

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6637885号  
(P6637885)

(45) 発行日 令和2年1月29日 (2020.1.29)

(24) 登録日 令和1年12月27日 (2019.12.27)

(51) Int. Cl. F 1  
C 1 2 Q 1/6869 (2018.01) C 1 2 Q 1/6869 Z

請求項の数 10 (全 62 頁)

(21) 出願番号	特願2016-529820 (P2016-529820)	(73) 特許権者	517150478
(86) (22) 出願日	平成26年7月21日 (2014.7.21)		ペンデュラム セラピューティクス, イ
(65) 公表番号	特表2016-525355 (P2016-525355A)		ンコーポレイテッド
(43) 公表日	平成28年8月25日 (2016.8.25)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 941
(86) 国際出願番号	PCT/US2014/047491		07, サンフランシスコ, 20ティー
(87) 国際公開番号	W02015/013214		エイチ ストリート 933
(87) 国際公開日	平成27年1月29日 (2015.1.29)	(74) 代理人	100078282
審査請求日	平成29年7月21日 (2017.7.21)		弁理士 山本 秀策
(31) 優先権主張番号	61/856,711	(74) 代理人	100113413
(32) 優先日	平成25年7月21日 (2013.7.21)		弁理士 森下 夏樹
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100181674
			弁理士 飯田 貴敏
		(74) 代理人	100181641
			弁理士 石川 大輔

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 マイクロバイオームの特性解明、モニタリング、および処置のための方法およびシステム

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

対象におけるマイクロバイオームをプロファイリングする方法であって：

(a) 前記対象から得た生体試料中の少なくとも1つの微生物からリボソームRNAオペロン全体の核酸配列を得ることであって、ここで、前記核酸配列が、単一リード長内で得られ、前記リボソームRNAオペロン全体が、23Sリボソームサブユニット配列、16Sリボソームサブユニット配列、および、前記16Sリボソームサブユニット配列と前記23Sリボソームサブユニット配列の間の遺伝子間領域を含む、こと；

(b) 前記少なくとも1つの微生物からの前記核酸配列を基準と比較すること；

(c) 前記比較に基づいて前記少なくとも1つの微生物を株レベルで同定すること；

(d) 前記株レベルで同定された前記微生物に対応する1以上の代謝経路を同定すること；そして

(e) (c)と(d)の前記同定に基づいてマイクロバイオームのプロファイルを決定すること、を含む、前記方法。

## 【請求項 2】

前記核酸配列が、前記16Sリボソームサブユニットの9つの超可変領域を含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記核酸配列が、前記23Sリボソームサブユニットの可変領域を含む、請求項1に記

10

20

載の方法。

【請求項 4】

前記核酸配列が、内部転写配列領域 ( I T S ) を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記株レベルが種レベル以下である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記対象におけるマイクロバイオームのプロファイルの決定が、50 以下の微生物、55 以下の微生物、60 以下の微生物、65 以下の微生物、70 以下の微生物、75 以下の微生物、80 以下の微生物、85 以下の微生物、90 以下の微生物、100 以下の微生物、200 以下の微生物、300 以下の微生物、400 以下の微生物、500 以下の微生物、600 以下の微生物、700 以下の微生物、または800 以下の微生物に基づく、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 7】

少なくとも2つの異なる時点で採取した前記生体試料中の少なくとも1つの微生物から核酸配列を得ることをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

マイクロバイオームの前記プロファイルの決定が、前記微生物を検出またはそのレベルを測定することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記微生物を検出またはそのレベルを測定することが、前記微生物からのマーカーのレベルを決定することを含む、請求項 8 に記載の方法。

20

【請求項 10】

前記核酸配列が、ロングリードシーケンシングプラットフォームを用いて得られる、請求項 1 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

相互参照

[0001] 本願は、2013年7月21日出願の米国仮特許出願第61/856,711号に基づく優先権を主張し、その出願の全体を本明細書に援用する。

30

【0002】

配列

[0002] 本願は、ASCIIフォーマットで電子提出された配列リストを含み、その全体を本明細書に援用する。2014年7月21日に作成されたそのASCIIコピーは、ファイル名46790-701.601\_SL.txt、サイズ171,171バイトである。

【背景技術】

【0003】

開示の背景

[0003] 一般の健康な個体の身体には種々の身体部位にわたって数兆個の微生物が生息しており、マイクロバイオームと呼ばれる。マイクロバイオーム部位の幾つかの例には、皮膚、腸、胃、消化管、口腔、結膜、および膈が含まれる。これらのマイクロバイオームの役割ならびにそれらがどのようにして生理および疾患に影響を及ぼすかをより良く理解するために、どのような微生物がマイクロバイオームを構成しているか、それらがどのように相互作用し、あるいは個体の健康状態および臨床応答に影響を及ぼすかを分析することができる。

40

【0004】

[0004] たとえば、ヒトの消化管マイクロバイオームは、特に肥満症、胃腸の健康状態、栄養素の吸収、および薬物代謝を含めた多くの健康状態において鍵となる役割を果たすことが知られている。そのような知見によって、NIHは、種々の人体部位の微生物組成

50

を分析するために15000万米ドルを今後5年間にわたるヒトマイクロバイオームプロジェクトの解析に投下した。

【0005】

[0005] マイクロバイオームと健康の相関性のこの認識にもかかわらず、マイクロバイオームの複雑さ、ならびにマイクロバイオームの構成体の分類および特性解明の困難さが、これらの関係の理解を難しくしている。その結果、これらの難問は診断適用および療法適用の開発に難関を提示している。

【0006】

[0006] マイクロバイオームを理解するためのメタゲノミクス方法はマイクロバイオームの役割をさらに明らかにするのに役立つ見込みがあり、ごく最近になって「次世代」シーケンシング技術によってそれが可能になった。これらの研究によって明らかになった情報はマイクロバイオームを療法介入および消費者向け製品に標的化することに関心をもつ者にとって次第に価値が高まるであろうが、この大量のデータを診断剤および療法剤の開発に使用できる意味あるデータに変換するには、大きな難関がある。マイクロバイオームの能力を利用する際の2つの明らかな障害は、これらの解析を行なうコストおよび前記のメタゲノミクス解析固有の複雑さである。

【0007】

[0007] 細菌種の系統学的分類に関する分野の現在のゴールドスタンダードは、16SリボソームRNA(rRNA)サブユニットのDNAシーケンシングによるものである。16S rRNAサブユニットはすべての細菌に全般的に存在し、系統分類を区別するために使用できる9つの可変領域を含むので、分類のための「理想的な」標的として選択された。しかし、ある細菌は同一の可変領域を共有し、結果的に分類ミスを生じるという事実のため、16S rRNAサブユニットのみに注目するのはそれ自体の技術的難問を提示する。

【0008】

[0008] さらに、16S rRNAサブユニットの配列決定に用いられる現在の「第2世代」シーケンシング技術は、しばしばこれらの可変領域のカバー領域が不完全なリード長を有する。たとえば、454によるシーケンシングは平均リード長が500bpであり、Illumina社のMiSeqおよびHiSeqプラットフォームは平均リード長が100~450bpである。これらのリード長では、特にマイクロバイオームのような複雑なメタゲノム試料において、細菌分類はしばしば精度の問題を生じる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

[0009] 本開示は、マイクロバイオームのより正確な情報、したがってより高精度の分類が得られる方法、システム、組成物、およびキットを提供することにより、これらの制限に対する解決策を提供する。そのような情報により、現在の技術を上回る多重性および効率という利点、ならびに診断検査、療法剤、およびプロバイオティック療法などの消費者向け製品の開発が可能になる。

【課題を解決するための手段】

【0010】

発明の概要

[0010] 本開示は、微生物を分類する方法を提供するものであり、該方法は：第1微生物の単一リード長内に含まれる16Sまたは23Sリボソームサブユニットの核酸配列を得；第1微生物のその核酸配列を基準と比較し；そして、その比較に基づいて第1微生物を株レベルまたは亜株レベルで同定する、ことを含む。

【0011】

[0011] 本開示は、対象におけるマイクロバイオームをプロファイリングする方法を提供するものであり、該方法は：その対象から得た生体試料中の少なくとも1つの微生物から16Sリボソームサブユニットの核酸配列を得；得られた核酸配列に基づいてその生体

10

20

30

40

50

試料内のその少なくとも1つの微生物を分析し；そして、その分析に基づいてマイクロバイオームのプロファイルを決定する、ことを含む。ある態様では、対象におけるマイクロバイオームのプロファイルの決定は、50以下の微生物、55以下の微生物、60以下の微生物、65以下の微生物、70以下の微生物、75以下の微生物、80以下の微生物、85以下の微生物、90以下の微生物、100以下の微生物、200以下の微生物、300以下の微生物、400以下の微生物、500以下の微生物、600以下の微生物、700以下の微生物、または800以下の微生物に基づくことができる。ある態様では、対象におけるマイクロバイオームのプロファイルの決定は、測定に基づく70%を超える精度を有する。ある態様では、この方法は、少なくとも2つの異なる時点で採取した生体試料中の少なくとも1つの微生物から核酸配列を得ることをさらに含むことができる。ある態様では、分析にロングリードシーケンシングプラットフォームを使用する。

10

#### 【0012】

[0012] 本開示は、対象におけるマイクロバイオームをプロファイリングする方法を提供するものであり、該方法は：その対象から得た生体試料中の少なくとも1つの微生物から16Sおよび23Sリボソームサブユニットの核酸配列を得；得られた配列に基づいてその生体試料中のその少なくとも1つの微生物を分析し；そして、その分析に基づいてその対象におけるマイクロバイオームのプロファイルを決定する、ことを含む。ある態様では、対象におけるマイクロバイオームのプロファイルの決定は、50以下の微生物、55以下の微生物、60以下の微生物、65以下の微生物、70以下の微生物、75以下の微生物、80以下の微生物、85以下の微生物、90以下の微生物、100以下の微生物、200以下の微生物、300以下の微生物、400以下の微生物、500以下の微生物、600以下の微生物、700以下の微生物、または800以下の微生物に基づくことができる。ある態様では、対象におけるマイクロバイオームのプロファイルの決定は、測定に基づく70%を超える精度を有する。ある態様では、この方法は、少なくとも2つの異なる時点で採取した生体試料中の少なくとも1つの微生物から核酸配列を得ることをさらに含むことができる。ある態様では、解析にロングリードシーケンシングプラットフォームを使用する。

20

#### 【0013】

[0013] 本開示は、対象における健康状態の指標となる代謝経路を決定する方法を提供するものであり、該方法は：対象からの生体試料から、単一リード長内に転写物全体が含まれるようにRNA配列を得；それらの転写物をシーケンシング法により解析し；配列決定した転写物を基準と比較し；そして、健康状態の指標となる代謝経路を決定する、ことを含む。ある態様では、解析にロングリードシーケンシングプラットフォームを使用する。

30

#### 【0014】

[0014] 本開示は、対象において疾患を処置する方法を提供するものであり、該方法は：その対象から得た生体試料において、少なくとも1つの微生物を含むマイクロバイオームプロファイルを測定し；その測定に基づいて対象における疾患の存在の有無を検出し；そして、その検出に基づいて対象における疾患を処置する、ことを含む。

#### 【0015】

[0015] 本開示は：対象から得た生体試料において、少なくとも2つの微生物を含むマイクロバイオームパネルの測定値を含むデータを取得し；その測定データに基づいてマイクロバイオームパネルのマイクロバイオームプロファイルを作成し；そのマイクロバイオームパネルのマイクロバイオームプロファイルを基準プロファイルと比較し；そして、その比較に基づいてその対象における疾患状態の尤度を決定する、ことを含む方法を提供する。

40

#### 【0016】

[0016] 本開示は：対象から得た生体試料において、少なくとも2つの微生物を含むマイクロバイオームパネルの測定値を含むデータを取得し；その測定データに基づいてマイクロバイオームパネルのマイクロバイオームプロファイルを作成し；そのマイクロバイオ

50

ームパネルのマイクロバイオームプロファイルを基準の閾値と比較し；そして、そのマイクロバイオームパネルの基準の少なくとも1つの閾値との比較に基づいて、その対象における疾患状態の尤度を決定する、ことを含む方法を提供する。

【0017】

[0017] 本開示は、対象における疾患について対象を診断する方法を提供するものであり、該方法は：その対象から得た生体試料において、少なくとも1つの微生物を含む微生物パネルを測定し；その測定に基づいて対象における疾患の存在の有無を検出し；そして、その検出に基づいて、その疾患の処置のための少なくとも1つの微生物ベースの療法剤または化粧品を対象に推奨する、ことを含む。ある態様では、70%を超える感度で疾患状態の存在の有無を検出する。ある態様では、70%を超える感度および特異性で疾患状態の存在の有無を検出する。ある態様では、75%、80%、85%、90%、または95%を超える感度で疾患状態の存在の有無を検出することを含む。ある態様では、75%、80%、85%、90%、または95%を超える感度および特異性で疾患状態の存在の有無を検出する。ある態様では、微生物のパネルは、2以下の微生物、3以下の微生物、4以下の微生物、5以下の微生物、6以下の微生物、7以下の微生物、8以下の微生物、9以下の微生物、10以下の微生物、11以下の微生物、12以下の微生物、13以下の微生物、14以下の微生物、15以下の微生物、16以下の微生物、18以下の微生物、19以下の微生物、20以下の微生物、25以下の微生物、30以下の微生物、35以下の微生物、または40以下の微生物を含む。

10

【0018】

[0018] 本開示は、対象におけるマイクロバイオームプロファイルを決定するためのコンピューターシステムを提供するものであり、該システムは：対象の生体試料からの、少なくとも1つの微生物のマーカーを含む微生物パネルの測定値を含むデータを受信するための記憶ユニット；前記請求項のいずれか1項に記載の方法に従って測定データを解析するためのコンピューター実行可能な指示；および、その解析に基づいて対象における少なくとも疾患の存在の有無を決定するためのコンピューター実行可能な指示、を含む。ある態様では、コンピューターシステムは、対象における少なくとも1つの疾患の存在の有無のレポートを作成するためのコンピューター実行可能な指示をさらに含む。ある態様では、コンピューターシステムは、そのレポートをユーザーに通信または表示するように構成されたユーザーインターフェースをさらに含むことができる。

20

30

【0019】

[0019] 本開示は、コンピューター可読媒体を提供するものであり、該媒体は：対象から得た生体試料からの、少なくとも1つの微生物から選択した少なくとも1つのマーカーを含むマイクロバイオームプロファイルの測定値を含むデータを解析するためのコンピューター実行可能な指示；および、その解析に基づいて対象における少なくとも疾患の存在の有無を決定するためのコンピューター実行可能な指示、を含む。

【0020】

[0020] 本開示は、キットを提供するものであり、該キットは：対象から得た生体試料からの、少なくとも1つの微生物に対する少なくとも1つのマーカーを含むマイクロバイオームプロファイルの測定に使用するための1以上の組成物；および、前記請求項のいずれか1項に記載の方法を実行するための指示書、を含む。ある態様では、キットはコンピューター可読媒体をさらに含むことができる。

40

【0021】

[0021] 本明細書において提供される方法はいずれも、疾患が、IBD、早産、肥満症、糖尿病性足潰瘍、菌血症、アクネ、小児仙痛、II型糖尿病、ディフィシル菌(C. difficile)、IBS、喘息、自閉症、乾癬、アレルギー、心血管疾患、癌、うつ病、嚢胞性線維症、多発性硬化症、尿路感染症、放射線腸障害、薬物代謝、慢性疲労、I型糖尿病、口臭、および齲食である態様を含むことができる。

【0022】

[0022] 本明細書において提供される方法はいずれも、生体試料が、皮膚マイクロバイ

50

オー、臍帯マイクロバイオー、膣マイクロバイオー、結膜マイクロバイオー、腸マイクロバイオー、胃マイクロバイオー、消化管マイクロバイオー、口腔マイクロバイオー、鼻腔マイクロバイオー、胃腸管マイクロバイオー、尿生殖路マイクロバイオー、またはそれらの組合わせから選択されるマイクロバイオーから採取される態様を含むことができる。

【0023】

[0023] 本明細書において提供される方法はいずれも、マイクロバイオーパネルが16Sまたは23Sリボソームサブユニットの微生物マーカーを含む態様、あるいはマイクロバイオーパネルが16Sまたは23Sリボソームサブユニット転写物全体に対する微生物マーカーを含む態様、あるいはマイクロバイオーパネルが16Sまたは23Sリボソームサブユニット転写物全体および16Sまたは23Sリボソームサブユニット転写物間の遺伝子間領域の微生物マーカーを含む態様、あるいはマイクロバイオーパネルが16Sまたは23Sリボソームサブユニットの少なくとも1つの可変領域の微生物マーカーを含む態様を含むことができる。

10

【0024】

[0024] 本明細書において提供される方法はいずれも、測定が16Sまたは23Sリボソームサブユニットの断片、抗原、または結合パートナーの検出またはそのレベルの測定を含む態様、あるいは測定が16Sまたは23Sリボソームサブユニット可変領域の断片、抗原、または結合パートナーの検出またはそのレベルの測定を含む態様を含むことができる。

20

【0025】

[0025] 本明細書において提供される方法はいずれも、対象がヒト対象である態様、あるいは対象が疾患について無症候性である態様、あるいは対象がその疾患について少なくとも1つの臨床症状を示している態様を含むことができる。

【0026】

[0026] 本明細書において提供される方法はいずれも、測定が：イムノアッセイ、フローサイトメトリーアッセイ、バイオチップアッセイ、マイクロアレイアッセイ、およびシークエンシングアッセイのうち少なくとも1つの使用を含む態様を含むことができる。本明細書において提供される方法はいずれも、測定が微生物を検出またはそのレベル測定することを含む態様を含むことができる。本明細書において提供される方法はいずれも、測定が微生物上のマーカーを検出またはそのレベル測定することを含む態様を含むことができる。

30

【0027】

[0027] 本明細書において提供される方法はいずれも、決定される疾患状態が、臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、または疾患管理のための推奨処置である態様を含むことができる。

【0028】

援用

[0028] 本明細書に述べるすべての刊行物、特許および特許出願を、個々の刊行物、特許または特許出願それぞれを具体的かつ個別に援用すると示したのと同様に、本明細書に援用する。

40

【0029】

図面の簡単な説明

[0029] 本開示の新規な特徴を特に特許請求の範囲に述べる。本開示の原理を採用した具体的態様を述べた以下の詳細な記載、および添付の図面を参照することによって、それらの特徴および利点がより良く理解されるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0030】

【図1】 [0030] 図1は、本明細書に記載する方法を実施するための代表的コンピュータシステムを示す。これは連続的に拡大する完全rRNAオペロンのデータベースを含む

50

；本明細書に記載する方法は、これまで得られなかった高コスト効率の様式でこれを拡張させることができるからである。

【図2】[0031] 図2は、微生物分類精度（Y軸）を種々の16Sリボソームアンプリコン標的サイズの関数としてプロットしたシミュレーション結果を示す。リボソームデータベースプロジェクトからの細菌配列を、種々のシーケンシングプラットフォームエラー率（X軸）で用いた。完全16Sアンプリコン（最上の線）を用いると、表記した実際に実現されたエラー率（＜5％）について最高の分類精度を得ることができる。

【図3】[0032] 図3は、食事の変化に対する個体の消化管マイクロバイオーームプロファイルの変化を示す。この例において、マイクロバイオーーム構造の変化と比較した場合、体重の変化（点線）は遅滞指標（lagging indicator）である。対象特異的な食事推奨は定10  
量マイクロバイオーームシグネチャーに基づくことができる。

【図4】[0033] 図4は、異なる属が異なる多様性位置をもち、それにより株を区別できることを示す。これは、16Sの一部のみを観察する方法の採用は株レベルでの分類精度を本来制限するであろうということを意味する。下部のボックスプロットは、採用した方法（CBTは全長16Sアンプリコンに対応する）に対応するX軸、および達成された株分類精度％に対応するY軸をもつ。（A）は、ニトロソモナス（*Nitrosomonas*）属についての本明細書に記載する方法による株レベルでの解像データを示し、その場合、株あたりのダイバージェンス（divergence）は16SのV3、4および5領域に集中している。（B）は、スタフィロコッカス（ブドウ球菌）（*Staphylococcus*）属についての本明細書に20  
記載する方法による株レベルでの解像データを示し、その場合、株当たりのダイバージェンスは16SのV8および9領域に集中している。

【図5】[0034] 図5は、対象（本明細書に示す特定の適応症についての症例および対照を含む）にコンソーシア（consortia）株を含有する微生物療法剤／化粧品を適用した試験を示す。（A）は、微生物療法剤／化粧品の適用の成功を経時的に定量するためにどのようにして本開示の方法を使用できるかを示す。非片利共生株（non-commensal strain）をコンソーシアに加えると、適用株を個体のその部位（たとえば、皮膚、消化管、口腔など）のマイクロバイオーームのバックグラウンド多様性から区別するのに役立つ。（B）は、安定化作用をもつ片利共生株を見出すためにどのようにして本開示における方法を使用できるかを示す。存在した場合に適用コンソーシアの寿命に相関する株は、初期コンソーシアを拡張して高い安定性および有効性を備えた配合物を調製するための候補となるであ30  
らう。

【図6】[0035] 図6（A）は、マイクロバイオーームを含む微生物の属レベルまで解像する現在の標準法を用いたマイクロバイオーームの解像度を示す。（B）は、マイクロバイオーームを含む微生物の株レベルまで解像する本明細書に記載する方法を用いたマイクロバイオーームの解像度を示す。

【図7】[0036] 図7（A）は、属レベルの解像のために現在用いられている標準法を用いた机上の実施例を示す。その結果は、標準法では株レベルでの多様性が遮蔽されるので疾患症例が健康な対照から分離されないことを示す。（B）は、本明細書に示す方法を用いて疾患症例が健康な対照から良好に分離される机上の実施例を示す。

【図8】[0037] 図8は、実施例5、図7Bにおいて健康な対照と疾患対象を区別できる微生物株の上位10のリストを示す。この情報はこの適応症についての診断剤および療法剤に使用できる。40

#### 【発明を実施するための形態】

##### 【0031】

開示の詳細な説明

##### I. 定義

[0038] 本明細書および特許請求の範囲で用いる単数形“a”、“an”および“the”は、内容からそうではないことが明らかに示されない限り、複数表記を含む。たとえば、用語「試料（a sample）」は複数の試料を含み、これにはその混合物が含まれる。

##### 【0032】

【0039】 本明細書中で用いる用語「微生物 (microbe, microorganism)」は、いずれかの単細胞生物、細菌、古細菌 (archaea)、原虫、および単細胞性真菌を表わす。

【0040】 本明細書中で用いる用語「マイクロバイーム」は、対象の体腔に生息する片利共生、共生、または病原性の微生物の生態群落 (ecological community) を表わす。

【0033】

【0041】 用語「決定する (determining)」、「測定する (measuring)」、「評価する (evaluating)」、「査定する (assessing)」、「アッセイする (assaying)」および「解析する (analyzing)」は、いずれかの形の測定を表わすために本明細書中で互換性をもって使用でき、ある要素が存在するか否かを決定することを含む (たとえば、検出)。これらの用語は、定量および/または定性の両方の決定を含むことができる。査定は相対的または絶対的であってよい。これらの用語は、本明細書に記載するアルゴリズムおよびデータベースの使用を含むことができる。「の存在を検出する」は、存在するあるものの量の決定、およびそれが存在するか存在しないかの決定を含むことができる。本明細書中で用いる用語「ゲノムアセンブリーアルゴリズム」は、そのゲノムの完全配列を決定できる条件下で短いリードを基準配列とアラインさせることができるいずれかの方法を表わす。

10

【0034】

【0042】 本明細書中で用いる用語「ゲノム」は、その一次DNA配列にコードされているある生物の遺伝情報全体を表わす。ゲノムには遺伝子と非コード配列の両方が含まれる。たとえば、ゲノムは微生物ゲノムまたは哺乳動物ゲノムを表わすことができる。

20

【0035】

【0043】 本明細書中で用いる用語「核酸配列」および「ヌクレオチド配列」は、ゲノムまたは合成に由来するオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチド、およびその断片または部分、およびDNAまたはRNAを表わし、それらは一本鎖または二本鎖であってもよく、センス鎖またはアンチセンス鎖を表わす。

【0036】

【0044】 本明細書中でヌクレオチド配列に関して用いる用語「相同性」および「相同性の」は、他のヌクレオチド配列との相補度を表わす。部分的相同性または完全相同性 (すなわち、同一) の可能性がある。ある核酸配列に対して部分的に相補性の、すなわち「実質的に相同性の」ヌクレオチド配列は、完全に相補的な配列が標的核酸配列にハイブリダイズするのを少なくとも部分的に阻害するものである。

30

【0037】

【0045】 本明細書中で用いる用語「シーケンシング (配列決定)」は、核酸分子 (たとえば、DNAまたはRNA核酸分子) 中のヌクレオチド塩基 - アデニン、グアニン、シトシン、およびチミン - の順序を決定するためのシーケンシング方法を表わす。

【0038】

【0046】 用語「バイオチップ」または「アレイ」は、全般的に平坦な表面をもち、それに吸着剤が付着した固体基材を表わすことができる。バイオチップの表面は複数のアドレス指定可能な位置を含むことができ、その各位置はそこに結合した吸着剤を含むことができる。バイオチップはプローブインターフェースをエンゲージするように適合させることができ、したがってプローブとして機能する。タンパク質バイオチップはポリペプチドを捕捉するように適合され、そのアドレス指定可能な位置に結合したクロマトグラフィー用または生体特異的な吸着剤をもつ表面を含むことができる。マイクロアレイチップは一般にDNAおよびRNA遺伝子発現検出のために用いられる。

40

【0039】

【0047】 本明細書中で用いる用語「バーコード」は、ある核酸断片が由来するゲノムを同定するために使用できるいずれか固有の非天然核酸配列を表わす。

【0048】 用語「対象」、「個体」または「患者」は、本明細書中で互換性をもって用いられる。「対象」は発現した遺伝子材料を含む生体 (biological entity) であってよい。生体は植物、動物、またはたとえば細菌、細菌性プラスミド、ウイルス、真菌および原

50



虫を含めた微生物であってもよい。対象は、*in vivo*採取した、または*in vitro*培養した、生体の組織、細胞およびそれらの後代であってもよい。対象は哺乳動物であってもよい。哺乳動物はヒトであってもよい。対象はある疾患のリスクが高いと診断され、またはその疑いがあってもよい。ある場合には、対象は必ずしもその疾患のリスクが高いと診断されておらず、またはその疑いがなくともよい。

【0040】

[0049] 用語「処置」または「処置する」は、本明細書中で互換性をもって用いられる。これらの用語は、有益な結果または目的とする結果を得るための方法を表わすことができ、これには治療上の有益性および/または予防上の有益性が含まれるが、これらに限定されない。治療上の有益性は治療される原障害の根絶または改善を意味することができる。同様に、治療上の有益性は、対象がなお原障害に罹患している可能性があるにもかかわらず、対象において改善がみられるように原障害に関連する1以上の生理的症状を根絶または改善することにより達成できる。予防効果は、疾患または状態の出現を遅延、阻止または排除すること、疾患または状態の症状の発症を遅延または排除すること、疾患または状態の進行を遅延、停止または反転させること、あるいはそのいずれかの組み合わせを含む。予防効果を得るために、特定の疾患を発症するリスクをもつ対象、またはある疾患の1以上の生理的症状を報告している対象は、この疾患の診断がなされていないとしても処置を受けることができる。

【0041】

概観

[0050] 本開示は、全般的に、16Sおよび23SリボソームRNA(rRNA)サブユニットまたは遺伝子間領域のうち少なくとも1つの網羅的解析を含む、少なくとも1つのマイクロバイオームの同定、分類、または定量に関する。

【0042】

[0051] 本開示は、対象のマイクロバイオームプロファイルを決定することも提供する。これらの方法、組成物、システム、およびキットにより、コホート普遍化マイクロバイオームプロファイルまたは対象特異的マイクロバイオームプロファイルを作成することができる。微生物プロファイルは生体試料中の15以下の微生物の測定に基づいて70%以上の精度を有することができる。そのようなプロファイリング方法は、2以下の微生物、3以下の微生物、4以下の微生物、5以下の微生物、6以下の微生物、7以下の微生物、8以下の微生物、9以下の微生物、10以下の微生物、11以下の微生物、12以下の微生物、13以下の微生物、14以下の微生物、15以下の微生物、16以下の微生物、18以下の微生物、19以下の微生物、20以下の微生物、25以下の微生物、30以下の微生物、35以下の微生物、40以下の微生物、45以下の微生物、50以下の微生物、55以下の微生物、60以下の微生物、65以下の微生物、70以下の微生物、75以下の微生物、80以下の微生物、85以下の微生物、90以下の微生物、または100以下の微生物、200以下の微生物、300以下の微生物、400以下の微生物、500以下の微生物、600以下の微生物、700以下の微生物、または800以下の微生物の測定に基づいて、少なくとも70%以上の精度を有することができる。

【0043】

[0052] そのようなマイクロバイオームプロファイルを部分的にまたは単独で用いて定量スコア(quantitative score)を計算することができる。定量スコアは、マイクロバイオームプロファイルを1以上の臨床因子、たとえば年齢グループ、人種、性別習性、衛生習慣、製品使用、食事計画、体重、性別、病歴、リスク因子、または家族歴と組み合わせることもできる。

