(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2025年3月20日(20.03.2025)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2025/057789 A1

(51) 国際特許分類:
A01N 63/20 (2020.01) *A01P 3/00* (2006.01)
A01K 61/13 (2017.01) *C12N 1/20* (2006.01)
A01P 1/00 (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2024/031292

(22) 国際出願日： 2024年8月30日(30.08.2024)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2023-147766 2023年9月12日(12.09.2023) JP

(71) 出願人: 国立研究開発法人産業技術総合研究所(**NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY**) [JP/JP]; 〒1008921 東京都千代田区霞が関１－３－１ Tokyo (JP).

(72) 発明者: 西岡 友樹 (**NISHIOKA, Tomoki**); 〒3058560 茨城県つくば市梅園１－１－１ 国立研究開発法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP). 滝本 祐也(**TAKIMOTO, Yuya**); 〒3058560 茨城県つくば市梅園１－１－１ 国立研究開発法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP). 玉木 秀幸(**TAMAKI, Hideyuki**); 〒3058560 茨城県つくば市梅園１－１－１ 国立研究開発法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP).

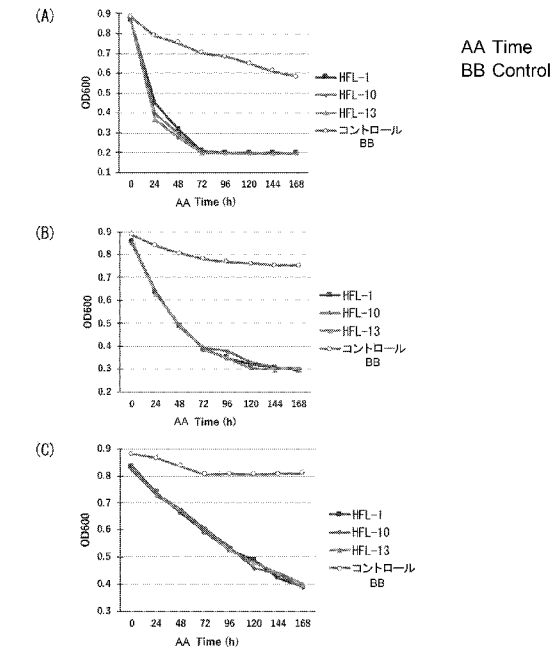
(74) 代理人: 青木 篤, 外 (**AOKI, Atsushi** et al.); 〒1050001 東京都港区虎ノ門一丁目２３番１号 虎ノ門ヒルズ森タワー 青和特許法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR,

(54) **Title:** METHOD FOR CONTROLLING FISH PATHOGENIC BACTERIA OF PHYLUM BACTEROIDOTA

(54) 発明の名称： バクテロイドータ門の魚類病原性細菌を防除する方法

[図1]



(57) **Abstract:** Provided is new predatory bacteria for controlling fish disease caused by bacteria of the phylum Bacteroidota, especially fish pathogenic bacteria of the genus Flavobacterium. The present invention relates to: a method for controlling fish pathogenic bacteria in the phylum Bacteroidota present in fish or fish habitats, wherein the method is characterized in that predatory bacteria or variants thereof that prey upon the fish pathogenic bacteria are applied to the fish or fish habitats; predatory bacteria or variants thereof that prey upon fish bathogenic bacteria of the phylum Bacteroidota; and a composition containing the predatory bacteria or variants thereof.

(57) 要約：バクテロイドータ（Bacteroidota）門の細菌、特にフラボバクテリウム属の魚類病原性細菌に起因する魚類病害を防除するための、新規の捕食性細菌を提供すること。 魚類又は魚類生息地に存在するバクテロイドータ門の魚類病原性細菌を防除する方法であって、前記魚類病原性細菌を捕食する捕食性細菌又はその変異体を前記魚類又は魚類生息地に施用することを特徴とする、方法；バクテロイドータ門の魚類病原性細菌を捕食する、捕食性細菌又はその変異体；及び当該捕食性細菌又はその変異体を含む組成物。

WO 2025/057789 A1

［続葉有］

HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第21条(3))

— 規則13の2に基づいて明細書とは別に提出された、寄託された生物材料に関する表示 (規則13の2.4(d)(i)及び48.2(a)(viii))

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

明　細　書

発明の名称 ：

バクテロイドータ門の魚類病原性細菌を防除する方法

技術分野

[0001] 本発明は、魚類又は魚類生息地に存在するバクテロイドータ（Bacteroidota）門の魚類病原性細菌を防除する方法、及び当該魚類病原性細菌に起因する魚類感染症の発生を抑制する方法に関する。本発明はまた、バクテロイドータ門の魚類病原性細菌を捕食する捕食性細菌又はその変異体に関する。

背景技術

[0002] 魚類の持続可能な安定供給には、養殖による安定生産が不可欠となっている。養殖池等は、養殖生物が高密度に生息し、しかも水交換が少ないため、養殖生物の排泄物と余剰餌によって水が富栄養化の傾向にある。このような所では、その環境に適応した微生物群が異常発生することにより、魚類病害が発生する。魚類病害は一旦発生すると大量死に繋がることから、病害を未然に防ぐことが重要となる。

[0003] 主な病害防除法として給餌を介した抗生物質投与が行われてきたが、生態系に及ぼす影響、薬剤耐性微生物の発生の懸念等から、国内外において使用量の削減が強く求められている。また、稚魚に対するワクチンの投与は、その効果を高めるために、有効なアジュバント等と組合せる必要がある。これらの背景から、水産分野では、抗生物質投与に代わる病害防除技術として、細菌捕食性細菌群（「Bdellovibrio及び類似の微生物」との意味であり、「ＢＡＬＯｓ」とも表記）に注目した研究開発が進められている。

[0004] バクテロイドータ門のフラボバクテリウム（Flavobacterium）属は、シュードモナドータ（Pseudomonadota）（旧プロテオバクテリア（Proteobacteria））門のビブリオ（Vibrio）属、及びアエロモナス（Aeromonas）属と並んで、魚類の三大病原細菌属として知られている。各属の病原細菌が引き起こす病害としては、細菌性冷水病（Flavobacterium psychrophilum）、カラム

ナリス病 （Flavobacterium columnaris）、細菌性鰓病（Fravobacterium branchiophilum）、ビブリオ病（Vibrio anguillarum及びVibrio harveyi）、せっそう病（Aeromonas salmonicida）が挙げられる。サーモン、アユ、マス、ウナギ、コイ、キンギョなどの養殖淡水魚のほとんどは、特に、フラボバクテリウム属細菌による細菌性冷水病、カラムナリス病、及び細菌性鰓病の少なくとも１つに影響を受けている。

[0005] これまでのＢＡＬＯｓ研究によって、シュードモナドータ門の魚類病原性細菌を捕食する細菌が多数報告されている（非特許文献１～４）。例えば、シュードモナドータ門のアエロモナス・ハイドロフィラ（Aeromonas hydrophila）を捕食するブデロビブリオ（Bdellovibrio）属細菌（非特許文献１）、ビブリオ・パラヘモリティクス（Vibrio parahaemolyticus）を捕食するバクテリオボラックス（Bacteriovorax）属細菌（非特許文献２）、アエロモナス・ハイドロフィラ（Aeromonas hydrophila）、ビブリオ・ハーベイ（Vibrio harveyi）等を捕食するブデロビブリオ属細菌（非特許文献３）、アエロモナス・ベロニイ（Aeromonas veronii）捕食するブデロビブリオ属細菌（非特許文献４）が知られている。

[0006] また、特許文献１には、ブデロビブリオ（Bdellovibrio）属細菌によって魚介類のビブリオ感染症を治療する方法も報告されている。

[0007] しかしながら、バクテロイドータ門の魚類病原性細菌、特にフラボバクテリウム属細菌を捕食する細菌はこれまで報告がない。

先行技術文献

特許文献

[0008] 特許文献1：特許第２５８３４７３号

非特許文献

[0009] 非特許文献1：Cao, H. et al. (2012), Veterinary microbiology, 154(3-4), 413-418

非特許文献2：Kongrueng, J. et al. (2017), Diseases of Aquatic Organisms, 124(3), 223-232

非特許文献3：Chu, W. H. and Zhu, W. (2010), Zoonoses and public health, 57(4), 258-264

非特許文献4：Yang, H. et al. (2023), Aquaculture, 562, 738741

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0010] したがって、抗生物質投与に代わる、バクテロイドータ門の細菌、特にフラボバクテリウム属の魚類病原性細菌に起因する魚類病害を防除するための、新規の捕食性細菌の探索が望まれていた。

課題を解決するための手段

[0011] 本発明者らは、前記課題を解決するために鋭意検討した結果、土壌からバクテロイドータ門の細菌を捕食する細菌を見出し、本発明を完成させた。具体的には、バクテリオボラカセアエ（Bacteriovoracaceae）科細菌ＨＦＬ－１株、同細菌ＨＦＬ－１０株、及び同細菌ＨＦＬ－１３株の３株を見出した。また、これらの菌株は同一の捕食範囲を示し、魚類又は魚類生息地に存在するバクテロイドータ門の魚類病原性細菌を効率的に防除することを見出し、本発明を完成させた。

[0012] すなわち、本発明は以下のものを提供する。

［１］魚類又は魚類生息地に存在するバクテロイドータ門の魚類病原性細菌を防除する方法であって、前記魚類病原性細菌を捕食する捕食性細菌又はその変異体を前記魚類又は魚類生息地に施用することを特徴とする、方法。

［２］魚類又は魚類生息地に存在するバクテロイドータ門の魚類病原性細菌に起因する魚類感染症の発生を抑制する方法であって、前記魚類病原性細菌を捕食する捕食性細菌又はその変異体を前記魚類又は魚類生息地に施用することを特徴とする、方法。

［３］前記捕食性細菌又はその変異体が、バクテリオボラカセアエ（Bacteriovoracaceae）科細菌に属する菌株又はその変異株である、［１］又は［２］に記載の方法。

［４］前記捕食性細菌又はその変異体が含む１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基

配列が、

（ｉ）配列番号６で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、９４．８％超の配列同一性を有するか、

（ｉｉ）配列番号７で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、９４．７％超の配列同一性を有するか、又は

（ｉｉｉ）配列番号８で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、９６．１％超の配列同一性を有する、［１］～［３］のいずれか１に記載の方法。

［５］前記捕食性細菌又はその変異体が、バクテリオボラカセアエ科細菌ＨＦＬ－１株（寄託番号ＮＩＴＥ ＡＢＰ－０３９０６）、バクテリオボラカセアエ科細菌ＨＦＬ－１０株（寄託番号ＮＩＴＥ ＡＢＰ－０３９０７）、バクテリオボラカセアエ科細菌ＨＦＬ－１３株（寄託番号ＮＩＴＥ ＡＢＰ－０３９０８）、又はそれらの変異株である、［１］～［４］のいずれか１に記載の方法。

［６］前記捕食性細菌又はその変異体が、配列番号１５で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子のコンセンサス塩基配列に対して、９７．９％超の配列同一性を有する１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子を含む、［１］～［５］のいずれか１に記載の方法。

［７］前記魚類病原性細菌が、フラボバクテリア（Flavobacteriia）綱に属する、［１］～［６］のいずれか１に記載の方法。

［８］前記魚類病原性細菌が、フラボバクテリアセアエ（Flavobacteriaceae）科又はウィークセラセアエ（Weeksellaceae）科に属する、［１］～［７］のいずれか１に記載の方法。

［９］前記魚類病原性細菌が、フラボバクテリウム（Flavobacterium）属細菌、テナシバキュラム（Tenacibaculum）属細菌、エリザベスキンギア（Elizabethkingia）属細菌、及びクリセオバクテリウム（Chryseobacterium）属細菌からなる群から選択される、［１］～［８］のいずれか１に記載の方法。

［１０］前記フラボバクテリウム（Flavobacterium）属細菌が、フラボバクテリウム・サイクロフィラム（Flavobacterium psychrophilum）、フラボバクテリウム・カラムナレ（Flavobacterium columnare）、又はフラボバクテリウム・ブランキオフィラム（Flavobacterium branchiophilum）である、［９］に記載の方法。

［１１］前記魚類感染症が、フラボバクテリウム・サイクロフィラム（Flavobacterium psychrophilum）に起因する細菌性冷水病、フラボバクテリウム・カラムナレ（Flavobacterium columnare）に起因するカラムナリス病、又はフラボバクテリウム・ブランキオフィラム（Flavobacterium branchiophilum）に起因する細菌性鰓病である、［２］及び［２］を引用する［３］～［１０］のいずれか１に記載の方法。

［１２］前記施用を０～３８℃の温度で行う、［１］～［１１］のいずれか１に記載の方法。

［１３］バクテロイドータ（Bacteroidota）門の魚類病原性細菌を捕食する、捕食性細菌又はその変異体。

［１４］前記捕食性細菌又はその変異体が、バクテリオボラカセアエ（Bacteriovoracaceae）科細菌に属する菌株又はその変異株である、［１３］に記載の捕食性細菌又はその変異体。

［１５］前記捕食性細菌又はその変異体が、配列番号１５で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子のコンセンサス塩基配列に対して、９７．９％超の配列同一性を有する１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子を含む、［１３］又は［１４］に記載の捕食性細菌又はその変異体。

［１６］前記捕食性細菌又はその変異体が含む１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列が、

（ｉ）配列番号６で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、９４．８％超の配列同一性を有するか、

（ｉｉ）配列番号７で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、９４．７％超の配列同一性を有するか、又は

（ｉｉｉ）配列番号８で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、９６．１％超の配列同一性を有する、［１３］～［１５］のいずれか１に記載の捕食性細菌又はその変異体。

［１７］前記捕食性細菌又はその変異体が、バクテリオボラカセアエ科細菌ＨＦＬ－１株（寄託番号ＮＩＴＥ ＡＢＰ－０３９０６）、バクテリオボラカセアエ科細菌ＨＦＬ－１０株（寄託番号ＮＩＴＥ ＡＢＰ－０３９０７）、バクテリオボラカセアエ科細菌ＨＦＬ－１３株（寄託番号ＮＩＴＥ ＡＢＰ－０３９０８）、又はそれらの変異株である、［１３］～［１６］のいずれか１に記載の捕食性細菌又はその変異体。

［１８］前記魚類病原性細菌が、フラボバクテリア（Flavobacteriia）綱に属する、［１３］～［１７］のいずれか１に記載の捕食性細菌又はその変異体。

［１９］前記魚類病原性細菌が、フラボバクテリアセアエ（Flavobacteriaceae）科又はウィークセラセアエ（Weeksellaceae）科に属する、［１３］～［１８］のいずれか１に記載の捕食性細菌又はその変異体。

