

Novel Adeno-associated Viruses Derived From Pig Tissues Transduce Most Major Organs in Mice

Alexander Bello^{1,2}, Allan Chand^{1,2}, Jenna Aviles^{1,3}, Geoff Soule¹, Alberto Auricchio^{4,5} and Gary P. Kobinger^{1,2,3}

¹Public Health Agency of Canada, National Microbiology Laboratory, Special Pathogens Program, Winnipeg, Canada, ²University of Manitoba, Department of Medical Microbiology, ³Department of Immunology, Winnipeg, Canada, ⁴Telethon Institute of Genetics and Medicine, Naples, Italy, ⁵Medical Genetics, Translational Medicine, “Federico II” University, Naples, Italy.

Running Head: Novel Pig AAVs Transduce Most Organs in Mice

Corresponding author:

Gary P. Kobinger, Ph.D.

1015 Arlington Street

Winnipeg, MB, R3E 3R2.

Canada

Phone: 204-784-5923

FAX: 204-789-2140

Email: gary.kobinger@phac-aspc.gc.ca

Supplementary Table 1. Estimates of Evolutionary Divergence between Partial Cap Sequences

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36				
1 AAV2																																								
2 AAV3	0.128																																							
3 AAV5	0.409	0.393																																						
4 AAV7	0.141	0.092	0.387																																					
5 AAV8	0.128	0.096	0.398	0.037																																				
6 AAV9	0.128	0.096	0.398	0.037	0.007																																			
7 AAV6	0.132	0.092	0.398	0.052	0.060	0.060																																		
8 AAVgo.1	0.409	0.393	0.000	0.387	0.398	0.398	0.398																																	
9 AAVhu.9	0.030	0.108	0.420	0.141	0.145	0.145	0.141	0.420																																
10 AAVhu.11	0.018	0.108	0.415	0.137	0.132	0.132	0.128	0.415	0.011																															
11 AAVhu.27	0.011	0.120	0.415	0.145	0.132	0.132	0.132	0.415	0.041	0.030																														
12 AAVpo1	0.415	0.420	0.116	0.409	0.409	0.409	0.404	0.116	0.431	0.420	0.420																													
13 AAVpo4	0.224	0.238	0.257	0.210	0.220	0.220	0.220	0.257	0.233	0.229	0.220	0.266																												
14 AAVpo5	0.431	0.426	0.141	0.409	0.415	0.415	0.420	0.141	0.437	0.437	0.437	0.033	0.261																											
15 AAVpo6	0.210	0.233	0.257	0.215	0.224	0.224	0.220	0.257	0.220	0.215	0.206	0.266	0.011	0.266																										
16 AAVpo7	0.315	0.320	0.300	0.300	0.300	0.305	0.310	0.300	0.310	0.310	0.315	0.315	0.120	0.310	0.128																									
17 AAVpo8	0.315	0.320	0.295	0.300	0.300	0.305	0.310	0.295	0.310	0.310	0.315	0.305	0.128	0.305	0.137	0.030																								
18 AAVpo9	0.426	0.420	0.124	0.409	0.420	0.420	0.415	0.124	0.431	0.431	0.431	0.015	0.266	0.026	0.266	0.310	0.300																							
19 AAVpo10	0.431	0.426	0.120	0.409	0.420	0.420	0.420	0.120	0.437	0.437	0.437	0.018	0.266	0.022	0.271	0.310	0.300	0.015																						
20 AAVpo11	0.426	0.420	0.120	0.404	0.409	0.409	0.415	0.120	0.431	0.431	0.431	0.033	0.261	0.022	0.266	0.305	0.295	0.030	0.022																					
21 AAVpo12	0.431	0.426	0.141	0.409	0.415	0.415	0.420	0.141	0.437	0.437	0.437	0.033	0.261	0.000	0.266	0.310	0.305	0.026	0.022	0.022																				
22 AAVpo27	0.426	0.420	0.120	0.404	0.415	0.415	0.415	0.120	0.431	0.431	0.431	0.026	0.257	0.033	0.266	0.305	0.295	0.018	0.022	0.041	0.033																			
23 AAVpo28	0.415	0.409	0.108	0.398	0.409	0.409	0.404	0.108	0.420	0.420	0.420	0.022	0.257	0.033	0.257	0.300	0.290	0.018	0.015	0.011	0.033	0.033																		
24 AAVpo13	0.224	0.247	0.266	0.220	0.229	0.229	0.229	0.266	0.233	0.229	0.220	0.276	0.011	0.271	0.015	0.128	0.137	0.276	0.276	0.271	0.271	0.266	0.266																	
25 AAVpo14	0.315	0.315	0.295	0.290	0.290	0.295	0.305	0.295	0.310	0.310	0.315	0.310	0.124	0.305	0.128	0.022	0.033	0.305	0.305	0.300	0.305	0.305	0.295	0.132																
26 AAVpo15	0.310	0.315	0.280	0.295	0.295	0.300	0.305	0.280	0.305	0.305	0.310	0.290	0.124	0.290	0.132	0.026	0.011	0.285	0.285	0.280	0.290	0.280	0.276	0.132	0.030															
27 AAVpo16	0.206	0.242	0.261	0.220	0.229	0.229	0.224	0.261	0.215	0.210	0.201	0.271	0.026	0.271	0.022	0.124	0.132	0.271	0.276	0.271	0.271	0.271	0.261	0.030	0.124	0.128														
28 AAVpo17	0.220	0.238	0.266	0.210	0.220	0.220	0.220	0.266	0.229	0.224	0.215	0.252	0.022	0.247	0.030	0.145	0.154	0.252	0.252	0.247	0.247	0.247	0.242	0.033	0.145	0.149	0.037													
29 AAVpo18	0.315	0.320	0.276	0.300	0.300	0.305	0.310	0.276	0.310	0.310	0.315	0.285	0.128	0.285	0.137	0.030	0.015	0.280	0.280	0.276	0.285	0.276	0.271	0.137	0.033	0.011	0.132	0.154												
30 AAVpo19	0.315	0.315	0.290	0.295	0.295	0.300	0.305	0.290	0.310	0.310	0.315	0.305	0.120	0.300	0.128	0.011	0.018	0.300	0.300	0.295	0.300	0.295	0.290	0.128	0.015	0.015	0.124	0.145	0.018											
31 AAVpo20	0.295	0.305	0.285	0.285	0.285	0.290	0.295	0.285	0.290	0.290	0.295	0.295	0.116	0.295	0.120	0.030	0.022	0.290	0.290	0.285	0.295	0.290	0.280	0.124	0.030	0.018	0.116	0.137	0.022	0.026										
32 AAVpo21	0.295	0.305	0.295	0.290	0.280	0.285	0.295	0.295	0.290	0.290	0.295	0.305	0.116	0.300	0.120	0.033	0.037	0.300	0.300	0.295	0.300	0.300	0.290	0.124	0.018	0.033	0.116	0.137	0.037	0.033	0.018									
33 AAVpo23	0.426	0.420	0.120	0.409	0.420	0.420	0.415	0.120	0.431	0.431	0.431	0.007	0.266	0.026	0.266	0.310	0.300	0.007	0.011	0.026	0.026	0.026	0.015	0.276	0.305	0.285	0.271	0.252	0.280	0.300	0.290	0.300								
34 AAVpo24	0.295	0.305	0.295	0.290	0.280	0.285	0.295	0.295	0.290	0.290	0.295	0.305	0.116	0.300	0.120	0.033	0.037	0.300	0.300	0.295	0.300	0.300	0.290	0.124	0.018	0.033	0.116	0.137	0.037	0.033	0.018	0.000	0.300							
35 AAVpo25	0.431	0.426	0.145	0.409	0.415	0.415	0.420	0.145	0.437	0.437	0.437	0.037	0.261	0.004	0.266	0.310	0.305	0.030	0.026	0.026	0.004	0.037	0.037	0.271	0.305	0.290	0.271	0.247	0.285	0.300	0.295	0.300	0.030	0.300						
36 AAVpo26	0.310	0.315	0.276	0.295	0.295	0.300	0.305	0.276	0.305	0.305	0.310	0.285	0.124	0.285	0.132	0.030	0.015	0.280	0.280	0.276	0.285	0.276	0.271	0.132	0.033	0.004	0.128	0.149	0.015	0.018	0.022	0.037	0.280	0.037	0.285					
37 AAVth32.33	0.310	0.290	0.454	0.220	0.224	0.224	0.220	0.454	0.325	0.315	0.315	0.454	0.415	0.477	0.409	0.443	0.448	0.471	0.477	0.466	0.477	0.466	0.460	0.420	0.431	0.443	0.426	0.415	0.448	0.437	0.437	0.431	0.466	0.431	0.477	0.443				

The number of amino acid substitutions per site from between sequences are shown. Analyses were conducted using the Poisson correction model. The analysis involved 37 amino acid sequences. All positions containing gaps and missing data were eliminated. There were a total of 274 positions in the final dataset. Evolutionary analyses were conducted in MEGA6.

Supplementary Table 2. Estimates of Evolutionary Divergence between complete Cap Sequences

	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
1 AAV1																												
2 AAV2	0.172																											
3 AAV3	0.133	0.131																										
4 AAV4	0.426	0.465	0.440																									
5 AAV5	0.501	0.503	0.498	0.586																								
6 AAV6	0.013	0.170	0.136	0.435	0.505																							
7 AAV7	0.150	0.176	0.151	0.426	0.491	0.153																						
8 AAV8	0.162	0.176	0.146	0.433	0.501	0.165	0.123																					
9 AAV9	0.153	0.160	0.151	0.437	0.510	0.158	0.125	0.082																				
10 AAV10	0.148	0.160	0.140	0.428	0.515	0.151	0.118	0.065	0.090																			
11 AAV11	0.382	0.433	0.422	0.199	0.571	0.391	0.376	0.395	0.395	0.387																		
12 AAV12	0.440	0.451	0.451	0.208	0.584	0.449	0.428	0.440	0.437	0.440	0.140																	
13 AAVgo.1	0.508	0.510	0.501	0.586	0.054	0.513	0.491	0.498	0.515	0.505	0.565	0.586																
14 AAVhu.9	0.165	0.089	0.082	0.451	0.515	0.165	0.174	0.176	0.177	0.160	0.435	0.456	0.520															
15 AAVhu.11	0.157	0.082	0.081	0.451	0.508	0.157	0.170	0.169	0.169	0.153	0.428	0.453	0.513	0.009														
16 AAVhu.24	0.169	0.015	0.123	0.458	0.503	0.167	0.177	0.174	0.162	0.158	0.428	0.442	0.513	0.092	0.086													
17 AAVhu.55	0.157	0.078	0.078	0.460	0.510	0.157	0.165	0.169	0.169	0.158	0.431	0.456	0.518	0.027	0.021	0.081												
18 AAVhu.56	0.172	0.010	0.131	0.465	0.498	0.170	0.179	0.179	0.163	0.162	0.433	0.451	0.508	0.090	0.084	0.013	0.079											
19 AAVpo1	0.491	0.498	0.496	0.594	0.136	0.496	0.484	0.496	0.498	0.501	0.571	0.602	0.113	0.491	0.484	0.498	0.493	0.498										
20 AAVpo2.1	0.222	0.172	0.204	0.491	0.460	0.222	0.220	0.213	0.211	0.224	0.491	0.498	0.470	0.197	0.193	0.172	0.191	0.176	0.447									
21 AAVpo4	0.215	0.191	0.208	0.496	0.449	0.217	0.217	0.217	0.211	0.228	0.491	0.501	0.453	0.206	0.202	0.193	0.200	0.199	0.431	0.068								
22 AAVpo5	0.518	0.505	0.496	0.589	0.126	0.525	0.496	0.491	0.508	0.505	0.571	0.597	0.115	0.508	0.503	0.505	0.508	0.505	0.076	0.453	0.431							
23 AAVpo6	0.218	0.179	0.202	0.491	0.456	0.226	0.224	0.215	0.215	0.226	0.472	0.486	0.463	0.200	0.197	0.177	0.193	0.183	0.456	0.050	0.082	0.449						
24 AAVpo7	0.252	0.218	0.233	0.513	0.477	0.254	0.252	0.242	0.237	0.248	0.503	0.515	0.486	0.235	0.233	0.222	0.231	0.222	0.470	0.084	0.121	0.472	0.100					
25 AAVpo8	0.447	0.440	0.424	0.545	0.496	0.447	0.428	0.431	0.444	0.451	0.520	0.533	0.508	0.431	0.426	0.437	0.435	0.442	0.501	0.365	0.363	0.501	0.359	0.300				
26 AAVrh.32.33	0.380	0.431	0.419	0.199	0.568	0.389	0.374	0.393	0.393	0.384	0.001	0.138	0.563	0.433	0.426	0.426	0.428	0.431	0.568	0.489	0.489	0.571	0.470	0.503	0.520			
27 BAAV	0.474	0.498	0.486	0.246	0.548	0.484	0.477	0.501	0.501	0.486	0.229	0.242	0.530	0.491	0.491	0.489	0.496	0.498	0.545	0.460	0.460	0.543	0.442	0.463	0.484	0.229		
28 goose_parvovirus	0.550	0.558	0.538	0.589	0.573	0.555	0.538	0.525	0.548	0.533	0.597	0.608	0.565	0.565	0.558	0.548	0.560	0.555	0.573	0.571	0.573	0.565	0.565	0.589	0.608	0.597	0.594	

The number of amino acid substitutions per site from between sequences are shown. Analyses were conducted using the Poisson correction model. The analysis involved 28 amino acid sequences. All positions containing gaps and missing data were eliminated. There were a total of 683 positions in the final dataset. Evolutionary analyses were conducted in MEGA6.

Supplementary Table 3: Biodistribution of Systemically Delivered AAV in Mouse Tissues

Organ	AAVpo2.1	AAVpo4	AAVpo5	AAVpo6	AAV5	AAV8	PBS
Spleen	1.644±.058	1.322±.143	0.032±.013	0.549±.279	1.638±1.113	2.353±1.273	0.002±.001
Heart	0.043±.006	1.284±.235	0.030±.010	0.441±.089	0.034±.010	0.335±.057	0.006±.002
Lung	0.046±.006	1.466±.284	0.026±.002	1.325±.323	1.700±.791	0.210±.056	0.022±.018
Liver	0.044±.006	61.859±4.612	0.032±.029	20.980±3.090	3.421±1.258	52.414±6.298	0.002±.001
Kidney	0.329±.010	1.585±.263	0.039±.006	0.853±.114	0.145±.018	0.166±.060	0.005±.001
Large Int.	0.012±.003	0.183±.010	0.004±.002	0.190±.103	0.154±.104	0.062±.008	0.001±.001
Muscle	0.079±.048	0.677±.125	0.013±.003	0.617±.208	0.041±.016	0.020±.006	0.009±.005
Brain	0.013±.002	0.188±.081	0.002±.001	0.147±.099	0.044±.012	0.087±.019	0.003±.002
Ovary	0.053±.004	0.305±.156	0.007±.003	0.831±.129	0.025±.010	0.051±.023	0.008±.006

Values represent mean±SEM gc/cell, n=3