【0044】

[0053] ある態様では、定量スコアは下記のうち1以上の尤度の増大または低下の指標となることができる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。

【0045】

[0054] ある適用では、対象のマイクロバイオームプロファイルにおける1以上の微生物の閾値の低下または増大は、下記のうち1以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。ある適用では、対象のマイクロバイオームにおける1以上の微生物の閾値の低下または増大は、下記のうち1以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。

【0046】

[0055] 本明細書において、療法剤または化粧品として対象に投与できる微生物ベースの組成物を提供する。本明細書において、微生物ベースの組成物の各種配合物も提供する。本明細書において提供される微生物または配合物のうち1以上または組合わせを用いて、ある状態に罹患している対象を処置するのに適した組成物を開発することができる。本明細書に記載するいずれかの方法、組成物、キット、およびシステムを用いて、療法剤/化粧品である消費者向け製品組成物を調製することができる。

10

【0047】

[0056] 本明細書に記載するいずれかの方法、組成物、キット、およびシステムを用いて、対象の疾患状態を判定または推定することができる。疾患状態には、臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置などの情報を含めることができる。

20

【0048】

[0057] 本明細書に記載する方法、組成物、システム、およびキットは、本明細書に記載するように、対象から得た生体試料中の1以上の微生物またはマイクロバイオームプロファイルの検出または測定に基づいて疾患についての診断アッセイを提供する。ある適用では、生体試料は、自身の1以上のマイクロバイオームプロファイルの決定を希望する健康対象から採取される。ある適用では、生体試料は、自身の1以上のマイクロバイオームプロファイルの決定を希望する罹病対象から採取される。本明細書に記載する方法、組成物、システム、およびキットを使用できる適応症には、IBD、早産、肥満症、糖尿病性足潰瘍、菌血症、アクネ、小児仙痛、II型糖尿病、デフィシル菌、IBS、喘息、自閉症、乾癬、アレルギー、心血管疾患、癌、うつ病、嚢胞性線維症、多発性硬化症、尿路感染症、放射線腸障害、薬物代謝、慢性疲労、I型糖尿病、口臭、および齲食が含まれるが、これらに限定されるものではない。

30

【0049】

[0058] 生体試料は、対象の身体のいずれかのマイクロバイオームからのいずれかの試料タイプであってよい。本開示に使用できるマイクロバイオームの幾つかの例には、皮膚マイクロバイオーム、臍帯マイクロバイオーム、腔マイクロバイオーム、結膜マイクロバイオーム、腸マイクロバイオーム、胃マイクロバイオーム、消化管マイクロバイオーム、および口腔マイクロバイオーム、鼻腔マイクロバイオーム、胃腸管マイクロバイオーム、および尿生殖路マイクロバイオームが含まれる。適用に応じて、生体試料は、全血、血清、血漿、粘液、唾液、頬スワブ、尿、便、細胞、組織、体液、またはその組合わせであってもよい。

40

【0050】

[0059] 本明細書において提供される診断アッセイまたは診断方法は、疾患状態、疾患応答予測、または転帰について70%を超える感度および70%を超える特異性のうち少なくとも1つを有することができる。そのような診断方法は、生体試料中の15以下の微生物の測定に基づいて、70%以上の感度および70%を超える特異性のうち少なくとも1つを有することができる。そのような診断アッセイまたは診断方法は、2以下の微生物、3以下の微生物、4以下の微生物、5以下の微生物、6以下の微生物、7以下の微生物、8以下の微生物、9以下の微生物、10以下の微生物、11以下の微生物、12以下の微生物、13以下の微生物、14以下の微生物、15以下の微生物、16以下の微生物、

50

18以下の微生物、19以下の微生物、20以下の微生物、25以下の微生物、30以下の微生物、35以下の微生物、40以下の微生物、45以下の微生物、50以下の微生物、55以下の微生物、60以下の微生物、65以下の微生物、70以下の微生物、75以下の微生物、80以下の微生物、85以下の微生物、90以下の微生物、または100以下の微生物の測定に基づいて、70%を超える感度および70%を超える特異性のうち少なくとも1つを有することができる。

【0051】

【0060】 本明細書に記載する方法、組成物、システム、およびキットは、レポートの作成に使用することができる。ある適用では、レポートは下記のうち1以上の疾患状態または健康状態の尤度（増大または低下）などの情報を含むことができる：疾患状態の存在の

10

【0052】

【0061】 代表的方法は、下記の工程のうち少なくとも1つを含むことができる：対象から生体試料を得；対象の生体試料中の微生物のパネルを測定し；その測定に基づいて疾患状態を決定し；そして、その決定の結果に基づいて疾患状態の情報を提供するレポートを作成する。

【0053】

【0062】 本開示の代表的方法は、下記の工程のうち少なくとも1つを含むことができる：対象から生体試料を得；対象の生体試料中の微生物のパネルを測定し；測定に基づいて、対象のマイクロバイーム中の少なくとも1つの微生物の存在の有無を決定し；決定に基づいて対象のマイクロバイームプロファイル中の少なくとも1つの微生物の非存在または量に関する情報を提供するレポートを作成し；そして、所望により対象特異的マイクロバイームプロファイルと類似のマイクロバイームプロファイルを有すると決定されたコホートからの情報を提供する。

20

【0054】

【0063】 本明細書に記載する方法、組成物、システム、およびキットは、製造された微生物ベースの療法剤／化粧品についての品質管理アッセイも提供する。たとえば、本明細書に記載する方法、組成物、システム、およびキットは、製造された微生物ベースの療法剤／化粧品が製造または貯蔵の過程でその遺伝子統合性を維持しているかを判定するためのコンパニオン診断検査を開発するために使用することができる。

30

【0055】

II. 方法

A. マイクロバイームプロファイリング

【0064】 本開示は、対象の少なくとも1つのマイクロバイームからの生体試料中の少なくとも1つの微生物を測定し、そしてマイクロバイームプロファイルを決定するための方法を提供する。マイクロバイームプロファイルは、マイクロバイームを構成する1以上の微生物（細菌、真菌、ウイルス、および古細菌）を測定または定量できるいずれか適切な検出手段を用いて査定することができる。

【0056】

40

【0065】 一般に本開示は、情報価値のあるマイクロバイームプロファイルを同定するために、ロングリード長シーケンシングの方法およびシステムを採用して、特定の微生物における識別力を備えた完全16Sまたは23Sリボソームサブユニット、それらの遺伝子間領域、および所望により他の遺伝子要素を測定する。

【0057】

【0066】 ある適用では、対象のマイクロバイームプロファイルは、部分的に、追加の臨床情報、たとえば対象の年齢、体重、性別、病歴、リスク因子、家族歴、または他のいずれかの臨床関連情報を用いて決定される。

【0058】

【0067】 ある適用では、対象のマイクロバイームプロファイルは、単一のマイクロバ

50

イオームを含むことができる。たとえば、対象のマイクロバイオームプロファイルは、対象の腸マイクロバイオームのみからの少なくとも1つの生体試料で構成することができる。たとえば、対象のマイクロバイオームプロファイルは、対象の胃マイクロバイオームのみからの少なくとも1つの生体試料で構成することができる。たとえば、対象のマイクロバイオームプロファイルは、対象の消化管マイクロバイオームのみからの少なくとも1つの生体試料で構成することができる。たとえば、対象のマイクロバイオームプロファイルは、対象の口腔マイクロバイオームのみからの少なくとも1つの生体試料で構成することができる。

【0059】

[0068] ある適用では、対象のマイクロバイオームプロファイルは1より多いマイクロバイオームからの少なくとも1つの生体試料で構成することができる。たとえば、対象のマイクロバイオームプロファイルは、対象の皮膚マイクロバイオームおよび臍帯マイクロバイオームからの少なくとも1つの生体試料で構成することができる。他の例では、対象のマイクロバイオームプロファイルは、対象の腸マイクロバイオーム、胃マイクロバイオーム、消化管マイクロバイオーム、および口腔マイクロバイオームからの少なくとも1つの生体試料で構成することができる。他の例では、対象のマイクロバイオームプロファイルは、対象の腸マイクロバイオームからの少なくとも1つの生体試料、および胃マイクロバイオームからの少なくとも1つの生体試料で構成することができる。他の例では、対象のマイクロバイオームプロファイルは、対象の消化管マイクロバイオームからの少なくとも1つの生体試料、および口腔マイクロバイオームからの少なくとも1つの生体試料で構成することができる。ある適用では、対象のマイクロバイオームプロファイルは、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20のマイクロバイオームで構成することができる。

【0060】

[0069] ある適用では、対象のマイクロバイオームプロファイルは1つの微生物を含むことができる。ある適用では、対象のマイクロバイオームプロファイルは2つの微生物、3以下の微生物、4以下の微生物、5以下の微生物、6以下の微生物、7以下の微生物、8以下の微生物、9以下の微生物、10以下の微生物、11以下の微生物、12以下の微生物、13以下の微生物、14以下の微生物、15以下の微生物、16以下の微生物、18以下の微生物、19以下の微生物、20以下の微生物、25以下の微生物、30以下の微生物、35以下の微生物、40以下の微生物、45以下の微生物、50以下の微生物、55以下の微生物、60以下の微生物、65以下の微生物、70以下の微生物、75以下の微生物、80以下の微生物、85以下の微生物、90以下の微生物、100以下の微生物、200以下の微生物、300以下の微生物、400以下の微生物、500以下の微生物、600以下の微生物、700以下の微生物、または800以下の微生物を含むことができる。

【0061】

[0070] ある適用では、微生物の全ゲノムを解析して対象のマイクロバイオームプロファイルを決定する。他の適用では、微生物のゲノムの可変領域を解析して対象のマイクロバイオームプロファイルを決定する。たとえば、ゲノムにおける遺伝子多様性は、制限断片長多型、一塩基多型、挿入、欠失、インデル(indel)(挿入-欠失)、マイクロサテライトリピート、ミニサテライトリピート、短いタンデムリピート、転位性因子、ランダム増幅多型DNA、増幅断片長多型、またはその組合わせを含むことができる。

【0062】

[0071] ある適用では、微生物の16Sまたは23Sリボソームサブユニットの全ゲノム領域を解析して対象のマイクロバイオームプロファイルを決定する。ある適用では、微生物の16Sまたは23Sリボソームサブユニットの可変領域を解析して対象のマイクロバイオームプロファイルを決定する。

【0063】

[0072] 本明細書において提供する方法、組成物、システムにより、コホート普遍化マ

10

20

30

40

50

マイクロバイオーームプロファイルまたは対象特異的マイクロバイオーームプロファイルを作成することができる。コホート普遍化マイクロバイオーームプロファイルは、特定グループからの1より多い対象のマイクロバイオーームからの測定データに基づいて決定することができる。たとえば、コホートは特定の年齢グループ、世界の地域、人種、宗教グループ、性別習性、衛生習慣、製品使用、食事計画、体重、性別、病歴、リスク因子、家族歴、またはその組み合わせからの対象であってもよい。対象特異的マイクロバイオーームプロファイルは、対象からの1以上のマイクロバイオーームから決定することができる。

【0064】

[0073] 代表的方法は、下記の工程のうち少なくとも1つを含むことができる：対象から生体試料を得；対象の生体試料中の少なくとも1つの微生物を測定し；測定に基づいて少なくとも1つの微生物の存在の有無を検出または測定し；そして、対象のマイクロバイオーーム中の少なくとも1つの微生物の存在、非存在、または量の詳細を提供するレポートを作成する。

10

【0065】

[0074] 本開示の代表的方法は、下記の工程のうち少なくとも1つを含むことができる：対象から生体試料を得；対象の生体試料中の微生物のパネルを測定し；測定に基づいて微生物のパネルの存在の有無を検出し；対象のマイクロバイオーームプロファイルを決

【0066】

[0075] 本開示は、対象の疾患状態または療法に対する対象の応答の尤度を予測するための診断アッセイを提供する。この診断アッセイは1以上の微生物の存在を使用して、対象における疾患状態または療法に対する応答の尤度を予測するために使用できる定量スコアを計算することができる。ある適用では、この診断アッセイは1以上の微生物の存在、および1以上の特徴、たとえば年齢、体重、性別、病歴、リスク因子、家族歴、またはその組み合わせを使用して、対象における疾患状態または療法に対する応答の尤度を予測するために使用できる定量スコアを計算することができる。

20

【0067】

[0076] ある適用では、対象のマイクロバイオーームプロファイルにおける1以上の微生物の閾値の低下は、下記のうち1以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。ある態様では、定量スコアの低下は、下記のうち1以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。

30

【0068】

[0077] ある適用では、対象のマイクロバイオーームプロファイルにおける1以上の微生物の閾値の低下は、下記のうち1以上の尤度が低下していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。ある態様では、定量スコアの低下は、下記のうち1以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。

40

【0069】

[0078] ある適用では、対象のマイクロバイオーームプロファイルにおける1以上の微生物の閾値の増大は、下記のうち1以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。ある適用では、1以上の微生物の閾値の低下は、下記のうち1以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、お

50

よび疾患管理のための推奨処置。

【 0 0 7 0 】

[0079] ある適用では、対象のマイクロバイオームプロファイルにおける 1 以上の微生物の閾値の増大は、下記のうち 1 以上の尤度が低下していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。ある適用では、1 以上の微生物の閾値の低下は、下記のうち 1 以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。

【 0 0 7 1 】

[0080] ある適用では、基準プロファイルと類似するマイクロバイオームプロファイルは、下記のうち 1 以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。ある適用では、基準プロファイルと類似しないマイクロバイオームプロファイルは、下記のうち 1 以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。

【 0 0 7 2 】

[0081] ある適用では、基準プロファイルと類似するマイクロバイオームプロファイルは、下記のうち 1 以上の尤度が低下していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。ある適用では、基準プロファイルと類似しないマイクロバイオームプロファイルは、下記のうち 1 以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。

【 0 0 7 3 】

B . 試料

[0082] 生体試料は、自身の 1 以上のマイクロバイオームに関する情報を希望する対象から採取することができる。対象の身体の内臓のいずれかのマイクロバイオームからのいずれかのタイプの試料を本開示の方法、組成物、システム、およびキットに使用することができる。本開示に使用できるマイクロバイオームの例には、皮膚マイクロバイオーム、臍帯マイクロバイオーム、膣マイクロバイオーム、結膜マイクロバイオーム、腸マイクロバイオーム、胃マイクロバイオーム、消化管マイクロバイオーム、および口腔マイクロバイオーム、鼻腔マイクロバイオーム、胃腸管マイクロバイオーム、および尿生殖路マイクロバイオームが含まれるが、これらに限定されない。

【 0 0 7 4 】

[0083] 適用に応じて、生体試料の選択をその特定の適用に合わせて調整することができる。本明細書により提供されるいずれかの方法において、生体試料は、全血、血清、血漿、粘液、唾液、頬スワブ、尿、便、細胞、組織、体液、リンパ液、CNS 液、および病巣浸出物、またはその組合わせであってもよい。

【 0 0 7 5 】

C . 試料調製

[0084] 本明細書において提供される方法、組成物、システム、およびキットに使用できる生体試料は、1 以上の微生物の測定を可能にするために、当該技術分野において公知であるかまたは本明細書に記載するいずれかの手段を用いて処理することができる。試料調製は、下記の工程のうちいずれか 1 つまたは工程の組合わせを含むことができる：1) 最初に、滅菌綿棒を 1 × 滅菌 PBS を入れたチューブに湿潤するまで浸漬させる。2) 組織がその後わずかにピンク色 / 赤色になるのに十分な力で、綿棒を目的領域上で 10 ~ 20 回拭き取る。3) 綿棒を、1.5 mL 滅菌チューブ内の 300 μL の細胞溶解用緩衝液 (本明細書に記載のもの) に穏やかに浸漬させる。4) 綿棒を検査室へ送るためにマイク

10

20

30

40

50

口遠心チューブに入れたままにし、本明細書に示すようにさらに分析する。得られた試料は、室温で一晩かけて送ることができる。

【0076】

[0085] 緩衝液中の細菌細胞の輸送は、それらに関連する固有のバイアスを有する - ある株は試料採取に伴うごくわずかな栄養素で増殖し続けることができるが、他の株はきわめて特異的な環境がなければアポトーシスを生じるであろう。その結果、この様式で輸送された試料はしばしば、細胞統合性に関連する初期プロファイリング/集団バイアスを有する。

【0077】

[0086] 現在の方法は、採取した試料をまず遠心することによって無傷細胞を強くエンリッチする。試料内の無傷細胞から形成される生成ペレットが、次いですべての下流工程のための前駆物質となる。これに対し、本明細書において提供される本方法は、上清（たとえば、既に溶解した細胞からのもの）中に存在するいずれかのDNAを濃縮する精製工程を含む。このDNAを次いで標準的なペレット調製物から抽出したDNAと組み合わせ、この組み合わせがこの時点で下流工程へのより完全な前駆物質を形成する。

【0078】

[0087] 本明細書において提供される方法では、マイクロバイーム試料を直ちに後記の特定の細胞溶解緩衝液カクテルに入れることができ、標準的な緩衝液が室温で3日間安定であるのと異なり、輸送する必要のある試料に十分な時間が得られる。これらの試料を次いで常法どおり処理することができ、DNAは長いリード長のシーケンシングおよびマイクロバイームプロファイリングに用いるために無傷のままであろう。細胞溶解用緩衝液は：20mM Tris, pH 8.0、20mM EDTA、1% SDS、0.5% Tween、1% Triton X-100、および400 µg/mLのプロテイナーゼKを含有する。

【0079】

[0088] 後続のヒトマイクロバイーム試料からのDNAの抽出は数工程を含み、それらのそれぞれが試料の統合性およびアーチファクトであるキメラ分子の生成に関与する。アンプリコン方法について、これらの工程は下記を含むことができる：PCR、試料定量（たとえば、Qubit、ナノドロップ、バイオアナライザーなど）、Blue Pippinサイズ選択、0.5x Ampure精製、試料定量、DNAエンドリペア（end repair）、0.5x Ampure精製、平滑末端アダプターライゲーション、エキソヌクレアーゼ処理、2回の0.5x Ampure精製、および最後のBlue Pippinサイズ選択。マイクロバイームプロファイリングの忠実度を改善するために、試料に応じてこれらの工程のうち1以上を除いてもよい。これはプロファイリングについてのフィードバックループにおいて、既知の模擬コミュニティをテストとして用いることにより、または既知量の非片利共生株を試料に導入することにより、経験的に決定される。

【0080】

[0089] ある適用では、本方法は増幅工程を使用しない。そのような方法の例には、ホールゲノムショットガン（WGS）シーケンシングによるシーケンシングを用いる方法が含まれる。これらの方法は、微生物分布を歪めることが知られている増幅バイアスを排除することによって有益性をもたらすことができる。さらに、そのような方法は、関連要素、たとえば細菌プラスミド、真菌およびウイルスのde novo発見も可能にする。

【0081】

[0090] 本開示の方法の実施には、当業者がなしうる免疫学、生化学、化学、分子生物学、微生物学、細胞生物学、ゲノミクスおよび組換えDNAの一般的手法を利用できる。たとえば、Sambrook, Fritsch and Maniatis、分子クローニング：実験室マニュアル、第4版（2012）；分子生物学の最新プロトコル（F. M. Ausubelら編（1987））；シリーズ METHODS IN ENZYMOLOGY（Academic Press社）：PCR 2：実践的アプローチ（M.

10

20

30

40

50

J. MacPherson, B. D. Hames and G. R. Taylor 編 (1995) ; 動物細胞培養：基本技術と特定用途のマニュアル、第6版 (R. I. Freshney 編 (2010) ; および Langeら、分子システム生物学、第4巻：Article 222 (2008) を参照されたい；これらを本明細書に援用する。たとえば、生体試料の調製は、たとえば細胞または組織からの細胞内物質の抽出または単離、たとえば核酸、タンパク質、または他の高分子の抽出を含むことができる。本開示の方法に使用できる試料調製には、遠心分離、アフィニティークロマトグラフィー、磁気分離、イムノアッセイ、核酸アッセイ、受容体ベースのアッセイ、サイトメトリーアッセイ、比色アッセイ、酵素アッセイ、電気泳動アッセイ、電気化学的アッセイ、分光分析アッセイ、クロマトグラフィーアッセイ、顕微鏡アッセイ、トポグラフィーアッセイ、測熱アッセイ、放射性同位体アッセイ、タンパク質合成アッセイ、組織学的アッセイ、培養アッセイ、およびその組合わせが含まれるが、これらに限定されない。

10

#### 【0082】

[0091] 試料の細胞間隙から核酸および高分子へのアクセスは、一般に物理的方法、化学的方法、または両者の組合わせにより行なうことができる。

[0092] 本明細書に記載する方法に用いる核酸は、いずれかの生体試料から、ゲノムDNAの統合性および連続性を保存する剪断法を用いて単離することができる。

#### 【0083】

[0093] 本開示に使用できる核酸試料には、あらゆるタイプのDNAおよびRNAが含まれる。核酸の長さは、約100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10,000、20,000、30,000、40,000、50,000、60,000、70,000、80,000、90,000、100,000、200,000、300,000、400,000、500,000、600,000、700,000、800,000、900,000、1,000,000、2,000,000、3,000,000、4,000,000、5,000,000、6,000,000、7,000,000、8,000,000、9,000,000、または10,000,000ヌクレオチドまたは塩基対であってもよい。

20

#### 【0084】

[0094] 核酸の「可変領域」にみられる多様性は、ゲノムまたは株を区別する手段を提供することができる。核酸におけるそのような多様性の例には、たとえば下記の多型が含まれるが、それらに限定されない：制限断片長多型、一塩基多型、挿入、欠失、インデル（挿入 - 欠失）、マイクロサテライトリピート、ミニサテライトリピート、短いタンDEMリピート、転位性因子、ランダム増幅多型DNA、および増幅断片長多型。

30

#### 【0085】

##### D. 検出

[0095] マイクロバイオームのプロファイリングは当該技術分野で公知の多様な手段で実施することができ、それらのうちの幾つかを本明細書に示す。ある適用では、マイクロバイオームプロファイリングは1以上の検出手段を含むことができる。

#### 【0086】

40

[0096] ある適用では、シーケンシング法を用いて試料を測定する。特定の適用では、本明細書において提供するPCRプライマーは固有バーコード識別子を含むであろう。ある適用では、バーコード識別子の付加により、本明細書において提供されるコンピューターシステムおよび実行可能コードを用いて多重試料（たとえば、生体試料またはマイクロバイオーム試料）を多重処理することができる。一分子シーケンシングを用いる適用では、本明細書において提供されるように、コンピューターシステムおよび各試料について塩基修飾検出を導くことができる実行可能コードを使用することができる。

#### 【0087】

[0097] ロングリード長を達成するための本開示の方法、システム、およびキットに使用できるシーケンシング技術の例には、Pacific Biosciences製の

50



S M R T (登録商標) シークエンシングシステムが含まれるが、これらに限定されるものではない。特に、S M R T システムは核酸複製の一分子リアルタイム観察に基づいて長さ5000塩基を超える平均リード長をもたらす(たとえば、米国特許第7,056,661号、第7,056,676号、第7,052,847号、および第7,033,764号、ならびにChin CSら、Nonhybrid finished microbial genome assemblies from long read SMRT sequencing data. Nat Methods. 2013 Jun; 10(6): 563-9を参照)。

【0088】

[0098] 本開示に使用できる他のシークエンシングシステムおよび方法には、ロングリード長サンガーシークエンシング法、ロングリードアンサンブルシークエンシング法、たとえばIllumina/Moleculoシークエンシング、および可能性として他の一分子シークエンシング法、たとえばNanoporeシークエンシング技術が含まれるが、これらに限定されない。

【0089】

[0099] ロングリードシークエンシングを本開示の方法に用いる適用では、ロングリードシークエンシングは500塩基より長い、好ましくは800塩基より長い、より好ましくは1000塩基より長い、最も好ましい観点においては1500塩基より長い連続配列リードを提供するシークエンシングを含むことができる。ロングリードシークエンシングは1500塩基より長い、好ましくは2000塩基より長い、より好ましくは3000塩基より長い、および4500塩基より長い連続配列リードを提供するシークエンシングをも含むことができる。

【0090】

[0100] 特に好ましい観点では、一分子リアルタイムシークエンシング法、たとえばPacific Biosciences SMRT技術が好ましい。特に、きわめて長いリード長と一分子解像とを提供することにより、これらのシステムは、たとえばマイクロバイーム試料内の種々の成分を分類するための種々の機会を提供する種々の個々の分子を用いて、分類精度およびきわめて高い多重度の可能性という利点をもたらす。

【0091】

[0101] 一分子リードそれぞれが16Sおよび/または23S領域全体に及ぶので、アセンブリーの必要はない。したがって、バーコード付けおよび多重処理を用いて株/試料当たりのコストを低減することができる。

【0092】

[0102] 本発明に使用できる適切なバーコードには配列番号1~16および配列番号660~742が含まれるが、これらに限定されない。

[0103] 本開示は、混合集団中の微生物を分類するために、ロングリード長、一分子シークエンシングシステムを利用する。得られる「マイクロバイームプロファイル」は、16Sおよび23S領域全体を含む出力を利用して前例のない分類精度をより低コストで達成するであろう。

【0093】

[0104] さらに、本発明はホールゲノムショットガン(WGS)試料を用いてマイクロバイームをプロファイリングする非増幅モードを含む。これにより、問題のあることが知られているバイアスがプロファイリングから排除される。したがって、メタ-ゲノムのいずれの部分からのリードも株識別子として使用することができる。これにより関連要素、たとえば細菌プラスミド、真菌、およびウイルスのde novo発見が可能になる。既知の定常領域の必要性が除かれるので、これにより観察可能性な多様性のレベルも拡大する。アンブリコン法の結果をWGSと比較することにより、アンブリコン法におけるバイアスを補正することができ、特異的増幅のための試料効果の高いアンブリコンバージョンを作製することができる。試料調製に増幅工程が含まれないので、これにより塩基修飾シグナルの利用も可能になる。

## 【 0 0 9 4 】

[00105] リード長および多重性という有益性のほかに、一分子リアルタイムシーケンシングは、特定の微生物のゲノム中に存在する塩基修飾に関する情報を得るためにも有用である。特に、塩基修飾に対して感受性であるロングリード長技術を用いることにより、本開示はこの追加または第5の塩基データを利用して、試料の分析および分類に分類特異性を追加することができる。DNA修飾は遺伝子発現に影響を及ぼすことが知られているので、同一ゲノムではあるが異なる塩基修飾をもつ微生物、たとえば細菌は、別個の活性/宿主相互作用をもつ異なる株とみなすべきであることは明らかである。

## 【 0 0 9 5 】

[00106] リード長および多重性という利点を16S、23Sまたは他のゲノム位置を用いる系統発生的分類の改良に適用するほか、これらの利点はマイクロバイオームの真の発現プロファイルのより完全な描写にも利用できる。したがって、全長転写物シーケンシングは、宿主の健康改善にどの代謝経路が最も関連性が高いかについて、より完全な像を与えるであろう。

## 【 0 0 9 6 】

[00107] マイクロバイオームプロファイリングは核酸マイクロアレイの利用を含むことができる。マイクロバイオームは、マイクロアレイ技術を用いて新鮮な試料または固定した試料のいずれかにおいて測定できる。この方法では、目的とするポリヌクレオチド配列(cDNAs、RNA、mRNAなど、およびオリゴヌクレオチドを含む)をマイクロチップ基材上にプレーティングまたはアレイ化することができる。アレイ化した配列を、次いで基材上のオリゴヌクレオチドに対して相補性をもつ特異的プローブとハイブリダイズさせることができる。アレイ化した配列はPCR増幅した核酸クローンのインサートであってもよく、それらを緻密なアレイ状で基材に付与することができる。

## 【 0 0 9 7 】

[00108] ある適用では、100、500、1,000、2000、3,000、4,000、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000、または10,000より多いヌクレオチド配列を基材に付与することができる。マイクロチップ上にそれぞれ100、500、1,000、2000、3,000、4,000、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000、または10,000要素より多く固定化されたマイクロアレイ化した遺伝子、可変領域、遺伝子間領域、または他の目的領域が、ストリンジェント条件下でのハイブリダイゼーションに適切な可能性がある。

## 【 0 0 9 8 】

[00109] 蛍光性ヌクレオチドを取り込ませることにより蛍光標識プローブを作製することができる。標識プローブを次いでチップに付与し、アレイの各スポットに特異的にハイブリダイズさせることができる。ストリンジェント洗浄して非特異的に結合しているプローブを除去した後、マイクロアレイチップを共焦点レーザー顕微鏡などの機器により、または他の検出方法、たとえばCCDカメラによりスキャンすることができる。アレイ化エレメントそれぞれのハイブリダイゼーションの定量により、対応する存在量を査定することができる。2色蛍光を用いると、1より多い核酸源から作製した個別標識されたプローブをアレイにハイブリダイズさせることができる。特定した各遺伝子に対応する核酸源の相対存在量をこうして決定できる。マイクロアレイ読出しの解析は、市販の装置により実施することができる。

## 【 0 0 9 9 】

[00110] マイクロバイオームプロファイリングは、バイオチップの使用をさらに含むことができる。バイオチップは多数の高分子をスクリーニングするために使用することができる。バイオチップは固定化した核酸分子、全長タンパク質、抗体、アフィニティ(モノクローナル抗体を模倣するために工学的に作製された小分子)、アプタマー(核酸ベースのリガンド)、または化合物を用いて設計することができる。チップは多重の高分子タイプを1チップ上で検出するように設計することができる。たとえば、チップは核酸分子、タンパク質、および代謝産物を1チップ上で検出するように設計することができる。

イオチップは、単一試料中の微生物パネルを同時に分析するように使用および設計することができる。

【 0 1 0 0 】

[00111] ある適用では、マイクロバイームプロファイリングは、タンパク質マイクロアレイの使用を含むことができる。タンパク質マイクロアレイは、本開示に使用できる特定タイプのバイオチップであってもよい。チップは、スライドガラス、ニトロセルロース膜、ビーズ、またはマイクロタイタープレートなどの支持体表面を含むことができ、それに捕捉タンパク質のアレイをアレイ状に固体表面に結合させることができる。タンパク質アレイ検出方法は、高い信号および低いバックグラウンドを与えることができる。一般に蛍光色素で標識された検出プローブ分子を、アレイに付加することができる。プローブと固定化タンパク質のいずれかの反応が検出可能な信号を発生することができる。そのようなタンパク質マイクロアレイは迅速であり、自動化することができ、微生物読出し上にあることが知られている診断検査用としてのタンパク質マーカーの高い感度をもたらすことができる。

10

【 0 1 0 1 】

[00112] ある適用では、マイクロバイームプロファイリングは、分析用タンパク質マイクロアレイの使用を含むことができ、それらは抗体、アプタマー、またはアフィニティのライブラリーを用いて構築することができる。このアレイは、それらに特異的に結合するタンパク質分子を捕捉することにより、生体試料からの複雑なタンパク質溶液を調べることができる。生じた結合反応を多様な検出システムで分析することにより、試料中の特定のタンパク質の発現レベルについての情報ならびに結合の親和性および特異性の測定値を得ることができる。このタイプのタンパク質マイクロアレイは、異なる試料中のタンパク質発現を比較する際に特に有用な可能性がある。機能性タンパク質マイクロアレイは、多数の精製した全長機能性タンパク質またはタンパク質ドメインを固定化することにより構築することができ、タンパク質 - タンパク質、タンパク質 - DNA、タンパク質 - RNA、タンパク質 - リン脂質、およびタンパク質 - 小分子の相互作用を同定するために、酵素活性をアッセイするために、または抗体を検出してそれらの特異性を証明するために使用することができる。これらのタンパク質マイクロアレイバイオチップを用いて、試料中の全プロテオームの生化学活性を調べることができる。

20

【 0 1 0 2 】

[00113] ある適用では、マイクロバイームプロファイリングは逆相タンパク質マイクロアレイ ( R P A ) の使用を含むことができる。逆相タンパク質マイクロアレイは組織および細胞の溶解物から構築することができ、それらをマイクロアレイ上にアレイ化し、そして目的とする標的タンパク質に対する抗体で調べることができる。これらの抗体を化学発光、蛍光、または比色アッセイで検出することができる。タンパク質を定量できるように、溶解物中のタンパク質のほかに、基準となる対照ペプチドをスライド上にプリントすることができる。

30

【 0 1 0 3 】

[00114] ある適用では、マイクロバイームプロファイリングは、デジタル P C R デバイスまたは d r o p l e t   d i g i t a l   P C R デバイスの使用をさらに含むことができる。D r o p l e t   d i g i t a l   P C R を用いて、生体試料中の DNA、RNA、またはタンパク質などの分子をコンパートメントへ分配し、そのコンパートメント内の分子を同定および測定することができる。各ドロップレットの取り調べにより、その生体試料中に存在する分子の数および測定値を得ることができる。

40

【 0 1 0 4 】

E . プライマーおよびプローブ

[00115] 1 6 S リボソーム RNA 遺伝子の解析は微生物の多様性を理解するために使用できる 1 つの方法である。適用できる他の方法は、2 3 S リボソーム RNA 遺伝子の解析である。これらの解析の精度は、プライマーの選択に強く依存する。

【 0 1 0 5 】

50

[00116] プライマーは、当該技術分野で周知の方法を用いた、適切な配列のクローニングおよび直接化学合成を含めた多様な方法により作製できるが、これらに限定されるものではない(Narangら、Methods Enzymol. 68:90(1979); Brownら、Methods Enzymol. 68:109(1979))。プライマーは、Integrated DNA Technologies、Operon Technologies、アマシャム・ファルマシア・バイオテック、シグマ、およびライフテクノロジーズなどの業者から入手することもできる。さらに、プライマーを設計するためにコンピュータープログラムを使用することもでき、それにはArray Designer Software(Arrayit社)、遺伝子解析のためのオリゴプローブ設計ソフトウェア(オリンパス光学工業株式会社)、NetPrimer、およびDNAsis(日立ソフトウェアエンジニアリング製)が含まれるが、これらに限定されるものではない。

10

**【0106】**

[00117] 16SリボソームRNA遺伝子の解析に使用できるプライマーには配列番号17~24が含まれるが、これらに限定されない。

[00118] 16SリボソームRNA遺伝子の解析に使用できるプライマーには配列番号17~24および646~656が含まれるが、これらに限定されない。

**【0107】**

[00119] 23SリボソームRNA遺伝子の解析に使用できるプライマーには配列番号25~67および657~659が含まれるが、これらに限定されない。

20

[00120] 微生物の多様性はさらに、16SリボソームRNAと23SリボソームRNAとの間の遺伝子間領域を解析する方法により記述できる。16SリボソームRNAと23SリボソームRNAとの間の遺伝子間領域を解析するために使用できるプライマーには配列番号270~364(フォワード遺伝子間プライマー)および配列番号551~645(リバーシ遺伝子間プライマー)が含まれるが、これらに限定されない。

**【0108】**

[00121] 16SリボソームRNAおよび23SリボソームRNA中の可変領域を特異的に増幅および同定するために設計できるプライマーには配列番号87~180(フォワード16Sプライマー)、配列番号181~269(フォワード23Sプライマー)、配列番号365~461(リバーシ16Sプライマー)、および配列番号462~550(リバーシ23Sプライマー)が含まれるが、これらに限定されない。微生物中に同定された可変領域または同様な識別遺伝子配列を特異的に増幅するためのプライマーを設計することができる。

30

**【0109】**

[00122] 本明細書に記載するプライマーまたはプローブには、本明細書に記載する核酸配列のいずれかに対して少なくとも50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の相同性を有するポリヌクレオチドも含めることができる。

40

**【0110】**

[00123] 本明細書に記載するプライマーまたはプローブには、本明細書に記載する核酸配列のいずれかに対して少なくとも50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の相同性を有するポリペプチドも含

50

めることができる。

#### 【0111】

[00124] ある適用において、具体的な適用に応じてプライマーまたはプローブの配列に制限部位を導入することが有用な可能性がある。本開示の方法に使用できる制限酵素の例には下記のものが含まれるが、それらに限定されない：AatII、Acc65I、AccI、AciI、AclI、AcuI、AfeI、AflII、AflIII、AgeI、AhdI、AleI、AluI、AlwI、AlwNI、ApaI、ApaLI、ApeKI、ApoI、AscI、AseI、AsiSI、AvaI、AvaII、AvrII、BaeGI、BaeI、BamHI、BanI、BanII、BbsI、BbvCI、BbvI、BccI、BceAI、BcgI、BciVI、BclI、BfaI、BfuAI、BfuCI、BglI、BglII、BlpI、BmgBI、BmrI、BmtI、BpmI、Bpu10I、BpuEI、BsaAI、BsaBI、BsaHI、BsaI、BsaJI、BsaWI、BsaXI、BseRI、BseYI、BsgI、BsiEI、BsiHKAII、BsiWI、BslI、BsmAI、BsmBI、BsmFI、BsmI、BsoBI、Bsp1286I、BspCNI、BspDI、BspEI、BspHI、BspMI、BspQI、BsrBI、BsrDI、BsrFI、BsrGI、BsrI、BssHII、BssKI、BssSI、BstAPI、BstBI、BstEII、BstNI、BstUI、BstXI、BstYI、BstZ17I、Bsu36I、BtgI、BtgZI、BtsCI、BtsI、Cac8I、ClaI、CspCI、CviAII、CviKI-1、CviQI、DdeI、DpnI、DpnII、DraI、DraII、DrdI、EaeI、EagI、EarI、EciI、Eco53kI、EcoNI、EcoO109I、EcoP15I、EcoRI、EcoRV、FatI、FauI、Fnu4HI、FokI、FseI、FspI、HaeII、HaeIII、HgaI、HhaI、HincII、HindIII、HinfI、HinpI、HpaI、HpaII、HphI、Hpy166II、Hpy188I、Hpy188III、Hpy99I、HpyAV、HpyCH4II、HpyCH4IV、HpyCH4V、KasI、KpnI、MboI、MboII、MfeI、MluI、MlyI、MmeI、MnlI、MscI、MseI、MslI、MspA1I、MspI、MwoI、NaeI、NarI、Nb.BbvCI、Nb.BsmI、Nb.BsrDI、Nb.BtsI、NciI、NcoI、NdeI、NgoMIV、NheI、NlaIII、NlaIV、NmeAIII、NotI、NruI、NsiI、NspI、Nt.AlwI、Nt.BbvCI、Nt.BsmAI、Nt.BspQI、Nt.BstNBI、Nt.CviPII、PacI、Paer7I、PciI、PflFI、PflMI、PhoI、PleI、PmeI、PmlI、PpuMI、PshAI、PsiI、PspGI、PspOMI、PspXI、PstI、PvuI、PvuII、RsaI、RsrII、SacI、SacII、SalI、SapI、Sau3AI、Sau96I、SbfI、ScaI、ScrFI、SexAI、SfaNI、SfcI、SfiI、SfoI、SgrAI、SmaI、SmlI、SnaBI、SpeI、SphI、SspI、StuI、StyD4I、StyI、SwaI、T、TaqI、TfiI、TliI、TseI、Tsp45I、Tsp509I、TspMI、TspRI、Tth111I、XbaI、XcmI、XhoI、XmaI、XmnI、およびZraI。

#### 【0112】

[00125] ある適用において、具体的な適用に応じてプライマーまたはプローブの配列にバーコードを取り込ませることが有用な可能性がある。本発明に使用できるバーコードの例を本明細書に示す。生体試料のバーコード付けは、本明細書において提供するアッセイの多重化を容易にするために使用できる。生体試料のバーコード付けは、検出手段としてシーケンシングを用いる本明細書に記載の方法に使用することができる。

#### 【0113】

F. アルゴリズムベースの方法

[00126] 本開示は、対象の診断用マイクロバイームプロファイルを構築するための

機械学習アルゴリズムを提供する。適用に応じて、診断用マイクロバイームプロファイルはマイクロバイームプロファイルからスコアを作成でき、それは基準マイクロバイームプロファイルとの比較であってもよく、規定の閾値を超えたマイクロバイームプロファイルのレベル、またはその組合わせであってもよい。

【0114】

[00127] 本開示は、より高いエラー率の一分子プラットフォームを利用するシーケンシング法を含む。これらのシステムは非同期性 (asynchronous) であり、したがってマイクロバイームを構成する複雑な株を適正に分類するのに必要なロングリード長を提供する。

【0115】

[00128] アンプリコンシーケンシング (16S、23S、および他のマーカー遺伝子) の場合、適正なプライマー配向、対合および完全性を得るためにこのプラットフォームから得られた生データをまずフィルタリングする。得られた分子を次いで品質に基づいてフィルタリングする (0.95、0.99、0.999 などより大きな品質閾値が可能である)。次いでこれらの分子が de novo クラスターを確立するために用いられるリードの基礎セットを形成し、既知の基準データベースと直接比較することができる。既知の基準データベースと部分的にマッチするにすぎない分子を新規ヒットデータベース (novel hit database) に追加する。> 1, 000 塩基のストリンジェントリード長閾値は、偽リードが誤って新規ヒットデータベースに取り込まれるのを阻止する。経験的に (模擬コミュニティまたは非片利共生性の導入株を用いて) 決定したエラー重み付けをクラスタリングに際して用いて、クラスタリングに影響を及ぼすプラットフォーム特異的なシーケンシングアーチファクトの影響を最小限に抑える。

【0116】

[00129] WGS の場合、経験的に (模擬コミュニティまたは非片利共生性の導入株を用いて) 決定したカットオフリード長および精度を用い、それらを最大感度閾値にマッチさせる。得られた分子を次いで品質に基づいてフィルタリングする (0.95、0.99、0.999 などより大きな品質閾値が可能である)。次いでこれらの分子は de novo クラスターを確立するために用いられるリードの基礎セットを形成し、既知の基準データベースと直接比較することができる。既知の基準データベースと部分的にマッチするにすぎない分子を新規ヒットデータベースに追加する。> 1, 000 塩基のストリンジェントリード長閾値は、偽リードが誤って新規ヒットデータベースに取り込まれるのを阻止する。経験的に (模擬コミュニティまたは非片利共生性の導入株を用いて) 決定したエラー重み付けをクラスタリングに際して用いて、クラスタリングに影響を及ぼすプラットフォーム特異的なシーケンシングアーチファクトの影響を最小限に抑える。

【0117】

[00130] 使用できる機械学習アルゴリズムの例には下記のものが含まれるが、それらに限定されない: エラスティックネットワーク (elastic network)、ランダムフォレスト (random forest)、サポートベクターマシン (support vector machine)、およびロジスティック回帰。本明細書において提供するアルゴリズムは重要な微生物の選択を補助することができ、基礎となる測定値を、たとえば疾患リスク、疾患尤度、疾患の存在の有無、処置に対する応答、および/または疾患状態の分類に関係するスコアまたは確率に変換することができる。

【0118】

[00131] 本明細書に記載する方法、キット、およびシステムはいずれも、対象の疾患状態または療法に対する対象の応答の尤度を予測するために診断アッセイを利用することができる。診断アッセイは、1 以上の微生物の存在を用いて、対象の疾患状態または療法に対する応答の尤度を予測するために使用できる定量スコアを計算することができる。診断アッセイは、1 以上の微生物の存在および 1 以上の特徴、たとえば年齢、体重、性別、病歴、リスク因子、家族歴を用いて、対象の疾患状態または療法に対する応答の尤度を予測するために使用できる定量スコアを計算することができる。

## 【 0 1 1 9 】

[00132] ある適用では、診断アッセイにおけるスコアの増大は、下記のうち 1 以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。ある態様では、定量スコアの低下は、下記のうち 1 以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。

## 【 0 1 2 0 】

[00133] ある適用では、診断アッセイにおけるスコアの低下は、下記のうち 1 以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。ある態様では、定量スコアの低下は、下記のうち 1 以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。

10

## 【 0 1 2 1 】

[00134] ある適用では、診断アッセイにおける基準プロファイルと類似するマイクロバイオームプロファイルは、下記のうち 1 以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。ある適用では、基準プロファイルと類似しないマイクロバイオームプロファイルは、下記のうち 1 以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。

20

## 【 0 1 2 2 】

[00135] ある適用では、診断アッセイにおける 1 以上の微生物の閾値の増大は、下記のうち 1 以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。ある適用では、1 以上の微生物の閾値の低下は、下記のうち 1 以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。

30

## 【 0 1 2 3 】

[00136] ある適用では、診断アッセイにおける 1 以上の微生物の閾値の低下は、下記のうち 1 以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。ある適用では、1 以上の微生物の閾値の低下は、下記のうち 1 以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。

## 【 0 1 2 4 】

[00137] 本開示は、処置方法を提供する。本明細書において、対象にそれらのマイクロバイオームプロファイリングに基づいて一般的処置を推奨する方法、および対象特異的処置を推奨する方法を提供する。処置方法は、下記の工程のうち 1 以上を含むことができる：少なくとも 1 対象から得た生体試料における第 2 マイクロバイオームプロファイルに対する対象特異的マイクロバイオームプロファイルのレベルの第 1 比を決定し；その決定に基づいて対象における疾患の存在の有無を検出し；そして、対象に疾患の症状を改善するための少なくとも 1 つの一般的処置または対象特異的処置を推奨する。

40

## 【 0 1 2 5 】

[00138] 本明細書に記載する診断用マイクロバイオームプロファイル、対象特異的マイクロバイオームプロファイル、または療法剤 / 化粧品はいずれも、下記の微生物のうち 1 以上を含むことができるが、それらに限定されない：アビトロフィア、アビトロフィア

50

・デフェクティブ、アビトロフィア、アセトアナエロバクテリウム、アセトアナエロバクテリウム・エロンガツム、アセトアナエロバクテリウム、アセチビブリオ、アセチビブリオ・バクテリウム (*Acetivibrio bacterium*)、アセチビブリオ、アセトバクテリウム、アセトバクテリウム、アセトバクテリウム・ウッディイ、アコレプラズマ (*Acholeplasma*)、アコレプラズマ、アシダミノコッカス、アシダミノコッカス・フェルメンタンス、アシダミノコッカス、アシディアヌス、アシディアヌス・ブリエレイ、アシディアヌス、アシドボラクス、アシドボラクス、アシネトバクター、アシネトバクター・ギロイア (*Acinetobacter guillouiae*)、アシネトバクター・ジュニイ、アシネトバクター、アクチノパチルス、アクチノパチルス M 1 9 3 3 / 9 6 / 1、アクチノマイセス、アクチノマイセス I C M 3 4、アクチノマイセス I C M 4 1、アクチノマイセス I C M 5 4、アクチノマイセス・リングネ (*Actinomyces lingnae*)、アクチノマイセス・オドントリチカス (*Actinomyces odontolyticus*)、アクチノマイセス・オラル (*Actinomyces oral*)、アクチノマイセス p h 3、アクチノマイセス、アドレルクロイチア (*Adlercreutzia*)、アドレルクロイチア・エクオリファシエンス (*Adlercreutzia equolifaciens*)、アドレルクロイチア・インテスティナル (*Adlercreutzia intestinal*)、アドレルクロイチア、アエロコッカス、アエロコッカス、アエロモナス、アエロモナス 1 6 5 C、アエロモナス・ハイドロフィラ、アエロモナス・ハイドロフィラ、アエロモナス R C 5 0、アエロモナス、アエロピルム、アエロピルム・ペルニックス、アエロピルム、アグレガチバクター (*Aggregatibacter*)、アグレガチバクター、アグレイア、アグレイア・ピコロラタ、アグレイア、アグロモナス、アグロモナス C S 3 0、アッカーマンシア、アッカーマンシア・ムシニフィラ、アッカーマンシア、アリスティペス、アリスティペス A N H、アリスティペス A P 1 1、アリスティペス・バクテリウム (*Alistipes bacterium*)、アリスティペス C C U G、アリスティペス D J F \_ B 1 8 5、アリスティペス D S M、アリスティペス E B A 6 - 2 5 c l 2、アリスティペス・ファインゴールディイ、アリスティペス・インディスティンクタス (*Alistipes indistinctus*)、アリスティペス J C 1 3 6、アリスティペス N M L 0 5 A 0 0 4、アリスティペス・オンデルドンキイ (*Alistipes onderdonkii*)、アリスティペス・ピュトレディニス、アリスティペス R M A、アリスティペス・セネガレンシス (*Alistipes senegalensis*)、アリスティペス・シャヒイ (*Alistipes shahii*)、アリスティペス・スマルラブ (*Alistipes Smarlab*)、アリスティペス、アルカリバクulum (*Alkalibaculum*)、アルカリバクulum、アルカリフレックス、アルカリフレックス、アリソネラ、アリソネラ・ヒスタミニフォルマンス、アリソネラ、アロスカルドビア (*Alloscardovia*)、アロスカルドビア・オムニコレンス (*Alloscardovia omnicoles*)、アナエロフィルム、アナエロフィルム、アナエロフスティス、アナエロフスティス・ステルコリホミニス、アナエロフスティス、アナエロプラズマ、アナエロプラズマ、アナエロスティペス (*Anaerostipes*)、アナエロスティペス 0 8 9 6 4、アナエロスティペス 1 y - 2、アナエロスティペス 4 9 4 a、アナエロスティペス 5 \_ 1 \_ 6 3 F A A、アナエロスティペス A I P、アナエロスティペス・バクテリウム (*Anaerostipes bacterium*)、アナエロスティペス・ブチラチカス (*Anaerostipes butyraticus*)、アナエロスティペス・カカエ、アナエロスティペス・ハドルム (*Anaerostipes hadrum*)、アナエロスティペス I E 4、アナエロスティペス・インドリス (*Anaerostipes indolis*)、アナエロスティペス、アナエロツルンカス、アナエロツルンカス・コリホミニス、アナエロツルンカス N M L、アナエロツルンカス、アキンコラ (*Aquincola*)、アキンコラ、アルコバクター、アルコバクター、アルスロバクター、アルスロバクター F V 1 - 1、アサッカロバクター (*Asaccharobacter*)、アサッカロバクター・セラタス (*Asaccharobacter celatus*)、アサッカロバクター、アステロレプラズマ、アステロレプラズマ、アトポバクター、アトポバクター・フォカエ、アトポビウム、アトポビウム・パルブルム、アトポビウム・リマエ、アトポビウム、バクテリオボラックス、バクテリオボラックス、バクテロイデス、バクテロイデス 3 1 S F 1 8、バクテロイデス 3 2 6 - 8、バクテロイデス 3 5 A E 3 1、バクテロイデス 3 5 A E 3 7、バクテロイデス 3 5 B E 3 4、バクテロイデス 4 0 7 2、バクテロイデス 7 8 5 3、バクテロイデス・アシディファシエンス、バクテロイデス A P 1、バ

10

20

30

40

50



クテロイデス A R 2 0、バクテロイデス A R 2 9、バクテロイデス B 2、バクテロイデス  
 ・バクテリウム (*Bacteroides bacterium*)、バクテロイデス・バルネシエ (*Bacteroides*  
*barnesiae*)、バクテロイデス B L B E - 6、バクテロイデス B V - 1、バクテロイデス  
 ・カカエ、バクテロイデス・カネルキャットフィッシュ (*Bacteroides CannelCatfish*)  
 9、バクテロイデス・セルロシリチカス (*Bacteroides cellulosilyticus*)、バクテロイ  
 デス・チンチレ (*Bacteroides chinchillae*)、バクテロイデス C I P 1 0 3 0 4 0、バ  
 クテロイデス・クラルス (*Bacteroides clarus*)、バクテロイデス・コプロコーラ、バク  
 テロイデス・コプロフィルス (*Bacteroides coprophilus*)、バクテロイデス D 8、バク  
 テロイデス D J F \_ B 0 9 7、バクテロイデス d n L K V 2、バクテロイデス d n L K V  
 7、バクテロイデス d n L K V 9、バクテロイデス・ドレイ (*Bacteroides dorei*)、バ  
 クテロイデス E B A 5 - 1 7、バクテロイデス・エガーシイ、バクテロイデス・エンリッ  
 チメント (*Bacteroides enrichment*)、バクテロイデス F - 4、バクテロイデス・フェシ  
 チンチレ (*Bacteroides faecichinchillae*)、バクテロイデス・フェシス (*Bacteroides*  
*faecis*)、バクテロイデス・フェーカル (*Bacteroides fecal*)、バクテロイデス・ファ  
 インゴルディイ (*Bacteroides finegoldii*)、バクテロイデス・フラギリス、バクテロイ  
 デス・ガリナラム (*Bacteroides gallinarum*)、バクテロイデス・ヘリコゲネス、バクテ  
 ロイデス i c 1 2 9 2、バクテロイデス・インテスティナリス、バクテロイデス・マシ  
 リエンシス、バクテロイデス・ムプニソレート (*Bacteroides mpnisolate*)、バクテロイ  
 デス N B - 8、バクテロイデス・ニュー (*Bacteroides new*)、バクテロイデス n l a e  
 z l c 1 3、バクテロイデス n l a e z l c 1 5 8、バクテロイデス n l a e z l c 1 5  
 9、バクテロイデス n l a e z l c 1 6 1、バクテロイデス n l a e z l c 1 6 3、バク  
 テロイデス n l a e z l c 1 6 7、バクテロイデス n l a e z l c 1 7 2、バクテロイデ  
 ス n l a e z l c 1 8、バクテロイデス n l a e z l c 1 8 2、バクテロイデス n l a e  
 z l c 1 9 0、バクテロイデス n l a e z l c 1 9 8、バクテロイデス n l a e z l c 2  
 0 4、バクテロイデス n l a e z l c 2 0 5、バクテロイデス n l a e z l c 2 0 6、バ  
 クテロイデス n l a e z l c 2 0 7、バクテロイデス n l a e z l c 2 1 1、バクテロイ  
 デス n l a e z l c 2 1 8、バクテロイデス n l a e z l c 2 5 7、バクテロイデス n l  
 a e z l c 2 6 0、バクテロイデス n l a e z l c 2 6 1、バクテロイデス n l a e z l  
 c 2 6 3、バクテロイデス n l a e z l c 3 0 8、バクテロイデス n l a e z l c 3 1 5  
 、バクテロイデス n l a e z l c 3 2 2、バクテロイデス n l a e z l c 3 2 4、バクテ  
 ロイデス n l a e z l c 3 3 1、バクテロイデス n l a e z l c 3 3 9、バクテロイデス  
 n l a e z l c 3 6、バクテロイデス n l a e z l c 3 6 7、バクテロイデス n l a e z  
 l c 3 7 5、バクテロイデス n l a e z l c 3 7 6、バクテロイデス n l a e z l c 3 8  
 0、バクテロイデス n l a e z l c 3 9 1、バクテロイデス n l a e z l c 4 5 9、バク  
 テロイデス n l a e z l c 4 8 4、バクテロイデス n l a e z l c 5 0 1、バクテロイデ  
 ス n l a e z l c 5 0 4、バクテロイデス n l a e z l c 5 1 5、バクテロイデス n l a  
 e z l c 5 1 9、バクテロイデス n l a e z l c 5 3 2、バクテロイデス n l a e z l c  
 5 5 7、バクテロイデス n l a e z l c 5 7、バクテロイデス n l a e z l c 5 7 4、バ  
 クテロイデス n l a e z l c 5 9 2、バクテロイデス n l a e z l g 1 0 5、バクテロイ  
 デス n l a e z l g 1 1 7、バクテロイデス n l a e z l g 1 2 7、バクテロイデス n l  
 a e z l g 1 3 6、バクテロイデス n l a e z l g 1 4 3、バクテロイデス n l a e z l  
 g 1 5 7、バクテロイデス n l a e z l g 1 6 7、バクテロイデス n l a e z l g 1 7 1  
 、バクテロイデス n l a e z l g 1 8 7、バクテロイデス n l a e z l g 1 9 4、バクテ  
 ロイデス n l a e z l g 1 9 5、バクテロイデス n l a e z l g 1 9 9、バクテロイデス  
 n l a e z l g 2 0 9、バクテロイデス n l a e z l g 2 1 2、バクテロイデス n l a e  
 z l g 2 1 3、バクテロイデス n l a e z l g 2 1 8、バクテロイデス n l a e z l g 2  
 2 1、バクテロイデス n l a e z l g 2 2 8、バクテロイデス n l a e z l g 2 3 4、バ  
 クテロイデス n l a e z l g 2 3 7、バクテロイデス n l a e z l g 2 4、バクテロイデ  
 ス n l a e z l g 2 4 5、バクテロイデス n l a e z l g 2 5 7、バクテロイデス n l a  
 e z l g 2 7、バクテロイデス n l a e z l g 2 8 5、バクテロイデス n l a e z l g 2

10

20

30

40

50

50

9、バクテロイデス n l a e z l p 3 0 1、バクテロイデス n l a e z l p 3 0 2、バク  
 テロイデス n l a e z l p 3 0 4、バクテロイデス n l a e z l p 3 1 7、バクテロイデ  
 ス n l a e z l p 3 1 9、バクテロイデス n l a e z l p 3 2、バクテロイデス n l a e  
 z l p 3 3 2、バクテロイデス n l a e z l p 3 4 9、バクテロイデス n l a e z l p 3  
 5、バクテロイデス n l a e z l p 3 5 6、バクテロイデス n l a e z l p 3 7 0、バク  
 テロイデス n l a e z l p 3 7 1、バクテロイデス n l a e z l p 3 7 6、バクテロイデ  
 ス n l a e z l p 3 9 5、バクテロイデス n l a e z l p 4 0 2、バクテロイデス n l a  
 e z l p 4 0 3、バクテロイデス n l a e z l p 4 0 9、バクテロイデス n l a e z l p  
 4 1 2、バクテロイデス n l a e z l p 4 3 6、バクテロイデス n l a e z l p 4 3 8、  
 バクテロイデス n l a e z l p 4 4 0、バクテロイデス n l a e z l p 4 4 7、バクテロ  
 イデス n l a e z l p 4 4 8、バクテロイデス n l a e z l p 4 5 1、バクテロイデス n  
 l a e z l p 4 7 6、バクテロイデス n l a e z l p 4 7 8、バクテロイデス n l a e z  
 l p 4 8 3、バクテロイデス n l a e z l p 4 8 9、バクテロイデス n l a e z l p 4 9  
 3、バクテロイデス n l a e z l p 5 5 7、バクテロイデス n l a e z l p 5 5 9、バク  
 テロイデス n l a e z l p 5 6 4、バクテロイデス n l a e z l p 5 6 5、バクテロイデ  
 ス n l a e z l p 5 7 2、バクテロイデス n l a e z l p 5 7 3、バクテロイデス n l a  
 e z l p 5 7 6、バクテロイデス n l a e z l p 5 9 1、バクテロイデス n l a e z l p  
 5 9 2、バクテロイデス n l a e z l p 6 3 1、バクテロイデス n l a e z l p 6 3 3、  
 バクテロイデス n l a e z l p 6 9 6、バクテロイデス n l a e z l p 7、バクテロイデ  
 ス n l a e z l p 7 2 0、バクテロイデス n l a e z l p 7 3 0、バクテロイデス n l a  
 e z l p 7 3 6、バクテロイデス n l a e z l p 7 3 7、バクテロイデス n l a e z l p  
 7 5 4、バクテロイデス n l a e z l p 7 5 9、バクテロイデス n l a e z l p 7 7 4、  
 バクテロイデス n l a e z l p 8 2 8、バクテロイデス n l a e z l p 8 5 4、バクテロ  
 イデス n l a e z l p 8 6 0、バクテロイデス n l a e z l p 8 8 6、バクテロイデス n  
 l a e z l p 8 8 7、バクテロイデス n l a e z l p 9 0 0、バクテロイデス n l a e z  
 l p 9 0 9、バクテロイデス n l a e z l p 9 1 3、バクテロイデス n l a e z l p 9 1  
 6、バクテロイデス n l a e z l p 9 2 0、バクテロイデス n l a e z l p 9 6、バクテ  
 ロイデス・ノルディイ、バクテロイデス・オレイシプレヌス (*Bacteroides oleiciplenus*)  
 )、バクテロイデス・オバツス、バクテロイデス・パウロサッカロリティカス (*Bacteroi*  
*des paurosaccharolyticus*)、バクテロイデス・プレビウス、バクテロイデス R 6、バク  
 テロイデス・ロデンチウム (*Bacteroides rodentium*)、バクテロイデス S - 1 7、バク  
 テロイデス S - 1 8、バクテロイデス・セイリヤーシアエ、バクテロイデス S L C 1 - 3  
 8、バクテロイデス・スマルラブ (*Bacteroides Smarlab*)、バクテロイデス・スマルラ  
 ブ (*Bacteroides 'Smarlab*)、バクテロイデス・スターコリロソリス (*Bacteroides ster*  
*corirosoris*)、バクテロイデス・スターコリス、バクテロイデス s t r、バクテロイデ  
 ス・シータイオタオミクロン、バクテロイデス T P - 5、バクテロイデス、バクテロイデ  
 ス・ユニフォルミス、バクテロイデス・ブルガータス、バクテロイデス W A 1、バクテロ  
 イデス W H 2、バクテロイデス W H 3 0 2、バクテロイデス W H 3 0 5、バクテロイデス  
 X B 1 2 B、バクテロイデス X B 4 4 A、バクテロイデス X O 7 7 B 4 2、バクテロイデ  
 ス・キシラニソルベンス (*Bacteroides xylanisolvans*)、バルネシエラ (*Barnesiella*)  
 )、バルネシエラ・インテスティニホミニス (*Barnesiella intestinihominis*)、バルネシ  
 エラ N S B 1、バルネシエラ、バルネシエラ・ビスセリコラ (*Barnesiella viscericola*  
 )、ババリイコッカス (*Bavariicoccus*)、ババリイコッカス、ブデロビブリオ、ブデロ  
 ビブリオ・オラル (*Bdellovibrio oral*)、ベルゲリエラ、ベルゲリエラ、ビフィドバク  
 テリウム、ビフィドバクテリウム 1 0 3、ビフィドバクテリウム 1 0 8、ビフィドバクテ  
 リウム 1 1 3、ビフィドバクテリウム 1 2 0、ビフィドバクテリウム 1 3 8、ビフィドバク  
 テリウム 3 3、ビフィドバクテリウム A c b b t o 5、ビフィドバクテリウム・アドレ  
 スセンティス、ビフィドバクテリウム A m s b b t 1 2、ビフィドバクテリウム・アンギ  
 ユラツム、ビフィドバクテリウム・アニマーリス、ビフィドバクテリウム・バクテリウム  
 (*Bifidobacterium bacterium*)、ビフィドバクテリウム・ビフィダム、ビフィドバクテ

10

20

30

40

50

リウム B i s n 6、ビフィドバクテリウム B m a 6、ビフィドバクテリウム・ブレーベ、  
 ビフィドバクテリウム・カテヌラツム、ビフィドバクテリウム・コエリナム、ビフィドバ  
 クテリウム・コリネフォルメ、ビフィドバクテリウム・デンティウム、ビフィドバクテリ  
 ウム D J F \_ W C 4 4、ビフィドバクテリウム F - 1 0、ビフィドバクテリウム F - 1 1  
 、ビフィドバクテリウム群、ビフィドバクテリウム h 1 2、ビフィドバクテリウム H M L  
 N 1、ビフィドバクテリウム H M L N 1 2、ビフィドバクテリウム H M L N 5、ビフィド  
 バクテリウム i a r f r 2 3 4 1 d、ビフィドバクテリウム i a r f r 6 4 2 d 4 8、ビ  
 フィドバクテリウム i c 1 3 3 2、ビフィドバクテリウム・インディカム、ビフィドバク  
 テリウム・カシワノヘンス (Bifidobacterium kashiwanohense)、ビフィドバクテリウム  
 L I S L U C I I I - 2、ビフィドバクテリウム・ロングム、ビフィドバクテリウム M 4  
 5、ビフィドバクテリウム・メリシカム、ビフィドバクテリウム・ミニナム (Bifidobact  
 erium minimum)、ビフィドバクテリウム M S X 5 B、ビフィドバクテリウム・オラル (B  
 ifidobacterium oral)、ビフィドバクテリウム P G 1 2 A、ビフィドバクテリウム P L  
 1、ビフィドバクテリウム・シュードカテヌラツム、ビフィドバクテリウム・シュードロ  
 ングム、ビフィドバクテリウム・プロラム、ビフィドバクテリウム・ルミナンティウム、  
 ビフィドバクテリウム S - 1 0、ビフィドバクテリウム・サエクラレ、ビフィドバクテリ  
 ウム・サグイニ (Bifidobacterium saguini)、ビフィドバクテリウム・スカルドビイ、  
 ビフィドバクテリウム・シミア (Bifidobacterium simiae)、ビフィドバクテリウム S L  
 P Y G - 1、ビフィドバクテリウム・ステレンボシェンス (Bifidobacterium stellenbos  
 chense)、ビフィドバクテリウム・ステルコリス (Bifidobacterium stercoris)、ビフ  
 ィドバクテリウム T M - 7、ビフィドバクテリウム T r m 9、ビフィドバクテリウム、ビ  
 ロフィラ、ビロフィラ n l a e z l h 5 2 8、ビロフィラ、ビロフィラ・ワーズワーシア  
 、ブラウチア (Blautia)、ブラウチア・バクテリウム (Blautia bacterium)、ブラウチ  
 ア C E 2、ブラウチア C E 6、ブラウチア・コッコイデス (Blautia coccoides)、ブラ  
 ウチア D J F \_ V R 5 2、ブラウチア D J F \_ V R 6 7、ブラウチア D J F \_ V R 7 0 k  
 1、ブラウチア・フォルメート (Blautia formate)、ブラウチア・グルセラセア (Blaut  
 ia glucerasea)、ブラウチア・ハンセニイ (Blautia hansenii)、ブラウチア i c 1 2  
 7 2、ブラウチア I E 5、ブラウチア K - 1、ブラウチア・ルティ (Blautia luti)、ブ  
 ラウチア M - 1、ブラウチア・ムプニソレート (Blautia mpnisolate)、ブラウチア n l  
 a e z l c 2 5、ブラウチア n l a e z l c 2 5 9、ブラウチア n l a e z l c 5 1、ブラウ  
 チア n l a e z l c 5 2 0、ブラウチア n l a e z l c 5 4 2、ブラウチア n l a e  
 z l c 5 4 4、ブラウチア n l a e z l h 2 7、ブラウチア n l a e z l h 3 1 6、ブラ  
 ウチア n l a e z l h 3 1 7、ブラウチア・オベウム (Blautia obeum)、ブラウチア・  
 プロダクタ (Blautia producta)、ブラウチア・プロダクタス (Blautia productus)、  
 ブラウチア・シンキイ (Blautia schinkii)、ブラウチア S e r 5、ブラウチア S e r 8  
 、ブラウチア、ブラウチア W A L、ブラウチア・ワクスレレ (Blautia wexlerae)、ブラ  
 ウチア Y H C - 4、ブレネリア、ブレネリア、ブレバクテリウム、ブレバクテリウム  
 、プロコトリックス、プロコトリックス・サーモスファクタ、ブティアウクセラ、ブティ  
 アウクセラ 5 7 9 1 6、ブティアウクセラ・ガビニアエ、ブチリシコッカス (Butyricico  
 ccus)、ブチリシコッカス・バクテリウム (Butyricicoccus bacterium)、ブチリシコッ  
 カス、ブチリシモナス、ブチリシモナス 1 8 0 - 3、ブチリシモナス 2 1 4 - 4、ブチリ  
 シモナス・バクテリウム (Butyricimonas bacterium)、ブチリシモナス G D 2、ブチリ  
 シモナス・シネルギスティカ (Butyricimonas synergistica)、ブチリシモナス、ブチリ  
 シモナス・ピロサ (Butyricimonas virosa)、ブチリビブリオ、ブチリビブリオ・フィブ  
 リソルベンス、ブチリビブリオ・ヒュンガティ、ブチリビブリオ、カルジミクロビウム (C  
 aldimicrobium)、カルジミクロビウム、カルジセリクム (Caldisericum)、カルジセリ  
 クム、キャンピロバクター、キャンピロバクター・コリ、キャンピロバクター・ホミニス  
 、キャンピロバクター、カブノサイトファガ、カブノサイトファガ、カルノバクテリウム  
 、カルノバクテリウム・アルターフンディツム、カルノバクテリウム、カリオフアノン (C  
 aryophanon)、カリオフアノン、カテニバクテリウム、カテニバクテリウム・ミツオカ

10

20

30

40

50

イ、カテニバクテリウム、ケトネラ、ケトネラ、カウロバクター、カウロバクター、セル  
 ロファガ、セルロファガ、セルロシリチウム (Cellulosilyticum)、セルロシリチウム、  
 セトバクテリウム (Cetobacterium)、セトバクテリウム、キラトコッカス、  
 キラトコッカス、クロロビウム、クロロビウム、クリセオバクテリウム、クリセオバクテ  
 リウム A 1 0 0 5、クリセオバクテリウム K J 9 C 8、クリセオバクテリウム、サイトロ  
 バクター、サイトロバクター 1、サイトロバクター・アグロメランス (Citrobacter aggl  
 omerans)、サイトロバクター・アマロナティカス、サイトロバクター・アスコルパタ (C  
 itrobacter ascorbata)、サイトロバクター・バクテリウム (Citrobacter bacterium)  
 、サイトロバクター・ピンゾウ (Citrobacter Binzhou) C L T、サイトロバクター・ブ  
 ラアキイ、サイトロバクター・エンリッチメント (Citrobacter enrichment)、サイトロ  
 バクター F 2 4、サイトロバクター F 9 6、サイトロバクター・ファルメリ、サイトロバ  
 クター・フレウンディイ、サイトロバクター・ギレニイ、サイトロバクター H B K C \_ S  
 R 1、サイトロバクター H D 4 . 9、サイトロバクター・ホルメケイ (Citrobacter horm  
 aechei)、サイトロバクター I 9 1 - 3、サイトロバクター k a 5 5、サイトロバクター  
 ・ラパゲイ (Citrobacter lapagei)、サイトロバクター L A R - 1、サイトロバクター  
 ・ルードビヒイ (Citrobacter ludwigii)、サイトロバクター M E B 5、サイトロバク  
 ター M S 3 6、サイトロバクター・ムルリニアエ、サイトロバクター n l a e z l c 2 6  
 9、サイトロバクター P 0 1 4、サイトロバクター P 0 4 2 b N、サイトロバクター P 0  
 4 6 a、サイトロバクター P 0 7 3、サイトロバクター S R 3、サイトロバクター T 1、  
 サイトロバクター t n t 4、サイトロバクター t n t 5、サイトロバクター・トラウト ( 20  
 Citrobacter trout)、サイトロバクター T S A - 1、サイトロバクター、サイトロバク  
 ター・ベルクマニイ、クロアシバチルス (Cloacibacillus)、クロアシバチルス a d v 6  
 6、クロアシバチルス n l a e z l p 7 0 2、クロアシバチルス N M L 0 5 A 0 1 7、ク  
 ロアシバチルス、クロアシバクテリウム (Cloacibacterium)、クロアシバクテリウム、  
 コリンゼラ、コリンゼラ A - 1、コリンゼラ・アエロファシエンス、コリンゼラ A U H -  
 J u l o n g 2 1、コリンゼラ・バクテリウム (Collinsella bacterium)、コリンゼラ  
 C C U G、コリンゼラ、コマモナス、コマモナス・ストラミネア (Comamonas straminea  
 )、コマモナス・テストステロニ、コネキシバクター、コネキシバクター、コプロバチル  
 ス、コプロバチルス・バクテリウム (Coprobacillus bacterium)、コプロバチルス・カ  
 テニフォルミス、コプロバチルス T M - 4 0、コプロバチルス、コプロコッカス、コプロ  
 コッカス 1 4 5 0 5、コプロコッカス・バクテリウム (Coproccoccus bacterium)、コプ  
 ロコッカス・カツス、コプロコッカス・コメス、コプロコッカス・オイタクツス、コプロ  
 コッカス・ネクサイル (Coproccoccus nexile)、コプロコッカス、コラリオマルガリタ ( 30  
 Coraliomargarita)、コラリオマルガリタ・フコイダノリティカス (Coraliomargarita f  
 ucoidanolyticus)、コラリオマルガリタ・マリスフラビ (Coraliomargarita marisflavi  
 )、コラリオマルガリタ、コリネバクテリウム、コリネバクテリウム・アミコラツム、コ  
 リネバクテリウム・デュルム、コクシエラ、コクシエラ、クロノバクター (Cronobacter  
 )、クロノバクター・デュブリネンシス (Cronobacter dublinensis)、クロノバクター  
 ・サカザキイ (Cronobacter sakazakii)、クロノバクター・ツリセンシス (Cronobacter  
 turicensis)、クリプトバクテリウム、クリプトバクテリウム・カーツム、キュープリ  
 アビダス、キュープリアビダス・ユートロファ (Cupriavidus eutropha)、デクロロモナ  
 ス、デクロロモナス H Z、デスルホバクテリウム、デスルホバクテリウム、デスルホブル  
 ブス、デスルホブルブス、デスルホピラ、デスルホピラ L a 4 . 1、デスルホビブリオ、  
 デスルホビブリオ D 4、デスルホビブリオ・デスルフリカンス、デスルホビブリオ D S M  
 1 2 8 0 3、デスルホビブリオ・エンリッチメント (Desulfovibrio enrichment)、デス  
 ルホビブリオ・フェアフィールドデンシス (Desulfovibrio fairfieldensis)、デスルホビ  
 ブリオ L N B 1、デスルホビブリオ・ピゲル、デスルホビブリオ、ディアリスター、ディ  
 アリスター E 2 \_ 2 0、ディアリスター G B A 2 7、ディアリスター・インビスス、ディ  
 アリスター・オラル (Dialister oral)、ディアリスター・スクシナチフィルス (Dialis  
 ter succinatiphilus)、ディアリスター、ドレア、ドレア・オーヒュロング (Dorea auh 50

julong) 64、ドレア・バクテリウム (*Dorea bacterium*)、ドレア・フォルミシゲネラ  
 ンス、ドレア・ロンギカテナ、ドレア・ムプニソレート (*Dorea mpn isolate*)、ドレア、  
 ディスゴノモナス、ディスゴノモナス・ガデイ、ディスゴノモナス、エドワージエラ、エ  
 ドワージエラ・タルダ、エガセラ、エガセラ E 1、エガセラ・レンタ、エガセラ M L G 0  
 43、エガセラ M V A 1、エガセラ S 6 - C 1、エガセラ S D G - 2、エガセラ・シネン  
 シス (*Eggerthella sinensis*)、エガセラ s t r、エガセラ、エンハイドロバクター、エン  
 ハイドロバクター、エンテロバクター、エンテロバクター 1050、エンテロバクター  
 1122、エンテロバクター 77000、エンテロバクター 82353、エンテロバクタ  
 ー 9 C、エンテロバクター A 5 C、エンテロバクター・アデカルボキシラタ (*Enterobact*  
*er adecarboxylata*)、エンテロバクター・アエロゲネス、エンテロバクター・アグロメ  
 ランス、エンテロバクター A J A R - A 2、エンテロバクター・アムニゲナス、エンテロ  
 バクター・アスブリアエ、エンテロバクター B 1 (2012)、エンテロバクター B 3 6  
 3、エンテロバクター B 5 0 9、エンテロバクター・バクテリウム (*Enterobacter bacte*  
*rium*)、エンテロバクター B a d o n g 3、エンテロバクター B E C 4 4 1、エンテロバ  
 クター C 8、エンテロバクター・カンセロゲヌス (*Enterobacter cancerogenus*)、エン  
 テロバクター・クロアカエ、エンテロバクター C O、エンテロバクター c o r e 2、エン  
 テロバクター・コワニイ、エンテロバクター d c 6、エンテロバクター D R S B I I、エン  
 テロバクター・エンリッチメント (*Enterobacter enrichment*)、エンテロバクター F  
 L 1 3 - 2 - 1、エンテロバクター G I S T - N K s t 1 0、エンテロバクター G I S T  
 - N K s t 9、エンテロバクター G J 1 - 1 1、エンテロバクター g x - 1 4 8、エンテ  
 ロバクター・ホルメシェイ、エンテロバクター I - B h 2 0 - 2 1、エンテロバクター I  
 C B 1 1 3、エンテロバクター・コベイ、エンテロバクター K W 1 4、エンテロバクター  
 1 1 2、エンテロバクター・ルドウィギイ、エンテロバクター M 1 0 \_ 1 B、エンテロバ  
 クター M 1 R 3、エンテロバクター・マリネ (*Enterobacter marine*)、エンテロバクタ  
 ー N C C P - 1 6 7、エンテロバクター o f、エンテロバクター・オリゼ (*Enterobacter*  
*oryzae*)、エンテロバクター・オキシトカ (*Enterobacter oxytoca*)、エンテロバクタ  
 ー P 1 0 1、エンテロバクター S 1 1、エンテロバクター S E L 2、エンテロバクター S  
 P h、エンテロバクター S S A S P 5、エンテロバクター・テリゲナ (*Enterobacter ter*  
*rigena*)、エンテロバクター T N T 3、エンテロバクター T P 2 M C、エンテロバクター  
 T S 4、エンテロバクター T S S A S 2 - 4 8、エンテロバクター、エンテロバクター Z  
 Y X C A 1、エンテロコッカス、エンテロコッカス 0 2 0 8 2 4 / 0 2 - A、エンテロコ  
 ッカス 1 2 7 5 b、エンテロコッカス 1 6 C、エンテロコッカス 4 8、エンテロコッカス  
 6 1 1 4、エンテロコッカス A B R I I N W - H 6 1、エンテロコッカス・アシニ、エン  
 テロコッカス・アビウム、エンテロコッカス・アジキービ (*Enterococcus azikeevi*)、  
 エンテロコッカス・バクテリウム (*Enterococcus bacterium*)、エンテロコッカス B B D  
 P 5 7、エンテロコッカス B P H 3 4、エンテロコッカス B t、エンテロコッカス・カニ  
 ス、エンテロコッカス・カセリフラブス、エンテロコッカス C m N A 2、エンテロコッカ  
 ス D a - 2 0、エンテロコッカス・デブリエセイ、エンテロコッカス・ディスパー、エン  
 テロコッカス D J F \_ O 3 0、エンテロコッカス D M B 4、エンテロコッカス・デュラン  
 ス、エンテロコッカス・エンリッチメント (*Enterococcus enrichment*)、エンテロコッ  
 カス F 8 1、エンテロコッカス・フェカーリス、エンテロコッカス・フェシウム、エンテ  
 ロコッカス f c c 9、エンテロコッカス・フェーカル (*Enterococcus fecal*)、エンテロ  
 コッカス・フラベッセンス、エンテロコッカス・フルビアリス (*Enterococcus fluvialis*)  
 )、エンテロコッカス F R - 3、エンテロコッカス F U A 3 3 7 4、エンテロコッカス・  
 ガリナルム、エンテロコッカス G H A P R B 1、エンテロコッカス G S C - 2、エンテロ  
 コッカス G Y P B 0 1、エンテロコッカス・ヘルマニエンシス、エンテロコッカス・ヒラ  
 エ、エンテロコッカス・ラクティス (*Enterococcus lactis*)、エンテロコッカス・マロ  
 ドーラツス、エンテロコッカス・マヌレ (*Enterococcus manure*)、エンテロコッカス・  
 マリネ (*Enterococcus marine*)、エンテロコッカス M N C 1、エンテロコッカス・モラ  
 ビエンシス、エンテロコッカス M S 2、エンテロコッカス・ムンチイ、エンテロコッカス

10

20

30

40

50

N A B 1 5、エンテロコッカス N B R C、エンテロコッカス n l a e z l c 4 3 4、エン  
 テロコッカス n l a e z l g 1 0 6、エンテロコッカス n l a e z l g 8 7、エンテロコ  
 ッカス n l a e z l h 3 3 9、エンテロコッカス n l a e z l h 3 7 5、エンテロコッカ  
 ス n l a e z l h 3 8 1、エンテロコッカス n l a e z l h 3 8 3、エンテロコッカス n  
 l a e z l h 4 0 5、エンテロコッカス n l a e z l p 1 1 6、エンテロコッカス n l a  
 e z l p 1 4 8、エンテロコッカス n l a e z l p 4 0 1、エンテロコッカス n l a e z  
 l p 6 5 0、エンテロコッカス・シュードアビウム、エンテロコッカス R - 2 5 2 0 5、  
 エンテロコッカス・ラフィノーサス、エンテロコッカス・ロッテ (*Enterococcus rottae*  
 )、エンテロコッカス R U 0 7、エンテロコッカス・サッカロリティクス、エンテロコッ  
 カス・サッカロミニムス、エンテロコッカス・サングニコラ (*Enterococcus sanguinicol*  
 a)、エンテロコッカス S C A 1 6、エンテロコッカス S C A 2、エンテロコッカス S E  
 1 3 8、エンテロコッカス S F - 1、エンテロコッカス・スルフレウス、エンテロコッカ  
 ス S V 6、エンテロコッカス t e 1 a、エンテロコッカス t e 3 2 a、エンテロコッカス  
 t e 4 2 a、エンテロコッカス t e 4 5 r、エンテロコッカス t e 4 9 a、エンテロコッ  
 カス t e 5 1 a、エンテロコッカス t e 5 8 r、エンテロコッカス t e 5 9 r、エンテロ  
 コッカス t e 6 1 r、エンテロコッカス t e 9 3 r、エンテロコッカス t e 9 5 a、エン  
 テロコッカス、エンテロラブダス (*Enterorhabdus*)、エンテロラブダス・セシムリス (*E*  
*nterorhabdus caecimuris*)、エンテロラブダス、エルウィニア、エルウィニア・アグロ  
 メランス (*Erwinia agglomerans*)、エルウィニア・エンテリカ (*Erwinia enterica*)、  
 エルウィニア・ラポンティシ、エルウィニア・タスマニエンシス (*Erwinia tasmaniensis*  
 )、エルウィニア、エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス (*Erysipelotrichacea*  
*e\_incertae\_sedis*)、エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス a f f、エリシペロ  
 トリカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・バクテリウム (*Erysipelotrichaceae\_incertae\_sedis*  
*bacterium*)、エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・ピフォルメ (*Erysipel*  
*otrichaceae\_incertae\_sedis biforme*)、エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス  
 C - 1、エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・シリンドロイデス (*Erysipelot*  
*richaceae\_incertae\_sedis cylindroides*)、エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ\_\_セデ  
 ィス G K 1 2、エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・イノキウム (*Erysipel*  
*otrichaceae\_incertae\_sedis innocuum*)、  
 エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス n l a e z l c 3 3 2、エリシペロトリカ  
 セエ\_\_インセルテ\_\_セディス n l a e z l c 3 4 0、エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ  
 \_\_セディス n l a e z l g 4 2 0、エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス n l a  
 e z l g 4 2 5、エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス n l a e z l g 4 4 0、  
 エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス n l a e z l g 4 6 3、エリシペロトリカ  
 セエ\_\_インセルテ\_\_セディス n l a e z l h 3 4 0、エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ  
 \_\_セディス n l a e z l h 3 5 4、エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス n l a  
 e z l h 3 7 9、エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス n l a e z l h 3 8 0、  
 エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス n l a e z l h 3 8 5、エリシペロトリカ  
 セエ\_\_インセルテ\_\_セディス n l a e z l h 4 1 0、エリシペロトリカセエ\_\_インセルテ  
 \_\_セディス・トルツオサム (*Erysipelotrichaceae\_incertae\_sedis tortuosum*)、エリシ  
 ペロトリカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス、エシェリキア/シゲラ (*Escherichia/Shigella*  
 )、エシェリキア/シゲラ 2 9 ( 2 0 1 0 )、エシェリキア/シゲラ 4 0 9 1、エシェリ  
 キア/シゲラ 4 1 0 4、エシェリキア/シゲラ 8 g w 1 8、エシェリキア/シゲラ A 9 4  
 、エシェリキア/シゲラ・アルベルティイ (*Escherichia/Shigella albertii*)、エシェ  
 リキア/シゲラ B - 1 0 1 2、エシェリキア/シゲラ B 4、エシェリキア/シゲラ・バク  
 テリウム (*Escherichia/Shigella bacterium*)、エシェリキア/シゲラ B B D P 1 5、エ  
 シェリキア/シゲラ B B D P 8 0、エシェリキア/シゲラ・ボイディ (*Escherichia/Shig*  
*ella boydii*)、エシェリキア/シゲラ・カロトボラム (*Escherichia/Shigella carotovo*  
*rum*)、エシェリキア/シゲラ C E R A R、エシェリキア/シゲラ・コリ (*Escherichia/S*  
*higella coli*)、エシェリキア/シゲラ D B C - 1、エシェリキア/シゲラ d c 2 6 2 0

10

20

30

40

50

11、エシェリキア/シゲラ・ディセンテリアエ (*Escherichia/Shigella dysenteriae*)、  
 エシェリキア/シゲラ・エンリッチメント (*Escherichia/Shigella enrichment*)、エ  
 シェリキア/シゲラ・エシェリキア (*Escherichia/Shigella escherichia*)、エシェリキ  
 ア/シゲラ・フェーカル (*Escherichia/Shigella fecal*)、エシェリキア/シゲラ・フェ  
 ルグソニイ (*Escherichia/Shigella fergusonii*)、エシェリキア/シゲラ・フレクスネ  
 リ (*Escherichia/Shigella flexneri*)、エシェリキア/シゲラ G D R 0 5、エシェリキ  
 ア/シゲラ G D R 0 7、エシェリキア/シゲラ H 7、エシェリキア/シゲラ・マリネ (*Es*  
*cherichia/Shigella marine*)、エシェリキア/シゲラ M L 2 - 4 6、エシェリキア/シ  
 ゲラ・ムブニソレート (*Escherichia/Shigella mpn isolate*)、エシェリキア/シゲラ N  
 A、エシェリキア/シゲラ n l a e z l g 3 3 0、エシェリキア/シゲラ n l a e z l g 10  
 4 0 0、エシェリキア/シゲラ n l a e z l g 4 4 1、エシェリキア/シゲラ n l a e z  
 l g 5 0 6、エシェリキア/シゲラ n l a e z l h 2 0 4、エシェリキア/シゲラ n l a  
 e z l h 2 0 8、エシェリキア/シゲラ n l a e z l h 2 0 9、エシェリキア/シゲラ n  
 l a e z l h 2 1 3、エシェリキア/シゲラ n l a e z l h 2 1 4、エシェリキア/シゲ  
 ラ n l a e z l h 4、エシェリキア/シゲラ n l a e z l h 4 3 5、エシェリキア/シゲ  
 ラ n l a e z l h 8 1、エシェリキア/シゲラ n l a e z l p 1 2 6、エシェリキア/シ  
 ゲラ n l a e z l p 1 9 8、エシェリキア/シゲラ n l a e z l p 2 1、エシェリキア/  
 シゲラ n l a e z l p 2 3 5、エシェリキア/シゲラ n l a e z l p 2 3 7、エシェリキ  
 ア/シゲラ n l a e z l p 2 3 9、エシェリキア/シゲラ n l a e z l p 2 5、エシェリ  
 キア/シゲラ n l a e z l p 2 5 2、エシェリキア/シゲラ n l a e z l p 2 7 5、エシ  
 エリキア/シゲラ n l a e z l p 2 8 0、エシェリキア/シゲラ n l a e z l p 5 1、エ  
 シェリキア/シゲラ n l a e z l p 5 3、エシェリキア/シゲラ n l a e z l p 6 6 9、  
 エシェリキア/シゲラ n l a e z l p 6 7 6、エシェリキア/シゲラ n l a e z l p 7 1  
 7、エシェリキア/シゲラ n l a e z l p 7 3 1、エシェリキア/シゲラ n l a e z l p  
 8 2 6、エシェリキア/シゲラ n l a e z l p 8 7 7、エシェリキア/シゲラ n l a e z  
 l p 8 8 4、エシェリキア/シゲラ N M U - S T 2、エシェリキア/シゲラ o c 1 8 2 0  
 1 1、エシェリキア/シゲラ o f、エシェリキア/シゲラ・プロテオバクテリウム (*Esch*  
*erichia/Shigella proteobacterium*)、エシェリキア/シゲラ Q 1、エシェリキア/シゲ  
 ラ・サカザキイ (*Escherichia/Shigella sakazakii*)、エシェリキア/シゲラ S F 6、エ  
 シェリキア/シゲラ s m 1 7 1 9、エシェリキア/シゲラ S O D - 7 3 1 7、エシェリキ  
 ア/シゲラ・ソンネイ (*Escherichia/Shigella sonnei*)、エシェリキア/シゲラ S W 8  
 6、エシェリキア/シゲラ、エシェリキア/シゲラ・ブルネリス (*Escherichia/Shigella*  
*vulneris*)、エタノリゲネンス (*Ethanoligenens*)、エタノリゲネンス・ハルビネンス  
 (*Ethanoligenens harbinense*)、エタノリゲネンス、ユウバクテリウム、ユウバクテリ  
 ウム A R C - 2、ユウバクテリウム・カランデリ、ユウバクテリウム E - 1、ユウバクテ  
 リウム G 3 ( 2 0 1 1 )、ユウバクテリウム・インフィルマム、ユウバクテリウム・リモ  
 サム、ユウバクテリウム・メチロトロフィクム (*Eubacterium methylotrophicum*)、ユウ  
 バクテリウム n l a e z l p 4 3 9、ユウバクテリウム n l a e z l p 4 5 7、ユウバク  
 テリウム n l a e z l p 4 5 8、ユウバクテリウム n l a e z l p 4 6 9、ユウバクテリ  
 ウム n l a e z l p 4 7 4、ユウバクテリウム・オラル (*Eubacterium oral*)、ユウバク  
 テリウム・サフェヌム、ユウバクテリウム・サルシ、ユウバクテリウム、ユウバクテリウ  
 ム W A L、ユウグレニダ (*Euglenida*)、ユウグレニダ・ロンガ (*Euglenida longa*)、フ  
 ィーカリバクテリウム、フィーカリバクテリウム・バクテリウム (*Faecalibacterium bac*  
*terium*)、フィーカリバクテリウム・ケイナイン (*Faecalibacterium canine*)、フィー  
 カリバクテリウム D J F \_ V R 2 0、フィーカリバクテリウム i c 1 3 7 9、フィーカリ  
 バクテリウム・ブラウスニッツィイ、フィーカリバクテリウム、フィリバクター、フィリ  
 バクター・グロビスポラ (*Filibacter globispora*)、フラボバクテリウム、フラボバク  
 テリウム S S L 0 3、フラボバクテリウム、フラボニフラクター (*Flavonifractor*)、フ  
 ラボニフラクター A U H - J L C 2 3 5、フラボニフラクター・エンリッチメント (*Flav*  
*onifractor enrichment*)、フラボニフラクター n l a e z l c 3 5 4、フラボニフラク 50



ター・オルビスシンデンス (*Flavonifractor orbiscindens*)、フラボニフラクター・プラウティイ (*Flavonifractor plautii*)、フラボニフラクター、フランシセラ、フランシセラ・ピスシダ (*Francisella piscicida*)、フソバクテリウム、フソバクテリウム・ヌクレアタム、フソバクテリウム、ガードネセラ、ガードネセラ、ガードネセラ・バギナリス、ゲンミゲル、ゲンミゲル D J F \_ V R 3 3 k 2、ゲンミゲル・フォルミシリス、ゲンミゲル、ゲオバクター、ゲオバクター、ゴルドニバクター (*Gordonibacter*)、ゴルドニバクター・バクテリウム (*Gordonibacter bacterium*)、ゴルドニバクター・インテスティナル (*Gordonibacter intestinal*)、ゴルドニバクター・パメレエ (*Gordonibacter pamelaee*)、ゴルドニバクター、G p 2、G p 2、G p 2 1、G p 2 1、G p 4、G p 4、G p 6、G p 6、グラニュリカタラ、グラニュリカタラ・アディアセンス、グラニュリカタラ・エンリッチメント (*Granulicatella enrichment*)、グラニュリカタラ・オラル (*Granulicatella oral*)、グラニュリカタラ・パラアジアセンス (*Granulicatella paraadiacens*)、グラニュリカタラ、ヘモフィラス、ヘモフィラス、ハフニア、ハフニア 3 - 1 2 ( 2 0 1 0 )、ハフニア・アルベイ、ハフニア C C 1 6、ハフニア・プロテウス (*Hafnia proteus*)、ハフニア、ハリエア (*Haliea*)、ハリエア、ハセラ、ハセラ・セレグンス、ハセラ、ハーバスピリラム、ハーバスピリラム 0 2 2 S 4 - 1 1、ハーバスピリラム・セロペディカエ、ヘスペリア、ヘスペリア・ボルチーナ、ヘスペリア・ステアコリス、ヘスペリア、ホールディマニア、ホールディマニア A P 2、ホールディマニア・フィリフォルミス、ホールディマニア、ハワードラ (*Howardella*)、ハワードラ、ハワードラ・ウレイリティカ (*Howardella ureilytica*)、ハイドロゲノアナエロバクテリウム (*Hydrogenoanaerobacterium*)、ハイドロゲノアナエロバクテリウム・サッカロボランス (*Hydrogenoanaerobacterium saccharovorans*)、ハイドロゲノファーガ、ハイドロゲノファーガ・バクテリウム (*Hydrogenophaga bacterium*)、イルマトバクター (*Ilumatobacter*)、イルマトバクター、ジャンチノバクテリウム、ジャンチノバクテリウム C 3 0 A n 7、ジャンチノバクテリウム、ジェオトガリコッカス、ジェオトガリコッカス、クレブシエラ、クレブシエラ・エロゲネス (*Klebsiella aerogenes*)、クレブシエラ・バクテリウム (*Klebsiella bacterium*)、クレブシエラ E 1 L 1、クレブシエラ E B 2 - T H Q、クレブシエラ・エンリッチメント (*Klebsiella enrichment*)、クレブシエラ F 8 3、クレブシエラ G 1 - 6、クレブシエラ g g 1 6 0 e、クレブシエラ・グラニュロマトイス、クレブシエラ H a N A 2 0、クレブシエラ H F 2、クレブシエラ i i \_ 3 \_ c h l \_ 1、クレブシエラ K A L A I C I B A 1 7、クレブシエラ k p u、クレブシエラ M 3、クレブシエラ M B 4 5、クレブシエラ・ミレティス (*Klebsiella milletis*)、クレブシエラ N C C P - 1 3 8、クレブシエラ o k 1 \_ 1 \_ 9 \_ S 1 6、クレブシエラ o k 1 \_ 1 \_ 9 \_ S 5 4、クレブシエラ・プランティコーラ、クレブシエラ・ニューモニアエ、クレブシエラ・ポイナリイ (*Klebsiella poinarii*)、クレブシエラ P S B 2 6、クレブシエラ R S、クレブシエラ S e 1 4、クレブシエラ S R C \_ D S D 1 2、クレブシエラ t d 1 5 3 s、クレブシエラ T G - 1、クレブシエラ T P S 5、クレブシエラ、クレブシエラ・パリイコーラ、クレブシエラ W B - 2、クレブシエラ Y 9、クレブシエラ z l m y、クライベラ、クライベラ A n 5 - 1、クライベラ・クリオクレセンス、クライベラ、コクリア、コクリア 2 2 1 6 . 3 5 . 3 1、カルシア、カルシア、ラクノバクテリウム、ラクノバクテリウム C 1 2 b、ラクノバクテリウム、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス (*Lachnospiracea\_incertain\_sedis*)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・バクテリウム (*Lachnospiracea\_incertain\_sedis bacterium*)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・コントロールタム (*Lachnospiracea\_incertain\_sedis contortum*)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス E g 2、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・エリゲンス (*Lachnospiracea\_incertain\_sedis eligens*)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・エタノルギグネンス (*Lachnospiracea\_incertain\_sedis ethanoligignens*)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・ガラクトロニカス (*Lachnospiracea\_incertain\_sedis galacturonicus*)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・グナプス (*Lachnospiracea\_incertain\_sedis gnavus*)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・ハリイ (La

chnospiracea\_incertae\_sedis hallii)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・ハイドロゲノトロフィカ (Lachnospiracea\_incertae\_sedis hydrogenotrophica)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス I D 5、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・インテスティナル (Lachnospiracea\_incertae\_sedis intestinal)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・ムブニソレート (Lachnospiracea\_incertae\_sedis mpn isolate)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・ペクチノシザ (Lachnospiracea\_incertae\_sedis pectinoschiza)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・ラムラス (Lachnospiracea\_incertae\_sedis ramulus)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・レクターレ (Lachnospiracea\_incertae\_sedis rectale)、

ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス R L B 1、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・ルーメン (Lachnospiracea\_incertae\_sedis rumen)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス S Y 8 5 1 9、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・トルケス (Lachnospiracea\_incertae\_sedis torques)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・ユニフォルメ (Lachnospiracea\_incertae\_sedis uniforme)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・ベントリオサム (Lachnospiracea\_incertae\_sedis ventriosum)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス・キシラノフィルム (Lachnospiracea\_incertae\_sedis xylanophilum)、ラクノスピラセエ\_\_インセルテ\_\_セディス y e 6 2、ラクトバチルス、ラクトバチルス 5 - 1 - 2、ラクトバチルス 6 6 c、ラクトバチルス・アシドフィラス、ラクトバチルス・アリゾネンシス、ラクトバチルス B 5 4 0 6、ラクトバチルス・ブレビス、ラクトバチルス・カゼイ、ラクトバチルス・クリスパータス、ラクトバチルス・カルパータス、ラクトバチルス・デルブレッキイ、ラクトバチルス・ファーマメントム、ラクトバチルス・ガセリ、ラクトバチルス・ヘルペティカス、ラクトバチルス・ホミニス (Lactobacillus hominis)、ラクトバチルス I D 9 2 0 3、ラクトバチルス I D S A c、ラクトバチルス・インテスティナル (Lactobacillus intestinal)、ラクトバチルス・ジョンソニイ、ラクトバチルス・ラクティス、ラクトバチルス・マニホティボランス、ラクトバチルス・ムコーサエ、ラクトバチルス N A、ラクトバチルス・オリス、ラクトバチルス P 2 3、ラクトバチルス P 8、ラクトバチルス・パラカゼイ、ラクトバチルス・パラプランタラム、ラクトバチルス・ペントーサス、ラクトバチルス・プランタルム、ラクトバチルス・ボンティス、ラクトバチルス・レナンキルフィー 1 0 (Lactobacillus rennanqilfy10)、ラクトバチルス・レナンキルフィー 1 4、ラクトバチルス・レナンキリイ f 9 (Lactobacillus rennanqilyf9)、ラクトバチルス・ロイテリー、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトバチルス・サリバリウス、ラクトバチルス・サンフランシセンシス、ラクトバチルス・サントリエウス、ラクトバチルス T 3 R 1 C 1、ラクトバチルス、ラクトバチルス・バギナリス、ラクトバチルス・ゼアエ、ラクトコッカス、ラクトコッカス 5 6、ラクトコッカス C R - 3 1 7 S、ラクトコッカス C W - 1、ラクトコッカス D 8、ラクトコッカス D a - 1 8、ラクトコッカス D A P 3 9、ラクトコッカス・デルブリュッキイ (Lactococcus delbrueckii)、ラクトコッカス F 1 1 6、ラクトコッカス・フジエンシス (Lactococcus fujiensis)、ラクトコッカス G 2 2、ラクトコッカス・ガルビエアエ、ラクトコッカス・ラクティス、ラクトコッカス・マヌレ (Lactococcus manure)、ラクトコッカス R T 5、ラクトコッカス S X V I I I 1 ( 2 0 1 1 )、ラクトコッカス T P 2 M J、ラクトコッカス T P 2 M L、ラクトコッカス T P 2 M N、ラクトコッカス U 5 - 1、ラクトコッカス、ラクチノファクター (Lactonifactor)、ラクチノファクター・バクテリウム (Lactonifactor bacterium)、ラクチノファクター・ロンゴビフォルミス (Lactonifactor longoviformis)、ラクチノファクター n l a e z l c 5 3 3、ラクチノファクター、レクレルシア、レクレルシア、レンチスファエラ、レンチスファエラ、ロイコノストック、ロイコノストック・カーノサム、ロイコノストック・シトレウム、ロイコノストック・ガルリクム (Leuconostoc garlicum)、ロイコノストック・ガシコミタータム、ロイコノストック・ゲリダム、ロイコノストック・インハーエ、ロイコノストック・ラクティス、ロイコノストック M E B E 2、ロイコノストック・メセンテロイデス、ロイコノストック・シュードメセンテ

10

20

30

40

50

ロイデス、ロイコノストック、リムノバクター、リムノバクター s p f 3、ルテオリバク  
 ター (*Luteolibacter*)、ルテオリバクター・バクテリウム (*Luteolibacter bacterium*)  
 、ルティスポラ (*Lutispora*)、ルティスポラ、マリニフィルム (*Marinifilum*)、マリニ  
 フィルム、マリノバクター、マリノバクター・アークティカス (*Marinobacter arcticus*  
 )、マリプロファンダス (*Mariprofundus*)、マリプロファンダス、マルビンブリアンチ  
 ア (*Marvinbryantia*)、マルビンブリアンチア、メガモナス、メガモナス、メガスファエ  
 ラ、メガスファエラ、メリッソコッカス、メリッソコッカス・フェーカリス (*Melissococ  
 cus faecalis*)、メタノバクテリウム、メタノバクテリウム・サブテラネウム、メタノブ  
 レビバクター、メタノブレビバクター・アルボリファイラス、メタノブレビバクター・ミ  
 レレ (*Methanobrevibacter millerae*)、メタノブレビバクター・オレエ (*Methanobrevib  
 acter olleyae*)、メタノブレビバクター・オラリス、メタノブレビバクター S M 9、メ  
 タノブレビバクター・スミシイ、メタノブレビバクター、メタノスファエラ、メタノスフ  
 ァエラ・スタッドマナエ、メタノスファエラ、メチロバクテリウム、メチロバクテリウム  
 ・アドハエシブム、メチロバクテリウム・バクテリウム (*Methylobacterium bacterium*)  
 、メチロバクテリウム i E I I 3、メチロバクテリウム M P 3、メチロバクテリウム・オ  
 リゼ (*Methylobacterium oryzae*)、メチロバクテリウム P B 1 3 2、メチロバクテリウ  
 ム P B 2 0、メチロバクテリウム P B 2 8 0、メチロバクテリウム P D D - 2 3 b - 1 4  
 、メチロバクテリウム・ラデイオトレランス、メチロバクテリウム S K J H - 1、メチロ  
 バクテリウム、ミツオケラ、ミツオケラ・ジャラルディニイ、ミツオケラ、モーガネラ、  
 モーガネラ・モーガニイ、モーガネラ、モリテラ、モリテラ 2 D 2、モリエラ (*Moryella*  
 )、モリエラ・インドリゲネス (*Moryella indoligenes*)、モリエラ・ナビフォルメ (*Mo  
 ryella naviforme*)、モリエラ、マイコバクテリウム、結核菌、マイコバクテリウム、ネ  
 ガティビコッカス (*Negativicoccus*)、ネガティビコッカス、ニトロソモナス、ニトロソ  
 モナス・ユートロファ、ノボスフィンゴビウム、ノボスフィンゴビウム、オドリバクター  
 (*Odoribacter*)、オドリバクター・ラネウス (*Odoribacter laneus*)、オドリバクター  
 ・スプランクニカス (*Odoribacter splanchnicus*)、オドリバクター、オルセネラ、オル  
 セネラ 1 8 3 2、オルセネラ F 0 2 0 6、オルセネラ、オルバス (*Orbus*)、オルバ  
 ス・ギリアメラ (*Orbus gilliamella*)、オリバクテリウム、オリバクテリウム、オッシ  
 リバクター (*Oscillibacter*)、オッシリバクター・バクテリウム (*Oscillibacter bacte  
 rium*)、オッシリバクター・エンリッチメント (*Oscillibacter enrichment*)、オッシリ  
 バクター、オーウェンウィークシア、オーウェンウィークシア、オキサロバクター、オキ  
 サロバクター・フォルミゲネス、オキサロバクター、パルディバクター、パルディバク  
 ター、パントエア、パントエア・アグロメランス、パントエア・ユーカリプティ (*Pantoea  
 eucalypti*)、パントエア、パピリバクター、パピリバクター・シンナミボランス、パピ  
 リバクター、パラバクテロイデス (*Parabacteroides*)、パラバクテロイデス A S F 5 1  
 9、パラバクテロイデス C R - 3 4、パラバクテロイデス・ディスタゾニス (*Parabacter  
 oides distasonis*)、パラバクテロイデス D J F \_ B 0 8 4、パラバクテロイデス D J F  
 \_ B 0 8 6、パラバクテロイデス d n L K V 8、パラバクテロイデス・エンリッチメント  
 (*Parabacteroides enrichment*)、パラバクテロイデス・フェーカル (*Parabacteroides  
 fecal*)、パラバクテロイデス・ゴールドスタイニイ (*Parabacteroides goldsteinii*)、  
 パラバクテロイデス・ゴルドニイ (*Parabacteroides gordonii*)、パラバクテロイデス・  
 ジョンソニイ (*Parabacteroides johnsonii*)、パラバクテロイデス・メルデ (*Parabacte  
 roides merdae*)、パラバクテロイデス・ムブニソレート (*Parabacteroides mpnisolate*  
 )、パラバクテロイデス n l a e z 1 p 3 4 0、パラバクテロイデス、パラエッゲルテラ  
 (*Paraeggerthella*)、パラエッゲルテラ・ホンコンゲンシス (*Paraeggerthella hongkon  
 gensis*)、パラエッゲルテラ n l a e z 1 p 7 9 7、パラエッゲルテラ n l a e z 1 p 8  
 9 6、パラプレボテラ (*Paraprevotella*)、パラプレボテラ・クララ (*Paraprevotella c  
 lara*)、パラプレボテラ、パラプレボテラ・キシラニフィラ (*Paraprevotella xylaniphi  
 la*)、パラサッテラ (*Parasutterella*)、パラサッテラ・エクスクレメンティホミニ  
 ス (*Parasutterella excrementihominis*)、パラサッテラ、ペクトバクテリウム、ペク

10

20

30

40

50

トバクテリウム・カロトボラム、ペクトバクテリウム・ワサビアエ、ペディオコッカス、ペディオコッカス t e 2 r、ペディオコッカス、ペドバクター、ペドバクター b 3 N 1 b - b 5、ペドバクター・デチャンゲンシス (Pedobacter daechungensis)、ペドバクター、ペプトストレプトコッカス、ペプトストレプトコッカス・アナエロピウス、ペプトストレプトコッカス・ストマトリス (Peptostreptococcus stomatis)、ペプトストレプトコッカス、ファスコラルクトバクテリウム、ファスコラルクトバクテリウム・フェシウム、ファスコラルクトバクテリウム、フォトバクテリウム、フォトバクテリウム M I E、ピリバクター、ピリバクター、プランクトマイセス、プランクトマイセス、プラノコッカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス (Planococcaceae\_incertain\_sedis)、プラノコッカセエ\_\_インセルテ\_\_セディス、プラノミクロピウム、プラノミクロピウム、プレシオモナス、プレシオモナス、ポルフィロバクター、ポルフィロバクター K K 3 4 8、ポルフィロモナス、ポルフィロモナス・アサッカロリティカ、ポルフィロモナス・ベノニス (Porphyromonas bennonis)、ポルフィロモナス・ケイナイン (Porphyromonas canine)、ポルフィロモナス・ソメラエ、ポルフィロモナス、プレボテラ、プレボテラ・バクテリウム (Prevotella bacterium)、プレボテラ B I - 4 2、プレボテラ・ビビア、プレボテラ・ブツカリス、プレボテラ・コプリ (Prevotella copri)、プレボテラ D J F \_\_ B 1 1 2、プレボテラ・ムプニソレート (Prevotella mpn isolate)、プレボテラ・オラル (Prevotella oral)、プレボテラ、プロピオニバクテリウム、プロピオニバクテリウム・アクネス、プロピオニバクテリウム・フリーデンレイッヒイ、プロピオニバクテリウム L G、プロピオニバクテリウム、プロティニボラス (Proteiniborus)、プロティニボラス、プロティニフィルム、プロティニフィルム、プロテウス、プロテウス H S 7 5 1 4、プロピデンシア、プロピデンシア、シュードブチリビブリオ、シュードブチリビブリオ・バクテリウム (Pseudobutyrvibrio bacterium)、シュードブチリビブリオ・フィブリソルベンス (Pseudobutyrvibrio fibrisolvens)、シュードブチリビブリオ・ルミニス、シュードブチリビブリオ、シュードクロバクトラム (Pseudochrobactrum)、シュードクロバクトラム、シュードフラボニフラクター (Pseudoflavonifractor)、シュードフラボニフラクター a s f 5 0 0、シュードフラボニフラクター・バクテリウム (Pseudoflavonifractor bacterium)、シュードフラボニフラクター・カピロサス (Pseudoflavonifractor capillosus)、シュードフラボニフラクター N M L、シュードフラボニフラクター、シュードモナス、シュードモナス 1 0 4 3、シュードモナス 1 0 5 6 9、シュードモナス 1 2 7 ( 3 9 - z x )、シュードモナス 1 2 A \_\_ 1 9、シュードモナス 1 4 5 ( 3 8 z x )、シュードモナス 2 2 0 1 0、シュードモナス 3 2 0 1 0、シュードモナス 3 4 t 2 0、シュードモナス 3 C \_\_ 1 0、シュードモナス 4 - 5 ( 2 0 1 0 )、シュードモナス 4 - 9 ( 2 0 1 0 )、シュードモナス 6 - 1 3 . J、シュードモナス 6 3 5 9 6、シュードモナス 8 2 0 1 0、シュードモナス a 0 0 1 - 1 4 2 L、シュードモナス a 1 0 1 - 1 8 - 2、シュードモナス a 1 1 1 - 5、シュードモナス・エルジノーサ (緑膿菌)、シュードモナス・アガリシ、シュードモナス a m s p 1、シュードモナス A U 2 3 9 0、シュードモナス A Z 1 8 R 1、シュードモナス・アゾトフォルマンズ、シュードモナス B 1 2 2、シュードモナス B 6 5 ( 2 0 1 2 )、シュードモナス・バクテリウム (Pseudomonas bacterium)、シュードモナス B J S X、シュードモナス B L H - 8 D 5、シュードモナス B W D Y - 2 9、シュードモナス C A 1 8、シュードモナス・カンタス (Pseudomonas Cantas) 1 2、シュードモナス C B 1 1、シュードモナス C B Z - 4、シュードモナス・セドリナ、シュードモナス C G M C C、シュードモナス C L 1 6、シュードモナス C N E、シュードモナス・コルゲータ (Pseudomonas corrugata)、シュードモナス・クアトロシエネガセンシス (Pseudomonas cuatrocieneegasensis)、シュードモナス C Y E B - 7、シュードモナス D 5、シュードモナス D A P 3 7、シュードモナス D B 4 8、シュードモナス・デセプチオネンシス (Pseudomonas deceptionensis)、シュードモナス D e n - 0 5、シュードモナス D F 7 E H 1、シュードモナス D h A - 9 1、シュードモナス D V S 1 4 a、シュードモナス D Y J K 4 - 9、シュードモナス D Z Q 5、シュードモナス E 1 1 \_\_ I C E 1 9 B、シュードモナス E 2 . 2、シュードモナス e 2 - C D C - T B

10

20

30

40

50

4 D 2、シュードモナス E M 1 8 9、シュードモナス・エンリッチメント (Pseudomonas enrichment)、シュードモナス・イクストレモリエントリス、シュードモナス F A I R / B E / F / G H 3 7、シュードモナス F A I R / B E / F / G H 3 9、シュードモナス F A I R / B E / F / G H 9 4、シュードモナス F L M 0 5 - 3、シュードモナス・フルオレッセンス (蛍光菌)、シュードモナス・フラギ、シュードモナス ' F S L、シュードモナス G 1 0 1 3、シュードモナス・ギンゲリ (Pseudomonas gingeri)、シュードモナス H C 2 - 2、シュードモナス H C 2 - 4、シュードモナス H C 2 - 5、シュードモナス H C 4 - 8、シュードモナス H C 6 - 6、シュードモナス H g 4 - 0 6、シュードモナス H L B 8 - 2、シュードモナス H L S 1 2 - 1、シュードモナス H S F 2 0 - 1 3、シュードモナス H W 0 8、シュードモナス I I - 4 4、シュードモナス I p A - 9 2、シュードモナス I V、シュードモナス J C M、シュードモナス・ジェッセニイ、シュードモナス J S P B 5、シュードモナス K 3 R 3 . 1 A、シュードモナス K B 4 0、シュードモナス K B 4 2、シュードモナス K B 4 4、シュードモナス K B 6 3、シュードモナス K B 7 3、シュードモナス K K - 2 1 - 4、シュードモナス K O P R I、シュードモナス L 1 R 3 . 5、シュードモナス L A B - 2 7、シュードモナス L A B - 4 4、シュードモナス L c 1 0 - 2、シュードモナス・リバネンシス、シュードモナス L n 5 C . 7、シュードモナス L S 1 9 7、シュードモナス・ルンデンシス、シュードモナス・マルギナリス、シュードモナス M F Y 1 4 3、シュードモナス M F Y 1 4 6、シュードモナス M Y 1 4 0 4、シュードモナス M Y 1 4 1 2、シュードモナス M Y 1 4 1 6、シュードモナス M Y 1 4 2 0、シュードモナス N 1 4 z h y、シュードモナス N B R C、シュードモナス N C C P - 5 0 6、シュードモナス N F U 2 0 - 1 4、シュードモナス N J - 2 2、シュードモナス N J - 2 4、シュードモナス N j - 3、シュードモナス N j - 5 5、シュードモナス N j - 5 6、シュードモナス N j - 5 9、シュードモナス N j - 6 0、シュードモナス N j - 6 2、シュードモナス N j - 7 0、シュードモナス N P 4 1、シュードモナス O C W 4、シュードモナス O W 3 - 1 5 - 3 - 2、シュードモナス P 1 ( 2 0 1 0 )、シュードモナス P 2 ( 2 0 1 0 )、シュードモナス P 3 ( 2 0 1 0 )、シュードモナス P 4 ( 2 0 1 0 )、シュードモナス P D、シュードモナス P F 1 B 4、シュードモナス P F 2 M 1 0、シュードモナス P I L H 1、シュードモナス・ポアエ、シュードモナス・プロテオバクテリウム (Pseudomonas proteobacterium)、シュードモナス p s 4 - 1 2、シュードモナス p s 4 - 2、シュードモナス p s 4 - 2 8、シュードモナス p s 4 - 3 4、シュードモナス p s 4 - 4、シュードモナス・サイクロフィラ、シュードモナス・ブチダ、シュードモナス R - 3 5 7 2 1、シュードモナス R - 3 7 2 5 7、シュードモナス R - 3 7 2 6 5、シュードモナス R - 3 7 9 0 8、シュードモナス R B E 1 C D - 4 8、シュードモナス R B E 2 C D - 4 2、シュードモナス r e g d 9、シュードモナス R K S 7 - 3、シュードモナス S 2、シュードモナス・シーウォーター (Pseudomonas seawater)、シュードモナス S G b 0 8、シュードモナス S G b 1 2 0、シュードモナス S G b 3 9 6、シュードモナス s g n、シュードモナス ' S h k、シュードモナス・スタッツェリ、シュードモナス・シリングエ、シュードモナス・タエトロレンス、シュードモナス・トラーシイ、シュードモナス・トリビアリス、シュードモナス T U T 1 0 2 3、シュードモナス、シュードモナス W 1 5 F e b 2 6、シュードモナス W 1 5 F e b 4、シュードモナス W 1 5 F e b 6、シュードモナス W D - 3、シュードモナス W R 4 - 1 3、シュードモナス W R 7 # 2、シュードモナス Y 1 0 0 0、シュードモナス Z S 2 9 - 8、サイクロバクター、サイクロバクター u m b 1 3 d、サイクロバクター、ピラミドバクター (Pyramidobacter)、ピラミドバクター・ピスコレンス (Pyramidobacter piscolens)、ピラミドバクター、ラーネラ、ラーネラ・アクアティリス、ラーネラ・カロトボラム (Rahnella carotovorum)、ラーネラ G I S T - W P 4 w 1、ラーネラ L R 1 1 3、ラーネラ、ラーネラ Z 2 - S 1、ラルストニア、ラルストニア・バクテリウム (Ralstonia bacterium)、ラルストニア、ラオウルテラ、ラオウルテラ B 1 9、ラオウルテラ・エンリッチメント (Raoultella enrichment)、ラオウルテラ・ブランティコーラ、ラオウルテラ s v 6 x v i i、ラオウルテラ S Z 0 1 5、ラオウルテラ、レニバクテリウム、レニバクテリウム G 2 0、リゾビウ

10

20

30

40

50

ム、リゾビウム・レグミノサラム (*Rhizobium leguminosarum*)、ロドコッカス、ロドコ  
 ッカス・エリスロポリス (*Rhodococcus erythropolis*)、ロドピレルーラ、ロドピレルー  
 ラ、リエメラ、リエメラ・アナティベステイファー、リケネラ、リケネラ、ロビンソ  
 ニエラ (*Robinsoniella*)、ロビンソニエラ・ペオリエンシス (*Robinsoniella peoriensi*  
*s*)、ロビンソニエラ、ロゼブリア、ロゼブリア 1 1 S E 3 7、ロゼブリア・バクテリウ  
 ム (*Roseburia bacterium*)、ロゼブリア・セシコーラ、ロゼブリア D J F \_ V R 7 7、  
 ロゼブリア・フェシス (*Roseburia faecis*)、ロゼブリア・フィブリソルベンス (*Rosebu*  
*ria fibrisolvans*)、ロゼブリア・ホミニス (*Roseburia hominis*)、ロゼブリア・イン  
 テスティナリス (*Roseburia intestinalis*)、ロゼブリア・イヌリニボランス (*Rosebu*  
*ria inulinivorans*)、ロゼブリア、ロセイバチルス (*Roseibacillus*)、ロセイバチルス 10  
 、ロシア (*Rothia*)、ロシア、ルブリタレア (*Rubritalea*)、ルブリタレア、ルミノコッ  
 カス、ルミノコッカス 2 5 F 6、ルミノコッカス・アルプス、ルミノコッカス・バクテリ  
 ウム (*Ruminococcus bacterium*)、ルミノコッカス・ブローミイ、ルミノコッカス・カリ  
 ダス、ルミノコッカス・シャンパネレンシス (*Ruminococcus champanellensis*)、ルミノ  
 コッカス D J F \_ V R 8 7、ルミノコッカス・フラベファシエンス、ルミノコッカス・ガ  
 ウブレアウイ (*Ruminococcus gauvreauii*)、ルミノコッカス・ラクタリス、ルミノコ  
 ッカス N K 3 A 7 6、ルミノコッカス、ルミノコッカス Y E 7 1、サッカロフェルメンタ  
 ンス (*Saccharofermentans*)、サッカロフェルメンタンス、サリニコッカス、サリニコッ  
 カス、サリニミクロビウム (*Salinimicrobium*)、サリニミクロビウム、サルモネラ、サ  
 ルモネラ・アグロメランス (*Salmonella agglomerans*)、サルモネラ・バクテリウム (*Sal*  
*monella bacterium*)、サルモネラ・エンテリカ、サルモネラ・フロインディイ (*Salmon*  
*ella freundii*)、サルモネラ・ヘルマニイ (*Salmonella hermannii*)、パラチフス菌、  
 サルモネラ S L 0 6 0 4、サルモネラ・サブテラネア、サルモネラ、スカルドピア、スカ  
 ルドピア・オラル (*Scardovia oral*)、スチワートジア (*Schwartzia*)、スチワートジア  
 、セディメンティコーラ (*Sedimenticola*)、セディメンティコーラ、セディミニバクタ  
 ー (*Sediminibacter*)、セディミニバクター、セレノモナス、セレノモナス・フェーカル  
 (*Selenomonas fecal*)、セレノモナス、セルペンス (*Serpens*)、セルペンス、セラチア  
 、セラチア 1 1 3 5、セラチア 1 3 6 - 2、セラチア 5 . 1 R、セラチア A C - C S - 1  
 B、セラチア A C - C S - B 2、セラチア・アクアティリス (*Serratia aquatilis*)、セラ  
 チア・バクテリウム (*Serratia bacterium*)、セラチア B S 2 6、セラチア・カロトボ  
 ラム (*Serratia carotovorum*)、セラチア D A P 6、セラチア・エンリッチメント (*Serr*  
*atia enrichment*)、セラチア F 2、セラチア・フィカリア、セラチア・フォンティコー  
 ラ、セラチア・グリメシイ、セラチア J 1 4 5、セラチア J M 9 8 3、セラチア・リクフ  
 アシエンス、セラチア・マルセッセン (*霊菌*)、セラチア・プリムシカ、セラチア・プ  
 ロテアマキュランス、セラチア・プロテオリティカス (*Serratia proteolyticus*)、セラ  
 チア p t z - 1 6 s、セラチア・キニボランス、セラチア S B S、セラチア S S 2 2、セラ  
 チア・トラウト (*Serratia trout*)、セラチア U A - G 0 0 4、セラチア、セラチア・  
 ホワイト (*Serratia White*)、セラチア・イエロー (*Serratia yellow*)、シューワネラ  
 、シューワネラ・バルティカ、シューワネラ、スラッキア、スラッキア・インテスティナ  
 ル (*Slackia intestinal*)、スラッキア・イソフラボニコンベルテンス (*Slackia isofla*  
*voniconvertens*)、スラッキア N A T T S、スラッキア、ソリバシラス (*Solibacillus*  
 )、ソリバシラス、ソロバクテリウム、ソロバクテリウム・ムーレイ (*Solobacterium mo*  
*orei*)、ソロバクテリウム、スパルトバクテリア\_\_ジェネラ\_\_インセルテ\_\_セディス (*Sp*  
*artobacteria\_genera\_incertae\_sedis*)、スパルトバクテリア\_\_ジェネラ\_\_インセルテ\_\_  
 セディス、スフィンゴビウム、スフィンゴビウム、スフィンゴモナス、スフィンゴモナス  
 、スポラセチゲニウム (*Sporacetigenium*)、スポラセチゲニウム、スポロバクター、ス  
 ポロバクター、スポロバクテリウム (*Sporobacterium*)、スポロバクテリウム・オレアリ  
 ウム (*Sporobacterium olearium*)、スタフィロコッカス、スタフィロコッカス・エピデ  
 ルミディス、スタフィロコッカス P C A 1 7、スタフィロコッカス、ステノトロホモナス  
 、ステノトロホモナス、ストレプトコッカス、ストレプトコッカス 1 6 0 6 - 0 2 B、ス

10

20

30

40

50

ストレプトコッカス・アガラクティアエ、ストレプトコッカス・アラクトリティカス、ストレプトコッカス・アンギノーサス、ストレプトコッカス・バクテリウム (*Streptococcus bacterium*)、ストレプトコッカス・ボビス、ストレプトコッカス *ChDC*、ストレプトコッカス・コンステラタス、ストレプトコッカス *CR-314S*、ストレプトコッカス・クリセティ、

ストレプトコッカス・クリスタタス、ストレプトコッカス・ダウネイ、ストレプトコッカス・ディスガラクティアエ、ストレプトコッカス・エンリッチメント (*Streptococcus enrichment*)、ストレプトコッカス・エクイ、ストレプトコッカス・エクイナス、

ストレプトコッカス *ES11*、ストレプトコッカス・ユウバクテリウム (*Streptococcus eubacterium*)、ストレプトコッカス・フェーカル (*Streptococcus fecal*)、ストレプトコッカス・ガリナセウス、ストレプトコッカス・ガロリティカス、ストレプトコッカス・ガストロコッカス (*Streptococcus gastrococcus*)、ストレプトコッカス・ゲノモスプ (*Streptococcus genomosp*)、ストレプトコッカス・ゴルドニイ、ストレプトコッカス *I5*、ストレプトコッカス・インファンタリウス、ストレプトコッカス・インターメディウス、ストレプトコッカス *Je2*、ストレプトコッカス *JS-CD2*、ストレプトコッカス *LRC*、ストレプトコッカス・ルテシエ (*Streptococcus luteciae*)、ストレプトコッカス・ルテティエンシス、ストレプトコッカス *M09-11185*、ストレプトコッカス・ミティス、ストレプトコッカス・ミュータンス、ストレプトコッカス *NA*、

ストレプトコッカス *n1aez1c353*、ストレプトコッカス *n1aez1p68*、ストレプトコッカス *n1aez1p758*、ストレプトコッカス *n1aez1p807*、ストレプトコッカス・オラル (*Streptococcus oral*)、ストレプトコッカス・オラリス (*Streptococcus oralis*)、ストレプトコッカス・パラサングイニス、ストレプトコッカス・フォカエ、ストレプトコッカス・ニューモニアエ (肺炎レンサ球菌)、ストレプトコッカス・ボルシナス、ストレプトコッカス・ピオゲネス (化膿レンサ球菌)、ストレプトコッカス *S16-08*、ストレプトコッカス・サリバリウス、ストレプトコッカス・サングイニス、ストレプトコッカス・ソブリナス、ストレプトコッカス・スイス、ストレプトコッカス・シンビオント (*Streptococcus symbiont*)、ストレプトコッカス・サーモフィラス、ストレプトコッカス *TW1*、ストレプトコッカス、ストレプトコッカス・ベスティブラリス、ストレプトコッカス・ワルネリ (*Streptococcus warneri*)、ストレプトコッカス *XJ-RY-3*、ストレプトマイセス、ストレプトマイセス・マレーシエンシス、ストレプトマイセス *MVCS6*、ストレプトファイタ (*Streptophyta*)、ストレプトファイタ・コルディフォリウム (*Streptophyta cordifolium*)、ストレプトファイタ・ギンセンゲ (*Streptophyta ginseng*)、ストレプトファイタ・ヒルスタム (*Streptophyta hirsutum*)、ストレプトファイタ・オレラシア (*Streptophyta oleracea*)、ストレプトファイタ・サティバ (*Streptophyta sativa*)、ストレプトファイタ・サティブム (*Streptophyta sativum*)、ストレプトファイタ・サティブス (*Streptophyta sativus*)、ストレプトファイタ・タバクム (*Streptophyta tabacum*)、ストレプトファイタ、サブディビジョン3\_\_ジェネラ\_\_インセルテ\_\_セディス (*Subdivision3\_genera\_incertae\_sedis*)、サブディビジョン3\_\_ジェネラ\_\_インセルテ\_\_セディス、サブドリグラヌルム、サブドリグラヌルム・バクテリウム (*Subdoligranulum bacterium*)、サブドリグラヌルム *ic1393*、サブドリグラヌルム *ic1395*、サブドリグラヌルム、サブドリグラヌルム・バリアビレ、サクシニクラスティカム、サクシニクラスティカム、スルフリセラ (*Sulfuricella*)、スルフリセラ、スルフロスピリラム、スルフロスピリラム、ステレラ、ステレラ、ステレラ・ワズワースエンシス、シントロフォコッカス、シントロフォコッカス、シントロフォモナス、シントロフォモナス・ブリアンティイ (*Syntrophomonas bryantii*)、シントロフォモナス、シントロファス、シントロファス、タンネレラ (*Tannerella*)、タンネレラ、テイタメラ、テイタメラ、サーモフィラム、サーモフィラム、サーモジムノモナス (*Thermogymnomonas*)、サーモジムノモナス、サーモビルガ (*Thermovirga*)、サーモビルガ、チモナス (*Thiomonas*)、チモナス *ML1-46*、トルセリア (*Thorsellia*)、トルセリア・カルソネラ (*Thorsellia carsonella*)、*TM7\_\_ジェネラ\_\_インセルテ\_\_セデ*

10

20

30

40

50

イス (TM7\_genera\_incertae\_sedis)、TM7\_\_ジェネラ\_\_インセルテ\_\_セディス、トリ  
 ココッカス (*Trichococcus*)、トリココッカス、ツリシバクター (*Turicibacter*)、ツリ  
 シバクター・サンギニス (*Turicibacter sanguinis*)、ツリシバクター、バゴコッカス (*Vagococcus*)、バゴコッカス b f s 1 1 - 1 5、バゴコッカス、パンピロビブリオ (*Vamp  
 irovibrio*)、パンピロビブリオ、バリバキュラム (*Varibaculum*)、バリバキュラム、バ  
 リオボラックス (*Variovorax*)、バリオボラックス K S 2 D - 2 3、ベイロネラ (*Veillo  
 nella*)、ベイロネラ・ディスパル (*Veillonella dispar*)、ベイロネラ M S A 1 2、ベ  
 イロネラ O K 8、ベイロネラ・オラル (*Veillonella oral*)、ベイロネラ・パルブラ (*Ve  
 illonella parvula*)、ベイロネラ・トベツエンシス (*Veillonella tobetsuensis*)、ベ  
 イロネラ、ビブリオ (*Vibrio*)、ビブリオ 3 C 1、ビブリオ、ビクチバリス (*Victivalli  
 s*)、ビクチバリス、ビクチバリス・バデンシス (*Victivallis vadensis*)、ビテリバク  
 ター (*Vitellibacter*)、ビテリバクター、ワンドニア (*Wandonia*)、ワンドニア・ハリ  
 オティス (*Wandonia haliotis*)、ワイセラ (*Weissella*)、ワイセラ・シバリア (*Weisse  
 lla cibaria*)、ワイセラ・コンフューザ (*Weissella confusa*)、ワイセラ・オリゼ (*We  
 issella oryzae*)、ワイセラ、エルシニア (*Yersinia*)、エルシニア 9 g w 3 8、エルシ  
 ニア A 1 2 5、エルシニア・アルドベ (*Yersinia aldovae*)、エルシニア・アレクシシエ  
 (*Yersinia aleksiciae*)、エルシニア b 7 0 2 0 1 1、エルシニア・バクテリウム (*Yer  
 sinia bacterium*)、エルシニア・ベルコビエリ (*Yersinia bercovieri*)、エルシニア・  
 エンテロコリチカ (*Yersinia enterocolitica*)、エルシニア・エントモファーマ (*Yersi  
 nia entomophaga*)、エルシニア・フレデリクセニイ (*Yersinia frederiksenii*)、エル  
 シニア・インテルメディア (*Yersinia intermedia*)、エルシニア・クリステンセニイ (*Y  
 ersinia kristensenii*)、エルシニア M A C、エルシニア・マシリエンシス (*Yersinia m  
 assiliensis*)、エルシニア・モラレティイ (*Yersinia mollaretii*)、エルシニア・ヌル  
 ミイ (*Yersinia nurmii*)、エルシニア・ペカネニイ (*Yersinia pekkanenii*)、エルシニ  
 ア・ペスティス (*Yersinia pestis*)、エルシニア・シュードツベルキュローシス (*Yersi  
 nia pseudotuberculosis*)、エルシニア・ローデイ (*Yersinia rohdei*)、エルシニア・  
 ルッケリ (*Yersinia ruckeri*)、エルシニア s 1 0 f e 3 1、エルシニア s 1 7 f e 3 1  
 、エルシニア s 4 f e 3 1、エルシニア、エルシニア Y E M 1 7 B。

#### 【 0 1 2 6 】

精度および感度

[00139] 本明細書において提供する方法は、試料中の 1 以上の微生物の属、種、また  
 は亜株レベルでの株の分類を、1 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %  
 、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %  
 、9 9 %、9 9 . 2 %、9 9 . 5 %、9 9 . 7 %、または 9 9 . 9 % を超える精度で提供  
 することができる。本明細書において提供する方法は、試料中の 1 以上の微生物の属、種  
 、または亜株レベルでの株の定量を、1 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、5 0 %、5 5 %、  
 6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、  
 9 8 %、9 9 %、9 9 . 2 %、9 9 . 5 %、9 9 . 7 %、または 9 9 . 9 % を超える精度  
 で提供することができる。

#### 【 0 1 2 7 】

[00140] ある適用において、基準プロファイルと類似する、患者からのマイクロバイ  
 オームプロファイルは、下記のうち 1 以上の尤度が増大していることの指標となる：臨床  
 転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定  
 疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置。ある適用において、基準プロファイル  
 と類似しない、患者からのマイクロバイオームプロファイルは、下記のうち 1 以上の尤度  
 が増大していることの指標となる：臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リ  
 スクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、および疾患管理のための推奨処置  
 。

#### 【 0 1 2 8 】

[00141] 本明細書において提供する方法は、対象の健康状態を 1 %、2 0 %、3 0 %



、40%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.2%、99.5%、99.7%、または99.9%ROCを超える特異性で提供することができる。本明細書において提供する方法は、対象の健康状態を1%、20%、30%、40%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.2%、99.5%、99.7%、または99.9%ROCを超える感度で提供することができる。

#### 【0129】

[00142] 本明細書に示す疾患について本開示により提供される診断方法は、生体試料中の15以下の微生物の測定に基づいて70%以上の感度および70%以上の特異性のうちの少なくとも1つを有することができる。そのような診断方法は、2以下の微生物、3以下の微生物、4以下の微生物、5以下の微生物、6以下の微生物、7以下の微生物、8以下の微生物、9以下の微生物、10以下の微生物、11以下の微生物、12以下の微生物、13以下の微生物、14以下の微生物、15以下の微生物、16以下の微生物、18以下の微生物、19以下の微生物、20以下の微生物、25以下の微生物、30以下の微生物、35以下の微生物、40以下の微生物、45以下の微生物、50以下の微生物、55以下の微生物、60以下の微生物、65以下の微生物、70以下の微生物、75以下の微生物、80以下の微生物、85以下の微生物、90以下の微生物、または100以下の微生物、200以下の微生物、300以下の微生物、400以下の微生物、500以下の微生物、600以下の微生物、700以下の微生物、または800以下の微生物の測定に基づいて、70%以上の感度および70%以上の特異性のうちの少なくとも1つを有することができる。

#### 【0130】

[00143] 本開示により提供される、対象についての微生物プロファイルは、生体試料中の15以下の微生物の測定に基づいて70%以上の精度を有することができる。そのようなプロファイリング方法は、2以下の微生物、3以下の微生物、4以下の微生物、5以下の微生物、6以下の微生物、7以下の微生物、8以下の微生物、9以下の微生物、10以下の微生物、11以下の微生物、12以下の微生物、13以下の微生物、14以下の微生物、15以下の微生物、16以下の微生物、18以下の微生物、19以下の微生物、20以下の微生物、25以下の微生物、30以下の微生物、35以下の微生物、40以下の微生物、45以下の微生物、50以下の微生物、55以下の微生物、60以下の微生物、65以下の微生物、70以下の微生物、75以下の微生物、80以下の微生物、85以下の微生物、90以下の微生物、または100以下の微生物、200以下の微生物、300以下の微生物、400以下の微生物、500以下の微生物、600以下の微生物、700以下の微生物、または800以下の微生物の測定に基づいて、少なくとも、70%を超える精度を有することができる。

#### 【0131】

##### III. コンピューターシステム

[00144] 本開示は、本明細書に記載するいずれかの方法を実施するためのコンピューターシステムを提供する。コンピューターシステムは、下記を含む1以上の工程を実施するために使用できる：試料採取、試料処理、1以上の微生物の検出、定量、プロファイルデータの作成、そのデータと基準の比較、対象特異的マイクロバイームプロファイルの作成、対象特異的プロファイルと基準プロファイルの比較、病歴の受信、医療記録の受信、本明細書に記載する1以上の方法により得られたデータの受信および記憶、そのデータの解析、レポートの作成、ならびに受信者への結果報告。

#### 【0132】

[00145] たとえば、微生物の存在の有無を検出するためのコンピューターシステムを本明細書において提供する。マイクロバイームを構成および維持する細菌、真菌、古細菌または他の要素の存在の有無を検出するためのコンピューターシステムをも本明細書において提供する。

## 【 0 1 3 3 】

[00146] 本明細書に記載するコンピューターシステムは、本明細書に記載するいずれかのアルゴリズムを実施するためのコンピューター実行可能なコードを含むことができる。本明細書に記載するコンピューターシステムは、本明細書に従っていずれかのアルゴリズムを実施するための、およびデータベースを使用するための、コンピューター実行可能なコードを含むことができる。

## 【 0 1 3 4 】

[00147] 図 1 は、本明細書に記載する方法を実施するように適合させた代表的なコンピューターシステム 100 を示す。システム 100 は、本明細書に記載する代表的方法を実施するためにプログラミングされた中央コンピューターサーバー 101 を含む。サーバー 101 は、中央処理ユニット (CPU、「プロセッサ」とも言う) 105 を含み、それは単一コアプロセッサ、マルチコアプロセッサ、または並行処理のための複数のプロセッサであってもよい。サーバー 101 は下記のものをも含む：メモリー 110 (たとえば、ランダムアクセスメモリー、読出し専用メモリー、フラッシュメモリー)；電子記憶ユニット 115 (たとえば、ハードディスク)；1 以上の他のシステムと通信するための通信インターフェース 120 (たとえば、ネットワークアダプタ)；ならびに周辺デバイス 125、これはキャッシュ、他のメモリー、データ記憶、および/または電子表示用のアダプタ類を含むことができる。メモリー 110、記憶ユニット 115、インターフェース 120、および周辺デバイス 125 は、通信バス (communications bus) (実線)、たとえばマザーボードを経由して、プロセッサ 105 と通信状態にある。記憶ユニット 115 はデータを記憶するためのデータ記憶ユニットであってもよい。サーバー 101 は、通信インターフェース 120 の補助によって作動可能な状態でコンピューターネットワーク (「ネットワーク」) 130 に接続している。ネットワーク 130 は、インターネット、イントラネットおよび/またはエクストラネット、インターネットと通信状態にあるイントラネットおよび/またはエクストラネット、遠隔通信 (telecommunication)、あるいはデータネットワークであってもよい。ネットワーク 130 は、ある場合にはサーバー 101 の補助によりピアツーピアネットワーク (peer-to-peer network) を実施することができ、これにより、サーバー 101 に接続したデバイスはクライアントまたはサーバーとして作動することができる。

## 【 0 1 3 5 】

[00148] 記憶ユニット 115 は、ファイル、たとえば対象レポート、および/または介護者との通信、シークエンシングデータ、個体についてのデータ、あるいは本発明に関連するいずれかの観点のデータを記憶することができる。

## 【 0 1 3 6 】

[00149] サーバーはネットワーク 130 を経由して 1 以上の遠隔コンピューターシステムと通信することができる。1 以上の遠隔コンピューターシステムは、たとえばパーソナルコンピューター、ラップトップ、タブレット、電話、スマートフォン、またはパーソナルディジタルアシスタントであってもよい。

## 【 0 1 3 7 】

[00150] ある適用では、コンピューターシステム 100 は単一サーバー 101 を含む。他の状況において、このシステムはイントラネット、エクストラネットおよび/またはインターネットを経由して相互に通信状態にある多重サーバーを含む。

## 【 0 1 3 8 】

[00151] サーバー 101 は、測定データまたは本明細書において提供されるデータベース、対象からの患者情報、たとえば多型、変異、病歴、家族歴、人口統計データ、および/または特定の適用に関連する可能性のある他の臨床情報もしくは個人情報記憶するように適合させることができる。そのような情報は記憶ユニット 115 またはサーバー 101 に記憶させることができ、そのようなデータはネットワークを経由して伝送することができる。

## 【 0 1 3 9 】

【00152】 本明細書に記載する方法は、サーバー 101 の電子記憶ロケーションに、たとえばメモリ 110 または電子記憶ユニット 115 に記憶された機械（またはコンピュータプロセッサ）実行可能なコード（またはソフトウェア）により実施することができる。使用に際して、コードはプロセッサ 105 により実行することができる。ある場合には、プロセッサ 105 によって容易にアクセスするために、コードを記憶ユニット 115 から検索してメモリ 110 に記憶させることができる。ある状況では、電子記憶ユニット 115 を除外することができ、機械実行可能な指示をメモリ 110 に記憶させる。あるいは、コードを第 2 コンピュータシステム 140 で実行することができる。

【0140】

【00153】 本開示により提供されるシステムおよび方法の観点、たとえばサーバー 101 を、プログラミングに際して具体化することができる。テクノロジーの種々の観点は、一般に、あるタイプの機械可読媒体上で実施または具体化される機械（またはプロセッサ）実行可能なコードおよび / または関連データの形の「製品（product または articles of manufacture）」と考えることができる。機械可読コードを、電子記憶ユニット、たとえばメモリ（たとえば、読み出し専用メモリ、ランダムアクセスメモリ、フラッシュメモリ）またはハードディスクに記憶させることができる。「記憶」タイプの媒体は、コンピューター、プロセッサなどの有形メモリ（tangible memory）のいずれかもしくはすべて、またはその関連モジュール、たとえば各種の半導体メモリ、テープドライブ、ディスクドライブなどを含むことができ、それらはソフトウェアプログラミングのためのいずれかの時点で非一時的記憶（non-transitory storage）を提供することができる。ソフトウェアの全部または一部を時にはインターネットまたは他の各種遠隔通信ネットワークを経由して通信することができる。そのような通信は、たとえばあるコンピューターまたは他のプロセッサから他への、たとえば管理サーバーまたはホストコンピューターからアプリケーションサーバーのコンピュータープラットフォームへの、ソフトウェアのローディングを可能にすることができる。したがって、ソフトウェア素子を保持できる他のタイプの媒体には、光波、電波および電磁波、たとえばローカルデバイス間で物理的インターフェースを介して、有線および光地上通信線ネットワークを通して、また各種エアリンク（air-link）を経由して使用されるものが含まれる。そのような波を伝送する物理的素子、たとえば有線および無線リンク、光リンクなどもソフトウェアを保持する媒体とみなすことができる。本明細書中で用いるコンピューターまたは機械「可読媒体」などの用語は、非一時的な有形「記憶」媒体に限定しない限り、プロセッサに実行のための指示を提供する際に関与するいかなる媒体をも表わすことができる。

【0141】

【00154】 本明細書に記載するコンピューターシステムは、本明細書に記載するいずれかのアルゴリズムまたはアルゴリズムベースの方法を実施するためのコンピューター実行可能なコードを含むことができる。ある適用において、本明細書に記載するアルゴリズムは少なくとも 1 つのデータベースからなるメモリユニットを利用するであろう。

【0142】

【00155】 本開示に係るデータは、受信者による受信および / または検討のためにネットワークまたは接続を介して伝送することができる。受信者は、そのレポートが関係する対象；あるいはその介護者、たとえばヘルスケア提供者、監督者、他のヘルスケア専門家、または他の保護者；その分析を実施および / または依頼した者または実体であってもよいが、それに限定されない。受信者は、そのようなレポートを記憶するためのローカルシステムまたは遠隔システム（たとえば、サーバー、または「クラウドコンピューティング」アーキテクチャーの他のシステム）であってもよい。1 態様において、コンピューター可読媒体には、本明細書に記載する方法を用いた生体試料の分析結果を伝送するのに適した媒体が含まれる。

【0143】

A . データベース

【00156】 本明細書に開示するコンピューターシステムはメモリユニットを含むこと

ができる。メモリーユニットはデータを受信するように構成でき、これは1以上のマイクロバイオームのデータを公開データベースから抽出すること、検出、定量、およびプロファイリングすることを含む。マイクロバイオームプロファイルはマイクロバイオームを構成することが知られているいずれの生物であってもよい。そのような生物の例は本明細書に示されている。

#### 【0144】

[00157] 当該技術分野で公知の公開された微生物（細菌、真菌、および古細菌）およびウイルスのタンパク質およびゲノムのデータベースが幾つかある。本開示の方法はそのような公開データベースと共に使用できる。公開データベースの例には、BioCyc、Ensembl Bacteria、The Integrated Microbial Genomes、MicrobesOnline、Microbial Genomes (Genome Channel製)、Microbial Genomes (NCBI)、RCSB protein database、Sanger Centre Bacterial Genomes、Ribosomal Database Project (RDP)、またはDOE JGI Microbial Genomics Databaseが含まれるが、これらに限定されるものではない。

#### 【0145】

[00158] 本開示は、追加またはより高精度の微生物情報、たとえば特定の cohorts におけるマイクロバイオームの組成、または特定の cohorts のマイクロバイオーム基準プロファイルを含むデータベースをも提供する。そのようなデータベースには下記のものを含めることができるが、それらに限定されない：特定の微生物株についてリボソームの16Sサブユニットを含む追加またはより高精度の配列、特定の微生物株についてリボソームの23Sサブユニットを含む追加またはより高精度の配列、リボソームの16Sサブユニットと23Sサブユニットの間の遺伝子間領域を含む配列の追加またはより高精度の情報、特定の株について16Sリボソーム中の可変領域を含む配列の追加またはより高精度の情報、特定の株についてリボソームの23Sサブユニット中の可変領域を含む配列の追加またはより高精度の情報、属レベルの株解像における高精度での可変領域を含む配列の追加またはより高精度の情報、種レベルの株解像における高精度での可変領域を含む配列の追加またはより高精度の情報、または亜型レベルの株解像における高精度での可変領域を含む配列の追加またはより高精度の情報。

#### 【0146】

[00159] 追加またはより高精度の情報をもつそのようなデータベースは、特定の微生物株について、リボソームの16Sサブユニットの500塩基対、600塩基対、700塩基対、800塩基対、900塩基対、1000塩基対、1100塩基対、1200塩基対、1300塩基対、1400塩基対を超える配列リードから構成することができる。そのようなデータベースは、特定の微生物株について、リボソームの16Sまたは23Sサブユニットの500塩基対、600塩基対、700塩基対、800塩基対、900塩基対、1000塩基対、1100塩基対、1200塩基対、1300塩基対、1400塩基対を超える配列リードから構成することができる。

#### 【0147】

[00160] そのようなデータベースは、特定の微生物株について、リボソームの16Sサブユニットと23Sサブユニットの間の遺伝子間領域を含む500塩基対、600塩基対、700塩基対、800塩基対、900塩基対、1000塩基対、1100塩基対、1200塩基対、1300塩基対、1400塩基対を超える配列リードから構成することができる。

#### 【0148】

[00161] そのようなデータベースは、16Sリボソーム中の可変領域を含む500塩基対、600塩基対、700塩基対、800塩基対、900塩基対、1000塩基対、1100塩基対、1200塩基対、1300塩基対、1400塩基対、1500塩基対を超える配列リードから構成することができる。そのようなデータベースは、16Sまたは2

3 S リボソーム中の可変領域を含む 5 0 0 塩基対、6 0 0 塩基対、7 0 0 塩基対、8 0 0 塩基対、9 0 0 塩基対、1 0 0 0 塩基対、1 1 0 0 塩基対、1 2 0 0 塩基対、1 3 0 0 塩基対、1 4 0 0 塩基対、1 5 0 0 塩基対を超える配列リードから構成することができる。

【0149】

[00162] そのようなデータベースは、さらに追加またはより高精度のプロテオーム情報を含むことができ、特定の微生物株について、リボソームの 1 6 S サブユニットの 5 0 0 アミノ酸、6 0 0 アミノ酸、7 0 0 アミノ酸、8 0 0 アミノ酸、9 0 0 アミノ酸、1 0 0 0 アミノ酸、1 1 0 0 アミノ酸、1 2 0 0 アミノ酸、1 3 0 0 アミノ酸、1 4 0 0 アミノ酸を超える配列リードから構成することができる。そのようなデータベースは、特定の微生物株について、リボソームの 1 6 S または 2 3 S サブユニットの 5 0 0 アミノ酸、6 0 0 アミノ酸、7 0 0 アミノ酸、8 0 0 アミノ酸、9 0 0 アミノ酸、1 0 0 0 アミノ酸、1 1 0 0 アミノ酸、1 2 0 0 アミノ酸、1 3 0 0 アミノ酸、1 4 0 0 アミノ酸を超える配列リードから構成することができる。

10

【0150】

[00163] そのようなデータベースは、特定の微生物株について、リボソームの 1 6 S サブユニットと 2 3 S サブユニットの間の遺伝子間領域を含む 5 0 0 アミノ酸、6 0 0 アミノ酸、7 0 0 アミノ酸、8 0 0 アミノ酸、9 0 0 アミノ酸、1 0 0 0 アミノ酸、1 1 0 0 アミノ酸、1 2 0 0 アミノ酸、1 3 0 0 アミノ酸、1 4 0 0 アミノ酸を超える配列リードから構成することができる。

【0151】

20

[00164] そのようなデータベースは、特定の微生物株について、1 6 S リボソーム中の可変領域を含む 5 0 0 アミノ酸、6 0 0 アミノ酸、7 0 0 アミノ酸、8 0 0 アミノ酸、9 0 0 アミノ酸、1 0 0 0 アミノ酸、1 1 0 0 アミノ酸、1 2 0 0 アミノ酸、1 3 0 0 アミノ酸、1 4 0 0 アミノ酸、1 5 0 0 アミノ酸を超える配列リードから構成することができる。

【0152】

[00165] そのようなデータベースは、特定の微生物株について、1 6 S または 2 3 S リボソーム中の可変領域を含む 5 0 0 アミノ酸、6 0 0 アミノ酸、7 0 0 アミノ酸、8 0 0 アミノ酸、9 0 0 アミノ酸、1 0 0 0 アミノ酸、1 1 0 0 アミノ酸、1 2 0 0 アミノ酸、1 3 0 0 アミノ酸、1 4 0 0 アミノ酸、1 5 0 0 アミノ酸を超える配列リードから構成することができる。

30

【0153】

[00166] データベースは、ユーザーがアクセスできるコンピューター実行可能なコードを含む、中央サーバーにあってよい。ユーザーは、アプリケーションに応じて物理的接続またはクラウドベースの接続を経由して中央サーバーに接続できる。ある適用において、データベースおよび必要な実行可能なコードの一部が適宜な記憶媒体でユーザーに供給されるであろう。

【0154】

コンピューター作成したレポート

[00167] コンピューターシステムは、さらに、対象からのマイクロバイオームのプロファイルの検出、測定または決定を通信するレポートを提供するための実行可能なコードを含むことができる。マイクロバイオームのプロファイルの測定または決定は、本明細書において提供されるデータベースの使用を含むことができる。

40

【0155】

[00168] 本明細書に開示するコンピューターシステムは、下記のうち少なくとも 1 つを実施するためのコンピューター実行可能なコードを含むことができる：対象からの生体試料からの測定データに基づいてコホート普遍化マイクロバイオームプロファイルまたは対象特異的マイクロバイオームプロファイルを作成すること、そのコホート普遍化マイクロバイオームプロファイルまたは対象特異的マイクロバイオームプロファイルを少なくとも 1 つの基準と比較すること、および対象の健康状態を判定すること。

50

## 【 0 1 5 6 】

[00169] ある適用において、コンピューターシステムは、コンピューター実行可能なコードを含む中央サーバーへの接続を備えることによりコンピューター実行可能なコードにアクセスして、少なくとも1つの臨床推奨事項、たとえば対象における疾患状態、診断、予後、処置提案、または臨床管理のための措置を含むレポートを作成することができ、それをヘルスワーカーまたは臨床医がその中央サーバーを介して検索することができる。コンピューター実行可能なコードを含む中央サーバーへの接続は、アプリケーションに応じて物理的接続またはクラウドベースの接続であってもよい。

## 【 0 1 5 7 】

## I V . キット

10

[00170] 本開示はキットを提供する。本明細書に記載するキットは、本明細書において提供される方法により1以上の微生物またはマイクロバイームプロファイルを測定または検出するための1以上の組成物、試薬、緩衝液、構成部品を含むことができる。キットは、本明細書において提供されるいずれかの方法を実施するための指示書をさらに含むことができる。たとえば、指示書は本明細書において提供される生体試料についての試料調製工程および測定または検出の詳細を含むことができる。また、キットの内容はその具体的適用および試料タイプに合わせて調整されるであろう。

## 【 0 1 5 8 】

[00171] キットは、対象の予後の検知および判定、応答の予測、ならびに診断のための本明細書に記載する方法に適した、PCR、DNA/RNAアレイ、タンパク質アレイ、シーケンシング、質量分析、免疫組織化学、レーザー細胞マイクロダイセクション、ハイコンテンツ細胞スクリーニング、フローサイトメトリーなどの適用による検出を可能にする試薬をさらに含むことができる。

20

## 【 0 1 5 9 】

[00172] キットは、マイクロバイームプロファイルの測定または決定のためのソフトウェアパッケージをさらに含むことができ、それは本明細書に記載するように基準マイクロバイームプロファイルまたは他の健康関連データを含むことができる。ある適用では、キットのソフトウェアパッケージは測定または決定を行なうために中央サーバーへの接続を含んでおり、少なくとも1つの臨床推奨事項、たとえば対象における疾患状態、診断、予後、処置提案、または臨床管理のための措置を含むレポートを作成することができ、それをヘルスワーカーまたは臨床医がその中央サーバーを介して検索することができる。

30

## 【 0 1 6 0 】

[00173] ある適用では、キットは、レポートをさらに含むことができる。レポートは紙または電子レポートであってもよい。レポートは、キットに備えられたコンピューターソフトウェアパッケージ（たとえば、コンピューター実行可能なコード）により作成することができ、あるいはユーザーがウェブサイトアップロードしたコンピューターサーバーにより作成することができ、その場合はコンピューターサーバーがレポートを作成する。

## 【 0 1 6 1 】

40

[00174] ある適用では、キットは、属、種、亜株のレベルまたはその組合わせで、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、150、200、250、300、350、400、450、または500を超える微生物のプロファイリングを提供することができる。

## 【 0 1 6 2 】

[00175] 一般に、キットは包装材料を含むであろう。本明細書中で用いる用語「包装材料」は、キットの構成部品を収容する物理的構造体を表わすことができる。包装材料はキット構成部品の無菌性を維持することができ、そのような目的に一般に用いられる材料（たとえば、紙、段ボール、ガラス、プラスチック、箔、アンプルなど）で作製すること

50

ができる。適用に応じて、キットは緩衝剤、保存剤、またはタンパク質もしくは核酸の安定剤などの材料、または生体試料もしくは試薬の安定輸送のために必要な材料をも含むことができる。

#### 【0163】

##### V. 微生物ベースの療法剤および化粧品

[00176] 本開示において、療法剤もしくは化粧品として投与できる組成物を提供する。本開示に示す1以上の微生物またはその組合わせを用いて、対象を処置するための多様な配合物を調製することができる。本開示は下記の状態に対する療法用または化粧品用配合物を提供する：IBD、早産、肥満症、糖尿病性足潰瘍、菌血症、アクネ、小児仙痛、II型糖尿病、ディフィシル菌、IBS、喘息、自閉症、乾癬、アレルギー、心血管疾患、癌、うつ病、嚢胞性線維症、多発性硬化症、尿路感染症、放射線腸障害、薬物代謝、慢性疲労、I型糖尿病。

10

#### 【0164】

##### A. 配合物

[00177] 本明細書において提供される配合物は、安定性を高めるために1以上の遺伝子要素を療法剤または化粧品に添加することを含むことができる。本明細書において提供される配合物は、経口（口腔および舌下）、直腸、鼻腔内、局所、経皮、経皮パッチ、肺、膣、坐剤、もしくは非経口（筋肉内、動脈内、クモ膜下、皮内、腹腔内、皮下、および静脈内を含む）投与用として適切なもの、またはエアゾール化、吸入、もしくは吹入による投与に適した形態を含むことができる。薬物送達システムに関する一般情報は、Anselら、医薬剤形と薬物送達システム（Lippencott Williams & Wilkins、メリーランド州バルチモア（1999））中に見出すことができる。

20

#### 【0165】

[00178] 療法用または化粧品用組成物の適切な投与量、処置回数、および単位量は、対象および対象の疾患状態に従って異なるであろう。投与に関与する者がその対象に適した用量、処置回数などを決定するであろう。

#### 【0166】

[00179] 種々の適用では、療法用または化粧品用組成物は下記のものを含むことができる：担体および賦形剤（緩衝剤、炭水化物、マンニトール、タンパク質、ポリペプチド、またはアミノ酸、たとえばグリシン、抗酸化剤、静菌剤、キレート化剤、懸濁化剤、増粘剤および/または保存剤を含むが、これらに限定されない）、水、石油、動物、植物または合成に由来するものを含む油、たとえばラッカセイ油、ダイズ油、鉱油、ゴマ油など、塩類溶液、デキストロースおよびグリセロールの水溶液、矯味矯臭剤、着色剤、粘着防止剤、ならびに他の許容できる添加剤、佐剤、または結合剤、生理的条件に近づけるための医薬的に許容できる他の補助物質、たとえばpH緩衝剤、張力調節剤、乳化剤、湿潤剤など。賦形剤の例には、デンプン、グルコース、乳糖、ショ糖、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、白亜、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、脱脂粉乳、グリセロール、プロピレングリコール、水、エタノールなどが含まれる。

30

#### 【0167】

[00180] ある適用では、療法用または化粧品用組成物は実質的に保存剤を含まない。他の適用では、組成物は少なくとも1種類の保存剤を含むことができる。医薬剤形に関する一般法は、Anselら、医薬剤形と薬物送達システム（Lippencott Williams & Wilkins、メリーランド州バルチモア（1999））中に見られる。本明細書において提供される組成物を投与するために当業者に公知のいずれか適切な担体を使用できるが、担体のタイプが投与様式に応じて異なることは認識されるであろう。許容できる担体/賦形剤の詳細な考察は、レミントンの薬学、Gennaro, AR編、第20版、2000: Williams and Wilkins、ペンシルバニア州、米国中に見出すことができる。

40

#### 【0168】

50

【00181】 周知の技術を用いて療法用または化粧用組成物をリポソーム内に封入することもできる。生分解性マイクロスフェアも、本明細書において提供される療法用または化粧用組成物のための担体として使用できる。適切な生分解性マイクロスフェアは、たとえば米国特許第4,897,268号、第5,075,109号、第5,928,647号、第5,811,128号、第5,820,883号、第5,853,763号、第5,814,344号、および第5,942,252号に開示されている。

【0169】

【00182】 組成物をリポソームまたはマイクロスフェアまたはマイクロ粒子で投与することができる。患者に投与するためのリポソームまたはマイクロスフェアを調製する方法は当業者に周知である。米国特許第4,789,734号（その内容を本明細書に援用する）には、生体材料をリポソームに封入するための方法が記載されている。公知方法の総説が、G. Gregoriadis、第14章、「リポソーム」、Drug Carriers in Biology and Medicine、pp. 2、sup. 87-341（Academic Press、1979）に示されている。

【0170】

【00183】 ポリマーまたはタンパク質で形成されたマイクロスフェアは当業者に周知であり、胃腸管を通して血流に直接入るように適合させることができる。あるいは、化合物を取り込ませ、そして数日から数か月までの長期間にわたって徐々に放出させるためにマイクロスフェアまたはマイクロスフェア複合体を埋め込むことができる。たとえば、米国特許第4,906,474号、第4,925,673号、および第3,625,214号、ならびに Jein、TIPS 19:155-157（1998）を参照；それらの内容を本明細書に援用する。

【0171】

【00184】 本明細書において提供される組成物は、当該技術分野で周知の適切なビヒクル中に滅菌の溶液または懸濁液として配合することができる。療法用または化粧用組成物を常法により殺菌することができ、あるいは滅菌濾過することができる。得られた水溶液をそのまま使用するために包装することができ、あるいは凍結乾燥し、その凍結乾燥調製物を投与前に滅菌溶液と混和することができる。適切な配合物およびさらに他の担体は、レミントン「薬学の科学と実践」（第20版、Lippincott Williams & Wilkins、メリーランド州バルチモア）に記載されており、その教示内容を全体として本明細書に援用する。

【0172】

#### VI. 適応症

【00185】 前記のように、マイクロバイオーームは対象の疾患状態および臨床処置応答に対して影響をもつ可能性があることが研究により示されている。たとえば、肥満個体と瘦せた個体は特定の微生物種の相異に基づいて分類することができる（Future Microbiol.（2012）7（1）：91-109）。さらに、他の例では、ラクトバチルス・ガセリ（*Lactobacillus gasseri*）S B T 2 0 5 5 を瘦せた個体に投与すると体重減少がみられた（Micr. Path.（2012）53（2）：100-108；Eur J Clin Nutr（2010）64：636-43）。それに対し、肥満個体について最大の体重減少効果があったのはラクトバチルス・プランタルム（*Lactobacillus plantarum*）であった（Micr. Path.（2012）53（2）：100-108；Eur J Clin Nutr（2010）64：636-43）。これらの研究は、処置を対象のマイクロバイオーームに特異的に適合させることは対象の健康状態に有益な効果をもち、あるいはある適応症の発症に関連する特定の症状を改善する可能性があることを示す。

【0173】

【00186】 さらに、非肥満個体では、水素分圧によりアセテート産生発酵反応が制限され、それがさらなる発酵に対する熱力学的バリエードを形成している（Dolfing & Tiedje、54 Appl. Environ. Microbiol. 1871-



3、1988; Schink、61、Microbiol. Mol. Bio. Rev. 262-80、1997)。これに対し、肥満個体は水素を消費できる水素酸化作用性メタン産生菌(methanogen)をもち、したがってアセテート産生発酵反応を継続させることができる。肥満個体の消化管は、実際に独特に水素酸化作用性メタン産生古細菌(Archaea)(Zhangら、PNAS 106:2365-70、2009)およびより高いレベルのプレボテラ科(Prevotellaceae)細菌(バクテロイデテス・フィルム(Bacteroidetes phylum))(Turnbaugh 2006)を含む;これらは炭水化物発酵反応を行なってアセテートと水素にすることが知られている。

【0174】

[00187] 本開示を使用できる適応症には下記のものが含まれるが、それらに限定されない:IBD、早産、肥満症、糖尿病性足潰瘍、菌血症、アクネ、小児仙痛、II型糖尿病、ディフィシル菌、IBS、喘息、自閉症、乾癬、アレルギー、心血管疾患、癌、うつ病、嚢胞性線維症、多発性硬化症、尿路感染症、放射線腸障害、薬物代謝、慢性疲労、およびI型糖尿病。

【0175】

[00188] 炎症性腸疾患(IBD)は、消化管の全体または一部の慢性炎症を伴う。IBDには主に潰瘍性大腸炎およびクローン病が含まれる。IBDは疼痛性および衰弱性である可能性があり、時には致命的合併症につながる。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、健康状態またはIBD、潰瘍性大腸炎およびクローン病のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む、少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、炎症性腸疾患状態の処置のための療法用または化粧用配合物も提供する。

【0176】

[00189] 早産は妊娠37週以前に収縮により子宮頸が開き始めた場合に起きる。より早期に早産が起きるほど、発育中の児の健康リスクは大きくなる。多くの早産児が新生児集中治療室での特別なケアを必要とする。早産児は長期的な精神的および身体的障害をもつ可能性もある。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、健康状態または早産のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。

【0177】

[00190] 肥満症は過剰量の体脂肪を伴う複雑な障害である。肥満症は心疾患、糖尿病および高血圧などの疾患および健康問題のリスクを高める。本開示の方法、組成物、システムおよびキットは、健康状態または肥満症のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、肥満状態の処置のための療法用または化粧用配合物をも提供する。

【0178】

[00191] 末梢神経障害は糖尿病性神経障害の最も一般的な形態である。足および脚がしばしば最初に影響を受け、手および腕がこれに続く。可能性がある末梢神経障害の徴候および症状には、重篤な足問題、たとえば潰瘍、感染症、変形、ならびに骨および関節の痛みを含めることができる。本開示の方法、組成物、システムおよびキットは、健康状態または糖尿病性神経障害のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、糖尿病性神経障害状態の処置のための療法用または化粧用配合物をも提供する。

【0179】

[00192] 菌血症または敗血症は、血中に細菌が存在することを表わす。菌血症の診断は通常は血液培養によって確認される。処置は通常は入院および静脈内抗生物質を必要とする。即座に処置を行わなければ、菌血症は急速に進行して重篤な敗血症になる可能性がある。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、健康状態または菌血症のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供し、それはその感染症の抗生物質感受性を含むことができる。本開

示は、菌血症の処置のための療法用または化粧用配合物も提供する。

【 0 1 8 0 】

[00193] アクネは、毛嚢が油および死んだ皮膚細胞で閉塞状態になった場合に起きる皮膚状態である。アクネは顔、首、胸部、背部および肩に現われるのが最も一般的である。アクネの重症度によっては、この状態は精神的苦悩の原因となり、また皮膚の瘢痕化を生じる可能性がある。本開示の方法、組成物、システムおよびキットは、健康状態またはアクネのための処置様式に関する指針を与えるレポートを含むマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、アクネ状態の処置のための療法用または化粧用配合物をも提供する。

【 0 1 8 1 】

[00194] 小児仙痛 過度の号泣、過敏性または癰癤を伴う小児を表わすために、医師および親は仙痛という用語を用いる。仙痛を伴う小児は、しばしば1日3時間以上、週3日以上、3週間またはそれ以上にわたって泣く。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、健康状態または小児仙痛のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、前記状態の処置のための療法用または化粧用配合物も提供する。

【 0 1 8 2 】

[00195] I I型糖尿病（以前は、成人発症型または非インスリン依存型糖尿病として知られていた）は、身体がグルコースを代謝する様式に影響を及ぼす慢性状態である。I I型糖尿病を伴うと、身体はインスリンの作用に抵抗し、あるいは正常なグルコースレベルを維持するのに十分なインスリンを産生しない。処置しなければI I型糖尿病は致命的となる可能性がある。本開示の方法、組成物、システムおよびキットは、健康状態またはI I型糖尿病のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、I I型糖尿病の処置のための療法用または化粧用配合物をも提供する。

【 0 1 8 3 】

[00196] クロストリジウム・ディフィシル（ディフィシル菌）（*Clostridium difficile*）、（しばしば、“C. difficile”または“C. diff”と呼ばれる）は、下痢から致命的な大腸炎症にまで及ぶ症状を引き起こす可能性がある細菌である。本開示の方法、組成物、システムおよびキットは、健康状態またはディフィシル菌などの感染症のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、ディフィシル菌感染症の処置のための療法用または化粧用配合物も提供する。

【 0 1 8 4 】

[00197] 喘息は、気道が狭窄および腫脹して余分な粘液を産生する状態である。これは呼吸を困難にし、咳、喘鳴および息切れを誘発する可能性がある。本開示の方法、組成物、システムおよびキットは、健康状態または喘息のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、喘息の処置のための療法用または化粧用配合物も提供する。

【 0 1 8 5 】

[00198] 自閉症スペクトラム障害（autism spectrum disorder）は、小児が他と意思疎通および交流する能力を損なう重篤な神経発達障害である。それには、限定された反復性の行動、興味および活動も含まれる。自閉症スペクトラム障害（ASD）は、現在ではAmerican Psychiatric Association's Diagnosis and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5)により、以前は別のものとみなされていた障害 - 自閉症（autism）、アスペルガー症候群、小児崩壊性障害（childhood disintegrative disorder）および広汎性発達障害（pervasive developmental disorder）（ほかには指定されていない） - を含めた単一障害と定義されている。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、健康状態または自閉症スペクトラム障害のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、自閉症

10

20

30

40

50

スペクトラム障害の処置のための療法用または化粧用配合物も提供する。

【 0 1 8 6 】

[00199] 乾癬は、皮膚細胞のライフサイクルを変化させる尋常性、持続性、長期性（慢性）の皮膚状態である。乾癬は細胞を皮膚の表面に急速に蓄積させる。余分な皮膚細胞は、厚い銀白色の鱗屑および痒い乾いた紅斑を形成し、それらは時に痛みを伴なう。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、健康状態または乾癬のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、乾癬または類似の皮膚状態の処置のための療法用または化粧用配合物も提供する。

【 0 1 8 7 】

[00200] アレルギーは免疫系が花粉、蜂毒またはペット皮あかなどの外来物質に対して反応した際に起きる。アレルゲンと接触すると、免疫系の反応が皮膚、洞、気道または消化器系を炎症させる可能性がある。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、健康状態またはアレルギーのための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、アレルギーの処置のための療法用または化粧用配合物も提供する。

【 0 1 8 8 】

[00201] 心血管疾患は身体の心臓、動脈および静脈に影響を及ぼす可能性がある。幾つかの心血管疾患の例には、心臓弁膜症、冠動脈疾患、成人先天性心疾患および先天性心臓特発性冠動脈剥離、心不全、心リズム障害（不整脈）が含まれるが、これらに限定されない。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、健康状態または心血管疾患のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、前記の心血管状態の処置のための療法用または化粧用配合物も提供する。

【 0 1 8 9 】

[00202] 癌は、無制御に分裂し、正常な身体組織および臓器に浸潤して破壊する能力をもつ、異常な細胞の発現を特徴とする多数の増殖性疾患のいずれかを表わす。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、健康状態または癌または他の増殖性疾患のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、癌の処置のための療法用または化粧用配合物をも提供する。

【 0 1 9 0 】

[00203] うつ病（大うつ病、大抑うつ障害または臨床的うつ病とも呼ばれる）は、持続的な悲嘆感情および興味喪失を引き起こす気分障害である。それはある者がどのように感じ、考え、かつ行動するかに影響を及ぼす可能性があり、多様な情動問題および身体問題につながる可能性がある。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、健康状態または抑うつ障害のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、抑うつ状態の処置のための療法用または化粧用配合物も提供する。

【 0 1 9 1 】

[00204] 嚢胞性線維症は、肺および消化器系に重篤な損傷を引き起こす致命的な遺伝的障害である。嚢胞性線維症は、身体において潤滑剤として作用する分泌液、たとえば粘液、汗および消化液を産生する細胞に影響を及ぼす。これらの分泌液は普通は希薄かつ滑らかであるが、嚢胞性線維症においては分泌液が濃厚かつ粘稠になり、その結果、特に肺および膵臓の管、導管および通路を閉塞する。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、健康状態または嚢胞性線維症のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、嚢胞性線維症の処置のための療法用または化粧用配合物も提供する。

【 0 1 9 2 】

[00205] 多発性硬化症は、神経を覆う保護鞘（ミエリン）を免疫系が攻撃する疾患で

10

20

30

40

50

ある。ミエリン損傷は脳と他の身体部位との連絡を破断する。最終的に神経自体が崩壊する可能性があり、それは現在のところ不可逆的なプロセスである。本開示の方法、組成物、システムおよびキットは、健康状態または多発性硬化症のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、多発性硬化症の処置のための療法用または化粧用配合物も提供する。

【0193】

[00206] 尿路感染症は、泌尿器系のいずれかの部分（たとえば、腎臓、尿管、膀胱および尿道）の感染症である。大部分の感染症は下部尿路 - 膀胱および尿道に関係する。膀胱に限定された感染症は痛みを伴ない、かつ煩わしい可能性がある。しかし、UTI（尿路感染症）が腎臓にまで拡散すれば、重篤な結果が起きる可能性がある。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、健康状態または尿路感染症のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、泌尿器系のいずれかの部分の感染症の処置のための療法用または化粧用配合物も提供する。

10

【0194】

[00207] 放射線腸障害は結腸および直腸ないし小腸の放射線誘発性胃腸傷害である。放射線療法は多様な悪性疾患に対する腫瘍学的処置の主軸であり、一般に胃腸（GI）、泌尿器および婦人科の癌を伴う患者の腹部および骨盤に施される。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、健康状態または放射線腸障害のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、放射線誘発性傷害状態の処置のための療法用または化粧用配合物をも提供する。

20

【0195】

[00208] 薬物代謝は身体が投与後の薬物を分解する速度に関係する。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、患者の健康状態または薬物代謝のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、薬物代謝状態の処置のための療法用または化粧用配合物をも提供する。

【0196】

[00209] 慢性疲労症候群は、根源となる何らかの医学的状态により説明できない極度の疲労を特徴とする合併障害である。その疲労は身体活動または精神活動に伴なって増悪する可能性があるが、休養によって改善しない。慢性疲労症候群の原因は現在のところ分かっていない。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、健康状態または慢性疲労症候群のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、CSF（慢性疲労症候群）状態の処置のための療法用または化粧用配合物も提供する。

30

【0197】

[00210] I型糖尿病（以前は、若年型またはインスリン依存型糖尿病として知られていた）は、インスリン、すなわち糖（グルコース）が細胞に進入してエネルギーを産生するのに必要なホルモンを膵臓がほとんどまたは全く産生しない慢性状態である。遺伝および特定のウイルスへの曝露を含めた多様な要因がI型糖尿病に関与している可能性がある。I型糖尿病は一般に小児期または青年期に発現するが、成人に発症する可能性もある。本開示の方法、組成物、システムおよびキットは、健康状態またはI型糖尿病のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、I型糖尿病の処置のための療法用または化粧用配合物も提供する。

40

【0198】

[00211] 歯髄腔は、食物からの糖が細菌により産生されるグルカンスクラーゼ酵素によって長い粘稠な糖鎖に変換されることにより生じる。この酵素は進化的にアミラーゼ、すなわちデンプンを分解するために使われる酵素に密接に関係するので、この酵素を直接

50

阻害する試みは失敗した。より有効な方法は、齧食に関連する細菌であるストレプトコッカス・ミュータンス (*Streptococcus mutans*) の割合を減らすことであろう。これは、身体がデンプンを分解するのに使う有用な酵素を無傷のまま残すが、同時に腔形成の速度を最小限に抑える。本開示の方法、組成物、システム、およびキットは、健康状態または齧食のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、齧食状態の処置のための療法用または化粧品用配合物も提供する。

#### 【0199】

[00212] 口臭は、個体の口腔内に存在する微生物叢によって著しく悪い息が産生される歯科状態である。最も問題のあるタイプはグラム陰性細菌（たとえば、プレボテラ・インターメディア (*Prevotella intermedia*)、ポルフィロモナス・ジンジバリス (*Porphyromonas gingivalis*)、トレボネマ・デンティコラ (*Treponema denticola*)）であることが知られている。本明細書に概説する方法、すなわち最も問題のある細菌および最も保護作用の大きいものの株レベルでのリストの使用によって、指向性の療法用/化粧品用配合物で口臭を処置することができるであろう。本開示の方法、組成物、システムおよびキットは、健康状態または口臭のための処置様式に関する指針を与えるレポートを含む少なくとも1つのマイクロバイオームの診断アッセイを提供する。本開示は、口臭の処置のための療法用または化粧品用配合物も提供する。

#### 【実施例】

#### 【0200】

##### VII. 実施例

##### 実施例1：マイクロバイオーム分類精度の比較

[00213] より多数の細菌株を同定するのに伴って、数個の超可変領域のシーケンシングだけでは十分な区別が得られないことが明らかになった。相同な超可変領域を共有する細菌のクラスが現在解明されている。したがって、正確な分類呼出しを作成するためには、16Sおよび/または23S全体をシーケンシングしてすべての超可変領域を含めることが必要である。本開示の方法が微生物分類について向上した精度を提供するかどうかを判定するために、本開示の方法および当該技術分野における現在の方法で比較シミュレーション実験を実施した。

#### 【0201】

[00214] 16Sおよび/または23Sリボソームサブユニットのロングリード長配列カバレッジを用いると、各配列リードは細菌同定の明確な割当てを与えることができる。現在のより短いリード長のプラットフォームは1~3つの超可変領域をカバーするにすぎない：図2A。これらのより短いリード長のプラットフォームは、現在60~80%以下の分類精度で実施されている。16Sオペロン全体を覆うことができるリード長は、90~99%の分類精度で実施されるであろう：図2B。図2Bに示すプロットは、より短い超可変領域のシーケンシング（下側の各線）-対-単一配列リードでの16Sサブユニット全体のシーケンシング（上側の線）に基づく分類精度を示す。これらのプロットは、リボソームデータベースプロジェクトからのデータから導いた計算を用いて作成されている。さらに、特定のより長いリードのシーケンシング技術におけるより高いエラー率を考慮してすなわち、実質的に、より良好な分類精度が得られる。拡大することにより、リボソームRNAオペロン全体（16S、遺伝子間、および23Sの領域を含むrRNA）のシーケンシングは、本方法の分類能力を高めるであろう。

#### 【0202】

実施例2：対象の消化管マイクロバイオームおよび肥満症に対する食事の影響（机上の実施例）

[00215] 本明細書において提供する方法を用いて、特定の食事計画が対象の消化管マイクロバイオームプロファイルを変化させることができるかどうか判定するための実験を実施した。図3は、本明細書に記載する方法を用いて、個体の消化管マイクロバイオームプロファイルにおいて測定および検出した変化を、食事の変化に対して示す。体重（点線

）は、マイクロバイオーーム構造の変化と比較した場合に遅滞指標である。

【0203】

[00216] 定量マイクロバイオーームプロファイルに基づいて、図1に示すコンピュータシステムを用いて作成した個別化食事摂取の推奨を含むレポートをヘルスケア専門家に提供した。

【0204】

実施例3：株レベルでのマイクロバイオーームの微生物解像度の比較

[00217] この分野で用いられている現在の方法と比較して、本開示の方法が株レベルで高い微生物分類精度を提供するかどうか判定するために、本開示の方法で比較シミュレーション実験を実施した。

【0205】

[00218] 試料を皮膚スワブの形態で採取した。簡単に述べると、最初に、滅菌綿棒を、1×滅菌PBSを入れたチューブに湿潤するまで浸漬させる；次いで綿棒を目的領域上で10～20回拭き取る；次に綿棒を1.5mL滅菌チューブ内の300μLの細胞溶解用緩衝液（本明細書に記載のもの）に穏やかに浸漬させる；そして核酸抽出まで綿棒をマイクロ遠心チューブに入れたままにしておく。後続のヒト皮膚マイクロバイオーーム試料からのDNAの抽出は、エキソヌクレアーゼの除去を含み、続いてアダプターライゲーションを種々の比較的高い濃度で実施した。次に、期待する長さのアンプリコン種をエンリッチするためにAmpure法およびBlue Pippen法を用いるサイズ選択を実施した。抽出の後、核酸試料を適正サイズについて選択した。次にPCR増幅反応を実施して、シーケンシングのためのライブラリーを調製した。どのセットが最小の自己相補性をもつかの指標となる経験的データに基づいて、フォワードおよびリバースプライマーを選択した。最後に、ロングリード長シーケンシング技術を用いて試料をシーケンシングした。

【0206】

[00219] 図4(A)は、ニトロソモナス(Nitrosomonas)属についての本方法による株レベルでの解像データを表わし、株分類精度%をY軸に示す。(B)は、ブドウ球菌(Staphylococcus)属についての本方法による株レベルでの解像データを表わし、株分類精度%をY軸に示す。図6(A)は現在の技術を用いたマイクロバイオーームの標準的解像度、(B)は本明細書に記載する方法を用いたマイクロバイオーームの解像度を示す。

【0207】

実施例4：アクネに対する微生物ベースの療法適用の試験（机上の実施例）

[00220] 皮膚へのニトロソモナス(Nitrosomonas)属菌の適用がアクネ罹患者に対して有益な効果をもつ可能性がどうかを判定するために、本明細書において提供される方法を用いた実験を実施した。

【0208】

[00221] 皮膚試料について、下記の工程を用いて試料を調製した：最初に、滅菌綿棒を、1×滅菌PBSを入れたチューブに湿潤するまで浸漬させる；皮膚がその後わずかにピンク色/赤色になるのに十分な力で、綿棒を目的領域上で10～20回拭き取る；綿棒を1.5mL滅菌チューブ内の300μLの細胞溶解用緩衝液（以下に記載のもの）に穏やかに浸漬させる；綿棒を、検査室へ送るためのマイクロ遠心チューブに入れたままにしておき、次いで核酸抽出および本明細書において提供される方法を用いるロングリード長シーケンシング解析のために処理する。

【0209】

[00222] 図5は、この試験からの予想した結果を示す。(A)は、微生物療法剤/化粧品の適用の成功を経時的に定量するためにどのようにして本開示の方法を使用できるかを示す。非片利共生株をコンソーシアに加えると、適用株を個体のその部位（たとえば、皮膚、消化管、口腔など）のマイクロバイオーームのバックグラウンド多様性から区別するのに役立つ。(B)は、安定化作用をもつ片利共生株を見出すためにどのようにして本開示における方法を使用できるかを示す。存在した場合に適用コンソーシアの寿命と関連す

る株は、初期コンソーシアを拡張して高い安定性および有効性を備えた配合物を調製するための候補となるであろう。

【 0 2 1 0 】

実施例 5：疾患対象および健康な対照対象についての関連試験（机上の実施例）

[00223] 健康なマイクロバイームプロファイルと疾患マイクロバイームプロファイルから区別できるマイクロバイームの相関性に対して、本開示の方法が伝統的な現在の方法より多くの見通しを提供するかを判定するために、比較実験を実施した。

【 0 2 1 1 】

[00224] 核酸をヒトマイクロバイームからの生体試料から抽出した。簡単に述べると、エキソヌクレアーゼの除去を実施し、続いてアダプターライゲーションを種々の比較的高い濃度で実施した。次に、期待する長さのアンプリコン種（たとえば、全長 16 S は約 1500 bp である）をエンリッチするために Ampure 法および Blue Pippin 法を用いるサイズ選択を実施した。試料を適正サイズについて選択した後、増幅反応を実施して、シーケンシングのためのライブラリーを調製した。どのセットが最小の自己相補性をもつかの指標となる経験的データに基づいて、フォワードおよびリバースプライマーを選択した。最後に、ロングリード長シーケンシング技術を用いて試料をシーケンシングした。

【 0 2 1 2 】

[00225] 上記の方法を用いて、健康対象を疾患対象から区別する微生物のセットを、マイクロバイームにおいて同定することを期待する。本明細書において提供する以下のプロトコルを用いて、健康個体と疾患個体の相異を査定することができる。本明細書に記載する方法に使用できる疾患の例には、IBD、早産、肥満症、糖尿病性足潰瘍、菌血症、アクネ、小児仙痛、II 型糖尿病、デフィシル菌、IBS、喘息、自閉症、乾癬、アレルギー、心血管疾患、癌、うつ病、嚢胞性線維症、多発性硬化症、尿路感染症、放射線腸障害、薬物代謝、慢性疲労、I 型糖尿病、口臭、および齲食が含まれる。

【 0 2 1 3 】

[00226] 図 7 は、予想した比較関連試験の結果を示す。(A) は、現在用いられている技術を用いた疾患患者および健康な対照患者のマイクロバイームとの関連試験からの予想した結果を示し、マイクロバイームプロファイルと疾患状態の明らかな相関性は示されない。

【 0 2 1 4 】

[00227] これに対し、図 7 (B) は、本明細書に記載する方法を用いた疾患患者および健康な対照患者のマイクロバイームとの関連試験からの予想した結果を示し、健康な対照のマイクロバイームプロファイルと疾患対象のマイクロバイームプロファイルから区別できるマイクロバイームの相関性が明らかになる（図 8 に示すように）。

【 0 2 1 5 】

[00228] 本開示の好ましい態様を本明細書に提示および記載したが、そのような態様は例示のために示したものにすぎないことは当業者に明らかであろう。当業者は本開示から逸脱することなく多数の改変、変更および置き換えをなしうるであろう。本開示を実施するに際して本明細書に記載する本開示の態様に対する多様な別形態を採用できることを理解すべきである。以下の特許請求の範囲が本開示の範囲を規定し、それによりこれらの特許請求の範囲内の方法および構造ならびにそれらの均等物が含まれるものとする。

本願は以下の発明を包含する。

[ 項目 1 ] 微生物を分類する方法であって：

第 1 微生物の単一リード長内に含まれる 16 S または 23 S リボソームサブユニットの核酸配列を得；

第 1 微生物のその核酸配列を基準と比較し；そして、

その比較に基づいて第 1 微生物を株レベルで同定する、

ことを含む、前記方法。

[ 項目 2 ] 対象におけるマイクロバイームをプロファイリングする方法であって：

その対象から得た生体試料中の少なくとも1つの微生物から16Sリボソームサブユニットの核酸配列を得；

得られた核酸配列に基づいてその生体試料内のその少なくとも1つの微生物を分析し；そして、

その分析に基づいてマイクロバイオームのプロファイルを決定する、ことを含む、前記方法。

[項目3] 対象におけるマイクロバイオームをプロファイリングする方法であって；

その対象から得た生体試料中の少なくとも1つの微生物から16Sおよび23Sリボソームサブユニットの核酸配列を得；

得られた配列に基づいてその生体試料内のその少なくとも1つの微生物を分析し；そして、

その分析に基づいてその対象におけるマイクロバイオームのプロファイルを決定する、ことを含む、前記方法。

[項目4] 対象におけるマイクロバイオームのプロファイルの決定が、50以下の微生物、55以下の微生物、60以下の微生物、65以下の微生物、70以下の微生物、75以下の微生物、80以下の微生物、85以下の微生物、90以下の微生物、100以下の微生物、200以下の微生物、300以下の微生物、400以下の微生物、500以下の微生物、600以下の微生物、700以下の微生物、または800以下の微生物に基づく、項目2または3に記載の方法。

[項目5] 対象におけるマイクロバイオームのプロファイルの決定が、測定に基づく70%を超える精度を有する、項目2または3に記載の方法。

[項目6] 少なくとも2つの異なる時点で採取した生体試料中の少なくとも1つの微生物から核酸配列を得ることをさらに含む、項目2または3に記載の方法。

[項目7] 対象における健康状態の指標となる代謝経路を決定する方法であって；

対象からの生体試料から、単一リード長内に転写物全体が含まれるようにRNA配列を得；

それらの転写物をシーケンシング法により解析し；

配列決定した転写物を基準と比較し；そして、

健康状態の指標となる代謝経路を決定する、

ことを含む、前記方法。

[項目8] 解析にロングリードシーケンシングプラットフォームを使用する、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

[項目9] 対象において疾患を処置する方法であって；

(a) その対象から得た生体試料において、少なくとも1つの微生物を含むマイクロバイオームプロファイルを測定し；

(b) その測定に基づいて対象における疾患の存在の有無を検出し；そして、

(c) その検出に基づいて対象における疾患を処置する、

ことを含む、前記方法。

[項目10] 測定が、イムノアッセイ、フローサイトメトリーアッセイ、バイオチップアッセイ、マイクロアレイアッセイ、およびシーケンシングアッセイのうち少なくとも1つの使用を含む、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

[項目11] 測定が微生物を検出またはそのレベル測定することを含む、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

測定が微生物上のマーカーを検出またはそのレベル測定することを含む、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

[項目12] (a) 対象から得た生体試料において、少なくとも2つの微生物を含むマイクロバイオームパネルの測定値を含むデータを取得し；

(b) その測定データに基づいてそのマイクロバイオームパネルのマイクロバイオームプロファイルを作成し；

(c) そのマイクロバイオームパネルのマイクロバイオームプロファイルを基準プロフ

10

20

30

40

50



ファイルと比較し；そして、

（d）その比較に基づいてその対象における疾患状態の尤度を決定する、  
ことを含む方法。

〔項目13〕（a）対象から得た生体試料において、少なくとも2つの微生物を含むマイクロバイオームパネルの測定値を含むデータを取得し；

（b）その測定データに基づいてそのマイクロバイオームパネルのマイクロバイオームプロファイルを作成し；

（c）そのマイクロバイオームパネルのマイクロバイオームプロファイルを基準の閾値と比較し；そして、

（d）そのマイクロバイオームパネルの基準の少なくとも1つの閾値との比較に基づいて、その対象における疾患状態の尤度を決定する、  
ことを含む方法。

10

〔項目14〕対象における疾患について対象を診断する方法であって：

（a）その対象から得た生体試料において、少なくとも1つの微生物を含む微生物パネルを測定し；

（b）その測定に基づいて対象における疾患の存在の有無を検出し；そして、

（c）その検出に基づいて、その疾患の処置のための少なくとも1つの微生物ベースの療法剤または化粧品を対象に推奨する、

ことを含む、前記方法。

〔項目15〕微生物試料が、血液、唾液、頬スワブ、皮膚、細胞、尿、便、体液、膣分泌物、または病巣浸出物を含む、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

20

〔項目16〕70%を超える感度で疾患状態の存在の有無を検出することをさらに含む、項目14に記載の方法。

〔項目17〕70%を超える感度および特異性で疾患状態の存在の有無を検出することを含む、項目14に記載の方法。

〔項目18〕75%、80%、85%、90%、または95%を超える感度で疾患状態の存在の有無を検出することを含む、項目14に記載の方法。

〔項目19〕75%、80%、85%、90%、または95%を超える感度および特異性で疾患状態の存在の有無を検出することを含む、項目14に記載の方法。

〔項目20〕対象がヒト対象である、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

30

〔項目21〕対象が疾患について無症候性である、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

〔項目22〕対象がその疾患について少なくとも1つの臨床症状を示している、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

〔項目23〕疾患状態が、臨床転帰不良、臨床転帰良好、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全応答、部分応答、安定疾患、不応答、または疾患管理のための推奨処置である、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

〔項目24〕対象におけるマイクロバイオームプロファイルを決定するためのコンピューターシステムであって：

（a）対象の生体試料からの、少なくとも1つの微生物のマーカーを含む微生物パネルの測定値を含むデータを受信するための記憶ユニット；

40

（b）項目1～23のいずれか1項に記載の方法に従って測定データを解析するためのコンピューター実行可能な指示；および、

（c）その解析に基づいて対象における少なくとも疾患の存在の有無を決定するためのコンピューター実行可能な指示、  
を含む、前記コンピューターシステム。

〔項目25〕対象における少なくとも1つの疾患の存在の有無のレポートを作成するためのコンピューター実行可能な指示をさらに含む、項目21に記載のコンピューターシステム。

〔項目26〕（a）対象から得た生体試料からの、少なくとも1つの微生物から選択し

50

た少なくとも1つのマーカーを含むマイクロバイオームプロファイルの測定値を含むデータを解析するためのコンピューター実行可能な指示；および、

(b) その解析に基づいて対象における少なくとも疾患の存在の有無を決定するためのコンピューター実行可能な指示、を含むコンピューター可読媒体。

[項目27] そのレポートをユーザーに通信または表示するように構成されたユーザーインターフェースをさらに含む、項目21に記載のコンピューターシステム。

[項目28] (a) 対象から得た生体試料からの、少なくとも1つの微生物に対する少なくとも1つのマーカーを含むマイクロバイオームプロファイルの測定に使用するための1以上の組成物；および、

(b) 前記項目のいずれか1項に記載の方法を実行するための指示書、を含むキット。

[項目29] 項目21に記載のコンピューター可読媒体をさらに含む、項目28に記載のキット。

[項目30] 微生物のパネルが、2以下の微生物、3以下の微生物、4以下の微生物、5以下の微生物、6以下の微生物、7以下の微生物、8以下の微生物、9以下の微生物、10以下の微生物、11以下の微生物、12以下の微生物、13以下の微生物、14以下の微生物、15以下の微生物、16以下の微生物、18以下の微生物、19以下の微生物、20以下の微生物、25以下の微生物、30以下の微生物、35以下の微生物、または40以下の微生物を含む、項目14に記載の方法。

[項目31] 疾患が、IBD、早産、肥満症、糖尿病性足潰瘍、菌血症、アクネ、小児仙痛、II型糖尿病、デフィシル菌(*C. difficile*)、IBS、喘息、自閉症、乾癬、アレルギー、心血管疾患、癌、うつ病、嚢胞性線維症、多発性硬化症、尿路感染症、放射線腸障害、薬物代謝、慢性疲労、I型糖尿病、口臭、および齧食から選択される、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

[項目32] 生体試料が、皮膚マイクロバイオーム、臍帯マイクロバイオーム、膣マイクロバイオーム、結膜マイクロバイオーム、腸マイクロバイオーム、胃マイクロバイオーム、消化管マイクロバイオーム、口腔マイクロバイオーム、鼻腔マイクロバイオーム、胃腸管マイクロバイオーム、尿生殖路マイクロバイオーム、またはそれらの組み合わせから選択されるマイクロバイオームを含む、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

[項目33] マイクロバイオームパネルが、16Sまたは23Sリボソームサブユニットの微生物マーカーを含む、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

[項目34] マイクロバイオームパネルが、16Sまたは23Sリボソームサブユニット転写物全体に対する微生物マーカーを含む、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

[項目35] マイクロバイオームパネルが、16Sまたは23Sリボソームサブユニット転写物全体、および16Sまたは23Sリボソームサブユニット転写物間の遺伝子間領域の微生物マーカーを含む、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

[項目36] マイクロバイオームパネルが、16Sまたは23Sリボソームサブユニットの少なくとも1つの可変領域の微生物マーカーを含む、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

[項目37] 測定が、16Sまたは23Sリボソームサブユニットの断片、抗原、または結合パートナーの検出またはそのレベルの測定を含む、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

[項目38] 測定が、16Sまたは23Sリボソームサブユニット可変領域の断片、抗原、または結合パートナーの検出またはそのレベルの測定を含む、前記項目のいずれか1項に記載の方法。

10

20

30

40

【図 1】

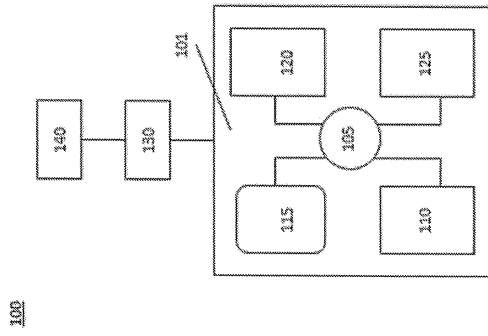


FIG. 1

【図 2】

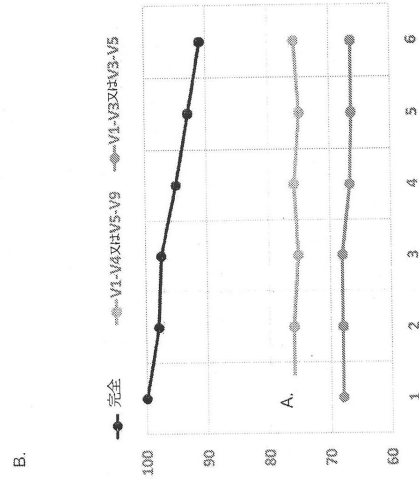


FIG. 2

【図 3】

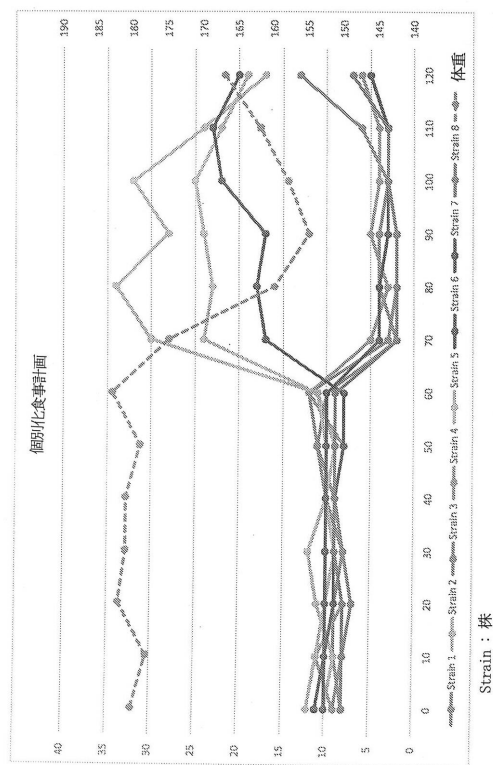


FIG. 3

【図 4】

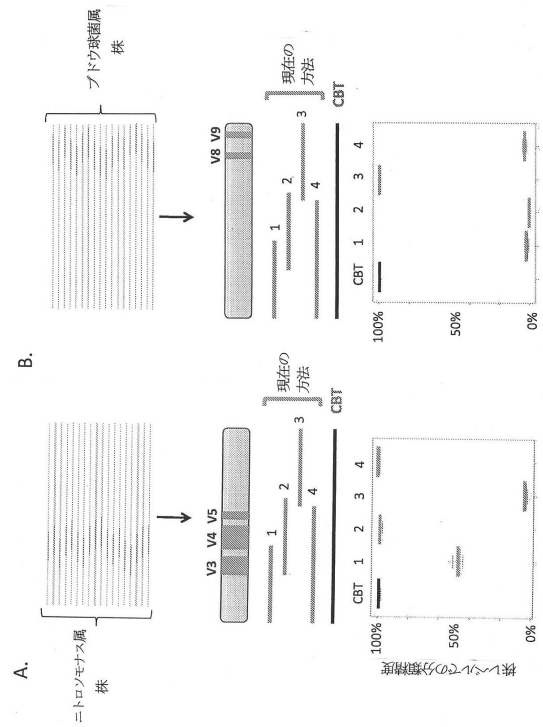
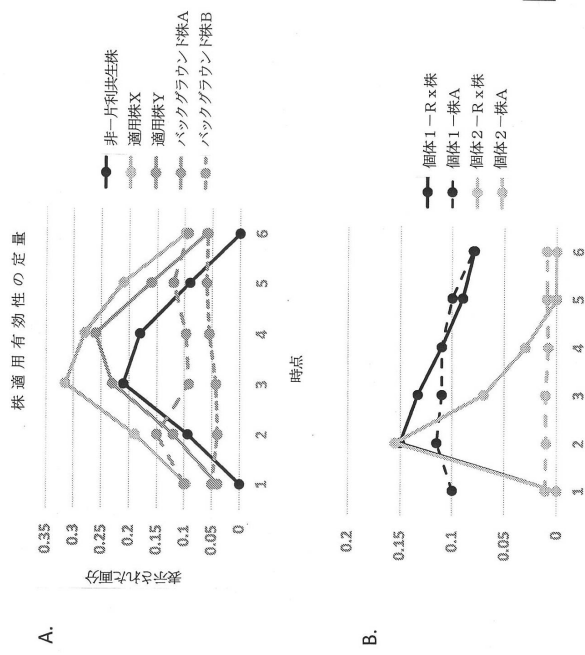
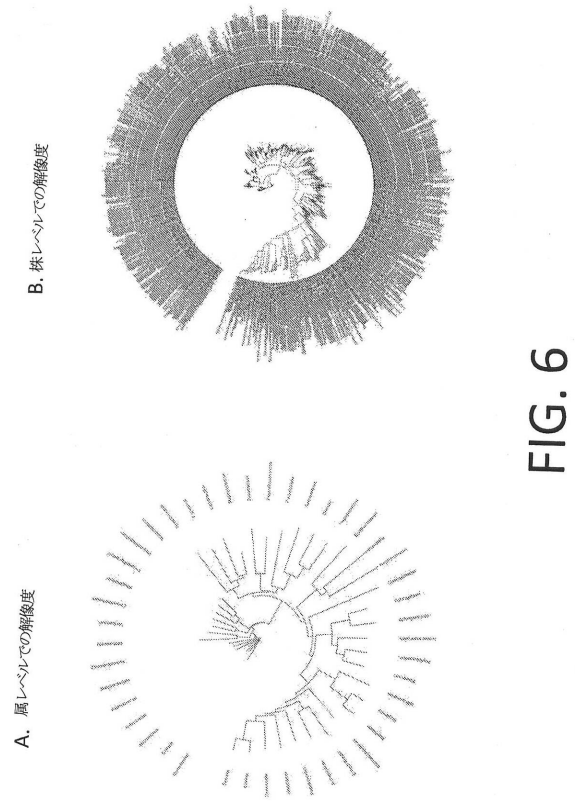


FIG. 4

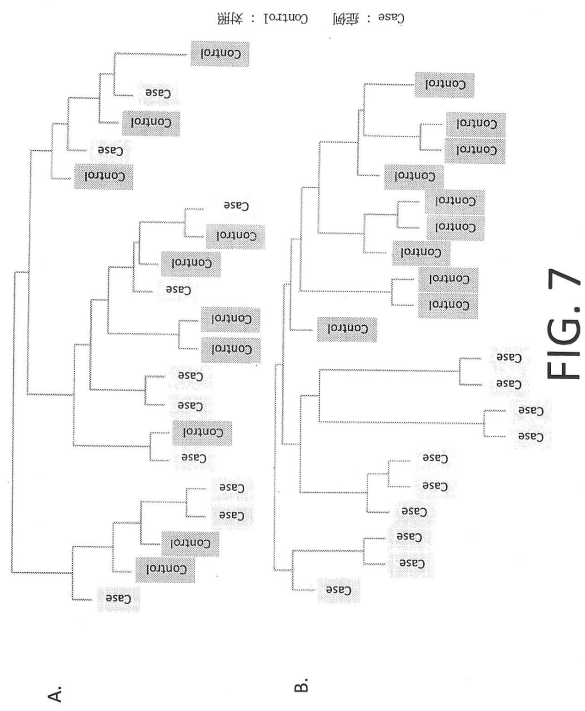
【図 5】



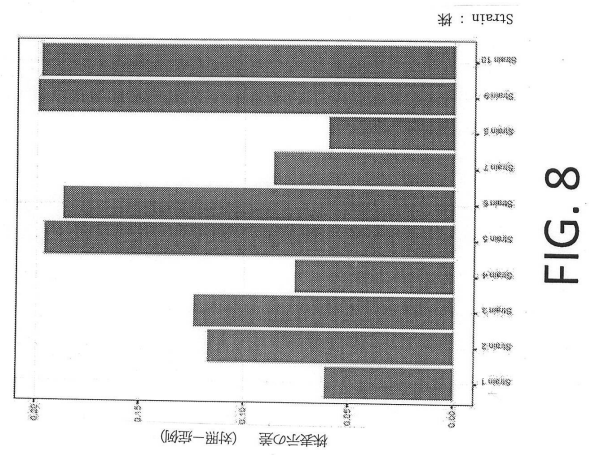
【図 6】



【図 7】



【図 8】



【配列表】

0006637885000001.app

## フロントページの続き

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(74)代理人 100075270

弁理士 小林 泰

(72)発明者 カットクリフ, コリーン

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 0 2 5 , メンロー・パーク, チェスター・ストリート 2 1 2

(72)発明者 イード, ジョン・エス

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 1 1 0 , サンフランシスコ, ポトレロ・アベニュー 7 8 4

(72)発明者 ブラード, ジェームズ・エイチ

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 4 1 0 7 , サンフランシスコ, トゥエンティセカンド・ストリート 2 1 0 6

審査官 竹内 祐樹

(56)参考文献 特開 2 0 0 6 - 1 9 1 9 2 2 ( J P , A )

米国特許出願公開第 2 0 1 2 / 0 0 0 4 1 1 1 ( U S , A 1 )

米国特許出願公開第 2 0 1 0 / 0 3 3 1 6 4 1 ( U S , A 1 )

BOWMAN B et al., Analysis of Full-Length Metagenomic 16S Genes by SMRT Sequencing, [online], [平成 3 0 年 5 月 3 0 日検索]、インターネット <URL: <http://www.abstractsonline.com/Plan/ViewAbstract.aspx?mID=3214&sKey=962254b2-1264-4654-bda8-448842a81457&cKey=fff13337-29c2-4b77-97a4-4d474ef46f8b&mKey=15c31f4d-cba9-43a6-b6e1-2f312e144db4>>BOWMAN B et al., Analysis of Full-Length Metagenomic 16S Genes by SMRT Sequencing, [online], [平成 3 0 年 5 月 3 0 日検索]、インターネット <URL: [http://files.pacb.com/pdf/Analysis\\_of\\_full\\_Length\\_Metagenomic\\_16S\\_Genes\\_by\\_SMRT\\_Sequencing.pdf](http://files.pacb.com/pdf/Analysis_of_full_Length_Metagenomic_16S_Genes_by_SMRT_Sequencing.pdf)>

Appl. Environ. Microbiol., 2010, 76(10), pp.3071-3081

Nature, 2012, 490(7418), pp.55-60

(58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)

C 1 2 Q 1 / 6 8 - 1 / 6 8 9 7

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S / W P I D S ( S T N )