域アミノ酸配列（例えば、表26のアミノ酸1～74）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1部分配列は、表27のArgリッチ領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1部分配列は、表26のゼリーロール領域アミノ酸配列（例えば、表26のアミノ酸75～284）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1部分配列は、表27のゼリーロール領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1部分配列は、表26のHVRアミノ酸配列（例えば、表26のアミノ酸285～445）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1部分配列は、表27のHVRアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1部分配列は、表26のN22ドメインアミノ酸配列（例えば、表26のアミノ酸446～611）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1部分配列は、表27のN22ドメインアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1部分配列は、表26のCTDアミノ酸配列（例えば、表26のアミノ酸612～780）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1部分配列は、表27のCTD領域アミノ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アミノ酸配列を含む。

20

30

40

【0890】

50

複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1部分配列は、表28のArgリッチ領域アミノ酸配列（例えば、表28のアミノ酸1～75）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1部分配列は、表29のArgリッチ領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1部分配列は、表28のゼリーロール領域アミノ酸配列（例えば、表28のアミノ酸75～284）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1部分配列は、表29のゼリーロール領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1部分配列は、表28のHVRアミノ酸配列（例えば、表28のアミノ酸285～432）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1部分配列は、表29のHVRアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1部分配列は、表28のN22ドメインアミノ酸配列（例えば、表28のアミノ酸433～599）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1部分配列は、表29のN22ドメインアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1部分配列は、表28のCTDアミノ酸配列（例えば、表28のアミノ酸600～780）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1部分配列は、表29のCTD領域アミノ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アミノ酸配列を含む。

【0891】

複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1部分配列は、表30のArgリッチ領域アミノ酸配列（例えば、表30のアミノ酸1～77）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1部分配列は、表31のArgリッチ領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF 1部分配列は、表30のゼリーロール領域アミノ酸配列（例えば、表30のアミノ酸78～286）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表31のゼリーロール領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表30のHVRアミノ酸配列 (例えば、表30のアミノ酸287~416) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表31のHVRアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表30のN22ドメインアミノ酸配列 (例えば、表30のアミノ酸417~585) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表31のN22ドメインアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表30のCTDアミノ酸配列 (例えば、表30のアミノ酸586~746) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表31のCTD領域アミノ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アミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【0892】

複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表32のArgリッチ領域アミノ酸配列 (例えば、表32のアミノ酸1~74) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表33のArgリッチ領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表32のゼリーロール領域アミノ酸配列 (例えば、表32のアミノ酸75~286) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表33のゼリーロール領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表32のHVRアミノ酸配列 (例えば、表32のアミノ酸287~428) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表33のHVRアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表32のN22ドメインアミノ酸配列 (例えば、表32のアミノ酸429~595) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表33のN22ドメインアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表32のCTDアミノ酸配列 (例えば、表32のアミノ酸596~765) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表33のCTD領域アミノ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アミノ酸配列を含む。

10

【0893】

複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表34のArgリッチ領域アミノ酸配列 (例えば、表34のアミノ酸1~38) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表35のArgリッチ領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表34のゼリーロール領域アミノ酸配列 (例えば、表34のアミノ酸39~246) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表35のゼリーロール領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表34のHVRアミノ酸配列 (例えば、表34のアミノ酸247~374) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表35のHVRアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表34のN22ドメインアミノ酸配列 (例えば、表34のアミノ酸375~537) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表35のN22ドメインアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表34のCTDアミノ酸配列 (例えば、表34のアミノ酸538~666) に対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、9

20

30

40

50

0 %、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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表35のCTD領域アミノ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アミノ酸配列を含む。

【0894】

複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表36のArgリッチ領域アミノ酸配列 (例えば、表36のアミノ酸1～57) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表37のArgリッチ領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表36のゼリーロール領域アミノ酸配列 (例えば、表36のアミノ酸58～259) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表37のゼリーロール領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表36のHVRアミノ酸配列 (例えば、表36のアミノ酸260～351) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表37のHVRアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表36のN22ドメインアミノ酸配列 (例えば、表36のアミノ酸352～510) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表37のN22ドメインアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表36のCTDアミノ酸配列 (例えば、表36のアミノ酸511～673) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表37のCTD領域アミノ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アミノ酸配列を含む。

【0895】

複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表D1のArgリッチ領域アミノ酸配列 (例えば、表D1のアミノ酸1～66) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) OR

30

40

50

20

30

50

1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表D6のN22ドメインアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表D5のCTDアミノ酸配列 (例えば、表D5のアミノ酸513~680) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表D6のCTD領域アミノ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アミノ酸配列を含む。

10

【0898】

複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表D7のArgリッチ領域アミノ酸配列 (例えば、表D7のアミノ酸1~57) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表D8のArgリッチ領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表D7のゼリーロール領域アミノ酸配列 (例えば、表D7のアミノ酸58~259) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表D8のゼリーロール領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表D7のHVRアミノ酸配列 (例えば、表D7のアミノ酸260~351) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表D8のHVRアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表D7のN22ドメインアミノ酸配列 (例えば、表D7のアミノ酸352~510) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表D8のN22ドメインアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表D7のCTDアミノ酸配列 (例えば、表D7のアミノ酸511~673) 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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス (Anellovirus) ORF1部分配列は、表D8のCTD領域アミノ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アミノ酸配列を含む。

20

30

40

50

【0899】

複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1部分配列は、表D9のArgリッチ領域アミノ酸配列（例えば、表D9のアミノ酸1～57）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1部分配列は、表D10のArgリッチ領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1部分配列は、表D9のゼリーロール領域アミノ酸配列（例えば、表D9のアミノ酸58～259）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1部分配列は、表D10のゼリーロール領域アミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1部分配列は、表D9のHVRアミノ酸配列（例えば、表D9のアミノ酸260～351）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1部分配列は、表D10のHVRアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1部分配列は、表D9のN22ドメインアミノ酸配列（例えば、表D9のアミノ酸352～510）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1部分配列は、表D10のN22ドメインアミノ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アミノ酸配列を含む。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1部分配列は、表D9のCTDアミノ酸配列（例えば、表D9のアミノ酸511～673）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。複数の実施形態では、1つ又は複数のアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1部分配列は、表D10のCTD領域アミノ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アミノ酸配列を含む。

【0900】

10

20

30

40

50

【表 100】

表20. 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 1)

名称	CT30F
属/クレード	アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus), クレード 1
株アクセッション番号	AB064597.1
タンパク質アクセッション番号	ANQ39351.1
全配列: 680 AA	

10

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
TAWWWGRWRRRRWRRRRPWRPRLRRRRARRAFRRRRRRFVSRRWRRPYRR
RRRRGRRRRRRRRRHKPTLVLRQWQPDVIRHCKITGRMPLIICGKGSTQF
NYITHADDITPRGASYGGNFTNMTFSLEAIYEQFLYHRNRWSASNHDLEL
CRYKGTTLKLYRHPDVDYIVTYSRTGPF EISHMTYLS THPLMLLNKHHI
VVP SLTKPRGRKAIKVRIRPPKLMNNKWYFTRDFCNIGLFQLWATGLEL
RNPWLRMSTLSPCIGFNVLNKNSIYTNLSNLPQHREDRLNIINNTLHPHDI
TGPNNKKWQYTYTKLMAPIYYSANRASTYDLLREYGLYSPYYLNPNTRINL
DWMTPYTHVRYNPLVDKCGFNRIYIQWCSEADVSYNRTKSKCLLQDMP LF
FMCYGYIDWAIKNTGVSSLARDARICIRCPYTEPQLVGSTEDIGFVPITE
TFMRGDMPLAPYIPLSWFCKWYPNIAHQKEVLEAISCSPFMPRDQGMN
GWDITIGYKMDFLWGGSP LPSQPIDDP CQQGTHPIPD PDKHPRL LQVSNP
KLLGPRTV FHKWDIRRGQFSKRSIKRVSEYSSDDESLAPGLPSKR NKLDS
AFRGENPEQKECYSLLKALEEEETPEEEEPAPQEKAQKEELLHQLQLQRR
HQRVLRRGLKLVFTDILRLRQGVHWNPELT (配列番号173)

```

20

アノテーション:

推定ドメイン	AA範囲
Argリッチ領域	1 - 66
ゼリーロールドメイン	67 - 277
超可変領域	278 - 347
N22	348 - 513
C末端ドメイン	513 - 680

30

【0901】

40

50

【表 1 0 1】

表 21. 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 1)

TTV-CT30F-ORF1 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 1)	
Arg リッチ 領域	TAWWWGRWRRRWRRRRPWRPRLRRRRARRAFPRRRRRRFVSRRWR RPYRRRRRRGRRRRRRRRRHK (配列番号 174)
ゼリーロール ドメイン	PTLVLRQWQPDVIRHCKITGRMPLIICGKGSTQFNYITHADDITPRGASY GGNFTNMTFSLEAIYEQFLYHRNRWSASNHDLELCRYKGTTLKLYRHP DVDYIVTYSRTGPFESHMTYLSHPLLMMLLNKHHIVVPSLKTTPRGRK AIKVRIRPPKLMNNKWYFTRDFCNIGLFQLWATGLELRNPWLRMSTLS PCIGFNVLKNSIYTNL (配列番号 175)
超可変ドメイン	SNLPQHREDRLNIINNTLHPHDITGPNNKKWQYTYTKLMAPIYYSANR ASTYDLLREYGLYSPYYLNPTR (配列番号 176)
N22	INLDWMTPTYTHVRYNPLVDKGFGNRIYIQCSEADVSYNRTKSKCLL QDMPLFFMCYGYIDWAIKNTGVSSLARDARICIRCPYTEPQLVGSTEDI GFVPITETFMRGDMPVLAPYIPLSWFCKWYPNIAHQKEVLEAIISCSPF MPRDQGMNGWDITIGYKMDFL (配列番号 177)
C 末端ドメイン	WGGSPGPSQPIDDPCCQGGTHPIPDPKHPRLQVSNPKLLGPRTVFHKW DIRRGQFSKRSIKRVSEYSSDDESLAPGLPSKRNLDSAFRGENPEQKE CYSLKALEEEETPEEEEPAPQEKAQKEELLHQLQLQRRHQRVLRRL KLVFDTDLRLRQGVHWNPELT (配列番号 178)

【0 9 0 2】

10

20

30

40

50

【表 103】

表 23. 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 2)

TTV-P13-1-ORF1 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 2)	
Arg リッチ領域	MAYWWGRRRRWRRWRRRRRPLRRRRRWRRRRWPRRRWRRRR RARPARRYRRRRGRRRVRRRRRPQK (配列番号 180)
ゼリーロール ドメイン	LVL TQWNPQTVRKCVIRGFLPLFFCGQGA YHRNFTDHYDDVFPKGPSG GGHGSMVFNL SFL YQEFKKHHNKWSRSNLDFDL VRYKGTVIKLYRHQ DFDYIVWISRTPPFQESLLTVMTHQPSVMLQAKKCIIVKSYRTHPGGKP YVTAKVRPPRLLTDKWYFQSDFCNVPLFSLQFALAE LRFPICSPQTD TN CINFLVLDDIYYKFLDN (配列番号 181)
超可変ドメイン	KPKQSSDPNDENRIKFWHGLWSTMRYLNTTYINTLFPGTDSLVA AKDT DNSVNKYPSTATKQPYKDSQYMQNIWNTSKIHALYTWVAETNYKRLQ AYYTQTYGGYQRQFFTGKQYWDYRVGMFSPAFLSPSR (配列番号 182)
N22	LNPQNPGAYTEVSYNPWTDEGTGNVVCLQYLTKETSDYKPGGGSKFCI EGVPLWAALVGYVDMCKKEGKDPGIRLNCLLLVKCPYTKPQLYDKK NPEKLFVPYSYNFGHGKMPGGDKYIPIEFKDRWYPCLLHQEEWIEDIV RSGPFVPKDMPSVTCMMRYSSLFN (配列番号 183)
C 末端ドメイン	WGGNIIQEQA VEDPCKKGTFFVPGTSGIARILQVSNPAKQTPTTTWHS WDWRRSLFTETGLKRMREQQPYDELSYTGPKPKLSLPAGPAVPGAA VASSWWETKQVTSPDVSETETEA EAHQEEETEPEEGVQLQQLWEQQL LQKRQLGVVFQQLRLRQGAEIHPGLV (配列番号 184)

【0904】

10

20

30

40

50

【表 104】

表24. 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	TTV-tth8
属/クレード	アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus), 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	

10

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
MAWGWWKRRRRWWFRKRWTRGRLRRRWPRSAARRPRRRRVRRRRRWRGR
RKTRTYRRRRRFRRRGRKAKLIKLVQPAVIKRCRIKGYIPLIISGNGTF
ATNFTSHINDRIMKCFPCGGHSTMRFSLYLFEELRHMFNFWTRSDNLE
LTRYLGASVKIYRHPDQDFIVIYNRRTPLGNIYTAPSLHPGNAILAKHK
ILVPSLQTRPKGRKAIRLRIAPPTLFTDKWYFQKDIADLTLEFNIMAVEAD
LRFPFCSPQTDNTCISFQVLSSVYNNYLSINTFNNDNSDSLKEFLNKA
PTTGTGKGTSLNALNTFRTEGCISHPQLKKPNPQINKPLESQYFAPLDALW
GDPPIYYNDLNENKSLNDIIEKILIKNMITYHAKLREFPNQYQGNKAFCHL
TGIYSPPYLNQGRISPEIFGLYTEIIYNPYTDKGTGNKVWMDPLTKENNI
YKEGQSKCLLTDMPLWTLFGYTDWCKKDTNNWDLPNRYRLVLICPYTFP
KLYNEKVKDYGYPYSYKFCAGQMPDGSNYIPFQFRKWYPTVLHQQQVM
EDISRSGPFAPKVEKPSTQLVMKYCFNFWGGNPILIEQIVKDPSTQPTYE
IPGTGNIPRRIQVIDPRVLGPHYSFRSWMRRHTFSRASIKRVSEQQETS
DLVFSGPKKPRVDIPKQETQEESHSLQRESRPWETEESETEALSQESQ
EVPFQQQLQQQYQEQLKLRQGIKVLFEQLIRTQQGVHVNPCLR
(配列番号185)

```

20

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

30

【0905】

40

50

【表 105】

表 25. 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)

TTV-tth8-ORF1 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 3)	
Arg リッチ領域	MAWGWWKRRRRWWFRKRWTRGRLRRRWPRSARRRPVRRRRR WRRGRRKTRTYRRRRRFRRRGRK (配列番号 186)
ゼリーロール ドメイン	AKLIKLWQPAVIKRCRIKGYIPLIISGNGTFATNFTSHINDRIMKGPFGGG HSTMRFSLYILFEEHLRHMNFWTRSNDNLELTRYLGASVKIYRHPDQDFI VIYNRRTPPLGGNIYTAPSLHPGNAILAKHKILVPSLQTRPKGRKAIRLRIA PPTLFTDKWYFQKDIADLTLFNIMAVEADLRFPFCSPQTDNTCISFQVLSS VYNNYLSI (配列番号 187)
超可変ドメイン	NTFNNDNSDKLKEFLNKAFTTGTGTSLNALNTFRTEGCISHPQLKKP NPQINKPLESQYFAPLDALWGDPIYYNDLNENKSLNDIIEKILIKNMITYH AKLREFPNSYQGKAFCHLTGIYSPPYLNQGR (配列番号 188)
N22	ISPEIFGLYTEIYNPYTDKGTGNKVWMDPLTKENNIYKEGQSKCLLTDM PLWTLLFGYTDWCKKDTNNWDLPNRYRLVLICPYTFPKLYNEKVKDYG YIPYSYKFGAGQMPDGSNYIPFQFRAKWYPTVLHQQQVMEDISRSGPFA PKVEKPSTQLVMKYCFNFN (配列番号 189)
C 末端ドメイン	WGGNPIIEQIVKDPSFQPTYEIPGTGNIPRRIQVIDPRVLGPHYSFRSWDM RRHTFSRASIKRVSEQQETSDLVFSGPKKPRVDIPKQETQEESHSLSLQRES RPWETEESETEALSQESQEVFPQQQLQQQYQEQLKLRQGIKVLFEQLIR TQQGVHVNPCR (配列番号 190)

【0906】

10

20

30

40

50

【表 106】

表26. 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4)

名称	TTV-HD20a
属/クレード	アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus), クレード 4
アクセッション番号	FR751492.1
タンパク質アクセッション番号	NA
全配列: 780AA	

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
MAWWGWRRRRWWRPKRRWRWRARRRRRRVPAARRPRRAFRRYRTRTVRRRRR
GRRRGYRRRYRLRRYARRRFRKKIVLTQWNPQTTRKCIIRGMPVLWAG
MGITGGRNYAVRSDDYVVKGFSGSFATETFSKVLVDQFQGRGNRWSHTN
EDLDLARYRCRWTFYRHKDTDFIVYFTNNPPMKTNQFSAPLTTPGMLMR
SKYKVLIPSFQTRPKGRKTVTVKIRPPKLFQDKWYTQDLCVPLVQLNV
TAADFTHPFGSPLTETPCVEFQVLGDLYNTCLNIDLFPQFSELGEITSAYS
KPNSSNNLKELYKELFTKATSGHYWQTFITNSMVRADHIDADKAKEAQRAS
TPSYNNDPFPTIPVKSEFAQWKKKFTDTRDSPFLFATYHPEAIKDTIMKM
RENNFKLETGPNCKYGDYTAQYQGNTHMLDYLLGFYSPIFLSDGRSNVEF
FTAYRDIYVNPFLDKAQGNMVWFQYHTKTDNKFKKPECHWEIKDMPLWAL
LNGYVDYLETQIQYGDLSKEGKVLIRCPYTKPALVDPRDDTAGYVVYNRN
FGRCKWIDGGGYIPLHERTKWYVMLRYQTDVFHDIVTCGPWQYRDDNKNS
QLVAKYRFSFIWGGNTVHSQVIRNPFCKDNQVSGPRRQPRDIQVVDPRIT
PPWVLHSFDQRRGLFTETALRRLLEPLPGEYAVSTLRTPLLFLPSEYQR
EDGAAESASGSPAKRPRWSEESQTETISSEENPAETTRELLQKRLREQR
ALQFQLQHFVQLAKTQANLHVNPLLSFPQ (配列番号191)

```

アノテーション:

推定ドメイン	AA範囲
Argリッチ領域	1 - 74
ゼリーロールドメイン	75 - 284
超可変領域	285 - 445
N22	446 - 611
C末端ドメイン	612 - 780

【0907】

10

20

30

40

50

【表 107】

表 27. 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 4)

TTV- HD20a -ORF1 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 4)	
Arg リッチ領域	MAWWGWRRRWWRPKRRWRWRARRRRRRVPARRPRRAFRRYRTRT VRRRRRGRRRGYRRRYRLRRYARRRFRRKK (配列番号 192)
ゼリーロール ドメイン	IVLTQWNPQTTRKCIIRGMMPVLWAGMGTGGRNYAVRSDDYVVKNG FGGSFATETFSCLKVL YDQFQRGFNRWSHTNEDLDLARYRGCRTWTFYR HKDITDFIVYFTNNPPMKTNQFSAPLTTPGMLMRSKYKVLIPSFQTRPKG RKT VTKIRPPKLFQDKWYTQQDLCSVPLVQLNVTAA DFTHPFGSPLT ETPCVEFQVLGDL YNTCLNI (配列番号 193)
超可変ドメイン	DLPQFSELGEITSAYSKPNSNNLKELYKELFTKATSGHYWQTFITNSMV RAHIDADKAKEAQRASSTPSYNNDPFPTIPVKSEFAQWKKKFTDTRDS PFLFATYHPEAIKDTIMKMRENNFKLETGPNDKYGDYTAQYQGNTHM LDYYLGFYSPIFLSDGR (配列番号 194)
N22	SNVEFFTAYRDI VYNPFLDKAQGNMVWFQYHTKTDNKFKKPECHWEI KDMPLWALLNGYVDYLETQIQYGDLSKEGKVLIRCPYTKPALVDPRD DTAGYVVYNNRNFGRGKWIDGGGYIPLHERTKWYVMLRYQTDVFHDI VTCGPWQYRDDNKNSQLVAKYRFSFI (配列番号 195)
C 末端ドメイン	WGGNTVHSQVIRNPCKDNQVSGPRRQPRDIQVVDPPRITPPWVLHSFD QRRGLFTETALRRLLEPLPGEYAVSTLRTPLFLPSEYQREDGAAESA SGSPAKRPRIWSEESQTETISSEENPAETTRELLQRKLREQRALQFQLQH FAVQLAKTQANLHVNPILLSFPQ (配列番号 196)

【0908】

10

20

30

40

50

【表 108】

表28. 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 5)

名称	TTV-16 (TUS01)
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>), クレード 5
アクセッション番号	AB017613.1
タンパク質アクセッション番号	BAA82454.1
全配列: 761 AA	

10

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
MAYWFRRWGWRRRRRWRRRRRRLPRRRTRRAVRGLGRRRKPRVRRRR
RTRRRTYRRGWRRRRYIRRGRRKKKLILTQWNPAIVKRCNIKGLPIIIC
GEPRAAFNYGYHMEDYTTPQPFPGGGMSTVTFSLKALYDQYLKHQNRWTF
SNDQLDLARYRGCKLRFYRSPVCDFFIVHYNLIPPLKMNQFTSPNTHPGLL
MLSKHKIIIPSFQTRPGGRRFVKIRLNPPKLFEDKWTQDLCVKPLVSI
TATAADLRYPFCSPQTNNPCTTFQVLRKNYNTVIGTSVKDQESTQDFENW
LYKTDSHYQTFATEAQLGRIPAFNPDGKNTKQSWQDNWSKKNSPWTGN
SGTYPQTTSEMYKIPYDSNFGFPTYRAQKDYILERRQCNFNVEVNNPVSK
KVWFPQSTTTPTVDYYEYHCGWFSNIFIGPNRYNLQFQTAYVDTTYNPLM
DKGKGKNIWFQYLSKKGTDYNEKQCYCTLEDMLPLWAICFGYTDYVETQLG
PNVDHETAGLIIMICPYTQPPMYDKNRPNWGYVVYDTNFGNGKMPSGSGQ
VPVYWQCRWRPMLWFQQQVLNDISKTPYAYRDEYKNVQLTLYYNFIFNW
GGDMYYPQVVKNPCGDSGIVPGSGRFTREVQVVSPLSMGPAYIFHYFDSR
RGFFSEKALKRMQQQQEFDESFTFKPKRPKLSTAAAEILQLEEDSTSGEG
KSPLQQEEKEVEVLQTPTVQLQLQRNIQEQLAIKQQLQFLLLQLLKTQSN
LHLNPQFLSPS (配列番号197)

```

20

アノテーション:

推定ドメイン	AA範囲
Argリッチ領域	1 - 75
ゼリーロールドメイン	75 - 284
超可変領域	285 - 432
N22	433 - 599
C末端ドメイン	600 - 780

30

【0909】

40

50

【表 109】

表 29. 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 5)

TTV-16(TUS01)-ORF1 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 5)	
Arg リッチ領域	MAYWFRRWGWRPRRRWRRWRRRRRLPRRRTRRAVRGLGRRRKPR VRRRRRTRRRTYRRGWRRRRYIRRGRRKKK (配列番号 198)
ゼリーロール ドメイン	LILTQWNPAIVKRCNIKGGLPPIICGEPRAAFNYGYHMEDYTPQPFPGG GMSTVTFSLKALYDQYLKHQNRWTFSDQLDLARYRGCKLRFYRSPV CDFIVHYNLIPPLKMNQFTSPNTHPGLLMLSKHKIIPSFQTRPGGRRFV KIRLNPPKLFEDKWYTQQDLCKVPLVSITATAADLRYPFCSPTNNPCT TFQVLRKNYNTVI (配列番号 199)
超可変ドメイン	GTSVKDQESTQDFENWLKTDSDHYQTFATEAQLGRIPAFNPDGKNTK QQSWQDNWSKKNPWTGNSGTYPQTTSEMYKIPYDSNFGFPTYRAQK DYILERRQC�FNVEVNNPVSKKVWPQPSTTTPTVDYIEYHCGWFSNIF IGPNR (配列番号 200)
N22	YNLQFQTAYVDTTYNPLMDKGKGKNIWFQYLSKKGTDYNEKQCYCT LEDMPPLWAICFGYTDYVETQLGPNVDHETAGLIIMICPYTQPPMYDKN RPNWGYVVYDTNFGNGKMPSGSGQVPVYWQCRWRPMLWFQQQVLN DISKTGPYAYRDEYKNVQLTLYYNFIFN (配列番号 201)
C 末端ドメイン	WGGMYYYPQVVKNPCGDSGIVPGSGRFTREVQVVSPLSMGPAYIFHY FDSRRGFFSEKALKRMQQQEFDESFTFKPKRPKLSTAAAEILQLEEDS TSGEGKSPLQEEKEVEVLQTPTVQLQLQRNIQEQLAIKQQLQFLLQL LKTQSNLHLNPQFLSPS (配列番号 202)

【0910】

10

20

30

40

50

【表 1 1 0】

表30. 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 6)

名称	TTV-TJN02
属/クレード	アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus), クレード 6
アクセッション番号	AB028669.1
タンパク質アクセッション番号	BAA94878.1
全配列: 746 AA	

1 10 20 30 40 50
 | | | | |
 MAWGWRWRWRWPARRWRWRWRWRWRVRRTRARRPARRYRRRTVTRRRR
 WRRRRYRRGWRRRTYVRKGRHRKKKKRLILRQWQPATRRRCTITGYLPIV
 FCGHTRGNKNYALHSDDYTPQGQPFGGALSTTSFSLKVLFDQHQRGLNKW
 SFPNDQLDLARYRGCKFLFYRTKQTDWVGQYDISEPYKLDKYSCPNYHPG
 NMIAKAKHKFLIPSYDTNPRGRQKIIVKIPPPDLFVDKWTQEDLCSVNLV
 SLAVSAASF LHPFGSPQTDNPCYTFQVLKEFYQAIGFSASTQAMTSVLD
 TLYTQNSYWESNLTQFYVLNAKKGSDTTQPLTSNMPTREEFMAKKNTNYN
 WYTYKAASVKNKLHQMRQTYFEELTSKGPQTTKSEEGYSQHWTPSTNAY
 EYHLGMFSAIFLAPDRPVPRFPCAYQDVTYNPLMDKGVGNHIWFQYNTKA
 DTQLIVTGGSCKAHIQDPLWAAFYGYSDFIESELGPFVDAETVGLVLCVI
 CPYTKPPMYNKTNPAMGYVFYDRNFGDGKWDGRGKIEPYWQVRWRPEML
 FQETVMADLVQTGPFYSKDELKNSTLVCKYKFYFTWGCNMMFQQTIKNPC
 KTDGQPTDSSRHPRGIQVADPEQMGPWWFHSFDWRRGYLSEKALKRLQE
 KPLDYDEYFTQPKRPRIFFPTESAEGEFREPEKGSYSEEERSQASAEET
 QEATVLLLKRRLREQQQLQQQLQFLTREMFKTQAGLHLNPMLLNQR
 (配列番号203)

アノテーション:

推定ドメイン	AA範囲
Argリッチ領域	1 - 77
ゼリーロールドメイン	78 - 286
超可変領域	287 - 416
N22	417 - 585
C末端ドメイン	586 - 746

【0 9 1 1】

10

20

30

40

50

【表 1 1 1】

表 31. 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 6)

TTV-TJN02-ORF1 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) クレード 6)	
Arg リッチ領域	MAWGWWRWRRRWPARRWRRRRRRRPVRRTRARRPARRYRRRRRTVRT RRRRWGRRRYRRGWRRRTYVRKGRHRKKKKR (配列番号 204)
ゼリーロール ドメイン	LILRQWQPATRRRCTITGYLPIVFCGHTRGNKNYALHSDDYTPQGQPFGG ALSTTSFSLKVLFDQHQRGLNKWSFPNDQLDLARYRGCKFIFYRTKQTDW VGQYDISEPYKLDKYSCPNYHPGNMIKAKHKFLIPSYDTNPRGRQKIIVKIP PPDLFVDK WYTQEDLCSVNLVSLAVSAASFLHPFGSPQTDNPCYTFQVLK EFYYQAI (配列番号 205)
超可変ドメイン	GFSASTQAMTSVLDLTYTQNSYWESNLTQFYVLNAKKGSDTTQPLTSNM PTREEFMAKKNTNYNWYTYKAASVKNKLHQMRQTYFEELTSKGPQTTK SEEGYSQHWTPSTNAEYHLGMFSAIFLAPDR (配列番号 206)
N22	PVPRFPCAYQDVTYNPLMDKGVGNHIWFQYNTKADTQLIVTGGSCKAHI QDIPLWAAFYGYSDFIESELGPFVDAETVGLVCVICPYTKPPMYNKTNPA MGYVIFYDRNFGDGKWDGGRGKIEPYWQVRWRPEMLFQETVMADLVQT GPF SYKDELKNSTLVCKYKFYFT (配列番号 207)
C 末端ドメイン	WGGNMMFQQTIKNPCKTDGQPTDSSRHPRGIQVADPEQMGRWVFHSFD WRRGYLSEKALKRLQEKL DYDEYFTQPKRPRIFPPTESAEGEFREPEKGS YSEEERSQASAEETQEATVLLKRRRLREQQLQQQLQFLTREMFKTQAG LHLNPMLLNQR (配列番号 208)

【0 9 1 2】

10

20

30

40

50

【表 1 1 2】

表32. 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 7)

名称	TTV-HD16d
属/クレード	アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus), クレード 7
アクセッション番号	FR751479.1
タンパク質アクセッション番号	NA
全配列: 765 AA	

10

```

1          10          20          30          40          50
|          |          |          |          |          |
MAWSWWWQRWRRRRRWKPRRRRWRRRLWRRRPRAVRRRRRGRRVRRRRWAR
RRGRRRRRYATRRKRRYRGRRFKKKLVLQTQWHPNTMRRLIKGIVPLVICG
HTRWNYNYALHSKDYTEEGRYPHGGALSTTTWSLKVLYDEHLKHHDFWGY
PNNQLDLARYKGAKFTFYRHKKTDFIIFFNRPFPKLNKYSCASYHPGML
MQQRHKILLPSYETKPKGRPKITVRIKPPTLLEDKWTQDLCNVNLLQL
VVTAAADFRHPLCSPQTNTPTTTFQVLKDIYDTMSISEPTDSYTSVNNKS
TTQTFTNYSNTLENILYTRASYWNSFHATEYLNPNIYKNGEKLFEKED
LITWMTQTNNITGFLTNNNTAFGNNSYRPNADKIKKARKTYWNALIGTNDL
ATNIGQARAERFEYHLGWYSPIFLSRHRSNMNFARAYQDVTYNPNCDRGV
NNRVWVQPLTKPTTEFDEKRCKCVVQHLPLWAALYCYQDFVEEELGSSSE
ILNSCLLVLCQPYTFPPMYDKKLPDKGFVFYDSLFGDGKMSDGRGQVDIF
WQQRWYPRLATQMQVMHDITMTGPFYSRDELVSTQLTAKYTFDFMWGCMN
ISTQIIKNPCKDSGLEPAYPGRQRRDLQIVDPYSMGPQFSFHNWDYRHGL
FGQDAIDRVSKQPKDDADYPNPYKRPRYFPPTDQAAQEKEKDFSFLKTAP
SNSEESDQEVLEQETQVIRFQPEQHKQLHLQLAERQRIGEQLRYLLQOMFK
TQANLHLNPHYTFTQL (配列番号209)

```

20

アノテーション:

推定ドメイン	AA範囲
Argリッチ領域	1 - 74
ゼリーロールドメイン	75 - 286
超可変領域	287 - 428
N22	429 - 595
C末端ドメイン	596 - 765

30

【0 9 1 3】

40

50

【表 1 1 3】

表 33. 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 7)

TTV- HD16d -ORF1 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>)クレード 7)	
Arg リッチ領域	MAWSWWWQRWRRRRWKPRRRRWRLRWRRPRRAVRRRRRGRRVRR RRWARRRGRRRRYATTRKRRYRGRRFKKK (配列番号 210)
ゼリーロール ドメイン	LVL TQWHPNTMRRCLIKGIVPLVICGHTRWNYNYALHSDKDYTEEGRYP HGGALSTTTWSLKVLYDEHLKHHDWGYPNQLDLARYKGAKFTFYR HKKTDFIIFNRKPPFKLNK YSCASYHPGMLMQQRHKILLPSYETKPKGR PKITVRIKPPTLLEDKWYTQQDLCDVNLLQLVVTAADFRHPLCSPQTNTP TTTFQVLKDIYYDTMSI (配列番号 211)
超可変ドメイン	SEPTDSYTSVNNKSTTQTFTNYSNTLENILYTRAS YWNSFHATEYLNPNII YKNGEKL FKEHEDLITWMTQTNTTGFLT KNNTAFGNNSYRPNADKIKK ARKTYWNALIGTNDLATNIGQARAERFEYHLGWYSPIFLSRHR (配列 番号 212)
N22	SNMNFARAYQDVTYNPNCDRGVNNRVWVQPLTKPTTEFDEKRCKCVV QHLPLWAALYCYQDFVEEELGSSSEILNSCLLVLCOPYTFPPMYDKKLP DKGFVFYDSLFGDGKMSDGRGQVDIFWQQRWYPRLATQMVMHDIT MTGPFSYRDEL VSTQLTAKYTFDFM (配列番号 213)
C 末端ドメイン	WGGNMISTQIIKNPCKDSGLEPAYPGRQRDLQIVDPYSMGPQFSFHNW DYRHGLFGQDAIDRVSKQPKDDADYPNPYKRPRYFPPTDQAAQEKEKD FSFLKTAPSNSEESDQEV LQETQVLR FQPEQHKQLHLQLAERQRIGEQLR YLLQQMFKTQANLHLNPTYTFTQL (配列番号 214)

10

20

30

40

50

【0 9 1 4】

【表 1 1 4】

表34. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*)ORF1 アミノ酸部分配列(ベータトルクウイルス(*Betatorquevirus*))

名称	TTMV-LY2
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
|      |      |      |      |      |
MPYYYRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFRRRFRKKRRVRPTYTTIPLKQWQ
PPYKRTCYIKGQDCLIIYYSNLR LGMNSTMYEKSIVPVHWPGGGSFVSML
TLDALYDIHKLCRNWWTSTNQDLPLVRYKGCKITFYQSTFTDYIVRIHTE
LPANSNKLTYPNTHPLMMMSKYKHIIIPSRQTRRKKKPYTKIFVKPPPQF
ENKWYFATDLYKIPLQLHCTACNLQNP FVKPDKLSNNVTLWSLNTISIQ
NRNMSVDQGSWPFKILGTQSFYFYFTGANLP GDTTQIPVADLLPLTNP
RINRPGQSLNEAKITDHTFT EYKNKFTNYWGNPFNKHIQEHLDMILYSL
KSPEAIKNEWTTENMKWNQLN NAGTMALTPFNEPIFTQIQYNPDRDTGED
TQLYLLSNATGTGWDPPGIPELILEGFPLWLIYWGFADFQKNLKKVTNID
TNYMLVAKTKFTQKPGTFYLVILNDTFVEGNSPYEKQPLPEDNIKWYPQV
QYQLEAQNKLLQTGPFTPNIQQLSDNISM FYKFYFKWGGSPKAINVEN
PAHQIQYPIPRNEHETTSLSQSPGEAPESILYSFDYRHGNYTTTALSRIQ
DWALKDTVSKITEPDRQQLLKQALECLQISEETQEKKEKEVQQLISNLRQ
QQQLYRERIIISLLKDQ (配列番号215)

```

20

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

30

【0 9 1 5】

40

50

【表 1 1 5】

表 35. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*) ORF1 アミノ酸部分配列 (ベータトルクウイルス (*Betatorquevirus*))

TTV- HD16d -ORF1 (ベータトルクウイルス (<i>Betatorquevirus</i>))	
Arg リッチ領域	MPYYYRRRRYNYRRPRWYGRGWIRRPFRRRFRRKRRVR (配列番号 216)
ゼリーロール ドメイン	PTYTTIPLKQWQPPYKRTCYIKGQDCLIIYYSNLRGLGMNSTMYEKSIVPVH WPGGGSFSVSMLTLDALYDIHKLCRNWWTSTNQDLPLVRYKGCKITFY QSTFTDYIVRIHTELPANSNKLTYPNTHPLMMMMSKYKHIIPSRQTRRKK KPYTKIFVKPPPQFENK WYFATDLYKIPLLQIHCTACNLQNPFFVKPKLS NNVTLWSLNT (配列番号 217)
超可変ドメイン	ISIQNRNMSVDQGQSWPFKILGTQSFYFYFYTGANLPGDTTQIPVADLLP LTNPRINRPGQSLNEAKITDHITFTEYKNKFTNYWGNPFNKHIQEHLDMI LYSLKSPEAIKNEWTTENMKWNQLNNAG (配列番号 218)
N22	TMALTPFNEPFTQIQYNPDRDTGEDTQLYLLSNATGTGWDPPGIPELILE GFPLWLIYWGFADFQKNLKKVTNIDTNYMLVAKTKFTQKPGTFYL VILN DTFVEGNSPYEKQPLPEDNIKWYPQVQYQLEAQNKLLQTGPFTPNIQGQ LSDNISMFYKFYFK (配列番号 219)
C 末端ドメイン	WGGSPPKAINVENPAHQIQYPIPRNEHETTSQSPGEAPESILYSFDYRHG NYTTTALSRSIQDWALKDTVSKITEPDRQQLLKQALECLQISEETQEKKE KEVQQLISNLRQQQQLYRERIISLLKDQ (配列番号 220)

【0 9 1 6】

10

20

30

40

50

【表 1 1 6】

表36. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*)ORF1アミノ酸部分配列(*ガンマトルクウイルス*(*Gammatorquevirus*))

名称	TTMDV-MD1-073
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	AB290918.1
タンパク質アクセッション番号	BAG49427.1

全配列: 673 AA

10

```

1          10          20          30          40          50
|          |          |          |          |          |
MPFWWGRRNKFYGRNYRRKKRRFPKRRKKRRFYRRTKYRRPARRRRRRRR
KVRKKKKTILVRQWQPDSIVLCKIKGYDSIIWGAECTQFQCSTHEMYEYT
RQKYPGGGGFGVQLYSLEYLYDQWKLRRNNIWTKTNQDKDLCRYLKCVMTF
YRHQHIDFVIVYERQPPFEIDKLTMYKYPYMLLQRKHKIIILPSQTTNPR
GKLKKKKTIKPPQMLSKWFFQQQFAKYDLLLLIAAAACSLRYPRIGCCNE
NRMITLYCLNTKFYQDEWGTTKQAPHYFKPYATINKSMIFVSNYGGKKT
EYNIGQWIETDIPGEGNLARYYRSISKEGGYFSPKILQAYQTKVKSVDYK
PLPIVLGRYNPAIDDGKGNKIYLTIMNGHWGLPQKTPDYIIIEVPLWLWG
FWGYYNLYLKQTRTEAIFPLHMFVVQSKYIQTQQTETPNFWAFIDNSFIQ
GKNPWDSVITYSEQKLWFPTVAWQLKTINAICESGPYVPKLDNQTYSTWE
LATHYSFHFKWGGPQISDQPVDPGNKNKYDVPDTKEALQIVNPAKNIA
ATMFHDWDYRRGCITSTAIRMQQNLPTDSSLESDDSDSEPAPKKKRLLPV
LHDPQKKTEKINQCLLSLCEESTCQEETEENILKLIQQQQQQQKLKHN
LLVLIKDLKVKQRLLQLQTGVLE (配列番号221)

```

20

アノテーション:

推定ドメイン	AA範囲
Argリッチ領域	1 – 57
ゼリーロールドメイン	58 – 259
超可変領域	260 - 351
N22	352 – 510
C末端ドメイン	511 – 673

30

【0 9 1 7】

40

50

【表 1 1 7】

表 37. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*) ORF1 アミノ酸部分配列 (*ガンマトルクウイルス* (*Gammatorquevirus*))

TTV- HD16d -ORF1 (<i>ガンマトルクウイルス</i> (<i>Gammatorquevirus</i>))	
Arg リッチ領域	MPFWWGRRNKFYGRNYRRKKRRFPKRRKRRFYRRTKYRRPARRRR RRRRK VRRKKK (配列番号 222)
ゼリーロール ドメイン	TLIVRQWQPDSIVLCKIKGYDSIIWGAEGTQFQCSTHEMYEYTRQKYPG GGGFGVQLYSLEYLYDQWKLRNNIWTNQLKDLCRYLKCVMTFYR HQHIDFVIVYERQPPFEIDKLTYSKYHPYMLLQRKHKIILPSQTTNPRG KLKKKKTIKPPKQMLSKWFFQQQFAKYDLLLIAAAACSLRYPRIGCCN ENRMITLYCL (配列番号 223)
超可変ドメイン	NTKFYQDTEWGTTKQAPHYFKPYATINKSMIFVSNYGGKKTEYNIGQ WIETDIPGEGNLARYYRSISKEGGYFSPKILQAYQTKVKSVDYKP (配列 番号 224)
N22	LPIVLGRYNPAIDDGKGNKIYLTIMNGHWGLPQKTPDYIIIEVPLWLG FWGYNYLQKQTRTEAIFPLHMFVVQSKYIQTQQTETPNFWAFIDNSFI QGKNPWDSVITYSEQKLWFPTVAWQLKTINAICESGPYVPKLDNQTYST WELATHYSFHFH (配列番号 225)
C 末端ドメイン	WGGPQISDQPVDPGNKKNKYDVPDTIKEALQIVNPAKNIAATMFHDW DYRRGCITSTAIKRMQQLPTDSSLESDDSEAPAKKKRLLPVLHDPQK KTEKINQCLLSLCEESTCQEQETEENILKLIQQQQQQQKLKHNLLVLI KDLKVKQRLQLQTGVLE (配列番号 226)

10

20

30

【0 9 1 8】

40

50

【表 1 1 8】

表D1. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*)ORF1アミノ酸部分配列(*ガンマトルクウイルス*(*Gammatorquevirus*))

名称	環3.1
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: 677 AA

10

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
MPFWRRRNKRWWGRRFRYRRYNYKTRRRRRIPRRNRNRFTKTRRRRKR
KKVRRKLKKITIKQWQPD SVKKCKIKGYSTLVMGAQ GKQYNCYTNQASDY
VQPKAPQGGGF'GCEVFNLKWL YQEYTAHRNIWTKTNEYTDLCRYTGAQII
LYRHPDVDFIVSWDNQPPFLLNKYTYPELQPQNLL LARRKRIILSQKSNP
KGKLRIKLRIPPPKQMITKWFFQRDFCDVNLFLKLCASAASF RYPGISHGA
QSTIFSAYALNTDFYQCS DWCQTNTETGYLNIKTQQMPLWFHYREGGKEK
WYKYTNKEHRPYTNTYLKSI SYNDGLFSPKAMFAFEVKAGGEGTTEPPQG
AQLIANLPLIALRYPNPHEDTGHGNEIYLTSTFKGTYDKPKVTDALYFNNV
PLWMGFYGYWDFILQETKNKG VFDQHMFVVKCPALRPLSQVTKQVYYPLV
DMDFCSGRLPFDEYLSKDIKSHWYPTAERQTVTINN FVTAGPYMPKFEPT
DKDSTWQLNYHYKFEFFKWGGPQVTDPTVEDPCSRNKYPVPDTMQQTIIQIK
NPEKLHPATLFDWD LRRGFITQAAIKRMSENLQIDSSFESDGTESPKKK
KRCTKEIPTQNQKQEEIQECLLSLCEEPTCQEETEDLQLFIQQQQQQQYK
LRKNLFKLLTHLKKGQRISQLQTGLLE (配列番号919)

```

20

アノテーション:

推定ドメイン	AA範囲
Argリッチ領域	1 - 59
ゼリーロールドメイン	60 - 260
超可変領域	261 - 356
N22	357 - 517
C末端ドメイン	518 - 677

30

【0 9 1 9】

40

50

【表 1 1 9】

表 D2. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*) ORF1 アミノ酸部分配列 (*ガンマトルクウイルス* (*Gammatorquevirus*))

環 3.1 (<i>ガンマトルクウイルス</i> (<i>Gammatorquevirus</i>))	
Arg リッチ領域	MPFWWRRRNKRWWGRRFRYRRYNKYKTRRRRRIPRRRNRRFTKTRR RRKRKKVRRKLKK (配列番号 920)
ゼリーロール ドメイン	ITIKQWQPDSVKKCKIKGYSTLVMGAQGKQYNCYTNQASDYVQPKAP QGGGFGCEVFNLKWL YQEYTAHRNIWTKTNEYTDLCRYTGAQIIL YR HPDVDFIVSWDNQPPFLLNK YTYPELQPQNLLLARRKRIILSQKSNPKG KLRIKLRIPPPQMITK WFFQRDFCDVNLFKLCASAASFYRPGISHGAQ STIFSAYAL (配列番号 921)
超可変ドメイン	NTDFYQCSDWCQTNTETGYLNIKTQQMPLWFHYREGGKEKWKYKYN KEHRPYTNTYLKSSISYNDGLFSPKAMFAFEVKAGGEGTTEPPQGAQLIA N (配列番号 922)
N22	LPLIALRYNPHEDTGHGNEIYL TSTFKGTYDKPKVTDAL YFNNVPLWM GFYGYWDFILQETKNKG VFDQHMFVVKCPALRPISQVTKQVYYPLVD MDFCSGRLPFDEYLSKDIKSHWYPTAERQTVTINNFVTAGPYMPKFEP TDKDSTWQLNYHYKFFFK (配列番号 923)
C 末端ドメイン	WGGPQVTDPTVEDPCSRNKYPVPDTMQQTIIQIKNPEKLHPATLFHDW DLRRGFITQAAIKRMSENLQIDSSFESDGTESPKKKKRCTKEIPTQNQKQ EEIQECLLSLCEEPTCQEETEDLQLFIQQQQQQQYKLRKNLFLKLLTHLK KGQRISQLQTGLLE (配列番号 924)

【0 9 2 0】

10

20

30

40

50

【表 1 2 0】

表D3. 例示的なアネロウイルス(Anellovirus)ORF1アミノ酸部分配列(ガンマトルクウイルス(Gammatorquevirus))

名称 環4.0
 属/クレード ガンマトルクウイルス(Gammatorquevirus)
 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
|      |      |      |      |      |
MPFWWRRRRKFWTNNRFNYTKRRRYRKRWRPRRRRRRRPYRRPVRRRRRKL
RKVKRKKKSLIVRQWPDSIRTCKIIGQSAIVVGAEGKQMYCYTVNKLIN
VPPKTPYGGGFGVDQYTLKYLEEYRFAQNIWTQSNVLKDLCRYINVKLI
FYRDNKTDVLSYDRNPPFQLTKFTYPGAHPQQIMLQKHHKFILSQMTKP
NGRLTKKLKIKPPKQMLSKWFFSKQFCKYPLLSLKASALDLRHSYLGCCN
ENPQVFFYYLNLHGYYTITNWGAQSSTAYRPNSKVTDTTYRYKNDRKIN
IKSHEYEKSIYENGYFQSSFLQTQCIYTSEGEACIAEKPLGIAIYNPV
KDNGDGNMIYLVSTLANTWDQPPKDSAILIQGVPIWLGFLGYLDYCRQIK
ADKTWLDLHVLVIQSPAIFTYPNPGAGKWYCPLSQSFINGNPFNPPTL
LQKAKWFPIQYQQEILNSFVESGPFVPKYANQTESNWELKYKYVFTFKW
GGPQFHEPEIADPSKQEQYDVPDFTFYQTIQIEDPEGQDPRSLIHDWDYRR
GFIKERSLKRMSYFSTHTDQQATSEEDIPKKKKRIGPQLTVPQQKEEET
LSCLLSLCKKDTFQETETQEDLQQLIKQQEQQLLKRNLQLIHKLKEN
QQMLQIHTGMLP (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 9 2 1】

40

50

【表 1 2 1】

表 D4. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*) ORF1 アミノ酸部分配列 (*ガンマトルクウイルス* (*Gammatorquevirus*))

環 4.0 (<i>ガンマトルクウイルス</i> (<i>Gammatorquevirus</i>))	
Arg リッチ領域	MPFWWRRRRKFWTNNRFNYTKRRRYRKRWPRRRRRRRPYRRPVRRR RRKLRKVKRKKK (配列番号 926)
ゼリーロール ドメイン	SLIVRQWQPDSIRTCKIIGQSAIVVGAEGKQMYCYTVNKLINVPPKTPY GGGFGVDQYTLKYL YEEYRFAQNIWTQSNVLKDLCRYINVKLIFYRDN KTDFVLSYDRNPPFQLTKFTYPGAHPQQIMLQKHHKFILSQMTKPNGR LTKKLKIKPPKQMLSKWFFSKQFCKYPLL SLKASALDLRHSYLGCCNE NPQVFFYYL (配列番号 927)
超可変ドメイン	NHGYYTITNWGAQSSTAYRPNSK VTDTTYRYKNDRKNNIKSHEYEK SISYENGYFQSSFLQTQCIYTSEERGEACIAE (配列番号 928)
N22	KPLGIAIYNPVKDNGDGNMIYL VSTLANTWDQPPKDSAILIQGVPIWLG LFGYLDYCRQIKADKTWLD SHVLVIQSPAIFTYPNPGAGK WYCPLSQS FINGNGPFNQPTLLQKAKWFPQIQYQQEINSFVESGPFVPKYANQTES NWELKYKYVFTFK (配列番号 929)
C 末端ドメイン	WGGPQFHEPEIADPSKQEYDVPDTFYQTIQIEDPEGQDPRSLIHDWDY RRGFIKERSLKR MSTYFSTHTDQQATSEEDIPKKKKRIGPQLTVPQQKE EETLSCLLSLCKKDTFQETETQEDLQQLIKQQEQQLLLKRNILQLIHKL KENQQMLQLHTGMLP (配列番号 930)

【0 9 2 2】

10

20

30

40

50

【表 1 2 2】

表D5. 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 1

名称	環5.2
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>)クレード 1
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: 728 AA	

10

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
TAWWWGRWRRRRWRRRRPYTTRLRRRRARRAFPRRRRRRFVSRWRRRPYRR
RRRRGRRRRRRRRRRHKPTLILRQWQPCIRHCKITGWMLLIICGKGSTQF
NYITHADDITPRGASYGGNFTNMTFSLEAIYEQFLYHRNRWSASNHDLEL
CRYKGTTLKLYRHPEVDYIVTYSRTGPFESHMTYLSHPMLMLLNKHHI
VPSLTKTKPRGRKAIVRIRPPKLMNNKWYFTRDFCNIGLFQLWATGLEL
RNPWLRMSTLSPCIGFNVLNKNSIYTNLSNLPQYKNERLNIINNILHPQEI
TGTNNKKWQYTYTKLMAPIIYYSANRASTYDWEYNSKETNYNNTYVKFTQK
RQEKLTIRKEWQMLYPQQPTALPDSYDLLQEYGLYSPYYLNPTRINLDW
MTPYTHVRYNPLVDKGFNRIYIQCSEADVSYNRTKSKCLLQDMPLFFM
CYGYIDWAIKNTGVSSSLVKDARICIRCPYTEPQLVGSTEDIGFVPISETF
MRGDMPVLAPYIPLSWFCKWYPNIAHQKEVLESIISCSPFMPRDQDMNGW
DITIGYKMDFLWGGSPLPSPQIDDPCCQGTHPIPDPKHPRLLQVSNPKL
LGPRTVVFHKWDIRRGQFSKRSIKRVSEYSSDDESLAPGLPSKRNLDSAF
RGENREQKECYSLKALEEEETPEEEEPAPQEKAKQKEELLHQLQLQRRHQ
RVLRRGLKLVFTDILRLRQGVHWNPELT (配列番号931)

```

20

アノテーション:

推定ドメイン	AA範囲
Argリッチ領域	1 - 66
ゼリーロールドメイン	67 - 277
超可変領域	278 - 395
N22	396 - 561
C末端ドメイン	562 - 728

30

【0 9 2 3】

40

【表 1 2 3】

表 D6. 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 1

環 5.2 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>)) クレード 1	
Arg リッチ領域	TAWWWGRWRRRWRRRRPYTTRLRRRRARRAFPRRRRRRFVSRWRRP YRRRRRRGRRRRRRRRRHK (配列番号 932)
ゼリーロール ドメイン	PTLILRQWQPCIRHCKITGWMPLIICGKGSTQFNYITHADDITPRGASYG GNFTNMFTSLEAIYEQFLYHRNRWSASNHDLELCRYKGTTLKLYRHPEV DYIVTYSRTGPFEISHMTYLSHPMLMLLNKHHIVVPSLKTTPRGRKAIK VRIRPPKLMNNKWYFTRDFCNIGLFQLWATGLELRNPWLRMSTLSPCIG FNVLKNSIYTNL (配列番号 933)
超可変ドメイン	SNLPQYKNERLNIINNILHPQEITGTNNKKWQYTYTKLMAPIYYSANRAS TYDWENYSKETNYNNTYVKFTQKRQEKLTKIRKEWQMLYPQQPTALP DSYDLLQEYGLYSPYYLNPTR (配列番号 934)
N22	INLDWMTPTYTHVRYNPLVDKGFGNRIYIQWCSEADVSYNRTKSKCLLQ DMPLFFMCYGYIDWAIKNTGVSSLVKDARICIRCPYTEPQLVGSTEDIGF VPISETFMRGDMPVLAPYIPLSWFCKWYPNIAHQKEVLESIISCSPFMPRD QDMNGWDITIGYKMDFL (配列番号 935)
C 末端ドメイン	WGGSPGPSQPIDDPCQGGTHPIPDPAKHPRLLQVSNPKLLGPRTVFHKW DIRRGQFSKRSIKRVSEYSSDDESLAPGLPSKRNLDSAFRGENREQKEC YSLKALEEEETPEEEEPAPQEKAQKEELLHQLQLQRRHQRVLRRLGLKL VFTDILRLRQGVHWNPELT (配列番号 936)

【0 9 2 4】

10

20

30

40

50

【表 1 2 4】

表D7. 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 環6.0
 属/クレード アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus) クレード3
 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: 767 AA

10

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
MAYGWWRRRRRRPWWRRRWRRWRRRRRRPRRRRPRRRYRRRRRTVRRRGRGR
WTRAHRRWRRKGRSRKKKIIIRQWQPNYTRRCNIVGYMPLLICGENTVA
TNYATHSDDSYYPGPFGGMTTDKFTLRILYDEYKRFMNYWTSSNEDLDL
CRYLGCTLYVFRHPEVDFIIINTSPPFLDTEITGPSIHFGMMALNKRSR
WIPSIKNRPGRKHYIKIKVGAPRMFTDKWYPQTDLCMDLLTIFASAADM
QYFPGSPLTDITIVVSFQVLQSMYNDCLSVLPDNFAETSGKGTQLHENIIQ
HLPYYNTTQTQAQFKRFIENMNATNGDNIWASYINTTKFSSANTPKNDTG
IGGPYTTYSDSWYKGTVYNDKIKTIPKASKLYYEQTKNLIGITFTGSTH
RLHYCGGLYSSVWLSAGRSYFETKGPYTDITYNPFSDRGEENMLWIDWLT
KNDSVYSKTSSKCLLENLPLWASVYGYKEYCSKVTGDTNIEHNCRCVIRS
PYTVPQLLDHNNPFRGYVPYSFNFNGNGKMPGGSSLPVIRMRAKWYPTLFH
QKEVLEAIAQAGPFAYHSDIKKVS LGIKYRFKWWGNGNPNVSQQVVRNPCK
TTQGSSGNRVPRSIQVVDPRYNTPELTIHAWDFRHGFFGRKA IKRMQEQP
IPHDTFSAGFKRSRRDTEALQCSQEEQQKENLLFPVQQLKRVPPWETSQE
SQSEENSQKQETLSQQLRDQLHKQRLMGEQLRSLIYQMQRVQQNQHINP
MLLPKGLALTSISHNVI (配列番号937)

```

20

アノテーション:

推定ドメイン	AA範囲
Argリッチ領域	1 - 69
ゼリーロールドメイン	70 - 269
超可変領域	270 - 424
N22	425 - 584
C末端ドメイン	585 - 767

30

【0 9 2 5】

40

【表 1 2 5】

表 D8. 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

環 6.0 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>))	
Arg リッチ領域	MAYGWWRRRRRRPWRRRWRRWRRRRRPRRRRPRRRYRRRRTVRR RGRGRWTRAHRRWRRKGKRSRKKK (配列番号 938)
ゼリーロール ドメイン	IIIRQWQPNYTRRCNIVGYMPLLICGENTVATNYATHSDDSYYPGPFGG GMTTDKFTLRILYDEYKRFMNYWTSSNEDLDLCRYLGCTLYVFRHPE VDFIIIINTSPFLDTEITGPSIHPGMMALNKRSRWIPSIKNRPGRKHYYKI KVGAPRMFTDKWYPQTDLCMTLLTIFASAADMQYPFGSPLTDITIVVS FQVL (配列番号 939)
超可変ドメイン	QSMYNDCLSVLPDNFAETSGKGTQLHENIIQHLPYYNTTQTQAQFKRFI ENMNATNGDNIWASYINTTKFSSANTPKNDTGIGGPYTTYSDSWYKGT VYNDKIKTIPIKASKLYYEQTKNLGITFTGSTHRLHYCGGLYSSVWLS AGRSYFETK (配列番号 940)
N22	GPYTDITYNPFSDRGEGNMLWIDWLTKNDSVYSKTSSKCLINLPLWA SVYGYKEYCSKVTGDTNIEHNCRCVIRSPYTPVQLLDHNNPFRGYVPY SFNFGNGKMPGGSSLVPIRMRAKWYPTLFHQKEVLEAIAQAGPFAYHS DIKKVSLGIKYRFKWV (配列番号 941)
C 末端ドメイン	WGGNPVSQQVVRNPCKTTQGSSGNRVPRSIQVVDPRYNTPELTIHAW DFRHGFFGRKAIKRMQEPIPHDTFSAGFKRSRRDTEALQCSQEEQQKE NLLFPVQQLKRVPPWETSQESQSEEENSQKQETLSQQLRDQLHKQRLM GEQLRSLLYQMQRVQQNQHINPMLLPKGLALTSISHNVI (配列番号 942)

【0 9 2 6】

10

20

30

40

50

【表 1 2 6】

表D9. 例示的なアネロウイルス(*Anellovirus*)ORF1アミノ酸部分配列(*Alphatorquevirus*) – クレード 7

名称	環7.0
属/クレード	アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>) – クレード 7
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: 766 AA	

10

```

1      10      20      30      40      50
|      |      |      |      |      |
MAWRWWWQRRWRRRRWPRRRWRRLRRRRPRRPVRRRRRTTVRRRRWRGR
RGRRTYTRRAVRRRRRPRKRLVLTQWSPQTVRNCSIRGIVPMVICGHTKA
GRNYAIHSEDFTTQIQPFGGSFSTTTWSLKVLWDEHQFQNRWSYPNTQL
DLARYRGVTFWFYRDQKTDYIVQWSRNPPFKLNKYSSAMYHPGMMMQAKR
KLVPVSFQTRPKGKKRYRVTIKPPNMFADKWYTQEDLCVPVPLVQIVVSAA
SLLHPFCPPQTNNPCITFQVLKDIYDECIGVNETMKDKYKKLQTTLYTTC
TYYQTTQVLAQLSPAFAQAMKPTTTQSAATATTLGNYVPELKYNNGSFHT
GQNAVFGMCSYKPTDSIMTKANGWFWQNLMDNNLHSSYGKATLECMYEH
TGIYSSIFLSPQRSLEFPAAYQDVTYNPNCDRAVGNVWVFQYSTKMDTNF
DETKCKCVLKNIPLWAAFNGYSDFIMQELSISTEIHNFQIVCFQCPYTFP
PCFNKNKPLKGYVFYDTTFGNGKMPDGSQGHVPIYWQQRWWIRLAFQVQVM
HDFVLTGPFQSYKDDLANTTLTARYKFKFKWGGNI IPEQIIKNPCHREQSL
ASYPDRQRDLQVVDPTMGPIYTFHTWDWRRGLFGADAIQRVSQKPGDA
LRFTNPFKRPRYLPTDREDYRQEDFALQEKRRRTSTEEAQDEESPPES
APLLQQQQQQRQLSVHIAEQRLGVQLRYILQEVLKTQAGLHLNPLLLGP
PQTRSSISLSPPKAYSP (配列番号943)

```

20

アノテーション:

推定ドメイン	AA範囲	
Argリッチ領域	1 – 70	30
ゼリーロールドメイン	71 - 271	
超可変領域	272 - 418	
N22	419 – 579	
C末端ドメイン	580 – 766	

【0 9 2 7】

40

【表 1 2 7】

表 D10. 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 7

環 7.0 (アルファトルクウイルス(<i>Alphatorquevirus</i>))	
Arg リッチ領域	MAWRWWWQRRWRRRRWPRRRWRLRRRRPRRPVRRRRRTTVRRRR WRGRRGRRTYTRRAVRRRRRPRKR (配列番号 944)
ゼリーロール ドメイン	LVLQWSPQTVRNCSIRGIVPMVICGHTKAGRNYAIHSEDFTTQIQPFGGG FSTTTWSLKVLWDEHQKFQNRWSPNTQLDLARYRGVTFWFYRDQKTD YIVQWSRNPPFKLNKYSSAMYHPGMMMQAKRKL VVPSFQTRPKGKKRY RVTIKPPNMFADKWYTQEDLCPVPLVQIVVSAASLLHPFCPPQTNNPCITF QVL (配列番号 945)
超可変ドメイン	KDIYDECIGVNETMKDKYKKLQTTLYTTCTYYQTTQVLAQLSPAQFQAM KPTTTQSAATATTLGNYVPELKYNNGSFHTGQNAVFGMCSYKPTDSIMT KANGWFWQNLMDNNLHSSYGKATLECMYHTGIYSSIFLSPQRSLEFP (配列番号 946)
N22	AAAYQDVTYNPNCDRAVGNVVWFQYSTKMDTNFDETKCKCVLKNIPLWA AFNGYSDFIMQELSISTEIHNFIVCFQCPYTFPPCFNKNKPLKGYVFYDIT FGNGKMPDGSQGHVPIYWQQRWWIRLAFQVQVMHDFVLTGPFSYKDDLA NTTLTARYKFKFK (配列番号 947)
C 末端ドメイン	WGGNIPEQIIKNPCHREQLASYPDRQRRDLQVVDPSTMGPIYTFHTWD WRRGLFGADAIQRVSQKPGDALRFTNPFKRPRYLPTDREDYRQEEDFAL QEKRRRTSTEEAQDEESPPESAPLLQQQQQQRQLSVHLAEQQRLGVQLRY ILQEVLTQAGLHLNPLLLGPPQTRISLSPPKAYSP (配列番号 948)

10

20

30

【0 9 2 8】

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

40

50

るアミノ酸を含む。

【 0 9 2 9 】

【 表 1 2 8 】

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	LVLTQWQPNTVRRCYIRGYLPLIICGEN(X ₀₋₃)TTSRNYA THSDDTIQKGPFGGGMSTTTFSRLRVLYDEYQRFMNRW TYSNEDLDLARYLGCKFTFYRHPDXDFIVQYNTNPPFK DTKLTAPSIHP(X ₁₋₅)GMLMLSKRKILIPSLKTRPKGKHY VKVRIGPPKLFEDKWYTQSDLCDVPLVXLYATAADLQ HPFGSPQTDNPCVTTFQVLGSXYNKHLSISP; ここで、X = 任意のアミノ酸。	227
N22	SNFEFPGAYTDITYNPLTDKGVGNMVWVWQYLTKPDTIX DKTQS(X ₀₋₃)KCLIEDLPLWAALYGYVDFCEKETGDSAIL XNXGRVLIRCPYTKPPLYDKT(X ₀₋₄)NKGFVPYSTNFGN GKMPGGSGYVPIYWRARWYPTLFHQKEVLEDIVQSGP FAYKDEKPSTQLVMKYCFNFN; ここで、X = 任意のアミノ酸。	228
CTD	WGGNPISQQVVRNPCKDSG(X ₀₋₃)SGXGRQPRSVQVVD PKYMGPEYTFHSWDWRRGLFGEKAIKRMSEQPTDDEI FTGGXPKRPRRDPPTXQXPPEE(X ₁₋₄)QKESSSFR(X ₂₋₁₄)PW ESSSQEXESESQEEEE(X ₀₋₃₀)EQTVQQQLRQQLREQRRL RVQLQLLFQQLLKT(X ₀₋₄)QAGLHINPLLLSQA(X ₀₋₄₀)*; ここで、X = 任意のアミノ酸。	229

10

20

30

【 0 9 3 0 】

40

50

【表 1 2 9】

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	LKQWQPSTIRKCKIKGYLPLFQCGKGRISNNYTQYKESI VPHHEPGGGGWSIQQFTLGALYEEHLKLRNWWTKSN DGLPLVRYLGCTIKLYRSEDTDYIVTYQRCYPMTATKL TYLSTQPSRMLMKNHKIIVPSKXT(X ₁₋₄)NKKKKPYKKIF IKPPSQMQNKWYFQQDIANTPLLQLTXTACSLDRMYL SSDSISNNITFTSLNTNFFQNPNFQ; ここで、X = 任意のアミノ酸。	230
N22	(X ₄₋₁₀)TPLYFECRYNPFKDKGTGNKVYLVSN(X ₁₋₈)TG WDPPTDPLIIEGFPLWLLWGWLDWQKLGKIQNIDT DYILVIQSXYIYP(X ₁₋₃)KLPYYVPLDXD(X ₀₋₂)FLHGRSP Y(X ₃₋₁₆)PSDKQHWHPKVRFQXETINNIALTGPGTPKLPN QKSIQAHMKYKFYFK; ここで、X = 任意のアミノ酸。	231
CTD	WGGCPAPMETITDPCKQPKYPIPNLLQTSLQXPTTPI ETYLKFDERRGLLTKKAAKRIKKDXTTETTLFTDTGX XTSTTLPTXXQTETTQEEXTSEEE(X ₀₋₅)ETLLQQLQQLR RKQKQLRXRILQLLQLLXLL(X ₀₋₂₆)*; ここで、X = 任意のアミノ酸。	232

【0 9 3 1】

10

20

30

40

50

【表 130】

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	TIPLKQWQPESIRKCKIKGYGTLVLGAEGRQFYCYTNE KDEYTPPKAPGGGGFGVELFSLEYLYEQWKARNNIWT KSNXYKDLCRYTGCKITFYRHPTTDFIVXYSRQPPFEID KXTYMXXHPQXLLLRKHKIILSKATNPKGKLKKKIKI KPPKQMLNKWFFQKQFAXYGLVQLQAAACBLRYPR GCCNENRLITLYYLN; ここで、X = 任意のアミノ酸。	233
N22	LPIVVARYNPAXDTGKGNKXWLXSTLNGSXWAPPTTD KDLIIIEGLPLWLALYGYWSYJKKVKKDKGILQSHMFV VKSPAIIQPLXTATTQXTFYPIXIDNSFIQGXPHYDEPJTX NQKKLWYPTLEHQQETINAIVESGPYVPKLDNQKNST WELXYXYTFYFK; ここで、X = 任意のアミノ酸。	234
CTD	WGGPQIPDQPVEDPKXQGTYPVPDTXQQTIIQIXNPLKQ KPETMFHDWDYRRGIITSTALKRMQENLETDSFXSDS EETP(X ₀₋₂)KKKKRLTXELXPQEETEEIQSCLLSLCEEST CQEE(X ₁₋₆)ENLQQLIHQQQQQQQLKHNILKLLSDLKZ KQRLLQLQTGILE(X ₁₋₁₀)*; ここで、X = 任意のアミノ酸。	235

10

20

30

【0932】

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%

40

50

の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0933】

ORF2分子

一部の実施形態では、アネロソームは、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。

10

【0934】

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（*Gammatorquevirus*）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（*Gammatorquevirus*）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。

20

30

40

【0935】

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]X⁷HX³CX¹CX⁵H（配列番号949）を含み、ここで、Xⁿ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、X⁷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、X³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、X¹は、任意の単一アミノ酸を示す。複数の実施形態では、X⁵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

50

の実施形態では、 $[W/F] \times 7H \times 3C \times 1C \times 5H$ （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 $[W/F] \times 7H \times 3C \times 1C \times 5H$ （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。

【0936】

遺伝子エレメント

一部の実施形態では、アネロソームは、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 ~ 10 kb 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 DNA 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。特定の実施形態では、遺伝子エレメントは、プロモータ配列と、治療用エフェクターをコード化する配列と、キャプシド結合タンパク質と、を含む環状の一本鎖 DNA である。

【0937】

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（例えば、表 A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1 ~ B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは 17 のいずれかに記載される）アネロウイルス（Anellovirus）核酸配列、若しくはその断片に対して少なくとも約 70%、75%、80%、8%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは 100% の配列同一性を有するか、又はアネロウイルス（Anellovirus）アミノ酸配列（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 のいずれかに記載される）に対して少なくとも約 70%、75%、80%、8%、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コード化する。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、エフェクター（内在性エフェクター若しくは外性エフェクター、例えば、ペイロード）、例えば、ポリペプチドエフェクター（例えば、タンパク質）又は核酸エフェクター（例えば、非コーディング RNA、例えば、miRNA、siRNA、mRNA、lncRNA、RNA、DNA、アンチセンス RNA、gRNA）をコード化する配列を含む。

【0938】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、20 kb 未満（例えば、約 19 kb、18 kb、17 kb、16 kb、15 kb、14 kb、13 kb、12 kb、11 kb、10 kb、9 kb、8 kb、7 kb、6 kb、5 kb、4 kb、3 kb、2 kb、1 kb 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、1000 b 超（例えば、少なくとも約 1.1 kb、1.2 kb、1.3 kb、1.4 kb、1.5 kb、1.6 kb、1.7 kb、1.8 kb、1.9 kb、2 kb、2.1 kb、2

、2 kb、2.3 kb、2.4 kb、2.5 kb、2.6 kb、2.7 kb、2.8 kb、2.9 kb、3 kb、3.1 kb、3.2 kb、3.3 kb、3.4 kb、3.5 kb、3.6 kb、3.7 kb、3.8 kb、3.9 kb、4 kb、4.1 kb、4.2 kb、4.3 kb、4.4 kb、4.5 kb、4.6 kb、4.7 kb、4.8 kb、4.9 kb、5 kb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3.2~3.7 kb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1.5~5.0 kb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、2.0~3.9、2.0~4.0、2.0~4.5、又は2.0~5.0 kb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 kb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 kb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 kb、又は4.5~5.0 kbの長さを有する。

10

【0939】

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。一部の実施形態では、実質的に非病原性のタンパク質は、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、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) 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%、99%、若しくは100%の配列同一性を有するアミノ酸配列若しくはその機能性断片、又は配列を含む。

20

30

【0940】

一部の実施形態では、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、インビトロ環状化により生産される)。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、二本鎖環状DNAからのローリングサークル複製により生産される。複数の実施形態では、ローリングサークル複製は、細胞(例えば、宿主細胞、例えば、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞、例えば、HEK293T、A549細胞、若しくはJurkat細胞)中で起こる。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、細胞中のローリングサークル複製により指数関数的に増幅し得る。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、細胞中のローリングサークル複製により線形増幅し得る。複数の実施形態では、二本鎖環状DNA又は遺伝子エレメントは、細胞中のローリングサークル複製により、初期量の少なくとも2、4、8、16、32、64、128、256、518、若しくは1024倍以上を産生することができる。複数の実施形態では、二本鎖環状DNAは、例えば、本明細書に記載の通り、細胞内に導入された。

40

【0941】

一部の実施形態では、二本鎖環状DNA及び／又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、二本鎖環状DNA及び／又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。

【0942】

一部の実施形態では、本発明は、(i)実質的に非病原性の外部タンパク質と、(ii)

50

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、(iii)調節核酸と、をコード化する核酸配列(例えば、DNA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(*Anellovirus*)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1つ若しくは複数の配列を含み得る。

【0943】

タンパク質結合配列

多くのウイルスによって使用される戦略は、ウイルスキャプシドタンパク質が、そのゲノム内の特定のタンパク結合配列を認識することである。例えば、酵母のL-Aウイルスなどの非分節型ゲノムを有するウイルスの場合、ゲノムの5'末端に二次構造(ステムループ)と特定の配列があり、その両方がウイルスキャプシドタンパク質との結合に使用される。しかし、レオウイルス科(*Reoviridae*)、オルトミクソウイルス科(*Orthomyxoviridae*) (インフルエンザ)、ブンヤウイルス科(*Bunyaviruse*)及びアレナウイルス科(*Arenaviruses*)など、分節型ゲノムを有するウイルスは、ゲノムセグメントの各々をパッケージングする必要がある。一部のウイルスは、ウイルスがそれぞれゲノム分子の1つを含有するのを促進するために、セグメントの相補性領域を使用する。他のウイルスは、様々なセグメントの各々に対して特定の結合部位を有する。例えば、Curr Opin Struct Biol. 2010 Feb; 20(1): 114-120; Journal of Virology (2003), 77(24), 13036-13041を参照されたい。

【0944】

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、実施例8に記載のタンパク結合配列を含む。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(*Anellovirus*)配列(例えば、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1~B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17のいずれかに示す通り)の5'UTR保存ドメイン又はGCリッチ領域に対して少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%の配列同一性を有するタンパク結合配列を含む。

【0945】

複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、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(例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド165~235)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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表A1のアネロウイルス(*Anellovirus*)GCリッチヌクレオチド配列(例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド3620~3648)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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表A3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(例えば、表A3の核酸配列のヌクレオチド175~245)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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表A5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(例えば、表A5の核酸配列のヌクレオチド138~208)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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表A7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 (例えば、表A1の核酸配列のヌクレオチド174~244) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表A7のアネロウイルス (Anellovirus) GCリッチヌクレオチド配列 (例えば、表A7の核酸配列のヌクレオチド3720~3742) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表A9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 (例えば、表A9の核酸配列のヌクレオチド100~171) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表A11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 (例えば、表A11の核酸配列のヌクレオチド294~364) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表A1のアネロウイルス (Anellovirus) GCリッチヌクレオチド配列 (例えば、表A11の核酸配列のヌクレオチド3844~3895) 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。

10

20

30

40

50

【0946】

一部の実施形態では、タンパク結合配列は、表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 (例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド177~247) 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。一部の実施形態では、タンパク結合配列は、表1のアネロウイルス (Anellovirus) GCリッチヌクレオチド配列 (例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド3415~3570) 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。一部の実施形態では、タンパク結合配列は、表3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 (例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド204~273) 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。一部の実施形態では、タンパク結合配列は、表3のアネロウイルス (Anellovirus) GCリッチヌクレオチド配列 (例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド3302~3541) 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。一部の実施形態では、タンパク結合配列は、表5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 (例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド170~240) 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。一部の実施形態では、タンパク結合配列は、表5のアネロウイルス (Anellovirus) GCリッチヌクレオチド配列 (例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド3632~3753) 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。一部の実施形態では、タンパク結合配列は、表7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 (例えば、表7の核酸配列のヌクレオチド170~238) 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。一部の実施形態では、タンパク結合配列は、表7のアネロ

ウイルス (A n e l l o v i r u s) G C リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 7 の核酸配列のヌクレオチド 3 7 6 8 ~ 3 8 7 8) 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。一部の実施形態では、タンパク結合配列は、表 9 のアネロウイルス (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 (例えば、表 9 の核酸配列のヌクレオチド 1 7 0 ~ 2 4 0) 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。一部の実施形態では、タンパク結合配列は、表 9 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) G C リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 9 の核酸配列のヌクレオチド 3 3 0 2 ~ 3 5 4 1) 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。一部の実施形態では、タンパク結合配列は、表 1 1 のアネロウイルス (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 (例えば、表 1 1 の核酸配列のヌクレオチド 1 7 4 ~ 2 4 4) 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。一部の実施形態では、タンパク結合配列は、表 1 1 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) G C リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 1 1 の核酸配列のヌクレオチド 3 6 9 1 ~ 3 7 9 4) 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。一部の実施形態では、タンパク結合配列は、表 1 3 のアネロウイルス (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 (例えば、表 1 3 の核酸配列のヌクレオチド 1 7 0 ~ 2 4 0) 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。一部の実施形態では、タンパク結合配列は、表 1 3 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) G C リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 1 3 の核酸配列のヌクレオチド 3 7 5 9 ~ 3 8 6 6) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表 1 5 のアネロウイルス (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 (例えば、表 1 5 の核酸配列のヌクレオチド 3 2 3 ~ 3 9 3) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表 1 5 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) G C リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 1 5 の核酸配列のヌクレオチド 2 8 6 8 ~ 2 9 2 9) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表 1 7 のアネロウイルス (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 (例えば、表 1 7 の核酸配列のヌクレオチド 1 1 7 ~ 1 8 7) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表 1 7 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) G C リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 1 7 の核酸配列のヌクレオチド 3 0 5 4 ~ 3 1 7 2) 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。

【 0 9 4 7 】

複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表 B 1 のアネロウイルス (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 (例えば、表 B 1 の核酸配列のヌクレオチド 1 8 5 ~ 2 5 5) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表 B 1 のアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) G C リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 B 1 の核酸配列のヌクレオチド 3

10

20

30

40

50

1 4 1 ~ 3 2 6 4) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表 B 2 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 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 185 ~ 254) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表 B 2 のアネロウイルス (Anellovirus) GC リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 3076 ~ 3176) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表 B 3 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 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 178 ~ 248) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表 B 3 のアネロウイルス (Anellovirus) GC リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 3555 ~ 3696) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表 B 4 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 (例えば、表 B 4 の核酸配列のヌクレオチド 176 ~ 246) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表 B 4 のアネロウイルス (Anellovirus) GC リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 B 4 の核酸配列のヌクレオチド 3720 ~ 3828) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表 B 5 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 (例えば、表 B 5 の核酸配列のヌクレオチド 170 ~ 240) 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。複数の実施形態では、タンパク質結合配列は、表 B 5 のアネロウイルス (Anellovirus) GC リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 B 5 の核酸配列のヌクレオチド 3716 ~ 3815) 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。

【0948】

5' UTR 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 38 及び／又は図 20 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-JA205'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

【0949】

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%、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

30

40

50

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。

【0950】

複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、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（例えば、表 A1 の核酸配列のヌクレオチド 165 ~ 235）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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 A3 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（例えば、表 A3 の核酸配列のヌクレオチド 175 ~ 245）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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 A5 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（例えば、表 A5 の核酸配列のヌクレオチド 138 ~ 208）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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 A7 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（例えば、表 A7 の核酸配列のヌクレオチド 174 ~ 244）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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 A9 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（例えば、表 A9 の核酸配列のヌクレオチド 100 ~ 171）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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 A11 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（例えば、表 A11 の核酸配列のヌクレオチド 294 ~ 364）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。

【0951】

複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 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（例えば、表 1 の核酸配列のヌクレオチド 177 ~ 247）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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 3 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（例えば、表 3 の核酸配列のヌクレオチド 204 ~ 273）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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 5 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（例えば、表 5 の核酸配列のヌクレオチド 170 ~ 240）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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 7 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（例えば、表 7 の核酸配列のヌクレオチド 170 ~ 238）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。複数の実施形態で

は、遺伝子エレメントは、表 9 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 (例えば、表 9 の核酸配列のヌクレオチド 170~240) 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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 11 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 (例えば、表 11 の核酸配列のヌクレオチド 174~244) 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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 13 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 (例えば、表 13 の核酸配列のヌクレオチド 170~240) 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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 15 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 (例えば、表 15 の核酸配列のヌクレオチド 323~393) 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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 17 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 (例えば、表 17 の核酸配列のヌクレオチド 117~187) 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。

10

20

【0952】

複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、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 (例えば、表 B 1 の核酸配列のヌクレオチド 185~255) 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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 B 2 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 (例えば、表 B 2 の核酸配列のヌクレオチド 185~254) 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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 B 3 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 (例えば、表 B 3 の核酸配列のヌクレオチド 178~248) 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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 B 4 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 (例えば、表 B 4 の核酸配列のヌクレオチド 176~246) 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。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 B 5 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 (例えば、表 B 5 の核酸配列のヌクレオチド 170~240) 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。

30

40

【0953】

50

【表 1 3 1】

表 38. アネロウイルス(*Anelloviruses*)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

【0 9 5 4】

10

20

30

40

50

【表 1 3 2】

TTV-HD23a	CGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCC CTGGG	108
TTV-JA20	CGGGTGCCGGAGGTGAGTTTACACACCGCAGTC AAGGGGCAATTCGGGCTCGGGACTGGCCGGGCT TTGGG	109
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

【 0 9 5 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 3】

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 AAGGGGCAATTCGGGGCTCGGGACTGGCCGGGGCT 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 AAGGGGCAATTCGGGGCTCGGGACTGGCCGGGGCT ATGGG	119

10

【0 9 5 6】

G C 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 3 9 及び／又は図 2 0 及び 3 2 のいずれかに示される核酸配列に対して少なくとも約 7 5 %（例えば、少なくとも 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 3 9 に示される G C リッチ配列に対して少なくとも約 7 5 %（例えば、少なくとも 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 %）の同一性を有する核酸配列を含む。

20

【0 9 5 7】

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 3 9 に示される 3 6 ヌクレオチド G C リッチ配列（例えば、3 6 ヌクレオチドコンセンサス G C リッチ領域配列 1、3 6 ヌクレオチドコンセンサス G C リッチ領域配列 2、TTV クレード 1 3 6 ヌクレオチド領域、TTV クレード 3 3 6 ヌクレオチド領域、TTV クレード 3 分離株 G H 1 3 6 ヌクレオチド領域、TTV クレード 3 s l e 1 9 3 2 3 6 ヌクレオチド領域、TTV クレード 4 c t d c 0 0 2 3 6 ヌクレオチド領域、TTV クレード 5 3 6 ヌクレオチド領域、TTV クレード 6 3 6 ヌクレオチド領域、又は TTV クレード 7 3 6 ヌクレオチド領域）に対して少なくとも約 7 5 %（例えば、少なくとも 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 3 9 に示される 3 6 ヌクレオチド G C リッチ配列（例えば、3 6 ヌクレオチドコンセンサス G C リッチ領域配列 1、3 6 ヌクレオチドコンセンサス G C リッチ領域配列 2、TTV クレード 1 3 6 ヌクレオチド領域、TTV クレード 3 3 6 ヌクレオチド領域、TTV クレード 3 分離株 G H 1 3 6 ヌクレオチド領域、TTV クレード 3 s l e 1 9 3 2 3 6 ヌクレオチド領域、TTV クレード 4 c t d c 0 0 2 3 6 ヌクレオチド領域、TTV クレード 5 3 6 ヌクレオチド領域、TTV クレード 6 3 6 ヌクレオチド領域、又は TTV クレード 7 3 6 ヌクレオチド領域）の少なくとも 1 0、1 5、2 0、2 5、3 0、3 1、3 2、3 3、3 4、3 5、若しくは 3 6 個の連続したヌクレオチドを含む核酸配列を含む。

30

40

【0 9 5 8】

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 3 9 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) G C リッチ領域配列に対して少なくとも約 7 5 %（例えば、少なくとも 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

50

(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。

【0959】

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) GCGCTX₁CGCGCGCGCGCGCCGGGGGGCTGCGCCCCCCC (配列番号164) (X₁は、T、G、若しくはAから選択される)

(iii) GCGCTTCGCGCGCGCGCCGCCCCACTAGGGGGGCGTTTGCGCG (配列番号165)；

(iv) GCGCTGCGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGGCGCAATGCG (配列番号166)；

(v) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCCCGGGGGGAGGGCAATTGCCCT (配列番号167)；

(vi) GCGCTGCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCGCCAGCGCCCC (配列番号168)；

(vii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTCCGCCCCCCC (配列番号169)；

(viii) GCGCTTCGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTGCGCCCCCCC (配列番号170)；

(ix) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTGCGCCCCCCCC (配列番号171)；又は

(x) GCGCTACGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGGCTCTGCCCCCCCCC (配列番号172)；

から選択される。

【0960】

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CGCGCTGCGCGCGCGCCGCCCCAGTAGGGGGGAGCCCATGCG(配列番号160)を含む。

【0961】

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、X₄、X₅、X₆、X₇、X₁₂、X₁₃、X₁₄、X₁₅、X₂₀、X₂₁、X₂₂、X₂₆、X₂₉、X₃₀、及びX₃₃は、各々独立に任意のヌクレオチドであり、また、X₂、X₃、X₈、X₉、X₁₀、X₁₁、X₁₆、X₁₇、X₁₈、X₁₉、X₂₃、X₂₄、X₂₅、X₂₇、X₂₈、X₃₁、X₃₂、及びX₃₄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、X₁～X₃₄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

10

20

30

40

50

TTV-CT30F 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。

【0962】

10

20

30

40

50

【表 1 3 5】

例示的な TTV 配列	全配列	GCCGCCGCGGCGGCGGSGGNGNSGCGCGC TDCGCGCGCSNNNCRCRGGGGGNNNNCW GCSNCNCCCCCCCCCGCGCATGCGCGGGKC CCCCCCCCNCGGGGGGCTCCGCCCCCGG CCCCCCCCGTGCTAAACCCACCGCGCATG CGCGACCACGCCCCCGCCGCC	121
	断片 1	GCCGCCGCGGCGGCGGSGGNGNSGCGCGC TDCGCGCGCSNNNCRCRGGGGGNNNNCW GCSNCNCCCCCCCCCGCGCAT	122
	断片 2	GCGCGGGKCCCCCCCCNCGGGGGGCTC CG	123
	断片 3	CCCCCGGCCCCCCCCGTGCTAAACCCAC CGCGCATGCGCGACCACGCCCCCGCCGCC	124

10

【0 9 6 4】

20

30

40

50

【表 1 3 6】

TTV-CT30F	全配列	GCGGCGG-GGGGGCG-GCCGCG- TTCGCGCGCCGCCACCAGGGGGTG-- CTGCG-CGCCCCCCCCCGCGCAT GCGCGGGGCCCCCCCC-- GGGGGGGCTCCGCCCCCGGCCCCCCCC GTGCTAAACCCACCGCGCATGCGCGACCA CGCCCCGCGGCC	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
TTV-HD23a	全配列	CGGCGGCGGCGGCG- CGCGCGCTGCGCGCGCG--- CGCCGGGGGGGCGCCAGCG- CCCCCCCCCGCGCAT GCACGGGTCCCCCCCCACGGGGGGCTCC G CCCCCCGGCCCCCCCC	134
	断片 1	CGGCGGCGGCGGCG	135
	断片 2	CGCGCGCTGCGCGCGCG	136
	断片 3	CGCCGGGGGGGCGCCAGCG	137
	断片 4	CCCCCCCCCGCGCAT	138
	断片 5	GCACGGGTCCCCCCCCACGGGGGGCTCC G	139
	断片 6	CCCCCGGCCCCCCCC	140

【0 9 6 5】

10

20

30

40

50

【表 1 3 7】

TTV-JA20	全配列	CCGTCGGCGGGGGGGCCGCGCGCTGCGCG CGCGGCCC- CCGGGGGAGGCACAGCCTCCCCCCCCCGC GCGCATGCGCGCGGGTCCCCCCCCCTCCGG GGGGCTCCGCCCCCGGCCCCCCCC	141
	断片 1	CCGTCGGCGGGGGGGCCGCGCGCTGCGCG CGCGGCCC	142
	断片 2	CCGGGGGAGGCACAGCCTCCCCCCCCCGC GCGCATGCGCGCGGGTCCCCCCCCCTCCGG GGGGCTCCGCCCCCGGCCCCCCCC	143
TTV-TJN02	全配列	CGGCGGCGGCG-CGCGCGCTACGCGCGCG-- -CGCCGGGGG---CTGCCGC- CCCCCCCCCGCGCAT GCGCGGGGCCCCCCCC- GCGGGGGGCTCCG CCCCCCGGCCCC	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	GCGCGGGGCCCCCCCC	150
	断片 7	GCGGGGGGCTCCG	151
	断片 8	CCCCCGGCCCC	152

【0 9 6 6】

10

20

30

40

50

【表 1 3 8】

TTV-tth8	全配列	GCCGCCGCGGCGGCGGGGG- GCGGCGCGCTGCGCGCGCCGCCAGTAGG GGGAGCCATGCG---CCCCCCCCCGCGCAT GCGCGGGGCCCCCCCC- GCGGGGGGCTCCG CCCCCGGCCCCCCCCCG	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	CCCCCGGCCCCCCCCCG	159
	断片 7	CGCGCTGCGCGCGCCGCCAGTAGGGGGA GCCATGC	160
	断片 8	CCGCCATCTTAAGTAGTTGAGGCGGACGGT GGCGTGAGTTCAAAGGTCACCATCAGCCA CACCTACTCAAATGGTGG	161
	断片 9	CTTAAGTAGTTGAGGCGGACGGTGGCGTG AGTTCAAAGGTCACCATCAGCCACACCTAC TCAAATGGTGGACAATTTCTTCCGGGTCA AAGGTTACAGCCGCCATGTTAAACACGT GACGTATGACGTCACGGCCGCCATTTTGTG ACACAAGATGGCCGACTTCCTTCC	162

【0 9 6 7】

10

20

30

40

50

【表 1 3 9】

追加の GC リッチ配列 (図 32 に示す通り)	36-ヌクレオチド コンセンサス GC リッチ領域 配列 1	CGCGCTGCGCGCGCGCCCGCCAGTAGGGGGA GCCATGC	163
	36-ヌクレオチド 領域 コンセン サス 配列 2	GCGCTX ₁ CGCGCGCGCGCCGGGGGGGCTGCG 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	GCGCTTCGCGCGCGCCCGCCACTAGGGGGCGT TGC GCG	165
	TTV クレード 3 36-ヌクレオチド 領域	GCGCTGCGCGCGCGCCCGCCAGTAGGGGGGCG CAATGCG	166
	TTV クレード 3 単離株 GH1 36-ヌクレオチド 領域	GCGCTGCGCGCGCGCGCCCCCGGGGGAGGC ATTGCCT	167
	TTV クレード 3 sle1932 36-ヌク レオチド領域	GCGCTGCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGCGCC AGCGCCC	168
	TTV クレード 4 ctdc002 36-ヌク レオチド領域	GCGCTTCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGCTCCG CCCCCCC	169
	TTV クレード 5 36-ヌクレオチド 領域	GCGCTTCGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGCTGCG CCCCCCC	170
	TTV クレード 6 36-ヌクレオチド 領域	GCGCTACGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGCTGCG CCCCCCC	171
	TTV クレード 7 36-ヌクレオチド 領域	GCGCTACGCGCGCGCGCGCCGGGGGGGCTCTG CCCCCCC	172