［２０］前記魚類病原性細菌が、フラボバクテリウム（Flavobacterium）属細菌、テナシバキュラム（Tenacibaculum）属細菌、エリザベスキンギア（Elizabethkingia）属細菌、及びクリセオバクテリウム（Chryseobacterium）属細菌からなる群から選択される、［１３］～［１９］のいずれか１に記載の捕食性細菌又はその変異体。

［２１］前記フラボバクテリウム（Flavobacterium）属細菌が、フラボバクテリウム・サイクロフィラム（Flavobacterium psychrophilum）、フラボバクテリウム・カラムナレ（Flavobacterium columnare）、又はフラボバクテリウム・ブランキオフィラム（Flavobacterium branchiophilum）である、［２０］に記載の捕食性細菌又はその変異体。

［２２］［１３］～［２１］のいずれか１に記載の捕食性細菌又はその変異体を含む、バクテロイドータ（Bacteroidota）門の魚類病原性細菌を防除するための、又は前記魚類病原性細菌に起因する魚類感染症の発生を抑制す

るための組成物。

発明の効果

[0013] 本発明によれば、バクテリオボラカセアエ科細菌に属する菌株又はその変異株は、魚類又は魚類生息地に存在するバクテロイドータ門の魚類病原性細菌を効率的に防除することができる。

図面の簡単な説明

[0014] [図1]図１は、２８℃（Ａ）、１８℃（Ｂ）及び１０℃（Ｃ）における、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株の、フラボバクテリウム・サイクロフィラムＮＢＲＣ１００２５０（細菌性冷水病細菌）に対する経時での捕食活性を示す図である。コントロールは、捕食性細菌が未接種のＨＥＰＥＳバッファを示す。

[図2]図２は、２８℃（Ａ）、１８℃（Ｂ）及び１０℃（Ｃ）における、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株の、フラボバクテリウム・カラムナレＮＢＲＣ１００２５１（カラムナリス病細菌）に対する経時での捕食活性を示す図である。コントロールは、捕食性細菌が未接種のＨＥＰＥＳバッファを示す。

[図3]図３は、２８℃（Ａ）、１８℃（Ｂ）及び１０℃（Ｃ）における、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株の、フラボバクテリウム・ブランキオフィラムＮＢＲＣ１５０３０（細菌性鰓病細菌）に対する経時での捕食活性を示す図である。コントロールは、捕食性細菌が未接種のＨＥＰＥＳバッファを示す。

発明を実施するための形態

[0015] 以下、具体的な実施態様に即して本発明を詳細に説明する。但し、本発明は決して以下の実施態様に束縛されるものではなく、適宜変更を加えて実施することが可能である。

[0016] 本発明の第１の実施形態は、魚類又は魚類生息地に存在するバクテロイドータ門の魚類病原性細菌を防除する方法であって、前記魚類病原性細菌を捕食する捕食性細菌又はその変異体を前記魚類又は魚類生息地に施用すること

を特徴とする、方法である。本発明において「魚類に存在する」とは、魚類体表、又は餌などを介して魚類体内に存在することを意味する。

本発明において「捕食性細菌」とは、「偏性捕食性細菌」であって、宿主となるバクテロイドータ門の細菌に衝突すると、その細胞内に侵入し、同時に宿主細胞を死に至らせる細菌を意味する。侵入した捕食性細菌は、宿主細胞内で十分に成長し、自己増殖した後、宿主細胞を破壊して細胞外に放出される。本発明の「捕食性細菌」は、バクテロイドータ門の細菌を捕食できるものであればよく、さらには、バクテリオボラカセアエ科細菌に属し、かつバクテロイドータ門の細菌を捕食できるものであればよい。なお、本発明の捕食性細菌は、例えば、後記実施例２に記載の、シュードモナドータ（Pseudomonadota）門、アクチノマイセトータ（Actinomycetota）（旧アクチノバクテリオータ（Actinobacteriota））門、バチローター（Bacillota）（旧ファーミキューテス（Firmicutes））門などの細菌を捕食しない。「通性捕食性細菌」と呼ばれる細菌も捕食性細菌と呼ばれることがあるが、通性捕食性細菌は、栄養従属性を有し、溶菌酵素等を作用させて他の微生物を溶かしてからその分解物を吸収するものであり、本発明の捕食性細菌とは明確に区別される。

[0017] 具体的には、本発明における捕食性細菌として、土壌から、フラボバクテリウム・エスピー（Flavobacterium sp.）ＧＳＢ－２４株を捕食する、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株の３株が単離された。

本明細書において「土壌」とは、一般に、天然に存在する全体としては固体状の、鉱物、岩石、砂等の無機物；生物の産生物、排泄物、死体、腐食物質等の有機物；石油、石油前段階物質、石油抗泉水、鉱泉水・温泉水、河川水、湖沼水、海水等の天然液体；生物（生体）などの混合物を言う。

以下、本発明における捕食性細菌を、適宜、「本発明の細菌」と表記し、特定の菌株を指す場合には「本発明の菌株」と表記する。また、本発明の「細菌」の語は、「細菌又はその変異体」の意味で用いる場合があり、本発明の「菌株」の語は、「菌株又はその変異株」の意味で用いる場合がある。

[0018] 本発明の菌株の単離は、常法（例えば、Jurkevitch, E. (2012). Current protocols in microbiology, 26(1), 7B-1参照）により実施することができる。具体的には、土壌を洗浄液に懸濁し、遠心し、上清を取得する。この上清を更に遠心分離し、固体を取得し、固体の懸濁液を用いて二重平板法によりプラーク（溶菌斑）を検出する。

[0019] 本発明の菌株の系統学的性質について、１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列の同一性解析（EZBioCloud Microbiome Taxonomic Profiling, CJ Bioscience）を行ったところ、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株及びＨＦＬ－１３株に近縁の分類上の基準株は、バクテリオボラカセアエ科に属するペレジバクター・スタリＡ３．１２株（アクセッション番号ＡＦ０８４８５２）であり、当該Ａ３．１２株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列（配列番号５）は、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列（それぞれ、配列番号６、７、８）に対してそれぞれ９３．６％、９３．４％、９５．７％の塩基配列同一性を有することが判明した。したがって、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株は、いずれも、バクテリオボラカセアエ科に属する新規な菌株であると同定された。

また、ＢＬＡＳＴ（Basic Local Alignment Search Tool）プログラムを用いた１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列の同一性解析を行ったところ、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株及びＨＦＬ－１３株に近縁の既知細菌種は、アンカルチャード・バクテリウム（uncultured bacterium）ＳＳｍＣＢ０８－７０（アクセッション番号ＡＢ１７６２３１）であり、当該ＳＳｍＣＢ０８－７０の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列（配列番号９）は、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列（それぞれ、配列番号６、７、８で表される）に対して少なくとも９４．７％の塩基配列同一性を有することが判明した。具体的には、当該ＳＳｍＣＢ０８－７０の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列は、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、それぞれ、９４．８％、９４．７％、９６．１％の塩基配列同一性を有する。

なお、本発明において「配列同一性」とは、比較対象の少なくとも２つの配列を適切に整列化させ、それぞれの配列に存在する同一の塩基を決定して、適合部位の数を決定し、次いで、比較対象の配列領域内の塩基の総数で、上記適合部位の数を割り、得られた数値に１００を掛けることにより算出され得る値を言う。かかる配列同一性は、具体的には、例えば、系統解析ソフトウェア（EZBioCloud Microbiome Taxonomic Profiling）、又はＢＬＡＳＴ（Basic Local Alignment Search Tool）プログラム（Altschul et al., J. Mol. Biol., (1990), 215(3):403-10）等により算出され得る。

[0020] 本発明者らは、上記３株を独立行政法人製品評価技術基盤機構　バイオテクノロジーセンター　特許微生物寄託センター（千葉県木更津市かずさ鎌足２－５－８　１２２号室）に寄託申請し、上記３株は令和５年６月１３日付で下記の受託番号で受託され（通知年月日：令和５年７月２７日）、現在当該機関において保存されている。

（１）ＨＦＬ－１株（受託番号ＮＩＴＥ　Ｐ－０３９０６）

（２）ＨＦＬ－１０株（受託番号ＮＩＴＥ　Ｐ－０３９０７）

（３）ＨＦＬ－１３株（受託番号ＮＩＴＥ　Ｐ－０３９０８）

その後、上記３株は、上記の特許微生物寄託センターに、原寄託申請書を提出して、国内寄託（原寄託日：２０２３年６月１３日）から、ブダペスト条約に基づく寄託への移管申請を行い、生存が証明され、ブダペスト条約に基づく寄託（国際寄託）への移管申請が以下の受領番号で受領された（受領日：２０２４年８月２３日）。

（１）ＨＦＬ－１株（受領番号ＮＩＴＥ　ＡＢＰ－０３９０６）

（２）ＨＦＬ－１０株（受領番号ＮＩＴＥ　ＡＢＰ－０３９０７）

（３）ＨＦＬ－１３株（受領番号ＮＩＴＥ　ＡＢＰ－０３９０８）

[0021] 本発明の菌株は、生菌体であればよく、当該生菌体を含む培養液も好ましく使用できる。生菌体は施用された魚類体表、魚類体内又は魚類生息地で生存して活動できる形態のものであればよい。

[0022] 本発明のＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株又はＨＦＬ－１３株の「変異体」

とは、バクテロイドータ門の魚類病原性細菌を捕食する効果を有する限り、（ａ）本発明の菌株から誘導された如何なる変異体でもよい。このような変異体としては、菌株の培養及び植え継ぎを含む自然状態で発生する自然突然変異により発生する菌株；放射線、紫外線、Ｘ線及び化学物質などを作用させることで人工的に引き起こす人為突然変異により作出される菌株；遺伝子組み換えにより作出される菌株；ゲノム編集により作出される菌株などが挙げられる。また、本発明の菌株の「変異体」には、（ｂ）本発明の菌株から誘導されない変異体であって、本発明の菌株に対して類縁性が高くかつ捕食活性を有する任意の菌株も含まれる。

本発明の変異体は、好ましくは、その１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列が、配列番号６、７、８で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、それぞれ、９４．８％超、９４．７％超、９６．１％超の配列同一性を有する。具体的には、本発明の変異体は、その１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列が、（ｉ）配列番号６で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、９４．８％超の配列同一性を有するか、（ｉｉ）配列番号７で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、９４．７％超の配列同一性を有するか、又は、（ｉｉｉ）配列番号８で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、９６．１％超の配列同一性を有する。

本発明の変異体は、より好ましくは、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、ＨＦＬ－１３株の各１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子のコンセンサス塩基配列（配列番号１５）に対して、９７．９％超の配列同一性を有する。本明細書において「コンセンサス塩基配列」とは、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、ＨＦＬ－１３株の各１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列中の各位置において見いだされる最も高頻度のヌクレオチド残基を表す、算出された配列を言う。典型的には、コンセンサス塩基配列は配列アラインメントによって決定され、類似の配列が互いに比較されて類似の配列モチーフが算出される。詳細については後記実施例３を参照されたい。

[0023] 本発明のＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株及びＨＦＬ－１３株の各変異体は

、その全ゲノムの遺伝子の塩基配列が、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株又はＨＦＬ－１３株（野生型）の全ゲノムの遺伝子の塩基配列に対して、好ましくは少なくとも７０％、より好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも８５％、より好ましくは少なくとも９０％、より好ましくは少なくとも９５％、より好ましくは少なくとも９６．２％、より好ましくは少なくとも９７％、より好ましくは少なくとも９８％、より好ましくは少なくとも９９％、より好ましくは少なくとも９９．１％、より好ましくは少なくとも９９．２％、より好ましくは少なくとも９９．３％、より好ましくは少なくとも９９．４％、より好ましくは少なくとも９９．５％、より好ましくは少なくとも９９．６％、より好ましくは少なくとも９９．７％、より好ましくは少なくとも９９．９％、より好ましくは少なくとも９９．９１％、より好ましくは少なくとも９９．９２％、より好ましくは少なくとも９９．９３％、より好ましくは少なくとも９９．９４％、少なくとも９９．９５％、より好ましくは少なくとも９９．９６％、より好ましくは少なくとも９９．９７％、より好ましくは少なくとも９９．９８％、さらに好ましくは少なくとも９９．９９％の配列同一性を有する。

[0024] 本発明における「魚類」には、例えば、海水魚、淡水魚に加えて、甲殻類、貝類、棘皮動物、軟体動物、両生類などが含まれる。具体的には、海水魚であるサケ、マス、ブリ、ハマチ、マダイ、カンパチ、フグ、ヒラメ、クロマグロ、シマアジ、マアジ、ヒラマサ、イシダイ、カワハギ、メバル、カサゴ、クロダイ、クロソイ、スズキ、チダイ、イサキ、オオニベ、メジナ、マサバ、マハタ、クエ、ギンザケなど、淡水魚であるコイ、ニジマス、ウナギ、アユ、ウグイ、キンギョ、メダカなど、甲殻類であるバナメイエビ、ボタンエビ、クルマエビ、サクラエビ、シロエビ、アマエビ、ナンバンエビ、アカエビ、ブドウエビ、クロザコエビ、ホッカイエビ、イセエビ、ウチワエビ、セミエビ、ゾウリエビ、モクズガニ、ズワイガニ、ベニズワイガニ、タカアシガニ、タラバガニ、ガザミ、ケガニ、ハナサキガニ、ワタリガニなど、貝類であるメガイアワビ、クロアワビ、ホタテ貝、ハマグリ、アサリ、アカ

ガイ、サザエ、マガキ、イワガキ、イタボガキ、スミノエガキ、オニガキ、ポルトガルガキ、ヨーロッパヒラガキ、シカメガキ、アコヤ貝、ピース貝、トリ貝、イシカゲ貝、ヒオウギ貝、タイラギなど、棘皮動物であるムラサキウニ、バフンウニ、アカウニ、エゾバフンウニ、チリウニ、マナマコなど、軟体動物であるコウイカ、ツツイカ、スルメイカ、マツイカ、ヤリイカ、カアイカ、アオリイカ、マダコ、ミズダコ、イイダコ、ヤナギダコ、テナガダコなど、両生類であるヨーロッパトノサマカエル、ウシガエル、ナンベイウシガエル、トラフガエル、ヌマガエル、インドクサクイガエル、ナミエガエル、クロマダラガエルなどが挙げられる。

本発明において「魚類生息地」とは、養殖を目的とした、水槽、水域、海域などの養殖場が例示される。

[0025] バクテロイドータ門の魚類病原性細菌としては、例えば、フラボバクテリア綱フラボバクテリアセアエ科に属するフラボバクテリウム属細菌、テナシバキュラム属細菌、クリセオバクテリウム属細菌、又はフラボバクテリア綱ウィークセラセアエ科に属するエリザベスキンギア属細菌などが挙げられる。

[0026] フラボバクテリウム属細菌としては、例えば、フラボバクテリウム・サイクロフィラム、フラボバクテリウム・カラムナレ、フラボバクテリウム・ブランキオフィラムが挙げられる。

テナシバキュラム属細菌としては、例えば、テナシバキュラム・マリチマム（Tenacibaculum maritimum）が挙げられる（Sci Rep. 2021 May 4;11(1):9453. doi: 10.1038/s41598-021-88672-z）。

クリセオバクテリウム属細菌としては、例えば、クリセオバクテリウム・バルスティナム（Chryseobacterium balustinum）、クリセオバクテリウム・スコフタルマム（Chryseobacterium scophtalmum）、クリセオバクテリウム・ジョオステイ（Chryseobacterium joostei）、クリセオバクテリウム・ピスシコラ（Chryseobacterium piscicola）、クリセオバクテリウム・チャポネンセ（Chryseobacterium chaponense）、クリセオバクテリウム・アクアテ

ィカム（Chryseobacterium aquaticum）、クリセオバクテリウム・ダエケオンゲンセ（Chryseobacterium daecheongense）、クリセオバクテリウム・インドロゲネス（Chryseobacterium indologenes）、クリセオバクテリウム・ビスセラム（Chryseobacterium viscerum）、クリセオバクテリウム・グレウム（Chryseobacterium gleum）、クリセオバクテリウム・オンコリンチ（Chryseobacterium oncorhynchi）、クリセオバクテリウム・アアフリ（Chryseobacterium aahli）、クリセオバクテリウム・シルリ（Chryseobacterium siluri）などが挙げられる（BMC Veterinary Research 8, Article number: 77 (2012)）。

エリザベスキンギア属細菌としては、例えば、エリザベスキンギア・ミリコラ（Elizabethkingia miricola）が挙げられる（Front. Cell. Infect. Microbiol., 14 March 2023；Fish & Shellfish Immunology Volume 130, November 2022, Pages 93-102）。

[0027] 本発明における「魚類感染症」としては、バクテロイドータ門の魚類病原性細菌に起因して発生する感染症であれば特に限定されない。例えば、フラボバクテリウム・サイクロフィラムに起因するサケ科魚類、及びアユなどに発生する細菌性冷水病；フラボバクテリウム・カラムナレに起因する、コイ、フナ、ウナギ、キンギョに発生するカラムナリス病；フラボバクテリウム・ブランキオフィルムに起因するサケ科魚類に発生する細菌性鰓病；テナシバキュラム・マリチマムに起因する魚類皮膚病などが挙げられる。

[0028] 本発明における「施用」の態様には、魚類に直接施用する場合と魚類生息地に施用する場合がある。

魚類に施用する方法としては、例えば、魚類の体表への散布、魚類の体内への注入などが挙げられる。魚類の体内に注入する方法としては、飼料に混合しての給餌、魚類への経口投与などである。魚類生息地に施用する方法としては、養殖場となる水槽、水域、海域等への散布や、養殖場の水面下に設置される設備への付設が挙げられる。

施用温度とは魚類への施用（魚類の体内への注入を除く）時の水温を指し

、特に限定されない。例えば約０℃～約３８℃の範囲が好ましく、約８℃～約３０℃の範囲がより好ましく、約１０℃～約２８℃の範囲が特に好ましい。至適水温は約２８℃である。本発明の菌株の中には、８℃程度の低温でも十分に捕食活性を示すものもある。なお、魚類の体内への注入温度も例えば約０℃～約３８℃の範囲でよい。

[0029] 本発明の捕食性細菌の使用形態としては、生菌の状態で使用できればよく、例えば菌体自体；当該菌体を含む培養液；当該菌体を含む懸濁液；これらの濃縮物、ペースト状物、凍結物、凍結乾燥物又は希釈物、などが挙げられる。

[0030] 本発明の捕食性細菌の施用濃度は、適用する魚類の種類、魚類の数、魚類の大きさ、養殖槽のサイズ、施用時間、排水の量などによって異なる。例えば、魚類に施用する場合には、菌体濃度に換算して、１×１０^{2}～１×１０^{12}ｐｆｕ／ｍＬ（プラーク形成単位）、好ましくは１×１０^{4}～１×１０^{12}ｐｆｕ／ｍＬ、好ましくは１×１０^{6}～１×１０^{12}ｐｆｕ／ｍＬの範囲内とすることができる。

[0031] 本発明の組成物の施用量は、適用する魚類の種類、魚類の数、魚類の大きさ、養殖槽のサイズ、施用時間、排水の量などによって異なる。本発明の組成物を給餌によって魚類に施用する場合には、餌の総重量の約０．０１～０．１％程度であり、それを一定期間、例えば１週間間隔、より好ましくは３～５日間隔、より好ましくは１～２日間隔で施用する。

[0032] 本発明において「防除する」とは、本発明の捕食性細菌又はその変異体を施用した場合の魚類病原性細菌の濃度が、本発明の捕食性細菌又はその変異体を施用しない場合の魚類病原性細菌の濃度よりも低いことを言う。具体的には、本発明の捕食性細菌又はその変異体による処理後の魚類病原性細菌の濃度が、非処理（コントロール）の魚類病原性細菌の濃度の約５０％未満、好ましくは約４０％未満、好ましくは約３０％未満、好ましくは約２０％未満、特に好ましくは１０％未満である場合に、本発明の捕食性細菌又はその変異体は、バクテロイドータ門の魚類病原性細菌に対して防除効果を有する

と言う。当該処理後の魚類病原性細菌の濃度の測定は、当該分野で周知の方法により行うことができる。例えば、コロニーカウント法、分光高度計を用いた吸光度法、濁度法が例示できる。

[0033] 本発明の第２の実施形態は、魚類又は魚類生息地に存在するバクテロイドータ門の魚類病原性細菌に起因する魚類感染症の発生を抑制する方法であって、前記魚類病原性細菌を捕食する捕食性細菌又はその変異体を前記魚類又は魚類生息地に施用することを特徴とする、方法である。

本発明において、魚類感染症の発生を「抑制する」とは、本発明の捕食性細菌又はその変異体が魚類感染症の原因となる細菌に対して捕食作用を発揮することにより、その細菌により引き起こされる魚類感染症を予防又は治癒することを意味する。具体的には、本発明の捕食性細菌又はその変異体を施用した、魚類病原性細菌を含む生育環境で養殖した魚類の魚類感染症の発生率が、本発明の捕食性細菌又はその変異体を使用しないこと以外は同じ条件下で養殖した魚類の魚類感染症の発生率よりも低いことを言う。具体的には、本発明の捕食性細菌又はその変異体を施用した、魚類病原性細菌を含む生育環境で養殖した魚類の魚類感染症の発生率が、本発明の捕食性細菌又はその変異体を使用しないこと以外は同じ条件下で養殖した魚類の魚類感染症の発生率の約５０％未満、好ましくは約５０％未満、好ましくは約４０％未満、好ましくは約３０％未満、好ましくは約２０％未満、特に好ましくは１０％未満である場合に、本発明の捕食性細菌又はその変異体は、バクテロイドータ門の魚類病原性細菌に起因する魚類感染症の発生を抑制する効果を有すると言う。魚類感染症の発生の抑制度の測定は、当該分野で周知の方法により行うことができる。例えば、コロニーカウント法、分光高度計を用いた吸光度法、濁度法が例示できる。

[0034] 下記実施例２に示すように、本発明の菌株又はその変異体はバクテロイドータ門の魚類病原性細菌を捕食する効果を有することから、例えば、本発明の菌株又はその変異体を前記の施用条件で魚類又は魚類生息地に施用すれば、当該病原性細菌に起因して発生する魚類感染症を効果的に抑制することが

期待できる（非特許文献４）。

[0035] 捕食性細菌又はその変異体、魚類又は魚類生息地、バクテロイドータ門の魚類病原性細菌、及び魚類感染症については、第１の実施形態で説明したとおりである。

[0036] 本発明の第３の実施形態は、本発明の捕食性細菌又はその変異体を含む、バクテロイドータ門の魚類病原性細菌を防除するための、又は前記魚類病原性細菌に起因する魚類感染症の発生を抑制するための組成物である。

[0037] 捕食性細菌又はその変異体、バクテロイドータ門の魚類病原性細菌、及び魚類感染症、並びに「防除」及び「抑制」については、第１、第２の実施形態で説明したとおりである。

[0038] 本発明の組成物は、前記の捕食性細菌の菌体を含む培養液、当該菌体を含む懸濁液、これらの濃縮物などに、必要により固体担体、液体担体などの担体を添加して、粉剤、粒剤、水和剤、錠剤等の固形製剤；乳剤、フロアブル剤、油剤等の液体製剤；凍結乾燥により作製した乾燥製剤、の形態として製造することができる。

[0039] 本発明の組成物に含まれる本発明の捕食性細菌の濃度は、病害の種類、適用魚類の種類、組成物の剤形などによって異なるが、例えば、液体製剤の場合には、液体製剤中の捕食性細菌の濃度は、通常、１×１０^{2}～１×１０^{11}ｐｆｕ／ｍＬ（プラーク形成単位）の範囲内である。

[0040] 前記組成物には、必要により、本発明の捕食性細菌の魚類病原性細菌防除効果を喪失させない範囲において、通常農薬に使用される担体や副資材、例えば、界面活性剤、液性調整剤（ｐＨ調整剤など）、拡展剤、展着剤、湿潤剤、安定化剤、ドリフト防止剤などを添加してもよい。

本発明の組成物に担体や副資材などを添加する場合には、用いられる担体や副資材などの濃度は合計で、本発明の組成物の全重量に対して、通常、約１～９９．９重量％、好ましくは約１０～９９重量％である。

[0041] 本発明の組成物は、魚類病原性細菌に由来するワクチン（例えば、ＷＯ２００９／０８０７６７、ＷＯ２００９／０５６６２９）と併用することもで

きる。

[0042] 以下、実施例を示し、本発明をさらに詳細に説明する。ただし、本発明は以下の実施例に限定されるものではなく、適宜変更を加えて実施することが可能である。

実施例

[0043] 実施例１　細菌捕食性細菌の単離・培養

２．５ｇの土壌（兵庫県）を２２．５ｍｌの洗浄液（６ｍＭ　$CaCl_2 \cdot 2H_2O$、４ｍＭ　$MgCl_2 \cdot 7H_2O$）に加え、５分間室温で激しく振盪した。５００×ｇ、４℃で５分間遠心し、その上清を得、更に約３０，０００×ｇ、４℃で２０分間遠心し、ペレットを得た。当該ペレットを上記洗浄液に懸濁し、更に約３０，０００×ｇ、４℃で２０分間遠心し、ペレットを得た。当該ペレットを上記洗浄液に懸濁し、１．０μｍ孔径のフィルターで２回濾過した。当該濾液を使って二重平板法によってプラーク（溶菌斑）を検出した。

二重平板法では、濾液０．１ｍＬ、フラボバクテリウム・エスピーＧＳＢ－２４株懸濁液０．２５ｍＬと、軟寒天培地（２５ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．４、６ｍＭ　$CaCl_2 \cdot 2H_2O$、４ｍＭ　$MgCl_2 \cdot 7H_2O$、１００倍希釈したトリプティックソイブロス（Tryptic soy broth）、０．６％寒天濃度）３ｍＬとを混合し、これを平板培地（２５ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．４、６ｍＭ　$CaCl_2 \cdot 2H_2O$、４ｍＭ　$MgCl_2 \cdot 7H_2O$、１００倍希釈したトリプティックソイブロス、１．５％寒天濃度）に重層した。２８℃で約３日間培養し、プラークの有無を観察した。プラークを周囲の餌細菌と共にくり抜き、緩衝液（２５ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．４、４ｍＭ　$MgCl_2 \cdot 7H_2O$）に懸濁した。これを段階希釈して、二重平板法によって再度プラークを形成させることを繰り返し、捕食性細菌の単離を行った。

[0044] 実施例２　単離した捕食性細菌の同定と、捕食性細菌と近縁の既知微生物との関係

単離した捕食性細菌（ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株）を以下の手順で同定した。まず、各菌株のゲノムＤＮＡ抽出をＩｎｓｔａＧｅｎｅＤＮＡ精製マトリックス（BIO-RAD）により行なった。各菌株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子は、以下の特異的増幅用プライマーを用いて１３７８ｂｐ～１４２２ｂｐを解読した。

フォワードプライマー：27f（AGAGTTTGATCMTGGCTCAG）（配列番号１）

フォワードプライマー：515f（GTGCCAGCMGCCGCGGTAA）（配列番号２）

リバースプライマー：806r（GGACTACHVGGGTWTCTAAT）（配列番号３）

リバースプライマー：1492r（TACGGHTACCTTGTTACGACTT）（配列番号４）

１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子のシークエンスによる系統解析（EZBioCloud Microbiome Taxonomic Profiling, CJ Bioscience）で解析し、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株に近縁の分類上の基準株を調査したところ、ＨＦＬ－１株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列（配列番号６）はバクテリオボラカセアエ（Bacteriovoracaceae）科に属するペレジバクター・スタリＡ３．１２（アクセッション番号ＡＦ０８４８５２（https://www.ezbiocloud.net））の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列（配列番号５）と９３．６％の配列同一性、ＨＦＬ－１０株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列（配列番号７）はペレジバクター・スタリＡ３．１２の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列と９３．４％の配列同一性、ＨＦＬ－１３株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列（配列番号８）はペレジバクター・スタリＡ３．１２の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列と９５．７％の配列同一性を有した（表１）。したがって、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株は、バクテリオボラカセアエ科に属する新規な菌株であると同定された。

[0045] [表1]

表１　ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株及びＨＦＬ－１３株の各１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列と、既知細菌種（Peredibacter starri A3.12）の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列との配列相同性

分離菌株	相同性(%)
HFL-1	93.6
HFL-10	93.4
HFL-13	95.7

[0046] また、バクテリオボラカセアエ科に属するＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株及びＨＦＬ－１３株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列（それぞれ、配列番号６、配列番号７及び配列番号８）を問い合わせ配列とし、ＢＬＡＳＴ（Basic Local Alignment Search Tool）プログラムを用いてデータベース上の全塩基配列に対し同一性解析を行った。得られた結果をＱｕｅｒｙ ｃｏｖｅｒ（結果配列が問い合わせ配列をカバーする割合（％））によって数値の高い順にソートを行い、結果配列が問い合わせ配列より長い、すなわち、Ｑｕｅｒｙ ｃｏｖｅｒが１００％の結果配列のうち、Ｉｄｅｎｔｉｔｙ（同一性）の数値の高い順に５菌株の結果を取得したところ、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株及びＨＦＬ－１３株に近縁の既知細菌種は、アンカルチャード・バクテリウム（uncultured bacterium）ＳＳｍＣＢ０８－７０（１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子はアクセッション番号ＡＢ１７６２３１として登録済）であり、当該ＳＳｍＣＢ０８－７０の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列（配列番号９）は、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株及びＨＦＬ－１３株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対してそれぞれ９４．８％、９４．７％、９６．１％の配列同一性を有することが判明した（表２、表３及び表４）。

ＨＦＬ－１株に２番目、３番目、４番目、及び５番目に近縁の既知微生物は、それぞれ、アンカルチャード・デルタ・プロテオバクテリウム（uncultured delta proteobacterium）ｃｌｏｎｅ２３６（１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子はアクセッション番号ＥＦ１８８４２９として登録済；その１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列を配列番号１０で示す）、アンカルチャード・バクテリウムＳＳｍＣＢ０８－８（１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子はアクセッション番号ＡＢ１７６１７５として登録済；その１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列を配列番号１１で示す）、ペレジバクター・スタリＡ３．１２（１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子はアクセッション番号ＣＰ１３９４８７として登録済；その１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列を配列番号１２で示す）、及びアンカルチャード・バクテリウムＳＳｍＣＢ０８－６２（１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子はアクセッション番号ＡＢ１７６２２３として登録済；その１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列を配列番

号１３で示す）であり、ＨＦＬ－１株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対する配列同一性は、それぞれ９４．４％、９４．１％、９３．６％、及び９３．５％であった（表２）。

ＨＦＬ－１０株に２番目、３番目、４番目、及び５番目に近縁の既知微生物は、アンカルチャード・バクテリウムｃｌｏｎｅＥ１８（１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子はアクセッション番号ＨＧ９１７７２３として登録済；その１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列を配列番号１４で示す）、アンカルチャード・デルタ・プロテオバクテリウムｃｌｏｎｅ２３６（１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子はアクセッション番号ＥＦ１８８４２９として登録済；その１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列を配列番号１０で示す）、アンカルチャード・バクテリウムＳＳｍＣＢ０８－８（１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子はアクセッション番号ＡＢ１７６１７５として登録済；その１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列を配列番号１１で示す）、及びペレジバクター・スタリＡ３．１２（１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子はアクセッション番号ＣＰ１３９４８７として登録済；その１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列を配列番号１２で示す）であり、ＨＦＬ－１０株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対する塩基配列同一性は、それぞれ９４．５％、９４．３％、９４．０％、及び９３．４％であった（表３）。

ＨＦＬ－１３株に２番目、３番目、４番目、及び５番目に近縁の既知微生物は、ペレジバクター・スタリＡ３．１２（１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子はアクセッション番号ＣＰ１３９４８７として登録済；その１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列を配列番号１２で示す）、アンカルチャード・デルタ・プロテオバクテリウムｃｌｏｎｅ２３６（１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子はアクセッション番号ＥＦ１８８４２９として登録済；その１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列を配列番号１０で示す）、アンカルチャード・バクテリウムＳＳｍＣＢ０８－８（１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子はアクセッション番号ＡＢ１７６１７５として登録済；その１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列を配列番号１１で示す）、及びアンカルチャード・バクテリウムＳＳｍＣＢ０８－６２（１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子はアクセッション番号ＡＢ１７６２２３として登録済；その１６Ｓ ｒＲＮ

Ａ遺伝子の塩基配列を配列番号１３で示す）であり、ＨＦＬ－１３株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対する塩基配列同一性は、それぞれ９５．９％、９５．５％、９５．２％、及び９４．７％であった（表４）。

なお、前記「アンカルチャード」とは、「培養した細菌に由来するものではない」との意味であり、細菌としては分離されておらず、メタゲノム解析等によって塩基配列が知られているに過ぎない。

[0047] [表2]

表２ ＨＦＬ－１株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列と、既知細菌種の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列との塩基配列同一性

細菌種	系統情報	配列番号(アクセッション番号)	同一性(%)
SSmCB08-70	uncultured bacterium	配列番号９（AB176231）	94.8
clone236	uncultured delta proteobacterium	配列番号１０（EF188429）	94.4
SSmCB08-8	uncultured bacterium	配列番号１１（AB176175）	94.1
A3.12	Peredibacter starrii	配列番号１２（CP139487）	93.6
SSmCB08-62	uncultured bacterium	配列番号１３（AB176223）	93.5

[0048] [表3]

表３ ＨＦＬ－１０株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列と、既知細菌種の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列との塩基配列同一性

細菌種	系統情報	配列番号(アクセッション番号)	同一性(%)
SSmCB08-70	uncultured bacterium	配列番号９（AB176231）	94.7
cloneE18	uncultured bacterium	配列番号１４（HG917723）	94.5
clone236	uncultured delta proteobacterium	配列番号１０（EF188429）	94.3
SSmCB08-8	uncultured bacterium	配列番号１１（AB176175）	94.0
A3.12	Peredibacter starrii	配列番号１２（CP139487）	93.4

[0049]

[表4]

表４　ＨＦＬ－１３株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列と、既知細菌種の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列との塩基配列同一性

細菌種	系統情報	配列番号(アクセッション番号)	同一性(%)
SSmCB08-70	uncultured bacterium	配列番号９（AB176231）	96.1
A3.12	Peredibacter starrii	配列番号１２（CP139487）	95.9
clone236	uncultured delta proteobacterium	配列番号１０（EF188429）	95.5
SSmCB08-8	uncultured bacterium	配列番号１１（AB176175）	95.2
SSmCB08-62	uncultured bacterium	配列番号１３（AB176223）	94.7

[0050]　配列番号５（ペレジバクター・スタリＡ３．１２（アクセッション番号ＡＦ０８４８５２）の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列）：

AACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGTGAAAAGGGGCAACCCTTAGTAAAGTGG
CGCACGGGTGAGTAACACGTAGGTAATCTGCCTTTCAGTGGGGAATAACTTAGGGAAACCTGAGCTAAT
GCCGCATACGTTAGTAATAAGAAAGTGGGCGCCGCAAGGGCTCATGCTGAAAGAAGGGCCTGCGGCCTA
TTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCAACGATAGGTATCCGGTCTGAGAGGATGATCGGAC
ACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATATTGCGCAATGGGGGA
AACCCTGACGCAGCAACGCCGCGTGAGTGAGGAAGGTCTTCGGATTGTAAAACTCTTTTTTTAGGGAAA
AATGATTACAGAGCTAATACCCTGTAAAGTGATGGTACCTAAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCC
AGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTGTTCGGAATCATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGG
ATCAGCAAGTCAGATGTGAAATCTCGAAGCTCAACTTCGAAACTGCGTCTGAAACTGCTAGTCTAGAAT
GTCGGAGGGGGCAGGGGAATTTCACGTGTAGGGGTAAAATCCGTAGAGATGTGAAGGAACACCGGAGGC
GAAGGCGCCTGCCTGGACGACTATTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAC
CCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAGTTATTGGGGGTATTGACTCCTTCAGTGACGCAGCT
AACGCATTAAGTATTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTAAAACTCAAACAAATTGACGGGGGCCC
GCACAAGCGGTGGATTATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCTAGGCTTGAACTCCTA
CGAACCCGTTGTAATGGACGGGGTGCCCGCAAGGGAATGTAGTGAGAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAG
CTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCTCGCAACGAGCGCAACCCCTATCGTCTGTTGCCAGCATTAA
GTTGGGCACTCTGACGAGACTGCCTGGGTTAACCAGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGG

CCCTTATGTCTAGGGCTACACACGTAATACAATGGCGCGTACAGAGGGAAGCGAACTCGCAAGGGGGAG
CAAATCTCAAAAAGCGCGCCTCAGTTCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTTGGAATCGCT
AGTAATCGGAGATCAGCACGCTCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCAT
GGGAGT

[0051] 配列番号６（ＨＦＬ－１株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列）：

ACTCCCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGGAGCGTGCTGATCTCCG
ATTACTAGCGATTCCAACTTCATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGGACTGAGACGCGCTTTTTGA
GATTTGCTCCCCCTCGCGAGTTCGCTTCCCTCTGTACGCGCCATTGTATTACGTGTGTAGCCCTAGACA
TAAGGGCCATGAGGACTTGACGTCATCCCTACCTTCCTCCTGGTTAACCCAGGCAGTCTCGTCAGAGTG
CCCAACTTAATGCTGGCAACAGACGATAGGGGTTGCGCTCGTTGCGAGACTTAACCCAACATTTCACAA
CACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTCTCACTACATTTCCTTGCGGACACTCCAGGCATTACCCCG
GATTCGTAGGAGTTCAAGCCTAGGTAAGGTTCTGCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATAATCCACCGC
TTGTGCGGGCCCCCGTCAATTTGTTTGAGTTTTAGTCTTGCGACCGTACTTCCCAGGCGGAGCACTTAA
TGCGTTAGCTGCGTCACTGGAGGAGTCAATACCTCCAATAACTAGTGCTCATCGTTTACGGCGTGGACT
ACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAATGATCATCCAGGTAGGC
GCCTTCGCCTCCGGTGTTCCTTCACATCTCTACGGATTTTACCCCTACACGTGAAATTCCCCTACCCCC
TCTGATATTCTAGACTAGTAGTTTCAGGCGCAGTTTCGAAGTTGAGCTTCGAGATTTCACACCTGACTT
ACTGATCCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAAATCCGAACAACGCTTGGACCCTTCGTATTACCGCG
GCTGCTGGCACGAAGTTAGCCGGTCCTTTCTCCTTAGATACCATCACTTCCAAGAGATATTAGCTCCTG
AATCATTTTTCTCTAAGAACAGAGTTTTACAATCCGAAGACCTTCCTCACTCACGCGGCGTTGCTGCGT
CAGGGTTTCCCCCATTGCGCAATATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTT
CCAGTGTGTCCGATCATCCTCTCAGACCGGATACCTATCGTTGCCTTGGTAGGCCATTACCCCACCAAC
TAGCTAATAGGCCGCAGGCTCTTCTTTTAGCGATAGCTTATAAATAGAGGCCATCTTTGTAATCTCTTA
CACATGCGGCATTAGCACAAATTTCTCTGTGTTATTCCCCACTAAAAGGCAGATACCTACGTGTTACTC
ACCCGTGCGCCACTTTACTCATCCCGAAGGACTTTCACGTTCGACTTGCATGTATTAGGCACGCCGCCA
GCGTTCGTTCTGAG

[0052] 配列番号７（ＨＦＬ－１０株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列）：

TAGACGCTCTCCTCCTTGCGGTTAGAGTCACGTCTTAAAATGAAAACAACTCCCATGGTGTGACGGGCG

GTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGGAGCGTGCTGATCTCCGATTACTAGCGATTCCAACTTC
ATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGGACTGAGACGCGCTTTTTGAGATTTGCTCCCCCTCGCGAGT
TCGCTTCCCTCTGTACGCGCCATTGTATTACGTGTGTAGCCCTAGACATAAGGGCCATGAGGACTTGAC
GTCATCCCTACCTTCCTCCTGGTTAACCCAGGCAGTCTCGTCAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACA
GACGATAGGGGTTGCGCTCGTTGCGAGACTTAACCCAACATTTCACAACACGAGCTGACGACAGCCATG
CAGCACCTCTCACTACATTTCCTTGCGGACACTCCAGGCATTACCCCGGATTCGTAGGAGTTCAAGCCT
AGGTAAGGTTCTGCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATAATCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATT
TGTTTGAGTTTTAGTCTTGCGACCGTACTTCCCAGGCGGAGCACTTAATGCGTTAGCTGCGTCACTGGA
GGAGTCAATACCTCCAATAACTAGTGCTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT
TGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAATGATCATCCAGGTAGGCGCCTTCGCCTCCGGTGTTCCT
TCACATCTCTACGGATTTTACCCCTACACGTGAAATTCCCCTACCCCCTCTGATATTCTAGACTAGTAG
TTTCAGGCGCAGTTTCGAAGTTGAGCTTCGAGATTTCACACCTGACTTACTGATCCGCCTGCGCGCGCT
TTACGCCCAATAAATCCGAACAACGCTTGGACCCTTCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACCTAAGTTAGC
CGGTCCTTTCTCCTTAGATACCATCACTTCCAAGAGATATTAGCTCCTGAATCATTTTTCTCTAAGAAC
AGAGTTTTACAATCCGAAGACCTTCCTCACTCACGCGGCGTTGCTGCGTCAGGGTTTCCCCCATTGCGC
AATATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCCAGTGTGTCCGATCATCCT
CTCAGACCGGATACCTATCGTTGCCTTGGTAGGCCATTACCCCACCAACTAGCTAATAGGCCGCAGGCT
CTTCTTTTAGCGATAGCTTATAAATAGAGGCCATCTTTGTAATCTCTTACACATGCGGCATTAGCACAA
ATTTCTCTGTGGTATTCCCCACTAAAAGGCAGATACCTACGTGTTACTCACCCGTGCGCCACTTTACTC
ATCCCGAAGGACTTTCACGTTCGACTTGCATGTATTAGGCAC

[0053] 配列番号８（ＨＦＬ－１３株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列）：

ACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGGAGCGTGCTGATCTCCGATTACTAGCGATTC
CAACTTCATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGAACTGAGGCGCGCTTTTTGAGATTTGCTCCCCCT
TGCGAGTTCGCTTCCCTCTGTACGCGCCATTGTATTACGTGTGTAGCCCTAGACATAAGGGCCATGAGG
ACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCTGGTTAACCCAGGCAGTCTCGTCAGAGTGCCCAACTTAATGCT
GGCAACAGACGATAGGGGTTGCGCTCGTTGCGAGACTTAACCCAACATTTCACAACACGAGCTGACGAC
AGCCATGCAGCACCTCTCACTTCATTTCCTTGCGGACACTCCAGGCATTACCCCGGATTCGAAGGAGTT
CAAGCCTAGGTAAGGTTCTGCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATAATCCACCGCTTGTGCGGGCCCCC

GTCAATTTGTTTGAGTTTTAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAACACTTAATGCGTTAGCTGCGT
CACTGAAGGAGTCAATACCTCCAATAACTAGTGTTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAA
TCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAATAGTCGTCCAGGCAGGCGCCTTCGCCTCCGG
TGTTCCTTCACATCTCTACGGATTTTACCCCTACACGTGAAATTCCCCTGCCCCCTCCGACATTCTAGA
CTAGTAGTTTCAGGCGCAGTTTCGGAGTTGAGCTCCGAGATTTCACACCTGACTTACTGATCCGCCTGC
GCGCGCTTTACGCCCAATGATTCCGAACAACGCTTGCACCCTTCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGAA
GTTAGCCGGTGCTTATTCCTTTGGTACCATCACTTACTACGGGTATTAACCGTAATATCATTTTTCCCA
AATAAAAGAGTTTTACAATCCGAAGACCTTCCTCACTCACGCGGCGTTGCTGCGTCAGGGTTTCCCCCA
TTGCGCAATATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCCAGTGTGTCCGAT
CATCCTCTCAGACCGGATACCTATCGTTGCCTTGGTAGTCCATTACACCACCAACTAGCTAATAGGCCG
CAGGCTCTTCTTTCAGCATGAGCCCTTGCGGCGCCCACTTTCTAATTACTTACTTATGCGGCATTAGCA
CAACTTTCGCTGTGTTATTCCCCACTAAAAGGCAGATGACCTACGTGTTACTCACCCGTGCGCCACTTT
ACTCATCCCGAAGGACTTTCACGTTCGACTTGCATGTATTAGGCACGCCGCCAGCGTTCGTTCTGAG

[0054] 配列番号９（アンカルチャード・バクテリウムＳＳｍＣＢ０８－７０（アクセッション番号ＡＢ１７６２３１）の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列）：

AGTTTGATCCTGGCTCAGAACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGTGAAAGTACT
TCGGTATGAGTAAAGTGGCGCACGGGTGAGTAACACGTAGGTAATCTGCCTTATAGTGGGGAACAACTT
AGGGAAACCTGAGCTAATACCGCATACGGAAGAAATTCGAAAGGAGGCGTCCGCAAGGAGCTTTCGCTG
TAAGAAGAGCCTGCGTCCTATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCTACGATAGGTATCCG
GTCTGAGAGGATGATCGGACACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGG
GAATATTGCGCAATGGGGGAAACCCTGACGCAGCAACGCCGCGTGAGTGAGGAAGGTCTTCGGATTGTA
AAACTCTTTTCTTAGGGAAAAATGGTTACGGAGCTAATACCCCGTAGTTTGATGGTACCTAAGGAATAA
GCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTGTTCGGAATCATTGGG
CGTAAAGCGCGCGCAGGCGGATTGATAAGTCAGGTGTGAAATCTCGAAGCTCAACTTCGAAACTGCGCC
TGAAACTATTAGTCTAGAATGTCGGAGGGGGCAGGGGAATTTCACGTGTAGGGGTAAAATCCGTAGAGA
TGTGAAGGAACACCGGAGGCGAAGGCGCCTGCCTGGACGACTATTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGG
GAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGCACTAGTTATTGGAGGTATTG

ACTCCTTCAGTGACGCAGCTAACGCATTAAGTGCTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTAAAACTC
AAACCAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGATTATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCT
TACCTAGGCTTGAACTCCTCCGAATCCGGGGTAATGCCTGGAGTGTCCGCAAGGAAATGGAGTGAGAGG
TGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCTCGCAACGAGCGCAACCCCTA
TCGTCTGTTGCCAGCATTAAGTTGGGCACTCTGACGAGACTGCCTGGGTTAACCAGGAGGAAGGTGGGG
ATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTATGTCTAGGGCTACACACGTAATACAATGGCGCGTACAAAGGGA
AGCGAACTCGCGAGGGGGAGCAAATCTCAAAAAGCGCGCCTCAGTTCGGATTGGAGTCTGCAACTCGAC
TCCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGGAGATCAGCACGCTCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTA
CACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGTTTTCATTTTAAGACGTGACTCTAACCGCAAGGAGGAGAGC
GTCTACAGTGGGAGCGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACC

[0055] 配列番号１０（アンカルチャード・デルタ・プロテオバクテリウムｃｌｏｎｅ２３６（アクセッション番号ＥＦ１８８４２９）の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列）：

ATCGCCCTTAGAGTTCGATCCTGGCTCAGAACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAAC
GTGAAAAGGGGCAACCCTTAGTAAAGTGGCGCACGGGTGAGTAACACGTAGGTAATCTGCCTTTTAGTG
GGGAATAACTTAGGGAAACCTGAGCTAATGCCGCATAAGTAAGTAATTAGAAAGGTGGCGTCCGCAAGG
AGCTACCGCTGAAAGAAGAGCCTGCGGCCTATTAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCAACG
ATAGGTATCCGGTCTGAGAGGATGATCGGACACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAG
GCAGCAGTAGGGAATATTGCGCAATGGGGGAAACCCTGACGCAGCAACGCCGCGTGAGTGAGGAAGGTC
TTCGGATTGTAAAACTCTTTTGTTAGGGAAAAATGGACCAGTAACTAATAGCGCTGGTTTTGATGGTAC
CTAAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTGTTCG
GAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGATCAGCAAGTCAGATGTGAAATCTCGAAGCTCAACTTC
GAAACTGCGTCTGAAACTGCTAGTCTAGAATGTCGGAGGGGGCAGGGGAATTTCACGTGTAGGGGTAAA
ATCCGTAGAGATGTGAAGGAACACCGGAGGCGAAGGCGCCTGCCTGGACGACTATTGACGCTGAGGCGC
GAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGAACTAGTTAT
TGGGGGTATTGACTCCCTCAGTGACGCAGCTAACGCATTAAGTTCTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAA
GACTAAAACTCAAACAAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGATTATGTGGTTTAATTCGAAGCAAC
GCGCAGAACCTTACCTAGGCTTGAACTCCTACGAATCCGGGGTAATGCCTGGAGTGTCCGCAAGGAAAT

GTAGTGAGAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCTCGCAACGAG
CGCAACCCCTATCGTCTGTTGCCAGCATTAAGTTGGGCACTCTGGCGAGACTGCCTGGGTTAACCAGGA
GGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTATGTCTAGGGCTACACACGTAATACAATGGCGC
GTACAGAGGGAAGCGAACTCGCAAGGGGGAGCAAATCTCAAAAAGCGCGCCTCAGTTCGGATTGGAGTC
TGCAACTCGACTCCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGGAGATCAGCACGCTCCGGTGAATACGTTCC
CGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGTTTTCATTTTAAGACGTGACTCTAACCGCA
AGGAGGAGAGCGTCTACAGTGGGAGCGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACC
TGCGGCTGGATCACCTCC

[0056] 配列番号１１（アンカルチャード・バクテリウムＳＳｍＣＢ０８－８（アクセッション番号ＡＢ１７６１７５）の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列）：

AGTTTGATCCTGGCTCAGAACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGTGAAAGTACT
TCGGTATGAGTAAAGTGGCGCACGGGTGAGTAACACGTAGGTAATCTGCCTTATAGTGGGGAACAACTT
AGGGAAACCTGAGCTAATACCGCATACGGAAGAAATTCGAAAGGAGGCGTCCGCAAGGAGCTTTCGCTG
TAAGAAGAGCCTGCGTCCTATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCTACGATAGGTATCCG
GTCTGAGAGGATGATCGGACACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGG
GAATATTGCGCAATGGGGGAAACCCTGACGCAGCAACGCCGCGTGAGTGAGGAAGGTCTTCGGATTGTA
AAACTCTTTTCTTAGGGAAAAATGGTTACCGGGAGCTAATACCCCCGTAGTTTGATGGGTACCTAAGGG
AATAAGGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTGTTCGGAATC
ATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGATTGATAAGTCAGGTGTGAAATCTCGAAGCTCAACTTCGAAAC
TGCGCCTGAAACTATTAGTCTAGAATGTCGGAGGGGGCAGGGGAATTTCACGTGTAGGGGTAAAATCCG
TAGAGATGTGAAGGAACACCGGAGGCGAAGGCGCCTGCCTGGACGACTATTGACGCTGAGGCGCGAAAG
CGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGCACTAGTTATTGGAG
GTATTGACTCCTTCAGTGACGCAGCTAACGCATTAAGTGCTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTA
AAACTCAAACAAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGATTATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCA
GAACCTTACCTAGGCTTGAACTCCTCCGAATCCGGGTTAATGCCTGGAGTGATCCGCAAGGAAATGGAT
TTCGCGTTGCTGCGATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCTCGCAACGAGCGC
AACCCCTATCGTCTGTTGCCAGCATTAAGTTGGGCACTCTGACGAGACTGCCTGGGTTAACCAGGAGGA

AGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTATGTCTAGGGCTACACACGTAATACAATGGCGCGTA
CAAAGGGAAGCGAACTCGCGAGGGGGAGCAAATCTCAAAAAGCGCGCCTCAGTTCGGATTGGAGTCTGC
AACTCGACTCCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGGAGATCAGCACGCTCCGGTGAATACGTTCCCGG
GCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGTTTTCATTTTAAGACGTGACTCTAACCGCAAGG
AGGAGAGCGTCTACAGTGGGAGCGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACC

[0057] 配列番号１２（ペレジバクター・スタリＡ３．１２（アクセッション番号ＣＰ１３９４８７）の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列）：

CTCAGAACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGTGAAAAGGGGCAACCCTTAGTAA
AGTGGCGCACGGGTGAGTAACACGTAGGTAATCTGCCTTTCAGTGGGGAATAACTTAGGGAAACCTGAG
CTAATGCCGCATACGTTAGTAATAAGAAAGTGGGCGCCGCAAGGGCTCATGCTGAAAGAAGGGCCTGCG
GCCTATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCAACGATAGGTATCCGGTCTGAGAGGATGAT
CGGACACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATATTGCGCAATG
GGGGAAACCCTGACGCAGCAACGCCGCGTGAGTGAGGAAGGTCTTCGGATTGTAAAACTCTTTTTTTAG
GGAAAAATGATTACAGAGCTAATACCCTGTAAAGTGATGGTACCTAAAGAATAAGCACCGGCTAACTTC
GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTGTTCGGAATCATTGGGCGTAAAGCGCGCGCA
GGCGGATCAGCAAGTCAGATGTGAAATCTCGAAGCTCAACTTCGAAACTGCGTCTGAAACTGCTAGTCT
AGAATGTCGGAGGGGGCAGGGGAATTTCACGTGTAGGGGTAAAATCCGTAGAGATGTGAAGGAACACCG
GAGGCGAAGGCGCCTGCCTGGACGACTATTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTA
GATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAGTTATTGGGGGTATTGACTCCTTCAGTGACG
CAGCTAACGCATTAAGTATTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTAAAACTCAAACAAATTGACGGG
GGCCCGCACAAGCGGTGGATTATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCTAGGCTTGAAC
TCCTACGAACCCGTTGTAATGGACGGGGTGCCCGCAAGGGAATGTAGTGAGAGGTGCTGCATGGCTGTC
GTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCTCGCAACGAGCGCAACCCCTATCGTCTGTTGCCAGC
ATTAAGTTGGGCACTCTGACGAGACTGCCTGGGTTAACCAGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCT
CATGGCCCTTATGTCTAGGGCTACACACGTAATACAATGGCGCGTACAGAGGGAAGCGAACTCGCAAGG
GGGAGCAAATCTCAAAAAGCGCGCCTCAGTTCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTTGGAA
TCGCTAGTAATCGGAGATCAGCACGCTCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAC
ACCATGGGAGT

[0058] 配列番号１３（アンカルチャード・バクテリウムＳＳｍＣＢ０８－６２（アクセッション番号ＡＢ１７６２２３）の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列）：

AGTTTGATCCTGGCTCAGAACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGTGAAAGTACT
TCGGTATGAGTAAAGTGGCGCACGGGTGAGTAACACGTAGGTAATCTGCCTTATAGTGGGGAACAACTT
AGGGAAACCTGAGCTAATACCGCATACGGAAGAAATTCGAAAGGAGGCGTCCGCAAGGAGCTTTCGCTG
TAAGAAGAGCCTGCGTCCTATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCTACGATAGGTATCCG
GTCTGAGAGGATGATCGGACACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGG
GAATATTGCGCAATGGGGGAAACCCTGACGCAGCAACGCCGCGTGAGTGAGGAAGGTCTTCGGATTGTA
AAACTCTTTTCTTAGGGAAAAATGGTTACGGAGCTAATACCCCGTAGTTTGATGGTACCTAAGGAATAA
GCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTGTTCGGAATCATTGGG
CGTAAAGCGCGCGCAGGCGGATTGATAAGTCAGGTGTGAAATCTCGAAGCTCAACTTCGAAACTGCGCC
TGAAACTATTAGTCTAGAATGTCGGAAGGGGGCAGGGGAATTTTCACGTGTAGGGGTAAAATCCGTAGA
GATGTGAAGGAACACCGGAGGCGAAGGCGCCTGCCTGGACGACTATTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTG
GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGCACTAGTTATTGGAGGTAT
TGACTCCTTCAGTGACGCAGCTAACGCATTAAGTGCTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTAAAAC
TCAAACAAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGATTATGTGGTTTAAACTCAAAGCAAATTGACCGC
GCAGAACCTTACCTAGGCTTGAACTCCTCCGAATCCGGGGTAATGCCTGGAGTGTCCGCAAGGAAATGG
AGTGAGAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCTCGCAACGAGCG
CAACCCCTATCGTCTGTTGCCAGCATTAAGTTGGGCACTCTGAACGAGACTGCCTTGGGTTAAACCAGG
AAGGAAGGTGGGGAATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTTATGTCTAGGGCTTACACACGTAATACAAT
GGCGCGTACAAAGGGAAGCGAACTCGCGAGGGGGGAGCAAATCTCAAAAAGCGCGCCTCAGTTCGGATT
GGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGGAAATCAGCACGCTCCGGGGAATA
CGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGTTTTCATTTTAAGACGTGACTCTA
ACCGCAAGGAGGAGAGCGTCTACAGTGGGAGCGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACC

[0059] 配列番号１４（アンカルチャード・バクテリウムｃｌｏｎｅＥ１８（アクセッション番号ＨＧ９１７７２３）の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列）：

AACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGAGAAAGTCCTTCGGGATGAGTACAGCGG

CGCACGGGTGAGTAACACGTAGGTACCTGCCCTTTAGTGGGGAACAACACCGGGAAACCGGTGCTAATA
CCGCATAAGTAGGAAACTAGAAAGATGGCCTCTATTTATAAGCTATCGCTAAAGGAAGGGCCTGCGCTG
CATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCCACGATGCATATCCGGTCTGAGAGGATGATCGG
ACACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATATTGCGCAATGGGG
GAAACCCTGACGCAGCAACGCCGCGTGAGTGAGGAAGGTCTTCGGATTGTAAAACTCTTTTCTTAGAGA
AAAATGTCCATATGGCTAATATCCATGCGGAGTGATGGTATCTAAGGAATAAGCACCGGCTAACTTCGT
GCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTGTTCGGAATCATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGG
CGGATCAGTAAGTCAGGTGTGAAATCTCGGAGCTCGACTCCGAAACTGCGCCTGAAACTACTAGTCTAG
AATGTCGGAGGGGGCAGGGGAATTTCACGTGTAGGGGTAAAATCCGTAGAGATGTGAAGGAACACCGGA
GGCGAAGGCGCCTGCCTGGACGACTATTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGA
TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGCACTAGTTATTAGGGGTATTGACTCCCTTGGTGACGCA
GCTAACGCATTAAGTGCTCCGCCTGGGAAGTACGGTCGCAAGACTAAAACTCAAACAAATTGACGGGGG
CCCGCACAAGCGGTGGATTATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCTAGGCTTGAACTC
CTCTGAATCCGGGGTAATGCCTGGAGTGTCCGCAAGGAAATAGAGTGAGAGGTGCTGCATGACTGTCGT
CAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCTCGCAACGAGCGCAACCCCTATCATCAGTTGCCAGCAT
TAAGTTGGGCACTCTGATGAGACTGCCTGGGTTAACCAGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCA
TGGCCCTTATGTCTAGGGCTACACACGTAATACAATGGCGCGTACAGAGGGAAGCGAACCAGCGATGGG
GAGCAAATCTCAAAAAGCGCGTCTCAGTCCGGATTGAAGTCTGCAACTCGACTTCATGAAGTTGGAATC
GCTAGTAATCGGAGATCAGCACGCTCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACAC
CATGGGAGTTGTTTTCATTTTAAGACGTGACTCTAACCGCAAGGAGGAGAGCGTCTACAGTGGGAGCGA
TGACTGGGGTG

[0060] 実施例３　コンセンサス配列の取得と、コンセンサス配列と近縁の既知微生物との関係

実施例２で示したように、本発明の単離した３菌株の捕食性細菌はバクテリオボラカセアエ科に属し、非常に近縁であるが、異なる細菌であることが示された。これら３菌株の関係を明らかにする目的で、それぞれの菌株が有する１６Ｓ　ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に共通する配列、すなわちコンセンサス配列の取得を試みた。

[0061] バクテリオボラカセアエ科に属するＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株及びＨＦＬ－１３株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列（それぞれ、配列番号６、配列番号７及び配列番号８）について、マルチプルアライメントツール（SnapGene（登録商標）、ver.5.3.3、GSL Biotech LLC）を用いて、上記３つの１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列すべてに共通する塩基配列のみを抽出した。前記３菌株において同一でない塩基配列及びギャップ配列はＮとし、両端のＮは削除した。得られた塩基配列を、以下、「１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子のコンセンサス塩基配列」と呼ぶ。１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子のコンセンサス塩基配列は、１３６１塩基長で、１２８９個の固有の塩基と任意の塩基を許容する７２個のＮとから構成されていた（配列番号１５）。

[0062] 配列番号１５（３株の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子のコンセンサス塩基配列）：

ACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGGAGCGTGCTGATCTCCGATTACTAGCGATTC
CAACTTCATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGNACTGAGNCGCGCTTTTTGAGATTTGCTCCCCCT
NGCGAGTTCGCTTCCCTCTGTACGCGCCATTGTATTACGTGTGTAGCCCTAGACATAAGGGCCATGAGG
ACTTGACGTCATCCCNACCTTCCTCCTGGTTAACCCAGGCAGTCTCGTCAGAGTGCCCAACTTAATGCT
GGCAACAGACGATAGGGGTTGCGCTCGTTGCGAGACTTAACCCAACATTTCACAACACGAGCTGACGAC
AGCCATGCAGCACCTCTCACTNCATTTCCTTGCGGACACTCCAGGCATTACCCCGGATTCGNAGGAGTT
CAAGCCTAGGTAAGGTTCTGCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATAATCCACCGCTTGTGCGGGCCCCC
GTCAATTTGTTTGAGTTTTAGTCTTGCGACCGTACTNCCCAGGCGGANCACTTAATGCGTTAGCTGCGT
CACTGNAGGAGTCAATACCTCCAATAACTAGTGNTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAA
TCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAATNNTCNTCCAGGNAGGCGCCTTCGCCTCCGG
TGTTCCTTCACATCTCTACGGATTTTACCCCTACACGTGAAATTCCCCTNCCCCCTCNGANATTCTAGA
CTAGTAGTTTCAGGCGCAGTTTCGNAGTTGAGCTNCGAGATTTCACACCTGACTTACTGATCCGCCTGC
GCGCGCTTTACGCCCAATNANTCCGAACAACGCTTGNACCCTTCGTATTACCGCGGCTGCTGGCANCNA
AGTTAGCCGGTNCTTNNTCCTTNGNTACCATCACTTNCNANNGNTATTANCNNNNNNATCATTTTTCNC
NAANAANAGAGTTTTACAATCCGAAGACCTTCCTCACTCACGCGGCGTTGCTGCGTCAGGGTTTCCCCC
ATTGCGCAATATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCCAGTGTGTCCGA
TCATCCTCTCAGACCGGATACCTATCGTTGCCTTGGTAGNCCATTACNCCACCAACTAGCTAATAGGCC

GCAGGCTCTTCTTTNAGCNNNAGCNNNTNNNNNGNNGCCNNCTTTNTAATNNCTTACNNATGCGGCATT
AGCACAANTTTCNCTGTGNTATTCCCCACTAAAAGGCAGATNACCTACGTGTTACTCACCCGTGCGCCA
CTTTACTCATCCCGAAGGACTTTCACGTTCGACTTGCATGTATTAGGCAC

[0063] 次に、得られた１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子のコンセンサス塩基配列を問い合わせ配列とし、実施例２と同様にして、ＢＬＡＳＴ（Basic Local Alignment Search Tool）プログラムを用いてデータベース上の全塩基配列に対し同一性解析を行った。得られた結果をＱｕｅｒｙ ｃｏｖｅｒ（結果配列が問い合わせ配列をカバーする割合（％））によって数値の高い順にソートを行い、結果配列が問い合わせ配列より長い、すなわち、Ｑｕｅｒｙ ｃｏｖｅｒが１００％の結果配列のうち、Ｉｄｅｎｔｉｔｙ（同一性）の数値の高い順に５菌株の結果を取得した。ここで、通常のＢＬＡＳＴ検索のアルゴリズムでは、問い合わせ配列中のＮは、任意の塩基を許容するので、結果配列中の該当する位置にＡ、Ｔ、Ｃ、Ｇのいずれかの塩基が存在した場合、同一と判断すべきところ、Ｎは異なる塩基とみなされて結果が出力される。そのため、見た目の同一性を表す数字はより低くなる。そこで、Ｎの場合は、Ａ、Ｔ、Ｃ、Ｇのどの塩基であっても一致であるとするように補正を行った。その結果を表５に示す。１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子コンセンサス塩基配列に最も同一性の高い１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子を有する近縁の既知微生物は、アンカルチャード・バクテリウム（uncultured bacterium）ＳＳｍＣＢ０８－７０（１６ＳｒＲＮＡ遺伝子はアクセッション番号ＡＢ１７６２３１として登録済）であり、当該ＳＳｍＣＢ０８－７０の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列（配列番号９）は、１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子コンセンサス塩基配列に対してそれぞれ９７．９％の塩基配列同一性を有することが判明した。また、ＨＦＬ－１株に２番目、３番目、４番目、及び５番目に近縁の既知微生物は、それぞれ、アンカルチャード・デルタ・プロテオバクテリウム（uncultured delta proteobacterium）ｃｌｏｎｅＣＫ０６－０６＿Ｍｕｄ＿ＭＡＳ４Ｂ－３１ｎ（１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子はアクセッション番号ＡＢ３６９１８９として登録済；１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列を配列番号１６で示す）、アンカルチャード・

バクテリウムｃｌｏｎｅ２３６（配列番号１０）、ＳＳｍＣＢ０８－８（配列番号１１）、ペレジバクター・スタリＡ３．１２（配列番号１２）であり、１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子のコンセンサス塩基配列に対する塩基配列同一性は、それぞれ９７．９％、９７．５％、９７．１％、及び９７．０％であった（表５）。

[0064] [表5]

表５ １６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子コンセンサス塩基配列と、既知細菌種の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列との塩基配列同一性

細菌種	系統情報	配列番号(アクセッション番号)	同一性(%)
SSmCB08-70	uncultured bacterium	配列番号９（AB176231）	97.9
CK06-06_Mud_MAS4B-31	Uncultured bacterium	配列番号１６（AB369189）	97.9
clone236	uncultured delta proteobacterium	配列番号１０（EF188429）	97.5
SSmCB08-8	uncultured bacterium	配列番号１１（AB176175）	97.1
A3.12	Peredibacter starrii	配列番号１２（CP139487）	97.0

[0065] 配列番号１６（アンカルチャード・デルタ・プロテオバクテリウムｃｌｏｎｅＣＫ０６－０６＿Ｍｕｄ＿ＭＡＳ４Ｂ－３１（アクセッション番号ＡＢ３６９１８９）の１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列）：

AACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGTGAAAGTCCTTCGGGATGAGTAAAGTGG
C
GCACGGGTGAGTAACACGTAGGTAATCTGCCTTTCAGTGGGGAATAACTTCGGGAAACCGGAGCTAATG
C
CGCATACGTAAGTAATTAGAAAGAAGGCCTCTATTTATAAGCTTTCGCTGAGAGAAGAGCCTGCGTCCT
A
TTAGCTAGTTGGTAGGGTAAAAGCCTACCAAGGCAACGATAGGTATCCGGTCTGAGAGGATGATCGGAC
A
CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATATTGCGCAATGGGGGAA
A

CCCTGACGCAGCAACGCCGCGTGAGTGAGGAAGGTCTTAGGATTGTAAAACTCTTTTATTTGGGAAAAA
T
GACCATATGGCTAATATCCATGTGGAGTGATGGTACCAAAGGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAG
C
AGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTGTTCGGAATCATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGATC
A
GCAAGTCAGATGTGAAATCTCGAAGCTCAACTTCGAAACTGCGTCTGAAACTGCTAGTCTAGAATGTCG
G
AGGGGGCAGGGGAATTTCACGTGTAGGGGTAAAATCCGTAGAGATGTGAAGGAACACCGGAGGCGAAGG
C
GCCTGCCTGGACGACTATTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGT
A
GTCCACGCCGTAAACGATGAGCACTAGTTATTGGGGGTATTGACTCCCTCAGTGACGCAGCTAACGCAT
T
AAGTGCTCCGCCTGGGAAGTACGGTCGCAAGACTAAAACTCAAACAAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
G
GTGGACTATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCTAGGCTTGAACTCCTACGAATCCGG
G
GTAATGCCTGGAGTGTCCGCAAGGAAATGTAGTGAGAGGTGCTGCAAGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGT
G
AAATGTTGGGTTAAGTCTCGCAACGAGCGCAACCCCTATCGTCTGTTGCCAGCATTAAGTTGGGCACTC
T
GACGAGACTGCCTGGGTTAACCAGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTATGTCTA
G
GGCTACACACGTAATACAATGGCGCGTACAGAGGGAAGCGAACCAGCGATGGGGAGCAAATCTCAAAAA
G
CGCGCCTCAGTTCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGGAGATC
A

GCACGCTCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGCTGCAA
A

AGAAGTGGGTAGTTTAACCTTCGGGAGGACGCTCACCACTTTGTGGTTCATGACTGGGGTG

[0066] 実施例４　捕食性細菌の培養

ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株を、フラボバクテリウム・エスピーＧＳＢ－２４株と共に緩衝液中で２００ｒｐｍ、２８℃で培養することにより増殖させた後、０．４５μｍ孔径のフィルターで濾過してＧＳＢ－２４株を除いたものをＨＦＬ－１株接種液（約２．８×１０^{7}　ＰＦＵ／ｍｌ）、ＨＦＬ－１０株接種液（約３．３×１０^{7}　ＰＦＵ／ｍｌ）、及びＨＦＬ－１３株接種液（約２．２×１０^{7}　ＰＦＵ／ｍｌ）として使用した。ＧＳＢ－２４株は、ＰＳ-ＤＲ２Ａ培地を用いてセッコク根の体内から獲得した（Nishioka, T and Tamaki, H. (2022), Microbiology Spectrum, 10(6), e02238-22 ; Nishioka et al. (2023), Microbiology Resource Announcements, 12(3), e01343-22.）。

[0067] 実施例５　捕食範囲の検証

ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株の捕食範囲の検証を、１３種の検定細菌：キチノファーガ・ジャポネンシス（Chitinophaga japonensis）ＮＢＲＣ１６０４１株、フレキシバクター・エスピー（Flexibacter sp.）ＧＳＣ－２３株、フラボバクテリウム・ペクチノボラム（Flavobacterium pectinovorum）ＮＢＲＣ１５９４５株、フラボバクテリウム・エスピーＧＳＢ－２４株、ペドバクター・アフリカヌス（Pedobacter africanus）ＮＢＲＣ１００００６５株、カウロバクター・セグニス（Caulobacter segnis）ＮＢＲＣ１５２５０株、スフィンゴモナス・ハービシドボランス（Sphingomonas herbicidovorans）ＮＢＲＣ１６４１５株、リゾビウム・ラジオバクター（Rhizobium radiobacter）ＮＢＲＣ１５１９３株、パラバークホルデリア・カレドニア（Paraburkholderia caledonica）ＮＢＲＣ１０２４８８株、ペクトバクテリウム・カロトボラム・サブエスピー・カロトボラム（Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum）ＮＢＲＣ１０３１３３株、シュード

モナス・シトロネロリス（Pseudomonas citronellolis）ＮＢＲＣ１０３０４３株、ロドコッカス・エリスロポリス（Rhodococcus erythropolis）ＮＢＲＣ１５５６７株、バチルス・サブチリス・サブエスピー・サブチリス（Bacillus subtilis subsp. subtilis）ＮＢＲＣ１３７１９株を用いて以下の液体培養法により行った。緩衝液（２５ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．４、６ｍＭ　$CaCl_2 \cdot 2H_2O$、４ｍＭ　$MgCl_2 \cdot 7H_2O$）に６００ｎｍ吸光度（OD_{600}）が０．８～１．２になるように各検定細菌株を懸濁した溶液４．７５ｍｌに、ＨＦＬ－１株接種液、ＨＦＬ－１０株接種液、ＨＦＬ－１３株接種液、又は捕食性細菌未処理の緩衝液（コントロール）０．２５ｍｌを混合した後、２００ｒｐｍ、２８℃で培養した。２４時間培養後、各接種株及びコントロールの６００ｎｍ吸光度を測定した。なお，本実験は３回繰り返した。ＧＳＣ－２３株は、ＧＧ-ＤＴＳ培地を用いてセッコク根の体内から獲得した（Nishioka, T and Tamaki, H. (2022), Microbiology Spectrum, 10(6), e02238-22）。ＮＢＲＣ１６０４１株、ＮＢＲＣ１０００６５株、ＮＢＲＣ１５２５０株、ＮＢＲＣ１６４１５株、ＮＢＲＣ１５１９３株、ＮＢＲＣ１０２４８８株、ＮＢＲＣ１０３１３３株、ＮＢＲＣ１０３０４３株、ＮＢＲＣ１５５６７株、及びＮＢＲＣ１３７１９株については、ＮＩＴＥバイオテクノロジーセンター（ＮＢＲＣ）から入手した。

[0068] 検定細菌株の生育阻害効果を以下の３段階のグレードで評価した：

〇：本発明の菌株による処理後の検定細菌の吸光度が、捕食性細菌未処理の検定細菌の吸光度の７０％未満；

△：本発明の菌株による処理後の検定細菌の吸光度が、捕食性細菌未処理後の検定細菌の吸光度の７０％～９０％；

×：本発明の菌株による処理後の検定細菌の吸光度が、捕食性細菌未処理の検定細菌の吸光度の９０％超。

検定細菌株はすべて「〇」又は「×」のいずれかに該当するグレードを示し（表２）、△に該当するグレード示すものは存在しなかった。

[0069]

[表6]

表6　HFL－1株、HFL－10株、及びHFL－13株の捕食範囲

検定細菌株						捕食活性		
株	属/種	門	綱	目	科	HFL-1株	HFL-10株	HFL-13株
NBRC16041	Chitinophaga japonensis	Bacteroidota	Chitinophagia	Chitinophagales	Chitinophagaceae	○	○	○
GSC-23	Flavitacter sp.		Cytophagia	Cytophagales	Flexibacteraceae	○	○	○
NBRC15945	Flavobacterium pectinovorum		Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	○	○	○
GSB-24	Flavobacterium sp.		Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	○	○	○
NBRC100065	Pedobacter africanus		Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	○	○	○
NBRC15230	Caulobacter segnis	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	×	×	×
NBRC16415	Sphingomonas herbicidovorans		Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	×	×	×
NBRC15183	Rhizobium radiobacter		Alphaproteobacteria	Hyphomicrobiales	Rhizobiaceae	×	×	×
NBRC102488	Pareburkholderia caledonica		Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	×	×	×
NBRC103133	Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum		Gammaproteobacteria	Enterobacterales	Pectobacteriaceae	×	×	×
NBRC103343	Pseudomonas citronellolis		Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	×	×	×
NBRC15567	Rhodococcus erythropolis	Actinomycetota	Actinomycetes	Mycobacteriales	Nocardiaceae	×	×	×
NBRC13719	Bacillus subtilis subsp. subtilis	Bacillota	Bacilli	Caryophanales	Bacillaceae	×	×	×

[0070] 表６に示すように、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株はいずれも、バクテロイドータ門のキチノファーギア（Chitinophagia）綱に属するキチノファーガ・ジャポネンシス；サイトファーギア（Cytophagia）綱に属するフレキシバクター・エスピー（Flexibacter sp.）；フラボバクテリア綱に属するフラボバクテリウム・ペクチノボラム及びフラボバクテリウム・エスピー；スフィンゴバクテリア（Sphingobacteriia）綱に属するペドバクター・アフリカヌスに対して捕食活性を示したことから、バクテロイドータ門に属する細菌を捕食する能力を有することが判明した。一方、シュードモナドータ門、アクチノマイセトータ（Actinomycetota）門及びバチロータ（Bacillota）門に属する８菌株に対しては、捕食活性を示さなかった。以上の結果から、ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株は、バクテロイドータ門に属する細菌を捕食する能力を有することが示された。特に、当該３株は、バクテロイドータ門に属する細菌を捕食する能力を有することが示された。

[0071] 実施例６　異なる水温条件におけるフラボバクテリウム属細菌に対する捕食活性の検証

ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株が３種の魚類病原性細菌：フラボバクテリウム・サイクロフィラムＮＢＲＣ１００２５０、フラボバクテリウム・カラムナレＮＢＲＣ１００２５１、フラボバクテリウム・ブランキオフィラムＮＢＲＣ１５０３0に対して捕食活性を有することを、異なる水温条件において、液体培養法によって検証した。

緩衝液（２５ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．４、６ｍＭ　$CaCl_2 \cdot 2H_2O$、４ｍＭ　$MgCl_2 \cdot 7H_2O$）に６００ｎｍ吸光度（OD_{600}）が０．８～０．９になるように各魚類病原性細菌株を懸濁した溶液４．７５ｍｌに、ＨＦＬ－１株接種液、ＨＦＬ－１０株接種液、ＨＦＬ－１３株接種液、又は緩衝液（捕食性細菌未接種のコントロール）を０．２５ｍｌ混合した後、２００ｒｐｍで撹拌しながら、３種類の水温条件（２８℃、１８℃、及び１０℃）で培養した。培養開始後２４時間毎に、各接種株及びコントロールの６

６００ｎｍ吸光度を測定した。なお、本実験は３回繰り返した。

[0072] 各菌株の上記３種の魚類病原性細菌に対する捕食活性をそれぞれ図１、図２、及び図３に示す。ＨＦＬ－１株、ＨＦＬ－１０株、及びＨＦＬ－１３株はいずれも、２８℃（各図のＡ）、１８℃（各図のＢ）、及び１０℃（各図のＣ）の各水温において、３種の魚類病原性細菌に対して高い捕食活性を示した。

産業上の利用可能性

[0073] 本発明の捕食性細菌は、バクテロイドータ門に属する魚類病原性細菌を効率的に防除して、養殖による魚類の安定供給に利用可能である。

請求の範囲

[請求項1] 魚類又は魚類生息地に存在するバクテロイドータ（Bacteroidota）門の魚類病原性細菌を防除する方法であって、前記魚類病原性細菌を捕食する捕食性細菌又はその変異体を前記魚類又は魚類生息地に施用することを特徴とする、方法。

[請求項2] 魚類又は魚類生息地に存在するバクテロイドータ（Bacteroidota）門の魚類病原性細菌に起因する魚類感染症の発生を抑制する方法であって、前記魚類病原性細菌を捕食する捕食性細菌又はその変異体を前記魚類又は魚類生息地に施用することを特徴とする、方法。

[請求項3] 前記捕食性細菌又はその変異体が、バクテリオボラカセアエ（Bacteriovoracaceae）科細菌に属する菌株又はその変異株である、請求項１又は２に記載の方法。

[請求項4] 前記捕食性細菌又はその変異体が、配列番号１５で表される１６ＳｒＲＮＡ遺伝子のコンセンサス塩基配列に対して、９７．９％超の配列同一性を有する１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子を含む、請求項１又は２に記載の方法。

[請求項5] 前記捕食性細菌又はその変異体が含む１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列が、

（ｉ）配列番号６で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、９４．８％超の配列同一性を有するか、

（ｉｉ）配列番号７で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、９４．７％超の配列同一性を有するか、又は

（ｉｉｉ）配列番号８で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、９６．１％超の配列同一性を有する、請求項１又は２に記載の方法。

[請求項6] 前記捕食性細菌又はその変異体が、バクテリオボラカセアエ科細菌ＨＦＬ－１株（寄託番号ＮＩＴＥ ＡＢＰ－０３９０６）、バクテリオボラカセアエ科細菌ＨＦＬ－１０株（寄託番号ＮＩＴＥ ＡＢＰ－

０３９０７）、バクテリオボラカセアエ科細菌ＨＦＬ－１３株（寄託番号ＮＩＴＥ ＡＢＰ－０３９０８）、又はそれらの変異株である、請求項１又は２に記載の方法。

[請求項7] 前記魚類病原性細菌が、フラボバクテリア（Flavobacteriia）綱に属する、請求項１又は２に記載の方法。

[請求項8] 前記魚類病原性細菌が、フラボバクテリアセアエ（Flavobacteriaceae）科又はウィークセラセアエ（Weeksellaceae）科に属する、請求項１又は２に記載の方法。

[請求項9] 前記魚類病原性細菌が、フラボバクテリウム（Flavobacterium）属細菌、テナシバキュラム（Tenacibaculum）属細菌、エリザベスキンギア（Elizabethkingia）属細菌、及びクリセオバクテリウム（Chryseobacterium）属細菌からなる群から選択される、請求項１又は２に記載の方法。

[請求項10] 前記フラボバクテリウム（Flavobacterium）属細菌が、フラボバクテリウム・サイクロフィラム（Flavobacterium psychrophilum）、フラボバクテリウム・カラムナレ（Flavobacterium columnare）、又はフラボバクテリウム・ブランキオフィラム（Flavobacterium branchiophilum）である、請求項９に記載の方法。

[請求項11] 前記魚類感染症が、フラボバクテリウム・サイクロフィラム（Flavobacterium psychrophilum）に起因する細菌性冷水病、フラボバクテリウム・カラムナレ（Flavobacterium columnare）に起因するカラムナリス病、又はフラボバクテリウム・ブランキオフィラム（Flavobacterium branchiophilum）に起因する細菌性鰓病である、請求項２に記載の方法。

[請求項12] 前記施用を０～３８℃の温度で行う、請求項１又は２に記載の方法。

[請求項13] バクテロイドータ（Bacteroidota）門の魚類病原性細菌を捕食する、捕食性細菌又はその変異体。

[請求項14] 前記捕食性細菌又はその変異体が、バクテリオボラカセアエ（Bacteriovoracaceae）科細菌に属する菌株又はその変異株である、請求項１３に記載の捕食性細菌又はその変異体。

[請求項15] 前記捕食性細菌又はその変異体が、配列番号１５で表される１６ＳｒＲＮＡ遺伝子のコンセンサス塩基配列に対して、９７．９％超の配列同一性を有する１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子を含む、請求項１３に記載の捕食性細菌又はその変異体。

[請求項16] 前記捕食性細菌又はその変異体が含む１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列が、

（ｉ）配列番号６で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、９４．８％超の配列同一性を有するか、

（ｉｉ）配列番号７で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、９４．７％超の配列同一性を有するか、又は

（ｉｉｉ）配列番号８で表される１６Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の塩基配列に対して、９６．１％超の配列同一性を有する、請求項１３に記載の捕食性細菌又はその変異体。

[請求項17] 前記捕食性細菌又はその変異体が、バクテリオボラカセアエ科細菌ＨＦＬ－１株（寄託番号ＮＩＴＥ ＡＢＰ－０３９０６）、バクテリオボラカセアエ科細菌ＨＦＬ－１０株（寄託番号ＮＩＴＥ ＡＢＰ－０３９０７）、バクテリオボラカセアエ科細菌ＨＦＬ－１３株（寄託番号ＮＩＴＥ ＡＢＰ－０３９０８）、又はそれらの変異株である、請求項１３に記載の捕食性細菌又はその変異体。

[請求項18] 前記魚類病原性細菌が、フラボバクテリア（Flavobacteriia）綱に属する、請求項１３に記載の捕食性細菌又はその変異体。

[請求項19] 前記魚類病原性細菌が、フラボバクテリアセアエ（Flavobacteriaceae）科又はウィークセラセアエ（Weeksellaceae）科に属する、請求項１３に記載の捕食性細菌又はその変異体。

[請求項20] 前記魚類病原性細菌が、フラボバクテリウム（Flavobacterium）属

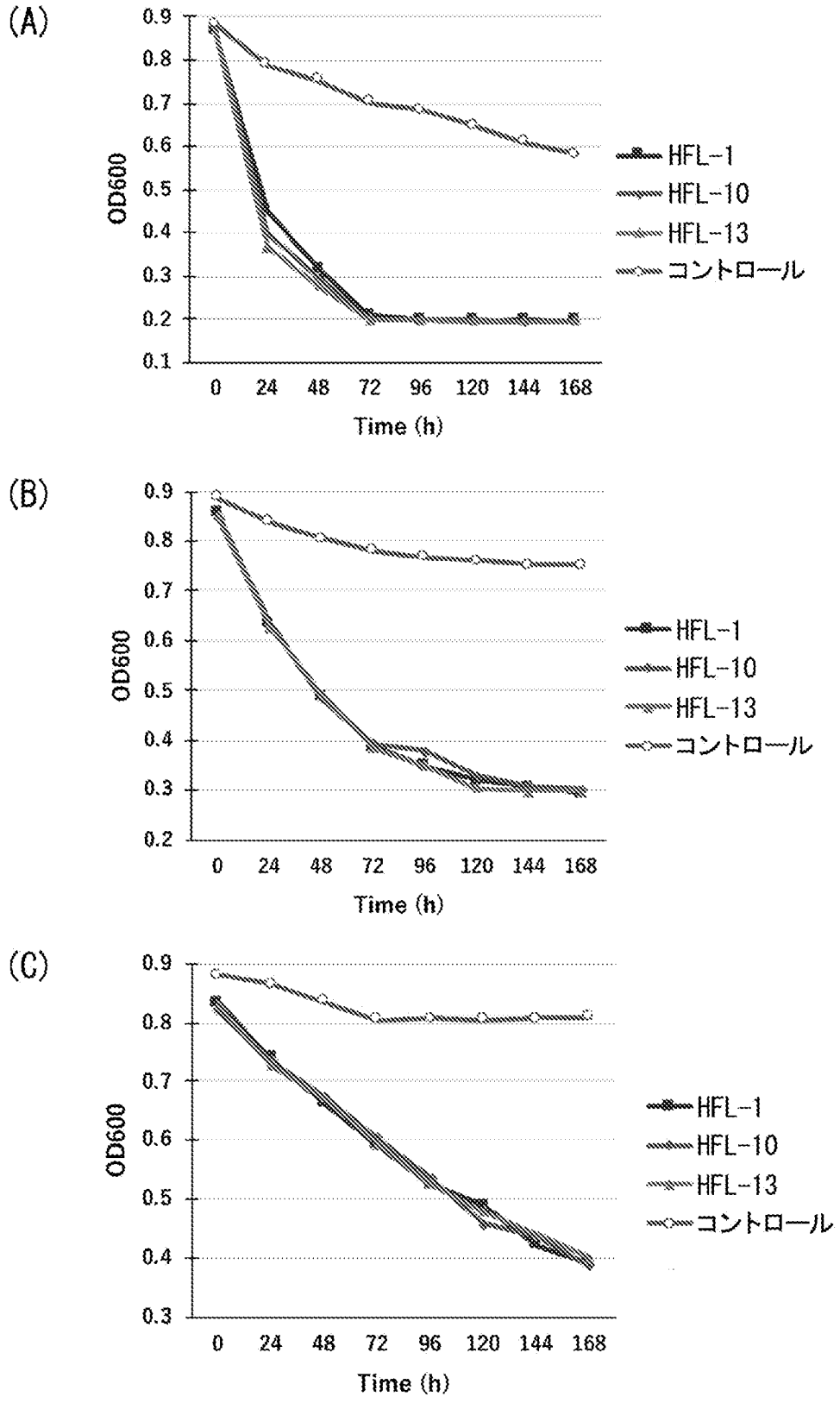
細菌、テナシバキュラム（Tenacibaculum）属細菌、エリザベスキンギア（Elizabethkingia）属細菌、及びクリセオバクテリウム（Chryseobacterium）属細菌からなる群から選択される、請求項１３に記載の捕食性細菌又はその変異体。

[請求項21] 前記フラボバクテリウム（Flavobacterium）属細菌が、フラボバクテリウム・サイクロフィラム（Flavobacterium psychrophilum）、フラボバクテリウム・カラムナレ（Flavobacterium columnare）、又はフラボバクテリウム・ブランキオフィラム（Flavobacterium branchiophilum）である、請求項２０に記載の捕食性細菌又はその変異体。

[請求項22] 請求項１３～２１のいずれか１項に記載の捕食性細菌又はその変異体を含む、バクテロイドータ（Bacteroidota）門の魚類病原性細菌を防除するための、又は前記魚類病原性細菌に起因する魚類感染症の発生を抑制するための組成物。

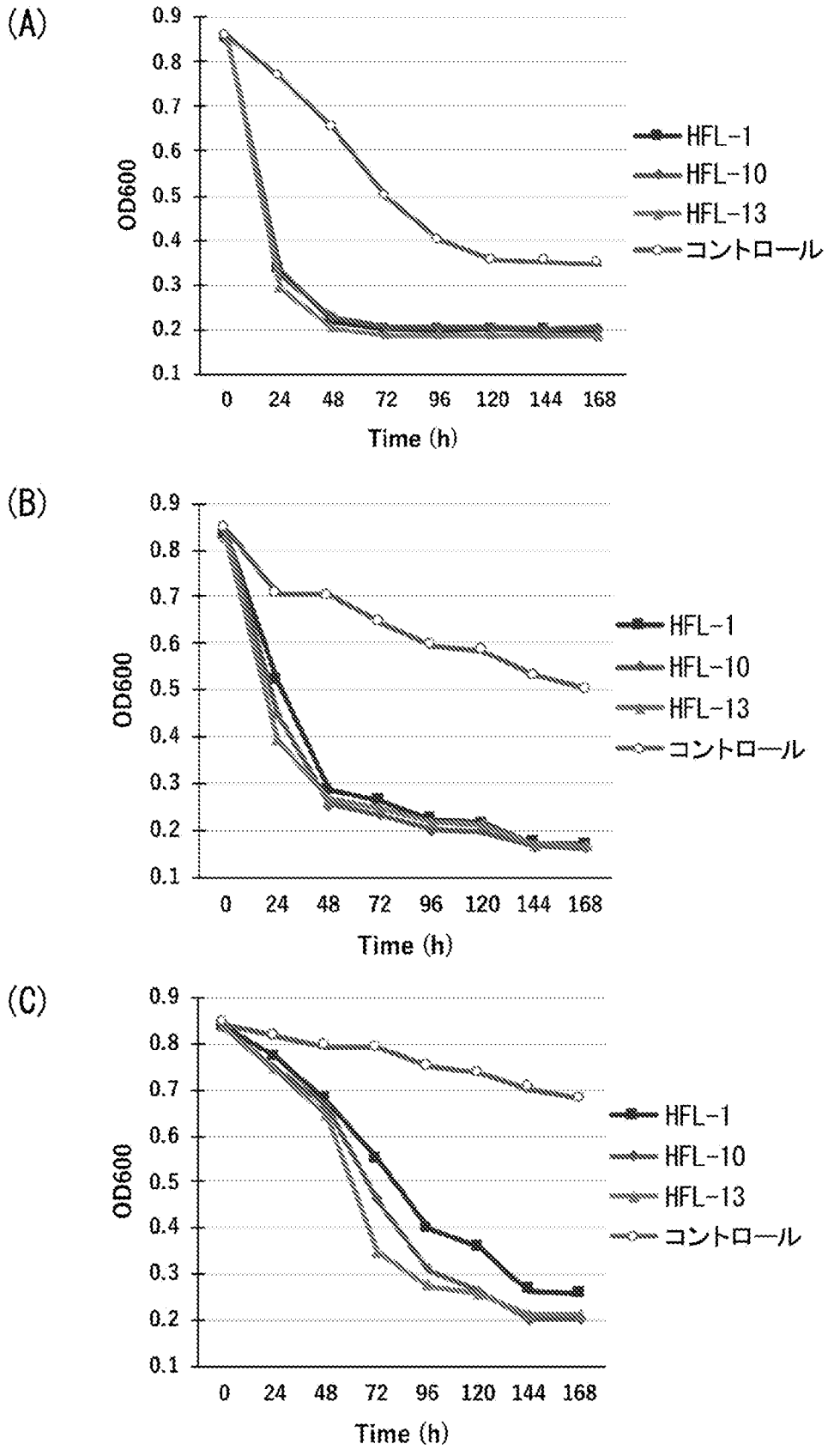
[図1]

図1


(A)
OD600
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
24
48
72
96
120
144
168
Time (h)
HFL-1
HFL-10
HFL-13
コントロール
(B)
OD600
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0
24
48
72
96
120
144
168
Time (h)
HFL-1
HFL-10
HFL-13
コントロール
(C)
OD600
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0
24
48
72
96
120
144
168
Time (h)
HFL-1
HFL-10
HFL-13
コントロール

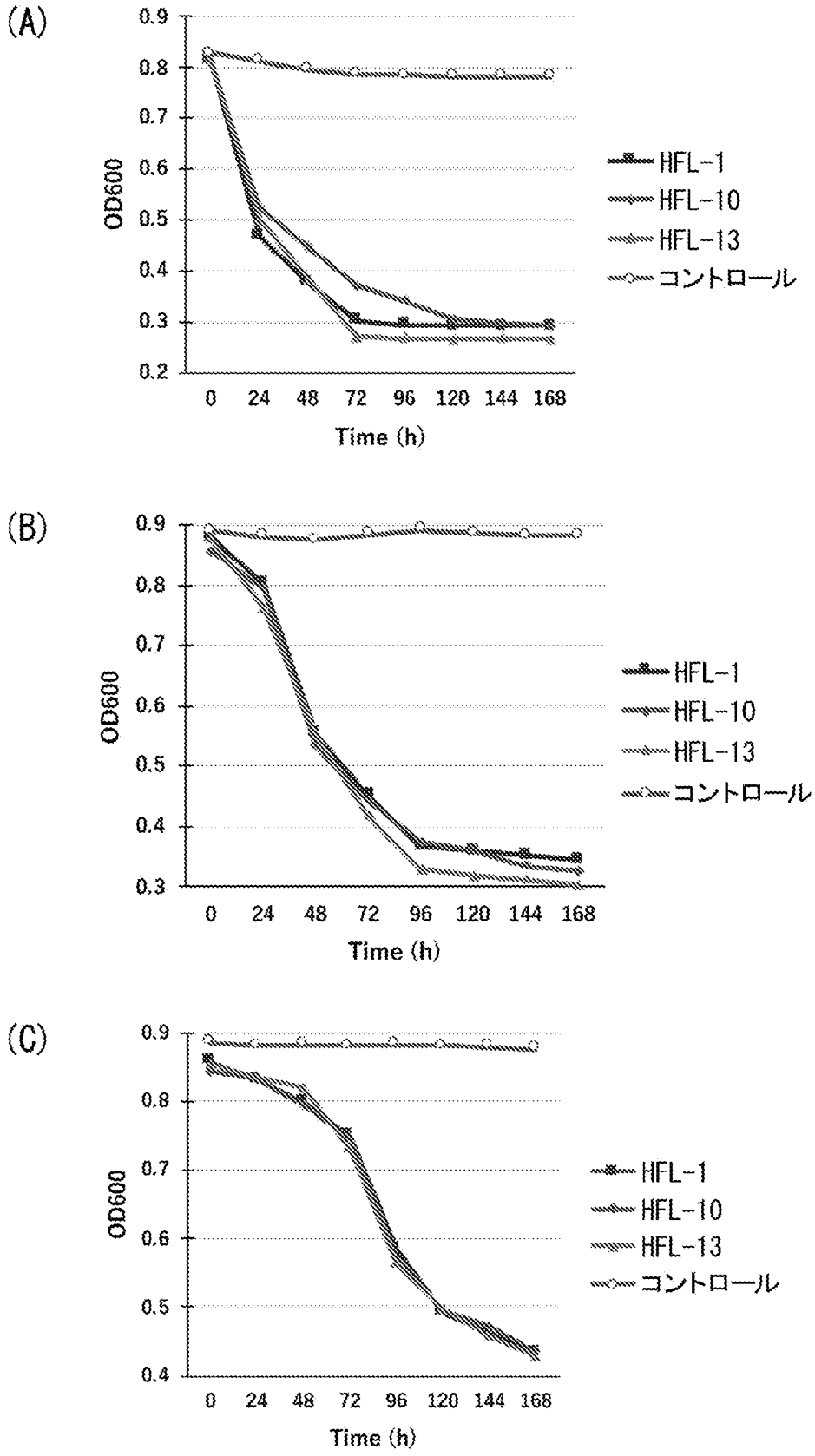
[図2]

図2


(A)
OD600
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0 24 48 72 96 120 144 168
Time (h)
HFL-1
HFL-10
HFL-13
コントロール
(B)
OD600
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0 24 48 72 96 120 144 168
Time (h)
HFL-1
HFL-10
HFL-13
コントロール
(C)
OD600
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0 24 48 72 96 120 144 168
Time (h)
HFL-1
HFL-10
HFL-13
コントロール

[図3]

図3


(A)
OD600
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0 24 48 72 96 120 144 168
Time (h)
HFL-1
HFL-10
HFL-13
コントロール
(B)
OD600
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0 24 48 72 96 120 144 168
Time (h)
HFL-1
HFL-10
HFL-13
コントロール
(C)
OD600
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0 24 48 72 96 120 144 168
Time (h)
HFL-1
HFL-10
HFL-13
コントロール

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2024/031292

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A01N 63/20(2020.01)i; ***A01K 61/13***(2017.01)i; ***A01P 1/00***(2006.01)i; ***A01P 3/00***(2006.01)i; ***C12N 1/20***(2006.01)i
FI: A01N63/20; C12N1/20 A; A01P1/00; A01P3/00; C12N1/20 E ZNA; A01K61/13

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)

A01N63/20; A01K61/13; A01P1/00; A01P3/00; C12N1/20

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024
Registered utility model specifications of Japan 1996-2024
Published registered utility model applications of Japan 1994-2024

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	QIAN, H. et al. The species evenness of "prey" bacteria correlated with Bdellovibrio-and-like-organisms (BALOs) in the microbial network supports the biomass of BALOs in a paddy soil. FEMS Microbiology Ecology. 25 September 2020, vol. 96, no. 12, articles no. fiaa195, pp. 1-10, doi:10.1093/femsec/fiaa195 abstract, p. 2, left column, lines 2-20, p. 4. right column, lines 22-20 from the bottom, p. 4, right column, lines 8-6 from the bottom, fig. 3	1-22
A	DAVIDOV, Y. et al. Diversity and evolution of Bdellovibrio-and-like organisms (BALOs), reclassification of Bacteriovorax starrii as Peredibacter starrii gen. nov., comb. nov., and description of the Bacteriovorax-Peredibacter clade as Bacteriovoracaceae fam. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. September 2004, vol. 54, no. 5, pp. 1439-1452, doi:10.1099/ijs.0.02978-0 abstract, p. 1439, left column, line 2 to p. 1439, right column, line 1 from the bottom, p. 1445, right column, lines 10-5 from the bottom, p. 1450, right column, line 20 from the bottom to p. 1451, left column, line 24, GenBank Accession No. AY294222, fig. 2(b)	1-22

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
06 November 2024	**19 November 2024**
Name and mailing address of the ISA/JP **Japan Patent Office (ISA/JP)** **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2024/031292

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GenBank databases. NCBI. ACCESSION No. AB369189. 14 October 2011, [online], [retrieved on 06 November 2024], http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AB369189 origin	1-22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2024/031292

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed.
   b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),
      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2024/031292

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

A01N 63/20(2020.01)i; A01K 61/13(2017.01)i; A01P 1/00(2006.01)i; A01P 3/00(2006.01)i; C12N 1/20(2006.01)i
FI: A01N63/20; C12N1/20 A; A01P1/00; A01P3/00; C12N1/20 E ZNA; A01K61/13

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

A01N63/20; A01K61/13; A01P1/00; A01P3/00; C12N1/20

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２４年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２４年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２４年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
A	QIAN H. et al., The species evenness of "prey" bacteria correlated with Bdellovibrio-and-like-organisms (BALOs) in the microbial network supports the biomass of BALOs in a paddy soil, FEMS Microbiology Ecology, 2020.09.25, Vol.96, No.12, Articles No.fiaa195, pages 1 to 10, doi:10.1093/femsec/fiaa195 Ａｂｓｔｒａｃｔ、２ページ左欄２～２０行目、４ページ右欄下から２２～２０行目、４ページ右欄下から８～６行目、Ｆｉｇｕｒｅ　３	1-22

☑ Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
"D" 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献
"E" 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
"L" 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
"O" 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
"P" 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
"T" 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
"X" 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
"Y" 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
"&" 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
06.11.2024	19.11.2024

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
小森　潔 4H 3762
電話番号 03-3581-1101 内線 3443

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
A	DAVIDOV Y. et al., Diversity and evolution of Bdellovibrio-and-like organisms (BALOs), reclassification of Bacteriovorax starrii as Peredibacter starrii gen. nov., comb. nov., and description of the Bacteriovorax-Peredibacter clade as Bacteriovoracaceae fam. nov, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2004.09, Vol.54, No.5, pages 1439 to 1452, doi:10.1099/ijs.0.02978-0 Ａｂｓｔｒａｃｔ、１４３９ページ左欄２行目～１４３９ページ右欄下から１行目、１４４５ページ右欄下から１０～５行目、１４５０ページ右欄下から２０行目～１４５１ページ左欄２４行目、ＧｅｎＢａｎｋ　Ａｃｃｅｓｓｉｏｎ　Ｎｏ．ＡＹ２９４２２２、Ｆｉｇ．２（ｂ）	1-22
A	GenBank databases, NCBI. ACCESSION No.AB369189, 2011.10.14, [online],[令和６年１１月６日検索], http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AB369189 ORIGIN	1-22

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2024/031292

第Ⅰ欄　　ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第１ページの１．ｃの続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

a. ☑ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
b. ☐ 国際出願日後に、国際調査のために提出された配列表（ＰＣＴ規則13の3.1(a)）
☐ 配列表が出願時の国際出願の開示の範囲を超えるものではない旨の陳述書が添付されていた。

2. ☐ この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、この国際調査報告は、WIPO標準ST.26に準拠する配列表なしで有意義な国際調査をすることができる限度において作成された。

3. 補足意見: