201821093

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201821093 A

(43)公開日： 中華民國 107 (2018) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：106123392 (22)申請日： 中華民國 106 (2017) 年 07 月 12 日

(51)Int. Cl.： *A61K35/74 (2015.01)*

(30)優先權：2016/07/13 英國 1612190.7
2016/09/20 英國 1616016.0
2016/09/20 英國 1616018.6
2017/03/06 英國 1703548.6
2017/03/06 英國 1703552.8

(71)申請人：英商４Ｄ製藥有限公司 (英國) 4D PHARMA PLC (GB)
英國

(72)發明人：柏納利爾－多納迪耶 安妮克 BERNALIER-DONADILLE, ANNICK (FR)；克魯茲羅琳 CROUZET, LAUREEN (FR)；阿布齊 克蘿伊 HABOUZIT, CHLOE (FR)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：26 項 圖式數：15 共 76 頁

(54)名稱

包含細菌菌株之組合物

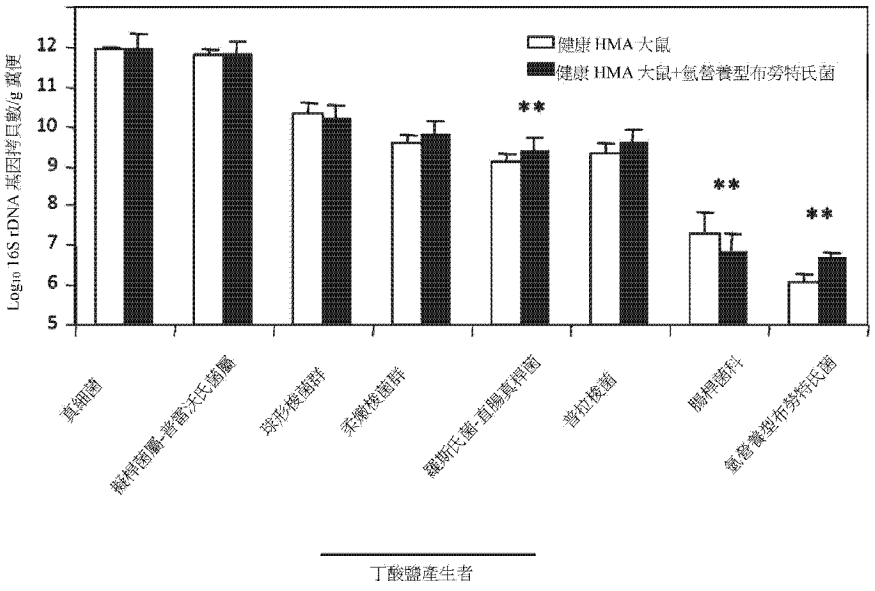
COMPOSITIONS COMPRISING BACTERIAL STRAINS

(57)摘要

本發明提供包含一或多種細菌菌株之組合物，其用於降低胃腸道中腸桿菌科(Enterobacteriaceae)之濃度的方法中。

The invention provides compositions comprising one or more bacterial strains for use in a method of reducing the level ofEnterobacteriaceaein the gastrointestinal tract.

指定代表圖：


健康 HMA 大鼠
健康 HMA 大鼠+氨營養型布勞特氏菌
Log10 16S rDNA 基因拷貝數/g 糞便
12
11
10
9
8
7
6
5
**
**
**
真細菌
擬桿菌屬-普雷沃氏菌屬
梭形梭菌群
柔嫩梭菌群
羅斯氏菌-直腸真桿菌
普拉梭菌
瘤胃菌科
氨營養型布勞特氏菌
丁酸鹽產生者

【圖 5】

【發明說明書】

【中文發明名稱】

包含細菌菌株之組合物

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS COMPRISING BACTERIAL STRAINS

【技術領域】

本發明係包含自哺乳動物消化道分離之細菌菌株之組合物及該等組合物在治療疾病中之用途的領域。

【先前技術】

在子宮內時人類腸子被認為是無菌的，但出生之後，其立即暴露於各式母體及環境微生物。此後，發生微生物定殖及演替之動態期，其由諸如遞送模式、環境、飲食及宿主基因型等因素影響，所有因素皆影響腸微生物區系之組成，尤其係在生命早期。隨後，微生物區系較為穩定且變成成人樣狀態[1]。人類腸微生物區系含有1500種以上不同種系型，主要種系型係具有豐富濃度之兩種主要細菌門(division、phyla)擬桿菌門(Bacteroidetes)及硬壁菌門(Firmicutes) [2-3]。源自人類腸之細菌定殖之成功共生關係已產生眾多種代謝、結構、保護及其他有益功能。經定殖腸的強化之代謝活性可確保原本不消化飲食組分會發生降解且釋放提供用於宿主之重要營養物來源及其他健康益處之副產物。類似地，腸微生物區系之免疫學重要性已充分認可且例示於具有在引入共生細菌後在功能上重構之受損免疫系統之無菌動物中[4-6]。

微生物區系組成之顯著變化已展現於胃腸道病症(例如發炎性腸病(IBD))中。舉例而言，梭菌(Clostridium) XIVa簇及梭菌XI簇(普拉梭菌

(F. prausnitzii))細菌在IBD患者中之濃度有所降低，而大腸桿菌(E.coli)之數量有所增加，從而表明共生體及致病共棲菌譜在腸內之平衡發生移動[7-11]。

在認識到某些細菌菌株對動物腸具有之潛在正效應後，已提出各種菌株來用於治療各種疾病(例如參見[12-15])。已提出諸多菌株(主要包括乳桿菌(Lactobacillus)及雙歧桿菌屬(Bifidobacterium)菌株)來用於治療各種腸病(綜述可參見[16])。亦提出布勞特氏菌(Blautia)屬菌株來用於調節IBS患者中之消化生態系統之微生物平衡(WO 01/85187)。然而，並未充分表徵不同細菌菌株與不同疾病之間之關係及特定細菌菌株對腸及在全身性濃度下及對任一特定類型疾病之確切效應。

需要表徵腸細菌之潛在效應，從而可研發使用腸細菌之新療法。

US 2010/0247489闡述使用礦物質營養物來治療消化病症。US‘789提出視情況亦使用諸多不同細菌屬(包括腸桿菌科)以預防及降低結腸中氣體形成，從而此文件表明，增加胃腸道中腸桿菌科可用於治療某些疾病。US‘789並未論述任何減少腸桿菌科之方法。

WO 2016/086206提出，梭菌(Clostridiale)目中之細菌(包括腸桿菌科)可用於治療或預防生態失調(dysbiosis)。在WO’206中並未提出，降低胃腸道中腸桿菌科濃度可用於治療疾病，且並無任何關於可如何降低腸桿菌科濃度之提議。

WO 2012/142605提出，可使用微生物組合來治療諸多不同疾病。WO’605提出大量可採用之可能細菌物種，但在WO’605中並無關於所提出任一細菌物種可如何用於治療所提出任一疾病之教示內容。

【發明內容】

發明者已研發用於治療及預防與腸桿菌科、尤其大腸桿菌有關之疾病之新療法。特定而言，發明者已鑑別，來自屬布勞特氏菌之細菌菌株可有效降低胃腸道中腸桿菌科濃度。如實例中所闡述，經口投與包含氫營養型布勞特氏菌(Blautia hydrogenotrophica)之組合物可降低胃腸道中腸桿菌科(包括大腸桿菌(E. coli))之濃度，且可治療或預防與腸桿菌科或大腸桿菌有關之疾病，因此，在第一實施例中，本發明提供包含布勞特氏菌屬之細菌菌株之組合物，其用於降低胃腸道中腸桿菌科濃度之方法中。

在本發明之所有態樣之較佳實施例中，腸桿菌科係大腸桿菌。在本發明之所有態樣之較佳實施例中，細菌菌株係氫營養型布勞特氏菌且較佳係以登錄號DSM 10507/14294寄存之細菌。

在較佳實施例中，本發明提供包含布勞特氏菌屬細菌菌株之組合物，該組合物係用於治療或預防與腸桿菌科感染(例如大腸桿菌感染)有關之疾病之方法中。在某些實施例中，本發明組合物係用於治療或預防腹瀉、胃腸炎、尿路感染或新生兒腦膜炎。在某些實施例中，本發明組合物係用於治療或預防腸桿菌科感染(例如大腸桿菌感染)。

在其他較佳實施例中，本發明組合物係用於降低胃腸道中腸桿菌科濃度、較佳地大腸桿菌濃度，治療或預防IBS、克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎、功能消化不良、腹瀉、胃腸炎、尿路感染或新生兒腦膜炎。

發明者已研發用於治療及預防腹瀉之新療法。特定而言，發明者已鑑別出，來自布勞特氏菌屬之細菌菌株可有效用於減輕腹瀉。如實例中所闡述，經口投與包含氫營養型布勞特氏菌之組合物可減輕刺激性腸症候群(IBS)患者之腹瀉。

在本發明之較佳實施例中，組合物中細菌菌株係氫營養型布勞特氏

菌。亦可使用密切相關之菌株，例如具有與氫營養型布勞特氏菌細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列之細菌菌株。較佳地，細菌菌株具有與SEQ ID NO:5至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。最佳地，組合物中細菌菌株係以登錄號DSM 10507/14294寄存之氫營養型布勞特氏菌菌株。

在本發明之其他實施例中，組合物中細菌菌株係糞堆布勞特氏菌(Blautia stercoris)。亦可使用密切相關之菌株，例如具有與糞堆布勞特氏菌細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列之細菌菌株。較佳地，細菌菌株具有與SEQ ID NO:1或3至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。較佳地，序列一致性係針對SEQ ID NO:3。較佳地，用於本發明中細菌菌株具有由SEQ ID NO:3代表之16s rRNA序列。

在本發明之其他實施例中，組合物中細菌菌株係魏克拉-布勞特氏菌(Blautia wexlerae)。亦可使用密切相關之菌株，例如具有與魏克拉-布勞特氏菌細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列之細菌菌株。較佳地，細菌菌株具有與SEQ ID NO:2或4至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。較佳地，序列一致性係針對SEQ ID NO:4。較佳地，用於本發明中細菌菌株具有由SEQ ID NO:4代表之16s rRNA序列。

在某些實施例中，本發明組合物係用於經口投與。經口投與本發明菌株可有效降低胃腸道中腸桿菌科濃度。同樣，經口投與便利於患者及從業人員且容許遞送至腸及/或部分或完全定殖於腸中。

在某些實施例中，本發明組合物包含一或多種醫藥上可接受之賦形劑或載劑。

在某些實施例中，本發明組合物包含已凍乾之細菌菌株。凍乾係用於製備容許遞送細菌之穩定組合物之有效及便利技術，且在實例中展示可提供有效組合物。

在某些實施例中，本發明提供包含如上文所闡述之組合物之食品。

在某些實施例中，本發明提供包含如上文所闡述之組合物之疫苗組合物。

另外，本發明提供降低胃腸道中腸桿菌科濃度且由此治療或預防與腸桿菌科有關之疾病之方法，其包含投與包含布勞特氏菌屬細菌菌株之組合物。

【圖式簡單說明】

圖1：藉由qPCR實施之BH群體量測，其展示接受BH凍乾物之IBS HMI大鼠在第14及28天之BH增加。

圖2：HIM大鼠中之投藥研究-接受不同濃度之細菌物種之健康HIM大鼠之糞便試樣中氫營養型布勞特氏菌之RT-PCR量化。

圖3：在向健康HIM大鼠經口投與(10^9/天)之後氫營養型布勞特氏菌之移動時間。

圖4：在投與氫營養型布勞特氏菌菌株(以10^{10}/天/大鼠投與) 14天之後在健康HIM大鼠之糞便及盲腸試樣中所發現氫營養型布勞特氏菌濃度的對比(RT-PCR量化)。

圖5：氫營養型布勞特氏菌投與對健康人類微生物區系相關大鼠之糞便微生物區系組成之效應。以10^{10}個氫營養型布勞特氏菌/天投與14天(來

自2種健康人類糞便微生物區系(20隻HIM大鼠)之結果- qPCR分析)。

圖6: 氫營養型布勞特氏菌投與對IBS-HIM大鼠中之微生物群體之影響。

圖7a：在布勞替克(布勞替克)治療期間及之後患者微生物區系氫營養型布勞特氏菌之濃度變化。

圖7b：在布勞替克治療期間及之後患者微生物區系腸桿菌(Enterobacteria)之濃度變化。

圖8：使用布勞替克治療之IBS患者(**圖8a**)及使用安慰劑治療之IBS患者(**圖8b**)在第1天、第2天、第15天及第16天之氫呼吸測試Cmax結果。**圖8c**係比較第15天及第16天平均值與第1天及第2天平均值間之氫有所降低之布勞替克治療患者百分比與該等時間點間之氫有所降低之安慰劑治療患者百分比的圖形。

圖9a：布勞替克治療IBS患者在第1天及第15天之氫未校正及氫校正呼吸測試配對數據；**圖9b**：比較布勞替克治療組在第1天及第15天之平均氫未校正呼吸測試結果之圖形；**圖9c**：比較布勞替克治療組在第1天及第15天之平均氫校正呼吸測試結果之圖形。

圖10a：安慰劑治療IBS患者在第1天及第15天之氫未校正及氫校正呼吸測試配對數據；**圖10b**：比較安慰劑組在第1天及第15天之平均氫未校正呼吸測試結果之圖形；**圖10c**：比較安慰劑組在第1天及第15天之平均氫校正呼吸測試結果之圖形。

圖11：比較布勞替克治療組(Verum)及安慰劑組在第1天及第15天之平均氫呼吸測試結果之圖形(**圖11a**：未校正氫；**圖11b**：校正氫)。

圖12：經或未經包含氫營養型布勞特氏菌菌株(布勞替克)之組合物治

療28天之IBS-HMA大鼠之糞便試樣中氫營養型布勞特氏菌群體的qPCR評估。

圖13：在投與氫營養型布勞特氏菌(布勞替克)與對照溶液之後IBS HMA大鼠糞便試樣中之細菌枚舉。

圖14：I期臨床試驗之投藥期(第1-16天)期間之患者症狀變化。

圖15：I期臨床試驗之清除期期間之患者症狀變化。

【實施方式】

細菌菌株

本發明組合物包含布勞特氏菌屬細菌菌株。實例證實，此屬之細菌可用於降低胃腸道中腸桿菌科、尤其大腸桿菌之濃度。較佳細菌菌株係物種氫營養型布勞特氏菌、糞堆布勞特氏菌及魏克拉-布勞特氏菌。用於本發明中之其他較佳細菌菌株係延長布勞特氏菌(Blautia producta)、球形布勞特氏菌(Blautia coccoides)及漢遜-布勞特氏菌(Blautia hansenii)。最佳者係氫營養型布勞特氏菌，尤其係以登錄號DSM 10507/14294寄存之細菌。

用於本發明中之布勞特氏菌菌株之實例包括氫營養型布勞特氏菌、糞堆布勞特氏菌、糞便布勞特氏菌(B. faecis)、球形布勞特氏菌、格魯拉瑟-布勞特氏菌(B. glucerasea)、漢遜-布勞特氏菌、魯替-布勞特氏菌(B. luti)、延長布勞特氏菌、史恩基-布勞特氏菌(B. schinkii)及魏克拉-布勞特氏菌。布勞特氏菌屬係可為球形或卵形之革蘭氏反應陽性(Gram-reaction-positive)、非運動性細菌且皆係產生乙酸作為葡萄糖發酵之主要端產物之絕對厭氧菌[17]。布勞特氏菌可自人類腸分離，但延長布勞特氏菌係自敗血病試樣所分離。

氫營養型布勞特氏菌(先前稱為氫營養型瘤胃球菌(Ruminococcus hydrogenotrophicus))已自哺乳動物腸分離出，其嚴格厭氧，且將H_2/CO_2代謝成可對人類營養及健康較為重要之乙酸鹽。氫營養型布勞特氏菌之菌株類型係S5a33 = DSM 10507 = JCM 14656。氫營養型布勞特氏菌菌株S5a36之16S rRNA基因序列之基因庫登錄號為X95624.1 (在本文中揭示為SEQ ID NO:5)。此實例性氫營養型布勞特氏菌菌株闡述於[17]及[18]中。S5a33菌株及S5a36菌株對應於自健康個體之糞便試樣所分離菌株之兩種亞純系。其展示相同形態、生理學及代謝且相同16S rRNA序列。因此，在一些實施例中，用於本發明中氫營養型布勞特氏菌具有SEQ ID NO:5之16S rRNA序列。

以登錄號DSM 10507亦及以登錄號DSM 14294寄存之氫營養型布勞特氏菌細菌測試於實例中且亦在本文中稱為菌株BH。由Deutsche Sammlung von Mikroorganismen [德國微生物保藏中心(German Microorganism Collection)] (Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig，德國)將菌株BH在1996年1月以登錄號DSM 10507寄存為「氫營養型瘤胃球菌」且亦在2001年5月10日以登錄號DSM 14294寄存為「S5a33」。寄存者為INRA Laboratoire de Microbiologie CR de Clermont-Ferrand/Theix 63122 Saint Genès Champanelle，法國。寄存所有權已藉由轉讓轉移給4D Pharma Plc。

糞堆布勞特氏菌菌株GAM6-1^{T}之16S rRNA基因序列之基因庫登錄號為HM626177 (在本文中揭示為SEQ ID NO:1)。實例性糞堆布勞特氏菌菌株闡述於[19]中。魏克拉-布勞特氏菌之菌株類型係WAL 14507 = ATCC BAA-1564 = DSM 19850 [17]。魏克拉-布勞特氏菌菌株WAL 14507 T之

16S rRNA基因序列之基因庫登錄號為EF036467 (在本文中揭示為SEQ ID NO:2)。此實例性魏克拉-布勞特氏菌菌株闡述於[17]中。

較佳糞堆布勞特氏菌菌株係以登錄號NCIMB 42381寄存之菌株，其亦在本文中稱為菌株830。830菌株之16S rRNA序列提供於SEQ ID NO:3中。菌株830經國際寄存授權機構NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA，蘇格蘭)由GT Biologics Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS，蘇格蘭)於2015年3月12日寄存為「糞堆布勞特氏菌830」且分配登錄號NCIMB 42381。GT Biologics Ltd.隨後改名為4D Pharma Research Limited。

較佳魏克拉-布勞特氏菌菌株係以登錄號NCIMB 42486寄存之菌株，其亦在本文中稱為菌株MRX008。MRX008菌株之16S rRNA序列提供於SEQ ID NO:4中。菌株MRX008經國際寄存授權機構NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA，蘇格蘭)由4D Pharma Research Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS，蘇格蘭)於2015年11月16日寄存為「布勞特氏菌/瘤胃球菌MRx0008」且分配登錄號NCIMB 42486。

與實例中所測試菌株密切相關之細菌菌株亦預計可有效降低胃腸道中腸桿菌科、尤其大腸桿菌之濃度。在某些實施例中，用於本發明中細菌菌株具有與氫營養型布勞特氏菌細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。較佳地，用於本發明中細菌菌株具有與SEQ ID NO:5至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。

在某些實施例中，用於本發明中細菌菌株具有與糞堆布勞特氏菌之

細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致的16s rRNA序列。較佳地，用於本發明中細菌菌株具有與SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:3至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。較佳地，序列一致性係針對SEQ ID NO:3。較佳地，用於本發明中細菌菌株具有由SEQ ID NO:3代表之16s rRNA序列。在某些實施例中，用於本發明中細菌菌株具有與魏克拉-布勞特氏菌之細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致的16s rRNA序列。較佳地，用於本發明中細菌菌株具有與SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:4至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。較佳地，序列一致性係針對SEQ ID NO:4。較佳地，用於本發明中細菌菌株具有由SEQ ID NO:4代表之16s rRNA序列。

作為以登錄號DSM 10507/14294寄存之細菌生物型或以登錄號NCIMB 42381及NCIMB 42486寄存之細菌生物型之細菌菌株亦預計可有效降低胃腸道中腸桿菌科、尤其大腸桿菌的濃度。生物型係具有相同或極類似生理學及生物化學特性之密切相關菌株。

作為以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌生物型且適用於本發明中菌株可藉由測序以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌的其他核苷酸序列來進行鑑別。舉例而言，可測序實質上全基因體且用於本發明中生物型菌株可在至少80%之其全基因體中(例如在至少85%、90%、95%或99%中，或在其全基因體中)具有至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%之序列一致性。舉例而言，在一些實施例中，生物型菌株在至少

98%之其基因體中具有至少98%序列一致性或在99%之其基因體中具有至少99%序列一致性。用於所鑑別生物型菌株中之其他適宜序列可包括hsp60或重複序列(例如BOX、ERIC、$(GTG)_5$或REP或[20])。生物型菌株可具有與以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌之相應序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%序列一致性之序列。在一些實施例中，生物型菌株具有與寄存為DSM 10507/14294之氫營養型布勞特氏菌菌株之相應序列具有至少97%、98%、99%、99.5%或99.9%序列一致性之序列且包含與SEQ ID NO:5至少99%一致(例如至少99.5%或至少99.9%一致)的16S rRNA序列。在一些實施例中，生物型菌株具有與寄存為DSM 10507/14294之氫營養型布勞特氏菌菌株之相應序列具有至少97%、98%、99%、99.5%或99.9%序列一致性之序列且具有SEQ ID NO:5的16S rRNA序列。

或者，作為以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌生物型且適用於本發明中菌株可藉由使用寄存登錄號DSM 10507/14294、寄存登錄號NCIMB 42381或寄存登錄號NCIMB 42486及限制片段分析及/或PCR分析(例如藉由使用螢光擴增片段長度多型性(FAFLP)及重複DNA元件(rep)-PCR指紋技術或蛋白質描述或部分16S或23s rDNA測序)來進行鑑別。在較佳實施例中，可使用該等技術來鑑別其他氫營養型布勞特氏菌、糞堆布勞特氏菌或魏克拉-布勞特氏菌菌株。

在某些實施例中，作為以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌生物型且適用於本發明中菌株係在藉由擴增核糖體DNA限制分析(ARDRA)分析時(例如在使用Sau3AI限制酶時) (關

於實例性方法及導則，例如參見[21])以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌提供相同模式的菌株。或者，將生物型菌株鑑別為與以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌具有相同碳水化合物發酵模式之菌株。

可使用任一適當方法或策略(包括實例中所闡述之分析)來鑑別可用於本發明之組合物及方法中之其他布勞特氏菌菌株(例如以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌之生物型)。舉例而言，可藉由培養細菌且投與大鼠以在擴張分析中進行測試來鑑別用於本發明中之菌株。特定而言，與以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之細菌具有類似生長模式、代謝類型及/或表面抗原之細菌菌株可用於本發明中。有用菌株將與DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486菌株具有相當之微生物區系調節活性。特定而言，生物型菌株對腸桿菌科誘發與實例中所展示效應相當之效應，該等效應可藉由使用實例中所闡述之培養及投與方案進行鑑別。

本發明之尤佳菌株係以登錄號DSM 10507/14294寄存之氫營養型布勞特氏菌菌株。此係實例中所測試之實例性BH菌株且展示可有效降低胃腸道中腸桿菌科、尤其大腸桿菌之濃度。因此，本發明提供用於療法中、尤其用於本文所闡述疾病之以登錄號DSM 10507/14294寄存之氫營養型布勞特氏菌菌株之細胞(例如經分離細胞)或其衍生物。

以登錄號DSM 10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486寄存之菌株之衍生物可為子菌株(子代)或來自原始菌株之菌株培養物(亞選殖)。可修飾(例如在基因層面上)本發明菌株之衍生物且並不去除生物活性。特定而言，本發明之衍生菌株具有治療活性。衍生菌株與原始DSM

10507/14294、NCIMB 42381或NCIMB 42486菌株具有相當之微生物區系調節活性。特定而言，衍生菌株對腸桿菌科誘發與實例中所展示效應相當之效應，該等效應可藉由使用實例中所闡述之培養及投與方案進行鑑別。DSM 10507/14294菌株之衍生物通常係DSM 10507/14294菌株之生物型。NCIMB 42381菌株之衍生物通常係NCIMB 42381菌株之生物型。NCIMB 42486菌株之衍生物通常係NCIMB 42486菌株之生物型。

所提及以登錄號DSM 10507/14294寄存之氫營養型布勞特氏菌菌株之細胞涵蓋任何與以登錄號DSM 10507/14294寄存之菌株具有相同安全性及治療效能特性的細胞，且該等細胞由本發明涵蓋。所提及以登錄號NCIMB 42381寄存之糞堆布勞特氏菌菌株之細胞涵蓋任何與以登錄號NCIMB 42381寄存之菌株具有相同安全性及治療效能特性的細胞，且該等細胞由本發明涵蓋。所提及以登錄號NCIMB 42486寄存之魏克拉-布勞特氏菌菌株之細胞涵蓋任何與以登錄號NCIMB 42486寄存之菌株具有相同安全性及治療效能特性的細胞，且該等細胞由本發明涵蓋。

在較佳實施例中，本發明組合物中細菌菌株係可生長發育的且能夠部分地或完全定殖於腸中。

治療用途

在某些實施例中，本發明組合物係用於降低胃腸道中腸桿菌科濃度。腸桿菌科在胃腸道中之經增加濃度與諸多病理學病狀及疾病有關，且實例證實，本發明組合物可有效降低胃腸道中腸桿菌科濃度。

在本發明之所有態樣之較佳實施例中，腸桿菌科係大腸桿菌。因此，較佳地，本發明組合物係用於降低胃腸道中大腸桿菌濃度。

在某些實施例中，腸桿菌科係病原性菌株，例如大腸桿菌

O157:H7、O104:H4、O121、O26、O103、O111、O145、O104:H21或O104:H4。

在替代實施例中，腸桿菌科係共生或非病原性菌株。增加該腸桿菌科之濃度可有助於諸如IBS及克羅恩氏病(Crohn’s disease)等病狀，且實例證實，本發明組合物對IBS背景中腸桿菌科具有降低效應。

在某些實施例中，本發明組合物係用於治療或預防與腸桿菌科感染(例如大腸桿菌感染)有關之疾病。在某些實施例中，本發明組合物係用於治療或預防腹瀉、胃腸炎、尿路感染或新生兒腦膜炎。在該等實施例中，腸桿菌科可為病原性菌株。

在某些實施例中，本發明組合物係用於治療或預防與增加之腸桿菌科(例如大腸桿菌)濃度有關之疾病。在某些實施例中，本發明組合物係用於治療或預防腹瀉、胃腸炎、尿路感染或新生兒腦膜炎。在該等實施例中，腸桿菌科可為共生或非病原性菌株。

在一些實施例中，疾病或病狀之發病機制影響腸。在一些實施例中，疾病或病狀之發病機制並不影響腸。在一些實施例中，疾病或病狀之發病機制並不局部化在腸中。在一些實施例中，治療或預防發生於除腸外之位點。在一些實施例中，治療或預防發生於腸處且亦發生於除腸外之位點。在某些實施例中，疾病或病狀係全身性。

在某些實施例中，本發明組合物係用於治療或預防腸桿菌科感染(例如大腸桿菌感染)。在較佳實施例中，本發明組合物係用於治療或預防胃腸道及尤其盲腸之感染。在該等實施例中，腸桿菌科為病原性菌株。

在一些實施例中，降低個體糞便中腸桿菌科濃度。在一些實施例中，降低來自個體糞便試樣中腸桿菌科濃度。在一些實施例中，降低個體

遠端腸中腸桿菌科濃度。在一些實施例中，降低盲腸中腸桿菌科濃度。在一些實施例中，降低結腸中腸桿菌科濃度。在一些實施例中，降低直腸中腸桿菌科濃度。在一些實施例中，降低小腸中腸桿菌科濃度。

在較佳實施例中，本發明提供包含布勞特氏菌屬之細菌菌株之組合物，其用於治療由病原性腸桿菌科引起之感染。

在較佳實施例中，本發明提供包含布勞特氏菌屬之細菌菌株之組合物，其用於治療大腸桿菌感染。

在較佳實施例中，本發明組合物係用於降低胃腸道中腸桿菌科濃度、較佳地大腸桿菌濃度，以治療或預防與經增加腸桿菌科濃度有關之疾病(例如IBS、克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎、功能消化不良、腹瀉、胃腸炎、尿路感染或新生兒腦膜炎)。腸桿菌科及尤其大腸桿菌已知會潛在地觸發或已知加重克羅恩氏病及潰瘍性結腸炎[22-24]，因此本發明組合物在實例中所展示之效應係有益於治療該等病狀。

在某些實施例中，本發明組合物係用於藉由降低胃腸道中腸桿菌科濃度來治療或預防IBS、克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎、功能消化不良、腹瀉、胃腸炎、尿路感染或新生兒腦膜炎。

在較佳實施例中，本發明組合物包含以登錄號DSM 10507/14294寄存之細菌且用於在克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎、功能消化不良或最佳地IBS之治療中以降低胃腸道中腸桿菌科濃度。在其他較佳實施例中，本發明組合物包含以登錄號DSM 10507/14294寄存之細菌且用於藉由降低胃腸道中腸桿菌科濃度來治療或預防克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎、功能消化不良或最佳地是IBS。

在某些實施例中，組合物係與抗生素(例如氟喹諾酮

(fluoroquinolone)、阿奇黴素(azithromycin)、環丙沙星(ciprofloxacin)或利福昔明(rifaximin))組合投與。在某些實施例中，組合物係與脫水治療(例如口服脫水補充液)組合投與。本發明組合物可與抗生素或脫水治療同時投與，或與抗生素或脫水治療依序投與。

在某些實施例中，組合物係用於(例如)與健康個體或健康個體群體相比在胃腸道中展現或預計展現增加之腸桿菌科濃度之患者。

在某些實施例中，本發明組合物係用於治療、預防或降低腸桿菌科在胃腸道中定殖之方法中。

在一些實施例中，本發明組合物係用於降低相對於健康個體在呼吸中具有增加之氫濃度之個體之胃腸道中腸桿菌科濃度的方法中。在一些實施例中，本發明組合物係用於降低在胃腸道中正展現或預計展現增加之腸桿菌科濃度之個體之呼吸中的氫濃度。個體較佳係診斷患有IBS、克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎、功能消化不良、腹瀉、胃腸炎、尿路感染或新生兒腦膜炎及/或由病原性腸桿菌科(例如大腸桿菌)引起之感染之個體。實例展示，使用本發明組合物之治療可降低氫呼吸測試中所測試之氫濃度。因此，較佳地使用氫呼吸測試來評價氫濃度。氫呼吸測試在業內已眾所周知且由此熟習此項技術者知曉如何實施此一測試。在一些實施例中，向患者投與乳酮糖以作為測試受質。

氫呼吸測試亦係用於監測使用本發明組合物降低腸桿菌科濃度及進行治療或預防之有效性或可能有效性之有用工具。舉例而言，在使用本發明組合物治療後在個體呼吸中所檢測之氫之濃度降低可指示，治療具有降低、治療或預防效應。因此，在一些實施例中，本發明之方法及用途進一步包含在使用本發明組合物治療期間及/或之後監測個體呼吸中氫濃度且

由此評價降低、治療或預防之有效性或可能有效性。舉例而言，可監測氫濃度一或多次(例如1、2、3、4或大於4次)，例如視需要包括在治療之前、在治療開始、在治療期間、在治療結束及/或在治療後。在一些實施例中，將在投藥期(在此期間向個體投與組合物)結束及/或之後個體呼吸中氫濃度與投藥期開始及/或之前之濃度進行比較，且濃度降低指示降低、治療或預防之有效性或可能有效性。舉例而言，在投藥期為16天之實施例中，可期望在第1天及第16天或(例如)在第1天、第2天、第15天及第16天進行量測。在一些實施例中，獲取多個量測且獲得彼等量測之平均值(例如第1天及第2天之平均值及第15天及第16天之平均值)。在一些實施例中，氫濃度Cmax降低至少40 ppm指示，降低、治療或預防有效或可能有效。在一些實施例中，僅量測一次個體呼吸中氫濃度(例如在治療結束或之後)，且在發現濃度處於或接近預定濃度時可指示降低、治療或預防可能有效。氫呼吸測試係標準分析且由此業內已知預定濃度。

預防或預防可係指(例如)緩解症狀嚴重程度或降低加重頻率或對患者具有問題之觸發事件範圍。

可在來自患者之糞便中使用標準技術(例如實例中所使用之qPCR技術)檢測腸桿菌科濃度。

投與模式

較佳地，擬將本發明組合物投與胃腸道以使得能夠將本發明細菌菌株遞送至及/或部分或完全定殖於腸中。通常，經口投與本發明組合物，但其可經直腸、經鼻內或經由經頰或舌下途徑來投與。

在某些實施例中，可以發泡體、噴霧或凝膠形式來投與本發明組合物。

在某些實施例中，本發明組合物可以栓劑(例如直腸栓劑)形式投與，例如以可可樹油(可可油)、合成硬脂肪(例如舒芙賽(suppocire)、維特普斯爾(witepsol))、甘油-明膠、聚乙二醇或肥皂甘油組合物之形式。

在某些實施例中，經由管(例如鼻胃管、口胃管、胃管、空腸造口術管(J管)、經皮內鏡胃造瘺術(PEG)管)或孔(例如進入胃、空腸之胸壁孔及其他適宜進入孔)將本發明組合物投與胃腸道。

本發明組合物可投與一次，或其可作為治療方案之一部分依序投與。在某些實施例中，每天投與本發明組合物。實例證實，日投與成功提供定殖及臨床益處。

在某些實施例中，規則性(例如每天、每兩天或每週)投與本發明組合物延長時間段，例如至少一週、兩週、一個月、兩個月、6個月或一年。實例證實，BH投與不會永久性定殖於腸中，因此規則投與延長時間段可提供較大治療益處。

在一些實施例中，投與本發明組合物7天、14天、16天、21天或28天或不超過7天、14天、16天、21天或28天。舉例而言，在一些實施例中，投與本發明組合物16天。

在本發明之某些實施例中，本發明治療伴有患者腸微生物區系之評價。若並未達成本發明菌株之遞送及/或部分或完全定殖以致未觀察到效能，則可重複治療，或若達成成功遞送及/或部分或完全定殖且觀察到效能，則可停止治療。

在某些實施例中，可將本發明組合物投與懷孕動物(例如哺乳動物，例如人類)以預防發生於子宮內及/或出生後兒童中腸桿菌科濃度升高。

可將本發明組合物投與經診斷具有升高之腸桿菌科濃度或患有與升

高之腸桿菌科濃度有關之疾病或病狀或已鑑別為處於升高之腸桿菌科濃度風險下的患者。亦可作為預防性措施來投與組合物以預防在健康患者中發生腸桿菌科濃度升高。

可將本發明組合物投與鑑別為具有異常腸微生物區系之患者。舉例而言，患者可具有減少之布勞特氏菌及尤其氫營養型布勞特氏菌、糞堆布勞特氏菌或魏克拉-布勞特氏菌之定殖或不存在該定殖。

可以食品(例如營養補充品)形式來投與本發明組合物。

通常，本發明組合物係用於治療人類，但其可用於治療包括單胃哺乳動物之動物，例如家禽、豬、貓、狗、馬或兔。本發明組合物可用於增強動物之生長及性能。若投與動物，則可使用口服胃管灌食。

在一些實施例中，投與組合物之個體係成人人類。在一些實施例中，投與組合物之個體係嬰兒人類。

組合物

通常，本發明組合物包含細菌。在本發明之較佳實施例中，將組合物調配成凍乾形式。舉例而言，本發明組合物可包含含有本發明細菌菌株之粒劑或明膠膠囊，例如硬質明膠膠囊。

較佳地，本發明組合物包含凍乾細菌。細菌凍乾係充分確立程序且相關導則可獲得自(例如)參考文獻[25-27]。實例證實，凍乾物組合物尤其有效。

或者，本發明組合物可包含活的活性細菌培養物。實例證實，本發明細菌之培養物在治療上有效。

在一些實施例中，本發明組合物中細菌菌株尚未滅活，例如尚未熱滅活。在一些實施例中，本發明組合物中細菌菌株尚未殺死，例如尚未熱

殺死。在一些實施例中，本發明組合物中細菌菌株尚未減弱，例如尚未熱減弱。舉例而言，在一些實施例中，尚未殺死、鈍化及/或減弱本發明組合物中細菌菌株。舉例而言，在一些實施例中，本發明組合物中細菌菌株係活的。舉例而言，在一些實施例中，本發明組合物中細菌菌株可生長發育的。舉例而言，在一些實施例中，本發明組合物中細菌菌株能夠部分地或完全定殖於腸中。舉例而言，在一些實施例中，本發明組合物中細菌菌株可生長發育的且能夠部分地或完全定殖於腸中。

在一些實施例中，組合物包含活細菌菌株及已殺死細菌菌株之混合物。

在較佳實施例中，囊封本發明組合物以使得能夠將細菌菌株遞送至腸。囊封可保護組合物免於降解直至經由(例如)使用化學或物理刺激(例如壓力、酶促活性或物理崩解)進行破裂(此可藉由pH變化來觸發)而遞送於靶位置為止。可使用任何適當囊封方法。實例性囊封技術包括包裹於多孔基質內、附接或吸附於固體載劑表面上、藉由絮凝或使用交聯劑自我聚集及機械容納於微孔膜或微膠囊內。關於可用於製備本發明組合物之囊封之導則可獲得自(例如)參考文獻[28-29]。

組合物可經口投與且可呈錠劑、膠囊或粉末之形式。囊封產物較佳，此乃因布勞特氏菌係厭氧菌。可包括其他成分(例如維他命C)作為氧清除劑及益菌素受質以改良活體內之遞送及/或部分或完全定殖及生長發育。或者，本發明益生菌組合物可作為食物或囊封產品(例如基於乳液或乳清之發酵乳製產品)或作為醫藥產物經口投與。

組合物可調配為益生菌。

本發明組合物包括治療有效量之本發明細菌菌株。治療有效量之細

菌菌株足以向患者施加有益效應。治療有效量之細菌菌株可足以使得遞送至及/或部分或完全定殖於患者腸中。

舉例而言，用於成人人類之細菌之適宜日劑量可為約1×10^3至約1×10^{11}群落形成單位(CFU)；例如約1×10^7至約1×10^{10} CFU；在另一實例中約1×10^6至約1×10^{10} CFU；在另一實例中約1×10^7至約1×10^{11} CFU；在另一實例中約1×10^8至約1×10^{10} CFU；在另一實例中約1×10^8至約1×10^{11} CFU。

在某些實施例中，細菌之劑量為至少10^9個細胞/天，例如至少10^{10}、至少10^{11}或至少10^{12}個細胞/天。

在某些實施例中，相對於組合物之重量，組合物以約1×10^6至約1×10^{11} CFU/g (例如約1×10^8至約1×10^{10} CFU/g)之量含有細菌菌株。劑量可為(例如) 1 g、3g、5g及10g。

通常，視情況組合益生菌(例如本發明組合物)與至少一種適宜益菌素化合物。益菌素化合物通常係不可消化碳水化合物(例如寡醣或多醣或醣醇)，其並不降解或吸收於上消化道中。已知益菌素包括商業產品，例如菊糖及反式半乳-寡醣。

在某些實施例中，相對於組合物之總重量，本發明益生菌組合物以約1重量%至約30重量% (例如5重量%至20重量%)之量包括益菌素化合物。碳水化合物可選自由以下組成之群：果糖-寡醣(或FOS)、短鏈果糖-寡醣、菊糖、異麥芽糖-寡醣、果膠、木糖-寡醣(或XOS)、幾丁聚醣-寡醣(或COS)、β-葡聚糖、阿拉伯膠改質及抗性澱粉、聚右旋糖、D-塔格糖、阿拉伯膠纖維、刺槐、燕麥及柑橘纖維。在一態樣中，益菌素係短鏈果糖-寡醣(簡明起見在下文中展示為FOS-c.c)；該等FOSs-c.c.並非可消化碳水

化合物，其通常藉由甜菜醣之轉化所獲得且包括三個葡萄糖分子所鍵結之蔗糖分子。

本發明組合物可包含醫藥上可接受之賦形劑或載劑。該等適宜賦形劑之實例可參見參考文獻[30]。用於治療應用之可接受載劑或稀釋劑為醫藥技術所熟知且闡述於(例如)參考文獻[31]中。適宜載劑之實例包括乳糖、澱粉、葡萄糖、甲基纖維素、硬脂酸鎂、甘露醇、山梨醇及諸如此類。適宜稀釋劑之實例包括乙醇、甘油及水。可根據預期投與途徑及標準醫藥實踐來選擇醫藥載劑、賦形劑或稀釋劑。醫藥組合物可包含任何適宜黏合劑、潤滑劑、懸浮劑、塗覆劑、增溶劑作為載劑、賦形劑或稀釋劑或除了載劑、賦形劑或稀釋劑以外包含該等適宜黏合劑、潤滑劑、懸浮劑、塗覆劑、增溶劑。適宜黏合劑之實例包括澱粉、明膠、天然醣類(例如葡萄糖、無水乳糖、自由流動乳糖、β-乳糖)、玉米甜味劑、天然及合成膠(例如阿拉伯膠、黃蓍膠或海藻酸鈉)、羧甲基纖維素及聚乙二醇。適宜潤滑劑之實例包括油酸鈉、硬脂酸鈉、硬脂酸鎂、苯甲酸鈉、乙酸鈉、氯化鈉及諸如此類。防腐劑、穩定劑、染料及甚至矯味劑可提供於醫藥組合物中。防腐劑之實例包括苯甲酸鈉、山梨酸、半胱胺酸及對羥基苯甲酸酯，舉例而言，在一些實施例中，防腐劑係選自苯甲酸鈉、山梨酸及對羥基苯甲酸酯。亦可使用抗氧化劑及懸浮劑。適宜載劑之另一實例係蔗糖。防腐劑之另一實例係半胱胺酸。

本發明組合物可調配為食品。舉例而言，除本發明之治療效應外，食品可提供營養益處，例如以營養補充品形式。類似地，可調配食品以增強本發明組合物之味道或藉由類似於常用食物物項而非醫藥組合物來使組合物更有吸引力地消耗。在某些實施例中，將本發明組合物調配為基於乳

液之產品。術語「基於乳液之產品」意指具有不同脂肪含量之任一基於乳液或乳清之液體或半固體產品。基於乳液之產品可為(例如)牛乳、山羊乳、綿羊乳、脫脂乳液、全乳、自奶粉重組之乳液及未經任何處理之乳清或經處理產品(例如酸乳酪、凝固乳液、凝乳、酸奶、酸性全乳、酪乳及其他酸乳產品)。另一重要群包括乳液飲料，例如乳清飲料、發酵乳液、煉乳、嬰兒或幼兒乳液；增味乳液、冰激淩；含有乳液之食物，例如甜食。

在一些實施例中，本發明組合物包含一或多種布勞特氏菌屬之細菌菌株且不含來自任一其他屬之細菌，或其僅包含微量或生物不相關量之來自另一屬之細菌。

在某些實施例中，本發明組合物含有單一細菌菌株或物種且不含任何其他細菌菌株或物種。該等組合物可包含僅微量或生物不相關量之其他細菌菌株或物種。該等組合物可為實質上不含其他有機體物種之培養物。在一些實施例中，該等組合物可為實質上不含其他有機體物種之凍乾物。

在某些實施例中，本發明組合物包含一或多種布勞特氏菌屬之細菌菌株(例如氫營養型布勞特氏菌)且不含任一其他細菌屬，或其包含僅微量或生物不相關量之來自另一屬之細菌。在某些實施例中，本發明組合物包含單一布勞特氏菌物種(例如氫營養型布勞特氏菌)且不含任一其他細菌物種，或其包含僅微量或生物不相關量之來自另一物種之細菌。在某些實施例中，本發明組合物包含單一布勞特氏菌菌株(例如氫營養型布勞特氏菌)且不含任一其他細菌菌株或物種，或其包含僅微量或生物不相關量之來自另一菌株或物種之細菌。

在一些實施例中，本發明組合物包含一種以上細菌菌株或物種。舉

例而言，在一些實施例中，本發明組合物包含一種以上來自同一物種內之菌株(例如大於1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40或45種菌株)且視情況不含來自任一其他物種之細菌。在一些實施例中，本發明組合物包含小於50種來自同一物種內之菌株(例如小於45、40、35、30、25、20、15、12、10、9、8、7、6、5、4或3種菌株)且視情況不含來自任一其他物種之細菌。在一些實施例中，本發明組合物包含1-40、1-30、1-20、1-19、1-18、1-15、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、1-4、1-3、1-2、2-50、2-40、2-30、2-20、2-15、2-10、2-5、6-30、6-15、16-25或31-50種來自同一物種內之菌株且視情況不含來自任一其他物種之細菌。在一些實施例中，本發明組合物包含一種以上來自同一屬內之物種(例如大於1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、17、20、23、25、30、35或40種物種)，且視情況不含來自任一其他屬之細菌。在一些實施例中，本發明組合物包含小於50種來自同一屬內之物種(例如小於50、45、40、35、30、25、20、15、12、10、8、7、6、5、4或3種物種)，且視情況不含來自任一其他屬之細菌。在一些實施例中，本發明組合物包含1-50、1-40、1-30、1-20、1-15、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、1-4、1-3、1-2、2-50、2-40、2-30、2-20、2-15、2-10、2-5、6-30、6-15、16-25或31-50種來自同一屬內之物種且視情況不含來自任一其他屬之細菌。本發明包含前述情形之任一組合。

在一些實施例中，組合物包含微生物聚生體。舉例而言，在一些實施例中，組合物包含作為微生物聚生體之一部分之布勞特氏菌細菌菌株。舉例而言，在一些實施例中，布勞特氏菌細菌菌株與一或多種(例如至少2、3、4、5、10、15或20種)來自其他屬之其他細菌菌株組合存在，該等

菌株可在活體內共生性存活於腸中。舉例而言，在一些實施例中，組合物包含氫營養型布勞特氏菌之細菌菌株與來自不同屬之細菌菌株之組合。在一些實施例中，微生物聚生體包含兩種或更多種自單一有機體(例如人類)之糞便試樣獲得之細菌菌株。在一些實施例中，微生物聚生體並不一起發現於自然界中。舉例而言，在一些實施例中，微生物聚生體包含自至少兩種不同有機體之糞便試樣獲得之細菌菌株。在一些實施例中，兩種不同有機體係來自同一物種，例如兩個不同人類。在一些實施例中，兩種不同有機體係嬰兒人類及成人人類。在一些實施例中，兩種不同有機體係人類及非人類哺乳動物。

在一些實施例中，本發明組合物另外包含與以登錄號DSM 10507/14294寄存之氫營養型布勞特氏菌菌株具有相同安全性及治療效能特性之細菌菌株，但該細菌菌株並非以登錄號DSM 10507/14294寄存之氫營養型布勞特氏菌菌株或並非氫營養型布勞特氏菌或並非布勞特氏菌。

在本發明組合物包含一種以上細菌菌株物、種或屬之一些實施例中，個別細菌菌株、物種或屬可分開、同時或依序投與。舉例而言，組合物可包含一種以上細菌菌株、物種或屬之全部，或細菌菌株、物種或屬可分開儲存且分開、同時或依序投與。在一些實施例中，分開儲存一種以上細菌菌株、物種或屬，但在使用之前混合在一起。

在一些實施例中，用於本發明中細菌菌株係自人類成人糞便獲得。在本發明組合物包含一種以上細菌菌株之一些實施例中，所有細菌菌株皆係獲得自人類成人糞便，或若存在其他細菌菌株，則其僅以微量存在。可在自人類成人糞便獲得且用於本發明組合物中之後培養細菌。

在一些實施例中，一或多種布勞特氏菌細菌菌株係本發明組合物中

唯一治療活性劑。在一些實施例中，組合物中細菌菌株係本發明組合物中唯一治療活性劑。

用於本發明中組合物可或可不需要上市批准。

在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其中凍乾該細菌菌株。在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其中噴霧乾燥該細菌菌株。在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其中凍乾或噴霧乾燥細菌菌株且其中其係活的。在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其中凍乾或噴霧乾燥細菌菌株且其中其可生長發育的。在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其中凍乾或噴霧乾燥細菌菌株且其中其能夠部分地或完全定殖於腸中。在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其中凍乾或噴霧乾燥細菌菌株且其中其可生長發育的且能夠部分地或完全定殖於腸中。

在一些情形下，在投與之前重構經凍乾或噴霧乾燥之細菌菌株。在一些情形下，藉由使用本文所闡述之稀釋劑來重構。

本發明組合物可包含醫藥上可接受之賦形劑、稀釋劑或載劑。

在某些實施例中，本發明提供一種醫藥組合物，其包含：本發明細菌菌株及醫藥上可接受之賦形劑、載劑或稀釋劑；其中細菌菌株之量在投與有需要之個體時足以降低腸桿菌科濃度及/或治療與升高之腸桿菌科濃度有關之病症；且其中該病症與升高之腸桿菌科濃度有關，例如克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎、功能消化不良或更佳地IBS或腹瀉、胃腸炎、尿路感染或新生兒腦膜炎 。

在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其中細菌菌株之量為約1×10^{3}至約1×10^{11}群落形成單位/克組合物重量。

在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其中以1 g、3 g、5 g或10 g之劑量來投與組合物。

在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其中藉由選自由口服、直腸、皮下、鼻、經頰及舌下組成之群之方法來投與組合物。

在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其包含選自由乳糖、澱粉、葡萄糖、甲基纖維素、硬脂酸鎂、甘露醇及山梨醇組成之群之載劑。

在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其包含選自由乙醇、甘油及水組成之群之稀釋劑。

在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其包含選自由以下組成之群之賦形劑：澱粉、明膠、葡萄糖、無水乳糖、自由流動乳糖、β-乳糖、玉米甜味劑、阿拉伯膠、黃蓍膠、海藻酸鈉、羧甲基纖維素、聚乙二醇、油酸鈉、硬脂酸鈉、硬脂酸鎂、苯甲酸鈉、乙酸鈉及氯化鈉。

在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其進一步包含防腐劑、抗氧化劑及穩定劑中之至少一者。

在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其包含選自由苯甲酸鈉、山梨酸及對羥基苯甲酸酯組成之群之防腐劑。

在某些實施例中，提供本發明醫藥組合物，其中該組合物不含任何礦物質，或更具體而言不含任一原子序數大於33之金屬，舉例而言，其中該組合物不含任何來自由硒、鉬、鎢、硒化合物、鉬化合物及鎢化合物組成之群之礦物質。

在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其中凍乾該細菌菌株。

在某些實施例中，本發明提供上述醫藥組合物，其中在將組合物儲存於約4℃或約25℃下之密封容器中且將容器置於具有50%相對濕度之氣氛中時，至少80%之細菌菌株(如以群落形成單位所量測)在至少約1個月、3個月、6個月、1年、1.5年、2年、2.5年或3年之時段之後得以保留。

在一些實施例中，將本發明組合物提供於包含如本文所闡述之組合物之密封容器中。在一些實施例中，密封容器係藥袋或瓶。在一些實施例中，將本發明組合物提供於包含如本文所闡述之組合物之注射器中。

在一些實施例中，本發明組合物可提供為醫藥調配物。舉例而言，組合物可提供為錠劑或膠囊。在一些實施例中，膠囊係明膠膠囊(「gel-cap」)。

在一些實施例中，經口投與本發明組合物。經口投與涉及吞嚥(以使化合物進入胃腸道)及/或經頰、舌或舌下投與(藉此，該化合物直接自口腔進入血流)。

適於經口投與之醫藥調配物包括固體栓塞、固體微粒、半固體及液體(包括多相或分散系統)，例如錠劑；含有多-或奈米顆粒之軟質或硬質膠囊、液體(例如水溶液)、乳液或粉劑；菱形錠劑(包括填充液體)；咀嚼劑；凝膠；快速分散劑型；膜；陰道錠；噴霧劑；及頰或黏膜黏著貼片。

在一些實施例中，醫藥調配物係腸溶調配物，亦即適於藉由經口投與方式將本發明組合物遞送至腸之胃耐性調配物(例如抵抗胃pH)。當組合物之細菌或另一組分係酸敏感性時(例如在胃條件下可輕易地降解)，腸溶調配物特別有用。

在一些實施例中，腸溶調配物包含腸溶包衣。在一些實施例中，調

配物係腸溶包衣劑型。舉例而言，調配物可為腸溶包衣錠劑或腸溶包衣膠囊或諸如此類。腸溶包衣可為習用腸溶包衣，例如用於經口遞送之錠劑、膠囊或諸如此類之習用包衣。調配物可包含膜包衣，例如腸溶聚合物(例如酸不溶性聚合物)之薄膜層。

在一些實施例中，腸溶調配物本質性地是腸溶性，例如胃耐性且無需腸溶包衣。因此，在一些實施例中，調配物係不包含腸溶包衣之腸溶調配物。在一些實施例中，調配物係自熱膠凝材料製得之膠囊。在一些實施例中，熱膠凝材料係纖維質材料，例如甲基纖維素、羥甲基纖維素或羥丙基甲基纖維素(hydroxypropylmethylcellulose；HPMC)。在一些實施例中，膠囊包含不含任一成膜聚合物之殼體。在一些實施例中，膠囊係包含殼體且該殼體包含羥丙基甲基纖維素及不包含任一成膜聚合物(例如參見[32])。在一些實施例中，調配物本質性地係腸溶膠囊(例如來自Capsugel之Vcaps®)。

在一些實施例中，調配物係軟質膠囊。軟質膠囊係因添加潤滑劑(例如甘油、山梨醇、麥芽糖醇及聚乙二醇)存在於膠囊殼體中且具有某些彈性及柔軟性之膠囊。軟質膠囊可(例如)基於明膠或澱粉來產生。基於明膠之軟質膠囊可購自各個供應商。端視投與方法(例如經口或經直腸)，軟膠囊可具有各種形狀，其可(例如)為圓形、卵形、長方形或魚雷形。可藉由習用製程(例如藉由Scherer製程、Accogel製程或滴液或吹製製程)產生軟質膠囊。

培養方法

可使用標準微生物技術來培養用於本發明中細菌菌株，如例如參考文獻[33-35]中所詳述。

用於培養之固體或液體培養基可為(例如) YCFA瓊脂或YCFA培養基。YCFA培養基可包括(每100ml，近似值)：酪腺(1.0 g)、酵母提取物(0.25 g)、$NaHCO_3$ (0.4 g)、半胱胺酸(0.1 g)、K_2HPO_4 (0.045 g)、KH_2PO_4 (0.045 g)、NaCl (0.09 g)、$(NH_4)_2SO_4$ (0.09 g)、$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0.009 g)、$CaCl_2$ (0.009 g)、刃天青(0.1 mg)、氯化血紅素(1 mg)、生物素(1 μg)、鈷胺素(1 μg)、對胺基苯甲酸(3 μg)、葉酸(5 μg)及吡哆胺(15 μg)。

概述

除非另外指示，否則本發明實踐將採用熟習此項技術者已知之習用化學、生物化學、分子生物學、免疫學及藥理學方法。該等技術於文獻中充分解釋。例如參見參考文獻[36-43]等。

術語「包含」涵蓋「包括」以及「由……組成」，舉例而言，「包含」 X之組合物可唯一地由X組成或可包括其他物項，例如X + Y。

與數值x相關之術語「約」係可選的且意指(例如) x±10%。

詞語「實質上」不排除「完全」，舉例而言，「實質上不含」 Y之組合物可完全不含Y。若需要，詞語「實質上」可自本發明之定義省略。

所提及兩個核苷酸序列之間之序列一致性百分比意指，在比對時，該百分比之核苷酸在比對兩個序列時相同。此比對及同源性或序列一致性百分比可使用業內已知軟體程式(例如闡述於參考文獻[44]之第7.7.18部分中者)來測定。較佳比對係藉由Smith-Waterman同源性搜尋算法使用仿射性空位搜尋來測定，空位開放罰分為12且空位擴展罰分為2，BLOSUM矩陣為62。Smith-Waterman同源性搜尋算法揭示於參考文獻[45]中。

除非具體陳述，否則包含諸多步驟之製程或方法可在方法開頭或末

尾包含其他步驟，或可包含其他插入步驟。同樣，若適當，則該等步驟可以替代順序組合、省略或實施。

本文闡述本發明之各個實施例。應瞭解，在每一實施例中所指定之特徵可與其他指定特徵組合以提供其他實施例。特定而言，本文突出顯示為適宜、典型或較佳之實施例可彼此組合(在其互相排斥時除外)。

實施本發明之模式

實例1–向含有IBS腸微生物區系之大鼠投與細菌接種物

概述

向大鼠接種來自人類IBS個體之糞便微生物區系。然後向大鼠投與包含本發明細菌菌株之組合物且分析氫營養型布勞特氏菌之定殖。

菌株

氫營養型布勞特氏菌(BH)菌株DSM 10507/14294。

組合物及投與

BH凍乾物-藉由口服胃管灌食投與

對照溶液，藉由口服胃管灌食投與

大鼠

使用來自IBS個體之人類腸微生物區系接種。

研究設計

第-14天–大鼠接種來自IBS個體之人類腸微生物區系

第0至28天–日劑量之BH凍乾物或對照溶液

第0、14及28天–對糞便試樣中之BH群體實施qPCR

結果

圖1呈現來自投與對照溶液(IBS)或BH凍乾物(IBS+BH)之大鼠之糞便

試樣中之BH群體的qPCR分析結果。在第14及28天於接受BH凍乾物之大鼠中看到BH群體有所增加，此證實成功定殖。

結論

投與包含氫營養型布勞特氏菌之組合物可引起成功定殖。

實例2 –向健康大鼠投與細菌凍乾物及對腸桿菌科之效應

研究投與氫營養型布勞特氏菌(BH)菌株DSM 10507/14294之凍乾物對健康HIM大鼠之效應且結果報告於圖2-5中。關於實驗之其他細節提供於上文圖式說明中。圖2展示，用於大鼠中之BH之適當劑量為10^9個細胞/天或更大。圖3展示，在該等實驗中，BH並不永久性定殖於大鼠消化道中。圖4展示，BH主要發現於盲腸中。顯而易見，圖5展示，投與BH可誘導大鼠糞便中之腸桿菌科之統計學顯著性降低，如藉由qPCR所檢測。

實例3 -在IBS之大鼠模型中投與細菌凍乾物

進一步探究投與氫營養型布勞特氏菌(BH)菌株DSM 10507/14294之凍乾物對IBS之大鼠模型之效應。使用來自C-IBS (患有便秘)或U-IBS (無法分型)患者之糞便試樣接種無菌大鼠。結果報告於圖6中且關於實驗之其他細節提供於上文之圖式說明中。圖6證實，投與BH凍乾物會引起腸桿菌科(主要係大腸桿菌)之統計學顯著性降低。如所預計，亦觀察到BH之增加。

實例4 –患者微生物區系氫營養型布勞特氏菌之對比

實施I期臨床試驗，其中將氫營養型布勞特氏菌(「布勞替克」，以登錄號DSM 10507/14294寄存之菌株)投與刺激性腸症候群(IBS)人類患者。在投藥期(第1-16天)期間向患者投與布勞替克且清除期為第19-23天。發現布勞替克較為安全且充分耐受。在第1天、第16天及研究結束(EOS)量

測患者微生物區系氫營養型布勞特氏菌(布勞替克)且結果如下：

表1：

患者	治療	布勞替克第1天		布勞替克第16天		布勞替克EOS	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
安慰劑	健康	4.30E+07	8.40E+07	4.79E+07	7.63E+07	3.59E+07	6.23E+07
布勞替克	健康	2.92E+07	2.25E+07	6.35E+07	1.02E+08	2.58E+07	3.34E+07
安慰劑	IBS	3.58E+07	3.45E+07	2.44E+07	3.13E+07	2.09E+07	2.47E+07
布勞替克	IBS	3.17E+07	6.28E+07	8.53E+07	1.57E+08	3.71E+07	5.56E+07

分析展示患者糞便試樣中氫營養型布勞特氏菌濃度之趨勢(參見圖7a)。接受布勞替克之參與者在投藥期(第16天)後於其糞便試樣中具有增加之細菌濃度。此證實成功將布勞替克遞送至腸中。濃度在清除期(研究結束；EOS)返回正常。因此，布勞替克在投藥中止後並不永久性定殖於腸中。兩種觀察與臨床前模型一致。

實例5 -患者微生物區系腸桿菌之對比。

亦在I期臨床試驗期間於第1天、第16天及研究結束量測患者微生物區系腸桿菌且結果如下：

患者	治療	腸桿菌科第1天		腸桿菌科第16天		腸桿菌科EOS	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
安慰劑	健康	5.89E+08	1.00E+09	3.32E+08	6.26E+08	2.85E+08	4.28E+08
布勞替克	健康	9.96E+08	1.06E+09	4.87E+08	6.64E+08	2.70E+08	3.76E+08
安慰劑	IBS	7.85E+08	1.28E+09	3.01E+08	4.92E+08	2.45E+09	2.45E+09
布勞替克	IBS	8.38E+09	1.96E+10	1.12E+09	1.45E+09	6.17E+08	9.91E+08

分析展示患者糞便試樣中腸桿菌科濃度之趨勢(參見圖7b)。使用布勞替克治療之IBS患者具有減少之腸桿菌。此與來自臨床前模型之觀察一致。

實例6 –氫呼吸測試結果

呼吸氫濃度係布勞替克活性之生物標記– MoA涉及內源性H_2產生乙酸鹽之代謝。向人類個體投與乳酮糖且在以下4個時間點採樣氫(H_2)濃度(Cmax)：第1天、第2天、第15天及第16天。將氫未校正結果轉化成氫校正結果。

自分析排除一些患者。存在以下三個導致個體不能包括於氫呼吸測試分析中之原因：1)其在4個採樣日期之一產生<20之CMAX氫呼吸測試結果且由此視為對測試不具有反應；2)其係甲烷產生者(認為在呼吸測試中產生多於氫之甲烷)，此影響氫反應；及/或3)在氫呼吸測試中獲得異常值(232 ppm)。將個體3.12 (布勞替克)、3.24 (布勞替克)、4.07 (布勞替克)作為無反應者排除。將個體3.03 (布勞替克)及3.08 (安慰劑)作為甲烷產生者排除(所提及如上文所排除之4.07亦係甲烷產生者)。個體4.09 (安慰劑)因異常值而排除。

將來自投藥期(第15/16天)結束之校正氫分析之結果與彼等來自基線(第1/2天)之結果進行比較。接收布勞替克之12名患者中之10名(83%)在此時段之氫濃度有所降低(圖8a及8c)。與之相比，接收安慰劑之6名患者中之3名 (50%)具有降低之氫濃度(圖8b及8c)。

圖9展示布勞替克(Verum)治療組之未校正及校正氫結果以及該等結果之統計學分析。發現未校正及校正H_2之平均值在第1天與第15天之間有所不同。在治療13.5天之後，在乳酮糖刺激之後檢測到Cmax呼吸測試中之H_2在統計學上顯著($p < 0.05$)降低。與之相比，對於安慰劑組而言，發現在第1天及第15天之平均值等效($p > 0.05$) (圖10)。因此，對於未校正氫結果及校正氫結果而言，治療組(亦稱為VERUM組)之平均值在第1天與第15天之間有所降低，而安慰劑組之平均值在第1天與第15天之間等效(圖

11)。

實例7 –穩定性測試

將本文所闡述含有至少一種本文所闡述細菌菌株之組合物儲存於25℃或4℃下之密封容器中且將容器置於具有30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、90%或95%相對濕度之氣氛中。在1個月、2個月、3個月、6個月、1年、1.5年、2年、2.5年或3年之後，至少50%、60%、70%、80%或90%之細菌菌株應得以保留，如以藉由標準方案測定之群落形成單位所量測。

實例8 –氫營養型布勞特氏菌改變人類微生物區系相關大鼠(HMA大鼠)模型中之微生物區系之能力

概述

向16隻無菌大鼠之組(對照組包含8隻大鼠且治療組包含8隻大鼠)接種來自人類IBS個體(IBS-HMA大鼠)之糞便微生物區系。使用來自3名不同IBS患者之糞便試樣實施三個連續實驗。使用健康個體(n=2名個體；2組健康-HMA大鼠)之糞便試樣接種兩個其他大鼠組(n = 10)以作為對照。因此，存在24隻IBS微生物區系相關大鼠(對照)、24隻使用布勞替克治療之IBS微生物區系相關大鼠及20隻健康微生物區系相關大鼠。然後向一半IBS-HMA大鼠投與包含本發明之氫營養型布勞特氏菌細菌菌株之組合物28天，而另一半動物接受對照溶液。在投與之後第28天，分析先前發現在IBS患者中受影響之來自糞便微生物區系之微生物之濃度。

菌株

氫營養型布勞特氏菌(BH)菌株DSM 10507^{T}/14294。

組合物及投與

將BH凍乾物懸浮於無菌礦物質溶液中直至濃度為10^{10}個細菌/ml。藉由口服胃管灌食向每一IBS-HMA大鼠每天投與2 ml此懸浮液28天時段。

對照溶液係無菌礦物質溶液，藉由口服胃管灌食將其每天投與(2 ml/大鼠) IBS-HMA大鼠之對照組。

大鼠

向無菌雄性Fisher大鼠(10週齡)接種來自IBS個體(IBS-HMA大鼠)之人類糞便微生物區系。向16隻大鼠接種相同人類糞便接種物。使用來自三個不同IBS個體之糞便試樣實施三個連續實驗。使用來自2個健康個體之糞便試樣接種兩個10隻大鼠之其他組(正常敏感性對照組)。

研究設計

第-14天–向無菌大鼠接種人類糞便微生物區系。

第0至28天–藉由口服胃管灌食投與日劑量之BH凍乾物(分析組)或對照溶液(對照組)

第0、14及28天–收集糞便試樣用於微生物分析：實施qPCR以評估BH群體及其他微生物共生組且使用選擇性培養基及嚴格厭氧方法枚舉微生物之功能組。

結果

圖12呈現來自接受對照溶液或BH凍乾物之IBS-HMA大鼠之糞便試樣中氫營養型布勞特氏菌群體之qPCR分析結果。在投與期(D 28)結束時於接受BH凍乾物之大鼠中觀察到BH群體顯著增加，此證實將BH成功遞送於結腸中。

圖13報告投與氫營養型布勞特氏菌對先前發現在IBS患者中受影響之糞便微生物區系中之某些微生物之效應。在投與氫營養型布勞特氏菌之

後，腸桿菌科物種濃度有所降低。

結論

投與氫營養型布勞特氏菌使得腸桿菌科有所減少。

實例9 –I期臨床試驗期間之患者症狀變化

實施I期臨床試驗，其中將氫營養型布勞特氏菌(「布勞替克」，以登錄號DSM 10507亦及以登錄號DSM 14294寄存之菌株)投與刺激性腸症候群(IBS)人類患者。在投藥期(第1-16天)期間向患者投與布勞替克且清除期為第19-23天。發現布勞替克較為安全且充分耐受。監測4種症狀，其中之一係腹瀉。該研究記錄患者經歷該等症狀中之每一者發生改良、無變化抑或惡化。將來自投與布勞替克之患者之結果與彼等使用投與安慰劑之患者獲得之結果進行比較。在以下三個時間點監測症狀：第1天、第15/16天及在研究結束時。結果展示於圖14及15中。

在比較患者之第16天報告症狀與來自第1天之基線時，接收布勞替克之17名IBS患者中之82%報告改良症狀(圖14)。症狀(其中之一係腹瀉)之改良支持使用布勞替克來治療或預防腹瀉。

50%之接收安慰劑之患者報告改良症狀(圖14)。高安慰劑反應率係IBS臨床研究中之確立現象。基於相對於安慰劑之極小改良，西法先(Xifaxan)最新批准用於治療IBS(參見：**http://www.accessdata.fda.gov/spl/data/5ab6fceb-4d22-4480-81fc-8bc28c16770d/5ab6fceb-4d22-4480-81fc-8bc28c16770d.xml**)。

基於本文所呈現之教示內容，預計與在投藥完成時(第16天)存在之症狀相比，在研究完成時症狀有所惡化(第19-23天)。此症狀惡化可見於I期臨床試驗中：41%之IBS患者在中止布勞替克投藥後報告症狀惡化(圖

15)。在中止布勞替克投藥後之症狀(其中之一係腹瀉)之惡化由此亦支持使用布勞替克來治療或預防腹瀉。

序列

SEQ ID NO:1 (糞堆布勞特氏菌菌株GAM6-1 16S核糖體RNA基因，部分序列- HM626177)

1 tgcaagtcga gcgaagcgct tacgacagaa ccttcggggg aagatgtaag ggactgagcg

61 gcggacgggt gagtaacgcg tgggtaacct gcctcataca gggggataac agttggaaac

121 ggctgctaat accgcataag cgcacggtat cgcatgatac agtgtgaaaa actccggtgg

181 tatgagatgg acccgcgtct gattagctag ttggaggggt aacggcccac caaggcgacg

241 atcagtagcc ggcctgagag ggtgaacggc cacattggga ctgagacacg gcccagactc

301 ctacgggagg cagcagtggg gaatattgca caatggggga aaccctgatg cagcgacgcc

361 gcgtgaagga agaagtatct cggtatgtaa acttctatca gcagggaaga aaatgacggt

421 acctgactaa gaagccccgg ctaactacgt gccagcagcc gcggtaatac gtagggggca

481 agcgttatcc ggatttactg ggtgtaaagg gagcgtagac ggaagagcaa gtctgatgtg

541 aaaggctggg gcttaacccc aggactgcat tggaaactgt ttttcttgag tgccggagag

601 gtaagcggaa ttcctagtgt agcggtgaaa tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc

661 gaaggcggct tactggacgg taactgacgt tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg

721 attagatacc ctggtagtcc acgccgtaaa cgatgaatac taggtgttgg ggagcaaagc

781 tcttcggtgc cgcagcaaac gcaataagta ttccacctgg ggagtacgtt cgcaagaatg

841 aaactcaaag gaattgacgg ggacccgcac aagcggtgga gcatgtggtt taattcgaag

901 caacgcgaag aaccttacca agtcttgaca tcgatctgac cggttcgtaa tggaaccttt

961 ccttcgggac agagaagaca ggtggtgcat ggttgtcgtc agctcgtgtc gtgagatgtt

1021 gggttaagtc ccgcaacgag cgcaacccct atcctcagta gccagcaggt gaagctgggc

1081 actctgtgga gactgccagg gataacctgg aggaaggcgg ggacgacgtc aaatcatcat

1141 gccccttatg atttgggcta cacacgtgct acaatggcgt aaacaaaggg aagcgagccc

1201 gcgaggggga gcaaatccca aaaataacgt cccagttcgg actgcagtct

gcaactcgac

1261 tgcacgaagc tggaatcgct agtaatcgcg aatcagaatg tcgcggtgaa tacgttcccg

1321 ggtcttgtac acaccgcccg tcacaccatg ggagtcagta acgcccgaag tc

SEQ ID NO:2 (魏克拉-布勞特氏菌菌株WAL 14507 16S核糖體RNA基因，部分序列- EF036467)

1 caagtcgaac gggaattant ttattgaaac ttcggtcgat ttaatttaat tctagtggcg

61 gacgggtgag taacgcgtgg gtaacctgcc ttatacaggg ggataacagt cagaaatggc

121 tgctaatacc gcataagcgc acagagctgc atggctcagt gtgaaaaact ccggtggtat

181 aagatggacc cgcgttggat tagcttgttg gtggggtaac ggcccaccaa ggcgacgatc

241 catagccggc ctgagagggt gaacggccac attgggactg agacacggcc cagactccta

301 cgggaggcag cagtggggaa tattgcacaa tgggggaaac cctgatgcag cgacgccgcg

361 tgaaggaaga agtatctcgg tatgtaaact tctatcagca gggaagatag tgacggtacc

421 tgactaagaa gccccggcta actacgtgcc agcagccgcg gtaatacgta gggggcaagc

481 gttatccgga tttactgggt gtaaagggag cgtagacggt gtggcaagtc tgatgtgaaa

541 ggcatgggct caacctgtgg actgcattgg aaactgtcat acttgagtgc cggaggggta

601 agcggaattc ctagtgtagc ggtgaaatgc gtagatatta ggaggaacac cagtggcgaa

661 ggcggcttac tggacggtaa ctgacgttga ggctcgaaag cgtggggagc aaacaggatt

721 agataccctg gtagtccacg ccgtaaacga tgaataacta ggtgtcgggt ggcaaagcca

781 ttcggtgccg tcgcaaacgc agtaagtatt ccacctgggg agtacgttcg caagaatgaa

841 actcaaagga attgacgggg acccgcacaa gcggtggagc atgtggttta attcgaagca

901 acgcgaagaa ccttaccaag tcttgacatc cgcctgaccg atccttaacc ggatctttcc

961 ttcgggacag gcgagacagg tggtgcatgg ttgtcgtcag ctcgtgtcgt gagatgttgg

1021 gttaagtccc gcaacgagcg caacccctat cctcagtagc cagcatttaa ggtgggcact

1081 ctggggagac tgccagggat aacctggagg aaggcgggga tgacgtcaaa tcatcatgcc

1141 ccttatgatt tgggctacac acgtgctaca atggcgtaaa caaagggaag cgagattgtg

1201 agatggagca aatcccaaaa ataacgtccc agttcggact gtagtctgca

acccgactac

1261 acgaagctgg aatcgctagt aatcgcggat cagaatgccg cggtgaatac gttcccgggt

1321 cttgtacaca ccgcccgtca caccatggga gtcagtaacg cccgaagtca gtgacctaac

1381 tgcaaagaag gagctgccga aggcgggacc gatgactggg gtgaagtcgt aacaaggt

SEQ ID NO:3 (糞堆布勞特氏菌菌株830之共有16S rRNA序列)

TTTKGTCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACAC
ATGCAAGTCGAGCGAAGCGCTTACGACAGAACCTTCGGGGGAAG
ATGTAAGGGACTGAGCGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAA
CCTGCCTCATACAGGGGGATAACAGTTGGAAACGGCTGCTAATAC
CGCATAAGCGCACAGTATCGCATGATACAGTGTGAAAAACTCCGG
TGGTATGAGATGGACCCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGAGGGGTAA
CGGCCCACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGAA
CGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGC
AGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCG
ACGCCGCGTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATGTAAACTTCTATCA
GCAGGGAAGAAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTATC
CGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGAAGAGCAAGTCT
GATGTGAAAGGCTGGGGCTTAACCCCAGGACTGCATTGGAAACTG
TTTTTCTTGAGTGCCGGAGAGGTAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCG

GTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGG
CTTACTGGACGGTAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGC
AAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAAT
ACTAGGTGTTGGGGAGCAAAGCTCTTCGGTGCCGCAGCAAACGCA
ATAAGTATTCCACCTGGGGAGTACGTTCGCAAGAATGAAACTCAA
AGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAT
TCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCGATCTGA
CCGGTTCGTAATGGAACCTTTCCTTCGGGACAGAGAAGACAGGTG
GTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTC
CCGCAACGAGCGCAACCCCTATCGTCAGTAGCCAGCAGGTAAAGC
TGGGCACTCTGAGGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGGAAGGCG
GGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGATTTGGGCTACACA
CGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGGGAAGCGAGCCCGCGAGGGG
GAGCAAATCCCAAAAATAACGTCCCAGTTCGGACTGCAGTCTGCA
ACTCGACTGCACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAA
TGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCAC
ACCATGGGAGTCAGTAACGCCCGAAGTCAGTGACCCAACCTTAGG
GAGGGAGCTGCCGAAGGCGGGATTGATAACTGGGGTGAAGTCTA
GGGGGT

SEQ ID NO:4 (魏克拉-布勞特氏菌菌株MRX008之共有16S rRNA序列)

TTCATTGAGACTTCGGTGGATTTAGATTCTATTTCTAGTGGCG
GACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACCTGCCTTATACAGGGGGATA

ACAGTCAGAAATGGCTGCTAATACCGCATAAGCGCACAGAGCTGC
ATGGCTCAGTGTGAAAAACTCCGGTGGTATAAGATGGACCCGCGT
TGGATTAGCTTGTTGGTGGGGTAACGGCCCACCAAGGCGACGATC
CATAGCCGGCCTGAGAGGGTGAACGGCCACATTGGGACTGAGAC
ACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGGGAAACCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAAGGAAGAAGT
ATCTCGGTATGTAAACTTCTATCAGCAGGGAAGATAGTGACGGTA
CCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTA
ATACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGG
AGCGTAGACGGTGTGGCAAGTCTGATGTGAAAGGCATGGGCTCAA
CCTGTGGACTGCATTGGAAACTGTCATACTTGAGTGCCGGAGGGG
TAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGA
GGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACGGTAACTGACGTT
GAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGT
AGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAGGTGTCNGGGGAGCATGG
CTCTTCGGTGCCGTCGCAAACGCAGTAAGTATTCCACCTGGGGAG
TACGTTCGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACC
TTACCAAGTCTTGACATCCGCCTGACCGATCCTTAACCGGATCTTT
CCTTCGGGACAGGCGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTC
GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCT
ATCCTCAGTAGCCAGCATTTAAGGTGGGCACTCTGGGGAGACTGC
CAGGGATAACCTGGAGGAAGGCGGGGATGACGTCAAATCATCAT

GCCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACA
AAGGGAAGCGAGATCGTGAGATGGAGCAAATCCCAAAAATAACG
TCCCAGTTCGGACTGTAGTCTGCAACCCGACTACACGAAGCTGGA
ATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAATACGTTCCC
GGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTCAGTAACGC
CCGAAGTCAGTGACCTAACTGCAAAGAAGGAGCTGCCGAA

SEQ ID NO:5 (氫營養型布勞特氏菌S5a36 16S核糖體RNA基因，部分序列- X95624.1)

1 gatgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac gaagcgatag agaacggaga

61 tttcggttga agttttctat tgactgagtg gcggacgggt gagtaacgcg tgggtaacct

121 gccctataca gggggataac agttagaaat gactgctaat accgcataag cgcacagctt

181 cgcatgaagc ggtgtgaaaa actgaggtgg tataggatgg acccgcgttg gattagctag

241 ttggtgaggt aacggcccac caaggcgacg atccatagcc ggcctgagag ggtgaacggc

301 cacattggga ctgagacacg gcccaaactc ctacgggagg cagcagtggg gaatattgca

361 caatggggga aaccctgatg cagcgacgcc gcgtgaagga agaagtatct cggtatgtaa

421 acttctatca gcagggaaga aagtgacggt acctgactaa gaagccccgg

ctaattacgt

481 gccagcagcc gcggtaatac gtaaggggca agcgttatcc ggatttactg ggtgtaaagg

541 gagcgtagac ggtttggcaa gtctgatgtg aaaggcatgg gctcaacctg tggactgcat

601 tggaaactgt cagacttgag tgccggagag gcaagcggaa ttcctagtgt agcggtgaaa

661 tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc gaaggcggcc tgctggacgg taactgacgt

721 tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc acgctgtaaa

781 cgatgaatac taggtgtcgg gtggcaaagc cattcggtgc cgcagcaaac gcaataagta

841 ttcccacctg gggagtacgt tcgcaagaat gaaactcaaa ggaattgacg gggacccgca

901 caagcggtgg agcatgtggt ttaattcgaa gcaacgcgaa gaaccttacc aaatcttgac

961 atccctctga ccgggaagta atgttccctt ttcttcggaa cagaggagac aggtggtgca

1021 tggttgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga gcgcaaccct

1081 tattcttagt agccagcagg tagagctggg cactctaggg agactgccag ggataacctg

1141 gaggaaggtg gggatgacgt caaatcatca tgccccttat gatttgggct acacacgtgc

1201 tacaatggcg taaacaaagg gaagcgaagg ggtgacctgg agcaaatctc aaaaataacg

1261 tctcagttcg gattgtagtc tgcaactcga ctacatgaag ctggaatcgc tagtaatcgc

1321 gaatcagaat gtcgcggtga atacgttccc gggtcttgta cacaccgccc gtcacaccat

1381 gggagtcagt aacgcccgaa gtcagtgacc caaccnaaag gagggagctg ccgaaggtgg

1441 gactgataac tggggtga

參考文獻

[1] Spor等人(2011) Nat Rev Microbiol. 9(4):279-90.

[2] Eckburg等人(2005) Science. 10;308(5728):1635-8.

[3] Tap等人(2009) Environ Microbiol, 11(10):2574-84

[4] Macpherson等人(2001) Microbes Infect. 3(12):1021-35

[5] Macpherson等人(2002) Cell Mol Life Sci. 59(12):2088-96.

[6] Mazmanian等人(2005) Cell 15;122(1):107-18.

[7] Frank等人(2007) PNAS 104(34):13780-5.

[8] Scanlan等人(2006) J Clin Microbiol. 44(11):3980-8.

[9] Kang等人(2010) Inflamm Bowel Dis. 16(12):2034-42.

[10] Machiels等人(2013) Gut. 63(8):1275-83.

[11] Lopetuso等人(2013), Gut Pathogens, 5: 23

[12] WO 2013/050792

[13] WO 03/046580

[14] WO 2013/008039

[15] WO 2014/167338

[16] Lee及Lee (2014) World J Gastroenterol. 20(27): 8886-8897.

[17] Liu等人(2008) Int J Syst Evol Microbiol 58, 1896–1902.

[18] Bernalier等人(1996) Arch. Microbiol. 166 (3), 176-183.

[19] Park等人(2012) Int J Syst Evol Microbiol. 62(Pt 4):776-9.

[20] Masco 等人 (2003) Systematic and Applied Microbiology, 26:557-563.

[21] Srůtková等人(2011) J. Microbiol. Methods, 87(1):10-6.

[22] Darfeuille-Michaud等人(2004) Gastroenterology 127(2):412-21.

[23] Strus等人(2015) Cent Eur J Immunol.40(4):420-30.

[24] Petersen等人(2015) Scand J Gastroenterol.;50(10):1199-207.

[25] Miyamoto-Shinohara等人(2008) J. Gen. Appl. Microbiol., 54, 9–24.

[26] Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols，由Day and McLellan編輯，Humana Press.

[27] Leslie等人(1995) Appl. Environ. Microbiol. 61, 3592–3597.

[28] Mitropoulou等人(2013) J Nutr Metab. (2013) 716861.

[29] Kailasapathy等人(2002) Curr Issues Intest Microbiol. 3(2):39-48.

[30] Handbook of Pharmaceutical Excipients，第2版(1994)，由A Wade and PJ Weller編輯

[31] Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro編輯，1985)

[32] US 2016/0067188

[33] Handbook of Microbiological Media, Fourth Edition (2010) Ronald Atlas, CRC Press.

[34] Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry (1996) Jennie C. Hunter-Cevera, Academic Press

[35] Strobel (2009) Methods Mol Biol. 581:247-61.

[36] Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy.第20版，ISBN: 0683306472.

[37] Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course, (Ream等人編輯，1998, Academic Press).

[38] Methods In Enzymology (S. Colowick and N. Kaplan編輯，Academic Press, Inc.)

[39] Handbook of Experimental Immunology，第I-IV卷(D.M. Weir及C.C. Blackwell編輯，1986, Blackwell Scientific Publications)

[40] Sambrook 等人 (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual，第3版(Cold Spring Harbor Laboratory Press).

[41] Handbook of Surface and Colloidal Chemistry (Birdi, K.S.編輯，CRC Press, 1997)

[42] Ausubel 等人(編輯) (2002) Short protocols in molecular

biology，第5版(Current Protocols).

[43] PCR (Introduction to Biotechniques Series)，第2版(Newton & Graham編輯，1997, Springer Verlag)

[44] Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel等人編輯，1987)增刊30

[45] Smith & Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2: 482-489.

【生物材料寄存】

TW中華民國；食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心；2016/09/20；BCRC 910744

TW中華民國；食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心；2016/09/20； BCRC 910745

GB英國；食品工業與海洋細菌菌種保藏中心(National Collections of Industria, Food and Marine Bacteria ; NCIMB) ; 2015/03/12 ; NCIMB 42381

GB英國；食品工業與海洋細菌菌種保藏中心(National Collections of Industrial, Food and Marine Bacteria ; NCIMB) ; 2015/11/16 ; NCIMB 42486

【序列表】

<110> 英商4D製藥有限公司

<120> 包含細菌菌株之組合物

<130> P068629WO

<141> 2017-07-13

<150> GB 1612190.7
<151> 2016-07-13

<150> GB 1616018.6
<151> 2016-09-20

<150> GB 1703548.6
<151> 2017-03-06

<160> 5

<170> SeqWin2010, version 1.0

<210> 1
<211> 1372
<212> DNA
<213> 糞堆布勞特氏菌

<400> 1
tgcaagtcga gcgaagcgct tacgacagaa ccttcggggg aagatgtaag ggactgagcg 60
gcggacgggt gagtaacgcg tgggtaacct gcctcataca gggggataac agttggaaac 120
ggctgctaat accgcataag cgcacggtat cgcatgatac agtgtgaaaa actccggtgg 180
tatgagatgg acccgcgtct gattagctag ttggaggggt aacggcccac caaggcgacg 240
atcagtagcc ggcctgagag ggtgaacggc cacattggga ctgagacacg gcccagactc 300
ctacgggagg cagcagtggg gaatattgca caatggggga aaccctgatg cagcgacgcc 360
gcgtgaagga agaagtatct cggtatgtaa acttctatca gcagggaaga aaatgacggt 420
acctgactaa gaagccccgg ctaactacgt gccagcagcc gcggtaatac gtagggggca 480
agcgttatcc ggatttactg ggtgtaaagg gagcgtagac ggaagagcaa gtctgatgtg 540
aaaggctggg gcttaacccc aggactgcat tggaaactgt ttttcttgag tgccggagag 600
gtaagcggaa ttcctagtgt agcggtgaaa tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc 660
gaaggcggct tactggacgg taactgacgt tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg 720
attagatacc ctggtagtcc acgccgtaaa cgatgaatac taggtgttgg ggagcaaagc 780
tcttcggtgc cgcagcaaac gcaataagta ttccacctgg ggagtacgtt cgcaagaatg 840
aaactcaaag gaattgacgg ggacccgcac aagcggtgga gcatgtggtt taattcgaag 900
caacgcgaag aaccttacca agtcttgaca tcgatctgac cggttcgtaa tggaaccttt 960
ccttcgggac agagaagaca ggtggtgcat ggttgtcgtc agctcgtgtc gtgagatgtt 1020
gggttaagtc ccgcaacgag cgcaacccct atcctcagta gccagcaggt gaagctgggc 1080
actctgtgga gactgccagg gataacctgg aggaaggcgg ggacgacgtc aaatcatcat 1140
gccccttatg atttgggcta cacacgtgct acaatggcgt aaacaaaggg aagcgagccc 1200
gcgaggggga gcaaatccca aaaataacgt cccagttcgg actgcagtct gcaactcgac 1260
tgcacgaagc tggaatcgct agtaatcgcg aatcagaatg tcgcggtgaa tacgttcccg 1320
ggtcttgtac acaccgcccg tcacaccatg ggagtcagta acgcccgaag tc 1372

<210> 2
<211> 1438
<212> DNA
<213> 魏克拉-布勞特氏菌

<220>
<221> n
<222> 19
<223> 「n」係a、c、g或t

<400> 2
caagtcgaac gggaattant ttattgaaac ttcggtcgat ttaatttaat tctagtggcg 60
gacgggtgag taacgcgtgg gtaacctgcc ttatacaggg ggataacagt cagaaatggc 120
tgctaatacc gcataagcgc acagagctgc atggctcagt gtgaaaaact ccggtggtat 180

aagatggacc cgcgttggat tagcttgttg gtggggtaac ggcccaccaa ggcgacgatc 240
catagccggc ctgagagggt gaacggccac attgggactg agacacggcc cagactccta 300
cgggaggcag cagtggggaa tattgcacaa tgggggaaac cctgatgcag cgacgccgcg 360
tgaaggaaga agtatctcgg tatgtaaact tctatcagca gggaagatag tgacggtacc 420
tgactaagaa gccccggcta actacgtgcc agcagccgcg gtaatacgta gggggcaagc 480
gttatccgga tttactgggt gtaaagggag cgtagacggt gtggcaagtc tgatgtgaaa 540
ggcatgggct caacctgtgg actgcattgg aaactgtcat acttgagtgc cggaggggta 600
agcggaattc ctagtgtagc ggtgaaatgc gtagatatta ggaggaacac cagtggcgaa 660
ggcggcttac tggacggtaa ctgacgttga ggctcgaaag cgtggggagc aaacaggatt 720
agataccctg gtagtccacg ccgtaaacga tgaataacta ggtgtcgggt ggcaaagcca 780
ttcggtgccg tcgcaaacgc agtaagtatt ccacctgggg agtacgttcg caagaatgaa 840
actcaaagga attgacgggg acccgcacaa gcggtggagc atgtggttta attcgaagca 900
acgcgaagaa ccttaccaag tcttgacatc cgcctgaccg atccttaacc ggatctttcc 960
ttcgggacag gcgagacagg tggtgcatgg ttgtcgtcag ctcgtgtcgt gagatgttgg 1020
gttaagtccc gcaacgagcg caacccctat cctcagtagc cagcatttaa ggtgggcact 1080
ctggggagac tgccagggat aacctggagg aaggcgggga tgacgtcaaa tcatcatgcc 1140
ccttatgatt tgggctacac acgtgctaca atggcgtaaa caaagggaag cgagattgtg 1200
agatggagca aatcccaaaa ataacgtccc agttcggact gtagtctgca acccgactac 1260
acgaagctgg aatcgctagt aatcgcggat cagaatgccg cggtgaatac gttcccgggt 1320
cttgtacaca ccgcccgtca caccatggga gtcagtaacg cccgaagtca gtgacctaac 1380
tgcaaagaag gagctgccga aggcgggacc gatgactggg gtgaagtcgt aacaaggt 1438

<210> 3
<211> 1481
<212> DNA
<213> 糞堆布勞特氏菌

<220>
<221> k
<222> 4
<223> k 係 g 或 t

<400> 3
tttkgtctgg ctcaggatga acgctggcgg cgtgcttaac acatgcaagt cgagcgaagc 60
gcttacgaca gaaccttcgg gggaagatgt aagggactga gcggcggacg ggtgagtaac 120
gcgtgggtaa cctgcctcat acagggggat aacagttgga aacggctgct aataccgcat 180
aagcgcacag tatcgcatga tacagtgtga aaaactccgg tggtatgaga tggacccgcg 240
tctgattagc tagttggagg ggtaacggcc caccaaggcg acgatcagta gccggcctga 300
gagggtgaac ggccacattg ggactgagac acggcccaga ctcctacggg aggcagcagt 360
ggggaatatt gcacaatggg ggaaaccctg atgcagcgac gccgcgtgaa ggaagaagta 420
tctcggtatg taaacttcta tcagcaggga agaaaatgac ggtacctgac taagaagccc 480
cggctaacta cgtgccagca gccgcggtaa tacgtagggg gcaagcgtta tccggattta 540
ctgggtgtaa agggagcgta gacggaagag caagtctgat gtgaaaggct ggggcttaac 600
cccaggactg cattggaaac tgtttttctt gagtgccgga gaggtaagcg gaattcctag 660
tgtagcggtg aaatgcgtag atattaggag gaacaccagt ggcgaaggcg gcttactgga 720
cggtaactga cgttgaggct cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat accctggtag 780
tccacgccgt aaacgatgaa tactaggtgt tggggagcaa agctcttcgg tgccgcagca 840
aacgcaataa gtattccacc tggggagtac gttcgcaaga atgaaactca aaggaattga 900
cggggacccg cacaagcggt ggagcatgtg gtttattcga agcaacgcga agaaccttac 960
caagtcttga catcgatctg accggttcgt aatggaacct ttccttcggg acagagaaga 1020
caggtggtgc atggttgtcg tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag tcccgcaacg 1080
agcgcaaccc ctatcgtcag tagccagcag gtaaagctgg gcactctgag gagactgcca 1140
gggataacct ggaggaaggc ggggacgacg tcaaatcatc atgcccctta tgatttgggc 1200
tacacacgtg ctacaatggc gtaaacaaag ggaagcgagc ccgcgagggg gagcaaatcc 1260
caaaaataac gtcccagttc ggactgcagt ctgcaactcg actgcacgaa gctggaatcg 1320
ctagtaatcg cgaatcagaa tgtcgcggtg aatacgttcc cgggtcttgt acacaccgcc 1380
cgtcacacca tgggagtcag taacgcccga agtcagtgac ccaaccttag ggagggagct 1440
gccgaaggcg ggattgataa ctggggtgaa gtctaggggg t 1481

<210> 4
<211> 1384
<212> DNA
<213> 魏克拉-布勞特氏菌

<220>
<221> n
<222> 749

<223> 「n」係a、c、g或t

<400> 4
ttcattgaga cttcggtgga tttagattct atttctagtg gcggacgggt gagtaacgcg 60
tgggtaacct gccttataca gggggataac agtcagaaat ggctgctaat accgcataag 120
cgcacagagc tgcatggctc agtgtgaaaa actccggtgg tataagatgg acccgcgttg 180
gattagcttg ttggtggggt aacggcccac caaggcgacg atccatagcc ggcctgagag 240
ggtgaacggc cacattggga ctgagacacg gcccagactc ctacgggagg cagcagtggg 300
gaatattgca caatggggga aaccctgatg cagcgacgcc gcgtgaagga agaagtatct 360
cggtatgtaa acttctatca gcagggaaga tagtgacggt acctgactaa gaagccccgg 420
ctaactacgt gccagcagcc gcggtaatac gtagggggca agcgttatcc ggatttactg 480
ggtgtaaagg gagcgtagac ggtgtggcaa gtctgatgtg aaaggcatgg gctcaacctg 540
tggactgcat tggaaactgt catacttgag tgccggaggg gtaagcggaa ttcctagtgt 600
agcggtgaaa tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc gaaggcggct tactggacgg 660
taactgacgt tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc 720
acgccgtaaa cgatgaatac taggtgtcng gggagcatgg ctcttcggtg ccgtcgcaaa 780
cgcagtaagt attccacctg gggagtacgt tcgcaagaat gaaactcaaa ggaattgacg 840
gggacccgca caagcggtgg agcatgtggt ttaattcgaa gcaacgcgaa gaaccttacc 900
aagtcttgac atccgcctga ccgatcctta accggatctt tccttcggga caggcgagac 960
aggtggtgca tggttgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga 1020
gcgcaacccc tatcctcagt agccagcatt taaggtgggc actctgggga gactgccagg 1080
gataacctgg aggaaggcgg ggatgacgtc aaatcatcat gccccttatg atttgggcta 1140
cacacgtgct acaatggcgt aaacaaaggg aagcgagatc gtgagatgga gcaaatccca 1200
aaaataacgt cccagttcgg actgtagtct gcaacccgac tacacgaagc tggaatcgct 1260
agtaatcgcg gatcagaatg ccgcggtgaa tacgttcccg ggtcttgtac acaccgcccg 1320
tcacaccatg ggagtcagta acgcccgaag tcagtgacct aactgcaaag aaggagctgc 1380
cgaa 1384

<210> 5
<211> 1458
<212> DNA
<213> 氫營養型布勞特氏菌

<220>
<221> n
<222> 1416
<223> 「n」係a、c、g或t

<400> 5
gatgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac gaagcgatag agaacggaga 60
tttcggttga agttttctat tgactgagtg gcggacgggt gagtaacgcg tgggtaacct 120
gccctataca gggggataac agttagaaat gactgctaat accgcataag cgcacagctt 180
cgcatgaagc ggtgtgaaaa actgaggtgg tataggatgg acccgcgttg gattagctag 240
ttggtgaggt aacggcccac caaggcgacg atccatagcc ggcctgagag ggtgaacggc 300
cacattggga ctgagacacg gcccaaactc ctacgggagg cagcagtggg gaatattgca 360
caatggggga aaccctgatg cagcgacgcc gcgtgaagga agaagtatct cggtatgtaa 420
acttctatca gcagggaaga aagtgacggt acctgactaa gaagccccgg ctaattacgt 480
gccagcagcc gcggtaatac gtaaggggca agcgttatcc ggatttactg ggtgtaaagg 540
gagcgtagac ggtttggcaa gtctgatgtg aaaggcatgg gctcaacctg tggactgcat 600
tggaaactgt cagacttgag tgccggagag gcaagcggaa ttcctagtgt agcggtgaaa 660
tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc gaaggcggcc tgctggacgg taactgacgt 720
tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc acgctgtaaa 780
cgatgaatac taggtgtcgg gtggcaaagc cattcggtgc cgcagcaaac gcaataagta 840
ttcccacctg gggagtacgt tcgcaagaat gaaactcaaa ggaattgacg gggacccgca 900
caagcggtgg agcatgtggt ttaattcgaa gcaacgcgaa gaaccttacc aaatcttgac 960
atccctctga ccgggaagta atgttccctt ttcttcggaa cagaggagac aggtggtgca 1020
tggttgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga gcgcaaccct 1080
tattcttagt agccagcagg tagagctggg cactctaggg agactgccag ggataacctg 1140
gaggaaggtg gggatgacgt caaatcatca tgccccttat gatttgggct acacacgtgc 1200
tacaatggcg taaacaaagg gaagcgaagg ggtgacctgg agcaaatctc aaaaataacg 1260
tctcagttcg gattgtagtc tgcaactcga ctacatgaag ctggaatcgc tagtaatcgc 1320
gaatcagaat gtcgcggtga atacgttccc gggtcttgta cacaccgccc gtcacaccat 1380
gggagtcagt aacgcccgaa gtcagtgacc caaccnaaag gagggagctg ccgaaggtgg 1440
gactgataac tggggtga 1458

201821093
專利案號：106123392
201821093
申請日：
IPC分類：

【發明摘要】

【中文發明名稱】

包含細菌菌株之組合物

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS COMPRISING BACTERIAL STRAINS

【中文】

本發明提供包含一或多種細菌菌株之組合物，其用於降低胃腸道中腸桿菌科(Enterobacteriaceae)之濃度的方法中。

【英文】

The invention provides compositions comprising one or more bacterial strains for use in a method of reducing the level of Enterobacteriaceae in the gastrointestinal tract.

【指定代表圖】

圖5

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種包含布勞特氏菌(Blautia)屬之細菌菌株之組合物，其用於降低胃腸道中腸桿菌科(Enterobacteriaceae)濃度之方法中。

【第2項】

如請求項1之組合物，其中該腸桿菌科係大腸桿菌(E. coli)。

【第3項】

如請求項1或2之組合物，其中該組合物係用於在IBS、克羅恩氏病(Crohn’s disease)、潰瘍性結腸炎、功能消化不良、腹瀉、胃腸炎、尿路感染或新生兒腦膜炎之治療或預防中降低胃腸道中腸桿菌科濃度之方法中。

【第4項】

如請求項1或2之組合物，其中該組合物係用於治療或預防腹瀉、胃腸炎、尿路感染或新生兒腦膜炎。

【第5項】

一種包含布勞特氏菌屬之細菌菌株之組合物，其用於治療由病原性腸桿菌科引起之感染。

【第6項】

一種包含布勞特氏菌屬之細菌菌株之組合物，其用於治療大腸桿菌感染。

【第7項】

如前述請求項中任一項之組合物，其中該細菌菌株係氫營養型布勞特氏菌(Blautia hydrogenotrophica)。

【第8項】

如請求項1至6中任一項之組合物，其中該細菌菌株係糞堆布勞特氏菌(Blautia stercoris)。

【第9項】

如請求項1至6中任一項之組合物，其中該細菌菌株係魏克拉-布勞特氏菌(Blautia wexlerae)。

【第10項】

如請求項1至6中任一項之組合物，其中該細菌菌株具有與氫營養型布勞特氏菌細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。

【第11項】

如請求項10之組合物，其中該細菌菌株具有與SEQ ID NO:5至少97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列或其具有SEQ ID NO:5之16s rRNA序列。

【第12項】

如請求項1至6中任一項之組合物，其中該細菌菌株具有與糞堆布勞特氏菌細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。

【第13項】

如請求項1至6中任一項之組合物，其中該細菌菌株具有與魏克拉-布勞特氏菌細菌菌株之16s rRNA序列至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%一致之16s rRNA序列。

【第14項】

如請求項1之組合物，其中該組合物包含氫營養型布勞特氏菌物種之細菌菌株，該組合物用於降低經診斷患有IBS之個體之胃腸道中腸桿菌科濃度的方法中。

【第15項】

如請求項1之組合物，其中該組合物包含糞堆布勞特氏菌物種之細菌菌株，該組合物用於降低經診斷患有IBS之個體之胃腸道中腸桿菌科濃度的方法中。

【第16項】

如請求項1之組合物，其中該組合物包含魏克拉-布勞特氏菌物種之細菌菌株，該組合物用於降低經診斷患有IBS之個體之胃腸道中腸桿菌科濃度的方法中。

【第17項】

如前述請求項中任一項之組合物，其中該組合物係經口投與。

【第18項】

如前述請求項中任一項之組合物，其中該組合物包含一或多種醫藥上可接受之賦形劑或載劑。

【第19項】

如前述請求項中任一項之組合物，其中該細菌菌株經凍乾。

【第20項】

如前述請求項中任一項之組合物，其中該細菌菌株可生長發育的。

【第21項】

如前述請求項中任一項之組合物，其中該組合物包含布勞特氏菌屬之單一菌株。

【第22項】

如前述請求項中任一項之組合物，其包含作為微生物聚生體(microbial consortium)之一部分之布勞特氏菌細菌菌株。

【第23項】

一種包含如前述請求項中任一項之組合物之食品，其用於如前述請求項中任一項之用途。

【第24項】

一種包含如前述請求項中任一項之組合物之疫苗組合物，其用於如前述請求項中任一項之用途。

【第25項】

一種降低胃腸道中腸桿菌科濃度之方法，其包含向有需要之患者投與包含布勞特氏菌屬之細菌菌株之組合物。

【第26項】

如請求項25之方法，其中該布勞特氏菌係氫營養型布勞特氏菌。