【0 9 6 8】

10

20

30

40

50

【表 1 4 0】

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	GCGGCGGGGGGGCGGCCGCGTTCGCGCGC CGCCCACCAGGGGGTGCTGCGCGCCCCCCC CCGCGCATGCGCGGGGGCCCCCCCCCGGGG GGGCTCCGCCCCCCCCGGCCCCCCCCCGTGC TAAACCCACCGCGCATGCGCGACCACGCC CCCGCCGCC	801
	TTV-P13-1	CCGAGCGTTAGCGAGGAGTGCGACCCTAC CCCCTGGGCCCCACTTCTTCGAGCCGCGCG CTACGCCTTCGGCTGCGCGCGGCACCTCAG ACCCCCGCTCGTGCTGACACGCTTGCGCGT GTCAGACCACTTCGGGCTCGCGGGGGTTCG GG	802
	TTV-tth8	GCCGCCGCGGCGGGCGGGGGGCGGCGCGCT GCGCGCGCCGCCAGTAGGGGGAGCCATG CGCCCCCCCCCGCGCATGCGCGGGGGCCCCC CCCCGCGGGGGGCTCCGCCCCCGGCCCCC CCCG	803
	TTV-HD20a	CGGCCCAGCGGCGGCGCGCGCGCTTCGCG CGCGCGCCGGGGGGCTCCGCCCCCCCCCGC GCATGCGCGGGGGCCCCCCCCCGCGGGGGG CTCCGCCCCCGGTCCCCCCCCCG	804
	TTV-16	CGGCCGTGCGGCGGCGCGCGCGCTTCGCG CGCGCGCCGGGGGGCTGCCGCCCCCCCCCGC GCATGCGCGGGGGCCCCCCCCCGCGGGGG GGCTCCGCCCCCGGCCCCCCCCCCCCCG	805
	TTV-TJN02	CGGCGGCGGCGCGCGCGCTACGCGCGCGC GCCGGGGGGGTGCCGCCCCCCCCCCCCGCGC ATGCGCGGGGGCCCCCCCCCGCGGGGGGGCT CCGCCCCCGGCCCCCC	806
	TTV-HD16d	GGCGGCGGCGCGCGCGCTACGCGCGCGCG CCGGGGAGCTCTGCCCCCCCCCGCGCATGC GCGCGGGTCCCCCCCCCGCGGGGGGGCTCC GCCCCCGGTCCCCCCCCCG	807

10

20

30

【0969】

複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 A 1 のアネロウイルス (Anellovirus) GC リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 A 1 の核酸配列のヌクレオチド 3620 ~ 3648) 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、遺伝子エレメントは、表 A 7 のアネロウイルス (Anellovirus) GC リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 A 7 の核酸配列のヌクレオチド 3720 ~ 3742) 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、遺伝子エレメントは、表 A 1 のアネロウイルス (Anellovirus) GC リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 A 11 の核酸配列のヌクレオチド 3844 ~ 3895) 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。

40

【0970】

50

複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表1のアネロウイルス（Ane ll o v i r u s）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表1の核酸配列のヌクレオチド3415～3570）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、遺伝子エレメントは、表3のアネロウイルス（Ane ll o v i r u s）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表3の核酸配列のヌクレオチド3302～3541）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、遺伝子エレメントは、表5のアネロウイルス（Ane ll o v i r u s）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表5の核酸配列のヌクレオチド3632～3753）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、遺伝子エレメントは、表7のアネロウイルス（Ane ll o v i r u s）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表7の核酸配列のヌクレオチド3768～3878）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、遺伝子エレメントは、表9のアネロウイルス（Ane ll o v i r u s）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表9の核酸配列のヌクレオチド3302～3541）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、遺伝子エレメントは、表11のアネロウイルス（Ane ll o v i r u s）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表11の核酸配列のヌクレオチド3691～3794）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、遺伝子エレメントは、表13のアネロウイルス（Ane ll o v i r u s）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表13の核酸配列のヌクレオチド3759～3866）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、遺伝子エレメントは、表15のアネロウイルス（Ane ll o v i r u s）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表15の核酸配列のヌクレオチド2868～2929）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、遺伝子エレメントは、表17のアネロウイルス（Ane ll o v i r u s）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表17の核酸配列のヌクレオチド3054～3172）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

【0971】

複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表B1のアネロウイルス（Ane ll o v i r u s）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表B1の核酸配列のヌクレオチド3141～3264）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、遺伝子エレメントは、表B2のアネロウイルス（Ane ll o v i r u s）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表B2の核酸配列のヌクレオチド3076～3176）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、遺伝子エレメントは、表B3のアネロウイルス（Ane ll o v i r u s）GCリッチヌクレオチド配列（例えば、表B3の核酸配列のヌクレオチド3555～3696）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、遺伝子エレメントは、表 B 4 のアネロウイルス (Ane ll o v i r u s) GC リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 B 4 の核酸配列のヌクレオチド 3 7 2 0 ~ 3 8 2 8) 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核酸配列を含む。複数の実施形態では、遺伝子エレメントは、表 B 5 のアネロウイルス (Ane ll o v i r u s) GC リッチヌクレオチド配列 (例えば、表 B 5 の核酸配列のヌクレオチド 3 7 1 6 ~ 3 8 1 5) 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核酸配列を含む。

【0972】

エフェクター

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、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 1 0 0 0 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。

【0973】

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、遺伝子エレメント内の一部であり、例えば、実施例 1 0、1 2、又は 2 2 に記載する挿入部位に挿入され得る。複数の実施形態では、エフェクターをコード化する配列は、遺伝子エレメント内のノンコーディング領域、例えば、オープンリーディングフレームの 3' 側及び遺伝子エレメントの GC リッチ領域の 5' 側に位置するノンコーディング領域、T A T A ボックス上流の 5' ノンコーディング領域、5' U T R、ポリ-A シグナル 3' ノンコーディング領域下流、又は GC リッチ領域上流の 3' ノンコーディング領域に挿入される。複数の実施形態では、エフェクターをコード化する配列は、遺伝子エレメント内の、例えば、本明細書に記載される通り、T T V - t e t h 8 プラスミドのヌクレオチド 3 5 8 8 付近に、又は例えば、本明細書に記載される通り、T T M V - L Y 2 プラスミドのヌクレオチド 2 8 4 3 付近に挿入される。複数の実施形態では、エフェクターをコード化する配列は、遺伝子エレメント内の、例えば、本明細書に記載されるように、T T V - t e t h 8 プラスミドのヌクレオチド 3 3 6 ~ 3 0 1 5 若しくはその範囲内に、又は例えば、本明細書に記載されるように、T T V - L Y 2 プラスミドのヌクレオチド 2 4 2 ~ 2 8 1 2 若しくはその範囲内に挿入される。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、オープンリーディングフレームの一部又は全部 (例えば、本明細書に記載の O R F、例えば、表 A 1 ~ A 1 2、B 1 ~

10

20

30

40

50

B 5、C 1～C 5、若しくは1～18のいずれかに示すORF 1、ORF 1／1、ORF 1／2、ORF 2、ORF 2／2、ORF 2／3、及び／若しくはORF 2 t／3）を置換する。

【0974】

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、実施例11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。

【0975】

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。

【0976】

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、miRNA 5～30bp、lncRNA 200～500bp）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。

【0977】

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。

【0978】

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。

【0979】

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

10

20

30

40

50

(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。RNA分子として、限定はされないが、以下：低分子干渉RNA(s i RNA)、二本鎖RNA(d s RNA)、マイクロRNA(m i RNA)、低分子ヘアピンRNA(s h RNA)、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)。

【0980】

長鎖ノンコーディングRNA(l n c RNA)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(m i RNA)、低分子干渉RNA(s i RNA)、及び他の低分子RNAなどの小さい調節RNAからl n c RNAを区別する。一般に、l n c RNA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l n c RNA(哺乳動物ゲノムの全l n c RNA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。

10

【0981】

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。

20

【0982】

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。

【0983】

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(m i RNA)分子をコード化し得る。一部の実施形態では、m i RNA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。

30

【0984】

一部の実施形態では、調節核酸は、少なくとも1つ、例えば、2、3、4、5、6、若しくはそれ以上のm i RNAである。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、ヌクレオチド配列のいずれかに対して少なくとも約75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%のヌクレオチド同一性を有するm i RNAをコード化する配列又は本明細書に記載する1配列と相補的な配列を含む。

40

【0985】

s i RNA及びs h RNAは、内在性マイクロRNA(m i RNA)遺伝子(Bartel, Cell 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 RNAは、m i RNAとして機能することができ、その逆も同様である(Zeng et al., Mol Cell 9:1327-1333, 2002; Doench et al., Genes Dev 17:438-442, 2003)。s i RNAのようなマイクロRNAは、RISCを用いて標的遺伝子を

50

下方制御するが、*siRNA*とは異なり、ほとんどの動物*miRNA*は、*mRNA*を切断しない。その代わり、*miRNA*は、翻訳抑制又はポリA除去及び*mRNA*分解によりタンパク質産生を低減する(Wu et al., Proc Natl Acad Sci USA 103:4034-4039, 2006)。既知の*miRNA*結合部位は、*mRNA* 3' UTR内にあり;*miRNA*は、*miRNA*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(Rajewsky, Nat Genet 38 Suppl:S8-13, 2006; Lim et al., Nature 433:769-773, 2005)。この領域は、シード領域として知られる。*siRNA*及び*miRNA*は、置き換え可能であるため、外性*siRNA*は、*siRNA*に対してシード相補性を有する*mRNA*を下方制御する(Birmingham et al., Nat Methods 3:199-204, 2006。3' UTR内の複数の標的部位は、より強度の下方制御を付与する(Doench et al., Genes Dev 17:438-442, 2003)。

10

20

30

40

50

【0986】

既知の*miRNA*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(Wellcome Trust Sanger Institute)、ペン・センター・フォア・バイオインフォマティクス(Penn Center for Bioinformatics)、メモリアル・スローン・ケタリング・癌センター(Memorial Sloan Kettering Cancer Center)、及び欧州分子生物学研究所(European Molecule Biology Laboratory)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*siRNA*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。*RNAi*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(Lagan et al., Methods Mol. Bio., 2015, 1269:393-412)。

【0987】

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中で相同性を有する*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。

【0988】

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。

【0989】

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ソームを設計してもよい;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。

【0990】

治療用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、例えば、本明細書に記載されるように、治療用ペプチド若しくはポリペプチド、例えば、分泌ポリペプチド、例えば、抗体分子、酵素、ホルモン、サイトカイン、補体阻害剤、増殖因子、又は増殖因子阻害剤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。

10

【0991】

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150アミノ酸、又はそれらの間の範囲の長さを有する。

【0992】

例示的な分泌治療薬を本明細書に、例えば、以下の表に記載する。

【0993】

20

30

40

50

【表 1 4 1】

表 A. 例示的なサイトカイン及びサイトカイン受容体

サイトカイン	サイトカイン受容体
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
IL-1Ra	IL-1 1 型受容体, IL-1 2 型受容体
IL-2	IL-2R
IL-3	IL-3 受容体 $\alpha + \beta c$ (CD131)
IL-4	IL-4R I 型, IL-4R II 型
IL-5	IL-5R
IL-6	IL-6R (sIL-6R) gp130
IL-7	IL-7R 及び sIL-7R
IL-8	CXCR1 及び CXCR2
IL-9	IL-9R
IL-10	IL-10R1/IL-10R2 複合体
IL-11	IL-11R α 1 gp130
IL-12 (例えば, p35, p40, 又はそれらのヘテロ二量体)	IL-12R β 1 及び IL-12R β 2
IL-13	IL-13R1 α 1 及び IL-13R1 α 2
IL-14	IL-14R
IL-15	IL-15R
IL-16	CD4
IL-17A	IL-17RA
IL-17B	IL-17RB
IL-17C	IL-17RA から IL-17RE
IL-17D	SEF
IL-17F	IL-17RA, IL-17RC

【0 9 9 4】

10

20

30

40

50

【表 1 4 2】

IL-18	IL-18 受容体
IL-19	IL-20R1/IL-20R2
IL-20	L-20R1/IL-20R2 及び IL-22R1/ IL-20R2
IL-21	IL-21R
IL-22	IL-22R
IL-23 (例えば, p19, p40, 又はそれらのヘテロ二量体)	IL-23R
IL-24	IL-20R1/IL-20R2 及び IL-22R1/ IL-20R2
IL-25	IL-17RA 及び IL-17RB
IL-26	IL-10R2 鎖 及び IL-20R1 鎖
IL-27 (例えば, p28, EBI3, 又はそれらのヘテロ二量体)	WSX-1 及び gp130
IL-28A, IL-28B, 及び IL29	IL-28R1/IL-10R2
IL-30	IL6R/gp130
IL-31	IL-31RA/OSMR β
IL-32	
IL-33	ST2
IL-34	コロニー刺激因子 1 受容体
IL-35 (例えば, p35, EBI3, 又はそれらのヘテロ二量体)	IL-12R β 2/gp130; IL-12R β 2/IL-12R β 2; gp130/gp130
IL-36	IL-36Ra
IL-37	IL-18R α 及び IL-18BP
IL-38	IL-1R1, IL-36R
IFN- α	IFNAR
IFN- β	IFNAR
IFN- γ	IFNGR1/IFNGR2
TGF- β	T β R-I 及び T β R-II
TNF- α	TNFR1, TNFR2

【0995】

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 A のサイトカイン、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、機能性変異体は、同じ条件下で同じ受容体について対応する野生型サイトカインの K_d より多くとも 10 %、20 %、30 %、40 %、又は 50 % 高い 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 領域（例えば、表 A のサイトカインポリペプチド）と、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 領域は、表 A の第 1 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 サイトカイン領域は、表 A の第 2 サイトカインポ

リペプチドであり、第1及び第2サイトカインポリペプチドは、野生型細胞中で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A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A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ソームが、本明細書に記載の疾患又は障害の治療のために使用される。

【0996】

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A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A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。

10

【0997】

例示的なサイトカイン及びサイトカイン受容体は、Akdis et al., “Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor β , and TNF- α : Receptors, functions, and roles in diseases” October 2016 Volume 138, Issue 4, Pages 984-1010に記載されており、これは、その中の表Iを含め、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0998】

20

30

40

50

【表 1 4 3】

表 B. 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
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
脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP)	NPRA, NPRB
C 型 ナトリウム利尿ペプチド (CNP)	NPRB
成長ホルモン (GH)	GHR
ヒト成長ホルモン (hGH)	hGH 受容体 (ヒト GHR)
プロラクチン (PRL)	PRLR
甲状腺刺激ホルモン (TSH)	TSH 受容体
副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)	ACTH 受容体
卵胞刺激ホルモン (FSH)	FSHR
黄体形成ホルモン (LH)	LHR
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
オキシトシン	OXTR
カルシトニン	カルシトニン受容体 (CT)
副甲状腺ホルモン (PTH)	PTH1R 及び PTH2R
インスリン	インスリン受容体 (IR)
グルカゴン	グルカゴン受容体

【0999】

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 B のホルモン、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、機能性変異体は、同じ条件下で同じ受容体について対応する野生型ホルモンの K_d より多くとも 10%、20%、30%、40%、又は 50% 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 B 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 B 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ソームが、本明細書に記載の疾患又は障害の治療に使用される。

【1000】

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 B のホルモ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 B 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。

【1001】

10

20

30

40

50

【表 1 4 4】

表 C. 例示的な増殖因子

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
CSF-1	CSF1R
SCF	CD117
VEGF ファミリー	
VEGF (例えば, アイソフォーム VEGF 121, VEGF 165, VEGF 189, 及び VEGF 206)	VEGFR-1, VEGFR-2
VEGF-B	VEGFR-1
VEGF-C	VEGFR-2 及び VEGFR -3
PlGF	VEGFR-1
EGF ファミリー	
EGF	EGFR
TGF- α	EGFR
アンフィレグリン	EGFR
HB-EGF	EGFR
ベータセルリン	EGFR, ErbB-4
エピレグリン	EGFR, ErbB-4
ヘレグリン	EGFR, ErbB-4
FGF ファミリー	

10

20

30

【1 0 0 2】

40

50

【表 1 4 5】

FGF-1, FGF-2, FGF-3, FGF-4, FGF-5, FGF-6, FGF-7, FGF-8, FGF-9	FGFR1, FGFR2, FGFR3, 及び FGFR4
インスリン ファミリー	
インスリン	IR
IGF-I	IGF-I 受容体, IGF-II 受容体
IGF-II	IGF-II 受容体
HGF ファミリー	
HGF	MET 受容体
MSP	RON
ニュートロフィンファミリー	
NGF	LNGFR, trkA
BDNF	trkB
NT-3	trkA, trkB, trkC
NT-4	trkA, trkB
NT-5	trkA, trkB
アンジオポエチンファミリー	
ANGPT1	HPK-6/TEK
ANGPT2	HPK-6/TEK
ANGPT3	HPK-6/TEK
ANGPT4	HPK-6/TEK

【1 0 0 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 C の増殖因子、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、機能性変異体は、同じ条件下で同じ受容体について対応する野生型増殖因子の K_d より多くとも 10%、20%、30%、40%、又は 50% 高い K_d で、対応するサイトカインに結合する。一部の実施形態では、表 C 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 C の増殖因子、又はその機能性変異体をコード化するアネロソームが、本明細書に記載の疾患又は障害の治療に使用される。

【1 0 0 4】

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 C の増殖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 C の増殖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。

【1 0 0 5】

例示的な増殖因子及び増殖因子受容体は、例えば、B a f i c o e t a l. , “ C l

assification of Growth Factors and Their Receptors” Holland-Frei Cancer Medicine. 6th editionに記載されており、これは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【1006】

【表146】

表 D. 凝固関連因子

エフェクター	適応症
第Ⅰ因子 (フィブリノーゲン)	無フィブリノーゲン血症
第Ⅱ因子	第Ⅱ因子欠乏症
第Ⅸ因子	血友病 B
第Ⅴ因子	オーレン病
第Ⅷ因子	血友病 A
第Ⅹ因子	スチュアート・プロワー因子欠乏症
第Ⅺ因子	血友病 C
第Ⅻ因子	フィブリン安定化因子欠乏症
vWF	フォン・ヴィレブランド病

10

20

【1007】

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 D 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、機能性変異体は、対応する野生型タンパク質と同じ反応を、例えば、野生型タンパク質より少なくとも 10 %、20 %、30 %、40 %、又は 50 % 低い速度で、触媒する。一部の実施形態では、表 D 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 D 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ソームが、表 D の疾患又は障害の治療に使用される。

30

【1008】

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。

40

【1009】

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

50

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、Maringer et al. “Message in a bottle: lessons learned from antagonism of STING signalling during RNA virus infection” Cytokine & Growth Factor Reviews Volume 25, Issue 6, December 2014, Pages 669–679（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STINGモジュレータ（例えば、阻害剤）を含む。別のSTINGモジュレータ（例えば、アクチベータ）は、例えば、以下：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 May 19; Bose “cGAS/STING Pathway in Cancer: Jekyll and Hyde Story of Cancer Immune Response” Int J Mol Sci. 2017 Nov; 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 Apr 15; 7(283):283ra52に記載されており、それらの各々は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

30

40

50

【1010】

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、Steeland 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。

【1011】

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、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。

【1012】

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ソームは、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結合するポリペプチドを含む。

【1013】

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。

【1014】

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DNAに隣接して位置するDNA配列を含む。プロモータは、隣接するDNA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、DNA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DNA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GFPの発現のために用いることができる。加えて、1つのプロモータエレメントが、タンデムで結合された複数のDNA配列について発現された産物の量を増加させることができる。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。

【1015】

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 (Rous sarcoma virus) (RVS) 長末端反復 (LTR) プロモータ/エンハンサー、サイトメガロウイルス (CMV) 中間体初期プロモータ/エンハンサー (例えば、Boshart et al., Cell, 41:521-530 (1985) を参照)、SV40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 (PGK) プロモータが挙げられる。

10

【1016】

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、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 (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 (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 (Gossen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:5547-5551 (1992))；テトラサイクリン誘導性システム (Gossen et al., Science, 268:1766-1769 (1995))；また、Harvey et al., Curr. Opin. Chem. Biol., 2:512-518 (1998) も参照)；RU486誘導性システム (Wang 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。

20

30

【1017】

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。

40

【1018】

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

50

。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))。

10

20

30

40

50

【1019】

遺伝子エレメントは、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。

【1020】

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 (LTR) 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。

【1021】

複製タンパク質

一部の実施形態では、アネロソーム、例えば、合成アネロソームの遺伝子エレメントは、1つ又は複数の複製タンパク質をコード化する配列を含んでもよい。一部の実施形態では、アネロソームは、ローリングサークル複製法、例えば、リーディング鎖の合成により複製することができ、ラギング鎖は結合されない。こうした実施形態では、アネロソームは、3つの追加エレメント：i) イニシエータタンパク質をコード化する遺伝子、ii) 二本鎖起点、及びiii) 一本鎖起点を含む。複製タンパク質を含むローリングサークル複製 (RCR) タンパク質複合体は、リーディング鎖に結合して、複製起点を不安定化する。RCR複合体は、ゲノムを切断して、自由3' OH末端を生成する。細胞DNAポリメラーゼは、自由3' OH末端からウイルスDNA複製を開始する。ゲノムが複製された後、RCR複合体は、ループを共有結合により閉鎖する。これにより、環状プラス一本鎖親DNA分子、及び親マイナス鎖と新しく合成されたプラス鎖とから構成される環状二本鎖DNA分子の放出が起こる。一本鎖DNA分子は、包膜されるか、又は第2ラウンドの複製に参加することができる。例えば、Virology Journal 2009, 6

: 60 doi: 10.1186/1743-422X-6-60を参照されたい。

【1022】

遺伝子エレメントは、ポリメラーゼ、例えば、RNAポリメラーゼ又はDNAポリメラーゼをコード化する配列を含んでもよい。

【1023】

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。

【1024】

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ソームの種及び／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。

【1025】

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。

【1026】

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つ又は複数の含む。

【1027】

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。

【1028】

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

10

20

30

40

50

との連関不均衡状態にある。

【1029】

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。

10

【1030】

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。

20

【1031】

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 (Borna disease virus)、サーコウイルス (Circovirus)、ジェミニウイルス (Gemini virus)、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 (Amblyovirus)、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 (Hytrovirus)、ヘルペスウイルス (Herpesvirus)、イリドウイルス (Iridovirus)、リボスリックスウイルス (Lipothrixvirus)、ニマウイルス (Nimavirus)、及びポックスウイルス (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 (Fluvirus)、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 (Partitivirus)、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。

30

40

【1032】

50

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（*Gamma torquevirus*）（TTMD）に分類された。現在まで、アネロウイルス（*Anellovirus*）は、ヒト疾患に関連付けられていない。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、表19に記載の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。

10

20

30

40

50

【1033】

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。

【1034】

【表 1 4 7】

表 41: アネロウイルス(*Anellovirus*)及びそれらの配列の例。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(Torque teno virus) 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(Torque teno virus) 遺伝子, 完全 cds, 単離株: TYM9

【1 0 3 5】

10

20

30

40

50

【表 1 4 8】

AB060592.1	ORF1, ORF2, ORF3, ORF4 のトルク・テノウイルス(Torque teno virus) 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(Torque teno virus) 遺伝子, 完全 cds, クローン: SAa-38
AB060595.1	ORF1, ORF2, ORF3, ORF4 の TT ウイルス遺伝子, 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(Torque teno virus) DNA, 完全ゲノム, 単離株: CT25F
AB064597.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) DNA, 完全ゲノム, 単離株: CT30F
AB064599.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) DNA, 完全ゲノム, 単離株: JT03F
AB064600.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) DNA, 完全ゲノム, 単離株: JT05F
AB064601.1	トルク・テノウイルス(Torque teno virus) DNA, 完全ゲノム, 単離株: JT14F
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/IC1, 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
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

【1 0 3 6】

10

20

30

40

50

【表 1 4 9】

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
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

【1 0 3 7】

10

20

30

40

50

【表 150】

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
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) 株 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 ctde048, 完全ゲノム
MH648893.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.) 単離株 ctde007, 完全ゲノム
MH648897.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.) 単離株 ctcb038, 完全ゲノム
MH648900.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.) 単離株 ctfc019, 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 ctcf040, 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
MH648925.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.) 単離株 ctci019, 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 ctde017, 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

【1038】

10

20

30

40

50

【表 1 5 1】

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
MH649045.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.) 単離株 ctde021, 完全ゲノム
MH649051.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.) 単離株 ctde044, 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 ctde018, 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 ctde011, 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 ctde028, 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 ctde002, 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

10

20

30

40

【1 0 3 9】

【表 1 5 2】

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 ctfd004, 完全ゲノム
MH649152.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.) 単離株 ctgj13, 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
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 ctci060, 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 ctba001, 完全ゲノム
MH649212.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.) 単離株 ctcf004, 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 ctci016, 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 ctcf013, 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 ctba027, 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 ctba009, 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 ctfd011, 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
MK012492.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.) 単離株 ctbb005, 完全ゲノム

【1 0 4 0】

10

20

30

40

50

【表 1 5 3】

MK012493.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.) 単離株 etcj014, 完全ゲノム
MK012500.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.) 単離株 etcb001, 完全ゲノム
MK012504.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.) 単離株 etcj010, 完全ゲノム
MK012516.1	アネロウイルス科種(Anelloviridae sp.) 単離株 etcf003, 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
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

20

30

40

【1 0 4 1】

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 (Anelloviruses)、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

50

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ソーム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、選択マーカーをコード化する遺伝子も含み得る。

【1042】

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。

【1043】

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。

【1044】

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、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、17、又は41のいずれかに記載の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75%のヌクレオチド配列同一性、少なくとも約80%、85%、90%、95%、96

10

20

30

40

50

%、97%、98%、99%若しくは100%のヌクレオチド配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む。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。

【1045】

遺伝子編集構成体

アネロソーム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ungk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。

【1046】

CRISPR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。CRISPRシステムは、CRISPR関連又は「Cas」エンドヌクレアーゼ（例えば、Cas9若しくはCpf1）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CRISPR/Cas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CRISPRシステムが同定されている。クラスII CRISPRシステムは、単一のCasエンドヌクレアーゼ（複数のCasタンパク質ではなく）を使用する。或るクラスII CRISPRシステムは、Cas9、CRISPR RNA（「crRNA」）、及びトランス活性化crRNA（「tracrRNA」）などのII型Casエンドヌクレアーゼを含む。crRNA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。crRNAはまた、tracrRNA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、RNase IIIにより切断されて、crRNA/tracrRNAハイブリッドが形成される。次に、crRNA/tracrRNAハイブリッドは、Cas9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Cas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」（「PAM」）に隣接していなければならない；しかし、PAM配列は、所与のゲノム全体に出現する。

【1047】

一部の実施形態では、アネロソームは、CRISPR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CRISPRエンドヌクレアーゼは、ユニークなPAM配列要件を有し；PAM配列の例として、5'-NGG（化膿レンサ球菌 (Streptococcus pyogenes)）、5'-NNAGAA（ストレプトコッカス・サーモフィルス (Streptococcus thermophilus) CRISPR1）、5'-NGGNG（ストレプトコッカス・サーモフィルス (Streptococcus thermophilus) CRISPR3）、及び5'-N

NNGATT (髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*)) が挙げられる。いくつかのエンドヌクレアーゼ、例えば、Cas9 エンドヌクレアーゼは、グリッチPAM 部位、例えば、5'-NGG に結合しており、PAM 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 CRISPR システムは、Cas9 より小さいV 型エンドヌクレアーゼCpf1 を含み; 例として、Ascpf1 (アシダミノコッカス種 (*Acidaminococcus* sp.) 由来) 及びLbCpf1 (ラクノスピラ科種 (*Lachnospiraceae* sp.) 由来) が挙げられる。Cpf1 エンドヌクレアーゼは、トリッチPAM 部位、例えば、5'-TTN と結合している。Cpf1 はまた、5'-CTA PAM モチーフを認識することができる。Cpf1 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PAM 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PAM 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、Zetsche et al. (2015) Cell, 163: 759-771 を参照されたい。

10

【1048】

様々なCRISPR 結合 (Cas) 遺伝子をアネロソーム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Cas タンパク質をコード化するものであり、Cas1、Cas2、Cas3、Cas4、Cas5、Cas6、Cas7、Cas8、Cas9、Cas10、Cpf1、C2C1、又はC2C3 が挙げられる。一部の実施形態では、アネロソームは、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、アネロソームは、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、アネロソームは、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、アネロソームを細胞、接合子、胚、又は動物に導入してもよい。一部の

20

30

【1049】

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、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) をコード化し得る。FokI エンド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。

40

50

【1050】

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。

10

【1051】

一部の実施形態では、アネロソームは、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、ニックアーゼ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）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。

20

【1052】

本明細書で使用される場合、「エフェクタードメインの生物活性部分」は、エフェクタードメイン（例えば、「最小」又は「コア」ドメイン）の機能を（例えば、完全に、部分的に、又は最小限）維持するタンパク質である。一部の実施形態では、アネロソームは、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とdCas9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、アネロソームは、dCas9-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、アネロソームは、内在性遺伝子をターゲティングする部位特異的gRNAを含むdCas9-酵素融合物をコード化する遺伝子を含む。

30

【1053】

他の態様では、アネロソームは、dCas9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。

【1054】

タンパク質性外層

一部の実施形態では、アネロソーム、例えば、合成アネロソームは、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。アネロソーム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。

40

【1055】

一部の実施形態では、タンパク質性外層タンパク質は、アネロソーム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、アネロソーム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）。

【1056】

50

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。

【1057】

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。

【1058】

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配列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、表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*）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%、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。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ヌクレオチド配列、例えば、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、若しくは17のいずれか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%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくは100%のヌクレオチド配列同一性を有するキャプシドヌクレオチド配列又は配列によりコード化されるキャプシドタンパク質又はキャプシドタンパク質の機能性断片を含む。

【1059】

一部の実施形態では、アネロソームは、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アミノ酸配列、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のいずれかのアネロウイルス（*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%、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。一部の実施形態では、アネロソームは、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アミノ酸配列、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のいずれかのアネロウイルス（*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%、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含む。

【1060】

一部の実施形態では、アネロソームは、本明細書に記載のアミノ酸配列、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に列挙されるか、又は図1に示されるアネロウイルス（*Anellovirus*）アミノ酸配列、若しくはその機能性断片の約1位～約150位（例えば、

10

20

30

40

50

又は各範囲内の任意のサブセットのアミノ酸、例えば、約20位～約35位、約25位～約30位、約26位～約30位）、約150位～約390位（例えば、又は各範囲内の任意のサブセットのアミノ酸、例えば、約200位～約380位、約205位～約375位、約205位～約371位）、約390位～約525位、約525位～約850位（例えば、又は各範囲内の任意のサブセットのアミノ酸、例えば、約530位～約840位、約545位～約830位、約550位～約820位）、約850位～約950位（例えば、又は各範囲内の任意のサブセットのアミノ酸、例えば、約860位～約940位、約870位～約930位、約880位～約923位）を有するアミノ酸配列をコード化するヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、タンパク質は、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のアミノ酸配列、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に列挙されるか、又は図1に示されるアネロウイルス（Anellovirus）アミノ酸配列の約1位～約150位（例えば、又は本明細書に記載の各範囲内のアミノ酸の任意のサブセット）、約150位～約390位、約390位～約525位、約525位～約850位、約850位～約950位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含む。

10

【1061】

一部の実施形態では、タンパク質は、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のアミノ酸配列、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に列挙される、若しくは図1に示されるアネロウイルス（Anellovirus）アミノ酸配列のいずれか1つ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含む。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。

20

【1062】

一部の実施形態では、アネロソームは、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、アネロソームには、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、アネロソームの内部は、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、アネロソームの内部は、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、アネロソーム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。

30

【1063】

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。

40

【1064】

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、本明細書に記載のアネロウイルス（Anellovirus）ORF1によりコード化されるタンパク質を含む。

【1065】

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／若しくは

50

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。

【1066】

II. ベクター

本明細書に記載の遺伝子エレメントは、ベクター内に含有させてもよい。好適なベクター並びにそれらの製造及びそれらの使用方法は、従来技術分野で公知である。

【1067】

一態様では、本発明は、(i) 非病原性外部タンパク質をコード化する配列と、(ii) 遺伝子エレメントを非病原性外部タンパク質と結合させる外部タンパク質結合配列と、(iii) 調節核酸をコード化する配列と、を含む遺伝子エレメントを含むベクターを包含する。

10

【1068】

遺伝子エレメント又は遺伝子エレメント内の配列のいずれかは、任意の好適な方法を用いて取得することができる。例えば、標準的技法を用いて、ウイルス配列を含む細胞からのライブラリーのスクリーニング、当該配列を含むことがわかっているベクターからの配列の誘導、又は細胞及びそれを含有する組織からの直接の単離など、様々な組換え方法が当技術分野で公知である。これに代わり、又はこれと組み合わせて、遺伝子エレメントの一部又は全部は、クローニングではなく、合成により生産することができる。

20

【1069】

一部の実施形態では、ベクターは、調節エレメントと、標的遺伝子と相同性の核酸配列と、生存細胞内において且つ／又は細胞内分子が標的細胞内に存在するときにリポータ分子の発現を誘発するための様々なリポータ構築物と、を含む。

【1070】

リポータ遺伝子は、トランスフェクトされた可能性がある細胞を同定する、及び調節配列の機能性を評価するために使用される。一般に、リポータ遺伝子は、レシピエント生物又は組織に存在しないか、又は発現されない遺伝子であり、その発現が何らかの容易に検出可能な特性、例えば、酵素活性によって現れるポリペプチドをコード化する遺伝子である。リポータ遺伝子の発現は、DNAがレシピエント細胞内に導入されてから適切な時間後に検定する。好適なリポータ遺伝子としては、ルシフェラーゼ、βガラクトシダーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ、分泌アルカリホスファターゼをコード化する遺伝子、又は緑色蛍光タンパク質遺伝子を挙げることができる（例えば、Uiet al., 2000 F E B S L e t t e r s 479: 79-82）。好適な発現系は周知であり、公知の技法を用いて調製してもよいし、又は市販のものを取得することもできる。一般に、最も高レベルのリポータ遺伝子発現を示す最小5'フランキング領域を有する構築物がプロモータとして同定される。こうしたプロモータ領域をリポータ遺伝子に結合させて、プロモータ駆動転写を調節する能力について物質を評価するために使用することができる。

30

【1071】

一部の実施形態では、ベクターは、宿主細胞において実質的に非病原性及び／又は実質的に非統合性であるか、或いは宿主細胞において実質的に非免疫原性である。

40

【1072】

一部の実施形態では、ベクターは、表現型、ウイルスレベル、遺伝子発現、他のウイルス、病態との競合などのうち1つ又は複数を少なくとも約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。

【1073】

アネロソーム活性を定量するためのモデル系

本明細書に記載されるアネロソームは、いくつかの動物モデル及びインビトロモデルでアッセイすることができる。例えば、A1AT欠損マウスモデル（A1ATα-1アンチト

50

リブシン欠乏症)を使用して、 α -1アンチトリプシン又はその機能性変異体をコード化するアネロソームの活性を定量することができる。一部の実施形態では、C1E-1NH欠損マウスモデル(遺伝性血管性浮腫のために)を用いて、C1阻害剤又はその機能性変異体をコード化するアネロソームの活性を定量することができる。一部の実施形態では、インビトロvWF切断アッセイ(血栓性血小板減少性紫斑病の代わりに)を用いて、ADAMTS13又はその機能性変異体をコード化するアネロソームの活性を定量することができる。

【1074】

III. 組成物

本明細書に記載のアネロソーム又はベクターはまた、例えば、本明細書に記載する通り、製剤用賦形剤と一緒に医薬組成物に含有させてもよい。一部の実施形態では、医薬組成物は、少なくとも105、106、107、108、109、1010、1011、1012、1013、1014、又は1015個のアネロソームを含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、105~1015、105~1010、又は1010~1015個のアネロソームを含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、約108(例えば、約105、106、107、108、109、又は1010)ゲノム当量/mLのアネロソームを含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、例えば、実施例18の方法に従って決定される場合、105~1010、106~1010、107~1010、108~1010、109~1010、105~106、105~107、105~108、105~109、105~1011、105~1012、105~1013、105~1014、105~1015、又は1010~1015ゲノム当量/mLのアネロソームを含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、細胞当たりアネロソーム中に含まれる少なくとも1、2、5、若しくは10、100、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真核細胞の集団に送達する上で十分なアネロソームを含む。一部の実施形態では、医薬組成物は、細胞当たりアネロソーム中に含まれる少なくとも約 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 、又は約 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ 、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ 、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真核細胞の集団に送達する上で十分なアネロソームを含む。

【1075】

一部の実施形態では、医薬組成物は、以下の特徴：医薬組成物が、医薬又は適正製造基準(GMP)を満たすこと；医薬組成物が、適正製造基準(GMP)に従って製造されること；医薬組成物が、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；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こと；医薬組成物が、低免疫原性を有する、又は例えば、本明細書に記載する通り、実質的に非免疫原性であることのうち1つ又は複数を有する。

【1076】

一部の実施形態では、医薬組成物は、閾値量を下回る1又は複数種の混入物を含む。医薬組成物において排除するか、又は最小限に抑えることが望ましい例示的な混入物として、限定はしないが、宿主細胞核酸(例えば、宿主細胞DNA及び/又は宿主細胞RNA)、動物由来成分(例えば、血清アルブミン若しくはトリプシン)、複製可能ウイルス、非感染性粒子、遊離ウイルスキャプシドタンパク質、外来性汚染生物、及び凝集体が挙げられる。複数の実施形態では、混入物は、宿主細胞DNAである。複数の実施形態では、組成物は、用量当たり約10ng未満の宿主細胞DNAを含む。複数の実施形態では、組成物中の宿主細胞DNAのレベルは、宿主細胞DNAの濾過及び/又は酵素分解により低下させる。複数の実施形態では、医薬組成物は、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)の混入物からなる。

【1077】

一態様では本明細書に記載する本発明は、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) 調節核酸をコード化する配列；及び

遺伝子エレメントと結合される、例えば、これを包膜する又は閉じ込めるタンパク質性外層を含む遺伝子エレメントを含むアネロソーム；並びに

b) 製剤用賦形剤

を含む医薬組成物を含む。

【1078】

小胞

一部の実施形態では、組成物は、さらに、担体構成体、例えば、マイクロ粒子、リポソーム、小胞、又はエキソソームを含む。一部の実施形態では、リポソームは、内部の水性コンパートメントを取り囲む単一若しくは多重膜脂質二重層と、比較的透過性の外側親油性リン脂質二重層から構成される球体小胞構造を含む。リポソームは、アニオン性、中性又はカチオン性であってよい。リポソームは、一般に、生体適合性、非毒性であり、親水性及び親油性薬物分子の両方を送達し、それらの積荷を血漿酵素による分解から保護し、生体膜を介してそれらの積荷を輸送することができる（例えば、論文については、Spuch and Navarro, Journal of Drug Delivery, vol. 2011, Article ID 469679, 12 pages, 2011. doi:10.1155/2011/469679を参照）。

【1079】

小胞は、数種の異なる脂質から製造することができるが；薬物担体としてのリポソームの作製にはリン脂質が最も一般的に使用されている。小胞として、限定はしないが、DOTMA、DOTAP、DOTIM、DDAB（単独、又はDOTMAを得るためにコレステロールと一緒に）、並びにコレステロール、DOTAPとコレステロール、DOTIMとコレステロール、及びDDABとコレステロールが挙げられる。多重膜小胞脂質の調製方法は、当技術分野では公知である（例えば、米国特許第6,693,086号明細書を参照、多重膜小胞脂質調製に関するその教示内容は、参照により本明細書に組み込む）。脂質膜を水溶液と混合すれば、小胞形成は自然に起こり得るが、ホモジナイザー、超音波発生装置、又は押出機を用いて、振盪の形態で力を加えることにより、小胞形成を促進することもできる（例えば、論文については、Spuch and Navarro, Journal of Drug Delivery, vol. 2011, Article ID 469679, 12 pages, 2011. doi:10.1155/2011/469679を参照）。押出脂質は、Templeton et al., Nature Biotech, 15:647-652, 1997（押出脂質調製に関するその教示内容は、参照により本明細書に組み込む）に記載されている通り、サイズが漸減するフィルターを介した押出により製造することができる。

【1080】

本明細書に記載する通り、その構造及び／又は特性を修飾するために、添加物を小胞に添加してもよい。例えば、構造の安定化を助け、内部積荷の漏れを防ぐために、コレステロール又はスフィンゴミエリンのいずれかを混合物に添加することができる。さらに、小胞は、水添卵ホスファチジルコリン若しくは卵ホスファチジルコリン、コレステロール、及びリン酸ジセチルから製造することもできる（例えば、論文については、Spuch and Navarro, Journal of Drug Delivery, vol. 2011, Article ID 469679, 12 pages, 2011. doi:10.1155/2011/469679を参照）。また、小胞を合成中又は合成後に表面修飾して、レシピエント細胞上の反応基に相補的な反応基を含有させてもよい。こうした反応基としては、限定はしないが、マレイミド基がある。一例として、例えば、限定はしないが、DSPE-MAL-PEG2000などのマレイミド共役リン脂質を含有するように、小胞を合成してもよい。

【1081】

小胞製剤は、主として、1，2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスファチジルコリン（DSPC）、スフィンゴミエリン、卵ホスファチジルコリン及びモノシアロガングリオシドなどの天然のリン脂質及び脂質から構成され得る。リン脂質のみから構成される製剤は、血漿中で安定性が低い。しかし、コレステロールを用いた脂質膜の操作で、包膜された積荷の急速な放出を抑制するか、又は1，2-ジオレイオイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン（DOPE）により安定性を高める（例えば、論文については、Spuch and Navarro, Journal of Drug Delivery, vol. 2011, Article ID 469679, 12 pages, 2011. doi:10.1155/2011/469679を参照）。

10

【1082】

複数の実施形態では、脂質を用いて、脂質マイクロ粒子を形成することができる。脂質として、限定はされないが、DLin-KC2-DMA4、C12-200及びコリピドジステロイルホスファチジルコリン、コレステロール、及びPEG-DMGが挙げられ、自発的小胞形成手順を用いて製剤化することができる（例えば、Novobrantseva, Molecular Therapy-Nucleic Acids (2012) 1, e4; doi:10.1038/mtna.2011.3を参照）。構成体モル比は、約50/10/38.5/1.5（DLin-KC2-DMA又はC12-200/ジステロイルホスファチジルコリン/コレステロール/PEG-DMG）であってよい。Tekmiraは、米国及び海外で約95のпатентファミリーのポートフォリオを有し、これらは、多様な態様の脂質マイクロ粒子及び脂質マイクロ粒子製剤に関し（例えば、米国特許第7,982,027号明細書；同第7,799,565号明細書；同第8,058,069号明細書；同第8,283,333号明細書；同第7,901,708号明細書；同第7,745,651号明細書；同第7,803,397号明細書；同第8,101,741号明細書；同第8,188,263号明細書；同第7,915,399号明細書；同第8,236,943号明細書及び同第7,838,658号明細書並びに欧州特許第1766035号明細書；同第1519714号明細書；同第1781593号明細書及び同第1664316号明細書を参照）、これらは全て、本発明に使用及び／又は適用することができる。

20

【1083】

一部の実施形態では、マイクロ粒子は、ランダムな様式で配置される1つ又は複数の固体ポリマーを含む。マイクロ粒子は生分解性であり得る。生分解性マイクロ粒子は、例えば、限定はされないが、溶媒蒸発、ホットメルトマイクロカプセル化、溶媒除去、及び噴霧乾燥をはじめとする当技術分野で公知の方法を用いて、合成することができる。マイクロカプセルを合成する例示的な方法は、Bershteyn et al., Soft Matter 4:1787-1787, 2008及び米国特許出願公開第2008/0014144 A1号明細書に記載されており、マイクロカプセル合成に関する具体的な教示内容は、参照により本明細書に組み込む。

30

【1084】

生分解性マイクロ粒子を形成するために使用することができる例示的な合成ポリマーとして、限定はしないが、以下のものが挙げられる：脂肪族ポリエステル、ポリ（乳酸）（PLA）、ポリ（グリコール酸）（PGA）、乳酸及びグリコール酸のコポリマー（PLGA）、ポリカプロラクトン（PCL）、ポリ無水物、ポリ（オルト）エステル、ポリウレタン、ポリ（酪酸）、ポリ（吉草酸）、及びポリ（ラクチド-コ-カプロラクトン）、並びにアルブミンなどの天然ポリマー、アルギン酸塩、並びにデキストラン及びセルロースなどの他の多糖類、コラーゲン、例えば、アルキル、アルキレンなどの化学基の置換、付加、ヒドロキシル化、酸化、並びに当業者により常用的に実施されるその他の修飾を含むそれらの化学誘導体）、アルブミン及びその他の親水性タンパク質、ゼイン及びその他のプロラミン並びに疎水性タンパク質、それらのコポリマー及び混合物。一般に、これらの材料は、酵素加水分解又は水への曝露、表面又はバルク浸食のいずれかにより分解する。

40

50

【1085】

マイクロ粒子の直径は、0.1～1000マイクロメートル（ μm ）の範囲である。一部の実施形態では、それらの直径は、1～750 μm 、又は50～500 μm 、又は100～250 μm の範囲のサイズである。一部の実施形態では、それらの直径は、50～1000 μm 、50～750 μm 、50～500 μm 、又は50～250 μm の範囲のサイズである。一部の実施形態では、それらの直径は、.05～1000 μm 、10～1000 μm 、100～1000 μm 、又は500～1000 μm の範囲のサイズである。一部の実施形態では、それらの直径は、約0.5 μm 、約10 μm 、約50 μm 、約100 μm 、約200 μm 、約300 μm 、約350 μm 、約400 μm 、約450 μm 、約500 μm 、約550 μm 、約600 μm 、約650 μm 、約700 μm 、約750 μm 、約800 μm 、約850 μm 、約900 μm 、約950 μm 、又は約1000 μm である。マイクロ粒子に関して使用される場合、「約」という用語は、記載される絶対値の+/-5%を意味する。

10

【1086】

一部の実施形態では、リガンドは、粒子の表面に存在する、及び結合させようとするリガンド上に存在する官能化学基（カルボン酸、アルデヒド、アミン、スルフィド、ヒドロキシル）を介してマイクロ粒子の表面に共役させる。例えば、マイクロ粒子のエマルジョン調製工程中に、官能化学基と一緒に安定剤を組み込むことにより、官能基をマイクロ粒子内に導入することが可能である。

【1087】

マイクロ粒子に官能基を導入する別の例は、粒子製造後の工程中に、ホモ又はヘテロ官能性架橋剤を用いて、粒子とリガンドを直接架橋することによるものである。この手順では、好適なケミストリー及び1クラスの架橋剤（以下にさらに詳細に述べる通り、CDI、EDAC、グルタルアルデヒドなど）又は製造後の粒子の化学修飾によって粒子表面にリガンドを結合させる任意の他の架橋剤を使用してよい。これはまた、脂肪酸、脂質又は官能性安定化剤などの両親媒性分子を粒子表面に受動的に吸着及び付着させ、これにより、リガンドに係留させるための官能性末端基を導入し得るプロセスも含む。

20

【1088】

一部の実施形態では、マイクロ粒子は、特定の細胞又は組織タイプ（例えば、心筋細胞）をターゲティングさせるために、その外側表面に1つ又は複数のターゲティング基を含むように合成してもよい。これらのターゲティング基として、限定はしないが、受容体、リガンド、抗体などが挙げられる。これらのターゲティング基は、細胞表面上のそのパートナーに結合する。一部の実施形態では、細胞表面を含む脂質二重層内にマイクロ粒子を組み込み、ミトコンドリアを細胞に送達する。

30

【1089】

マイクロ粒子はまた、その最も外側表面に脂質二重層を含んでもよい。この二重層は、同じ又は異なるタイプの1つ又は複数の脂質から構成されてもよい。例として、限定はしないが、ホスホコリン及びホスホイノシトールなどのリン脂質が挙げられる。具体的な例として、限定はしないが、DMPC、DOPC、DSPC、並びにリポソーム用に本明細書に記載するものなど、様々な他の脂質が挙げられる。

40

【1090】

一部の実施形態では、担体は、例えば、本明細書に記載の通り、ナノ粒子を含む。

【1091】

一部の実施形態では、本明細書に記載する小胞又はマイクロ粒子を診断薬で官能化する。診断薬の例として、限定はされないが、ポジトロン断層法（PET）、コンピュータ断層法（CAT）、単光子放射断層撮影、X線、蛍光分析、及び磁気共鳴画像法（MRI）に使用される市販のイメージング剤；並びに造影剤が挙げられる。MRIでの造影剤として使用するのに好適な材料の例としては、ガドリニウムキレート、並びに鉄、マグネシウム、マンガン、銅及びクロミウムが挙げられる。

【1092】

50

担体

本明細書に記載の組成物（例えば、医薬組成物）は、担体を含む、担体と一緒に製剤化される、及び／又は担体を用いて送達され得る。一態様では、本発明は、本明細書に記載の組成物（例えば、本明細書に記載されるアネロソーム、アネロウイルス（*Anellovirus*）、アネロベクター、若しくは遺伝子エレメント）を含む（例えば、包膜する）担体（例えば、小胞、リポソーム、脂質ナノ粒子、エキソソーム、赤血球、エキソソーム（例えば、哺乳動物若しくは植物エキソソーム）、フソソーム）を含む組成物、例えば、医薬組成物を包含する。

【1093】

一部の実施形態では、本明細書に記載の組成物及び系は、リポソーム又は他の類似の小胞内に製剤化することができる。一般に、リポソームは、内部の水性コンパートメントを取り囲む単一若しくは多重膜脂質二重層と、比較的透過性の外側親油性リン脂質二重層から構成される球体小胞構造を含む。リポソームは、アニオン性、中性又はカチオン性であってよい。リポソームは、一般に、以下の特徴のうち1つ又は複数（例えば、全て）を有する：生体適合性、非毒性、親水性及び親油性薬物分子の両方を送達することができる、それらの積荷を血漿酵素による分解から保護することができる、生体膜及び血液脳関門（BBB）を介してそれらの積荷を輸送することができる（例えば、Spuch and Navarro, *Journal of Drug Delivery*, vol. 2011, Article ID 469679, 12 pages, 2011. doi:10.1155/2011/469679; 及び Zylberberg & Matosevic. 2016. *Drug Delivery*, 23:9, 3319–3329, doi:10.1080/10717544.2016.1177136を参照）。

【1094】

小胞は、数種の様々な脂質から製造することができるが；薬物担体としてのリポソームの作製にはリン脂質が最も一般的に使用されている。多重膜小胞脂質の調製方法は、公知である（例えば、米国特許第6,693,086号明細書を参照、多重膜小胞脂質調製に関するその教示内容は、参照により本明細書に組み込む）。脂質膜を水溶液と混合すれば、小胞形成は自然に起こり得るが、ホモジナイザー、超音波発生装置、又は押出機を用いて、振盪の形態で力を加えることにより、小胞形成を促進することもできる（例えば、論文については、Spuch and Navarro, *Journal of Drug Delivery*, vol. 2011, Article ID 469679, 12 pages, 2011. doi:10.1155/2011/469679を参照）。押出脂質は、Templeton et al., *Nature Biotech*, 15:647–652, 1997に記載されている通り、サイズが漸減するフィルターを介した押出により製造することができる。

【1095】

脂質ナノ粒子（LNP）は、本明細書に記載される医薬組成物の生体適合性及び生分解性送達系を提供する担体のもう1つの例である。例えば、Gordillo-Galeano et al. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. Volume 133, December 2018, Pages 285–308を参照されたい。ナノ構造脂質担体（NL C）は、改変された固体脂質ナノ粒子（SLN）であり、これは、SLNの特徴を保持し、薬剤安定性を改善すると共に、薬剤漏出を防ぐ。ポリマーナノ粒子（PNP）は、薬剤送達の重要な成分である。これらのナノ粒子は、特定の標的への薬剤送達を効果的に指令し、薬剤安定性及び薬剤放出制御を改善する。また、リポソームとポリマーを組み合わせた新しいタイプの担体である、脂質-ポリマーナノ粒子（PLN）を使用してもよい。これらのナノ粒子は、PNP及びリポソームの相補的な利点を備えている。PLNは、コア-シェル構造から構成され；ポリマーコアは、安定した構造を提供し、リン脂質シェルは、優れた生体適合性を付与する。このように、2つの成分が、薬剤包膜効率を高め、表面修飾を促進して、水溶性薬剤の漏出を防ぐ。論文については、例えば、Li et Al

10

20

30

40

50

．2017, *Nanomaterials* 7, 122; doi:10.3390/nano7060122を参照されたい。

【1096】

また、本明細書に記載される組成物及び系の薬剤送達ビヒクルとして、エキソソームを使用することもできる。論文については、例えば、Ha et al. July 2016. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. Volume 6, Issue 4, Pages 287–296; doi.org/10.1016/j.apsb.2016.02.001を参照されたい。

【1097】

さらに、本明細書に記載される組成物の担体として、エクスビポ分化赤血球を使用することもできる。例えば、以下：国際公開第2015073587号パンフレット；同第2017123646号パンフレット；同第2017123644号パンフレット；同第2018102740号パンフレット；同第2016183482号パンフレット；同第2015153102号パンフレット；同第2018151829号パンフレット；同第2018009838号パンフレット；Shi et al. 2014. *Proc Natl Acad Sci USA*. 111 (28): 10131–10136；米国特許第9, 644, 180号明細書；Huang et al. 2017. *Nature Communications* 8: 423；Shi et al. 2014. *Proc Natl Acad Sci USA*. 111 (28): 10131–10136を参照されたい。

【1098】

また、本明細書に記載の組成物を送達するための担体として、例えば、国際公開第2018208728号パンフレットに記載されているフソソーム組成物を使用してもよい。

【1099】

膜貫通ポリペプチド

一部の実施形態では、組成物は、細胞内に、又は膜、例えば、細胞若しくは核膜を通して、構成体を運搬するための膜貫通ポリペプチド（MPP）をさらに含む。膜を通した物質の輸送を促進することができる膜貫通ポリペプチドとして、限定はされないが、細胞貫通ペプチド（CPP）（例えば、米国特許第8, 6, 03, 966号明細書を参照）、植物細胞内送達のための融合ペプチド（例えば、Ng et al., *PLoS One*, 2016, 11: e0154081を参照）、タンパク質形質導入ドメイン、Trojan ペプチド、及び膜転位シグナル（MTS）（例えば、Tung et al., *Advanced Drug Delivery Reviews* 55: 281–294 (2003)を参照）が挙げられる。いくつかのMPPは、アルギニンなどのアミノ酸が豊富で、陽荷電側鎖を有する。

【1100】

膜貫通ポリペプチドは、構成体の膜貫通を誘導する能力を有し、全身投与時に、インビボで複数の組織の細胞内での高分子転位を可能にする。また、膜貫通ポリペプチドは、ペプチドと呼ばれることもあり、これは、適切な条件下で細胞と接触させたとき、外部環境から、細胞質、ミトコンドリアなどのオルガネル、若しくは細胞の核をはじめとする細胞内環境内に、受動拡散で到達する場合よりも有意に高い量で通過する。

【1101】

膜を通して輸送される構成体は、膜貫通ポリペプチドと可逆的又は不可逆的に連結し得る。リンカーは、化学結合、例えば、1つ若しくは複数の共有結合又は非共有結合であってよい。一部の実施形態では、リンカーは、ペプチドリナーである。こうしたリンカーは、2～30アミノ酸であるか、又はそれ以上長くてもよい。リンカーとしては、柔軟、硬質又は切断可能リンカーが挙げられる。

【1102】

組合せ

一態様では、本明細書に記載するアネロソーム又はアネロソームを含む組成物は、さらに1つ又は複数の異種部分を含んでもよい。一態様では、本明細書に記載のアネロソーム又

10

20

30

40

50

はアネロソームを含む組成物はまた、融合物中に1つ又は複数の異種部分を含み得る。一部の実施形態では、異種部分は、遺伝子エレメントと連結されていてもよい。一部の実施形態では、異種部分は、アネロソームの一部としてタンパク性外層内に閉じ込めてもよい。一部の実施形態では、アネロソームと一緒に異種部分を投与してもよい。

【1103】

一態様では、本発明は、アネロソームのいずれか1つと本明細書に記載の異種部分を含む細胞又は組織を含む。

【1104】

別の態様では、本発明は、アネロソームと本明細書に記載の異種部分を含む医薬組成物を含む。

【1105】

一部の実施形態では、異種部分は、ウイルス（例えば、エフェクター（例えば、薬物、小分子）、ターゲティング剤（例えば、DNAターゲティング剤、抗体、受容体リガンド）、タグ（例えば、蛍光団、Killer Redなどの感光剤）、又は本明細書に記載の編集若しくはターゲティング部分であってもよい。一部の実施形態では、本発明に記載の膜転位ポリペプチドは、1つ又は複数の異種部分に連結される。一実施形態では、異種部分は、小分子（例えば、ペプチド模倣物又は分子量2000ダルトン未満の有機小分子）、ペプチド若しくはポリペプチド（例えば、抗体若しくはその抗原結合断片）、ナノ粒子、アプタマー、又は薬物（pharmaco agent）である。

【1106】

ウイルス

一部の実施形態では、組成物は、さらに、異種部分としてウイルス、例えば、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）を含み得る。一部の実施形態では、組成物は、さらに、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）、リボ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）を含み得る。一部の実施形態では、組成物は、さらに、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）を含み得る。一部の実施形態では、アネロソームは、異種部分としてのウイルスと一緒に投与される。

【1107】

一部の実施形態では、異種部分は、非病原性、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含み得る。一部の実施形態では、非病原性ウイルスは、1若しくは複数種のアネロウイルス、例えば、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）

10

20

30

40

50

(TTM)、及びガンマトルクウイルス属 (Gammatorquevirus) (TTMD) である。一部の実施形態では、アネロウイルス (Anellovirus) は、トルク・テノウイルス (Torque Teno Virus) (TT)、SENウイルス、センチネルウイルス (Sentinel virus)、TTV様ミニウイルス、TTウイルス、TTウイルス遺伝子型6、TTウイルス群、TTV様ウイルスDXL1、TTV様ウイルスDXL2、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) を含み得る。一部の実施形態では、非病原性ウイルスは、本明細書において、例えば、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1~B5、1、3、5、7、9、11、13、15、17、又は41のいずれかに記載のヌクレオチド配列のいずれか1つに対して少なくとも少なくとも約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1つ若しくは複数の配列を含む。

10

【1108】

一部の実施形態では、異種部分は、被験者に欠失するものとして同定される1又は複数種のウイルスを含んでもよい。例えば、ディビロシス (dyviro sis) を有するとして識別された被験者に、アネロソームを含む組成物と、被験者において不均衡であるか、又は基準値、例えば健常な被験者とは異なる比率を有する1又は複数種のウイルス組成物若しくはウイルスとを投与することができる。

【1109】

一部の実施形態では、異種部分は、1又は複数種の非アネロウイルス、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)、例えば、レンチウイルス (lenti virus) などのRNAウイルス、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) を含み得る。一部の実施形態では、アネロソーム又はウイルスは、欠損しているか、又は感染性粒子を産生するために補助を必要とする。こうした補助は、例えば、LTR内で調節配列の制御下、複製欠損アネロソーム若しくはウイルスの構造遺伝子の1つ又は複数 (例えば、全て) をコード化する核酸、例えば、ゲノムに組み込まれたプラスミド若しくはDNA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ソーム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細胞があり、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。

20

30

【1110】

ターゲティング部分

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ソームは、さらに、ターゲティング部分、例えば、標的細胞上に存在する目的の分子に特異的に結合するターゲティング部分を含み得る。ターゲティング部分は、目的の分子又は細胞の特定の機能を調節し、特定の分子 (例えば、酵素、タンパク質若しくは核酸)、例えば、経路内の目的の分子の下流の特定の分子を調節する、又は標的に特異的に結合して、アネロソーム若しくは遺伝子エレメントを局在化することができる。例えば、ターゲティング部分は、目的の特定の分子と相互作用して、その機能を増大、低減、又はそうでなければ調節する治療薬を含み得る。

40

【1111】

タグ付け又はモニタリング部分

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ソームは、さらに、本明細書に記載の組成物又はアネロソームを標識若しくはモニターするためのタグを含み得る。タグ付け又はモニタリング部分は、化学物質又は酵素切断、例えば、タンパク質分解若しくは

50

インテインスプライシングにより除去可能であってもよい。アフィニティタグは、アフィニティ技術を用いてタグ付けされたポリペプチドを精製するのに有用となり得る。いくつかの例として、キチン結合タンパク質（CBP）、マルトース結合タンパク質（MBP）、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ（GST）、及びポリ（His）タグが挙げられる。可溶化タグは、大腸菌（E. coli）などのシャペロン欠失種に発現される組換えタンパク質が、タンパク質の適正な折り畳みを補助し、それらが沈殿するのを防ぐのを助ける上で有用となり得る。いくつかの例として、チオレドキシン（TRX）及びポリ（NANP）が挙げられる。タグ付け又はモニタリング部分は、感光性タグ、例えば、蛍光を含んでもよい。蛍光タグは、視覚化に有用である。GFP及びその変異体が、蛍光タグとして一般に用いられるいくつかの例である。タンパク質タグは、特定の酵素修飾（ビオチンリガーゼによるビオチン化など）又は化学修飾（蛍光イメージングのためのFLASH-EDT2との反応など）を起こすことが可能である。タグ付け又はモニタリング部分は、タンパク質を複数の他の構成体とつなげるために、結合させることが多い。タグ付け又はモニタリング部分は、また、特定のタンパク質分解又は酵素切断（例えば、TEVプロテアーゼ、トロンピン、Xa因子又はエンテロペプチダーゼによる）によって除去することもできる。

10

【1112】

ナノ粒子

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ソームは、さらに、ナノ粒子を含み得る。ナノ粒子としては、約1～約1000ナノメートル、約1～約500ナノメートル、約1～約100nm、約50～約300nm、約75～約200nm、及び約100～約200nm、並びにこれらの間の任意の範囲のサイズを有する無機材料が挙げられる。ナノ粒子は、一般に、ナノ単位の寸法の複合構造を有する。一部の実施形態では、ナノ粒子は、典型的に球体であるが、ナノ粒子組成物に応じて様々な形態が可能である。ナノ粒子に対して外部の環境と接触するナノ粒子の部分は、一般に、ナノ粒子の表面として識別される。本明細書に記載するナノ粒子の場合、サイズ制限を2つの寸法に限定することができ、そのため、ナノ粒子は、約1～約1000nmの直径を有する複合構造を含み、ここで、具体的な直径は、ナノ粒子組成物及び実験設計に従うナノ粒子の意図される使用に応じて変わる。例えば、治療用途に使用されるナノ粒子は、典型的に、約200nm以下のサイズを有する。

20

30

【1113】

表面電荷及び立体安定化といったナノ粒子の追加的な望ましい特性も、意図される具体的な用途を考慮して変わり得る。臨床用途に望ましいと考えられる例示的な特性は、Davis et al, Nature 2008 vol. 7, pages 771-782; Duncan, Nature 2006 vol. 6, pages 688-701; 及びAllen, Nature 2002 vol. 2 pages 750-763に記載されており、これらの各々は、全体を参照により本明細書に組み込む。追加特性は、当業者が、本開示を読んで確認することができる。ナノ粒子の寸法及び特性を検出するための例示的な技術として、限定はされないが、動的光散乱法（DLS）並びに透過型電子顕微鏡検査（TEM）及び原子間力顕微鏡検査（AFM）などの種々の顕微鏡検査が挙げられる。粒子形態を検出するための例示的な技術として、限定はされないが、TEM及びAFMが挙げられる。ナノ粒子の表面電荷を検出するための例示的な技術として、限定はされないが、ゼータ電位法がある。他の化学的特性を検出するための別の技術は、¹H、¹³C、及び¹⁵N NMRによるもの、UV/Vis及び赤外/ラマン分光法及び蛍光分光法（ナノ粒子を蛍光標識と組み合わせて使用する場合）、並びに当業者により確認可能なそれ以外の技術を含む。

40

【1114】

小分子

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ソームは、さらに、小分子を含み得る。小分子として、限定はされないが、概して、モル当たり約5,000グラム未満

50

の分子量を有する、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、アミノ酸類似体、合成ポリヌクレオチド、ポリヌクレオチド類似体、ヌクレオチド、ヌクレオチド類似体、有機及び無機化合物（ヘテロ有機及び有機金属化合物を含む）、例えば、モル当たり約2,000グラム未満の分子量を有する有機又は無機化合物、例えば、モル当たり約1,000グラム未満の分子量を有する有機又は無機化合物、例えば、モル当たり約500グラム未満の分子量を有する有機又は無機化合物、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が挙げられる。小分子は、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、合成分子、及びアゴニスト又はアンタゴニストを含み得る。

【1115】

好適な分子の例は、以下：“The Pharmacological Basis of Therapeutics,” Goodman and Gilman, McGraw-Hill, New York, N. Y., (1996), Ninth edition, under the sections: Drugs Acting at Synaptic and Neuroeffector Junctional Sites; Drugs Acting on the Central Nervous System; Autacoids: Drug Therapy of Inflammation; Water, Salts and Ions; Drugs Affecting Renal Function and Electrolyte Metabolism; Cardiovascular Drugs; Drugs Affecting Gastrointestinal Function; Drugs Affecting Uterine Motility; Chemotherapy of Parasitic Infections; Chemotherapy of Microbial Diseases; Chemotherapy of Neoplastic Diseases; Drugs Used for Immunosuppression; Drugs Acting on Blood-Forming organs; Hormones and Hormone Antagonists; Vitamins, Dermatology; 及び Toxicology（全て、参照により本明細書に組み込む）に記載されるものが挙げられる。小分子のいくつかの例として、限定はされないが、タクロリムスなどのプリオン薬、ユビキチンリガーゼ又はヘクリンなどのHECTリガーゼ阻害剤、酪酸ナトリウムなどのヒストン修飾薬、5-アザ-シチジンなどの酵素阻害剤、ドキソルビシンなどのアントラサイクリン、ペニシリンなどのβラクタム、抗菌剤、化学療法薬、抗ウイルス剤、VP64などの他の生物からのモジュレータ、並びに薬物動態欠損を有する化学療法薬など、バイオアベイラビリティが不十分な薬物が挙げられる。

【1116】

一部の実施形態では、小分子は、エピジェネティック修飾剤、例えば、de Groot et al. Nuc. Acids Res. (2012): 1-18に記載されるものなどである。例示的な小分子エピジェネティック修飾剤は、Lu et al. J. Biomolecular Screening 17.5 (2012): 555-71、例えば、表1又は2に記載されており、これは、参照により本明細書に組み込む。一部の実施形態では、エピジェネティック修飾剤は、ポリノスタット又はロミデプシンを含む。一部の実施形態では、エピジェネティック修飾剤は、クラスI、II、III、及び／又はIVヒストンデアセチラーゼ（HDAC）の阻害剤を含む。一部の実施形態では、エピジェネティック修飾剤は、SirtIのアクチベータを含む。一部の実施形態では、エピジェネティック修飾剤は、ガルシノール、Lys-CoA、C646、(+)-JQI、I-BET、BICI、MS120、DZNep、UNC0321、EPZ004777、AZ505、AMI-I、ピラゾールアミド7b、ベンゾ[d]イミダゾール17b、アシル化ダブソン誘導体（例えば、PRMTI）、メチルスタット、4,4'-ジカルボキシ-2,2'-ビピリジン、SID85736331、ヒドロキサム酸塩類似体8、トラニルシプロミン（tanylcypromine）、ビスグアニジン及びビグアニドポリ

10

20

30

40

50

アミン類似体、UNC669、ビダザ、デシタピン、フェニル酪酸ナトリウム（SDB）、リポ酸（LA）、ケルセチン、バルプロ酸、ヒドラジン、バクトリム、緑茶エキス（例えば、没食子酸エピガロカテキン（EGCG））、クルクミン、スルホルファン及び／又はアリシン／ジアリルジスルフィドを含む。一部の実施形態では、エピジェネティック修飾剤は、DNAメチル化を阻害し、例えば、DNAメチルトランスフェラーゼの阻害剤（例えば、5-アザシチジン及び／又はデシタピン）である。一部の実施形態では、エピジェネティック修飾剤は、ヒストン修飾、例えば、ヒストンアセチル化、ヒストンメチル化、ヒストンスモイル化、及び／又はヒストンリン酸化を修飾する。一部の実施形態では、エピジェネティック修飾剤は、ヒストンデアセチラーゼの阻害剤である（例えば、ボリノスタット及び／又はトリコスタチンAである）。

10

【1117】

一部の実施形態では、小分子は、薬学的に有効な薬剤である。一実施形態では、小分子は、代謝活性又は成分の阻害剤である。有用なクラスの薬学的に有効な薬剤として、限定はされないが、抗生物質、抗炎症薬、血管新生又は血管作用剤、成長因子及び化学療法（抗腫瘍）薬（例えば、腫瘍抑制剤）が挙げられる。本明細書に記載のカテゴリー及び例から、又は（Orme-Johnson 2007, Methods Cell Biol. 2007; 80: 813-26）からの分子の1つ又は組合せを使用することができる。一実施形態では、本発明は、抗生物質、抗炎症薬、血管新生又は血管作用剤、成長因子又は化学療法薬を含む組成物を含む。

20

【1118】

ペプチド又はタンパク質

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ソームは、さらに、ペプチド又はタンパク質を含み得る。ペプチド部分として、限定はされないが、ペプチドリガンド又は抗体フラグメント（例えば、細胞外受容体などの受容体に結合する抗体フラグメント）、神経ペプチド、ホルモンペプチド、ペプチド薬、有毒ペプチド、ウイルス若しくは微生物ペプチド、合成ペプチド、及びアゴニスト若しくはアンタゴニストペプチドを挙げることができる。

【1119】

ペプチド部分は、直鎖状又は分岐状であってよい。ペプチドは、約5～約200アミノ酸、約15～約150アミノ酸、約20～約125アミノ酸、約25～約100アミノ酸、又はこれらの間の任意の範囲の長さを有する。

30

【1120】

ペプチドのいくつかの例として、限定はされないが、蛍光タグ若しくはマーカ、抗原、単一ドメイン抗体などの抗体フラグメント、リガンド及び受容体、例えば、グルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）、GLP-2受容体2、コレシストキニンB（CCKB）及びソマトスタチン受容体など、ペプチド治療薬、例えば、Gタンパク質結合受容体（GPCR）若しくはイオンチャネルなどの特定の細胞表面受容体に結合するものなど、天然の生物活性ペプチドからの合成若しくはアナログペプチド、抗微生物ペプチド、孔形成ペプチド、腫瘍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、例えば、アポトーシス誘導ペプチドシグナル又は光増感剤ペプチドが挙げられる。

40

【1121】

本明細書に記載の本発明に有用なペプチドはまた、小分子結合ペプチド、例えば、抗原結合抗体又は抗体様フラグメント、例えば、一本鎖抗体、ナノボディなども含む（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）。こうした低分子抗原結合ペプチドは、サイトゾル抗原、核抗原、オルガネラ内抗原に結合することができる。

【1122】

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ソームは、特定の位置、組織、

50

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。

【1123】

オリゴヌクレオチドアプタマー

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ソームは、さらに、オリゴヌクレオチドアプタマーを含み得る。アプタマー部分は、オリゴヌクレオチド又はペプチドアプタマーである。オリゴヌクレオチドアプタマーは、一本鎖DNA又はRNA (ssDNA又はssRNA) 分子であり、これらは、タンパク質及びペプチドをはじめとする予め選択した標的に、高い親和性及び特異性で結合することができる。

【1124】

オリゴヌクレオチドアプタマーは、核酸種であり、これらは、小分子、タンパク質、核酸などの種々の分子標的に、さらには細胞、組織及び生物にも結合するように、反復ラウンドのインビトロ選択又は同様に、SELEX (指数関数的濃縮によるリガンドの系統的進化) により操作することができる。アプタマーは、明確な分子認識を提供し、化学合成により生成することができる。加えて、アプタマーは、望ましい保存特性を有し、治療用途では免疫原性をほとんど、又は全く誘発しないであろう。

【1125】

DNA 及び RNA アプタマーはいずれも、様々な標的に対して頑健な結合親和性を示すことができる。例えば、DNA 及び RNA アプタマーは、トリゾチーム、トロンビン、ヒト免疫不全ウイルストランス作用応答性エレメント (HIV TAR) (en.wikipedia.org/wiki/Aptamer - cite_note-10を参照)、ヘミン、インターフェロン γ 、血管内皮増殖因子 (VEGF)、前立腺特異的抗原 (PSA)、ドーパミン、及び非古典的オンコジーン、熱ショック因子1 (HSF1) について選択されている。

【1126】

ペプチドアプタマー

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ソームは、さらに、ペプチドアプタマーを含み得る。ペプチドアプタマーは、低分子量、12~14 kDaのペプチドを含め、1つ (又は複数の) 短い可変ペプチドドメインを有する。ペプチドアプタマーは、細胞内のタンパク質-タンパク質相互作用に特異的に結合し、それを阻害するように、設計することができる。

【1127】

ペプチドアプタマーは、特定の標的分子に結合するように、選択又は操作された人工タンパク質である。これらのタンパク質は、可変配列の1つ又は複数のペプチドループを含む。これらは、典型的に、コンビナトリアルライブラリから単離された後、往々にして、指定突然変異又は複数ラウンドの可変領域突然変異誘発及び選択によって改善される。インビボで、ペプチドアプタマーは、細胞タンパク質標的に結合して、生物学的作用を及ぼすことができ、こうしたものとして、その標的分子と他のタンパク質との正常なタンパク質相互作用の妨害がある。具体的には、転写因子結合ドメインに結合した可変ペプチドアプタマーループを、転写因子活性化ドメインに結合した標的タンパク質に対してスクリーニングする。この選択戦略によるペプチドアプタマーとその標的とのインビボ結合は、下流の酵母マーカー遺伝子の発現として検出される。こうした実験によって、アプタマーにより結合される特定のタンパク質、並びにアプタマーが破壊するタンパク質相互作用を見出して、表現型を生じさせる。加えて、適切な官能部分で誘導体化したペプチドアプタマーは、それらの標的タンパク質の特定の翻訳後修飾を引き起こすか、又は標的の細胞内局在化を変化させることができる。

【1128】

ペプチドアプタマーは、インビトロで標的を認識することもできる。これらは、バイオセンサー中の抗体に代わって有用であることが見出され、不活性及び活性タンパク質形態の両方を含有する集団からタンパク質の活性イソ型を検出するために使用されている。タッドポールとして知られる誘導体は、ペプチドアプタマーの「頭部」が、ユニーク配列二本

10

20

30

40

50

鎖DNA「テール」に共有結合されており、それらのDNAテールのPCR（例えば、定量リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応を用いて）によって混合物中の乏しい標的分子の定量を可能にする。

【1129】

ペプチドアプタマー選択は、様々なシステムを用いて行うことができるが、現在最も使用されているのは、酵母2-ハイブリッドシステムである。ペプチドアプタマーはまた、ファージディスプレイ並びにmRNAディスプレイ、リボソームディスプレイ、細菌ディスプレイ及び酵母ディスプレイなどの他の表面ディスプレイ技術により構築されたコンビナトリアルペプチドライブラリーから選択することもできる。これらの実験手順はまた、バイオパニングとしても知られる。バイオパニングから得られるペプチドの中でも、ミモトープは、1種のペプチドアプタマーとみなすことができる。コンビナトリアルペプチドライブラリーからパニングされた全てのペプチドは、Mimodbという名称の特定のデータベースに保存されている。

10

【1130】

IV. 宿主

本発明はさらに、本明細書に記載のアネロソームを含む宿主又は宿主細胞に関する。一部の実施形態では、宿主又は宿主細胞は、植物、昆虫、細菌、真菌、脊椎動物、哺乳動物（例えば、ヒト）、又はその他の生物若しくは細胞である。いくつかの実施形態では、本明細書で確認される通り、提供されるアネロソームは、多種多様な宿主細胞に感染する。標的宿主細胞は、中胚葉、内胚葉、又は外胚葉由来の細胞を含む。標的宿主細胞として、例えば、上皮細胞、筋肉細胞、白血球（例えば、リンパ球）、腎組織細胞、肺組織細胞が挙げられる。

20

【1131】

一部の実施形態では、アネロソームは、宿主において実質的に非免疫原性である。アネロソーム又は遺伝子エレメントは、宿主の免疫系による不要の実質的な応答を生成することができない。いくつかの免疫応答として、限定はされないが、体液性免疫応答（例えば、抗原特異的抗体の産生）及び細胞性免疫応答（例えば、リンパ球増殖）が挙げられる。

【1132】

一部の実施形態では、宿主又は宿主細胞をアネロソームと接触（例えば、アネロソームに感染）させる。一部の実施形態では、宿主は、哺乳動物、例えば、ヒトである。宿主におけるアネロソームの量は、投与後の任意の時点で測定することができる。いくつかの実施形態では、培養物中のアネロソーム増殖の経過時間を測定する。

30

【1133】

一部の実施形態では、アネロソーム、例えば、本明細書に記載のアネロソームは、遺伝性である。一部の実施形態では、アネロソームは、体液及び／又は細胞中で母から子に線形伝達される。一部の実施形態では、元の宿主細胞由来の娘細胞は、アネロソームを含む。一部の実施形態において、母は子に、少なくとも25%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、若しくは99%の効率で、又は宿主細胞から娘細胞に、少なくとも25%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、若しくは99%の伝達効率で、アネロソームを伝達する。一部の実施形態では、宿主細胞中のアネロソームは、減数分裂中に、25%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、又は99%の伝達効率を有する。一部の実施形態では、宿主細胞中のアネロソームは、有糸分裂中に、25%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、又は99%の伝達効率を有する。一部の実施形態では、細胞中のアネロソームは、約10%～20%、20%～30%、30%～40%、40%～50%、50%～60%、60%～70%、70%～75%、75%～80%、80%～85%、85%～90%、90%～95%、95%～99%、又はこれらの間の任意のパーセンテージの伝達効率を有する。

40

【1134】

一部の実施形態では、アネロソーム、例えば、アネロソームは、宿主細胞内で複製する。

50

一実施形態では、アネロソームは、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞において複製することができる。他の実施形態では、アネロソームは複製欠損か、複製不全である。

【1135】

一部の実施形態では、アネロソームは、宿主細胞において複製するが、アネロソームは、宿主のゲノム中に、例えば、宿主の染色体と統合しない。一部の実施形態では、アネロソームは、例えば、宿主の染色体と、無視できる程度の組換え頻度を有する。一部の実施形態では、アネロソームは、例えば、宿主の染色体と、例えば、約 1.0 cM/Mb 、 0.9 cM/Mb 、 0.8 cM/Mb 、 0.7 cM/Mb 、 0.6 cM/Mb 、 0.5 cM/Mb 、 0.4 cM/Mb 、 0.3 cM/Mb 、 0.2 cM/Mb 、 0.1 cM/Mb 未満、又はそれ以下の組換え頻度を有する。

10

【1136】

V. 使用方法

本明細書に記載のアネロソーム及びアネロソームを含む組成物は、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。アネロソームは、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。

【1137】

アネロソームは、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。

20

【1138】

一部の実施形態では、アネロソーム又は例えば、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、アネロソーム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。

【1139】

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ソーム又はその組成物は、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、アネロソーム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ソーム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す得る。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。

30

【1140】

一部の実施形態では、アネロソーム、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、アネロソーム又はその組成物は、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、アネロソーム又はその組成物が、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。

40

【1141】

本明細書に記載のアネロソーム、又はアネロソーム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

50

エロン症（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、アネロソームは、アネロソーム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、アネロソームは、アネロソーム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、アネロソームは、アネロソームを接触させた細胞、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、アネロソームは、エフェクター、例えば、miRNA、例えば、miR-625を含み、これは、アネロソームを接触させた細胞、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、アネロソームは、アネロソームを接触させた細胞、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、アネロソームは、エフェクター、例えば、miRNA、例えば、miR-625を含み、これは、アネロソームを接触させた細胞、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。

10

20

【1142】

VI. 生産方法

遺伝子エレメントの生産

アネロソームの遺伝子エレメントを製造する方法は、例えば、Khudyakov & Fields, *Artificial DNA: Methods and Applications*, CRC Press (2002); in Zhao, *Synthetic Biology: Tools and Applications*, (First Edition), Academic Press (2013); 及び Egli & Herdewijn, *Chemistry and Biology of Artificial Nucleic Acids*, (First Edition), Wiley-VCH (2012) に記載されている。

30

【1143】

一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、コンピュータ支援設計ツールを用いて設計することができる。アネロソームは、より小さい重複断片（例えば、約100bp～約10kbセグメント又は個別のORFの範囲内）に分割してもよく、これらは、合成するのがさらに容易である。これらのDNAセグメントは、1セットの重複一本鎖オリゴヌクレオチドから合成される。次に、得られた重複シントンをより大きなDNA断片、例えば、アネロソームにアセンブルする。ORFのセグメントを、アネロソーム、例えば、連結を可能にするために5'及び3'末端のインビトロ組換え又はユニークな制限部位にアセンブルしてもよい。

40

【1144】

或いは、アネロソームをオリゴ長断片に構文解析して、配列間隔の複雑さを考慮に入れる合成のための最適設計条件を生み出す設計アルゴリズムを用いて、遺伝子エレメントを合成することもできる。次に、半導体ベースの高密度チップでオリゴを化学的に合成するが、この場合、チップ当たり200,000超の個別のオリゴが合成される。オリゴは、BioFab（登録商標）などのアセンブリ技術を用いてアセンブリすることにより、小さなオリゴからより長いDNAセグメントを構築する。これは、並行して実施されるため、1度に数百～数千の合成DNAセグメントが構築される。

【1145】

50

各遺伝子エレメント又は遺伝子エレメントのセグメントを配列確認することもできる。一部の実施形態では、AnyDotチップ (Genovoxx, Germany) を用いて、RNA又はDNAのハイスループットシーケンシングを実施することができ、これは、生物学的プロセスのモニタリング (例えば、miRNA発現又は対立遺伝子可変性 (SNP検出)) を可能にする。特に、AnyDotチップは、ヌクレオチド蛍光シグナル検出の10×～50×の増強を可能にする。AnyDotチップ及びこれらを使用する方法は、一部が、以下：国際公開第02088382号パンフレット、同第03020968号パンフレット、同第03031947号パンフレット、同第2005044836号パンフレット、PCTEP第05105657号明細書、PCMEP第05105655号明細書；並びに独国特許出願第10149786号明細書、同第10214395号明細書、同第10356837号明細書、同第102004009704号明細書、同第102004025696号明細書、同第102004025746号明細書、同第102004025694号明細書、同第102004025695号明細書、同第102004025744号明細書、同第102004025745号明細書、及び同第102005012301号明細書に記載されている。

10

【1146】

他のハイスループットシーケンシングシステムとして、以下の文献に開示されるものが挙げられる：Venter, J., et al. Science 16 Feb. 2001；Adams, M. et al, Science 24 Mar. 2000；及びM. J. Levene, et al. Science 299:682-686, January 2003；並びに米国特許出願公開第20030044781号明細書及び同第2006/0078937号明細書。こうしたシステム全体は、1核酸分子について測定される重合反応を介した塩基の一時的な付加により複数の塩基を有する標的核酸分子をシーケンシングするステップを含む。すなわち、シーケンシングしようとする鋳型核酸分子に対する核酸重合酵素の活性をリアルタイムで追跡する。次に、連続した塩基付加での各ステップで、核酸重合酵素の触媒活性により標的核酸の成長相補鎖にどの塩基が組み込まれているかを同定することによって、配列を推定することができる。標的核酸分子複合体上のポリメラーゼは、標的核酸分子に沿って運動して、活性部位でのオリゴヌクレオチドプライマーを伸長するのに好適な位置に提供される。複数の標識されたタイプのヌクレオチド類似体が活性部位に隣接して提供され、識別可能なタイプのヌクレオチド類似体は各々、標的核酸配列中の異なるヌクレオチドと相補的である。核酸鎖の活性部位にヌクレオチド類似体を付加するポリメラーゼを用いることにより、成長核酸鎖を伸長するが、その際、付加されるヌクレオチド類似体は、活性部位で標的核酸のヌクレオチドと相補的である。重合ステップの結果としてオリゴヌクレオチドプライマーに付加されたヌクレオチド類似体を同定する。標識ヌクレオチド類似体を提供するステップ、成長核酸鎖を重合するステップ、及び付加されたヌクレオチド類似体を同定するステップを反復して、核酸鎖をさらに伸長して、標的核酸の配列を決定する。

20

30

【1147】

一部の実施形態では、ショットガンシーケンシングを実施する。ショットガンシーケンシングでは、DNAをランダムに多数の小さいセグメントに分解し、これらを、連鎖停止法を用いてシーケンシングすることにより、リードを取得する。数ラウンドの断片化及びシーケンシングを実施することによって標的DNAの複数の重複リードが得られる。次に、コンピュータプログラムは、様々なリードの重複末端を用いて、これらを連続した配列にアセンブルする。

40

【1148】

一部の実施形態では、複製又はパッケージングのための因子は、遺伝子エレメントに対して、cis又はtransで供給することができる。例えば、cisで供給される場合、遺伝子エレメントは、例えば、本明細書に記載される、アネロウイルス (Anellovirus) ORF1、ORF1/1、ORF1/2、ORF2、ORF2/2、ORF2

50

／3、又はORF2t／3をコード化する1つ若しくは複数の遺伝子を含み得る。一部の実施形態では、例えば、増幅及び／又は包膜を誘導するために、複製及び／又はパッケージングシグナルを遺伝子エレメントに組み込むことができる。一部の実施形態では、これは、いずれも、アネロソームゲノムのより大きな領域に関して実施される（例えば、エフェクターをゲノムの特定の部位に挿入する、又はウイルスORFをエフェクターで置換する）。

【1149】

別の例において、transで供給される場合、遺伝子エレメントは、例えば、本明細書に記載される、アネロウイルス（Anellovirus）ORF1、ORF1／1、ORF1／2、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、又はORF2t／3の1つ若しくは複数の遺伝子を欠失してもよく；この1つ若しくは複数のタンパク質は、例えば、別の核酸、例えば、ヘルパー核酸により供給され得る。一部の実施形態では、最小cisシグナル（例えば、5'UTR及び／又はGCリッチ領域）が、遺伝子エレメント中に存在する。一部の実施形態では、遺伝子エレメントは、複製又はパッケージング因子（例えば、レプリカーゼ及び／又はキャプシドタンパク質）をコード化しない。こうした因子は、一部の実施形態では、1つ若しくは複数のヘルパー核酸（例えば、宿主細胞ゲノムに組み込まれたヘルパーウイルス核酸、ヘルパープラスミド、又はヘルパー核酸）により供給してもよい。一部の実施形態では、ヘルパー核酸は、増幅及び／又はパッケージングを誘導する上で十分なタンパク質及び／又はRNAを発現するが、それ自身のパッケージングシグナルを欠失し得る。一部の実施形態では、遺伝子エレメント及びヘルパー核酸は、宿主細胞に導入されて（例えば、同時又は別々に）、遺伝子エレメントの増幅及び／又はパッケージングをもたらすが、ヘルパー核酸の増幅及び／又はパッケージングはもたらさない。

【1150】

インビトロ環状化

一部の実施形態では、タンパク質性外層中にパッケージングしようとする遺伝子エレメントは、一本鎖環状DNAである。遺伝子エレメントは、いくつかの事例において、一本鎖環状DNA以外の形態で宿主細胞に導入され得る。例えば、遺伝子エレメントは、二本鎖環状DNAとして宿主細胞に導入される。次に、二本鎖環状DNAを宿主細胞（例えば、ローリングサークル複製に好適な酵素、例えば、Rep68／78、Rep60、RepA、RepB、Pre、MobM、TraX、TrwC、Mob02281、Mob02282、NikB、ORF50240、NikK、TecH、OrfJ、若しくはTraIを含む宿主細胞、例えば、Wawrzyniak et al., 2017, Front. Microbiol., 8:2353に記載される通り；列挙される酵素に関して、参照により本明細書に組み込む）中で一本鎖環状DNAに変換することができる。一部の実施形態では、二本鎖環状DNAは、例えば、実施例35に記載されるように、インビトロ環状化によって生産される。一般に、インビトロ環状化DNA構築物は、パッケージングしようとする遺伝子エレメントの配列を含むプラスミドを消化して、遺伝子エレメント配列が線状DNA分子として切除されるようにすることにより、生産することができる。得られた線状DNAは、例えば、DNAリガーゼを用いて、後に連結することにより、二本鎖環状DNAを形成することができる。いくつかの事例において、インビトロ環状化により生産された二本鎖環状DNAは、例えば、本明細書に記載される通り、ローリングサークル複製に付すことができる。理論に束縛されることは意図しないが、インビトロ環状化により、二本鎖環状DNAが得られ、これをそれ以上修飾せずにローリングサークル複製に付すことによって、例えば、本明細書に記載のようなアネロソームにパッケージングする上で好適なサイズの一本鎖環状DNAを生産することができることが考えられる。一部の実施形態では、二本鎖環状DNA構築物は、プラスミド（例えば、細菌プラスミド）より小さい。一部の実施形態では、二本鎖環状DNAをプラスミド（例えば、細菌プラスミド）から切除した後、例えば、インビトロ環状化により、環状化する。

【1151】

アネロソームの生成

遺伝子エレメント及び本明細書に記載のように作製した遺伝子エレメントを含むベクターは、アネロソームを適切な宿主細胞に発現させるための様々な方法で使用する事ができる。一部の実施形態では、遺伝子エレメント及び遺伝子エレメントを含むベクターを適切な宿主細胞にトランスフェクトすると、得られたRNAが、アネロソーム遺伝子産物、例えば、高レベルの非病原性タンパク質及びタンパク質結合配列の発現を指令し得る。高レベルの発現をもたらす宿主細胞系は、ウイルス機能を供給する連続細胞株、例えば、APV又はMPVにそれぞれ重感染した細胞株、APV又はMPV機能を補完するように操作された細胞株が挙げられる。

【1152】

一部の実施形態では、アネロソームは、実施例1、2、5、6、又は15～17のいずれかに記載の通り生成する。

【1153】

一部の実施形態では、アネロソームは、連続動物細胞株においてインビトロで培養する。本発明の一実施形態によれば、細胞株は、ブタ細胞株を含んでもよい。本発明に関連して考慮される細胞株として、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及び精巢細胞株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。アネロソームによる感染に対して感受性の細胞株として、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。

【1154】

一部の実施形態では、遺伝子エレメント及び遺伝子エレメントを含むベクターは、アネロソームの発現を達成するために、ウイルスポリメラーゼタンパク質を発現する細胞株にトランスフェクトする。このために、アネロソームポリメラーゼタンパク質を発現する形質転換細胞株が、適切な宿主細胞として使用され得る。同様に、宿主細胞は、他のウイルス機能又は追加機能を提供するように操作してもよい。

【1155】

本明細書に開示するアネロソームを調製するために、本明細書に開示する遺伝子エレメントを含む遺伝子エレメント又はベクターを用いて、複製及び産生に必要なアネロソームタンパク質及び機能を提供する細胞をトランスフェクトしてもよい。或いは、本明細書に開示する遺伝子エレメント又はその遺伝子エレメントを含むベクターによるトランスフェクションの前、その最中、若しくはその後に、細胞をヘルパーウイルスでトランスフェクトしてもよい。一部の実施形態では、ヘルパーウイルスは、不完全なウイルス粒子の産生を補完するのに有用となり得る。ヘルパーウイルスは、宿主域制限又は温度感受性といった条件付き増殖障害を有し得るが、これによって、後のトランスフェクタントウイルスの選択が可能になる。一部の実施形態では、ヘルパーウイルスは、アネロソームの発現を達成するために、宿主細胞により使用される1つ又は複数の複製タンパク質を提供することができる。一部の実施形態では、宿主細胞は、1つ又は複数の複製タンパク質などのウイルスタンパク質をコード化するベクターでトランスフェクトしてもよい。一部の実施形態では、ヘルパーウイルスは、抗ウイルス感受性を含む。

【1156】

本明細書に開示する遺伝子エレメント又は遺伝子エレメントを含むベクターは、例えば、以下：米国特許第4,650,764号；同第5,166,057号；同第5,854,037号明細書；欧州特許公開第0702085A1号明細書；米国特許出願公開第09/152,845号明細書；国際公開第97/12032号；同第96/34625号パンフレット；欧州特許出願公開第A780475号明細書；国際公開第99/02657号；同第98/53078号；同第98/02530号；同第99/15672号；同第

10

20

30

40

50

98 / 13501号；同第97 / 06270号パンフレット；並びにEPO780 47 SA1（これらの各々は、その全体を参照により本明細書に組み込む）に記載される、当技術分野で公知である任意の数の技術によってアネロソーム粒子内で複製及び産生させることができる。

【1157】

本発明に従うアネロソーム含有細胞培養物の生成は、フラスコ、ローラボトル又はバイオリアクターなど、様々な規模で実施することができる。感染させようとする細胞の培養に用いられる培地は、当業者には周知であり、一般的に細胞生存に必要な標準的栄養素を含むことができるが、細胞型に応じて別の栄養素を含んでもよい。任意選択で、培地はタンパク質を含まない及び／又は血清を含まない場合もある。細胞型に応じて、細胞を懸濁液中又は基質上で培養することができる。一部の実施形態では、宿主細胞の増殖及びアネロソームの生産のために、異なる培地を使用する。

10

【1158】

アネロソームの精製及び単離は、ウイルス産生に関して当業者が周知の方法に従い実施することができる。例えば、Rinaldi, et al., DNA Vaccines: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology), 3rd ed. 2014, Humana Pressにより記載されている。

【1159】

一態様では、本発明は、本明細書に記載のアネロソームのインビトロ複製及び増殖のための方法を含み、これは、以下のステップ：（a）線形化遺伝子エレメントを、アネロソーム感染に対して感受性の細胞株にトランスフェクトするステップ；（b）細胞を収集して、遺伝子エレメントの存在を示す細胞を単離するステップ；（c）実験条件及び遺伝子発現に応じて、少なくとも3日、例えば、少なくとも1週間若しくはそれ以上にわたって、ステップ（b）で得られた細胞を培養するステップ；並びに（d）ステップ（c）の細胞を収集するステップを含み得る。

20

【1160】

一部の実施形態では、アネロソームは、高細胞密度まで増殖させた宿主細胞株に導入してもよい。一部の実施形態では、アネロソームは、製剤賦形剤を用いた製剤化の前に、生物物理学的特性に基づく溶質の分離、例えば、イオン交換クロマトグラフィー若しくはタンジェンシャルフロー濾過によって採取及び／又は精製することができる。

30

【1161】

VII. 投与／送達

組成物（例えば、本明細書に記載のアネロソームを含む医薬組成物）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。

40

【1162】

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

50

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。

【1163】

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。

【1164】

一態様では、本発明は、アネロソーム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ソーム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、投与されたアネロソームは、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）。

【1165】

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。アネロソームは、表A1～A12、B1～B5、C1～C5、若しくは1～18のいずれかに示す配列（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）、又は上記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%、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、又は表A1～A12、B1～B5、C1～C5、若しくは1～18のいずれかに示す配列と相補的な配列のうちの1つ又は複数を含み得る。アネロソームは、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、17、若しくは41のいずれかに示す配列の1つ若しくは複数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。アネロソームは、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、若しくは18のいずれかに示すアミノ酸配列のいずれか1つ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。アネロソームは、表A2、A4、A6、A8、A10、A12、C1～C5、2、4、6、8、10、12、14、16、若しくは18のいずれかに示すアミノ酸配列のいずれか1つ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。アネロソームは、表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、17、若しくは41のいずれかに示す配列、又は上記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%、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、又は表A1、A3、A5、A7、A9、A11、B1～B5、1、3、5、7、9、11、13、15、17、若しくは41のいずれかに示す配列と相補性の配列のうちの1つ若しくは複数を含み得る。

【1166】

一部の実施形態では、アネロソームは、内在性遺伝子及びタンパク質発現を、参照標準、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、アネロソームは、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。

【1167】

一部の実施形態では、アネロソームは、宿主若しくは宿主細胞において1つ又は複数のウ

10

20

30

40

50

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。

【1168】

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。

【1169】

一部の実施形態では、本明細書に記載のアネロソーム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)、チャンディプラウイルス (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)、ハンターンウイルス (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 adenovirus)、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 herpesvirus 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

10

20

30

40

50

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 (Lagos bat virus)、レイク・ビクトリア・マーブルグウイルス (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 (Lordsdale 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 choriomeningitis 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 coronavirus)、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 (Pichinde 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 (Puumala 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 (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)、トスカナウイルス (Toscana virus)、ウークニエミウイルス (Uukuniemi vir

10

20

30

40

50

us)、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、アネロソームは、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、アネロソームは、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、アネロソームは、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、アネロソームは、(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。

10

20

【1170】

本明細書で引用する全ての参照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。

【1171】

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。

【実施例】

【1172】

目次

実施例1：アネロソームの調製：インターフェロン(IFN)発現を阻害するアネロソームの設計及び合成。

30

実施例2：アネロソーム(アネロソームA及び／又はB)のラージスケール生産：アネロソームの生産及び増殖

実施例3：インビトロでのアネロソーム(アネロソームA)の効果：細胞感染後のアネロソームの発現及びエフェクター機能、例えば、miRNAの発現のインビトロ評価

実施例4：アネロソーム(アネロソームA)の免疫作用：投与後のアネロソームのインビボエフェクター機能、例えば、miRNAの発現

実施例5：合成アネロソームの調製：合成アネロソームのインビトロ生産

実施例6：アネロソームのアセンブリ及び感染：実施例5に記載する通り、合成DNA配列を用いた感染性アネロソームのインビトロ産生

40

実施例7：アネロソームの選択性：インビトロで生産された合成アネロソームは、様々な組織に由来する細胞株に感染する

実施例8：タンパク質結合配列の同定及び使用：アネロウイルス(Anellovirus)ゲノム内の推定タンパク質結合部位

実施例9：アネロウイルス(Anellovirus)ゲノム

実施例10：アネロウイルス(Anellovirus)ゲノムへの様々な長さのヌクレオチド挿入：アネロウイルス(Anellovirus)ゲノムへの様々な長さのDNA配列の付加

実施例11：送達しようとする例示的な積荷：アネロソーム内の例示的なクラスの核酸及びタンパク質ペイロード

50

- 実施例 12：例示的なペイロード組込み遺伝子座
- 実施例 13：アネロウイルス (Anellovirus) の規定カテゴリー及びその保存領域
- 実施例 14：複製欠損アネロソーム及びヘルパーウイルス
- 実施例 15：複製可能アネロソームの製造方法
- 実施例 16：複製欠損アネロソームの製造方法：複製欠損アネロソームの回収及び生産スケール拡大方法
- 実施例 17：懸濁細胞を用いたアネロソームの生産：懸濁液中の細胞におけるアネロソームの生産
- 実施例 18：qPCRによるアネロソームゲノム当量の定量：アネロソームを定量するための加水分解プローブに基づく定量PCRアッセイの開発 10
- 実施例 19：マウスにおいて外性タンパク質を発現させるためのアネロソームの使用：機能性モデルタンパク質をインビボで発現させるためのアネロソームの使用
- 実施例 20：アネロソームDNAが宿主ゲノムに組み込まれたか否かを決定するためのゲノムアラインメント
- 実施例 21：宿主ゲノムへのアネロソーム組込みの評価
- 実施例 22：外性microRNA配列を発現するアネロソームの機能効果：機能性核酸エフェクターを発現させるためのアネロソームの使用
- 実施例 23：外性ノンコーディングRNAを発現するためのアネロソームの調製及び生産：外性低分子ノンコーディングRNAを発現するためのアネロソームの使用 20
- 実施例 24：アネロウイルス (Anellovirus) クレードにおける保存：アルファトルクウイルス (alphatorquevirus) 属の7つのクレードの同定
- 実施例 25：アネロソームからの内在性miRNAの発現及び内在性miRNAの欠失
- 実施例 26：アネロウイルス (Anellovirus) ORFの局在化
- 実施例 27：アネロソーム作製に必要な領域の特性決定
- 実施例 28：インビボでの外性タンパク質のアネロソーム送達：この実施例は、投与後のアネロソームのインビボでのエフェクター機能（例えば、タンパク質の発現）を実証する。
- 実施例 29：アネロウイルス (Anellovirus) における前駆体miRNA (pre-miR) の同定：様々なアネロウイルス (Anellovirus) によりコード化される新たな前駆体miRNAを同定するための計算及び実験アプローチ 30
- 実施例 30：アネロウイルス (Anellovirus) pre-miRの内在性標的の決定：内在性標的、並びにアネロウイルス (Anellovirus) の様々な株によりコード化されるpre-miRの潜在的治療関連標的経路を決定するための分析
- 実施例 31：ネイティブアネロウイルス (Anellovirus) pre-miRをコード化するアネロソームの作製：ネイティブアネロウイルス (Anellovirus) pre-miRを発現するアネロソームの複製又は非複製形態のいずれかをパッケージングする方法
- 実施例 32：インビトロ細胞培養モデルにおける腫瘍抑制因子としてのアネロウイルス (Anellovirus) pre-miRの使用：例えば、実施例 29に記載される分析から腫瘍抑制性であると同定された候補pre-miRの表現型 40
- 実施例 33：インビボでの腫瘍抑制因子としてのアネロウイルス (Anellovirus) pre-miRの使用：例えば、実施例 32に記載されるインビトロ分析からの腫瘍抑制性アネロウイルス (Anellovirus) pre-miR及び癌細胞株の腫瘍抑制効果を確認するためのインビボ実験
- 実施例 34：アネロウイルス (Anellovirus) ゲノムのタンデムコピー
- 実施例 35：インビトロで環状化したアネロウイルス (Anellovirus) ゲノム：最小非ウイルスDNAと共に、環状二本鎖環状アネロウイルス (Anellovirus) ゲノムDNAを含む構築物
- 実施例 36：ORF1のモデル化と、保存残基及びドメインの同定：ベータトルクウイル 50

ス (Betatorquevirus) の ORF1 タンパク質のモデル化及び推定ドメインの画定

実施例 37: 異なるトルク・テノウイルス (Torque Teno Virus) 株由来の超可変ドメインを含むキメラ ORF1 を含有するアネロソームの生産

実施例 38: 超可変ドメインの代わりに非 TTV タンパク質／ペプチドを含有するキメラ ORF1 の生産

実施例 39: インビボでの分泌酵素のアネロソーム送達

実施例 40: インビボでの分泌抗体のアネロソーム送達

実施例 41: DNA ペイロードを保有するアネロソームの設計

実施例 42: アネロソームコード化抗体トランスジーン の形質導入

10

実施例 43: 各々、肺癌細胞中に EPO 遺伝子の形質導入を達成した tth8 及び LY2 に基づくアネロソーム

実施例 44: 治療用トランスジーンを含むアネロソームは、静脈内 (i.v.) 投与後にインビボで検出することができる。

実施例 45: アネロウイルス (Anellovirus) 中のコーディング配列のサイズ分布

実施例 46: ORF2 を特性決定するための高度に保存されたモチーフ

実施例 47: ヒトにおける完全長アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 mRNA のエビデンス

実施例 48: アネロソームをインビトロで生産するための投入材料としてのインビトロ環状化ゲノム

20

実施例 49: アネロウイルス (Anellovirus) ORF1 中の保存二次構造モチーフの同定

【1173】

実施例 1: アネロソームの調製

この実施例では、インターフェロン (IFN) 発現を阻害する合成アネロソームの設計及び合成を説明する。

【1174】

アネロソーム (アネロソーム A) は、1) 非病原性パッケージングエンクロージャ (Arch Virol (2007) 152:1961-1975)、アクセッション番号: A7XCE8.1 (ORF11__TTW3); 2) 宿主遺伝子 (例えば、IFN) をターゲティングするマイクロ RNA をコードする DNA 配列 (PLOS Pathogen (2013), 9 (12), e1003818), アクセッション番号: AJ620231.1; 及び 3) キャプシドタンパク質内の特定の領域 (例えば、アクセッション番号: Q99153.1 を有するキャプシドの特定の領域) に結合する DNA 配列 (Journal of Virology (2003), 77 (24), 13036-13041) から出発して設計する。

30

【1175】

この配列に、1 kb のノンコーディング DNA 配列を付加する (アネロソーム B)。設計したアネロソーム (図 2) を 3 kb (合計サイズ) に化学的に合成し、これを配列確認する。

40

【1176】

JetPEI 試薬 (PolyPlus-transfection, Illkirch, France) と一緒に、製造者の推奨に従って、アネロソーム配列をヒト胎児腎 293 T 細胞 (12 ウェルプレート上で 10⁵ 細胞当たり 1 mg) にトランスフェクトする。対照トランスフェクションは、ベクターのみを含むか、又は JetPEI 単独でトランスフェクトした細胞を含み、トランスフェクション効率を、GFP コード化リポータプラスミドで最適化する。対照トランスフェクションの蛍光を測定して、適正にトランスフェクトされた細胞を確実にする。トランスフェクトした培養物を 37℃ 及び 5% 二酸化炭素で一晩インキュベートする。

50

【1177】

18時間後、細胞をPBSで3回洗浄した後、新鮮な培地を添加する。上清を収集し、下記の通り超遠心分離及びアネロソームの採取を行う。4,000×gで30分、次に、8,000×gで15分の遠心分離により、培地を清澄化して、細胞及び細胞残屑を除去する。次に、上清を0.45µm孔径フィルターでろ過する。5%ショ糖クッション(5ml)により、アネロソームを27,000rpmで1時間ペレット化し、1×リン酸緩衝食塩水(PBS)及び原体積の1/100中の0.1%バシトラシンに再懸濁させる。濃縮したアネロソームを24,000rpmで2時間の20~35%のショ糖段階勾配により遠心分離する。勾配ジャンクションのアネロソームバンドを収集する。次に、アネロソームを1×PBSで希釈した後、27,000rpmで1時間ペレット化する。アネロソームペレットを1×PBSに再懸濁し、20から35%までの連続ショ糖段階勾配によりさらに精製する。

10

【1178】

実施例2：アネロソーム(アネロソームA及び／又はB)のラージスケール生産
この実施例では、アネロソームの生産及び増殖を説明する。

【1179】

実施例1に記載の精製アネロソームを懸濁液中に増殖させたプロデュースA549細胞を含むスピナーフラスコ内でラージスケール増幅のために調製する。A549細胞は、F12K培地、10%ウシ胎仔血清、2mMグルタミン及び抗生物質中に維持する。106アネロソームのアネロソーム負荷でA549細胞をアネロソームに感染させて、37℃及び5%二酸化炭素で24時間のインキュベーション後に約1×10⁷個のアネロソーム粒子を生産する。次に、細胞をPBSで3回洗浄してから、新鮮な培地で6時間インキュベートする。

20

【1180】

アネロソーム精製のために、塩化セシウム勾配に基づく2回の超遠心分離ステップを実施した後、下記の通り透析を行う(Bio-Protocol(2012)Bio101: e201)。遠心分離(10分の6000×g)により細胞を除去し、上清を0.8µm、続いて0.2µmフィルターでろ過する。ろ過物をろ過膜(100,000mw)の通過により濃縮して、8mlの体積にする。リテンテートを硫酸セシウム溶液中にロードし、247,000×gで20時間遠心分離する。アネロソームバンドを取り出し、14,000mwカットオフ透析チューブに導入して、透析する。必要に応じて、さらに濃縮を実施してもよい。

30

【1181】

実施例3：インビトロでのアネロソーム(アネロソームA)の作用

この実施例は、細胞感染後のアネロソームの発現及びエフェクター機能、例えば、miRNAの発現のインビトロ評価を説明する。

【1182】

実施例1に記載の精製アネロソームの作用を、内在性遺伝子調節(例えば、IFNシグナル伝達)によりインビトロで評価する。HEK293T細胞をデュアルルシフェラーゼプラスミド(インターフェロン刺激応答エレメント(ISRE)ベースのプロモータを含むホタルルシフェラーゼ及び構成性プロモータを含むトランスフェクション対照ウミシタケ(Renilla)ルシフェラーゼ)：ルシフェラーゼリポータミックス(1:4比のpcDNA3.1dsRLuc:pISRE-Luc(Clonetech))(J Virol(2008), 82:9823-9828)で同時トランスフェクトする。

40

【1183】

6ウェルプレート(2セットの3回反復-3つの対照ウェルとアネロソームAを含む3つの実験ウェル)に接種したHEK293T細胞に10⁷の感染多重度でアネロソームを投与する。

【1184】

48時間後、培地を、100u/mlのユニバーサルI型インターフェロン(PBL, P

50

iscat away, NJ)を含む、又は含まない新しい培地に取り換える。IFN処理から16時間後、デュアルルシフェラーゼアッセイ(J Virol (2008), 82:9823-9828)を実施して、IFNシグナル伝達を決定する。ホタルルシフェラーゼをウミシイタケ(Renilla)ルシフェラーゼ発現に対して正規化して、トランスフェクションの差を調製する。同等の実験ウェルを対照ウェルで割ることにより、ISREffLucリポータの倍率誘導を計算し、各条件での誘導を陰性対照と比較する。

【1185】

一実施形態では、対照と比較して、アネロソーム処理群のルシフェラーゼシグナルが減少していれば、アネロソームが細胞中のIFN産生を低減することを示すことになる。

【1186】

実施例4：アネロソーム（アネロソームA）の免疫作用

この実施例は、投与後のアネロソームのインビボエフェクター機能、例えば、miRNAの発現を説明する。

【1187】

キログラム当たり 10^4 ゲノム当量から出発してキログラム当たり0ゲノム当量までの百倍希釈物を用い、実施例1及び2に記載の通りに調製した精製済アネロソームを様々な用量で健常なブタに静脈内投与する。免疫寛容に対する作用を評価するために、上に示す用量のアネロソーム又はビヒクル対照PBSをブタに3日間毎日注射し、3日後に犠牲にする。

【1188】

脾臓、骨髄及びリンパ節を採取する。単一細胞懸濁液を組織の各々から調製して、MHC-I、CD11c、及び細胞内IFNについて細胞外マーカで染色する。MHC+、CD11c+、IFN+抗原提示細胞を各組織からフローサイトメトリーにより分析する。その際、例えば、前述のマーカの所与の1つについて陽性である細胞は、マーカの発現のない陰性対照群の細胞の99%より高い蛍光を示すが、それ以外は、同じ条件下で、アッセイ細胞集団と類似している細胞である。

【1189】

一実施形態では、対照と比較して、アネロソーム処理群のIFN+細胞の数が減少していれば、アネロソームが投与後の細胞中のIFN産生を低減することを示すことになる。

【1190】

実施例5：合成アネロソームの調製

この実施例は、合成アネロソームのインビトロ産生を実証する。

【1191】

EcoRV制限酵素部位同士のTTMiniV(Eur Respir J. 2013 Aug; 42(2):470-9)のLY1及びLY2株由来のDNA配列をカナマイシンベクター(Integrated DNA Technologies)にクローニングした。TTMiniVのLY1及びLY2株由来のDNA配列を含むアネロソームは、実施例6及び7、並びに図6A~10Bにおいて、それぞれアネロソーム1（アネロ1）及びアネロソーム2（アネロ2）と呼ばれる。クローニングした構築物を10-βコンピテント大腸菌(E. coli)に形質転換した(New England Biolabs Inc.)後、プラスミド精製(Qiagen)を製造者のプロトコルに従って実施する。

【1192】

DNA構築物(図3及び図4)をEcoRV制限消化(New England Biolabs Inc.)により37℃で6時間線形化して、TTMiniVゲノムを含む二本鎖線状DNA断片を取得し、細菌バックボーンエレメント(例えば、複製起点及び選択マーカなど)を排除した。続いて、アガロースゲル電気泳動、TTMiniVゲノム断片について正しいサイズのDNAバンド(2.9キロ塩基対)の切除の後、ゲル抽出キット(Qiagen)を用い、製造者のプロトコルに従って、切除したアガロースバンドからのDNAのゲル精製を実施した。

10

20

30

40

50

【1193】

実施例6：アネロソームのアセンブリ及び感染

この実施例は、実施例5に記載する通り、合成DNA配列を用いた感染性アネロソームのインビトロ産生の達成を実証する。

【1194】

二本鎖線形化ゲル精製アネロウイルスゲノムDNA（実施例5で取得）を、脂質トランスフェクション試薬（Thermo Fisher Scientific）を用いて、HEK293T細胞（ヒト胎児腎細胞株）又はA549細胞（ヒト肺癌細胞株）のいずれかに、インタクトプラスミド又は線形化形態のいずれかでトランスフェクトした。6ugのプラスミド又は1.5ugの線形化アネロウイルスゲノムDNAをT25フラスコ内での70%密集細胞のトランスフェクションのために使用した。アネロソームに含まれるウイルス配列が欠失した空ベクター骨格を陰性対照として用いた。トランスフェクションから6時間後、細胞をPBSで2回洗浄し、37℃及び5%二酸化炭素の新鮮な増殖培地中で増殖させた。ヒトEF1αプロモータ、続いてYFP遺伝子をコード化するDNA配列をIDTから合成した。このDNA配列をクローニングベクター（Thermo Fisher Scientific）中に平滑末端連結した。得られたベクターを対照として用いて、トランスフェクション効率を評価した。トランスフェクションから72時間後に、細胞イメージングシステム（Thermo Fisher Scientific）を用いて、YFPを検出した。HEK293T細胞及びA549細胞のトランスフェクション効率は、それぞれ85%及び40%として算出された（図5）。

【1195】

アネロソームでトランスフェクトした293T及びA549細胞の上清をトランスフェクションから96時間後に採取した。採取した上清を4℃にて10分間2000rpmでスピニングすることにより、細胞残屑を全て除去した。採取した上清の各々を用いて、24ウェルプレートのウェル内で70%密集であった新しい293T及びA549細胞にそれぞれ感染させた。37℃及び5%二酸化炭素で24時間のインキュベーション後に上清を洗い流してから、PBSで2回洗浄し、新鮮な増殖培地に取り替えた。37℃及び5%二酸化炭素でさらに48時間これらの細胞をインキュベートした後、ゲノムDNA抽出のために細胞を個別に採取した。ゲノムDNA抽出キット（Thermo Fisher Scientific）を用いて、製造者のプロトコルに従い、サンプルの各々からゲノムDNAを採取した。

【1196】

インビトロで産生されたアネロソームによる293T及びA549細胞の感染の達成を確認するために、本明細書に記載の通りに採取した100ngのゲノムDNAを使用して、ベータトルクウイルスに特異的なプライマー又はLY2特異的配列を用いた定量ポリメラーゼ連鎖反応（qPCR）を実施した。SYBRグリーン試薬（Thermo Fisher Scientific）を用いて、製造者のプロトコルに従い、qPCRを実施した。GAPDHのゲノムDNA配列に特異的なプライマーのqPCRを正規化に使用した。使用した全てのプライマーの配列を表42に挙げる。

【1197】

10

20

30

40

50

【表 1 5 4】

表 42:

	プライマー配列 (5' > 3')	
標的	フォワード	リバース
ベータトルクウイルス (Betatorqueviruses)	ATTCGAATGGCTGAGTTTATGC (配列番号 690)	CCTTGACTACGGTGGTTTCAC (配列番号 693)
LY2 TTMiniV 株	CACGAATTAGCCAAGACTGGGCA C (配列番号 691)	TGCAGGCATTTCGAGGGCTTGT T (配列番号 694)
GAPDH	GCTCCCACTCCTGATTTCTG (配列 番号 692)	TTTAACCCCTAGTCCCAGG (配列番号 695)

10

【1 1 9 8】

図 6 A、6 B、7 A、及び 7 B に描く q P C R 結果に示すように、インビトロで、且つこの実施例に説明する通りに生産されたアネロソームは、感染性であった。

【1 1 9 9】

実施例 7：アネロソームの選択性

この実施例は、インビトロで生産された合成アネロソームが、様々な組織に由来する細胞株に感染する能力を実証する。

20

【1 2 0 0】

感染性 T T M i n i V アネロソーム（実施例 5 に記載する）を含む上清を、24 ウェルプレート内の 70 % 密集 293 T、A 5 4 9、J u r k a t（急性 T 細胞性白血病細胞株）、R a j i（バーキットリンパ腫 B 細胞株）、及び C h a n g 細胞株と一緒に、37 °C 及び 5 % 二酸化炭素でインキュベートした。感染から 24 時間後に細胞を P B S で 2 回洗浄してから、新鮮な増殖培地に取り替えた。次に、37 °C 及び 5 % 二酸化炭素でさらに 48 時間細胞を再度インキュベートした後、ゲノム DNA 抽出のために採取した。ゲノム DNA 抽出キット（T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c）を用いて、製造者のプロトコルに従い、サンプルの各々からのゲノム DNA を採取した。

30

【1 2 0 1】

先の実施例で産生されたアネロソームによるこれらの細胞株の感染の達成を確認するために、本明細書に記載の通りに採取した 100 ng のゲノム DNA を使用して、ベータトルクウイルスに特異的なプライマー又は L Y 2 特異的配列を用いた定量ポリメラーゼ連鎖反応（q P C R）を実施した。S Y B R グリーン試薬（T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c）を用いて、製造者のプロトコルに従い、q P C R を実施した。G A P D H のゲノム DNA 配列に特異的なプライマーの q P C R を正規化に使用した。使用した全てのプライマーの配列を表 4 2 に挙げる。

【1 2 0 2】

図 6 A ~ 1 0 B に描くように、インビトロで産生されたアネロソームは、感染性であるだけでなく、上皮細胞、肺組織細胞、肝細胞、癌細胞、リンパ球、リンパ芽球、T 細胞、B 細胞、及び腎細胞の例を含め、多様な細胞株に感染することができた。また、合成アネロソームは、H e p G 2 細胞（肝細胞株）に感染することができ、それにより、対照に比して 100 倍超の増加が起こったことも観察された。

40

【1 2 0 3】

実施例 8：タンパク質結合配列の同定及び使用

この実施例は、例えば、本明細書に記載のアネロソームにおいて、エフェクターを増幅及びパッケージングするために用いることができるアネロウイルス（A n e l l o v i r u s）ゲノム内の推定タンパク質結合部位を説明する。一部の事例では、タンパク質結合部位は、キャプシドタンパク質などの外部タンパク質と結合することができると考えられる

50

。

【1204】

アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム内の2つの保存ドメインは、推定複製起点である：5' UTR保存ドメイン (5CD) 及びGCリッチドメイン (GCD) (de Villiers et al., Journal of Virology 2011; Okamoto et al., Virology 1999)。一例では、これらの配列が、DNA複製部位又はキャプシドパッケージングシグナルとして作用するか否かを確認するために、TTMV-LY2を有するプラスミドに各領域の欠失を作製する。A539細胞をpTTMV-LY2Δ5CD又はpTTMV-LY2ΔGCRでトランスフェクトする。トランスフェクトした細胞を4日間インキュベートした後、上清及び細胞ペレットからウイルスを単離する。A549細胞をウイルスに感染させ、その4日後、上清及び感染細胞ペレットからウイルスを単離する。qPCRを実施して、サンプルからのウイルスゲノムを定量する。複製起点の破壊により、ウイルスのレプリカーゼがウイルスDNAを増幅するのが阻止され、その結果、野生型ウイルスと比較して、トランスフェクト細胞ペレットから単離されたウイルスゲノムが減少する。少量のウイルスが依然としてパッケージされており、それをトランスフェクトされた上清及び感染細胞ペレット中に認めることができる。一部の実施形態では、パッケージングシグナルの破壊により、ウイルスDNAがキャプシドタンパク質により包膜されるのが阻止されるであろう。従って、複数の実施形態では、トランスフェクトした細胞にはウイルスゲノムの増幅がまだあるが、上清及び感染細胞ペレットにウイルスゲノムは存在しない。

10

20

【1205】

別の実施例では、DNA中の他の複製及びパッケージングシグナルを特性決定するために、TTMV-LY2ゲノム全体に及ぶ一連の欠失を使用する。100bpの欠失を配列の長さによって段階的に作製する。TTMV-LY2欠失を含むプラスミドをA549にトランスフェクトして、前述のように試験する。一部の実施形態では、ウイルス増幅又はパッケージングを破壊する欠失は、潜在的なシス-調節ドメインを含有するであろう。

【1206】

増幅及び包膜を誘導するために、複製及びパッケージングシグナルをエフェクターコード化DNA配列 (例えば、アネロソーム内の遺伝子エレメント中の) に組み込むことができる。これは、アネロソームゲノムのより大きな領域に関して (すなわち、ゲノム内の特定部位へのエフェクターの挿入、若しくはエフェクターによるウイルスORFの置換など)、又はエフェクターDNAへの最小シスシグナルの組み込みによる、いずれでも実施される。アネロソームが、トランス複製又はパッケージング因子 (例えば、レプリカーゼ及びキャプシドタンパク質など) を欠失している場合には、トランス因子がヘルパー遺伝子により供給される。ヘルパー遺伝子は、増幅及びパッケージングを誘導する上で十分なタンパク質及びRNAの全てを発現するが、それ自身のパッケージングシグナルは欠失している。アネロソームDNAをヘルパー遺伝子で同時トランスフェクトすると、エフェクターの増幅及びパッケージングが起こるが、ヘルパー遺伝子のそれは起こらない。

30

【1207】

実施例9：アネロウイルス (Anellovirus) ゲノム

40

この実施例は、アネロウイルス (Anellovirus) ゲノムにおける欠失を説明する。

【1208】

ORFの下流で、且つGCリッチ領域上流のTTV-tth8のノンコーディング領域 (NCR) に172-ヌクレオチド (nt) 欠失を作製した (nts3436~3607)。ランダム56-nt配列 (TTTG TGACACAAGATGGCCGACTTCCCTCCCTCTTTAGTCTTCCCAAGAAGACAA (配列番号696)) をこの欠失に挿入した。pTTV-tth8 (3436~3707::56nt)、即ち、改変TTV-tth8を保有するDNAプラスミドを作製した。2µgの二本鎖環状又は二本鎖SmaI線状化DNA (細菌バックボーンエレメントから分離したTTV-tth

50

8 ゲノム断片をもたらす) を、リポフェクタミン 2000 を用い、6 cm プレート内で 60 % 密集の HEK293 又は A549 細胞に、2 回反復でトランスフェクトした。トランスフェクションから 96 時間後に、液体窒素と 37 °C 水浴の間で凍結融解を 3 回交互に繰り返すことにより、ウイルスを細胞ペレット及び上清から単離した。上清からのウイルスを用いて、細胞を再感染させた (HEK293 細胞は HEK293 から単離したウイルスにより感染させ、A549 細胞は、A549 から単離したウイルスにより感染させた)。感染から 72 時間後、凍結融解により、ウイルスを細胞ペレット及び上清から単離した。全てのサンプルに対して qPCR を実施した。以下の表 43 に示すように、TTV-tth8 は、感染細胞の細胞ペレット及び上清の両方に観察され、これは pTTV-tth8 (3436~3707::56nt) によるウイルス産生の達成を示している。従って、TTV-tth8 は、nt3436~3707 の欠失を許容することができる。

【1209】

【表155】

表 43: HEK293 及び A549 の TTV-tth8(3436-3707::56nt)感染により、ウイルス増幅が起こる。

プラスミド又はウイルスを添加していない陰性対照細胞と比較した 2 回反復実験からの平均ゲノム当量。

ゲノム当量/Rx		HEK293 P0	HEK293 P1	A549 P0	A549 P1	陰性対照	
TTH8 線状	Sup	2.45E+06	1.02E+03	1.87E+07	1.00E+04	293 空	1.42E+02
	細胞	2.52E+08	3.92E+05	2.89E+08	7.57E+05	293 Neg	5.08E+02
TTH8 環状	Sup	1.69E+06	6.83E+02	5.07E+02	1.05E+04	549 空	1.73E+01
	細胞	2.00E+08	3.75E+05	2.61E+08	8.36E+05	549 Neg	2.08E+01

【1210】

ヌクレオチド 574~1371 及び 1432~2210 が欠失し (1577bp 欠失)、且つ ORF1 の C 末端 (野生型 TTMV-LY2 における nt2609 後) に 513bp NanoLuc (nLuc) リポーター ORF を挿入した、TTMV-LY2 の操作バージョンをアセンブルした。操作 TTMV-LY2 の DNA 配列を含むプラスミド (pVL46-015B) を A549 細胞にトランスフェクトした後、実施例 17 に記載の通り、ウイルスを単離し、新しい A549 細胞を感染させるのに用いた。感染細胞の細胞ペレット及び上清中で nLuc ルミネセンスが検出されたが、これは、ウイルス複製を示している (図 11A~11B)。これは、TTMV-LY2 が、ORF 領域内の少なくとも 1577bp 欠失を許容し得ることを実証する。

【1211】

ウイルスゲノムをさらに特性決定するために、TTMV-LY2 DNA に一連の欠失を作製する。nt574~1371 及び nt1432~2210 の欠失を有するが、nLuc 挿入はない TTMV-LY2 を作製し、前述した通りにウイルス複製について試験する。TTMV-LY2 Δ574-1371、Δ1432-2210 に対してさらなる欠失を作製する。nt1372~1431 を欠失させて、TTMV-LY2 Δ574-2210 を作出する。さらに、ORF1 下流の ORF3 配列を欠失させる (Δ2610-2809)。最後に、ノンコーディング領域内の欠失を試験するために、NCR 全域にわたって連続的に一連の 100bp 欠失を作製する。全ての欠失突然変異体を、前述の通り、ウイルス複製について試験する。ウイルス産生の達成をもたらす欠失 (欠失した領域が、ウイルス複製に必須ではないことを示す) を組み合わせて、さらに多くのヌクレオチドが欠失した TTMV-LY2 の変異体を作製する。ヘルパーで増幅することができる最小ウイルスを同定するために、ウイルス複製を崩壊させた欠失突然変異体の各々を、トランス複製及びパッケージングエレメントを含むヘルパー遺伝子と並行して試験する。複製エレメントのトランス発現によりレスキューされる欠失は、別の供給源からヘルパー遺伝子が付与されると、ウイルス形成をブロックすることなく欠失させることができるウイルスゲノムの領

域を示している。

【1212】

実施例10：アネロウイルス（*Anellovirus*）ゲノムへの様々な長さのヌクレオチド挿入

この実施例は、アネロウイルス（*Anellovirus*）ゲノムへの様々な長さのDNA配列の付加を説明し、これは、一部の事例において、本明細書に記載のアネロソームを作製するために用いることができる。

【1213】

TTV-tth8（GenBankアクセッション番号：AJ620231.1）及びTTMV-LY2（GenBankアクセッション番号：JX134045.1）を含むプラスミドにDNA配列をクローニングする。オープンリーディングフレームの3'側及びGCリッチ領域の5'側のノンコーディング領域（NCR）：TTV-tth8のヌクレオチド3588、又はTTMV-LY2のヌクレオチド2843後に、挿入を作製する。

【1214】

下記長さのランダム化DNA配列をTTV-tth8及びTTMV-LY2のNCRに挿入する：100塩基対（bp）、200bp、500bp、1000bp、及び2000bp。これらの配列は、各ウイルスゲノムの相対GC含有率と一致するように設計する：TTV-tth8への挿入については約50%GC、及びTTMV-LY2については約38%GC。加えて、いくつかのトランス遺伝子をNCRに挿入する。これらは、U6プロモータ（351bp）に駆動されるmiRNA（例えば、FF4 miRNA）及び構成性hEF1aプロモータ（2509bp）に駆動されるEGFPを含む。

【1215】

様々なサイズのDNA挿入片を含むTTV-tth8及びTTMV-LY2を、前述の通りに、HEK293及びA549などの哺乳動物細胞株にトランスフェクトする。ウイルスを上清又は細胞ペレットから単離する。単離したウイルスを用いて、別の細胞に感染させる。感染細胞からのウイルスの産生を定量PCRによりモニターする。一部の実施形態では、ウイルス産生の達成は、挿入の許容を示す。

【1216】

実施例11：送達しようとする例示的な積荷

この実施例は、例えば、本明細書に記載するアネロソーム、例えば、アネロウイルス（*Anellovirus*）に基づくアネロソームを用いて送達することができる例示的なクラスの核酸及びタンパク質ペイロードを説明する。

【1217】

ペイロードの一例は、タンパク質発現のためのmRNAである。目的のコード配列は、ウイルス源（例えば、アネロウイルス（*Anellovirus*）に対してネイティブのウイルスプロモータ、又はトランス遺伝子の一部としてペイロードと一緒に導入されたプロモータのいずれかから転写する。或いは、mRNAをウイルスmRNAのオープンリーディングフレーム内でコード化することにより、ウイルスタンパク質と目的のタンパク質との融合物を取得する。必要に応じて、切断ドメイン、例えば、2Aペプチド又はプロテイナーゼ標的部位を用いて、ウイルスタンパク質から目的のタンパク質を分離してもよい。

【1218】

ノンコーディングRNA（ncRNA）は、ペイロードの別の例である。これらのRNAは、一般に、U6又はVAなどのRNAポリメラーゼIIIプロモータを用いて転写される。或いは、ncRNAは、ネイティブウイルスプロモータ又は調節可能な合成プロモータなどのRNAポリメラーゼIIを用いて転写される。RNAポリメラーゼIIIプロモータから発現される場合、ncRNAは、mRNAエキソン、イントロンの一部として、又はポリ-Aシグナル下流で転写されるエキストラRNAとしてコード化される。ncRNAは、多くの場合、より大きなRNA分子としてコード化されるか、又はリボザイム又はエンドリボヌクレアーゼを用いて切断される。アネロソームのゲノム内の積荷としてコード化することができるncRNAとしては、マイクロRNA（miRNA）、低分子干渉

RNA (s i RNA)、低分子ヘアピンRNA (s h RNA)、アンチセンスRNA、m i RNA スポンジ、長鎖ノンコーディングRNA (l n c RNA)、及びガイドRNA (g RNA) が挙げられる。

【1219】

DNAは、RNA転写を必要とせずに、機能性エレメントとして使用することができる。例えば、DNAは、相同組換えのための鋳型として用いることができる。別の例では、タンパク質結合DNA配列を用いて、キャプシド内（例えば、アネロソームのタンパク質性外層内）への目的のタンパク質のパッケージングを駆動することができる。相同組換えのために、ヒトゲノムDNAに対する相同性領域を、相同性アームとして作動するようにベクターDNAにコード化する。組換えは、標的化エンドヌクレアーゼ（g RNAを有する C a s 9、又はジンクフィンガーヌクレアーゼなど）により駆動することができ、これは、ベクター又は別の供給源のいずれかから発現させることができる。細胞内部で、一本鎖DNAゲノムを二本鎖DNAに変換すると、これは、ゲノムDNA切断部位での相同組換え用の鋳型の役割を果たす。目的のタンパク質を動員するために、タンパク質結合配列をアネロソームDNAにコード化することができる。目的のDNA結合タンパク質、又はDNA結合タンパク質（G a l 4 など）と融合した目的のタンパク質は、アネロソームDNAに結合する。アネロソームDNAがキャプシドタンパク質により包膜されると、DNA結合タンパク質も包膜されるため、アネロソームと一緒に細胞に送達することができる。

10

【1220】

実施例12：例示的なペイロード組込み遺伝子座

20

この実施例は、核酸ペイロードを挿入することができるTTV-t t h 8 (G e n B a n k アクセス番号：A J 6 2 0 2 3 1 . 1) 及びTTMV-L Y 2 (G e n B a n k アクセス番号：J X 1 3 4 0 4 5) のゲノム内の例示的な遺伝子座を説明する。

【1221】

TTV-t t h 8 (ヌクレオチド336~3015) 及びTTMV-L Y 2 (ヌクレオチド424~2812) のオープンリーディングフレーム (O R F) 内への挿入のために、いくつかの戦略を使用することができる。一例では、ウイルスタンパク質にタグ付けするか、又は融合タンパク質を作出するために、目的の特定のO R F内のフレーム中にペイロードを挿入する。或いは、O R F領域の一部又は全部を欠失させるが、これにより、ウイルスタンパク質機能が破壊するか、又は破壊しない場合もある。次に、ペイロードを欠失領域に挿入する。加えて、TTV-t t h 8 (ヌクレオチド716~2362の間) 又はTTMV-L Y 2 (ヌクレオチド724~2273の間) のO R F1内の超可変ドメイン (H V D) を挿入部位として用いることもできる。いくつかの事例では、H V Dにおける挿入又はヌクレオチド置換は、よりよく許容され得る、且つ／又はウイルス機能の破壊の程度がより低くなり得る。

30

【1222】

或いは、ペイロード挿入を、TTV-t t h 8又はTTMV-L Y 2のノンコーディング領域 (N C R) と同等のベクターの領域に作製する。特に、T A T Aボックスの5' N C R上流、5' 非翻訳領域 (U T R)、ポリ-Aシグナルの3' N C R下流、及びG Cリッチ領域の上流に挿入を作製する。さらに、TTV-t t h 8 (ヌクレオチド3429~3506) のm i RNA領域にも挿入を作製する。5' N C R領域の場合、挿入は、T A T Aボックスの上流 (TTV-t t h 8のヌクレオチド1~82の間、及びTTMV-L Y 2のヌクレオチド1~236の間) に作製する。一部の実施形態では、プロモータ干渉を低減するために、トランス遺伝子を逆方向に挿入する。5' U T Rの場合、挿入は、転写開始部位の下流 (TTV-t t h 8のヌクレオチド111、及びTTMV-L Y 2のヌクレオチド267) で、且つO R F2開始コドンの上流 (TTV-t t h 8のヌクレオチド336、及びTTMV-L Y 2のヌクレオチド421) に作製する。5' U T R挿入は、5' U T R内にヌクレオチドを付加又は置換する。3' N C R挿入は、G Cリッチ領域の上流、特に、実施例10に記載の通り、TTV-t t h 8のヌクレオチド3588又はTTMV-L Y 2のヌクレオチド2843後に作製する。TTV-t t h 8のm i RNAは、代

40

50

替の天然又は合成miRNAヘアピンにより置換される。

【1223】

実施例13：アネロウイルス（Anellovirus）の規定カテゴリー及びその保存領域

ヒトに存在する3つのアネロウイルス（Anellovirus）属がある：アルファトルクウイルス属（Alphatorquevirus）（トルク・テノウイルス（Torque Teno Virus）、TTV）、ベータトルクウイルス属（Betatorquevirus）（トルク・テノミディウイルス（Torque Teno Midi Virus）、TTMDV）、及びガンマトルクウイルス属（Gammatorquevirus）（トルク・テノミニウイルス（Torque Teno Mini Virus）、TTMV）。アルファトルクウイルス属（Alphatorquevirus）は、少なくとも5つ（例えば、7つ）の十分に支持される系統発生クレードがある（図11C）。本明細書に記載のアネロソームを生産するために、アネロウイルス（Anellovirus）のいずれかをウイルス源（例えば、ウイルスDNA配列の供給源）として用いることができると考えられる。

10

【1224】

これらの配列の中でも、最も高い保存は、5'UTRドメイン（約75%保存）及びGCリッチドメイン（100超の塩基対、70%超のGC含有率、約70%保存）に見出される。さらに、配列内の超可変ドメイン（HVD）は、非常に低い保存（約30%保存）を有する。全てのアネロウイルス（Anellovirus）はまた、3つのリーディングフレーム全てがオープンである領域も含む。いくつかの事例では、5'UTR又はGCリッチ領域は複製起点として機能し得る。

20

【1225】

本明細書にはまた、TTVクレード、並びにTTMDV及びTTMVの各々由来の代表的なウイルスの例示的な配列も提供し、これらは、保存領域と共にアノテートする（例えば、表A1～A12、B1～B5、C1～C5、又は1～18を参照）。

【1226】

実施例14：複製欠損アネロソーム及びヘルパーウイルス

アネロソームの複製及びパッケージングのために、いくつかのエレメントをトランスで提供することができる。これらは、DNA複製又はパッケージングを指令若しくは支持するタンパク質又はノンコーディングRNAを含む。トランスエレメントは、一部の事例において、ヘルパーウイルス、プラスミドなどのアネロソームに代わる供給源、又は細胞ゲノムから供給することができる。

30

【1227】

他のエレメントは、典型的に、シスで提供される。これらのエレメントは、例えば、複製起点として作用するアネロソームDNA（例えば、アネロソームDNAの増幅を可能にするために）又はパッケージングシグナル（例えば、タンパク質を結合して、ゲノムをキャプシドにロードするために）内の配列又は構造であってよい。一般に、複製欠損ウイルス又はアネロソームは、これらのエレメントの1つ又は複数欠失しているため、他のエレメントがトランスで提供されても、DNAは、感染性ビリオン又はアネロソームにパッケージされることが不可能である。

40

【1228】

複製欠損ウイルスは、例えば、同じ細胞内でのアネロソーム（例えば、複製欠損アネロソーム又はパッケージング欠損アネロソーム）の複製を制御するために、ヘルパーウイルスとして有用となり得る。一部の事例では、ヘルパーウイルスは、シス複製又はパッケージングエレメントを欠失しているが、タンパク質及びノンコーディングRNAなどのトランスエレメントは発現する。一般に、治療用アネロソームは、これらのトランスエレメントの一部又は全部を欠失しているため、それ自体で複製することはできないが、シスエレメントは保持する。細胞に同時トランスフェクト／感染すると、複製欠損ヘルパーウイルスは、アネロソームの増幅及びパッケージングを駆動する。そのため、収集されるパッケー

50

ジ粒子は、治療用アネロソームだけから構成され、ヘルパーウイルス混入を含まない。

【1229】

複製欠損アネロソームを作製するために、アネロウイルス (Anellovirus) のノンコーディング領域内の保存エレメントを除去する。特に、保存5'UTR及びGCリッチドメインの欠失を個別に、及び一緒に試験する。両エレメントは、ウイルス複製又はパッケージングに重要であると考えられる。加えて、これまで不明であった目的の領域を同定するために、ノンコーディング領域全体にわたって一連の欠失を実施する。

【1230】

複製エレメントの欠失が達成されると、例えば、qPCRにより測定した場合、細胞内のアネロソームDNA増幅の低減が起こるが、例えば、感染細胞に対するアッセイ (qPCR、ウエスタンブロット、蛍光アッセイ、又はルミネセンスアッセイのいずれか若しくは全てを含み得る) によりモニターした場合、一部の感染性アネロソーム産生を支持するであろう。パッケージングエレメントの欠失の達成は、アネロソームDNA増幅を崩壊させないため、qPCRによって、トランスフェクト細胞にアネロソームDNAの増加が観察されるであろう。しかし、アネロソームゲノムは包膜されないため、感染性アネロソームの産生は観察されないであろう。

【1231】

実施例15：複製可能アネロソームの製造方法

この実施例は、複製可能アネロソームの回収及びその生産のスケール拡大方法を説明する。アネロソームは、細胞内で複製するのに必要な全ての遺伝子エレメント及びORFをそのゲノムにコード化するとき、複製可能である。これらのアネロソームは、その複製に欠損がないため、トランで提供される補完活性を必要としない。しかしながら、これらは、転写のエンハンサー (例えば、酪酸ナトリウム) 又はウイルス転写因子 (例えば、アデノウイルスE1、E2、E4、VA；HSV Vp16及び前初期タンパク質) などのヘルパー活性を必要とし得る。

【1232】

この実施例では、線状又は環状いずれかの形態の合成アネロソームの完全長配列をコード化する二本鎖DNAを、T75フラスコ内の5E+05接着哺乳動物細胞に化学トランスフェクションにより、又は懸濁液中の5E+05細胞にエレクトロポレーションにより導入する。最適時間後 (例えば、トランスフェクションから3~7日後) に、細胞を上清培地中に掻き入れることにより、細胞及び上清を収集する。胆汁酸塩などの中性洗剤を最終濃度0.5%まで添加した後、37℃で30分間インキュベートする。塩化カルシウム及びマグネシウムをそれぞれ最終濃度0.5mM及び2.5mMまで添加する。エンドヌクレアーゼ (例えば、DNase I、ベンゾナーゼ) を添加し、25~37℃で0.5~4時間インキュベートする。アネロソーム懸濁液を1000×gで、4℃にて10分間遠心分離する。清澄化した上清を新しいチューブに移し、凍結防止バッファー (安定化バッファーとしても知られる) で1:1希釈した後、必要に応じて-80℃で保存する。これは、継代0のアネロソーム (P0) を産生する。洗剤の濃度を培養細胞に用いられる安全限界未満にするために、この接種材料をアネロソーム力価に応じて、無血清培地 (SFM) 中で少なくとも100倍以上に希釈する。

【1233】

T225フラスコ内の新鮮な単層の哺乳動物細胞を、培養物表面を被覆するのに十分な最少量で覆い、穏やかに揺らしながら、37℃及び5%二酸化炭素で90分間インキュベートする。このステップに用いる哺乳動物細胞は、P0回収に用いたものと同じ細胞型であってもよいし、そうでなくてもよい。このインキュベーション後、接種材料を40mlの無血清、非動物由来培地に取り替えた。細胞を37℃及び5%二酸化炭素で3~7日間インキュベートする。先に使用したのと同じ中性洗剤の4mlの10×溶液を添加して、最終洗剤濃度0.5%を達成してから、混合物を穏やかに攪拌しながら、37℃で30分間インキュベートする。エンドヌクレアーゼを添加し、25~37℃で0.5~4時間インキュベートする。次に、培地を収集し、1000×gで、4℃にて10分間遠心分離する

。清澄化した上清を40mlの安定化バッファーと混合した後、-80℃で保存する。これは、シードストック、又は継代1のアネロソーム（P1）を産生する。

【1234】

ストックの力価に応じて、これをSFM中で100倍以下に希釈してから、必要なサイズの多層フラスコで増殖させた細胞に添加する。感染多重度（MOI）及びインキュベーション時間を、より小さなスケールで最適化して、最大アネロソーム産生を確実にする。採取した後、必要に応じて、アネロソームを精製及び濃縮してもよい。例えば、本実施例に記載するようなワークフローを示す概略図を図12に提供する。

【1235】

実施例16：複製欠損アネロソームの製造方法

10

この実施例は、複製欠損アネロソームの回収及び生産スケール拡大方法を説明する。

【1236】

複製に関与する1つ又は複数のORF（例えば、ORF1、ORF1／1、ORF1／2、ORF2、ORF2／2、ORF2／3、及び／又はORF2t／3）の欠失により、アネロソームを複製欠損にすることができる。複製欠損アネロソームは、補完細胞株において増殖させることができる。このような細胞株は、アネロソーム増殖を促進するが、アネロソームのゲノム内では存在しないか、又は非機能性である構成体を構成的に発現する。

【1237】

一例では、アネロソーム増殖に関与する任意のORFの配列を、選択マーカをコード化する安定した細胞株の作製に好適なレンチウイルス（lenti virus）発現系にクローニングすると、本明細書に記載のようにレンチウイルス（lenti virus）ベクターが産生される。アネロソーム増殖を支持することができる哺乳動物細胞株をこのレンチウイルス（lenti virus）ベクターで感染させて、選択マーカ（例えば、プロマイシン又は他の抗生物質）による選択圧に付すことによって、クローニングされたORFを安定に組み込んだ細胞集団を選択する。この細胞株を特性決定して、この細胞株が操作アネロソームの欠損を補完し、従って、こうしたアネロソームの成長及び増殖を支持することが証明されたら、これを拡大し、凍結保存で保管する。これらの細胞の拡大及び維持の間、選択圧を維持するために、選択抗生物質を培地に添加する。アネロソームがこれらの細胞に導入されたら、選択抗生物質の添加を停止してもよい。

20

30

【1238】

この細胞株が樹立されたら、例えば、実施例15に記載のように、複製欠損アネロソームの増殖及び産生を実施する。

【1239】

実施例17：懸濁細胞を用いたアネロソームの生産

この実施例は、懸濁液中の細胞におけるアネロソームの生産を説明する。

【1240】

この実施例では、懸濁液条件下で増殖するように改変されたA549又は293Tプロデュース細胞を、37℃及び5%二酸化炭素のWAVEバイオリアクターバッグ内の動物性成分及び抗生物質無添加の懸濁培地（Thermo Fisher Scientific）中で増殖させる。これらの細胞は、 1×10^6 生存細胞/mLで接種され、アネロソーム配列を含むプラスミド、さらには、アネロソームをパッケージするのに好適又は必要な任意の補完プラスミドと一緒に（例えば、実施例16に記載の通り、複製欠損アネロソームの場合）、現在の適正製造基準（cGMP）に従い、リポフェクタミン2000（Thermo Fisher Scientific）を用いてトランスフェクトする。補完プラスミドは、一部の事例において、アネロソームゲノム（例えば、ウイルスゲノム、例えば、本明細書に記載のように、アネロウイルス（Anellovirus）ゲノムに基づくアネロソームゲノム）から欠失されているが、アネロソームの複製及びパッケージングに有用又は必要なウイルスタンパク質をコード化することができる。トランスフェクト細胞をWAVEバイオリアクターバッグ内で増殖させた後、上清を下記の時点：ラン

40

50

スフェクションから48、72、及び96時間後に採取する。遠心分離を用いて、各サンプルの細胞ペレットから上清を分離する。次に、採取した上清及び溶解細胞ペレットから、イオン交換クロマトグラフィーを用いて、パッケージアネロソーム粒子を精製する。

【1241】

例えば、精製調製物の少量アリコートを用いて、ウイルスゲノム抽出キット（Qiagen）によりアネロソームゲノムを採取した後、例えば、実施例18に記載の通り、アネロソームDNA配列に対してターゲティングさせるプライマー及びプローブを用いたqPCRを実施することにより、アネロソームの精製調製物中のゲノム当量を決定することができる。

【1242】

精製調製物中のアネロソームの感染力は、新しいA549細胞に感染する精製調製物の階段希釈物を調製することにより、定量することができる。トランスフェクションから72時間後にこれらの細胞を採取し、アネロソームDNA配列に特異的なプライマー及びプローブを用いて、ゲノムDNAに関するqPCRアッセイを実施する。

【1243】

実施例18：qPCRによるアネロソームゲノム当量の定量

この実施例は、アネロソームを定量するための加水分解プローブベースの定量PCRアッセイの開発を明らかにする。最終ユーザ最適化を含むソフトウェアGeneiousを用いて、TTV（アクセッション番号：AJ620231.1）及びTTMV（アクセッション番号：JX134045.1）の選択ゲノム配列に基づいて複数セットのプライマー及びプローブを設計した。プライマー配列を以下の表44に示す。

【1244】

【表156】

表 44: 定量 PCR により TTMV 及び TTV ゲノム当量を定量するために用いられるフォワード及びリバースプライマーの配列並びに加水分解プローブ。

TTMV		配列番号
フォワードプライマー	5'-GAAGCCCACCAAAAGCAATT-3'	697
リバースプライマー	5'-AGTTCCCGTGTCTATAGTCGA-3'	698
プローブ	5'-ACTTCGTTACAGAGTCCAGGGG-3'	699

TTV		
フォワードプライマー	5'-AGCAACAGGTAATGGAGGAC-3'	700
リバースプライマー	5'-TGGAAGCTGGGGTCTTTAAC-3'	701
プローブ	5'-TCTACCTTAGGTGCAAAGGGCC-3'	702

【1245】

開発プロセスの第1ステップとして、プライマー特異性を確認するために、SYBRグリーンケミストリーと共にTTV及びTTMVプライマーを用いて、qPCRを実行する。図13は、各プライマーペアの1つの明瞭な増幅ピークを示す。

【1246】

5'末端の蛍光団6FAM、及び3'末端のマイナーグループ結合非蛍光クエンチャー（MGBNFQ）で標識した加水分解プローブを注文した。次に、標準曲線の成分として精製プラスミドDNAと漸増濃度のプライマーを用いた2つの異なる市販のマスターミックスを使用して、新しいプライマー及びプローブのPCR効率を評価した。異なるセットのプ

ライマー・プローブに対する標的配列を含む精製プラスミドを用いて、標準曲線を作成した。7 log にわたる線形範囲と、20 μ l 反応物当たり15コピーの定量下限を達成するために、7回の10倍階段希釈を実施した。マスターミックス#2は、90～110%のPCR効率、すなわち、定量PCRに許容可能な値を生み出すことができた(図14)。qPCR用のプライマーは全て、IDTから注文した。蛍光団6FAM及びマイナーグループ結合非蛍光クエンチャー(MGBNFQ)に共役した加水分解プローブ並びに全てのqPCRマスターミックスは、Thermo Fisherから入手した。例示的な増幅プロットを図15に示す。

【1247】

これらのプライマー・プローブセット及び試薬を用いて、アネロソームストック中のゲノム当量(GEq)/mlを定量した。線形範囲は、20 μ l 反応物当たり1.5E+07～15GEqであったが、次にこれを用いて、図16A～16Bに示すように、GEq/mlを計算した。線形範囲より高い濃度を有するサンプルは、必要に応じて希釈することができる。

【1248】

実施例19：マウスにおいて外性タンパク質を発現させるためのアネロソームの使用
この実施例は、マウスにおいてホタルルシフェラーゼタンパク質を発現するように、トルク・テノミニウイルス(Torque Teno Mini Virus)(TTMV)が操作されているアネロソームの使用を説明する。

【1249】

ホタルルシフェラーゼ遺伝子をコード化する操作TTMVのDNA配列をコード化するプラスミドを化学トランスフェクションによりA549細胞(ヒト肺癌細胞株)に導入する。18 μ gのプラスミドDNAを10cm組織培養プレート内の70%密集細胞のトランスフェクションに使用する。TTMV配列が欠失した空ベクター骨格を陰性対照として用いた。トランスフェクションから5時間後、細胞をPBSで2回洗浄してから、37℃及び5%二酸化炭素の新鮮な増殖培地中で増殖させた。

【1250】

トランスフェクションから96時間後、トランスフェクトA549細胞をその上清と一緒に採取する。採取した材料を0.5%デオキシコール酸塩(重量/体積)で37℃にて1時間処理した後、エンドヌクレアーゼ処理を実施する。イオン交換クロマトグラフィーを用いて、この溶解物からアネロソーム粒子を精製する。アネロソーム濃度を決定するために、アネロソームストックのサンプルをウイルスDNA精製キットに通過させ、アネロソームDNA配列に向けてターゲティングされたプライマー及びプローブを用いて、ml当たりのゲノム当量をqPCRにより測定する。

【1251】

1×リン酸緩衝食塩水中のアネロソームのゲノム当量の用量範囲を8～10週齢のマウスに様々な注射経路で(例えば、静脈内、腹腔内、皮内、筋肉内)実施する。注射から3、7、10及び15日後、各動物について背側及び腹側バイオルミネセンスイメージングを実施する。イメージングは、製造者のプロトコルに従って、指示時点に各動物にルシフェラーゼ基質(Perkin-Elmer)を腹腔内添加した後、生体内イメージングすることにより実施する。

【1252】

実施例20：アネロソームDNAが宿主ゲノムに組み込まれたか否かを決定するためのゲノムアラインメント

この実施例は、トルク・テノウイルス(Torque Teno Virus)(TTV)がヒトゲノムに組み込まれたか否かを調べることによって、アネロソームDNAが宿主ゲノムに組み込まれ得るか否かを決定するために実施されるコンピュータ分析を説明する。

【1253】

配列間の局所類似性の領域を見出すBasic Local Alignment Se

10

20

30

40

50

arch Tool (BLAST) を用いて、5つの例示的なアルファトルクウイルス (Alphatorquevirus) クレードの各々から1つの代表的なTTV配列の完全なゲノムをヒトゲノム配列に対してアラインメントした。表45に示す代表的なTTV配列を分析した：

【1254】

【表157】

表 45: 代表的な TTV 配列

TTV クレード	NCBI アクセッション番号
クレード A	AB064597.1
クレード B	AB028669.1
クレード C	AJ20231.1
クレード D	AF122914.3
クレード E	AF298585.1

10

【1255】

アラインメントしたTTVのいずれに由来する配列も、ヒトゲノムに対して有意な類似性がないことが判明し、これは、TTVが、ヒトゲノムに組み込まれていないことを示している。

20

【1256】

実施例 21：宿主ゲノムへのアネロソーム組込みの評価

この実施例では、A549細胞（ヒト肺癌細胞株）及びHEK293T細胞（ヒト胎児腎細胞株）をアネロソーム粒子又はAAV粒子のいずれかに、5、10、30若しくは50のMOIで感染させる。感染から5時間後、細胞をPBSで洗浄してから、新鮮な増殖培地に取り換える。次に、細胞を37℃及び5%二酸化炭素で増殖する。感染から5日後、細胞を採取し、ゲノムDNA抽出キット（Qiagen）を用いて、これら进行处理することにより、ゲノムDNAを採取する。また、非感染細胞（陰性対照）からもゲノムDNAを採取する。Nextera DNAライブラリー調製キット（Illumina）を用いて、製造者のプロトコルに従い、これらの採取したDNAについて全ゲノムシーケンシングライブラリーを調製する。NextSeq 550システム（Illumina）を用いて、製造者のプロトコルに従い、DNAライブラリーをシーケンシングする。シーケンシングデータを参照ゲノムに対してアセンブルし、分析して、アネロソーム又はAAVゲノムと宿主ゲノム同士のジャンクションを探す。ジャンクションが検出される場合、これらを、PCRによるシーケンシングライブラリー調製前の元のゲノムDNAサンプル中で確認する。ジャンクションを含み、それを取り囲む領域を増幅するように、プライマーを設計する。qPCRによりジャンクションの数（組込み事象を表す）及びサンプル中のアネロソームコピーの総数を定量することによって、宿主ゲノムへのアネロソームの組込みの頻度を決定する。この比率をAAVのものと比較することができる。

30

40

【1257】

実施例 22：外性マイクロRNA配列を発現するアネロソームの機能効果

この実施例には、ネイティブプロモータを用いた、アネロソームゲノムからの外性miRNA（miR-625）の発現の達成を実証する。

【1258】

500ngの下記プラスミドDNAを24ウェルプレート内のHEK293T細胞の60%密集ウェルにトランスフェクトした：

i) 空のプラスミドバックボーン

50

i i) 内在性miRNAがノックアウト(KO)されたTTV-tth8ゲノムを含有するプラスミド

i i i) 内在性miRNAが非ターゲティングスクランブルmiRNAで置換されているTTV-tth8

i v) 内在性miRNAが、miR-625をコード化するmiRNAで置換されているTTV-tth8

【1259】

トランスフェクションから72時間後、Qiagen miRNeasyキットを用いて、トランスフェクトした細胞から全miRNAを回収した後、miRNA Script RT IIキットを用いて、逆転写を行った。miR-625又はRNU6低分子RNAを特異的に検出するプライマーを用いて、逆転写DNAについて定量PCRを実施した。RNU6低分子RNAをハウスキーピング遺伝子として使用し、空のベクターに対する倍率変化としてデータを図17にプロットする。図17に示すように、miR-625アネロソームは、miR-625発現に約100倍の増大をもたらしたが、空のベクター、miRNAノックアウト(KO)、及びスクランブルmiRの場合、シグナルは検出されなかった。

【1260】

実施例23：外性ノンコーディングRNAを発現するためのアネロソームの調製及び生産
この実施例は、外性低分子ノンコーディングRNAを発現するためのアネロソームの合成及び生産を説明する。

【1261】

TTVのtth8株からのDNA配列(Jelcic et al, Journal of Virology, 2004)を合成し、細菌の複製起点と細菌の抗生物質耐性遺伝子を含むベクターにクローニングする。このベクターでは、TTV miRNAヘアピンをコード化するDNA配列は、miRNA又はshRNAなどの外性低分子ノンコーディングRNAをコード化するDNA配列により置換される。次に、操作構築物をエレクトロコンピテント細菌に形質転換した後、製造者のプロトコルに従い、プラスミド精製キットを用いてプラスミド単離を実施する。

【1262】

外性低分子ノンコーディングRNAをコード化するアネロソームDNAを真核プロデュース細胞株にトランスフェクトして、アネロソーム粒子を産生させる。トランスフェクション後の様々な時点で、アネロソーム粒子を含有するトランスフェクト細胞の上清を採取する。ろ過した上清からのアネロソーム粒子又は精製後のアネロソーム粒子のいずれかを、例えば、本明細書に記載のように下流適用のために使用する。

【1263】

実施例24：アネロウイルス(Anellovirus)クレードにおける保存
この実施例は、アルファトルクウイルス(alphatorquevirus)属の7つのクレードの同定を説明する。これらのクレード間の代表的な配列は、配列全域で54.7%のペアワイズ同一性を示した(図18)。ペアワイズ同一性は、オープンリーディングフレーム間で最も低く(約48.8%)、ノンコーディング領域でより高い(5' NCRで69.1%、3' NCRで74.6%)(図18)。これは、ノンコーディング領域内のDNA配列又は構造が、ウイルス複製に重要な役割を果たすことを示唆している。

【1264】

アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus)中の推定タンパク質のアミノ酸配列も比較した。DNA配列は、約47~50%のペアワイズ同一性を示したのに対し、アミノ酸配列は、約32~38%のペアワイズ同一性を示した(図19)。興味深いことには、アルファトルクウイルス(Alphatorquevirus)クレードからの代表的な配列は、インビボで複製を達成することができ、また、ヒト集団に認められる。これは、アネロウイルスタンパク質のアミノ酸配列が、複製及びパッケージングなどの機能性を保持しながら、大きく変動し得ることを示唆している。

10

20

30

40

50

【1265】

アネロウイルス (Anellovirus) は、ノンコーディング領域内に局所的に高い保存の領域を有することが判明した。プロモータ下流の領域には、71-bp 5' UTR 保存ドメインがあり、これは、7つのアルファトルクウイルス (alphatorquevirus) クレード間で95.2%のペアワイズ同一性を示した (図20)。アルファトルクウイルス (alphatorquevirus) の3' ノンコーディング領域内のオープンリーディングフレームの下流には、代表的な配列間で実質的なペアワイズ同一性を有する領域があった。アネロウイルス (Anellovirus) はまた、70%を超えるGC含有率を有するGCリッチ領域も含み、これらは、それらがアラインメントする領域で75.4%のペアワイズ同一性を呈示した (図21)。

10

【1266】

実施例25：アネロソームからの内在性miRNAの発現及び内在性miRNAの欠失
1つの実施例では、修飾TTV-tth8株ゲノム (実施例27に記載されるように、GCリッチ領域中の欠失でTTV-tth8株ゲノムを修飾した) を含むアネロソームを用いて、培養中のRaji B細胞を感染させた。これらのアネロソームは、TTV-tth8アネロウイルス (Anellovirus) の内在性ペイロードをコード化する配列 (n-myc相互作用タンパク質 (NMI) をコード化するmRNAをターゲティングするmiRNAである) を含み、これらは、アネロウイルス (Anellovirus) ゲノムを含むプラスミドを宿主細胞内に導入することによって生産した。NMIは、JAK/STAT経路の下流で作動して、インターフェロン刺激遺伝子、増殖及び成長遺伝子、並びに炎症反応の媒介物質をはじめとする多様な細胞内シグナルの転写を調節する。図22に示すように、標的Raji B細胞中にウイルスゲノムが検出された。対照細胞と比較して、標的Raji B細胞中にNMIのノックダウンの達成が観察された (図23)。NMIに対するmiRNAを含むアネロソームは、対照細胞と比較して、NMIタンパク質レベルの75%超の低下を誘導した。この実施例は、ネイティブアネロウイルス (Anellovirus) miRNAを含むアネロソームが、宿主細胞中の標的分子をノックダウンすることができることを実証する。

20

【1267】

別の実施例では、アネロウイルス (Anellovirus) に基づくアネロソームの内在性miRNAを欠失させた。次に、得られたアネロソーム (Δ miR) を宿主細胞と一緒にインキュベートした。続いて、アネロソーム遺伝子エレメントのゲノム等量を、内在性miRNAが保持された対応するアネロソームと比較した。図24に示すように、内在性miRNAが欠失したアネロソームゲノムは、内在性miRNAが依然として存在するアネロソームに認められるものと同等のレベルで細胞中に検出された。この実施例は、アネロウイルス (Anellovirus) に基づくアネロソームの内在性miRNAを突然変異させる、又は完全に欠失させても、アネロソームゲノムが、依然として標的細胞中に検出され得ることを実証する。

30

【1268】

実施例26：アネロウイルス (Anellovirus) ORFの局在化

この実施例は、アネロウイルス (Anellovirus) の様々なORFの新たな機能性を説明する。この実施例では、各ORFのN末端側で、タグ付けされたタンパク質 (即ち、ナノルシフェラーゼ) の下流に推定オープンリーディングフレーム (ORF配列を設計した。各ORF-nLucプラスミドは、化学トランスフェクションにより12ウェルプレート内の5E+05細胞中に、又はエレクトロポレーションにより懸濁液中の5E+05細胞中に導入した。最適な期間後 (例えば、トランスフェクションから3~7日後) に、PBS中の4%パラホルムアルデヒド (ThermoFisher cat # 28908) で細胞を固定し、0.5% Triton (登録商標) X-100で透過処理してから、ウサギポリクローナル抗nLuc抗体 (Promega Corp. からの親切な寄贈品)、続いてヤギ抗ウサギAlexa488 (ThermoFisher cat # A-11008) 共役二次抗体でnLucを染色した。DAPI (ThermoFisher

40

50

er cat # D 3 5 7 1) で核を染色した。染色した細胞は、タグ付けしたタンパク質細胞局在化について、20×対物レンズ及びモノクローム A x i o c a m 5 0 6 カメラを備える Z e i s s A x i o V e r t A 1 で視覚化した。

【1269】

図 2 5 A ~ 2 5 B に示すように、O R F 2 は細胞質中に局在化して観察され、O R F 1 / 1 は、V e r o 細胞及び H E K 2 9 3 細胞の両方で核に局在化して観察された。図 2 5 C は、O R F 1 / 2 及び O R F 2 / 2 の局在化を示す。

【1270】

実施例 2 7 : アネロソーム作製に必要な領域の特性決定

この実施例は、ウイルス複製及びアネロソーム生産に十分なゲノムの部分の特性決定に役立つアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) ゲノム中の欠失を説明する。O R F 下流の T T V - t t h 8 のノンコーディング領域 (N C R) 中に一続きの欠失を作製した (n t s 3 0 1 6 ~ 3 7 5 3)。36ヌクレオチド (n t) 配列 (C G C G C T G C G C G C G C C G C C C A G T A G G G G G A G C C A T G C (配列番号 160)) を G C 領域から欠失させた ($\Delta 36$ n t (G C) と称する)。さらに、78-n t p r e - m i c r o R N A 配列

【化 1 5】

(CCGCCATCTTAAGTAGTTGAGGCGGACGGTGGCGTGAGTTCAAAGGTCACCATCAGCCACA
CCTACTCAAAATGGTGG (配列番号 161))

を 3' N C R から欠失させた ($\Delta 36$ n t (G C) Δ m i R と呼称)。最後に、 $\Delta 36$ n t (G C) の 3' N C R 中の追加 171 n t s を欠失させ

【化 1 6】

(CTTAAGTAGTTGAGGCGGACGGTGGCGTGAGTTCAAAGGTCACCATCAGCCACACCTACTC
AAAATGGTGGACAATTTCTTCCGGGTCAAAGGTTACAGCCGCCATGTTAAAACACGTGACGT
ATGACGTCACGGCCGCCATTTTGTGACACAAGATGGCCGACTTCCTTCC (配列番号 162))

、 $\Delta 3'$ N C R と称した (表 2 6)。2 μ g の環状 p T T V - t t h 8 (W T)、p T T V - t t h 8 ($\Delta 36$ n t (G C))、p T T V - t t h 8 ($\Delta 36$ n t (G C) Δ m i R)、p T T V - t t h 8 ($\Delta 3'$ N C R) D N A プラスミド (それぞれ前述した改変 3' N C R T T V - t t h 8 を保有する) を、リポフェクタミン 2000 を用いた 12 ウェルプレート中の 60% 密集の H E K 2 9 3 に、3 回反復でトランスフェクトした。トランスフェクションから 48 時間後、細胞ペレットを回収し、溶解させて、m R N A 転写物を単離した (R N e a s y, Q i a g e n c a t # 7 4 1 0 4) 後、c D N A に変換した (H i g h - C a p a c i t y c D N A R e v e r s e T r a n s c r i p t i o n k i t, T h e r m o F i s h e r, c a t # 4 3 6 8 8 1 4)。全てのサンプルに対して q P C R を実施して、各欠失を含むウイルス転写物発現を測定した後、G A P D H の内標準 m R N A に対して正規化した。

【1271】

図 2 7 A ~ 2 7 D に示すように、欠失変異体の 3 つ全てが、インビトロでウイルス転写物発現を有意に阻害した。従って、T T V - t t h 8 の 3' N C R は、トランスジーンの発現のためのアネロソーム生産に必要である。

【1272】

T T V 株 t t h 8、GeneBank アクセッション番号 A J 6 2 0 2 3 1. 1 は全ゲノム配列として寄託された。しかし、G C リッチ領域には、遺伝子 N としてアノテートされる 36ヌクレオチドの区間がある。この領域は、T T V 株の間で高度に保存されているため、これらのウイルスの生物学には重要となり得る。数百の T T V 株の D N A 配列を計算によりアラインメントし、それを用いて、これらの 36ヌクレオチドの強力なコンセンサ

ス配列 (C G C G C T G C G C G C G C C G C C C A G T A G G G G G A G C C A T G C (配列番号 160)) を作製した。本明細書で「野生型」と呼ばれる TTV-tth8 ゲノム配列は、一般に入手可能な TTV-tth8 配列に列挙される 36 N の区間の代わりに挿入されたこのコンセンサス配列を有した。

【1273】

実施例 28：インビボでの外性タンパク質のアネロソーム送達

この実施例は、投与後のアネロソームのインビボでのエフェクター機能（例えば、タンパク質の発現）を実証する。

【1274】

ナノールシフェラーゼ (nLuc) をコード化するトランスジーンを含むアネロソーム (図 28A～28B) を調製した。手短には、TTMV-LY2 ノンコーディング領域と nLuc 発現カセットを保有する二本鎖 DNA プラスミドを、trans 複製及びパッケージング因子として働く全 TTMV-LY2 ゲノムをコード化する二本鎖 DNA プラスミドと一緒に HEK293T 細胞にトランスフェクトした。トランスフェクション後、細胞をインキュベートして、アネロソーム生産を可能にし、アネロソーム材料を回収して、ヌクレアーゼ処理、限外濾過／透析濾過、及び滅菌濾過により濃縮した。「非ウイルス」陰性対照として用いるために、さらに別の HEK293T 細胞を、nLuc 発現カセット及び TTMV-LY2 ORF トランスフェクションカセットを保有するが、複製及びパッケージング必須のノンコーディングドメインを欠失した非複製 DNA でトランスフェクトした。アネロソーム材料と同じプロトコルに従って、非ウイルスサンプルを調製した。

【1275】

アネロソーム調製物を 3 匹の健康なマウスのコホートに筋肉内投与し、9 日の期間にわたって IVIS Lumina imaging (Bruker) によりモニターした (図 29A)。非ウイルス対照として、別の 3 匹のマウスに非複製調製物を投与した (図 29B)。25 µL のアネロソーム又は非ウイルス調製物の注射は、第 0 日に左後脚に投与し、第 4 日に右後脚に再投与した (図 29A 及び B の矢印を参照)。IVIS イメージングの 9 日後、非ウイルス調製物 (図 29B) と比較して、アネロソーム調製物を注射したマウス (図 29A) に、より多くの nLuc 発光シグナル発生が観察されたが、これは、インビボアネロソーム形質導入後のトランス遺伝子発現と一致する。

【1276】

実施例 29：アネロウイルス (Anellovirus) における前駆体 miRNA (pre-miR) の同定

この実施例は、多様なアネロウイルス (Anellovirus) によりコード化される新たな前駆体 miRNA を同定するための様々な計算及び実験アプローチを説明する。

【1277】

計算方法

アネロウイルス (Anellovirus) 株は、ヌクレオチド配列のレベルが互いに極めて異なっている。しかし、アネロウイルス (Anellovirus) 株、特に同じクレードのものは、プロモータ、GC リッチ領域、ノンコーディング領域、及びコーディング領域など様々な成分のゲノム機構に関して互いにかかなりの類似性を呈示し得る (例えば、図 29D を参照)。本明細書には、多様なアネロウイルス (Anellovirus) 株 (その pre-miR 配列は不明) の pre-miR 配列を、その pre-miR 配列が実験によって既に確認されているアネロウイルス (Anellovirus) 株とアラインメントすることにより、予測する方法が記載される。

【1278】

手短には、多様なアネロウイルス (Anellovirus) 株によりコード化される新たな pre-miR 配列を見出すために、細胞株及び様々なヒト由来サンプルからの低分子 RNA についての種々の一般に入手可能な低分子 RNA シーケンシングデータをマイニングした。構造予測又は機械学習分類に基づく一般に入手可能な計算ツール及びアルゴリズム、例えば、mFold プログラム、miRNA DA アルゴリズム、miRScan、

10

20

30

40

50

miRanalyzer、miRDeep (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1559940/>、<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2015.00007/full>) などを利用して、様々なアネロによってコード化される新たなmiRNAを予測する。次に、特定のmiRNA配列に対して設計されたプローブを用いるノーザンブロット及び／又はmiRNAに対して特異的なプライマーを用いるRT-qPCRを使用して、新たなmiRNAの発現を確認、証明及び定量する。

【1279】

実験方法

1つの実施例では、新たなアネロウイルス (Anellovirus) コード化 pre-miRNAを見出すために、アネロに感染したヒト組織又は血液サンプルに対してハイスループット低分子RNAシーケンシングを実施する。これを実施するために、均質化したヒト組織サンプル又はヒト血液サンプルからRNAを採取する。低分子RNAライブラリーを調製し、Illuminaキット及びシーケンシングプラットフォームを用いてシーケンシングする。BaseSpace Sequence Hub (Illumina) によりシーケンシングリードを保存、アラインメント、及び解析する。

【1280】

第2の実施例では、アネロウイルス (Anellovirus) によりコード化される新たな pre-miRNAを見出すために、以下の条件で処理した様々な細胞株に対してハイスループット低分子RNAシーケンシングを実施する：(a) 天然に存在するアネロウイルス (Anellovirus) に感染した細胞株、インビトロで合成されたアネロウイルス (Anellovirus) ゲノムでトランスフェクトした細胞株、及び(c) 合成ゲノムを用いてインビトロでパッケージングされたアネロウイルス (Anellovirus) に感染した細胞株。特定のmiRNA配列に対して設計されたプローブを用いるノーザンブロット及び／又はmiRNAに対して特異的なプライマーを用いるRT-qPCRを使用して、新たなmiRNAの発現を確認、証明及び定量する。

【1281】

実施例30：アネロウイルス (Anellovirus) pre-miRの内在性標的の決定

この実施例は、内在性標的、並びにアネロウイルス (Anellovirus) の様々な株によりコード化される pre-miRの潜在的治療関連標的経路を決定するための分析を説明する。

【1282】

様々なアネロウイルス (Anellovirus) によりコード化され、計算により予測及び／又は実験により確認された個々の pre-miRNA配列を、U6プロモータにより駆動されるレンチウイルスベクターにクローニングする。また、U6プロモータにより駆動される非ターゲティングスクランブルmiRNA配列も、対照として使用されると同様にクローニングする。レンチウイルスプラスミドは、それがパッケージングされると、(i) U6プロモータにより駆動される pre-miRNA配列、(ii) SV40プロモータにより駆動されるピューロマイシン耐性遺伝子、及び(iii) CMVプロモータにより駆動される緑色蛍光タンパク質 (GFP) 遺伝子を含むようにクローニングされる。これらのレンチウイルスプラスミドの各々を個別に、ウイルスをパッケージングするためのレンチウイルスヘルパーウイルスプラスミドと一緒にHEK293T細胞に共トランスフェクトする。トランスフェクションから6時間後、トランスフェクトした細胞の培地を吸引し、PBSで1回洗浄した後、新鮮な培地に取り換える。レンチウイルスを含むこの培地をトランスフェクションから72時間後に回収する。培地を0.4µmフィルターを介して濾過して、細胞を全て除去した後、これらを用いて、HeLa、Raji、及びTHP1などの目的の細胞型に、3回反復して感染させる。組み込まれたレンチウイルスゲノムを含む細胞を、ピューロマイシンを用いた処理により選択するが、

10

20

30

40

50

これは、感染から3日後に開始する。RNA抽出キット (Q i a g e n) を用いて、安定に選択した細胞株からRNAを採取した後、逆転写酵素キット (T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c) を用いてcDNAへの逆転写を行う。cDNAサンプルをプロセッシングして、インデックス付きショートリードライブラリーを作製する。I l l u m i n a シーケンシングプラットフォームを用い、固有のインデックス付きショートリードライブラリーを配列に対し多重化して、サンプル当たり約2千万リードを生成する。B a s e S p a c e S e q u e n c e H u b (I l l u m i n a) を用いて、シーケンシングリードを保存、アラインメント、及び解析する。個々の候補pre-miR各々の標的は、スクランブルpre-miRを発現する細胞株中のものと、候補pre-miRを発現する細胞株中の遺伝子の発現を比較することにより決定する。I n g e n u i t y P a t h w a y 解析を実施して、pre-miRNAが特定の経路、特に治療に関連する経路をターゲティングするか否かを試験する。この実施例に記載されるワークフローの概略図を図30に示す。

10

【1283】

実施例31：ネイティブアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) pre-miRをコード化するアネロソームの作製

この実施例は、ネイティブアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) pre-miRを発現するアネロソームの複製又は非複製形態のいずれかをパッケージングする方法を説明する。

【1284】

以下の成分：(i) 複製起点、(ii) アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) pre-miRNAをコード化する配列、(iii) pre-miRNAの発現を駆動するU6又はH1などのRNAポリメラーゼIII、及び(iv) パッケージングシグナルを含有する、アネロソームの非複製形態のゲノムを合成する。このゲノムは、ウイルスパッケージングに必要な全てのタンパク質を安定に発現するヘルパー細胞株にトランスフェクトすることによってパッケージングする。トランスフェクトした細胞をトランスフェクションから7日後に回収し、本明細書に記載される通り、プロセッシングして、アネロソーム調製物を作製する。本明細書に記載される通り、qPCRを実施することにより、アネロソーム調製物のゲノム当量力価を決定する。次に、適切な用量のアネロソーム調製物を下流での適用のために使用する。

20

30

【1285】

アネロソームの複製形態のゲノムは、ネイティブアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) の作製により合成することができるが、但し、その際、例えば、U6又は組織特異的プロモータなどの外性プロモータを用いてpre-miRNA配列の発現を操作する。H E K 2 9 3 T細胞にトランスフェクトすることにより、ゲノムをパッケージングする。トランスフェクトした細胞をトランスフェクションから7日後に回収し、本明細書に記載される通り、プロセッシングして、アネロソーム調製物を作製する。本明細書に記載される通り、qPCRを実施することにより、アネロソーム調製物のゲノム当量力価を決定する。次に、適切な用量のアネロソーム調製物を下流での適用のために使用する。

【1286】

実施例32：インビトロ細胞培養モデルにおける腫瘍抑制因子としてのアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) pre-miRの使用

この実施例は、例えば、実施例29に記載されるような分析から腫瘍抑制性として同定された候補pre-miRの表現型効果を確認するための試験を説明する。

【1287】

腫瘍抑制効果を有する候補pre-miRNAを実施例29に記載のような分析に基づいて同定する。これらのpre-miRNA、並びにスクランブルpre-miRNAをコード化するアネロソームの複製形態のアネロソーム調製物を実施例31に記載のように調製する。NCI-60癌細胞株由来の癌細胞株を96ウェルプレートに平板培養する。30%密集に達したら、これらの細胞株を、細胞当たり5ゲノム当量の用量で候補pre-

40

50

miR又はスクランブルpre-miRを含むアネロソームで処理する。感染から5時間後にアネロソーム含有培地を吸引した後、PBSで2回洗浄してから、新鮮な培地に取り換える。処理から3日後、処理細胞に対してアラマー（Alamar）ブルーアッセイを実施して、どちらのpre-miRが、癌細胞株の増殖を阻害するかを決定する。

【1288】

実施例33：インビボでの腫瘍抑制因子としてのアネロウイルス（Anellovirus）pre-miRの使用

この実施例は、実施例32に記載されるようなインビトロ分析から、ショートリストに掲載される腫瘍抑制性アネロウイルス（Anellovirus）pre-miR及び癌細胞株についての腫瘍抑制効果を確認するためのインビボ実験を説明する。

10

【1289】

実施例32に記載の分析からショートリストに掲載される癌細胞株を、マトリゲル（Matrigel）と一緒に、無胸腺マウスの脇腹に皮下注射することにより、異種移植片を作製する。異種移植片が触知可能になったら、腫瘍抑制pre-miRNA又はスクランブルpre-miRNAをコード化するアネロソームの 3×10^6 ゲノム当量の局所注射を実施する。腫瘍成長に対するアネロソーム注射の効果を、3週間にわたる常用の腫瘍成長測定、実験終了時の異種移植片腫瘍の腫瘍重量測定、並びにBrdU組込みアッセイにより決定する。

【1290】

実施例34：アネロウイルス（Anellovirus）ゲノムのタンデムコピー

20

この実施例は、上流ゲノムのGCリッチ領域が、下流ゲノムの5'領域付近（図31A）に位置するようにタンデムで配列された、単一アネロウイルスゲノムの2つのコピーを含むプラスミドに基づく発現ベクターを説明する。

【1291】

アネロウイルスは、ローリングサークル複製によって複製するが、ここで、レプリカーゼ（Rep）タンパク質は複製起点でゲノムに結合し、サークルの周りでDNA合成を開始する。プラスミドバックボーンに含まれるアネロウイルス（Anellovirus）ゲノムの場合、これは、ネイティブウイルスゲノムより長い完全プラスミド長の複製、又は最小バックボーンを有するゲノムを含む、より小さな環を形成するプラスミドの組換えのいずれかを必要とする。従って、プラスミドのウイルス複製は不十分となり得る。ウイルス複製効率を改善するために、TTV-tth8及びTTMV-LY2のタンデムコピーを用いて、プラスミドを操作した。これらのプラスミドは、アネロウイルスゲノムの考えられるあらゆる循環置換を呈示した：Repタンパク質がどこに結合するかとは関係なく、これは、上流複製起点から下流起点へのウイルスゲノムの複製を駆動することができる。ブタアネロウイルス（Anellovirus）を生産するために、類似の戦略が使用されている（Huang et al., 2012, Journal of Virology 86 (11) 6042-6054）。

30

【1292】

続いて、2つの配列の間に12bpの非ウイルスDNAを残して、ゲノムのコピーをプラスミドバックボーンに順次クローニングすることにより、タンデムTTV-tth8をアセンブルした。いくつかのTTV-tth8変異体をタンデムプラスミドにアセンブルしたが、これらは、GCリッチ領域から36塩基対を欠失した野生型及びTTV-tth8（Δ36GC）（即ち、本明細書に記載の36-ヌクレオチドGCリッチ領域を含むように操作されたTTV-tth8）を含む。タンデムTTMV-LY2は、ゴールデンゲート（Golden-gate）アセンブリを介してアセンブルされ、これは、ゲノムの2コピーを同時にバックボーンに組み込み、ゲノム間に余剰のヌクレオチドを一切残さない。

40

【1293】

TTV-tth8（Δ36GC）のタンデムコピーを含むプラスミドをHEK293T細胞にトランスフェクトした。細胞を5日間インキュベートした後、0.1% Triton

50

(登録商標) X-100を用いて溶解させ、ヌクレアーゼで処理して、ウイルスキャプシドにより保護されないDNAを消化した。次に、TTV-tth8ゲノム配列のTaqmanプローブ及びプラスミドバックボーンを用いて、qPCRを実施した。TTV-tth8ゲノムコピーをバックボーンコピーに対して正規化した。図31Bに示すように、タンデムTTV-tth8は、単一コピー含有プラスミドの4倍を超える数のウイルスゲノムを産生した。2倍の数のTTV-tth8ゲノム配列を占める場合、タンデムプラスミドは、トランスフェクトされたコピーにつき新しく合成されたゲノムの2倍超を産生した。これらのデータは、タンデムアネロウイルス(Aneellovirus)ゲノムの操作がウイルスゲノム複製を増大することができ、従って、アネロウイルス(Aneellovirus)生産を増大する戦略として使用できることを実証するものである。

10

【1294】

実施例35：インビトロで環状化したアネロウイルス(Aneellovirus)ゲノムこの実施例は、最小非ウイルスDNAと共に、環状二本鎖環状アネロウイルス(Aneellovirus)ゲノムDNAを含む構築物を説明する。これらの環状ウイルスゲノムは、野生型アネロウイルス(Aneellovirus)複製中に見出される二本鎖DNA中間体と、より高度に一致する。細胞に導入したら、最小非ウイルスDNAを含むこのような環状の二本鎖アネロウイルス(Aneellovirus)ゲノムDNAをローリングサークル複製に付して、例えば、本明細書に記載される遺伝子エレメントを生産することができる。

20

【1295】

1つの実施例では、TTV-tth8変異体及びTTMV-LY2を保有するプラスミドを、ゲノムDNAとフランキングする部位を認識する制限エンドヌクレアーゼで消化した。次に、得られた線状化ゲノムを連結して、環状DNAを形成した。これらの連結反応は、分子内連結を最適化するために、様々なDNA濃度を用いて実施した。連結した環は、哺乳動物細胞に直接トランスフェクトとするか、又はプラスミドバックボーンを切断するために制限エンドヌクレアーゼで、また線状DNAを分解するためにエキソヌクレアーゼで消化することによりさらに処理して、非環状ゲノムDNAを除去した。TTV-tth8の場合、XmaIエンドヌクレアーゼを用いて、DNAを線状化し；連結した環は、GCリッチ領域と5'ノンコーディング領域との間に53bpの非ウイルスDNAを含有した。TTMV-LY2の場合、IIS型制限酵素Esp31を使用し、非ウイルスDNAを含まないウイルスゲノムDNA環を取得した。このプロトコルは、以前公開されたTTV-tth8の環状化(Kincaid et al., 2013, PLoS Pathogens 9(12):e1003818)から改変した。アネロウイルス(Aneellovirus)生産の改善を実証するために、環状化TTV-tth8及びTTMV-LY2をHEK293T細胞にトランスフェクトした。7日のインキュベーション後、細胞を溶解させ、qPCRを実施して、環状化アネロウイルスとプラスミドに基づくアネロウイルスの間でアネロウイルスゲノムのレベルを比較した。アネロウイルス(Aneellovirus)ゲノムのレベル増加は、ウイルスDNAの環状化が、アネロウイルス(Aneellovirus)生産を増加する上で有用な戦略であることを示している。

30

【1296】

別の実施例では、TTMV-LY2プラスミド(pVL46-240)及びTTMV-LY2-nLucをそれぞれ、EcoRI又はEcoRV-HFで線状化した。消化したプラスミドを1%アガロースゲルで精製した後、電気泳動溶出又はQiaGenカラム精製及びT4 DNAリガーゼを用いた連結に付した。環状化DNAを100kDa UF/DF膜で濃縮した後、トランスフェクションを実施した。図31Cに示すように、環状化をゲル電気泳動により確認した。Lipofectamine 2000によるリポフェクションの1日前に、T-225フラスコを3×10⁴細胞/cm²のHEK293Tで接種した。フラスコ接種から1日後に、9マイクログラムの環状化TTMV-LY2 DNA及び50μgの環状化TTMV-LY2-nLucを共トランスフェクトした。比較として、追加のT-225フラスコを50μgの線状化TTMV-LY2及び50μgの線

40

50

状化 T T M V - L Y 2 - n L u c で共トランスフェクトした。

【1297】

アネロソーム生産は、T r i t o n（登録商標） X - 1 0 0 ハーベストバッファー中で細胞回収前の8日間実施した。一般に、アネロソームは、例えば、宿主細胞の溶解、溶解物の清浄化、濾過、及びクロマトグラフィーによって濃縮することができる。この実施例では、回収した細胞をヌクレアーゼで処理した後、塩化ナトリウム調節、続いて1.2 μ m / 0.45 μ m 正常流濾過を実施した。清浄化した回収物を濃縮し、750 kDa M W C O m P E S 中空糸膜上で P B S 中にバッファー交換した。T F F 保持液を0.45 μ m フィルターで濾過した後、P B S 中で予め平衡させた S e p h a c r y l S - 5 0 0 H R S E C カラムにロードした。アネロソームを30 cm / hr で S E C カラムを介して処理した。個々の画分を収集し、図31Dに示すように、ウイルスゲノムコピー数及びトランスジーンコピー数について q P C R により検定した。ウイルスゲノム及びトランスジーンコピーは、S E C クロマトグラムの空隙容積、画分7から開始して観測した。残留プラスミドピークを画分15で観測した。T T M V - L Y 2 ゲノム及び T T M V - L Y 2 - n L u c トランスジーンのコピー数は、画分7～画分10で、環状化インプット D N A を用いて産生されたアネロソームについて十分に一致しており、これは、n L u c トランスジーンを含有するパッケージ済アネロソームを示す。S E C 画分をプールし、100 kDa M W C O P V D F 膜を用いて濃縮してから、0.2 μ m で濾過した後、インビボ投与した。

10

【1298】

インプットアネロソーム D N A の環状化によって、線状化アネロソーム D N A と比較して、精製工程全体を通して、ヌクレアーゼ保護ゲノムの3倍の回収率増加が達成され、これは、表46に示されるように、環状化インプットアネロソーム D N A を用いた製造効率の改善を示している。

20

【1299】

30

40

50

【表 1 5 8】

表 46. 精製工程収率

ステップ	線状化 TTMV-LY2		環状化 TTMV-LY2	
	総ウイルス ゲノムコピー	総 nLuc トランス ジーン ゲノム コピー	総ウイルス ゲノム コピー	総 nLuc トランス ジーンゲノム コピー
ヌクレアーゼ 前の回収物	2.78E+12	2.17E+12	1.04E+11	4.39E+11
清浄化した 回収物	9.96E+09	5.48E+09	6.55E+08	9.81E+08
TFF	1.01E+10	7.66E+09	2.58E+08	3.56E+08
SEC	3.18E+07	8.73E+06	9.16E+06	7.75E+06
UF/DF	8.82E+06	3.25E+06	1.78E+06	2.73E+06
滅菌濾過	5.60E+06	2.64E+06	8.66E+05	1.63E+06
精製工程収 率(%)	0.0002%	0.0001%	0.0006%	0.0004%

10

20

30

【1300】

実施例 36：ORF1 のモデル化と、保存残基及びドメインの同定

この実施例は、ベータトルクウイルス（Betatorquevirus）の ORF1 タンパク質のインシリコモデル化、並びに構造モチーフ及びアミノ酸保存／類似性に基づく推定ドメインの画定を説明する。

【1301】

ORF1 タンパク質は、PSIPred (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/>) を用いた二次構造予測におけるアルギニンリッチ領域及びβシートの高い存在に基づいて、アネロウイルス（Anellovirus）の主要キャプシドタンパク質であると予測される。8つのベータトルクウイルス（Betatorquevirus）の配列についての構造予測及び接触予想のために、RaptorX (<http://raptorx.uchicago.edu/>) を使用した。ベータトルクウイルス（Betatorquevirus）ORF1 配列は、構造不定である領域がより少ないと予測されるアルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）（約750アミノ酸）より短い（約650アミノ酸）ため、ベータトルクウイルス（Betatorquevirus）ORF1 配列を使用した。予測される構造のうち5つは、類似の要素を含み、これらをORF1の推定ドメインを同定するのに使用した（図

40

50

33)。ORF1を5つの領域、即ち、アルギニンリッチ領域、推定コア（ゼリーロールドメイン）、超可変領域、N22領域、C末端ドメインに区分した。

【1302】

ベータトルクウイルス（Betatorquevirus）株CBS203の構造モデルを用いて、ベータトルクウイルス（Betatorquevirus）ファミリーの間である程度の保存を有する残基／構造領域を呈示した。保存残基を分析するために、110ベータトルクウイルス（Betatorquevirus）ORF1配列を、ClustalWアラインメントアルゴリズムを用いるGeneiousでアラインメントした。次に、1の閾値を有するBLOSUM62マトリックスを用いて、同一性（%）及び類似性により、残基を保存について評価した。アラインメント中の全株の60%超の類似性を有した残基を構造モデルにハイライトした（図34）。合計して、26の残基（約4%）が、アラインメントした配列の100%とアミノ酸類似性を有した。80%及び60%カットオフは、それぞれ、総残基の23.7%及び36.7%を含んだ。

10

【1303】

同様のアラインメントアルゴリズム及び類似性決定をアルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）の258株に対して実施した。類似性及び同一性は、アラインメントからのコンセンサス配列に呈示し、推定ドメインは、ベータトルクウイルス（Betatorquevirus）との一次配列アラインメントに基づいて割り当てた（図35）。アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）は、100%類似した29残基（3.9%）を有し、ベータトルクウイルス（Betatorquevirus）と顕著に一致した。興味深いことに、アルファトルクウイルス（Alphatorquevirus）は、少なくとも80%（残基の30.9%）又は60%（残基の42.9%）類似性を有するベータトルクウイルス（Betatorquevirus）と比較して、より高いパーセンテージの残基を有する。

20

【1304】

実施例37：異なるトルク・テノウイルス（Torque Teno virus）株由来の超可変ドメインを含むキメラORF1を含有するアネロソームの生産
この実施例は、ORF1アルギニンリッチ領域、ゼリーロールドメイン、N22、及び1つのTTV株のC末端ドメイン、及び異なるTTV株のORF1タンパク質由来の超可変ドメインを含むキメラアネロソームを生産するための、ORF1の超可変領域のドメインスワッピングを説明する。

30

【1305】

ベータトルクウイルス（Betatorquevirus）の完全長ゲノムLY2株を哺乳動物細胞での発現用の発現ベクターにクローニングした。このゲノムを変異させて、LY2の超可変ドメインを除去すると共に、これを遠縁のベータトルクウイルス（Betatorquevirus）の超可変ドメインで置換した（図36）。次に、置換された超可変ドメインを有するLY2ゲノムを含むプラスミド（pTTMV-LY2-HVRaz）を、以前公開された方法（Kincaid et al., PLoS Pathogens 2013）を用いて、線状化及び環状化した。HEK293T細胞を環状化ゲノムでトランスフェクトし、5～7日間インキュベートして、アネロソーム生産を可能にした。インキュベーション期間後、アネロソームを上清及びトランスフェクト細胞の細胞ペレットから勾配超遠心法により精製した。

40

【1306】

キメラアネロソームが依然として感染性であるか否かを決定するために、単離したウイルス粒子を、感染していない細胞に添加した。細胞を5～7日間インキュベートして、ウイルス複製を可能にした。インキュベーション後、免疫蛍光、ウェスタンブロット、及びqPCRによって、キメラアネロソームが感染を定着させる能力をモニターする。キメラウイルスの構造完全性は、陰性株及び低温電子顕微鏡により評価する。細胞にインビボで感染する能力について、キメラアネロソームをさらに試験することができる。超可変ドメインのスワッピングにより機能性キメラアネロソームを生産する能力が証明されれば、指向

50

性を改変して、免疫検出を回避することが可能なウイルスの操作を達成することができる。

【1307】

実施例38：超可変ドメインの代わりに非TTVタンパク質／ペプチドを含有するキメラORF1の生産

この実施例は、1つのTTV株のアルギニンリッチ領域、ゼリーロールドメイン、N22、及びC末端ドメインと、超可変ドメインの代わりに非TTVタンパク質／ペプチドと、を含有するキメラORF1タンパク質を生産するための、目的の他のタンパク質又はペプチドを含むORF1の超可変ドメインの置換を説明する。

【1308】

実施例Bに示す通り、LY2の超可変ドメインをゲノムから欠失させ、目的のタンパク質又はペプチドをこの領域に挿入することができる（図37）。この領域に導入することができる配列のタイプの例として、限定されないが、アフィニティタグ、抗体の一本鎖可変領域（scFv）、及び抗原ペプチドが挙げられる。実施例Bに記載のように、プラスミド（pTTMV-LY2-ΔHVR-POI）中の変異ゲノムを線状化及び環状化する。環状化ゲノムをHEK293T細胞にトランスフェクトし、5～7日間インキュベートする。インキュベーション後、POIを含有するキメラアネロソームを、上清及び細胞ペレットから勾配超遠心法及び／又は必要に応じてアフィニティクロマトグラフィーにより精製する。

【1309】

様々な技術を用いて、POIを含有する機能性キメラアネロソームを生産する能力を評価する。最初に、精製済ウイルスを非感染細胞に添加して、キメラアネロソームが、複製し、且つ／又はペイロードをナイーブ細胞に送達することができるか否かを決定する。加えて、電子顕微鏡を用いて、キメラアネロソームの構造完全性を評価する。インビトロで機能性のキメラアネロソームの場合、インビボでの複製／ペイロード送達の能力も評価する。

【1310】

実施例39：インビボでの分泌酵素のアネロソーム送達

この実施例は、投与後にアネロソームにより送達された分泌酵素のインビボエフェクター機能を説明する。

【1311】

ADAMTS13（トロンボスポンジン1型モチーフ、メンバー13を含むディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ）をコード化するトランスジーンを含むアネロソームを調製する。手短には、5つの構築物を作製する：構築物A-TTMV-LY2ベクター±ADAMTS13；構築物B-ADAMTS13タンパク質及びTTMV-LY2 ORF；構築物C-TTMV-LY2ベクターの生産に使用するプラスミド；構築物D-ADAMTS13タンパク質及びTTMV-LY2 ORFの生産に使用するプラスミド；並びに構築物E-滅菌PBS。構築物A及び構築物Bは、HEK293T細胞中で作製した後、ヌクレアーゼ処理、限外濾過／透析濾過、及び滅菌濾過により精製する。構築物C及び構築物Dは、大腸菌（E. coli）中で作製し、MaxiPrepにより精製してから、PBS中で目標コピー数まで希釈した後、滅菌濾過する。構築物Eは、PBSの滅菌濾過により作製する。HEK293T細胞は、3日及び4日継代スケジュールに基づいて、DMEM+10% FBS中での解凍から継代4まで拡大する。継代5で、翌日のトランスフェクションのために約 5×10^4 細胞/cm²で細胞を接種する。接種の1日後に、Lipofectamine 2000を用いて、細胞を構築物で共トランスフェクトする。トランスフェクション後、細胞をインキュベートして、アネロソーム生産を可能にし、アネロソームを回収する。

【1312】

25 µLのアネロソーム調製物又は適切な対照を、遺伝子操作したVWD型2Bマウスに静脈内投与する。各マウスについて採血を毎日実施して、溶血及び血小板減少を決定する

10

20

30

40

50

と共に、血液中のADAMTS13分泌を測定する（Sensolyte（登録商標）520 ADAMTS13 Activity Assay, *Fluorimetric *AnaSpec, Inc.）。

【1313】

ADAMTS13シグナルの存在を、第0日、第1日、第2日、第3日、第4日、第5日、第6日、第7日、第8日、第9日、第10日、第11日、第12日、第13日、第14日、第15日、第16日、第17日、第18日、第19日、第20日、及び第21日の各々に測定する。さらに、同じ時点で、インビトロ溶血アッセイプロトコルを実施する。手短には、血液を遠心分離して、血漿及び溶解赤血球を含有する上清の吸光度を測定する。溶解した赤血球（Triton（登録商標）X-100）の標準曲線から溶解率（%）を計算する。ADAMTS13の存在の増加及び溶血の減少は、アネロソームを介して送達されたADAMTS13のインビボ発現及び活性を証明することになる。

10

【1314】

実施例40：インビボでの分泌抗体のアネロソーム送達

この実施例は、投与後にアネロソームにより送達された分泌酵素のインビボエフェクター機能を説明する。

【1315】

抗VEGFモノクローナル抗体（ベバシズマブ（Bevacizumab））をコード化するトランスジーンを含むアネロソームを調製する。手短には、5つの構築物を作製する：構築物A-TTMV-LY2ベクター±ベバシズマブ；構築物B-ベバシズマブタンパク質及びTTMV-LY2 ORF；構築物C-TTMV-LY2ベクターの生産に使用するプラスミド；構築物D-ベバシズマブタンパク質及びTTMV-LY2 ORFの生産に使用するプラスミド；並びに構築物E-滅菌PBS。構築物A及び構築物Bは、HEK293T細胞中で作製した後、ヌクレアーゼ処理、限外濾過／透析濾過、及び滅菌濾過により精製する。構築物C及び構築物Dは、大腸菌（E. coli）中で作製し、MaxiPrepにより精製してから、PBS中で目標コピー数まで希釈した後、滅菌濾過する。構築物Eは、PBSの滅菌濾過により作製する。HEK293T細胞は、3日及び4日継代スケジュールに基づいて、DMEM+10% FBS中での解凍から継代4まで拡大する。継代5で、翌日のトランスフェクションのために約 5×10^4 細胞/cm²で細胞を接種する。接種の1日後に、Lipofectamine 2000を用いて、細胞を構築物で共トランスフェクトする。トランスフェクション後、細胞をインキュベートして、アネロソーム生産を可能にし、アネロソームを回収する。

20

30

【1316】

25 µLのアネロソーム調製物又は適切な対照を、転移性大腸癌の異種移植片を担持するCD1-免疫不全マウスに静脈内投与する。各マウスについて腫瘍体積測定及び採血を毎日実施し、ベバシズマブ（Avastin（登録商標））（mAbベース）ELISA Assay Kit（Eagle Biosciences）を用いて、ベバシズマブタンパク質の発現を測定する。mAbシグナルの存在を、第0日、第1日、第2日、第3日、第4日、第5日、第6日、第7日、第8日、第9日、第10日、第11日、第12日、第13日、第14日、第15日、第16日、第17日、第18日、第19日、第20日、及び第21日の各々に測定する。第22日にマウスを犠牲にする。一部の実施形態では、腫瘍体積の減少及び検出される高い量のベバシズマブは、アネロソームを介して送達されたベバシズマブのインビボ発現及び活性を証明することになる。

40

【1317】

実施例41：ペイロードを保有するアネロソームの設計

この実施例は、trans遺伝子を保有する例示的なアネロソーム遺伝子エレメントの設計を説明する。遺伝子エレメントは、例えば、タンパク質若しくはノンコーディングRNA発現遺伝子を含み得る非アネロウイルス（Anellovirus）ペイロードと一緒に、アネロウイルス（Anelloviridae）科のメンバー由来の必須cis複製及びパッケージングドメインから構成される。アネロソームは、複製及びパッケージング

50

のための必須 *trans* タンパク質エレメントが欠失しているため、ローリングサークル複製及びキャプシド形成のための他の供給源（例えば、ヘルパー、例えば、複製ウイルス、発現プラスミド、若しくはゲノム組込み）により供給されるタンパク質を必要とする。

【1318】

1 セットの実施例では、最初の開始コドンから最後の停止コドンまで、全タンパク質コーディング DNA 配列を欠失させた（図 38）。TTV-*tt h 8* の場合、ORF 2 開始コドンから ORF 3 停止コドンまで、ヌクレオチド 336 から 3015 を欠失させた。TMV-*LY 2* の場合、ORF 2 開始コドンから ORF 3 停止コドンまで、ヌクレオチド 424 から 2813 を欠失させた。得られた DNA は、ウイルスプロモータ、5' UTR 保存ドメイン、3' UTR（一部のアネロウイルス株では、TTV-*tt h 8* などの *miRNA* をコード化する）、並びに GC リッチ領域を含め、ウイルスノンコーディング領域（NCR）を保持した。アネロソーム NCR は、ウイルス複製起点及びキャプシド結合ドメインを含め、必須 *cis* ドメインを保有していた。しかし、アネロウイルスタンパク質コーディングオープンリーディングフレームが欠失すると、アネロソームは、DNA 複製及びキャプシド形成に必要な必須タンパク質因子を発現することができなくなったため、これらのエレメントが *trans* で供給されない限り、増幅又はパッケージングしないであろう。

10

【1319】

限定されないが、タンパク質コード化配列、全 *trans* 遺伝子（非アネロウイルスプロモータ配列）、及びノンコーディング RNA 遺伝子などのペイロード DNA を、欠失したアネロウイルスオープンリーディングフレームの部位への挿入によりアネロソーム遺伝子エレメントに組み込んだ（図 38）。タンパク質コーディング配列からの発現は、例えば、ネイティブウイルスプロモータ、又は *trans* 遺伝子として組み込まれた合成プロモータのいずれかにより、駆動することができる。

20

【1320】

複製欠損又は複製不全アネロソーム遺伝子エレメント（例えば、本明細書に記載される通り）は、ウイルス複製及び／又はキャプシド因子のためのタンパク質コーディング配列を欠失している可能性がある。従って、本実施例に記載のアネロソーム DNA 及びウイルスタンパク質コード化 DNA で細胞を共トランスフェクトすることにより、パッケージング済アネロソームを生産した。複製可能野生型ウイルスゲノム、ウイルスプロモータの制御下でウイルスタンパク質を保有する非複製プラスミド、又は強力な構成的プロモータの制御下でウイルスタンパク質を保有するプラスミドから、ウイルスタンパク質を発現させた。

30

【1321】

実施例 42：アネロソームコード化トランスジーンの形質導入

この実施例では、肺サンプルから単離した後、ヒトイムノアドヘシンを送達するように操作したアネロウイルス（*Anellovirus*）LY2 を用いて、アネロソーム LY2-イムノアドヘシン（IA）を作製する。LY2 ノンコーディング領域（5' UTR、GC リッチ領域）及び IA コード化カセットを含むが、アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF は含まない二本鎖環状 LY2-IA アネロソーム DNA を設計した（例えば、実施例 41 に記載の通り）後、本明細書に記載のように、インビトロ環状化により生産した。アネロウイルス（*Anellovirus*）ORF は、個別のインビトロ環状化 DNA 中に *trans* で供給した。両方の DNA を、2 つの生物学的複製（図 39 に「A」及び「B」として示す）の HEK293T 細胞中に共トランスフェクトした。陰性対照（モックトランスフェクション）及び陽性対照（プラスミド中の IA 発現カセット）各々の 2 つの生物学的複製も検定した。肺由来ヒト細胞株 EKVX 及び A549 へのアネロソーム調製物の形質導入によって、イムノアドヘシンの分泌が ELISA により検出された（図 39；右側の棒グラフを参照）。さらに、LY2-IA 形質導入 EKVX 細胞の免疫蛍光分析から、イムノアドヘシンの発現について陽性の細胞が明らかにされた。

40

【1322】

50

実施例 43：各々が肺癌細胞への EPO 遺伝子の形質導入を達成した t t h 8 及び L Y 2 に基づくアネロソーム

この実施例では、エリスロポエチン遺伝子 (EPO) を担持する 2 つの異なるアネロソームを用いて、非小細胞肺癌株 (E K V X) を形質導入した。アネロソームは、本明細書に記載される通り、インビトロ環状化により作製したが、これらは、L Y 2 又は t t h 8 バックボーンに基づく 2 つのタイプのアネロソームを含んだ (例えば、それぞれ、表 15 及び 16、又は表 5 及び 6 に記載される通り)。L Y 2 - E P O 及び t t h 8 - E P O アネロソームは各々、E P O コード化カセット及び L Y 2 又は t t h 8 ゲノムのノンコーディング領域 (5' UTR、GC リッチ領域) をそれぞれ含むが、例えば、実施例 41 に記載のような、アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F は含まない遺伝子エレメントを含んだ。細胞に精製アネロソーム又は陽性対照 (高用量又はアネロソームと同じ用量の A A V 2 - E P O) を接種した後、7 日間インキュベートした。アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F を個別のインビトロ環状化 DNA に t r a n s で供給した。インキュベーションから 3、5、及び 7 日後に培養上清をサンプリングし、市販の E L I S A キットを用いて検定し、E P O を検出した。L Y 2 - E P O 及び t t h 8 - E P O アネロソームのいずれも、良好に細胞に形質導入され、非処理 (陰性) 対照細胞と比較して、有意に高い E P O 力価を示した (全時点で、 $P < 0.013$) (図 40)。

10

【1323】

実施例 44：治療用トランスジーンを含むアネロソームは、静脈内 (i. v.) 投与後にインビボで検出することができる

20

この実施例では、静脈内 (i. v.) 投与後に、ヒト成長ホルモン (hGH) をコード化するアネロソームをインビボで検出した。L Y 2 バックボーンを基材とし、且つ外性 hGH をコード化する複製欠損アネロソーム (L Y 2 - hGH) を、本明細書に記載されるインビトロ環状化により作製した。L Y 2 - hGH アネロソームの遺伝子エレメントは、L Y ノンコーディング領域 (5' UTR、GC リッチ領域) 及び hGH コード化カセットを含むが、例えば、実施例 41 に記載のように、アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F は含まなかった。L Y 2 - hGH アネロソームをマウスに静脈内投与した。アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F を個別のインビトロ環状化 DNA に t r a n s で供給した。手短には、アネロソーム (L Y 2 - hGH) 又は P B S を第 0 日に静脈内注射した ($n = 4$ マウス/群)。アネロソームは、マウス当たり 4.66×10^7 アネロソームゲノムで、独立した動物群に投与した。

30

【1324】

最初の実施例では、アネロソームウイルスゲノム DNA コピーを検出した。第 7 日に、血液及び血漿を採取し、qPCR により hGH DNA アンプリコンについて分析した。L Y 2 - hGH アネロソームは、インビボでの注射から 7 日後の全血の細胞画分中に存在した (図 41A)。さらに、血漿中のアネロソームの非存在は、これらのアネロソームが、インビボで複製不可能であることを実証する (図 41B)。

【1325】

第 2 の実施例では、インビボ形質導入後に hGH mRNA 転写物を検出した。第 7 日に血液を採取し、qRT-PCR により hGH mRNA 転写物アンプリコンについて分析した。GAPDH を対照ハウスキーピング遺伝子として使用した。hGH mRNA 転写物を全血の細胞画分中で測定した。アネロソームコード化トランスジーンからの mRNA をインビボで検出した (図 42)。

40

【1326】

実施例 45：アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 中のコーディング配列のサイズ分布

内部で同定した野生型株の広範なカタログを使用して、全てのアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) のコーディング配列 (CDS) 長さを評価した。アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) の CDS 長さをプロットし、3 つのヒトアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 属 (アルファトルクウイルス (A l p h a t o r q u e v i r u s)、

50

α ; ベータトルクウイルス (Betatorquevirus)、 β 、及びガンマトルクウイルス (Gammatorquevirus)、 γ) の間でウイルス株を比較した後、一般に入手可能なゲノム配列長さを、本発明者らにより内部 (社内) でアSEMBLしたものと比較した。全てのアネロウイルス (Anellovirus) の平均CDS長さは、約2100ヌクレオチドである。アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus) 中のTTVは、ベータトルクウイルス (Betatorquevirus) 及びガンマトルクウイルス (Gammatorquevirus) 属からのアネロウイルス (Anellovirus) (それぞれ、TTVミニ及びTTVミディ) より大きかった。具体的には、アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus) TTVでは、2237ヌクレオチドの平均CDSが観察され、1800~2541ヌクレオチドの範囲であった。ベータトルクウイルス (Betatorquevirus) の場合、2011ヌクレオチドの平均CDS長さが認められ、1803~2229ヌクレオチドの範囲であった。ガンマトルクウイルス (Gammatorquevirus) については、2012ヌクレオチドの平均CDS長さが認められ、1812~2379ヌクレオチドの範囲であった。

10

【1327】

実施例46: ORF2を特性決定するための高度に保存されたモチーフ

図43Aの例示的なゲノムに示すように、アネロウイルス (Anellovirus) ORF2は、考えられるホスファターゼ活性を有する構造不定タンパク質をコード化し、ウイルス複製及び宿主免疫の調節に特定の役割を果たすと考えられる。保存ORF2アミノ酸モチーフの存在について、広範なウイルス配列リポジトリを調べた (図43B)。次に、このモチーフを用いて、社内及び公開配列の中から1,000を超えるアネロウイルス (Anellovirus) ORF2配列を同定した。このORF2モチーフは、ヒトアネロウイルス (Anellovirus) 株、さらには検定したヒト以外の全てのアネロウイルス (Anellovirus) (げっ歯類、ブタ、及び霊長類アネロウイルス (Anellovirus)、並びにニワトリ貧血ウイルス) の膨大なカタログの間で、依然として保存されていることが判明し、そのため、これまでに同定された中で最も高度に保存されたアネロウイルス (Anellovirus) モチーフである。また、ORF2構造モデル化も実施したが、それにより、ORF2モチーフ中の保存残基は、金属結合ドメインの可能性を示唆する配向と共に、ヘリックスターンヘリックス構造を維持することが明らかにされた (図43C)。興味深いことに、ORF2と比較したORF1の系統樹 (図43D) は、アルファトルクウイルス (Alphatorquevirus)、ベータトルクウイルス (Betatorquevirus)、及びガンマトルクウイルス (Gammatorquevirus) による属レベルでの同様の断絶を示したが、これは、ORF2が、属特異的であることを示している。

20

30

【1328】

実施例47: ヒトにおける完全長アネロウイルス (Anellovirus) ORF1mRNAのエビデンス

アネロウイルス (Anellovirus) は、インビトロで少なくとも3つの選択的スプライシング型mRNAを発現し、その最長 (約2.2kb) のものが、完全長ORF1をコード化すると予測される。この実施例では、ORF1mRNA転写物をインビボで評価した。

40

【1329】

そのために、GTEx (Genotype-Tissue Expression) から一般に入手可能なRNA Seq組織データを調べた。目標は、ウイルス転写物を分類する上で十分なアネロウイルス (Anellovirus) RNAリードを含むヒト組織サンプルを同定することであった。アネロウイルス (Anellovirus) RNAリードを含む104の組織サンプルを同定し (全組織の2.4%、血液サンプルの19%) ; これらのサンプルのうち7つが、20を超えるアネロウイルス (Anellovirus) RNAリードを有し、ウイルストランスクリプトーム解析を可能にした。これら7つの

50

アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 陽性サンプルのうち3つは、W G Sデータとも一致し、このデータから、正確なリードマッピングのための対応するアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) D N Aゲノムをアセンブルすることができた (図44A)。対応するウイルス参照基準ゲノムの非存在、即ち、アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 多様性は、有益なRNAリードマッピングを妨げる。O R F 1領域にマッピングするRNAリードが3つのドナー (2つの血液サンプル及び1つの肺組織サンプル) 中に検出された。1つのドナー血液サンプル中に、完全長O R F 1領域を包含するアネロウイルス (A n e l l o v i r u s) R N Aリードが同定された (図44B、グレーのバーがリード対を示す)。これは、R N A S e qデータを用いたインビボでの完全長アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) 転写物の最初の確認である。

10

【1330】

実施例48：アネロソームをインビトロで生産するための投入材料としてのインビトロ環状化ゲノム

この実施例は、本明細書に記載されるアネロソーム遺伝子エレメントの材料物質としてのインビトロ環状化 (I V C) 二本鎖アネロウイルスD N Aが、予想密度のパッケージ済アネロソームゲノムを取得する上で、プラスミド中のアネロウイルスゲノムD N Aよりも頑健であることを実証する。

【1331】

T 7 5フラスコ内の1.2E+07 H E K 2 9 3 T細胞 (ヒト胎児腎細胞株) を11.25ugの以下：(i) インビトロ環状化二本鎖T T V - t t h 8ゲノム (I V C T T V - t t h 8)、(i i) プラスミドバックボーン中のT T V - t t h 8ゲノム、又は (i i i) T T V - t t h 8のO R F 1配列のみを含むプラスミド (非複製T T V - t t h 8) のいずれかでトランスフェクトした。トランスフェクションから7日後に細胞を回収し、0.1% T r i t o n (登録商標) で溶解させた後、1ml当たり100単位のベンゾナーゼで処理した。溶解物を塩化セシウム密度分析のために使用し；密度を測定し、塩化セシウム線形勾配の各画分についてT T V - t t h 8コピー定量を実施した。図45に示すように、I V C T T V - t t h 8は、T T V - t t h 8プラスミドと比較して、予想密度1.33で、顕著に多量のゲノムコピーを産生した。

20

【1332】

1E+07 J u r k a t細胞 (ヒトTリンパ球株) をインビトロ環状化L Y 2ゲノム (L Y 2 I V C) 又はプラスミド中のL Y 2ゲノムのいずれかでヌクレオフェクトした。トランスフェクションから4日後に細胞を回収し、0.5% t r i t o n及び300mM塩化ナトリウムを含有するバッファーを用いて溶解させた後、2ラウンドの瞬間凍結融解に付した。溶解物を100単位/mlのベンゾナーゼで処理した後、塩化セシウム密度分析を実施した。塩化セシウム線形勾配の各画分について、密度測定及びL Y 2ゲノム定量を実施した。図46に検出可能なピークを示さなかったL Y 2ゲノム含有プラスミドのトランスフェクションと比較して、J u r k a t細胞中でのインビトロ環状化L Y 2ゲノムのトランスフェクションは、図46に示すように、予想密度で鮮明なピークをもたらした。

30

【1333】

実施例49：アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1中の保存二次構造モチーフの同定

この実施例では、計算モデル化を用いて、アネロウイルス (A n e l l o v i r u s) O R F 1タンパク質の二次構造中の保存モチーフを同定した。二次構造予測は、プログラムJ P r e dを用いて、単一株に対して実施した。

40

【1334】

概して、ヒトT T Vのゼリーロールドメインは、長さが約200アミノ酸 (A A) ±3 A Aである。例示的なゼリーロールドメインの二次構造は、5~7 A Aのβ鎖で開始し、これに、3~5 A Aランダムコイル、15~16 A A β鎖、26~28 A Aランダムコイル、15~17 A A αヘリックス、2 A Aランダムコイル、3~4 A A β鎖、8ランダムコイル、10~11 A A β鎖、5~6 A Aランダムコイル、6~7 A A β鎖、8~14 A A

50

ランダムコイル、8～14 AA α ヘリックス（いくつかの事例では、2つの小さなヘリコチレンクスに切断され得る）、3～4 AA ランダムコイル、4～5 AA β 鎖、10 AA ランダムコイル、5～6 AA β 鎖、20～21 AA ランダムコイル、7～9 AA β 鎖、14～16 AA ランダムコイル、5～7 AA β 鎖が続く。アルファトルクウイルス（*Alphatorquevirus*）、ベータトルクウイルス（*Betatorquevirus*）、及びガンマトルクウイルス（*Gammatorquevirus*）クレード由来の例示的なアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1二次構造のアラインメントを図47に示す。

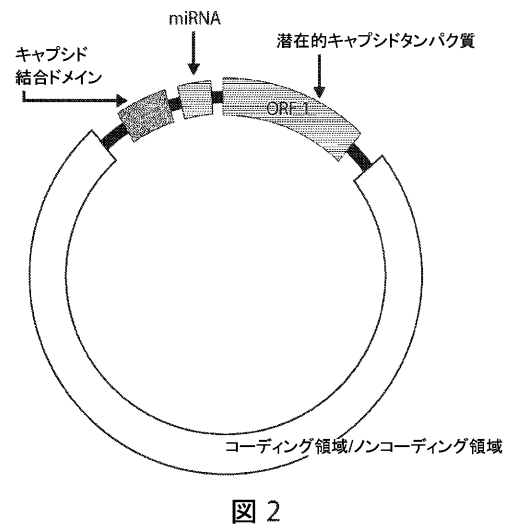
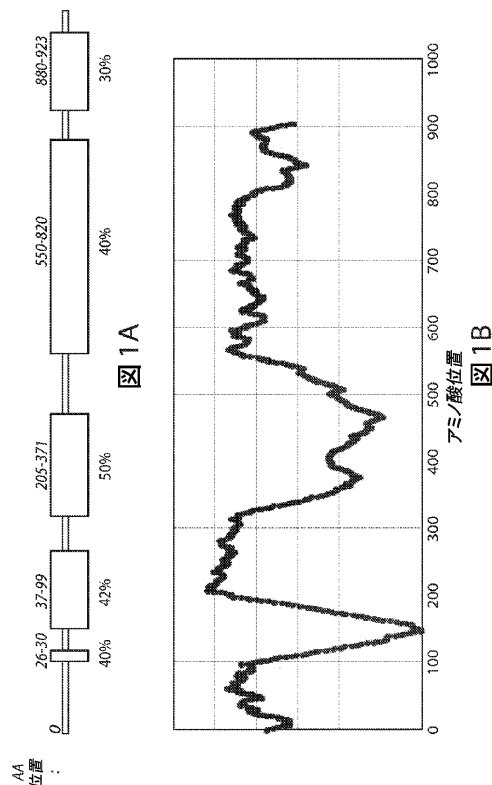
【1335】

ORF1のN22ドメイン中のYNPX²DXGX²Nモチーフ（配列番号829）の二次構造も、それを取り囲む保存二次構造を有する。5～6 AA β 鎖で開始して、これは、モチーフの1位のチロシン（Y）後に切断し、モチーフのほとんどは、8～9 AA ランダムコイルとして末端アスパラギン（N）まで配列し、その地点で、7～8 AA の別の β 鎖が開始する。例示的なアネロウイルス（*Anellovirus*）ORF1 N22モチーフ配列のアラインメントを図48に示す。このモチーフ中のチロシンは β 鎖を切断し、第2 β 鎖が、モチーフの末端アスパラギンで開始する。

【図面】

【図1A－B】

【図2】



10

20

30

40

50

【 図 3 】

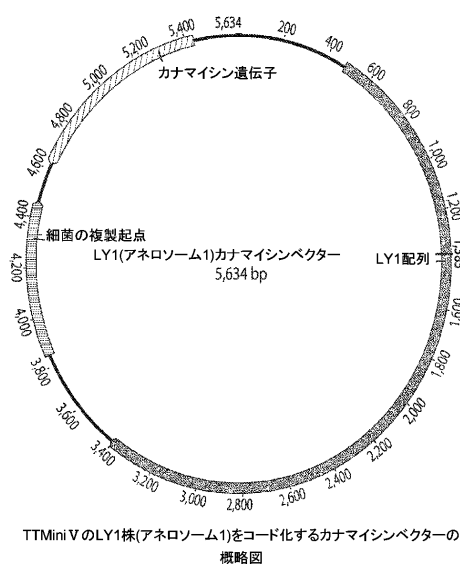


図 3

【 図 4 】

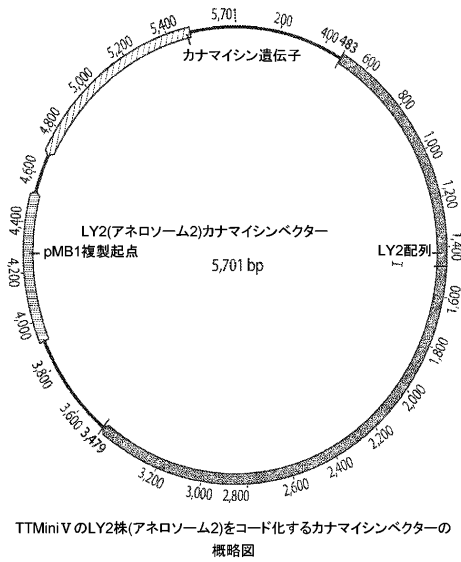


図 4

【 図 5 】

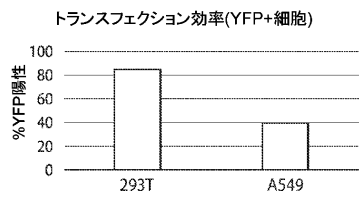


図 5

【 図 6 A 】

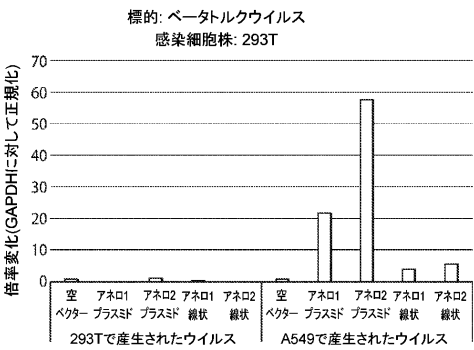


図 6A

10

20

30

40

50

【 図 6 B 】

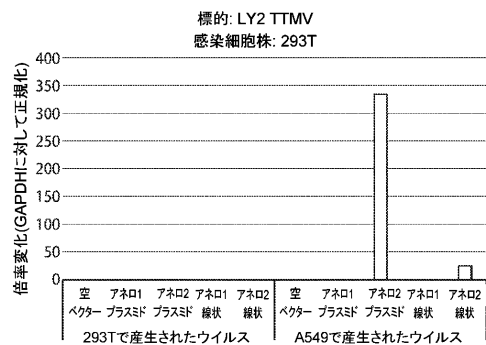


図 6B

【 図 7 A 】

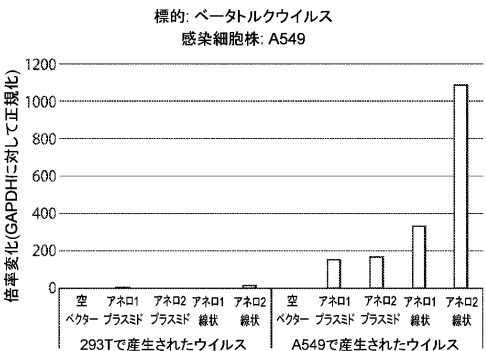


図 7A

【 図 7 B 】

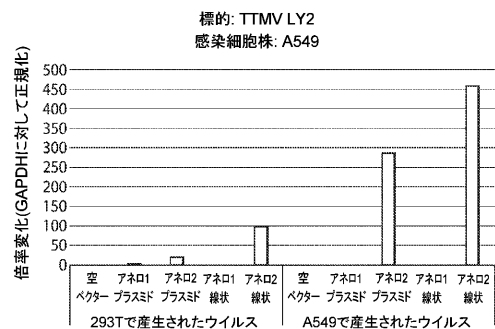


図 7B

【 図 8 A 】

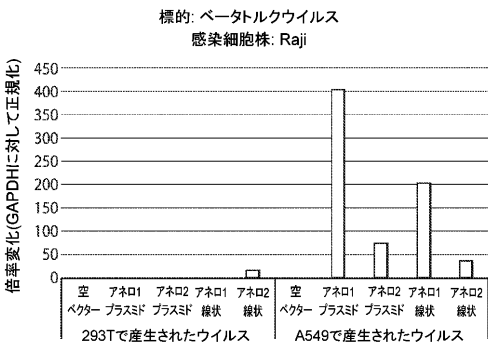


図 8A

10

20

30

40

50

【 図 8 B 】

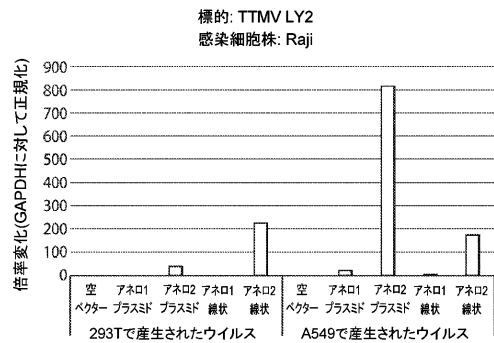


図 8B

【 図 9 A 】

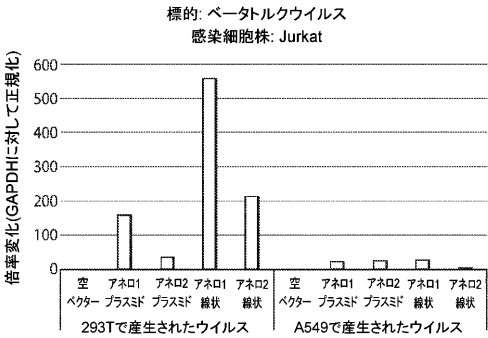


図 9A

【 図 9 B 】

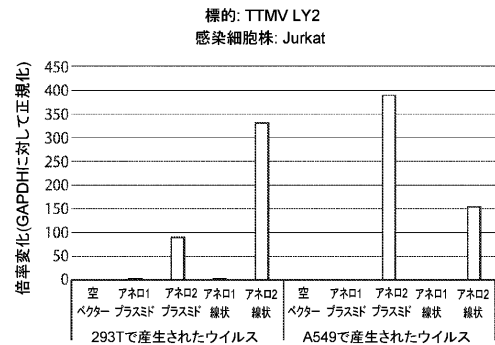


図 9B

【 図 1 0 A 】

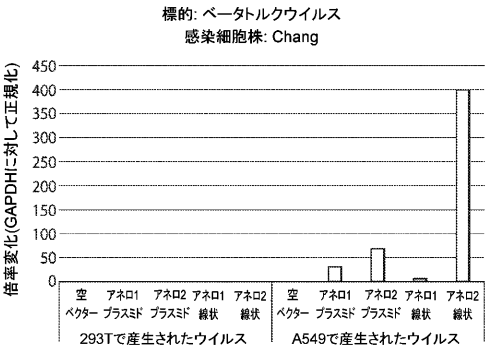


図 10A

10

20

30

40

50

【図 1 0 B】

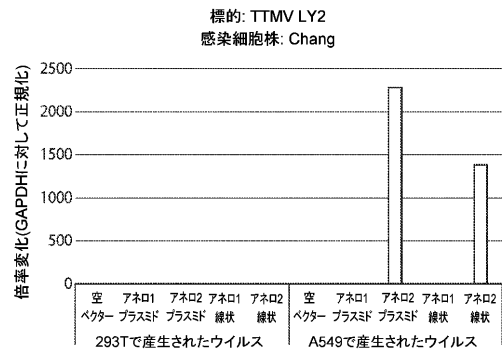
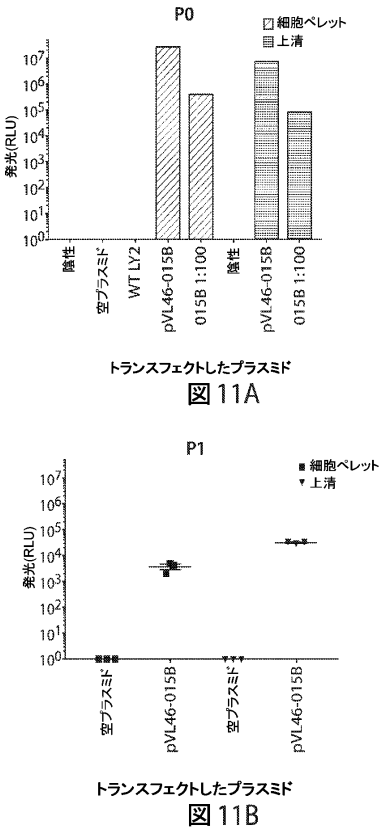
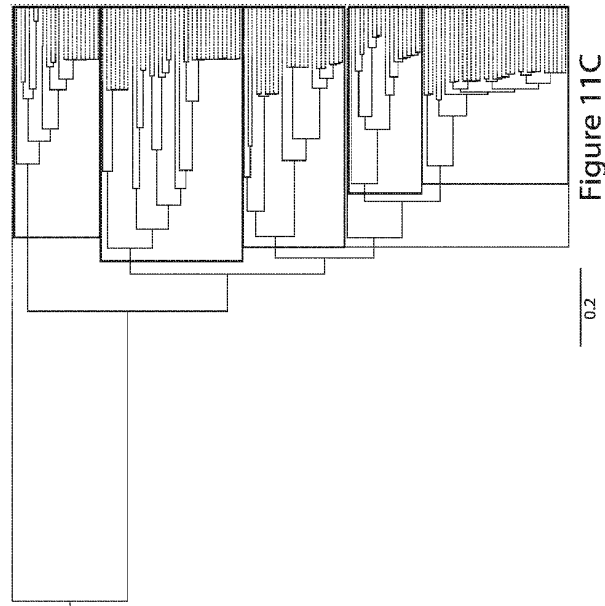


図 10B

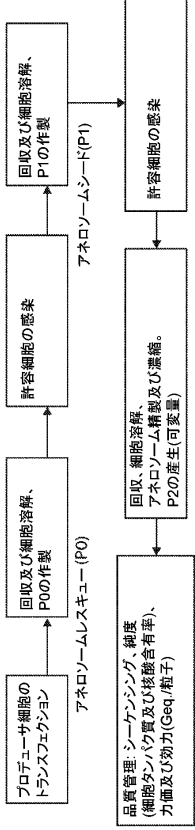
【図 1 1 A - 1 1 B】



【図 1 1 C】



【図 1 2】



10

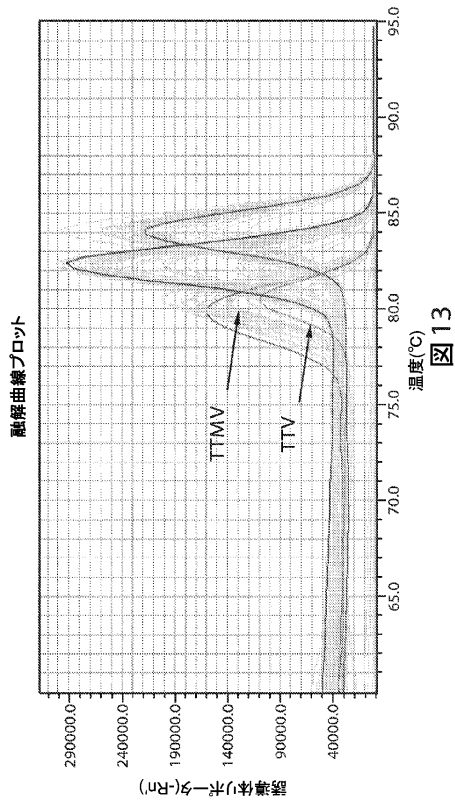
20

30

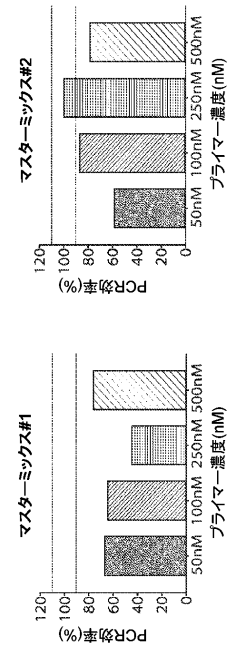
40

50

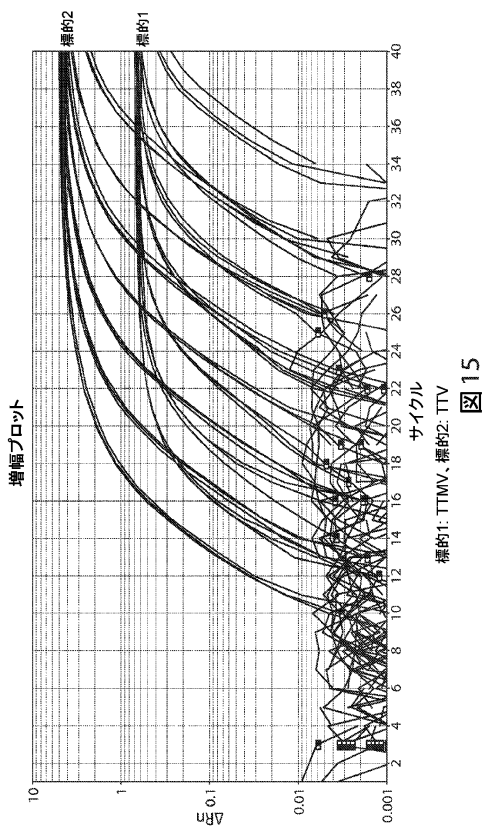
【図 13】



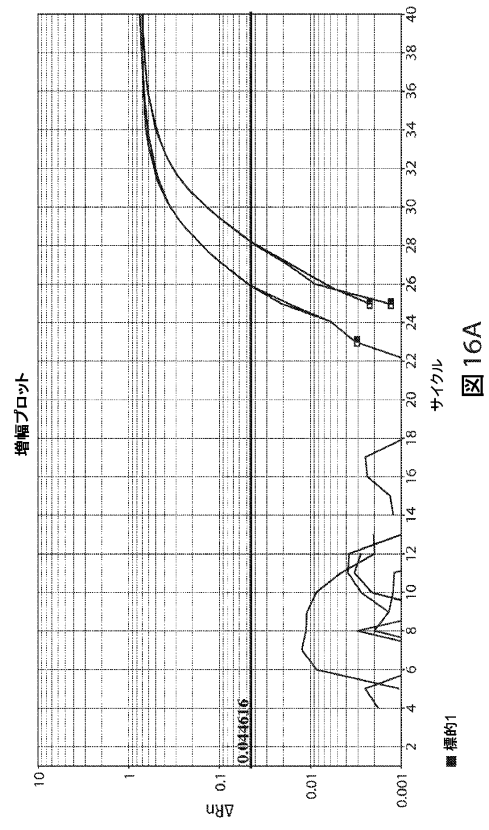
【図 14】



【図 15】



【図 16 A】



10

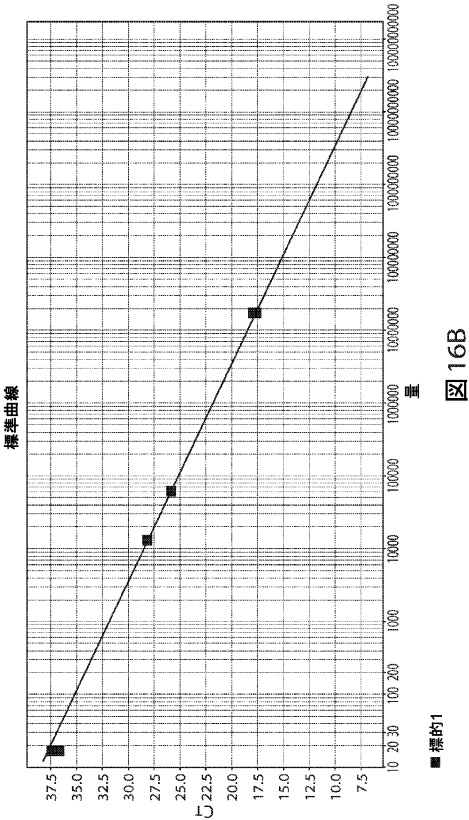
20

30

40

50

【図 16 B】



【図 17】

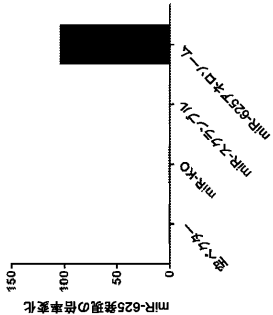
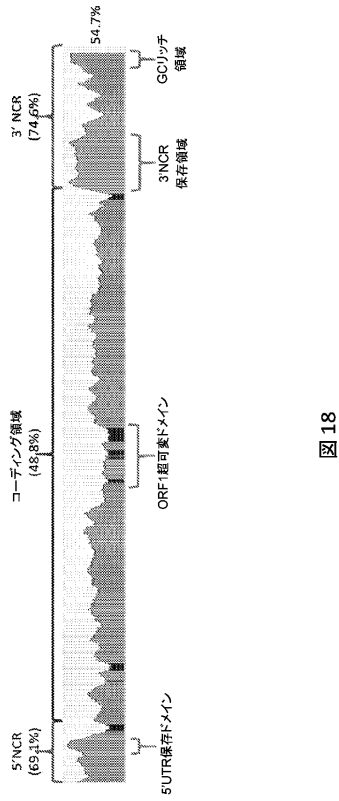


図 17

【図 18】



【図 19】

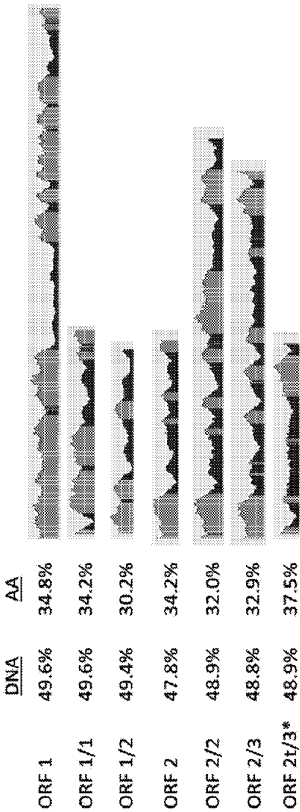


FIG. 19

10

20

30

40

50

【図 2 0】

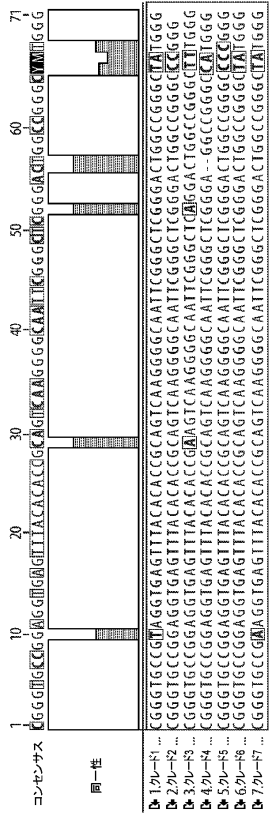


図 20

【図 2 1】

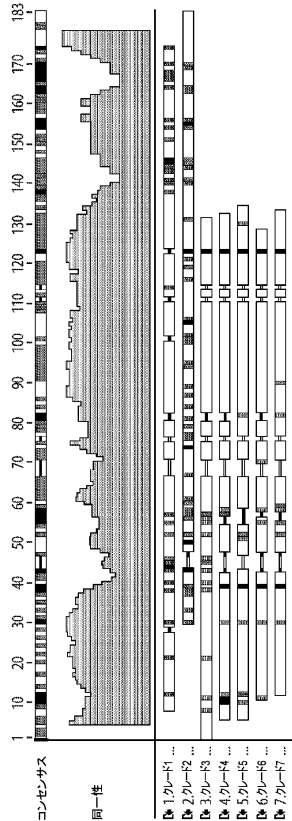


図 21

【図 2 2】

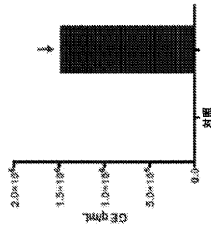


図 22

【図 2 3】

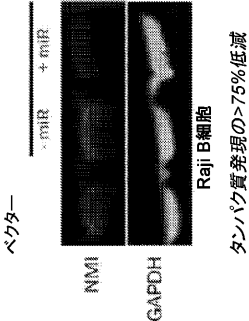


図 23

10

20

30

40

50

【図 2 4】

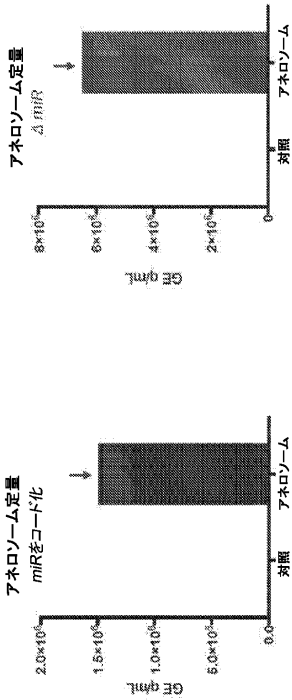


図 24

【図 2 5 A】

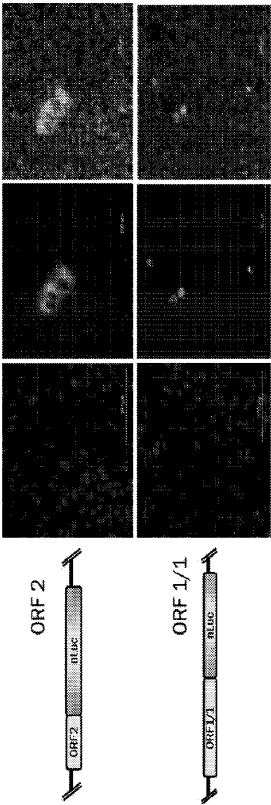


FIG. 25A

【図 2 5 B】

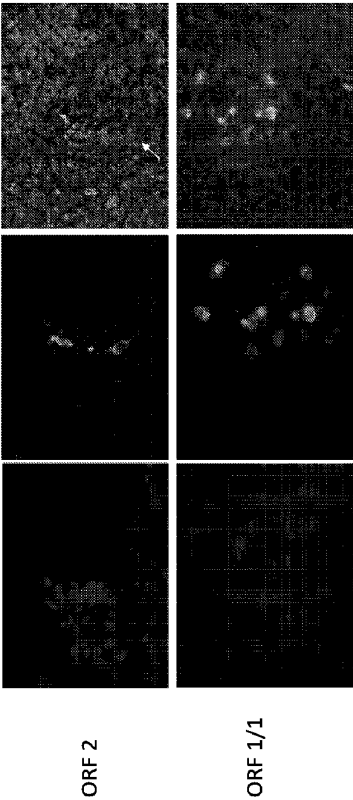


FIG. 25B

【図 2 5 C】

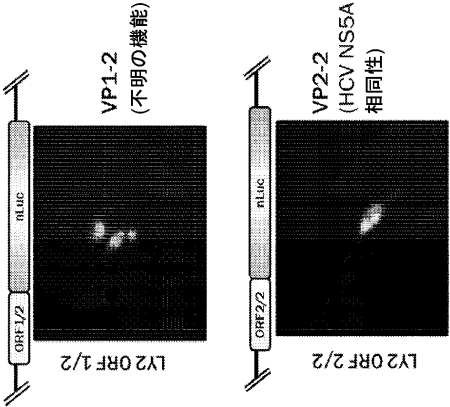


図 25C

10

20

30

40

50

【図 26】

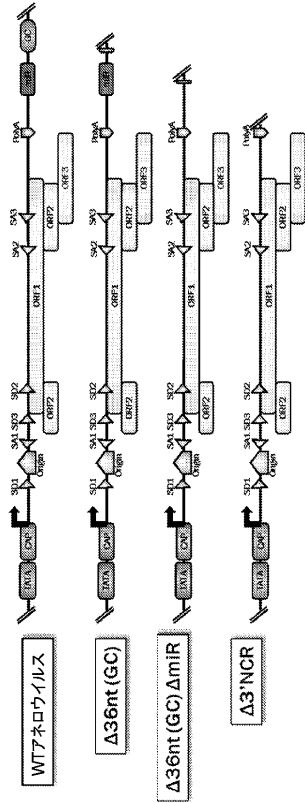
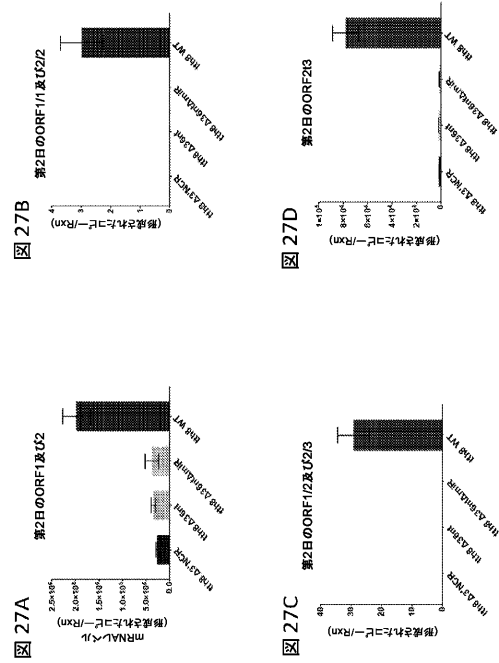


図 26

【図 27A - 27D】



10

20

【図 28A】

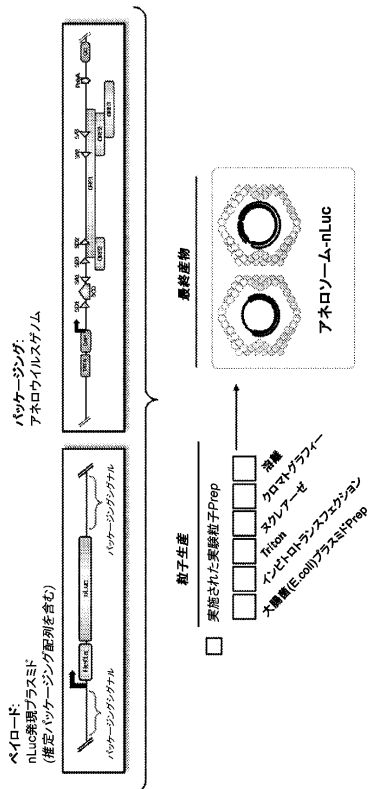


図 28A

【図 28B】



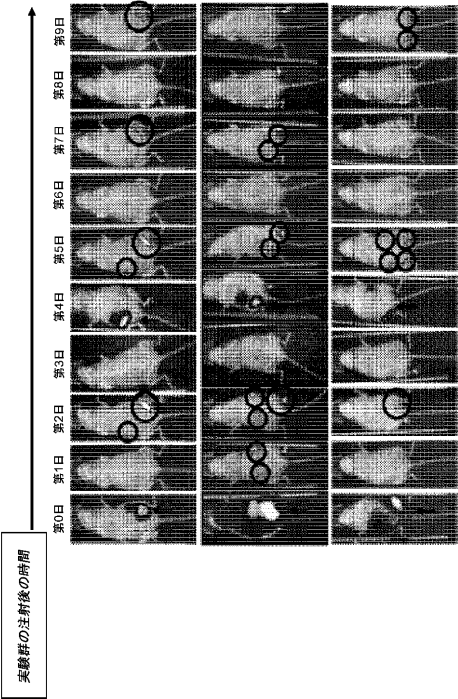
図 28B

30

40

50

【図 29 A】



【図 29 B】

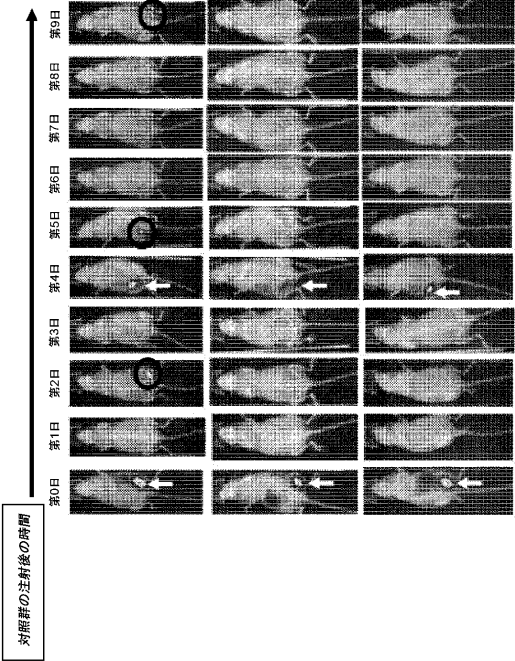


図 29A

図 29B

【図 29 C】

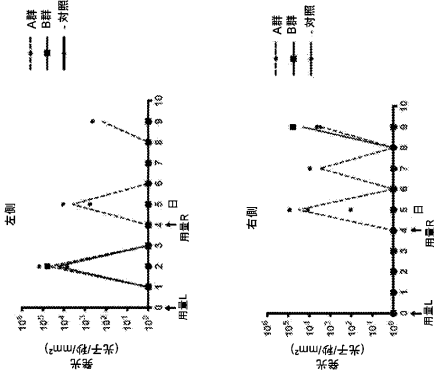


図 29C

【図 29 D - 1】

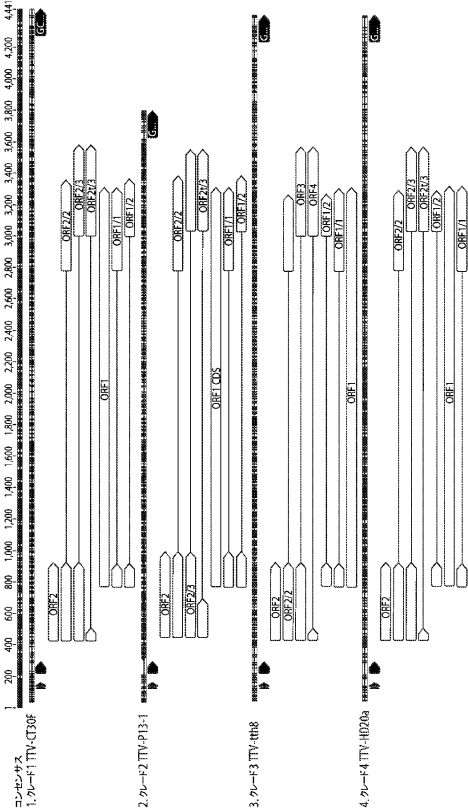


図 29D-1

10

20

30

40

50

【図 3 1 D】

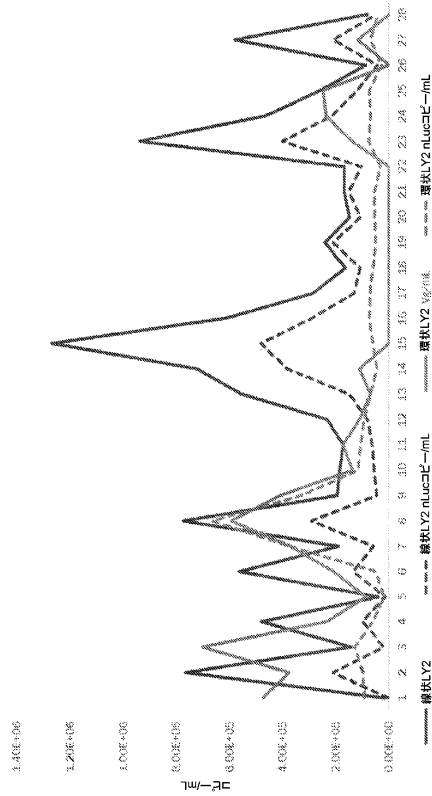


図 31D

【図 3 2】

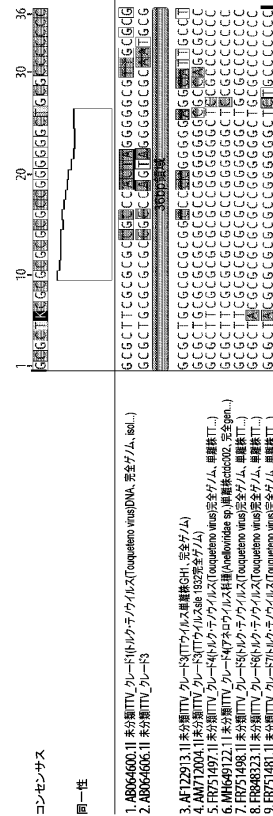


図 32

【図 3 3】

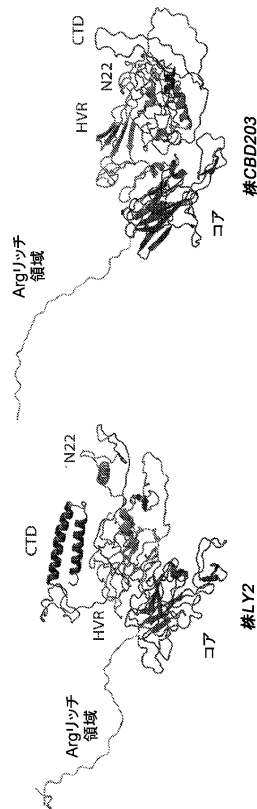


図 33

【図 3 4】

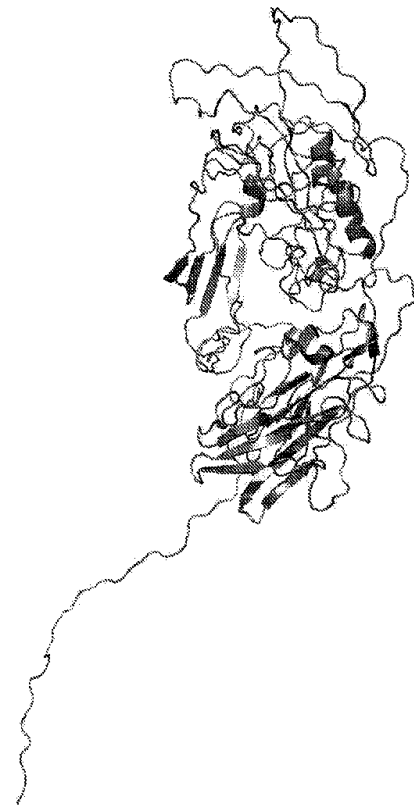


Fig. 34

10

20

30

40

50

【図 35】

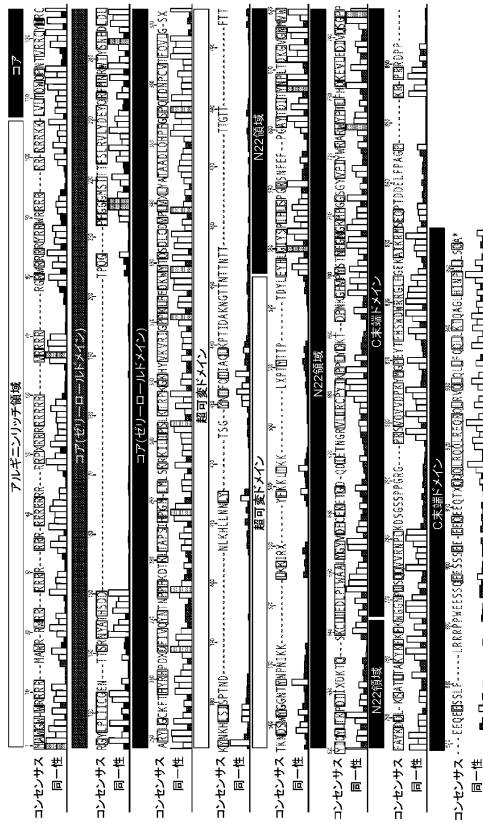


図 35

【図 36】

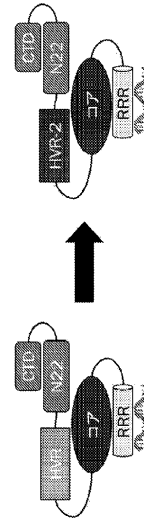


図 36

10

20

【図 37】

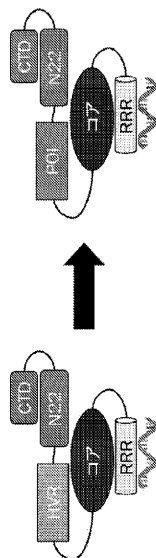


図 37

【図 38】

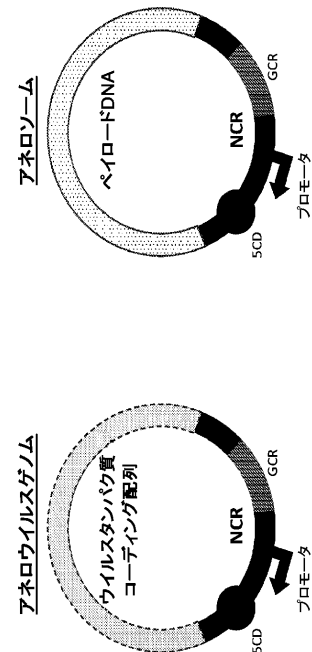


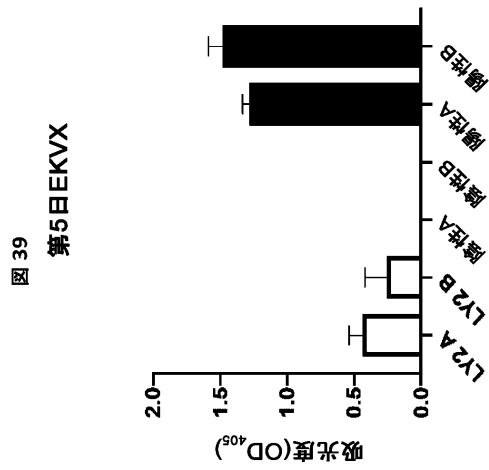
図 38

30

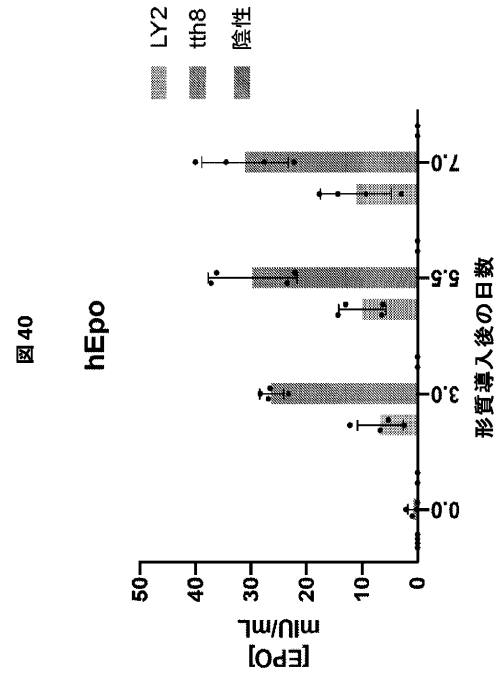
40

50

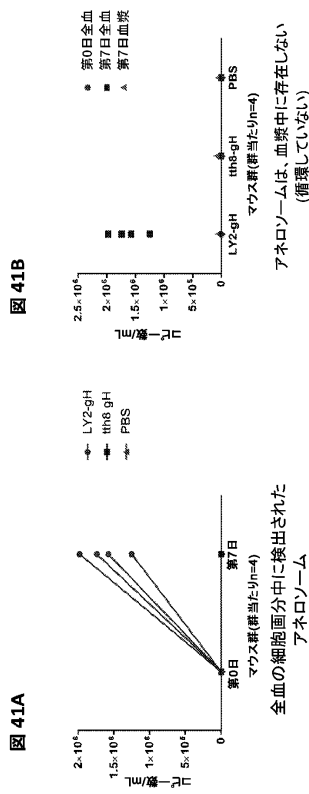
【 図 3 9 】



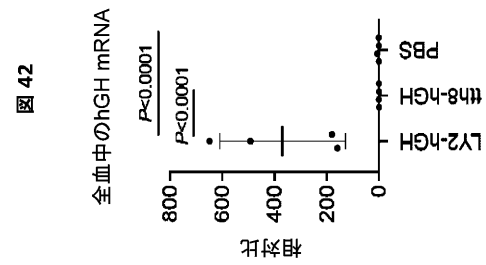
【 図 4 0 】



【 図 4 1 A - 4 1 B 】



【 図 4 2 】



10

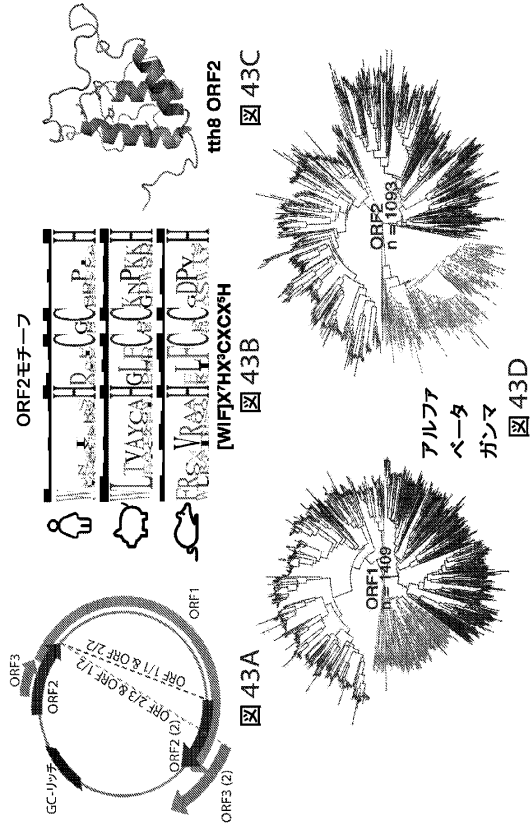
20

30

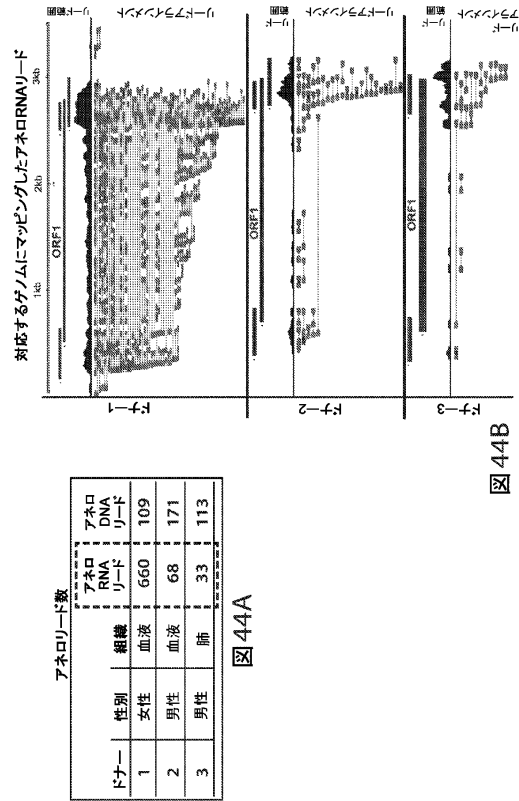
40

50

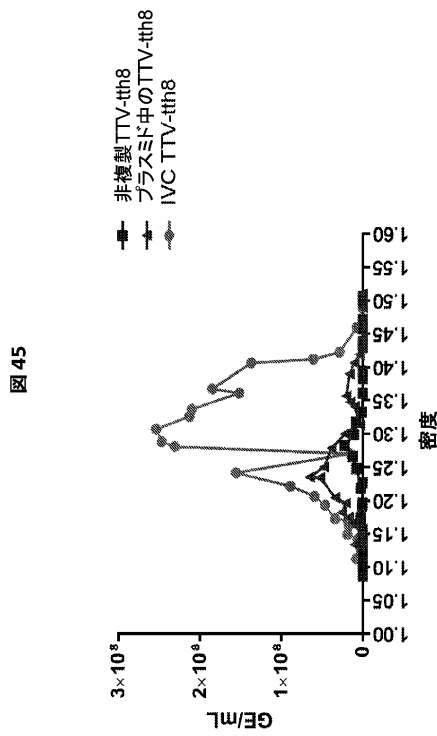
【図 4 3 A - 4 3 D】



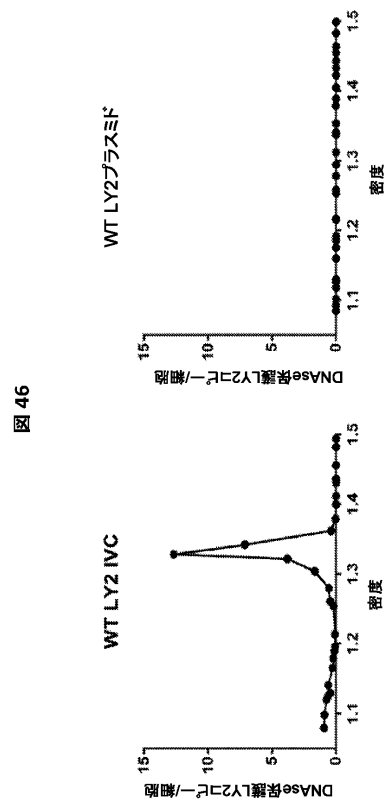
【図 4 4 A - 4 4 B】



【図 4 5】



【図 4 6】



10

20

30

40

50

【図 4 7】

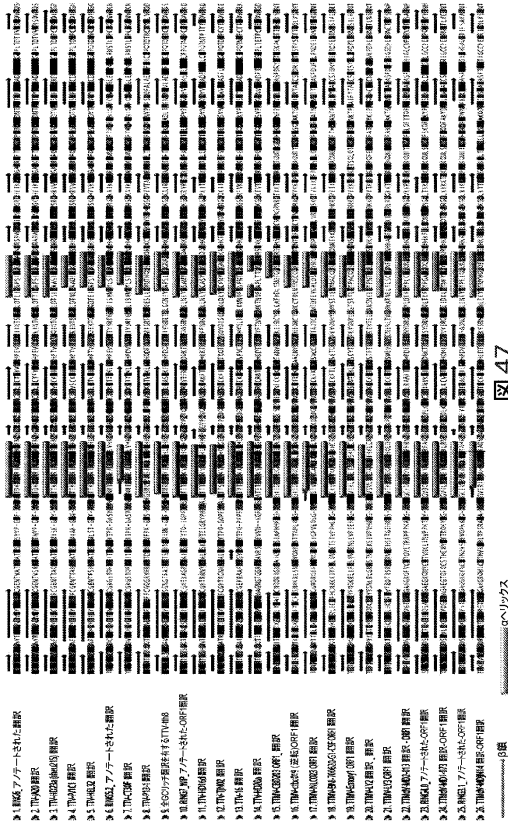


図 47

ヘリックス

【配列表】

202251239500001.app

【図 4 8】

コンセンサス

同一性

- 1. RING5, アノテートされた翻訳
- 2. TTV420 翻訳
- 3. TTV402a (theta215) 翻訳
- 4. TTV421 翻訳
- 5. TTV422 翻訳
- 6. RING5_2, アノテートされた翻訳
- 7. TTV423 翻訳
- 8. TTV424 翻訳
- 9. 全G/C-rich翻訳を有するTTV426
- 10. RING5_WIP_アノテートされたORF1翻訳
- 11. TTV425 翻訳
- 12. TTV426 翻訳
- 13. TTV427 翻訳
- 14. TTV428 翻訳
- 15. TTV429 翻訳
- 16. TTV430 翻訳
- 17. TTV431 翻訳
- 18. TTV432 翻訳
- 19. TTV433 翻訳
- 20. TTV434 翻訳
- 21. TTV435 翻訳
- 22. TTV436 翻訳
- 23. RING5_2, アノテートされたORF1翻訳
- 24. TTV437 翻訳
- 25. RING5_2, アノテートされたORF1翻訳
- 26. TTV438 翻訳

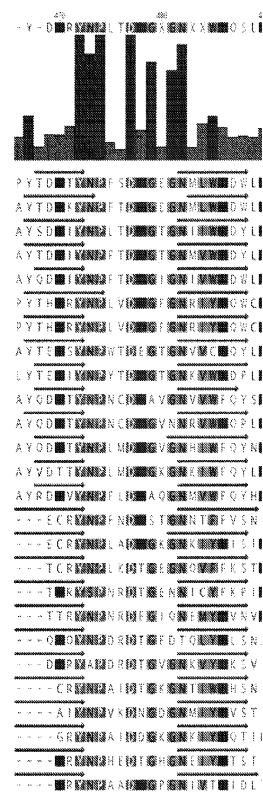


図 48

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2019/065919

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C12N15/86
ADD.

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)

C12N

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, P	WO 2018/232017 A1 (FLAGSHIP PIONEERING INC [US]) 20 December 2018 (2018-12-20) the whole document ----- -/--	1-54

☒ 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

"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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 February 2020

Date of mailing of the international search report

04/08/2020

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Keller, Yves

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2019/065919

Q(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	RODNEY P. KINCAID ET AL: "A Human Torque Teno Virus Encodes a MicroRNA That Inhibits Interferon Signaling", PLOS PATHOGENS, vol. 9, no. 12, 19 December 2013 (2013-12-19), page e1003818, XP055139223, ISSN: 1553-7366, DOI: 10.1371/journal.ppat.1003818	1-54
Y	abstract page 2, column 1, paragraph 3 - column 2, paragraph 2 page 5 - page 6, column 1, paragraph 1 page 7 page 10, column 1 Methods	1-54
X	----- NAZISH BOSTAN: "Current and Future Prospects of Torque Teno Virus", JOURNAL OF VACCINES & VACCINATION, vol. xp55668949, 1 January 2013 (2013-01-01), XP055668949, DOI: 10.4172/2157-7560.S1-004 the whole document	1-54
Y	----- GZ RACZ ET AL: "Toward gene therapy for growth hormone deficiency via salivary gland expression of growth hormone", ORAL DISEASES, vol. 21, no. 2, 13 January 2014 (2014-01-13), pages 149-155, XP055669641, GB ISSN: 1354-523X, DOI: 10.1111/odi.12217 the whole document -----	1-54

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2019/065919

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 5.4(a).

10

20

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

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

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-30(completely); 31-54(partially)

30

40

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2019/065919

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-30(completely); 31-54(partially)

An anellovirus derived particule comprising as exogenous effector an human growth hormone.

2. claims: 31-54(partially)

An anellovirus derived particule comprising as exogenous effector an antibody binding to a growth factor.

3. claims: 31-54(partially)

An anellovirus derived particule comprising as exogenous effector an antibody binding to a growth factor receptor.

4. claims: 31-54(partially)

An anellovirus derived particule comprising as exogenous effector an antibody binding to a cytokine.

5. claims: 31-54(partially)

An anellovirus derived particule comprising as exogenous effector an antibody binding to a cytokine receptor.

6. claims: 31-54(partially)

An anellovirus derived particule comprising as exogenous effector enzyme.

7. claims: 31-54(partially)

An anellovirus derived particule comprising as exogenous effector a cytokine.

8. claims: 31-54(partially)

An anellovirus derived particule comprising as exogenous effector an hormone.

9. claims: 31-54(partially)

An anellovirus derived particule comprising as exogenous effector an antibody binding to a growth factor inhibitor.

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/ US2019/ 065919

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

10. claims: 31-54(partially)

10

An anellovirus derived particule comprising as exogenous
effector a complement inhibitor.

11. claims: 31-54(partially)

An anellovirus derived particule comprising as exogenous
effector a clothing factor.

12. claims: 31-54(partially)

An anellovirus derived particule comprising as exogenous
effector a modulator if STING/cGAS signaling

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2019/065919

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2018232017 A1	20-12-2018	AU 2018285860 A1	02-01-2020
		CA 3066750 A1	20-12-2018
		CN 111108208 A	05-05-2020
		EP 3638797 A1	22-04-2020
		KR 20200038236 A	10-04-2020
		US 2019211361 A1	11-07-2019
		US 2020123203 A1	23-04-2020
		WO 2018232017 A1	20-12-2018

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	38/19 (2006.01)	A 6 1 K	38/19	
A 6 1 K	38/22 (2006.01)	A 6 1 K	38/22	
A 6 1 K	38/43 (2006.01)	A 6 1 K	38/43	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1

,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,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,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ワINSTAイン, エリカ ガブリエル

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, スイート 800イー

(72)発明者 カーベジアン, アバク

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, スイート 800イー

(72)発明者 デラグレイブ, 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, スイート 800イー

(72)発明者 ヨズウィアク, ネイサン ローレンス

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, スイート 800イー

(72)発明者 レボ, ケビン ジェイムズ

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, スイート 800イー

(72)発明者 ディアズ, フェルナンド マーティン

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, スイート 800イー

(72)発明者 ナワンダル, ダナンジャイ マニクラール

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, スイート 800イー

(72)発明者 テッドストーン, ライアン ディー.

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, スイート 800イー

(72)発明者 ピッツ, ジャレド デイビッド

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, スイート 800イー

F ターム (参考) 4B065 AA90Y AA95X AA95Y AB01 AC14 AC20 BA01 CA24 CA44

4C084 AA13 AA17 MA05 NA13 ZC411

4C085 AA14 AA15 EE03

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA13