

12

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 01.08.22.

30 Priorité : 14.11.21 GB 2116398.5; 01.08.21 GB
2111068.9.

43 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 15.12.23 Bulletin 23/50.

56 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Ce dernier n'a pas été
établi à la date de publication de la demande.*

60 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

○ Demande(s) d'extension :

71 Demandeur(s) : SNIPR BIOME APS N/A — DK.

72 Inventeur(s) : KRAUSE HAABER Jakob, PORSE
Andreas, MUNCK Christian, KOVAL Lev, ALFASTSEN
Lauge et SEMSEY Szabolcs.

73 Titulaire(s) : SNIPR BIOME APS N/A.

74 Mandataire(s) : Plasseraud IP.

54 INGENIERIE DU MICROBIOTE.

57 L'invention porte sur des procédés et des moyens
pour réguler temporellement la production de produits d'in-
térêt (par exemple protéines ou ARN) dans le microbiote de
sujets, tel que le microbiote intestinal d'humains ou d'ani-
maux.
Fig.



Description

Titre de l'invention : INGENIERIE DU MICROBIOTE

Domaine technique

- [0001] L'invention porte sur des procédés et des moyens pour réguler temporellement la production de produits d'intérêt (par exemple protéines ou ARN) dans le microbiote de sujets, tel que le microbiote intestinal d'humains ou d'animaux. Par exemple, de cette manière, un microbiote peut être modifié utilement pour l'expression de produits de manière contrôlée et optionnellement réversible.

Technique antérieure

- [0002] De plus en plus de preuves lient sans aucun doute l'homéostasie du microbiote humain et la santé humaine et, inversement, la dysbiose microbienne est liée à une diversité d'affections pathologiques. Par exemple, la dysbiose telle que la surcroissance du pathogène bactérien *C. difficile* dans le microbiote intestinal est liée à des diarrhées sévères provoquées par la production de toxines sécrétées par le *C. difficile*. Un autre exemple de maladie liée à la dysbiose microbienne est la maladie inflammatoire de l'intestin (MII), dans laquelle un état inflammatoire des intestins est au moins partiellement provoqué par le métabolome associé à la surcroissance d' *Enterobacteriaceae* et à la sous-représentation d'espèces bactériennes capables de produire des acides gras à chaîne courte.
- [0003] L'inversion d'une affection pathologique en restaurant un microbiote sain par des greffes microbiennes fécales (FMT, de l'anglais « faecal microbial transplants »), dans lesquelles le microbiote fécal provenant d'un donneur sain est transplanté dans l'intestin du patient souffrant de dysbiose microbienne s'est avérée efficace pour traiter par exemple des infections récurrentes à *C. difficile*. Cependant, la FMT est un processus relativement incontrôlé et également associé à des risques, comme en témoignent des décès provoqués par des infections bactériennes qui pourraient être attribuées à une FMT. Une approche plus contrôlée dans laquelle des souches uniques ou des associations de souches définies sont ajoutées à l'environnement intestinal dysbiotique est actuellement sérieusement étudiée. De telles approches nécessitent le déplacement de souches en colonisant de nouvelles souches ajoutées dans les associations
- [0004] Dans certains cas, des composés cibles d'intérêt sont identifiés, tels que la présence de toxines bactériennes (contre lesquelles des anticorps ont été générés) ou l'absence d'IL-22 associée à la maladie. Cependant, la distribution de composés protéiniques pertinents localement dans le tractus intestinal est inefficace et fastidieuse en raison de l'instabilité des protéines dans l'environnement intestinal.

Problème technique

[0005] Ainsi, la production locale *in situ* de molécules pertinentes (par exemple enzymes, anticorps, nanocorps, petites molécules) intracellulaires ou sécrétées par des bactéries vivantes qui sont établies et déjà présentes dans le microbiote permettrait une intervention ciblée avec un impact minimal sur le microbiote natif. L'invention cible ce besoin et la façon de contrôler cette production *in situ* dans le microbiote.

Exposé de l'invention

[0006] L'invention propose ainsi les configurations suivantes :

[0007] Dans une Première Configuration

[0008] Au moins un vecteur d'acide nucléique pour transfert dans une cellule hôte d'un microbiote, le(s) vecteur(s) comprenant de l'acide nucléique qui comprend

[0009] (a) une séquence nucléotidique exprimable d'intérêt (NS1) pour produire un produit d'intérêt (P1) dans la cellule hôte ; et

[0010] (b) une séquence nucléotidique exprimable (NS2) pour produire un produit régulateur (P2) dans la cellule hôte, P2 étant exploitable dans la cellule hôte pour réguler l'expression ou l'activité de P1 ;

[0011] dans lequel/lesquels

[0012] (c) NS1 est sous le contrôle d'un premier promoteur (par exemple un promoteur constitutif ou inductible) pour l'expression de P1 ; et

[0013] (d) l'expression ou l'activité de P2 dans la cellule hôte est régulable par exposition de la cellule hôte comprenant l'au moins un vecteur à un agent régulateur (R), régulant ainsi l'expression ou l'activité de P1.

[0014] Dans un mode de réalisation, il est prévu :

[0015] Au moins un vecteur d'acide nucléique pour transfert dans une cellule hôte d'un microbiote, le(s) vecteur(s) comprenant de l'acide nucléique qui comprend

[0016] (a) une séquence nucléotidique exprimable d'intérêt (NS1) pour produire un produit d'intérêt (P1) dans la cellule hôte ; et

[0017] (b) une séquence nucléotidique exprimable (NS2) pour produire un produit régulateur (P2) dans la cellule hôte, P2 étant exploitable dans la cellule hôte pour réguler l'expression de P1 ;

[0018] dans lequel/lesquels

[0019] (c) NS1 est sous le contrôle d'un premier promoteur (par exemple un promoteur constitutif ou inductible) pour l'expression de P1 ; et

[0020] (d) l'expression de P2 dans la cellule hôte est régulable par exposition de la cellule hôte comprenant l'au moins un vecteur à un agent régulateur (R), régulant ainsi l'expression de P1.

[0021] Au moins un vecteur d'acide nucléique pour transfert dans une cellule hôte d'un microbiote, le(s) vecteur(s) comprenant de l'acide nucléique qui comprend

- [0022] (a) une séquence nucléotidique exprimable d'intérêt (NS1) pour produire un produit d'intérêt (P1) dans la cellule hôte ; et
- [0023] (b) une séquence nucléotidique exprimable (NS2) pour produire un produit régulateur (P2) dans la cellule hôte, P2 étant exploitable dans la cellule hôte pour réguler l'expression de P1 ;
- [0024] dans lequel/lesquels
- [0025] (c) NS1 est sous le contrôle d'un premier promoteur (par exemple un promoteur constitutif ou inductible) pour l'expression de P1 ; et
- [0026] (d) NS2 est sous le contrôle d'un deuxième promoteur qui peut être régulé pour l'expression de P2, la liaison d'un agent régulateur (R) à l'acide nucléique du vecteur régulant le deuxième promoteur, régulant ainsi l'expression de P2 et P1.
- [0027] De préférence, NS1 et NS2 sont comprises par le même vecteur d'acide nucléique. Dans une autre configuration, l'exposition d'un agent régulateur (R) à l'acide nucléique du vecteur régule le deuxième promoteur, régulant ainsi l'expression de P2 et P1.
- [0028] De préférence, P2 est exploitable dans la cellule hôte pour se lier à l'acide nucléique du vecteur pour réguler l'expression de P1.
- [0029] Dans un mode de réalisation, l'invention propose une cellule hôte comprenant ledit au moins un vecteur.
- [0030] Dans un mode de réalisation, P1 est une protéine (par exemple une enzyme) d'une voie métabolique dans la cellule hôte, ladite activité étant une activité (par exemple une activité enzymatique) de P1 dans la voie. Dans un exemple, P1 est un inhibiteur de protéine et l'activité est une activité d'inhibiteur (par exemple inhibiteur d'un composant d'une voie métabolique). Dans un exemple, P1 est un agent de liaison, par exemple un anticorps ou un fragment d'anticorps, tel qu'un anticorps à domaine unique (par exemple un nanocorps) ou un Fragment variable à chaîne simple (scFv, de l'anglais « single-chain variable Fragment »).
- [0031] Dans un mode de réalisation, P2 est un inhibiteur de l'expression de P1. Dans un mode de réalisation, l'activité de P2 est l'inhibition de l'expression de P1. Dans un mode de réalisation, P2 est un amplificateur de l'expression de P1. Dans un mode de réalisation, l'activité de P2 est l'amplification de l'expression de P1.
- [0032] **Dans un Premier Aspect de la Première Configuration**
- [0033] Un vecteur d'acide nucléique pour transfert dans une cellule hôte d'un microbiote, le vecteur comprenant un acide nucléique qui comprend
- [0034] (a) une séquence nucléotidique exprimable d'intérêt (NS1) pour produire un produit d'intérêt (P1) dans la cellule hôte ; et
- [0035] (b) une séquence nucléotidique exprimable (NS2) pour produire un produit régulateur (P2) dans la cellule hôte, P2 étant exploitable dans la cellule hôte pour se lier à l'acide nucléique du vecteur pour réguler l'expression de P1 ;

[0036] dans lequel/lesquels

[0037] (c) NS1 est sous le contrôle d'un premier promoteur (par exemple un promoteur constitutif ou inductible) pour l'expression de P1 ; et

[0038] (d) NS2 est sous le contrôle d'un deuxième promoteur qui peut être régulé pour l'expression de P2, la liaison d'un agent régulateur (R) à l'acide nucléique du vecteur régulant le deuxième promoteur, régulant ainsi l'expression de P2 et P1.

[0039] **Dans un Deuxième Aspect de la Première Configuration**

[0040] P2 est exprimable dans la cellule hôte pour la formation d'une nucléase qui est exploitable dans la cellule hôte pour couper l'acide nucléique du vecteur, l'acide nucléique étant dégradé, régulant ainsi à la baisse l'expression de P1. Ceci est utile pour contrôler l'expression de P1 temporellement (c-à-d pendant une fenêtre de temps prédéterminée) chez un sujet, tel que dans un microbiote humain ou animal. Par exemple, de cette manière, un microbiote peut être modifié utilement pour l'expression de P1 de manière contrôlée et optionnellement réversible.

[0041] **Dans un Troisième Aspect de la Première Configuration**

[0042] Chaque vecteur (tel que selon le Premier Aspect) est un plasmide conjugatif. Ceci est utile pour permettre la dispersion de l'acide nucléique du vecteur - et ainsi l'expression de P1 - au sein d'un microbiote ciblé. Lorsqu'il est associé au Premier Aspect de la Première Configuration, il est proposé un moyen puissant de modifier de manière contrôlable l'étendue et le moment de l'expression de P1 dans le microbiote.

[0043] **Dans un Quatrième Aspect de la Première Configuration**

[0044] La cellule hôte est une cellule d'une espèce de cellule bactérienne commensale ou probiotique d'un microbiote humain ou animal, de préférence une espèce *Bacteroides*. De telles espèces sont présentes et maintenues dans le microbiote natif d'humains et animaux et ainsi, l'invention propose des moyens pour une modification relativement stable et contrôlable du microbiote pour réguler temporellement l'expression de P1.

[0045] **Dans une Deuxième Configuration**

[0046] Un procédé de régulation temporelle de la production d'un produit d'expression chez un sujet humain ou animal, le procédé comprenant

[0047] a) l'administration à un microbiote (par exemple un microbiote intestinal) du sujet ledit au moins un vecteur comprenant un acide nucléique, le microbiote comprenant une cellule hôte (par exemple une cellule bactérienne) et l'acide nucléique codant pour un produit d'intérêt (P1) ; l'administration étant optionnellement une administration orale ou topique ;

[0048] b) la permission du transfert de l'acide nucléique jusque dans la cellule hôte que comprend le microbiote et l'expression de P1 dans la cellule hôte ; et

[0049] c) après l'étape (b), l'exposition du microbiote à un agent régulateur (R) qui régule l'expression ou l'activité d'un produit régulateur (P2) dans la cellule hôte, P2 étant

utilisable dans la cellule hôte pour réguler l'expression ou l'activité de P1, R régulant optionnellement à la hausse la production d'un complexe nucléase guidée par ARN/ARN guide dans la cellule hôte qui est capable de cibler un protoespaceur compris par l'acide nucléique, la nucléase coupant l'acide nucléique et l'expression de P1 étant rendue non fonctionnelle (par exemple par dégradation de l'acide nucléique coupé dans la cellule), la nucléase (ou un composant de celle-ci) et/ou l'ARN (ou un composant de celui-ci) étant codé par l'acide nucléique.

[0050] **Dans un Premier Aspect de la Deuxième Configuration**

[0051] Un procédé de régulation temporelle de la production d'un produit d'expression chez un sujet humain ou animal, le procédé comprenant

[0052] a) l'administration à un microbiote (par exemple un microbiote intestinal) du sujet un dit vecteur du premier Aspect de la première Configuration, le microbiote comprenant une cellule hôte (par exemple une cellule bactérienne) et l'acide nucléique codant pour un produit d'intérêt (P1) ; l'administration étant optionnellement une administration orale ou topique.

[0053] b) la permission du transfert de l'acide nucléique jusque dans la cellule hôte que comprend le microbiote et l'expression de P1 dans la cellule hôte ; et

[0054] c) après l'étape (b), l'exposition du microbiote à un agent régulateur (R) qui régule l'expression ou l'activité de P2, R régulant optionnellement à la hausse la production d'un complexe nucléase guidée par ARN/ARN guide dans la cellule hôte qui est capable de cibler un protoespaceur compris par l'acide nucléique, la nucléase coupant l'acide nucléique et l'expression de P1 étant rendue non fonctionnelle (par exemple par dégradation de l'acide nucléique coupé dans la cellule), la nucléase (ou un composant de celle-ci) et/ou l'ARN (ou un composant de celui-ci) étant codé par l'acide nucléique.

[0055] **Dans une Troisième Configuration**

[0056] Un procédé de régulation temporelle de la production d'un produit d'expression chez un sujet humain ou animal, le procédé comprenant

[0057] (a) l'administration à un microbiote (par exemple un microbiote intestinal) du sujet ledit au moins un vecteur de l'invention ; l'administration étant optionnellement une administration orale ou topique ;

[0058] (b) la permission du transfert de l'acide nucléique jusque dans une cellule hôte que comprend le microbiote et l'expression de P1 dans la cellule hôte ; et

[0059] (c) après l'étape (b), l'exposition du microbiote à R (par exemple par administration de R au sujet), R régulant le deuxième promoteur, régulant ainsi l'expression de P2 et P1.

[0060] **Dans un Premier Aspect de la Deuxième ou Troisième Configuration**

[0061] Un procédé de

[0062] (a) traitement ou prévention d'une maladie ou d'une affection chez un sujet humain

ou animal en régulant temporellement la production de P1 selon le procédé de la Deuxième ou de la Troisième Configuration ; ou

[0063] (b) modification d'un microbiote (par exemple un microbiote intestinal) d'un sujet humain ou animal en régulant temporellement la production de P1 selon le procédé de la Deuxième ou Troisième Configuration.

[0064] **Dans une Quatrième Configuration**

[0065] Un vecteur d'acide nucléique pour transfert dans une cellule hôte d'un microbiote, le vecteur étant compris par une cellule porteuse (par exemple une cellule bactérienne) et code pour

[0066] a) une nucléase (optionnellement une nucléase guidée par ARN ou une endonucléase de restriction) qui est exploitable dans la cellule porteuse pour couper un chromosome ou un épisode (qui n'est pas le vecteur de l'invention) de la cellule porteuse, le chromosome ou l'épisode étant optionnellement dégradé ; et/ou

[0067] b) un ARN qui est exploitable dans la cellule porteuse pour guider une nucléase guidée par ARN ou un précurseur d'un tel ARN, l'ARN guidant la nucléase pour couper un chromosome ou un épisode (qui n'est pas le vecteur) de la cellule porteuse, le chromosome ou l'épisode étant optionnellement dégradé ;

[0068] le vecteur comprenant un ou plus promoteurs régulables pour réguler l'expression de la nucléase de (a) et/ou de l'ARN ou du composant de (b) dans la cellule porteuse.

[0069] **Dans une Cinquième Configuration**

[0070] Un procédé d'ingénierie d'un microbiome, le procédé comprenant la mise en contact du microbiome avec une pluralité de vecteurs tels que décrits ici et permettant optionnellement un transfert dudit acide nucléique du vecteur jusque dans des cellules cibles du microbiote.

[0071] Un microbiote modifié obtenu ou obtenable par le procédé mentionné ici, optionnellement le microbiote étant compris par une composition pharmaceutique pour utilisation en tant que médicament pour traiter une maladie ou une affection chez un sujet humain ou animal.

[0072] **Dans une Sixième Configuration**

[0073] Une cellule hôte comprenant un acide nucléique qui comprend

[0074] (a) une séquence nucléotidique exprimable d'intérêt (NS1) pour produire un produit d'intérêt (P1) dans la cellule hôte ; et

[0075] (b) une séquence nucléotidique exprimable (NS2) pour produire un produit régulateur (P2) dans la cellule hôte, P2 étant exploitable dans la cellule hôte pour réguler l'expression ou l'activité de P1 ;

[0076] dans laquelle

[0077] (c) NS1 est sous le contrôle d'un premier promoteur (par exemple un promoteur constitutif ou inductible) pour l'expression de P1 ; et

[0078] (d) l'expression ou l'activité de P2 dans la cellule hôte est régulable par exposition de la cellule hôte comprenant l'au moins un vecteur à un agent régulateur (R), régulant ainsi l'expression ou l'activité de P1 ;

[0079] la cellule hôte étant une cellule bactérienne, archéenne ou fongique.

[0080] **Dans une Septième Configuration**

[0081] **Dans un premier Aspect**

[0082] Une cellule (optionnellement selon toute autre Configuration), comprenant un acide nucléique, l'acide nucléique comprenant un gène codant pour un produit d'intérêt (P1), le gène comprenant une séquence nucléotidique (NS1) codant pour P1 et une région de régulation 5' de NS1 qui comprend un promoteur (Px) pour contrôler l'expression de NS1, la combinaison de Px et NS1 étant hétérologue à la cellule et Px étant régulable par le xylitol.

[0083] **Dans un deuxième Aspect**

[0084] Une cellule (optionnellement selon toute autre Configuration), comprenant un acide nucléique, l'acide nucléique comprenant un gène codant pour un produit d'intérêt (P1), le gène comprenant une séquence nucléotidique (NS1) codant pour P1 et une région de régulation 5' de NS1 qui comprend un promoteur (Px) pour contrôler l'expression de NS1, la combinaison de Px et NS1 étant hétérologue à la cellule et Px étant régulable par le xylose.

[0085] **Dans un troisième Aspect**

[0086] Un vecteur d'acide nucléique comprenant un gène tel qu'énoncé dans le premier ou le deuxième Aspect.

Brève description des dessins

[0087] D'autres caractéristiques, détails et avantages de l'invention apparaîtront à la lecture de la description détaillée ci-après, et à l'analyse des dessins annexés, sur lesquels :

Fig. 1

[0088] [Fig.1] Carte plasmidique de p1364. Le plasmide est annoté avec les emplacements relatifs des gènes et leurs fonctions. Le plasmide contient les fonctions de répllication plasmidique (pBBR ori+rep) et d'origine de transfert RP4 (région mob englobant oriT et relaxase).

[0089] ***araC*** - gène régulateur

[0090] **pBAD** - promoteur inductible régulé par la présence d'arabinose

[0091] ***cas3*** - gène codant pour la protéine Cas3 de type I-E d'*E. coli*

[0092] ***casA-E*** - Gènes codant pour les protéines Cascade

[0093] ***Prham*** - promoteur inductible régulé par la présence de rhamnose

[0094] ***Bba B1003 Terminator*** - Termineur artificiel

[0095] ***rmtB*** - gène de l'ARNr 16S méthylase. Fournit une résistance à l'amikacine et à la

gentamicine

- [0096] ***sfgfp*** - gène codant pour la protéine fluorescente verte Superfolder
- [0097] ***kanR*** – gène de résistance à la kanamycine
- [0098] ***mob*** – gène de mobilisation. Nécessaire pour le transfert conjugal d'ADN
- [0099] **pBBRori** – origine de réplication
- [0100] **pBBR rep** - gène codant pour la protéine d'initiation de la réplication
- [0101] **Matrice CRISPR** - consiste en des répétitions directes d'*E. coli* et d'un espaceur ;

Fig. 2

- [0102] [Fig.2] Transfert conjugatif de p1364. Les transconjugants se sont formés lorsque p1364 est conjugué à partir de la souche JKE201 codant pour les gènes de transfert RP4. Un témoin dépourvu de l'oriT a été inclus ;

Fig. 3

- [0103] [Fig.3] Expression de GFP à partir de p1364. Le niveau d'expression de GFP à partir de cellules récoltées à une OD600 (de l'anglais « Optical Density », soit Densité Optique) de 1. La souche b52 a été incluse comme témoin d'autofluorescence.

Fig. 4

- [0104] [Fig.4] Le plasmide autociblant est perdu rapidement lors de l'induction CRISPR/cas. Proportion de colonies positives à la GFP pour b52 induits et non induits contenant le plasmide autociblant p1364 au cours du temps.

Fig. 5

- [0105] [Fig.5] Criblage PCR pour le squelette du plasmide p1364. Electrophorèse sur gel ne montrant aucune présence de p1364 dans l'ensemble des colonies négatives à la GFP prélevées, à partir de l'instant 24h.

Fig. 6

- [0106] [Fig.6] Le ciblage chromosomique CRISPR/cas permet un retrait rapide de l'hôte plasmidique. Le changement de cellule hôte viable compte lors de l'induction du système CRISPR/cas ciblant le chromosome (*lptA*) d'*E. coli* MG1655. Les barres d'erreur montrent l'écart type de 3 répétitions.

Fig. 7

- [0107] [Fig.7] Divers schémas illustrant des voies pouvant être utilisées l'invention.

Fig. 8

- [0108] [Fig.8] (i) Vue d'ensemble des plasmides rapporteurs de la GFP avec le système de régulation inductible par le xylitol. (ii) Représente une région génomique de la souche ZJG812 de *Morganella morganii* (identifiant de génome : CP064831.1) avec des gènes structurels mis en évidence relatifs à l'assimilation et au métabolisme du xylitol : Alcool déshydrogénase dépendante du NAD(P) (gène IZ184_04875), xylulokinase (*xylB*), protéine de liaison à l'ATP du transporteur ABC du sucre (gène IZ184_04865),

perméase du transporteur ABC (gène IZ184_04860), protéine contenant le domaine de liaison au substrat (IZ184_04855). Ces gènes sont exprimés à partir d'un promoteur inductible négativement (promoteur) contrôlé par un régulateur transcriptionnel de liaison à l'ADN de la famille LacI (gène IZ184_04885). Une sucre isomérase (en anglais « sugar isomerase ») prévu de la famille D-lyxose/D-mannose (gène IZ184_04880) se trouve entre le promoteur et le répresseur. Les annotations génétiques ont été effectuées sur la base d'une recherche de similarité de séquence au regard de la base de données publique.

Fig. 9

[0109] [Fig.9] Activité du promoteur inductible par le xylitol en réponse au xylitol. Les plasmides rapporteurs de la GFP codant pour le système promoteur inductible par le xylitol avec un régulateur transcriptionnel pleine longueur (pSNP1902) ou avec un régulateur transcriptionnel à perte de fonction (pSNP103) ont été testés dans le contexte d'une souche bSNP463 en réponse à des quantités croissantes de xylitol dans le milieu de croissance (LB). Les données présentées montrent l'émission de fluorescence après 24 heures d'incubation (normalisée, voir Exemple 2, section 3.2.2). Les barres d'erreur indiquent des écarts types basés sur trois répétitions biologiques.

Fig. 10

[0110] [Fig.10] Activité du promoteur inductible par le xylitol dans un milieu minimal avec des concentrations croissantes de xylitol. Les plasmides rapporteurs de la GFP codant pour le système promoteur inductible par le xylitol avec un régulateur transcriptionnel pleine longueur (pSNP1902) ont été testés dans le contexte d'une souche MG1655 (bSNP230) croissant dans un milieu minimal additionné de glycérol et de quantités croissantes de xylitol. Les données présentées ici montrent l'émission de fluorescence après 24 heures d'incubation (normalisée, voir Exemple 2, section 3.2.2). Les barres d'erreur indiquent des écarts types basés sur trois répétitions biologiques.

Fig. 11

[0111] [Fig.11] Croissance d'une souche portant le plasmide rapporteur dans un milieu minimal avec et sans glycérol et/ou xylitol. La souche E. coli MG1655 (bSNP230) portant le plasmide rapporteur de la GFP inductible par le xylitol pSNP1902 a été cultivée pendant 24 heures dans un milieu minimal additionné de glycérol (0,4 % (v/v)) avec ou sans xylitol (0,5 % (p/v)). Les barres d'erreur indiquent des écarts types basés sur deux répétitions biologiques. Les tendances de ces profils de croissance (c'est-à-dire que des quantités plus élevées de xylitol entraînent une croissance plus lente) ont également été observées à partir des profils de croissance des souches restantes.

Fig. 12

[0112] [Fig.12] Activité du promoteur en présence du système transporteur ABC du xylitol. Des souches d' *E coli* bSNP230 contenant le plasmide rapporteur de la GFP (pSNP1902) avec ou sans un plasmide corésident contenant le transporteur ABC du xylitol (pSNP1939) ont été cultivées pendant 24 heures dans un milieu minimal additionné de 0,4 % (v/v) de glycérol (A) ou 0,4 % (p/v) de glucose (B) en présence ou en l'absence de xylitol. L'émission de fluorescence ajustée de la densité cellulaire après 24 heures d'incubation est montrée. Les barres d'erreur indiquent des écarts types basés sur deux (A) et trois (B) répétitions biologiques, respectivement.

Fig. 13

[0113] [Fig.13] Profils de croissance des souches porteuses du transporteur ABC sur milieu minimal en l'absence ou en présence de xylitol. Des souches bSNP230 contenant le plasmide rapporteur de la GFP (pSNP1902) avec ou sans un plasmide corésident contenant le transporteur ABC du xylitol (pSNP1939) ont été cultivées pendant 24 heures dans un milieu minimal additionné de 0,4 % (v/v) de glycérol (A) ou 0,4 % (p/v) de glucose (B) en présence ou en l'absence de xylitol. Les barres d'erreur indiquent des écarts types basés sur deux (A) et trois (B) répétitions biologiques, respectivement.

Description des modes de réalisation

[0114] L'invention porte sur des procédés et des moyens pour réguler temporellement la production de produits d'intérêt (ci-après appelé P1, par exemple protéines ou ARN) dans le microbiote de sujets, tel que le microbiote intestinal d'humains ou d'animaux. Par exemple, de cette manière, un microbiote peut être modifié utilement pour l'expression de produits de manière contrôlée et possiblement réversible. Cela peut être utile pour permettre une ingénierie contrôlée du microbiote de sujets d'une manière qui permet, par exemple, la production de niveaux souhaitables de P1 suivie d'une réduction contrôlée de l'expression, par exemple pour le retour à un niveau prédéterminé de P1. A cette fin, l'invention propose les modes de réalisation illustratifs suivants.

[0115] Dans une Première Configuration, il est prévu :

[0116] Au moins un vecteur d'acide nucléique pour transfert dans une cellule hôte d'un microbiote, le(s) vecteur(s) comprenant de l'acide nucléique qui comprend

[0117] (a) une séquence nucléotidique exprimable d'intérêt (NS1) pour produire un produit d'intérêt (P1) dans la cellule hôte ; et

[0118] (b) une séquence nucléotidique exprimable (NS2) pour produire un produit régulateur (P2) dans la cellule hôte, P2 étant exploitable dans la cellule hôte pour se lier à un acide nucléique du vecteur pour réguler l'expression de P1 ;

[0119] dans lequel/lesquels

- [0120] (c) NS1 est sous le contrôle d'un premier promoteur (par exemple un promoteur constitutif ou inductible) pour l'expression de P1 ; et
- [0121] (d) NS2 est sous le contrôle d'un deuxième promoteur qui peut être régulé pour l'expression de P2, la liaison d'un agent régulateur (R) à l'acide nucléique du vecteur régulant le deuxième promoteur, régulant ainsi l'expression de P2 et P1 (par exemple R lie un opérateur qui est opérationnellement connecté au deuxième promoteur).
- [0122] Ledit « au moins un vecteur » peut concerner un vecteur ou une pluralité de vecteurs, par exemple des premier et deuxième vecteurs, par exemple 2 vecteurs. Ici, lorsque les caractéristiques sont décrites dans le contexte d'un vecteur ou "le vecteur", la personne du métier réalisera que les caractéristiques peuvent s'appliquer *mutatis mutandis* audit "au moins un vecteur" tel qu'un premier et un deuxième vecteur, ou tel qu'une pluralité de vecteurs. Le vecteur unique peut être en outre conforme au vecteur de la Quatrième Configuration. Chacun desdits premier et deuxième, 2 ou pluralité de vecteurs peut être en outre conforme au vecteur de la Quatrième Configuration. Ceci est avantageux pour limiter la présence ou la dispersion de NS1 et/ou NS2 (limitant ainsi P1 et/ou P2 respectivement) dans le microbiote ou sujet comprenant le microbiote.
- [0123] Par exemple, ledit au moins un vecteur comprend un premier vecteur et un deuxième vecteur, le premier vecteur comprenant NS1 (et optionnellement pas NS2) et le deuxième vecteur comprenant NS2 (et optionnellement pas NS1) et les vecteurs étant capables de coexister dans la cellule hôte pour l'expression de P1 et P2. Ainsi, le premier vecteur peut comprendre NS1 et pas NS2 ; et le deuxième vecteur peut comprendre NS2 et pas NS1. Les premier et deuxième vecteurs sont capables d'être transférés dans la même cellule hôte et de coexister dans la cellule, moyennant quoi P1 et P2 peuvent être exprimés dans la cellule. Par exemple, ledit au moins un vecteur est un vecteur qui comprend à la fois NS1 et NS2.
- [0124] Un microbiote peut être dans n'importe quel environnement, par exemple dans le sol ou un cours d'eau, compris par une plante, ou compris par un sujet humain ou animal. Comme la personne du métier le saura, un microbiote peut comprendre des bactéries, des archées, des champignons et des virus.
- [0125] Un Premier Aspect de la Première Configuration prévoit :
- [0126] Un vecteur d'acide nucléique pour transfert dans une cellule hôte d'un microbiote, le vecteur comprenant un acide nucléique qui comprend
- [0127] a) Une séquence nucléotidique exprimable d'intérêt (NS1) pour produire un produit d'intérêt (P1) dans la cellule hôte ; et
- [0128] b) Une séquence nucléotidique exprimable (NS2) pour produire un produit régulateur (P2) dans la cellule hôte, P2 étant exploitable dans la cellule hôte pour se lier à l'acide nucléique du vecteur pour réguler l'expression de P1 ;
- [0129] dans lequel

- [0130] c) NS1 est sous le contrôle d'un premier promoteur (par exemple un promoteur constitutif ou inductible) pour l'expression de P1 ; et
- [0131] d) NS2 est sous le contrôle d'un deuxième promoteur qui peut être régulé pour l'expression de P2, la liaison d'un agent régulateur (R) à l'acide nucléique du vecteur régulant le deuxième promoteur, régulant ainsi l'expression de P2 et P1.
- [0132] Comme décrit plus en détail ici, certains avantages d'aspects spécifiques de l'invention peuvent être
- [0133] • un autociblage inductible du vecteur pour retirer la ou les séquence(s) nucléotidique(s) d'intérêt préalablement dispersée(s) dans un microbiote auquel le vecteur a été exposé. Cela laisserait le microbiote sans trace de l'acide nucléique du vecteur ou avec une prévalence réduite de l'acide nucléique du vecteur, tel qu'une fois qu'un niveau d'expression souhaité d'un produit NS1 a été atteint ;
- [0134] • tuer les bactéries donneuses (porteuses) par un système porté par vecteur CRISPR/cas (ou autre nucléase) qui, lors de l'induction, coupe le génome de la cellule donneuse (par exemple un chromosome) et tue les cellules donneuses - ceci étant utile pour nettoyer le microbiote de cellules donneuses (et ainsi réduire la transmission du vecteur dans le microbiote) une fois qu'un niveau souhaité d'expression du produit NS1 a été atteint - et également utile en tant que système d'interrupteur d'arrêt, de sécurité pour réduire l'acide nucléique du vecteur dans le microbiote et d'autres environnements ;
- [0135] • une régulation en temps réel de la production du produit NS1 ; une ou plus boucle(s) de rétroaction peut/peuvent être utilisée(s) pour retirer l'acide nucléique du vecteur en réponse au composé produit ou au(x) signal(s) physiologique(s) ;
- [0136] • des interrupteurs de marche/arrêt localisés, pour assurer la production de produit NS1 en certains sites spatiaux, dans un environnement, par exemple dans un microbiote (par exemple le microbiote intestinal) d'un sujet humain ou animal.
- [0137] Chaque cellule hôte peut être une cellule bactérienne, fongique (par exemple levure) ou archéenne. De préférence, chaque cellule hôte est une cellule microbienne. De préférence, chaque cellule hôte est une cellule bactérienne. De préférence, chaque cellule hôte est une cellule archéenne.
- [0138] De préférence, chaque cellule hôte est une cellule d'une espèce cellulaire bactérienne commensale ou probiotique que l'on trouve dans le microbiote humain ou animal. De préférence, chaque cellule hôte est une cellule d'une espèce cellulaire bactérienne commensale ou probiotique d'un microbiote humain ou animal. De préférence, chaque cellule hôte est une cellule microbienne (par exemple bactérienne) d'une espèce de microbiote intestinal humain ou animal.
- [0139] L'acide nucléique peut être de l'ADN ou de l'ARN. Par exemple, l'acide nucléique est l'ADN.
- [0140] Une cellule hôte en référence aux Première à Troisième configurations est appelée ici

de manière interchangeable une cellule cible. Une cellule hôte en référence aux Quatrièmes configurations est appelée ici de manière interchangeable une cellule porteuse ou donneuse.

- [0141] Dans un exemple, P1 est sécrété par la ou les cellule(s) hôte(s). Dans un exemple, P1 est exprimé à partir de NS1 dans la cellule hôte sous la forme d'une séquence d'acides aminés comprenant un peptide signal pour la sécrétion de P1 à partir de la cellule. Dans un exemple, P1 n'est pas sécrété par la ou les cellule(s) hôte(s). P1 peut être une protéine ou un ARN (par exemple un ARNm).
- [0142] Dans un mode de réalisation, P1 n'est pas exprimé dans le microbiote préalablement à la mise en œuvre du procédé de l'invention.
- [0143] P2 peut réguler à la hausse l'expression de P1. Dans un mode de réalisation, P1 est exprimé chez le sujet avant la mise en œuvre du procédé de l'invention, la mise en œuvre du procédé provoquant au moins 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000 ou 5000 % d'augmentation de l'expression de P1 chez le sujet. L'augmentation de l'expression peut être déterminée en déterminant les niveaux relatifs de P1 dans un échantillon de tissu ou de fluide (par exemple un échantillon de sang) qui a été obtenu du patient. L'augmentation de l'expression peut être déterminée en déterminant les niveaux relatifs de P1 dans un échantillon fécal qui a été obtenu du patient.
- [0144] P2 peut réguler à la hausse l'expression de P1. Dans un mode de réalisation, P1 est exprimé dans le microbiote (par exemple microbiote intestinal d'un sujet humain ou animal) avant la mise en œuvre du procédé de l'invention, la mise en œuvre du procédé provoquant au moins 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000 ou 5000 % d'augmentation de l'expression de P1 dans le microbiote. L'augmentation de l'expression peut être déterminée en déterminant les niveaux relatifs de P1 dans un échantillon du microbiote qui a été obtenu préalablement du patient. L'augmentation de l'expression peut être déterminée en déterminant les niveaux relatifs de P1 dans un échantillon de tissu ou de fluide (par exemple un échantillon de sang) qui a été obtenu du patient. L'augmentation de l'expression peut être déterminée en déterminant les niveaux relatifs de P1 dans un échantillon fécal qui a été obtenu du patient (par exemple le microbiote étant un microbiote intestinal).
- [0145] P2 peut réguler à la baisse l'expression de P1. Dans un mode de réalisation, le procédé comprend l'administration de R au sujet à l'étape (c) du procédé de l'invention, moyennant quoi l'expression de P1 chez le sujet est réduite d'au moins 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000 ou 5000% par rapport à l'expression de P1 immédiatement avant la mise en œuvre de l'étape (c). La diminution de l'expression peut être déterminée en déterminant le niveau relatif de P1

dans un échantillon de tissu ou de fluide (par exemple un échantillon de sang) qui a été obtenu du patient immédiatement avant la mise en œuvre de l'étape (c) et en comparant le niveau avec le niveau de P1 dans un échantillon similaire (c-à-d un échantillon de tissu ou de fluide, respectivement) obtenu après que l'étape (c) ait été exécutée (par exemple 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 19, 20, 21, 22, 23 ou 24 heures, ou 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ou 14 jours ou 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 semaines après le commencement de l'étape (c)). La diminution de l'expression peut alternativement être déterminée en déterminant les niveaux relatifs de P1 dans des échantillons fécaux qui ont été obtenus du patient.

- [0146] P2 peut réguler à la baisse l'expression de P1. Dans un mode de réalisation, le procédé comprend l'administration de R au sujet à l'étape (c) du procédé de l'invention, moyennant quoi l'expression de P1 est réduite dans le microbiote d'au moins 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000 ou 5000% par rapport à l'expression de P1 immédiatement avant la mise en œuvre de l'étape (c). La diminution de l'expression peut être déterminée en déterminant le niveau relatif de P1 dans un échantillon de tissu ou de fluide (par exemple un échantillon de sang) qui a été obtenu du patient immédiatement avant la mise en œuvre de l'étape (c) et en comparant le niveau avec le niveau de P1 dans un échantillon similaire (c-à-d un échantillon de tissu ou de fluide, respectivement) obtenu après que l'étape (c) ait été exécutée (par exemple 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 19, 20, 21, 22, 23 ou 24 heures, ou 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ou 14 jours ou 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 semaines après le commencement de l'étape (c)). La diminution de l'expression peut alternativement être déterminée en déterminant les niveaux relatifs de P1 dans des échantillons fécaux qui ont été obtenus du patient.
- [0147] Le deuxième promoteur peut être un promoteur inductible (l'induction du promoteur provoquant une augmentation de l'expression de P2) ou un promoteur répressible (la répression du promoteur provoquant une réduction de l'expression de P2). Ainsi, la liaison de R à l'acide nucléique peut induire ou réprimer le deuxième promoteur.
- [0148] Par exemple, un promoteur mentionné ici est sélectionné parmi Plac et Ptac (comprenant l'opérateur lacO, le répresseur lacI), Ptet (comprenant l'opérateur tetO, le répresseur tetR) et ParaBad (comprenant l'opérateur araO, le répresseur araC). Comme il est familier à la personne du métier, il est possible de produire synthétiquement des promoteurs répressibles à partir de promoteurs constitutifs natifs en ajoutant l'opérateur tetO (ou un analogue de celui-ci) à la séquence et d'exprimer tetR ou des analogues pour les réprimer.
- [0149] P2 peut comprendre un acide nucléique (par exemple un ARN) ou une protéine (par exemple un peptide). Par exemple, P2 est un ARN de silençage ou une protéine capable de se lier à l'acide nucléique pour inhiber l'expression de P1, par exemple en

liant au premier promoteur une séquence qui chevauche le premier promoteur, ou en se liant à NS1.

[0150] P2 peut être exploitable dans la cellule hôte pour se lier à l'acide nucléique du vecteur pour réguler à la baisse l'expression de P1 ; et/ou R peut réguler à la hausse l'expression de P2. P2 peut être exploitable dans la cellule hôte pour se lier à l'acide nucléique du vecteur pour réguler à la hausse l'expression de P1.

[0151] P2 peut être exprimable dans la cellule hôte pour la formation d'une nucléase qui est exploitable dans la cellule hôte pour couper l'acide nucléique. De préférence, l'acide nucléique coupé est dégradé (optionnellement le vecteur comprenant l'acide nucléique est dégradé), régulant ainsi à la baisse l'expression de P1 dans la cellule hôte. De préférence, l'acide nucléique coupé est dégradé, régulant ainsi à la baisse l'expression de P1 dans le microbiote. P2 elle-même peut être la nucléase ou un composant de celle-ci (le composant se combinant avec un ou plus autre(s) composant(s) dans la cellule hôte pour former la nucléase, tel qu'une nucléase guidée par ARN). Des exemples de nucléases convenant sont une endonucléase guidée par ARN ou une endonucléase de restriction. Par exemple, la nucléase est une nucléase de restriction sélectionnée parmi AatII, AbaSI, Acc65I, AccI, AclI, AclII, AcuI, AfeI, AflIII, AflIII, AgeI, AhdI, AleI, AluI, AlwI, AlwNI, ApaI, ApaLI, ApoI, AscI, AseI, AsiSI, Aval, AvaII, AvrII, BaeGI, BaeI, BamHI, BanI, BanII, BbsI, BbvCI, BbvI, BccI, BceAI, BcgI, BciVI, BclI, BfaI, BglI, BglII, BlpI, BmgBI, BmrI, BmtI, BpmI, BpuEI, Bpu10I, BsaAI, BsaBI, BsaHI, BsaI, BsaJI, BsaWI, BsaXI, BseRI, BseYI, BsgI, BsiEI, BsiHKAI, BsiWI, BslI, BsmAI, BsmBI, BsmFI, BsmI, BspCNI, BspEI, BspHI, Bsp1286I, BspMI, BsrBI, BsrDI, BsrFI, BsrGI, BsrI, BssHII, BssSI, BstAPI, BstBI, BstEII, BstNI, BstUI, BstXI, BstYI, BstZ17I, Bsu36I, BtgI, BtgZI, BtsCI, BtsIMutI, BtsI, Cac8I, ClaI, CspCI, CviAII, CviKI-1, CviQI, DdeI, DpnI, DraI, DraIII, DrdI, EaeI, EagI, EarI, EciI, Eco53kI, EcoNI, EcoO109I, EcoP15I, EcoRI, EcoRV, Esp3I, FatI, FauI, Fnu4HI, FokI, FseI, FspEI, FspI, HaeII, HaeIII, HgaI, HhaI, HincII, HindIII, HinfI, HinP1I, HpaI, HphI, HpyAV, HpyCH4III, HpyCH4IV, HpyCH4V, Hpy99I, Hpy188I, Hpy166II, Hpy188III, I-CeuI, I-SceI, KasI, KpnI, LpnPI, MboI, MboII, MfeI, MluCI, MluI, MlyI, MmeI, MnlI, MscI, MseI, MslI, MspA1I, MspI, MspJI, MwoI, NaeI, NarI, Nb.BbvCI, Nb.BsmI, Nb.BsrDI, Nb.BssSI, 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, PaqCI, PciI, PflMI, PI-PspI, PI-SceI, PleI, PluTI, PmeI, PmlI, PpuMI, PshAI, PsiI, PspGI, PspOMI, PspXI, PstI, PvuI, PvuII, RsaI, RsrII, SacI, SacII, SalI, SapI, Sau96I, SbfI, Scal, ScrFI, SexAI, SfaNI, SfcI, SfiI, SfoI, SgrAI, SmaI, SmlI, SnaBI, SpeI, SphI, SrfI, SspI, StuI, StyD4I, StyI, SwaI, TaqI, TfiI, TseI, Tsp45I, TspRI, Tth111I PflFI, XbaI, XcmI, XhoI, XhoI, PaeR7I, XmaI, XmaI TspMI, XmnI et ZraI.

- [0152] Dans un exemple, P2 comprend une nucléase guidée qui est programmable dans la cellule hôte pour guider la nucléase jusqu'à une séquence nucléotidique cible comprise par l'acide nucléique, la nucléase étant capable de couper la séquence cible, la séquence d'acide nucléique étant dégradée et l'expression de P1 étant inhibée à partir de l'acide nucléique.
- [0153] Dans un exemple, la nucléase est exploitable pour couper un site cible que comprend l'acide nucléique du vecteur, le site cible étant
- [0154] (i) compris par NS1 ;
- [0155] (ii) pas compris par NS1 ;
- [0156] (iii) compris par NS2 ;
- [0157] (iv) pas compris par NS2 ;
- [0158] (v) compris par une séquence nucléotidique du vecteur qui code pour un système CRISPR/cas ou un composant de celui-ci (le composant étant par exemple une séquence nucléotidique qui code pour une Cas, ou le composant codant pour un ARNcr ou un ARN guide ;
- [0159] (vi) non compris par une séquence nucléotidique du vecteur qui code pour un système CRISPR/cas ou un composant de celui-ci (le composant étant par exemple une séquence nucléotidique qui code pour une Cas, ou le composant codant pour un ARNcr ou un ARN guide ;
- [0160] (vii) compris par une séquence nucléotidique qui code pour une endonucléase de restriction ;
- [0161] (viii) non compris par une séquence nucléotidique qui code pour une endonucléase de restriction ;
- [0162] (ix) compris par le premier promoteur ; ou
- [0163] (x) compris par le deuxième promoteur.
- [0164] Un système CRISPR/cas comprend au moins une Cas (par exemple Cas3 (optionnellement aussi Cascade Cas, par exemple CasA-E), Cas9, Cas12 ou Cas13) et un ARN guide apparenté qui est capable de former un complexe Cas/ARN guide pour reconnaître et se lier à une séquence de protoespaceur. Dans les exemples ci-dessus, le protoespaceur est compris par le site cible. L'ARN guide peut être un ARN simple guide.
- [0165] P2 peut comprendre
- [0166] a) une nucléase guidée par ARN ;
- [0167] b) un ARN qui est exploitable pour guider une nucléase guidée par ARN ou un précurseur d'un tel ARN ; ou
- [0168] c) une endonucléase de restriction.
- [0169] Optionnellement, le précurseur est un ARN, pré-ARNc ou ARNtracr.
- [0170] Dans un exemple, P2 est capable de se lier à un opérateur (O) qui est compris par

l'acide nucléique et opérationnellement connecté au premier promoteur (par exemple O est 5' du premier promoteur, par exemple dans une plage de 200 ou 100 kb 5' du promoteur), dans lequel lorsque P2 est lié à O, l'expression de P1 est réduite (par exemple éliminée). Dans un exemple, P2 comprend une nucléase Cas morte (par exemple une dCas9 ou dCas3 ou dCas12 ou dCas13), la dCas étant capable de former un complexe dCas/ARN guide dans la cellule hôte qui reconnaît et se lie à un protoespaceur compris par le noyau nucléique acide pour interrompre l'expression de P1 (par exemple en interrompant la fonction de promoteur du premier promoteur).

[0171] Optionnellement, la nucléase guidée est une nucléase Cas, TALEN, une méga-nucléase ou une nucléase à doigt de zinc, de préférence une nucléase Cas. La nucléase peut couper l'ADN ou l'ARN, de préférence l'ADN.

[0172] La nucléase peut être utilisable pour couper l'acide nucléique au niveau d'un motif de séquence prédéterminé (un site cible), optionnellement une séquence de protoespaceur ou un site de restriction. Le protoespaceur peut être un protoespaceur de CRISPR/Cas. Le site de restriction peut être coupé par une endonucléase de restriction ou une quelconque autre nucléase de restriction divulguée ici. L'acide nucléique peut comprendre une pluralité (par exemple au moins 2 ou 3, par exemple 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ou 9) desdits motifs. Cela peut être utile pour l'efficacité de la coupe et de la destruction de l'acide nucléique (ou du vecteur comprenant l'acide nucléique).

[0173] P1 peut être un acide aminé, une protéine (par exemple un peptide ou un polypeptide) ou un ARN (par exemple un ARN de silençage) pour la thérapie humaine ou animale. Par exemple, P1 est une cytokine, un facteur de croissance, une enzyme, une hormone ou un anticorps (ou une chaîne d'anticorps ou un fragment d'anticorps). Par exemple, P1 est une chaîne d'anticorps ou un fragment d'anticorps, par exemple un anticorps à domaine unique (également connu en tant que dAb) ou un nanocorps. Par exemple, la chaîne ou le fragment est une chaîne ou un fragment d'anticorps humain. Par exemple, P1 est une chaîne lourde d'anticorps qui forme un anticorps avec une chaîne légère d'anticorps qui est également exprimée dans la cellule hôte. De préférence, l'anticorps, la chaîne ou le fragment est capable d'être sécrété à partir de la cellule hôte. De préférence, l'anticorps, la chaîne ou le fragment est sécrété à partir de la cellule hôte. Par exemple, P1 est une incrépine, par exemple un peptide d'incrétine ou un multimère de celui-ci. Optionnellement, l'incrétine est sélectionnée parmi le GLP-1, le GIP, l'exendine-4 et l'insuline. Par exemple, P1 comprend un site de liaison à l'antigène d'un anticorps, ou un domaine variable (par exemple domaine VH et/ou VL) d'un anticorps, par exemple l'anticorps étant sélectionné depuis le groupe consistant en ReoPro™ ; Abciximab ; Rituxan™ ; Rituximab ; Zenapax™ ; Daclizumab ; Simulect™ ; Basiliximab ; Synagis™ ; Palivizumab ; Remicade™ ; Infliximab ; Herceptin™ ; Mylotarg™ ; Gemtuzumab ; Campath™ ; Alemtuzumab ; Zevalin™ ;

Ibritumomab ; Humira™ ; Adalimumab ; Xolair™ ; Omalizumab ; Bexxar™ ; Tositumomab ; Raptiva™ ; Efalizumab ; Erbitux™ ; Cetuximab ; Avastin™ ; Bevacizumab ; Tysabri™ ; Natalizumab ; Actemra™ ; Tocilizumab ; Vectibix™ ; Panitumumab ; Lucentis™ ; Ranibizumab ; Soliris™ ; Eculizumab ; Cimzia™ ; Certolizumab ; Simponi™ ; Golimumab, Ilaris™ ; Canakinumab ; Stelara™ ; Ustekinumab ; Arzerra™ ; Ofatumumab ; Prolia™ ; Denosumab ; Numax™ ; Motavizumab ; ABThrax™ ; Raxibacumab ; Benlysta™ ; Belimumab ; Yervoy™ ; Ipilimumab ; Adcetris™ ; Brentuximab ; Vedotin™ ; Perjeta™ ; Pertuzumab ; pembrolizumab, nivolumab, atezolizumab, Kadcyla™ ; Ado-trastuzumab ; Keytruda™, Opdivo™, Gazyva™ et Obinutuzumab. Par exemple, P est sélectionné parmi un peptide insuline, un peptide incrétine ou une hormone peptidique. Par exemple, l'anticorps est l'adalimumab. Par exemple, l'anticorps est le pembrolizumab. Par exemple, l'anticorps est le nivolumab. Par exemple, l'anticorps est l'atezolizumab. Par exemple, l'anticorps est le dupilumab. Par exemple, l'anticorps est le tocilizumab. Par exemple, l'anticorps est le sarilumab. Par exemple, l'anticorps est l'alirocumab. Par exemple, l'anticorps est l'evolocumab. Dans une alternative, l'anticorps est un anticorps anti-CD38, un anticorps anti-TNF α , un anticorps anti-TNFR, un anticorps anti-IL-4Ra, un anticorps anti-IL-6R, un anticorps anti-IL-6, un anticorps anti-VEGF, un anticorps anti-EGFR, un anticorps anti-PD-1, un anticorps anti-PD-L1, un anticorps anti-CTLA4, un anticorps anti-PCSK9, un anticorps anti-CD3, un anticorps anti-CD20, un anticorps anti-CD138, un anticorps anti-IL-1. Dans une alternative, l'anticorps est sélectionné parmi les anticorps divulgués dans WO2007024715 de la page 40, ligne 23 à la page 43, ligne 23.

- [0174] Un antigène mentionné ici peut être un antigène sélectionné au sein du groupe consistant en ABCF1 ; ACVR1 ; ACVR1B ; ACVR2 ; ACVR2B ; ACVRL1 ; ADORA2A ; AggreCAN ; AGR2 ; AICDA ; AWI ; AIG1 ; AKAP1 ; AKAP2 ; AIYIH ; AMHR2 ; ANGPT1 ; ANGPT2 ; ANGPTL3 ; ANGPTL4 ; ANPEP ; APC ; APOC1 ; AR ; AZGP1 (zinc- α -glycoprotéine) ; B7.1 ; B7.2 ; BAD ; BAFF ; BAG1 ; BAI1 ; BCL2 ; BCL6 ; BDNF ; BLNK ; BLR1 (MDR15) ; BlyS ; BM PI ; BMP2 ; BMP3B (GDF10) ; BMP4 ; BMP6 ; BM P8 ; BMPRIA ; BMPRIB ; BM PR2 ; BPAG1 (plectine) ; BRCA1 ; CI9orf10 (IL27w) ; C3 ; C4A ; C5 ; C5R1 ; CANT1 ; CASP1 ; CASP4 ; CAV1 ; CCBP2 (D6 / JAB61) ; CCL1 (1-309) ; CCL11 (éotaxine) ; CCL13 (MCP-4) ; CCL15 (MIP-1 α) ; CCL16 (HCC-4) ; CCL17 (TARC) ; CCL18 (PARC) ; CCL19 (MIP-3 β) ; CCL2 (MCP-1) ; MCAF ; CCL20 (MIP-3 α) ; CCL21 (MIP-2) ; SLC ; exodus-2 ; CCL22 (MDC / STC-1) ; CCL23 (MIP-1) ; CCL24 (MIP-2 I éotaxine-2) ; CCL25 (TECK) ; CCL26 (éotaxine-3) ; CCL27 (CTACK / ILC) ; CCL28 ; CCL3 (MIP-1 α) ; CCL4 (MIP-1 β) ; CCL5 (RANTES) ; CCL7 (MCP-3) ; CCL8 (mcp-2) ; CCNA1 ; CCNA2 ; CCND1 ; CCNE1 ; CCNE2 ; CCR1 (CKR1 / HM145) ;

CCR2 (mcp-1RB / RA) ; CCR3 (CKR3 / CMKBR3) ; CCR4 ; CCR5 (CM KBR5 / ChemR13) ; CCR6 (CMKBR6 / CKR-L3 / STRL22 / DRY6) ; CCR7 (CKR7 / EBI1) ; CCR8 (CM KBR8 / TER1 / CKR-L1) ; CCR9 (GPR-9-6) ; CCRL1 (VSHK1) ; CCRL2 (L-CCR) ; CD164 ; CD19 ; CD1C ; CD20 ; CD200 ; CD-22 ; CD24 ; CD28 ; CD3 ; CD37 ; CD38 ; CD3E ; CD3G ; CD3Z ; CD4 ; CD40 ; CD40L ; CD44 ; CD45RB ; CD52 ; CD69 ; CD72 ; CD74 ; CD79A ; CD79B ; CD8 ; CD80 ; CD81 ; CD83 ; CD86 ; CDH1 (E-cadhérine) ; CDH10 ; CDH12 ; CDH13 ; CDH18 ; CDH19 ; CDH20 ; CDH5 ; CDH7 ; CDH8 ; CDH9 ; CDK2 ; CDK3 ; CDK4 ; CDK5 ; CDK6 ; CDK7 ; CDK9 ; CDKN1A (p21Wapl/Cipl) ; CDKN1B (p27Kipl) ; CDKNIC ; CDKN2A (p16INK4a) ; CDKN2B ; CDKN2C ; CDKN3 ; CEBPB ; CER1 ; CHGA ; CHGB ; Chitinase ; CHST10 ; CKLFSF2 ; CKLFSF3 ; CKLFSF4 ; CKLFSF5 ; CKLFSF6 ; CKLFSF7 ; CKLFSF8 ; CLDN3 ; CLDN7 (claudine-7) ; CLN3 ; CLU (clustérine) ; CMKLR1 ; CMKOR1 (RDC1) ; CNR1 ; COL18A1 ; COL1A1 ; COL4A3 ; COL6A1 ; CR2 ; CRP ; CSF1 (M-CSF) ; CSF2 (GM-CSF) ; CSF3 (GCSF) ; CTLA4 ; CTNBN1 (b-caténine) ; CTSB (cathepsine B) ; CX3CL1 (SCYDi) ; CX3CR1 (V28) ; CXCL1 (GRO1) ; CXCLIO (IP-10) ; CXCL11 (I-TAC / IP-9) ; CXCL12 (SDF1) ; CXCL13 ; CXCL14 ; CXCL16 ; CXCL2 (GR02) ; CXCL3 (GR03) ; CXCL5 (ENA-78 I LIX) ; CXCL6 (GCP-2) ; CXCL9 (MIG) ; CXCR3 (GPR9/CKR-L2) ; CXCR4 ; CXCR6 (TYMSTR ISTRL33 I Bonzo) ; CYB5 ; CYC1 ; CYSLTR1 ; DAB2IP ; DES ; DKFZp451J0118 ; DNCL1 ; DPP4 ; E2F1 ; ECGF1 ; EDG1 ; EFNA1 ; EFNA3 ; EFNB2 ; EGF ; EGFR ; ELAC2 ; ENG ; EN01 ; EN02 ; EN03 ; EPHB4 ; EPO ; ERBB2 (Her-2) ; EREG ; ERK8 ; ESR1 ; ESR2 ; F3 (TF) ; FADD ; FasL ; FASN ; FCER1A ; FCER2 ; FCGR3A ; FGF ; FGF1 (aFGF) ; FGF10 ; FGF11 ; FGF12 ; FGF12B ; FGF13 ; FGF14 ; FGF16 ; FGF17 ; FGF18 ; FGF19 ; FGF2 (bFGF) ; FGF20 ; FGF21 ; FGF22 ; FGF23 ; FGF3 (int-2) ; FGF4 (HST) ; FGF5 ; FGF6 (HST-2) ; FGF7 (KGF) ; FGF8 ; FGF9 ; FGFR3 ; FIGF (VEGFD) ; FIL1 (EPSILON) ; FIL1 (ZETA) ; FU12584 ; FU25530 ; FLRT1 (fibronectine) ; FLT1 ; FOS ; FOSL1 (FRA-I) ; FY (DARC) ; GABRP (GABAa) ; GAGEB1 ; GAGEC1 ; GALNAC4S-65T ; GATA3 ; GDF5 ; GF11 ; GGT1 ; GM-CSF ; GNAS1 ; GNRH1 ; GPR2 (CCRIO) ; GPR31 ; GPR44 ; GPR81 (FKSG80) ; GRCCIO (CIO) ; GRP ; GSN (Gelsoline) ; GSTP1 ; HAVCR2 ; HDAC4 ; HDAC5 ; HDAC7A ; HDAC9 ; HGF ; HIF1A ; HIP1 ; histamine et récepteurs d'histamine ; HLA-A ; HLA-DRA ; HM74 ; HMOX1 ; HUMCYT2A ; ICEBERG ; ICOSL ; 1D2 ; IFN-a ; IFNA1 ; IFNA2 ; IFNA4 ; IFNA5 ; IFNA6 ; IFNA7 ; IFNB1 ; IFNgamma ; TFNW1 ; IGBP1 ; IGF1 ; IGF1R ; IGF2 ; IGFBP2 ; IGFBP3 ; IGFBP6 ; IL-1 ; IL10 ; IL10RA ; IL10RB ; IL11 ; IL11RA ; IL-12 ; IL12A ; IL12B ; IL12RB1 ; IL12RB2 ; 1L13 ; IL13RA1 ; IL13RA2 ; 1L14 ; 1L15 ; IL15RA ; IL16 ; 1L17 ; IL17B ; IL17C ; IL17R ; 1L18 ; IL18BP ; IL18R1 ; IL18RAP ; 1L19 ; IL1A ; IL1B ; IL1F10 ; IL1F5 ; IL1F6 ; IL1F7 ; IL1F8 ; IL1F9 ; IL1HY1 ;

IL1R1 ; IL1R2 ; IL1RAP ; IL1RAPL1 ; IL1RAPL2 ; IL1RL1 ; IL1RL2 ; IL1RN ; IL2 ;
 IL20 ; IL20RA ; IL21R ; IL22 ; IL22R ; IL22RA2 ; IL23 ; IL24 ; IL25 ; IL26 ;
 IL27 ; IL28A ; IL28B ; IL29 ; IL2RA ; IL2RB ; IL2RG ; IL3 ; IL30 ; IL3RA ; IL4 ;
 IL4R ; IL5 ; IL5RA ; IL6 ; IL6R ; IL6ST (glycoprotéine 130) ; IL7 ; IL7R ; IL8 ;
 IL8RA ; IL8RB ; IL8RB ; IL9 ; IL9R ; ILK ; INHA ; INHBA ; INSL3 ; INSL4 ;
 IRAKI ; IRAK2 ; ITGA1 ; ITGA2 ; ITGA3 ; ITGA6 (intégrine $\alpha 6$) ; ITGAV ; ITGB3 ;
 ITGB4 (intégrine $\beta 4$) ; JAG1 ; JAK1 ; JAK3 ; JUN ; K6HF ; KAI1 ; KDR ; MTLG ;
 KLF5 (GC Box BP) ; KLF6 ; KLK10 ; KLK12 ; KLK13 ; KLK14 ; KLK15 ; KLK3 ;
 KLK4 ; KLK5 ; KLK6 ; KLK9 ; KRT1 ; KRT19 (Keratin 19) ; KRT2A ; KRTHB6
 (kératine de type II spécifique aux cheveux) ; LAMA5 ; LEP (leptine) ; Lingo-p75 ;
 Lingo-Troy ; LPS ; LTA (TNF- β) ; LTB ; LTB4R (GPR16) ; LTB4R2 ; LTBR ;
 MACMARCKS ; MAG or Omgp ; MAP2K7 (c-Jun) ; MDK ; MIB1 ; midkine ; MIF ;
 MIP-2 ; MK167 (Ki-67) ; MMP2 ; MMP9 ; MS4A1 ; MSMB ; MT3
 (métallothionectine- α) ; MTSS1 ; MUC1 (mucine) ; MYC ; MYD88 ; NCK2 ;
 neurocan ; NF- κ B1 ; NF- κ B2 ; NGF (NGF) ; NGFR ; NgR-Lingo ; NgR-Nogo66
 (Nogo) ; NgR-p75 ; NgR-Troy ; NME1 (NM23A) ; NOX5 ; NPPB ; NROB1 ;
 NROB2 ; NR1D1 ; NR1D2 ; NR1H2 ; NR1H3 ; NR1H4 ; NR1I2 ; NR1I3 ; NR2C1 ;
 NR2C2 ; NR2E1 ; NR2E3 ; NR2F1 ; NR2F2 ; NR2F6 ; NR3C1 ; NR3C2 ; NR4A1 ;
 NR4A2 ; NR4A3 ; NR5A1 ; NR5A2 ; NR6A1 ; NRP1 ; NRP2 ; NTSE ; NTN4 ;
 ODZ1 ; OPRD1 ; P2RX7 ; PAP ; PART1 ; PATE ; PAWR ; PCA3 ; PCNA ; PDGFA ;
 PDGFB ; PECAM1 ; PF4 (CXCL4) ; PGF ; PGR ; phosphacan ; PIAS2 ; PIK3CG ;
 PLAU (uPA) ; PLG ; PLXDC1 ; PPBP (CXCL7) ; PPID ; PR1 ; PRKCQ ; PRKD1 ;
 PRL ; PROC ; PROK2 ; PSAP ; PSCA ; PTAFR ; PTEN ; PTGS2 (COX-2) ; PTN ;
 RAC2 (p21Rac2) ; RARB ; RGS1 ; RGS13 ; RGS3 ; RNF110 (ZNF144) ; ROB02 ;
 S100A2 ; SCGB1D2 (lipophilin B) ; SCGB2A1 (mammaglobine 2) ; SCGB2A2
 (mammaglobine 1) ; SCYE1 (cytokine activant les monocytes endothéliaux) ; SDF2 ;
 SERPINA1 ; SERPINA3 ; SERPINB5 (maspin) ; SERPINE1 (PAT-1) ; SERPINF1 ;
 SHBG ; SLA2 ; SLC2A2 ; SLC33A1 ; SLC43A1 ; SLIT2 ; SPPI ; SPRRIB (Spri) ;
 ST6GAL1 ; STAB1 ; STAT6 ; STEAP ; STEAP2 ; TB4R2 ; TBX21 ; TCPIO ; TDGF1 ;
 TEK ; TGFA ; TGFB1 ; TGFB1I1 ; TGFB2 ; TGFB3 ; TGFB1 ; TGFB1R1 ; TGFB2R2 ;
 TGFB3R3 ; TH1L ; THBS1 (thrombospondine-1) ; THBS2 ; THBS4 ; THPO ; TIE
 (Tie-1) ; TJMP3 ; facteur tissulaire ; TLR1 ; TLR2 ; TLR3 ; TLR4 ; TLR5 ; TLR6 ;
 TLR7 ; TLR8 ; TLR9 ; TNF ; TNF- α ; TNFAIP2 (B94) ; TNFAIP3 ; TNFRSF1A ;
 TNFRSF1A ; TNFRSF1B ; TNFRSF21 ; TNFRSF5 ; TNFRSF6 (Fas) ; TNFRSF7 ;
 TNFRSF8 ; TNFRSF9 ; TNFSF10 (TRAIL) ; TNFSF11 (TRANCE) ; TNFSF12
 (AP03L) ; TNFSF13 (April) ; TNFSF13B ; TNFSF14 (HVEM-L) ; TNFSF15 (VEG1)
 ; TNFSF18 ; TNFSF4 (ligand d'OX40) ; TNFSF5 (ligand de CD40 ligand) ; TNFSF6
 (FasL) ; TNFSF7 (ligand de CD27) ; TNFSF8 (ligand de CD30) ; TNFSF9 (ligand

d'4-1BB) ; TOLLIP ; Récepteur de type Toll ; TOP2A (topoisomérase lia) ; TP53 ; TPM 1 ; TPM2 ; TRADD ; TRAF1 ; TRAF2 ; TRAF3 ; TRAF4 ; TRAF5 ; TRAF6 ; TREM 1 ; TREM2 ; TRPC6 ; TSLP ; TWEAK ; VEGF ; VEGFB ; VEGFC ; versicane ; VHL C5 ; VLA-4 ; XCL1 (lymphotactine) ; XCL2 (SCM-Ib) ; XCR1 (GPR5 / CCXCR1) ; YY1 ; and ZFPM2.

[0175] Par exemple, P1 comprend un site de liaison au VEGF d'aflibercept, par exemple un ou des domaine(s) anti-VEGF FLT1 et/ou KDR.

[0176] Par exemple, P1 comprend (ou est) une incrétine, un peptide insuline, un peptide GLP-1 (glucagon-like peptide-1 (GLP-1)), un peptide GIP (de l'anglais « glucose-dependent insulintropic polypeptide »), une exendine (par exemple exendine-4), une hormone peptidique, une prolactine ou un peptide de prolactine, un ACTH (de l'anglais « AdrenoCorticoTropic Hormone ») ou un peptide d'ACTH, une hormone de croissance ou un peptide d'hormone de croissance, une vasopressine ou un peptide de vasopressine, une ocytocine ou un peptide d'ocytocine, un glucagon ou un peptide de glucagon, une insuline ou un peptide d'insuline, une somatostatine ou un peptide de somatostatine, une cholécystokinine ou un peptide de cholécystokinine, une gastrine ou un peptide de gastrine, une leptine ou un peptide de leptine, un site de liaison à un anticorps (par exemple un scFv ou un Fab) ou un domaine variable de celui-ci, un site de liaison de récepteur de lymphocytes T (TCR, de l'anglais « T Cell Receptor »)(par exemple un scTCR) ou un domaine de celui-ci, un site de liaison de TCR V α /V β ou un domaine variable de celui-ci, un site de liaison de TCR V γ /V δ ou un domaine variable de celui-ci, un site de liaison de domaine variable unique d'anticorps, ou un site de liaison de FcAb. Dans un exemple, P1 comprend au moins une copie d'un GLP-1 et au moins une copie d'une autre incrétine (par exemple une Exendine-4). Par exemple, il existe une copie de GLP-1 et une copie de l'autre increting. De préférence, dans les exemples de ce paragraphe, P1 est une protéine sécrétée ou exposée à la surface de la cellule hôte. Optionnellement, toute GLP-1 mentionnée ici est une GLP-1(7-37)-Pro9. Optionnellement, toute incrétine mentionnée ici est une Exendn-4 ou Peptide Y. Optionnellement, tout(e) P1 ou incrétine mentionné(e) ici est du DURAGLUTIDE™.

[0177] P1 peut comprendre un site de liaison à antigène. Un site de liaison mentionné ici peut, par exemple être un site de liaison d'antigène (par exemple cytokine ou facteur de croissance, par exemple VEGF ou EGFR) d'un récepteur (par exemple KDR ou Flt). Un site de liaison mentionné ici peut, par exemple, être un site de liaison d'Eylea™, d'Avastin™ ou de Lucentis™, par exemple pour une utilisation médicale oculaire ou oncologique chez un humain ou un animal. Lorsque l'antigène est le VEGF, le vecteur ou le procédé peut être destiné au traitement ou à la prévention d'un cancer ou d'une affection oculaire (par exemple DMLA humide ou sèche ou rétinopathie diabétique) ou en tant qu'inhibiteur de néovascularisation chez un sujet humain ou animal.

- [0178] Par exemple, P1 est un composant de la voie métabolique, par exemple une enzyme ou un réactif dans la voie. Par exemple, P1 est une enzyme intracellulaire dans la cellule cible (c-à-d cellule hôte). Par exemple, P1 est une enzyme sécrétée (par exemple sécrétée par la cellule cible). La voie mentionnée ici peut être dans la cellule cible ou elle peut être à l'extérieur de la cellule cible. Par exemple, la voie est une voie à l'intérieur d'une cellule différente que comprend le microbiote dont la cellule cible est un composant. La cellule différente peut être une cellule porteuse ou elle peut être une cellule endogène du microbiote (c-à-d toute cellule du microbiote à l'exception de la cellule cible ou d'une cellule porteuse). La voie peut comprendre un ou plus élément(s) suivant(s) en tant que produit(s) ou intermédiaire(s) : -
- [0179] • un acide gras à chaîne courte (AGCC)
 - [0180] • un lipide
 - [0181] • un dérivé d'indole ou de la sérotonine (par exemple la voie étant pour la conversion du tryptophane (Trp) en un ou plus dérivé(s) d'indole ou de la sérotonine)
 - [0182] • une hormones ou incréline (par exemple GLP-1, ocytocine)
 - [0183] • un ou plus antigène(s) (par exemple pour stimuler la réponse immunitaire pour la vaccination du sujet).
- [0184] Optionnellement, R régule à la hausse l'expression de P2, P2 régule à la baisse l'expression de P1 et optionnellement P1 est un composant d'une voie métabolique (par exemple dans le microbiote ou la cellule cible ou chez un sujet ou dans un environnement comprenant le microbiote ou la cellule cible) dans laquelle un produit de production (X) de la voie en aval de P1 provoque une régulation de l'expression de P1 ou P2. Voir, par exemple, les Scénarios 1, 3 et 4 ([Fig.7]). Dans un mode de réalisation, X est R ou un précurseur de R. Dans un mode de réalisation, X régule le premier et/ou le deuxième promoteur. Dans un mode de réalisation, X régule à la hausse l'expression de P1 ou P2. Dans un mode de réalisation, X régule à la hausse l'expression de P1 ou P2.
- [0185] Optionnellement, R régule à la hausse l'expression de P2, P2 régule à la hausse l'expression de P1 et optionnellement P1 est un composant d'une voie métabolique (par exemple dans le microbiote ou la cellule cible ou chez un sujet ou dans un environnement comprenant le microbiote ou la cellule cible) dans laquelle un produit de production (X) de la voie en aval de P1 provoque une régulation de l'expression de P1 ou P2. Voir, par exemple, Scénario 2 ([Fig.7]). Dans un mode de réalisation, X est R ou un précurseur de R. Dans un mode de réalisation, X régule le premier et/ou le deuxième promoteur. Dans un mode de réalisation, X régule à la hausse l'expression de P1 ou P2. Dans un mode de réalisation, X régule à la hausse l'expression de P1 ou P2.
- [0186] Dans un exemple, P1 est un antigène protéique sécrété ou exposé à la surface

cellulaire. Ceci est utile, par exemple, pour vacciner le sujet, par exemple lorsque l'antigène est un antigène d'un agent pathogène (tel qu'une bactérie ou un virus, par exemple une protéine d'enveloppe, telle qu'une protéine de type péplomère, par exemple un antigène du SARS-Cov ou du SARS-Cov-2 ou de la grippe).

[0187] Dans un exemple, P1 est un antagoniste sécrété d'un ligand cible chez le sujet. Par exemple, la liaison de P1 au ligand peut inhiber ou neutraliser le ligand ou le marquer pour destruction chez le sujet (par exemple par des cellules immunitaires du sujet). Par exemple, l'antagoniste peut comprendre un fragment d'anticorps (tel qu'un nanocorps ou tout autre domaine variable unique d'anticorps) comprenant un site de liaison pour le ligand cible. Le ligand peut être, par exemple,

[0188] • Une protéine curli (par exemple une protéine curli d'*E. coli*) ;

[0189] • TMA (triméthylamine) ;

[0190] • Un gluten ;

[0191] • Un acide biliaire ;

[0192] • Du Cholestérol ou la PCSK9 ; ou

[0193] • Une toxine bactérienne (par exemple une toxine codée par pks (par exemple pks d'*E. coli*), une toxine de *C. difficile*, une toxine de *V. cholerae*, une toxine d'anthrax ou une toxine de *B. fragilis*).

[0194] Dans un mode de réalisation, P1 est toxique pour les cellules de la même espèce que la cellule hôte. Ceci peut être utile pour tuer des cellules de telles espèces dans le microbiote ou pour réduire la croissance ou la prolifération de telles cellules, tel que lorsque les cellules sont préjudiciables à la santé du sujet.

[0195] Dans un mode de réalisation, P1 est un régulateur de transcription ou de traduction dans des cellules de la même espèce que la cellule hôte. Ainsi, la régulation à la hausse ou à la baisse de l'expression de P1 peut avantageusement agir sur un ou plus gène(s) dans le génome de la cellule hôte.

[0196] Optionnellement, R est un/une acide aminé, protéine, glucide (par exemple un sucre), lipide, ion métallique ou acide nucléique (par exemple de l'ARN). R peut être un alcool de sucre, par exemple le xylitol, glycérol, arabitol, érythritol, isomalt, les HSH (de l'anglais « Hydrogenated Starch Hydrolysates », soit « hydrolysats d'amidon hydrogéné »), lactitol, maltitol, mannitol ou sorbitol, de préférence le xylitol. R peut être un antibiotique. R peut être un métabolite d'une voie métabolique qui opère chez le sujet ou dans le microbiote. R est optionnellement un métabolite de P1 ou un métabolite produit dans une voie comprenant P1. Par exemple, P1 peut être une enzyme sécrétée (c-à-d sécrétée par la cellule hôte) qui est capable d'agir dans une voie chez le sujet qui produit R. Par exemple, P1 peut être métabolisé dans une voie qui produit R (par exemple P1 est métabolisé pour produire directement R, ou pour produire indirectement R). La voie peut être à l'intérieur de la cellule hôte cible ou peut être à

l'extérieur de la cellule hôte cible (par exemple dans une cellule voisine du microbiote dont la cellule cible est un composant). L'effet de R sur l'expression de P1 peut être dépendant de la dose (ou non). La personne du métier sera aisément capable de déterminer (par exemple au moyen de titrages de doses dans des tests) la quantité appropriée de R à utiliser pour offrir un effet souhaité sur le microbiote.

- [0197] Comme illustré ici, R peut être du xylitol. Les opérons de gènes liés à la conversion/ utilisation de sucres peuvent être induits par les sucres eux-mêmes grâce à leur liaison aux protéines répresseurs transcriptionnels pertinentes. Pour la présente étude, il a été décidé d'étudier un promoteur négativement répressible dont il a été prévu l'induction par le *xylitol*. Cet alcool de sucre à 5 carbones présente plusieurs avantages. Tout d'abord, le xylitol est généralement considéré comme sûr pour la consommation humaine par la FDA (Xiang et al., 2021). De plus, plus de la moitié du xylitol ingéré n'est pas adsorbé par les cellules humaines mais atteint plutôt le tractus gastro-intestinal où il est absorbé par le microbiome (Livesey, 2003). Enfin, le xylitol sert de métabolite pour certaines bactéries : Il est soit repris directement par un complexe transporteur de type ABC (Madigan et al., 2015) et/ou généré par l'intermédiaire d'une réduction du sucre D-xylose correspondant. Ensuite, le xylitol est typiquement déshydrogéné et phosphorylé en xylulose-5-phosphate qui est ensuite catabolisé dans la voie des pentoses phosphates.
- [0198] Par exemple, R est un acide aminé. Par exemple, R est sélectionné parmi l'alanine, l'arginine, l'asparagine, l'acide aspartique, la cystéine, l'acide glutamique, la glutamine, la glycine, l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la proline, la sérine, la thréonine, le tryptophane, la tyrosine et la valine. Dans un mode de réalisation, R est du Tryptophane. Par exemple, R est une protéine (par exemple un peptide), par exemple R est sélectionné parmi une nisine, sakacine A et sakacine P, Par exemple R est une bactériocine. Par exemple, R est un glucide, par exemple R est un sucre, tel que sélectionné parmi le l-arabinose, le l-rhamnose, le xylose et le sucre. Par exemple R est un ion métallique, par exemple R est sélectionné parmi Fe²⁺, Mn²⁺, Co²⁺, Hg²⁺ et Cu²⁺. Par exemple, R est un lipide, par exemple un proprionate. Par exemple, R est un acide gras. Par exemple, R est un acide nucléique, par exemple R est un ARN. Par exemple, R est un composé benzénique, par exemple, un composé benzénique substitué ou l'acide benzoïque.
- [0199] Optionnellement, le vecteur est un ICE (élément intégratif et conjugatif, de l'anglais « Integrative and Conjugative Element »), un plasmide (par exemple un plasmide conjugatif), une particule de transduction (par exemple un phage ou une particule de transduction non autorépliquative) ou une nanoparticule. Dans un mode de réalisation, le plasmide comprend un oriT et un oriV. Le plasmide peut être autoconjuguant. Le plasmide peut être un plasmide navette, c'est-à-dire un plasmide qui peut se propager

dans au moins deux espèces hôtes différentes. Le plasmide peut comprendre un transposon ou un ICE (ou une partie mobilisable de celui-ci) qui comprend l'acide nucléique comprenant NS1 et NS2. Par exemple, le transposon ou l'ICE peut être un transposon ou ICE de *Bacteroides*. Le plasmide peut comprendre une oriT et être mobilisable en présence d'un système conjugatif, par exemple un système trouvé sur d'autres plasmides ou un élément intégratif et conjugatif (ICE) dans la cellule hôte ou le microbiote. Dans un exemple, un tel système conjugatif est compris par le génome de la cellule donneuse ou de la cellule porteuse. Dans un exemple, en plus ou alternativement, un système conjugatif est compris par le génome d'une cellule réceptrice. Le système conjugatif peut être porté sur un chromosome ou épisome d'une cellule porteuse comme décrit ici (c-à-d un système en trans du plasmide). Le système conjugatif peut être compris par le plasmide lui-même (c-à-d le système en cis). Le système peut être composé de cellules du microbiote avoisinant la cellule hôte dans laquelle le plasmide a été transféré ; de cette manière, le plasmide peut être dispersé entre les cellules avoisinantes, propageant ainsi le vecteur plasmidique dans le microbiote. Cela peut être utile pour amplifier l'expression de P1 dans le microbiote. De même, avec un plasmide autoconjuguant (c-à-d que le système conjugatif est fourni avec oriT sur le plasmide), le plasmide peut se disperser dans le microbiote.

- [0200] Le vecteur peut être un plasmide conjugatif compris par une cellule porteuse (par exemple une cellule porteuse bactérienne). Par exemple, la cellule porteuse et le vecteur sont destinés à être administrés à un microbiote d'un sujet humain ou animal. Par exemple, la cellule porteuse est une cellule d'une espèce cellulaire bactérienne commensale ou probiotique d'un microbiote humain ou animal. De plus ou alternativement, la cellule porteuse est une cellule d'une espèce de microbiote intestinal humain ou animal.
- [0201] Les gènes de conjugaison des plasmides conjugatifs tels que ceux des groupes Inc : P, N, W ou X présentent une similitude au niveau protéique avec le système VirB d'*Agrobacterium*, lui-même constituant un système de sécrétion prototypique de type IV (T4SS, de l'anglais « Type IV secretion system »). Ce sont souvent des systèmes plus petits et probablement les plus minimaux qui existent. Les gènes nécessaires à la conjugaison du plasmide prototypique VirB pTI et des homologues protéiques dans les familles de plasmides incN (quelque peu apparentés) et incF (apparentés de manière distante) sont montrés dans le **Tableau 4**.
- [0202] Optionnellement, le système de conjugaison est un système de conjugaison VirB, IncN ou IncF, ou un homologue ou orthologue de celui-ci.
- [0203] Chaque vecteur peut être un plasmide autoconjugatif comprenant une oriT et un système de conjugaison pour transférer le plasmide entre des cellules du microbiote, le système de conjugaison étant un système de conjugaison VirB, IncN ou IncF, ou un

homologue ou orthologue de celui-ci. La cellule porteuse (ou donneuse) et ledit ou lesdits vecteur(s) plasmidique(s) peuvent comprendre entre eux un système de conjugaison pour transférer le plasmide entre des cellules dans le microbiote, le système de conjugaison étant un système de conjugaison VirB, IncN ou IncF, ou un homologue ou orthologue de celui-ci, chaque vecteur comprenant une oriT. La cellule hôte (ou receveuse) et ledit ou lesdits vecteur(s) plasmidique(s) peuvent comprendre entre eux un système de conjugaison pour transférer le plasmide entre des cellules dans le microbiote, le système de conjugaison étant un système de conjugaison VirB, IncN ou IncF, ou un homologue ou orthologue de celui-ci, chaque vecteur comprenant une oriT.

- [0204] Par exemple, le système est le système du plasmide VirB pTIm, d'un plasmide IncN ou d'un plasmide IncF, ou le système est un homologue ou un orthologue de celui-ci.
- [0205] Par exemple, le système comprend (i) des gènes VirB virB1-11 et virD4, ou des homologues ou orthologues desdits gènes ; (ii) des gènes IncN traA-G, traJ, traL, traM, traN et traO, ou des homologues ou orthologues desdits gènes ; (iii) des gènes Inc F traA-E, traG, traH, traK, traL et ORF196, ou des homologues ou orthologues desdits gènes ; ou (iv) des gènes IncF traA-I, traK, traL, traM, traW et traU (et optionnellement au moins un ou tous parmi traX, traN, finO, trbI et trbB), ou des homologues ou orthologues desdits gènes. Pour l'option (iv), il est fait référence à Front Mol Biosci., 2016 Nov 10 ;3:71. doi: 10.3389/fmolb.2016.00071. eCollection 2016, "Comparative Genomics of the Conjugation Region of F-like Plasmids: Five Shades of F" (de l'anglais "Génomique Comparative de la Région de Conjugaison des Plasmides de type F : Cinq nuances de F », Raul Fernandez-Lopez *et al.*
- [0206] L'invention prévoit également, selon la Quatrième Configuration :
- [0207] Un vecteur d'acide nucléique pour transfert dans une cellule hôte d'un microbiote, le vecteur étant compris par une cellule porteuse (par exemple une cellule bactérienne) et code pour
- [0208] c) une nucléase (optionnellement une nucléase guidée par ARN ou une endonucléase de restriction) qui est exploitable dans la cellule porteuse pour couper un chromosome ou un épisome (qui n'est pas le vecteur de l'invention) de la cellule porteuse, le chromosome ou l'épisome étant optionnellement dégradé ; et/ou
- [0209] d) un ARN qui est exploitable dans la cellule porteuse pour guider une nucléase guidée par ARN ou un précurseur d'un tel ARN, l'ARN guidant la nucléase pour couper un chromosome ou un épisome (qui n'est pas le vecteur) de la cellule porteuse, le chromosome ou l'épisome étant optionnellement dégradé ;
- [0210] le vecteur comprenant un ou plus promoteurs régulables pour réguler l'expression de la nucléase de (a) et/ou de l'ARN ou du composant de (b) dans la cellule porteuse.
- [0211] Le vecteur peut avoir l'une quelconque des caractéristiques de vecteur divulguées ici.

L'épisome peut être un plasmide.

- [0212] Dans un mode de réalisation, le vecteur comprend un promoteur inductible ou répressible qui régule l'expression de la nucléase de (a) et/ou le vecteur comprenant un promoteur inductible ou répressible qui régule l'expression de l'ARN ou du composant de (b), le(s) promoteur(s) étant de préférence des promoteurs inductibles. Dans une alternative, le ou les promoteur(s) sont des promoteurs répressibles. Dans un exemple, les composants (a) et (b) sont sous le contrôle de promoteurs différents. Dans un exemple, les composants (a) et (b) sont sous le contrôle d'un promoteur commun.
- [0213] Dans un mode de réalisation, le vecteur comprend un promoteur inductible qui régule l'expression de la nucléase de (a). Dans un mode de réalisation, le vecteur comprend un promoteur inductible qui régule l'expression de l'ARN ou du composant de (b). Alternativement, le vecteur comprend un promoteur répressible qui régule l'expression de l'ARN ou du composant de (b).
- [0214] Dans un mode de réalisation, le vecteur comprend un promoteur répressible qui régule l'expression de la nucléase de (a). Dans un mode de réalisation, le vecteur comprend un promoteur inductible qui régule l'expression de l'ARN ou du composant de (b). Alternativement, le vecteur comprend un promoteur répressible qui régule l'expression de l'ARN ou du composant de (b).
- [0215] Optionnellement, la nucléase guidée est une nucléase Cas, TALEN, une méga-nucléase ou une nucléase à doigt de zinc, de préférence une nucléase Cas. Par exemple, la nucléase guidée est une Cas3. Par exemple, la nucléase guidée est une Cas9. Par exemple, la nucléase guidée est une Cas12 (par exemple Cas12a). Par exemple, la nucléase guidée est une Cas13 (par exemple Cas13a).
- [0216] La nucléase dans la Quatrième Configuration est la même nucléase guidée que dans la Première Configuration.
- [0217] La nucléase dans la Quatrième Configuration est utilisable pour couper le chromosome ou l'épisome dans la cellule porteuse en un motif de séquence prédéterminé, optionnellement une séquence de protoespaceur ou un site de restriction. Préférentiellement, la coupe du chromosome ou de l'épisome de la cellule porteuse tue la cellule porteuse ou réduisant la croissance ou la prolifération de la cellule porteuse, la cellule étant le plus préférentiellement tuée. Ceci est utile pour réduire la transmission de l'acide nucléique du vecteur, tel que lorsqu'un microbiote ou un environnement a été exposé au vecteur. Cela fournit une manière utile de réguler l'expression de produits issus du vecteur, tel que l'expression dans les cellules réceptrices dans lesquelles l'acide nucléique du vecteur a été transféré.
- [0218] Dans un exemple, le vecteur comprenant une oriT pour le transfert dans la cellule hôte, le vecteur étant optionnellement un plasmide conjugatif.
- [0219] Dans un mode de réalisation préféré

- [0220] a) le vecteur est un plasmide conjugatif ;
- [0221] b) le vecteur comprend un promoteur inductible qui régule l'expression de la nucléase de (a) et/ou le vecteur comprend un promoteur inductible qui régule l'expression de l'ARN ou du composant ;
- [0222] c) optionnellement la nucléase guidée est une nucléase Cas ; et
- [0223] la coupe du chromosome ou de l'épisode de la cellule porteuse tue la cellule porteuse ou réduit la croissance ou la prolifération de la cellule porteuse.
- [0224] Selon la Quatrième Configuration, il est prévu :
- [0225] Un vecteur d'acide nucléique pour transfert dans une cellule hôte d'un microbiote, le vecteur étant compris par une cellule porteuse (par exemple une cellule bactérienne) et code pour
- [0226] a) une nucléase (optionnellement une nucléase guidée par ARN ou une endonucléase de restriction) qui est exploitable dans la cellule porteuse pour couper un chromosome ou un épisode (qui n'est pas le vecteur) de la cellule porteuse, le chromosome ou l'épisode étant optionnellement dégradé ; et/ou
- [0227] b) un ARN qui est exploitable dans la cellule porteuse pour guider une nucléase guidée par ARN ou un précurseur d'un tel ARN, l'ARN guidant la nucléase pour couper un chromosome ou un épisode (qui n'est pas le vecteur) de la cellule porteuse, le chromosome ou l'épisode étant optionnellement dégradé ;
- [0228] le vecteur comprenant un ou plus promoteurs régulables pour réguler l'expression de la nucléase de (a) et/ou de l'ARN ou du composant de (b) dans la cellule porteuse ;
- [0229] la coupe du chromosome ou de l'épisode de la cellule porteuse tuant la cellule porteuse ou réduisant la croissance ou la prolifération de la cellule porteuse, la cellule étant préférentiellement tuée.
- [0230] Il est également proposé une pluralité de cellules porteuses comprenant le vecteur. La coupe peut réduire le nombre de cellules porteuses de ladite pluralité d'au moins 10^5 , 10^6 ou 10^7 fois, par exemple entre 10^5 et 10^7 fois, ou entre 10^5 et 10^8 fois ou entre 10^5 et 10^9 fois. La personne du métier sera familière avec la détermination du rapport de mort ou de réduction des cellules, par exemple, au moyen d'un échantillon cellulaire qui est représentatif d'un microbiote ou d'une population cellulaire. Par exemple, le degré de mort ou de réduction est déterminé à l'aide d'un échantillon cellulaire, par exemple d'un échantillon obtenu à partir d'un sujet auquel les cellules porteuses de l'invention ont été administrée, ou d'un échantillon environnemental (par exemple aqueux, d'eau ou un échantillon de sol) obtenu à partir d'un environnement (par exemple une source d'eau, un cours d'eau ou un champ) qui a été mis en contact avec les cellules porteuses de l'invention. Par exemple, la coupe réduit le nombre de cellules porteuses de ladite pluralité d'au moins 10^5 , 10^6 ou 10^7 fois et optionnellement la pluralité comprend au moins 100.000 ; 1.000.000 ; ou 10.000.000 de cellules porteuses respectivement. Op-

tionnellement, la pluralité de cellules porteuses est incluse dans une population cellulaire du microbiote, au moins 5, 6 ou 7 log10 de cellules de la population étant tuées par la coupe, et optionnellement la pluralité comprend au moins 100.000 ; 1.000.000 ; ou 10.000.000 de cellules porteuses respectivement. Optionnellement, la coupe tue au moins 99 %, 99,9 %, 99,99 %, 99,999 %, 99,9999 % ou 99,99999 % des cellules de ladite pluralité de cellules porteuses.

- [0231] L'invention concerne un procédé de mise à mort d'une pluralité de cellules porteuses comprises par un microbiote, les cellules porteuses comprenant des vecteurs de la Quatrième Configuration, le procédé comprenant la régulation à la hausse de l'expression de la nucléase de (a) et/ou de l'ARN ou du composant de (b) dans les cellules porteuses (par exemple en induisant le(s) promoteur(s) régulable(s)), moyennant quoi les génomes des cellules porteuses sont coupés et les cellules sont tuées. De préférence, des chromosomes des cellules sont coupés. Le procédé tue optionnellement au moins 99 %, 99,9 %, 99,99 %, 99,999 %, 99,9999 % ou 99,99999 % des cellules de ladite pluralité de cellules porteuses. Dans un exemple, le procédé tue toutes (ou pratiquement toutes) les cellules de ladite pluralité de cellules porteuses. Dans un exemple, le procédé est tue 100 % (ou environ 100 %) de la pluralité de cellules porteuses. De préférence, toutes les cellules porteuses comprises par le microbiote sont des cellules de ladite pluralité.
- [0232] De préférence, au moins 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ou 99 % des cellules porteuses sont tuées.
- [0233] Un plasmide conjugatif mentionné ici peut être un plasmide autoconjugatif (c-à-d le plasmide comprenant une *oriT* et code pour toutes les protéines requises pour mobiliser le plasmide pour le transfert conjugatif entre les cellules).
- [0234] Pour toute Configuration mentionnée ici, la cellule hôte (par exemple cellule donneuse, porteuse ou réceptrice) est une cellule d'une espèce trouvée dans un microbiote (par exemple le microbiote intestinal) d'humains ou d'animaux. Dans un exemple préféré, l'espèce est une espèce de *Bacteroides*. Dans un exemple préféré, l'espèce est *E coli*. La cellule hôte peut être une cellule d'une espèce cellulaire bactérienne commensale ou probiotique d'un microbiote humain ou animal. Par exemple, l'espèce est sélectionnée parmi n'importe quelle espèce du **Tableau 1**, de préférence une espèce de *Bacteroides* (par exemple *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides uniformis* ou *Bacteroides ovatus*) ou une espèce de *Clostridiales* (par exemple *Clostridioides difficile* ou *Clostridium disporicum*).
- [0235] Dans un mode de réalisation,
- [0236] a) P1 est une protéine ou un ARN (par exemple un ARN de silençage) pour la thérapie humaine ou animale ; et
- [0237] b) P2 comprend (i) un ARNcr (par exemple compris par un ARN simple guide) qui

est utilisable dans la cellule hôte pour guider une nucléase Cas pour se lier à une séquence de protoespaceur comprise par l'acide nucléique pour couper le protoespaceur, l'acide nucléique étant optionnellement dégradé, régulant ainsi à la baisse l'expression de P1, ou (ii) un précurseur d'un tel ARNcr (par exemple un pré-ARNc).

- [0238] La thérapie humaine ou animale mentionnée ici peut être un traitement ou une prophylaxie d'une maladie ou d'une affection chez l'humain ou l'animal.
- [0239] Pour toute Configuration mentionnée ici, un ARNcr peut être compris par un ARN guide, tel qu'un ARN simple guide. Par exemple, l'ARN simple guide comprend un ARNcr et un ARNtracr qui sont utilisables dans la cellule réceptrice et/ou porteuse (donneuse) avec une Cas9 pour couper une séquence d'acide nucléique cible apparentée.
- [0240] L'invention propose :
- [0241] Un vecteur selon l'une quelconque des Configurations mentionnées ici pour une utilisation en tant que médicament.
- [0242] Le médicament peut être destiné au traitement ou à la prévention d'une maladie chez un sujet humain ou animal, par exemple lorsqu'il est compris par une formulation pour une administration orale au sujet.
- [0243] Une composition pharmaceutique comprenant un vecteur selon l'une quelconque des Configurations mentionnées ici et un support, diluant ou excipient pharmaceutiquement acceptable, optionnellement un antiacide.
- [0244] Un(e) comprimé, suppositoire, pilule, capsule ou formulation liquide pour administration dans le tractus gastro-intestinal d'un sujet humain ou animal, dans lequel la formulation sous forme de comprimé, suppositoire, pilule, capsule ou formulation liquide comprend un vecteur ou une cellule selon l'une quelconque des Configurations mentionnées ici.
- [0245] Optionnellement, le comprimé, la pilule ou la capsule comprend un enrobage entérique. Optionnellement, le comprimé, la pilule, la capsule ou la formulation liquide est destiné à être utilisé en tant que médicament administré par voie orale.
- [0246] Dans un exemple, la composition, le comprimé, le suppositoire, la pilule, la capsule ou la formulation mentionné(e) ici comprend un médicament sélectionné parmi les médicaments listés dans le **Tableau 3**.
- [0247] L'invention propose :
- [0248] Procédé de régulation temporelle de la production d'un produit d'expression chez un sujet humain ou animal, le procédé comprenant
- [0249] a) l'administration à un microbiote (par exemple un microbiote intestinal) du sujet un vecteur comprenant un acide nucléique, le microbiote comprenant une cellule hôte (par exemple une cellule bactérienne) et l'acide nucléique codant pour un produit d'intérêt (P1) ; l'administration étant optionnellement une administration orale ou topique ;

- [0250] b) la permission du transfert de l'acide nucléique jusque dans la cellule hôte que comprend le microbiote et l'expression de P1 dans la cellule hôte ;
- [0251] c) après l'étape (b), l'exposition du microbiote à un agent régulateur (R) qui régule à la hausse la production d'un complexe nucléase guidée par ARN/ARN guide dans la cellule hôte qui est capable de cibler un protoespaceur compris par l'acide nucléique, la nucléase coupant l'acide nucléique et l'expression de P1 étant rendue non fonctionnelle (par exemple par dégradation de l'acide nucléique coupé dans la cellule), la nucléase (ou un composant de celle-ci) et/ou l'ARN (ou un composant de celui-ci) étant codé par l'acide nucléique.
- [0252] L'invention propose :
- [0253] Un procédé de régulation temporelle de la production d'un produit d'expression chez un sujet humain ou animal, le procédé comprenant
- [0254] a) l'administration à un microbiote (par exemple un microbiote intestinal) du sujet un(e) vecteur, composition, comprimé, suppositoire, pilule, capsule ou formulation liquide tel(s) que décrit ici; l'administration étant optionnellement une administration orale ou topique ;
- [0255] b) la permission du transfert de l'acide nucléique jusque dans une cellule hôte que comprend le microbiote et l'expression de P1 dans la cellule hôte ; et
- [0256] c) après l'étape (b), l'exposition du microbiote à R (par exemple par administration de R au sujet), R régulant le deuxième promoteur, régulant ainsi l'expression de P2 et P1.
- [0257] L'étape (b) peut avoir lieu pendant une durée souhaitée entre les instants T1 et T2. Par exemple, pour l'un quelconque des procédés, l'étape (a) du procédé est démarrée à un premier instant (T1) et l'étape (c) à un deuxième instant (T2). Optionnellement, T2 est au moins égal à 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 ou 24 heures, ou 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ou 14 jours, ou 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 semaines après T1. De préférence, T2 est au moins 0,5 heure après T1. De préférence, T2 est au moins 1 heure après T1. De préférence, T2 est au moins 1 semaine après T1. De préférence, T2 est au moins 1 mois après T1. De préférence, T2 est au moins 2 mois après T1. De préférence, T2 est au moins 3 mois après T1. De préférence, T2 est au moins 3 mois après T1. De préférence, T2 est au moins 4 mois après T1. De préférence, T2 est au moins 5 mois après T1. De préférence, T2 est au moins 6 mois après T1. De préférence, T2 est au moins 12 mois après T1. De préférence, T2 est au moins 18 mois après T1. Par exemple, T2 est de 1-6 (par exemple 1, 2, 3, 4, 5 ou 6) mois après T1. Par exemple, T2 est de 1 à 8 semaines après T1. Ainsi, de cette manière, le procédé est une méthode de régulation temporelle de l'expression.
- [0258] Il est proposé :

- [0259] Un procédé de
- [0260] i. traitement ou prévention d'une maladie ou d'une affection chez un sujet humain ou animal en régulant temporellement la production de P1 selon le procédé de l'invention ; ou
- [0261] ii. modification d'un microbiote (par exemple un microbiote intestinal) d'un sujet humain ou animal en régulant temporellement la production de P1 selon le procédé de l'invention.
- [0262] Par exemple, il est fourni un procédé de modification d'un métabolome d'un sujet humain ou animal en mettant en œuvre le procédé de l'invention. Par exemple, l'expression de P1 provoque la sécrétion ou la séquestration d'un ou plus métabolite(s) chez le sujet (par exemple dans la cible ou cellule comprenant l'acide nucléique du vecteur). Par exemple, l'expression de P1 provoque l'altération d'une voie de manière intracellulaire dans le microbiote du sujet (par exemple dans la cellule cible) pour provoquer le métabolisme du composé (par exemple pour produire un puits de tryptophane, comme dans lequel le tryptophane est utilisé dans le microbiote (par exemple dans la cellule cible) pour la production de ligands AhR (de l'anglais « Aryl Hydrocarbon Receptor », soit « Récepteur d'Aryl Hydrocarbure »)). Par exemple, l'expression de P1 provoque la métabolisation ou la modification d'un produit chimique, tel qu'un médicament thérapeutique, dans le microbiote. P1 peut occasionner une telle « provocation » puisqu'il s'agit d'un composant d'une voie métabolique dans le microbiote (par exemple dans la cellule cible), comme dans laquelle P1 est une protéine, tel qu'une enzyme.
- [0263] La maladie ou l'affection peut être n'importe quelle maladie ou affection décrite ici. Le microbiote d'un humain ou d'un animal peut être n'importe quel microbiote décrit ici.
- [0264] L'administration de l'étape (a) peut être orale, topique (par exemple par application sur la peau), buccale, rectale, vaginale, parentérale, intraveineuse, intramusculaire, inhalée, sous-cutanée, oculaire ou intranasale. De préférence, une administration orale est utilisée. De préférence, une administration topique est utilisée.
- [0265] Dans un exemple, le vecteur est composé d'un Transplat Microbien Fécal (FMT). L'administration à l'étape (a) peut être par administration rectale d'un lavement ou FMT comprenant le vecteur.
- [0266] A l'étape (b), le vecteur (par exemple un plasmide) comprenant l'acide nucléique peut être transféré.
- [0267] P1 peut être un produit d'expression thérapeutiquement ou prophylactiquement utile chez le sujet.
- [0268] Dans un mode de réalisation, P1 exprimé à partir de l'acide nucléique étant, à l'étape (c), l'agent régulateur (R) ou est un composant d'une voie qui produit R, moyennant

quoi une boucle de rétroaction d'expression P1 régule négativement davantage l'expression de P1. Par exemple, P1 est une enzyme de voie métabolique. Par exemple, P1 est une enzyme intracellulaire dans la cellule cible. Par exemple, P1 est une enzyme sécrétée (par exemple sécrétée par la cellule cible). Dans un exemple, l'expression de P1 provoque la production (par exemple dans le microbiote, par exemple dans la cellule cible) de R.

- [0269] Une voie telle que mentionnée ici peut être dans la cellule cible ou elle peut être à l'extérieur de la cellule cible. Par exemple, la voie est une voie à l'intérieur d'une cellule différente que comprend le microbiote dont la cellule cible est un composant. La cellule différente peut être une cellule porteuse (c'est-à-dire une cellule donneuse) ou elle peut être une cellule endogène du microbiote (c-à-d toute cellule du microbiome à l'exception de la cellule cible ou de la cellule porteuse).
- [0270] Dans un exemple, R régule à la hausse le deuxième promoteur à l'étape (c) et P2 régule à la baisse l'expression de P1 ; et la régulation positive du deuxième promoteur provoquant optionnellement la production d'une nucléase guidée ou d'une endonucléase de restriction qui coupe l'acide nucléique dans la cellule hôte, l'acide nucléique étant dégradé, régulant ainsi à la baisse l'expression de P1.
- [0271] Dans un exemple, P2 est capable de réguler à la hausse l'expression de P1 dans la cellule hôte, R régulant à la baisse le deuxième promoteur à l'étape (c) moyennant quoi l'expression de P1 est régulée à la baisse.
- [0272] La régulation à la baisse de P1 à l'étape (c) peut être d'au moins 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ou 95 % par rapport à l'expression de P1 à l'étape (b). Par exemple, la régulation à la baisse de P1 à l'étape (c) peut être une expression de P1 pendant une période (PD1) en présence de R qui est d'au moins 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, ou 95 % moindre par rapport à l'expression de P1 à l'étape (b) pendant une période (PD2), PD1 et PD2 étant de la même durée. Par exemple, PD1 et PD2 correspondent chacun à 1 minute, 1 heure, 1 jour, 1 semaine, 1 mois, 6 mois ou 12 mois. L'expression de P1 peut être déterminée aux étapes (b) et (c) en évaluant une expression de P1 dans un échantillon du microbiote prélevé au cours des étapes (b) et (c) respectivement. Par exemple, lorsque le microbiote est un microbiote intestinal d'un sujet humain ou animal, chaque échantillon peut être un échantillon fécal du sujet.
- [0273] Toute régulation à la hausse de l'expression de P1 peut être une augmentation de P1 d'au moins 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ou 95 %, par rapport à l'expression de P1 immédiatement avant l'étape (b). Toute régulation à la baisse de l'expression de P1 peut être une diminution de P1 d'au moins 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ou 95 %, par rapport à l'expression de P1 immédiatement avant l'étape (b).
- [0274] Toute régulation à la hausse de l'expression de P2 peut être une augmentation de P2 d'au moins 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ou 95 %, par rapport à l'expression de P2

immédiatement avant l'étape (c). Toute régulation à la baisse de l'expression de P2 peut être une diminution de P2 d'au moins 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ou 95 %, par rapport à l'expression de P2 immédiatement avant l'étape (c). Le vecteur, la composition, le comprimé, le suppositoire, la pilule, la capsule ou la formulation liquide mentionné(e) ici peut être destiné(e) à une utilisation dans le procédé mentionné ici, tel que dans laquelle le vecteur, la composition, le suppositoire, la pilule, la capsule ou la formulation est administré(e) au sujet par administration orale ou topique.

- [0275] Les cellules hôtes, porteuses et/ou cibles peuvent être des cellules bactériennes. En variante, à la place de cellules bactériennes, les cellules hôtes, porteuses et/ou cibles peuvent être des archées.
- [0276] Dans un exemple, le procédé modifie le génome de la cellule, par exemple modifie un chromosome ou un épisode (par exemple un plasmide) de la cellule hôte. Par exemple, suite au transfert de l'acide nucléique du vecteur dans la cellule hôte, une copie de NS1 est insérée dans un chromosome ou épisode de la cellule hôte. Dans un exemple, l'expression d'une nucléase (par exemple P2 ou une nucléase qui est utilisable avec P2, tel que P2 comprenant l'ARN guide) conduit à la coupe de la NS1 dans le chromosome ou l'épisode et optionnellement à la mort de la cellule hôte.
- [0277] La cellule porteuse et la cellule cible peuvent être des cellules du même ordre, de la même famille ou du même genre, comme indiqué dans les Exemples.
- [0278] De préférence, l'agent comprend un système CRISPR/Cas ou un composant de celui-ci. L'agent peut être un ARNcr ou un ARN guide qui guide une nucléase Cas dans la cellule cible vers une séquence de protoespaceur cible, la Cas coupant la séquence cible et la cellule cible étant tuée. Par exemple, le plasmide peut coder pour une pluralité d'ARNcr ou d'ARN guides différents, tels qu'un premier ARNcr ou ARNg qui comprend une séquence d'espaceur capable de guider une Cas dans la cellule cible jusqu'à une première séquence de protoespaceur et un deuxième ARNc ou ARNg qui comprend une séquence d'espaceur qui est capable de guider une Cas dans la cellule cible jusqu'à une deuxième séquence de protoespaceur, les séquences de protoespaceurs étant différentes (par exemple différentes séquences chromosomiques de la cellule cible). Chaque protoespaceur peut être compris par un gène essentiel, un gène de virulence ou un gène de résistance aux antibiotiques du génome de la cellule cible. Chaque séquence de protoespaceur peut être d'une longueur de 10 à 60 nucléotides, par exemple de 15 à 50, 15 à 40, 15 à 30 ou 15 à 20 nucléotides de longueur. La séquence cible peut être une séquence chromosomique de la cellule cible. La séquence cible peut être une séquence épisomique de la cellule cible. Le plasmide peut coder pour une ou ladite nucléase Cas, optionnellement une Cas9, Cas3 ou Cpf1.
- [0279] Par exemple, la cellule cible est comprise par un microbiote végétal. La cellule porteuse peut être une cellule de *Pseudomonas*, optionnellement une cellule de *P*

fluorescens. Optionnellement, les cellules porteuses et cibles sont des cellules du même genre ou espèce, optionnellement toutes deux sont des cellules de *Pseudomonas*. Par exemple, la cellule cible est une cellule de *P. syringae* ou *aeruginosa* et la porteuse est une cellule de *Pseudomonas* (par exemple *P. fluorescens*).

- [0280] De préférence, les cellules porteuses sont d'une souche ou espèce qui n'est pas pathogène pour un organisme (par exemple une plante, un animal ou un humain) qui comprend les cellules cibles. Les cellules porteuses peuvent être d'une souche ou espèce qui est symbiotique ou probiotique pour un organisme (par exemple un(e) plante, animal ou humain) qui comprend les cellules cibles, par exemple probiotique ou symbiotique dans l'intestin de l'organisme.
- [0281] Par exemple, la cellule cible est comprise par un microbiote végétal. Dans un exemple, la cellule porteuse comprend une exoenzyme Chitinase de classe I et/ou le génome de la cellule porteuse code pour une exoenzyme Chitinase de classe I. Optionnellement, la cellule porteuse dans cet exemple est une cellule de *Pseudomonas*, par exemple *P. fluorescens*. Dans un exemple, la cellule porteuse comprend un gène *pepI*. Optionnellement, la cellule porteuse dans cet exemple est une cellule de *Pseudomonas*, par exemple *P. fluorescens*.
- [0282] Dans un exemple, la cellule porteuse est une cellule bactérienne mobile. Optionnellement, la la cellule cible est comprise par un microbiote de plante et la cellule porteuse dans cet exemple est une cellule de *Pseudomonas*, par exemple *P. fluorescens*.
- [0283] Par exemple, chaque cellule cible est une cellule à phase de latence (en anglais « lag phase»), une cellule à phase exponentielle ou une cellule à phase stationnaire. Par exemple, chaque cellule porteuse est une cellule à phase de latence (en anglais « lag phase»), une cellule à phase exponentielle ou une cellule à phase stationnaire.
- [0284] Par exemple, la cellule cible est comprise par un microbiote végétal. Optionnellement, la cellule cible est une cellule de *Pseudomonas* (optionnellement *P. fluorescens* ou *P. aeruginosa*), *Erwinia* (optionnellement *E. carotovora*), *Xanthomonas*, *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Clavibacterium*, *Enterobacteria*, *Pantoea*, *Pectobacterium* (par exemple *P. atrosepticum*), *Rhizobium*, *Streptomyces* (par exemple *S. scabies*), *Xylella* (par exemple *X. fastidiosa*), *Candidatus* (par exemple *C. liberibacter*), *Phytoplasma*, *Ralstonia* (par exemple *R. solanacearum*) ou *Dickeya* (par exemple *D. dadantii*).
- [0285] Chaque cellule cible (par exemple la pluralité de cellules cibles) peut être une cellule d'un genre ou d'une espèce divulguée dans le **Tableau 1 ou 2**. Chaque cellule cible (par exemple la pluralité de cellules cibles) peut être comprise par une plante ou un environnement végétal (tel que le sol) et sélectionnée parmi un genre ou une espèce divulgué dans le **Tableau 1**. Chaque cellule porteuse (par exemple la pluralité de cellules porteuses) peut être une cellule d'un genre ou d'une espèce divulgué dans le

Tableau 1 ou 2.

- [0286] Le procédé peut être mis en œuvre ex vivo ou in vitro.
- [0287] La cellule cible peut être comprise par
- [0288] (a) un microbiote végétal (par exemple un microbiote de toute partie de plante divulguée ici),
- [0289] (b) un microbiote animal ou humain (par exemple un microbiote de tout organe ou tissu ou partie humain(e) ou animal(e) divulgué(e) ici) ; ou
- [0290] (c) un microbiote du sol, de fumier, d'aliments ou de boissons.
- [0291] Par exemple, la cellule cible est comprise par un microbiote de feuille, tige, racine, graine, bulbe, fleur ou fruit de plante.
- [0292] Optionnellement, un microbiote mentionné ici est un microbiote intestinal, pulmonaire, rénal, urétral, vésical, sanguin, vaginal, oculaire, de l'oreille, nasal, pénien, intestinal, du foie, du cœur, de la langue, des cheveux ou cutané.
- [0293] Par exemple, la cellule cible est une cellule d'une espèce que l'on trouve dans le sol.
- [0294] Le procédé peut être mis en œuvre en utilisant une première population cellulaire comprenant une pluralité de cellules porteuses qui sont mises en contact avec une deuxième population cellulaire comprenant une pluralité de cellules cibles, des copies dudit plasmide étant transférées conjugativement depuis des cellules porteuses jusque dans des cellules cibles, moyennant quoi certaines ou toutes les cellules de la deuxième population sont tuées ou une croissance ou prolifération des cellules de la deuxième population est inhibée (par exemple d'au moins 50, 60, 70, 80, 90 ou 95 %, tel qu'après 5 ou 10 heures ou 1 jour après le démarrage du procédé). De préférence, les cellules de la deuxième population sont tuées.
- [0295] Optionnellement, le procédé des Deuxième et Troisième Configurations est mis en œuvre sur une pluralité de cellules cibles que comprend le microbiote en exposant la pluralité de cellules cibles à une pluralité de vecteurs (par exemple une pluralité de copies d'un vecteur comprenant NS1 et NS2 ; ou une pluralité de copies d'un premier vecteur comprenant NS1 avec une pluralité de copies d'un deuxième vecteur comprenant NS2). Le procédé modifie optionnellement au moins 99 %, 99,9 %, 99,99 %, 99,999 %, 99,9999 % ou 99,99999 % des cellules de ladite pluralité de cellules cibles de sorte qu'elles sont capables d'exprimer P1. Dans un exemple, le procédé est mis en œuvre sur une population (ou sur ladite pluralité) desdites cellules cibles et le procédé modifie toutes (ou essentiellement toutes) les cellules de ladite population (ou de ladite pluralité). Dans un exemple, le procédé est mis en œuvre sur une population (ou sur ladite pluralité) desdites cellules cibles et le procédé modifie 100 % (ou environ 100 %) des cellules de ladite population (ou de la pluralité).
- [0296] De préférence, au moins 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ou 99 % des cellules cibles sont modifiées.

- [0297] Optionnellement, les cellules cibles sont des cellules de *Pseudomonas* (par exemple *P. syringae*), les cellules étant par exemple comprises par une plante agricole, telle qu'un plant de tomate. Par exemple, la biomasse de feuilles, fruits, épis, graines, grains, têtes, gousses, tiges, troncs, tubercules et/ou racines est augmentée par le procédé. Par exemple, la biomasse sèche de feuilles ou fruits, la biomasse humide de feuilles ou fruits ou le nombre de fleurs est augmenté(e) par le procédé, l'expression de P1 étant par exemple bénéfique pour la santé ou la croissance de la plante. Par exemple, la biomasse moyenne ou le nombre est augmenté sur une pluralité de plantes sur lesquelles le procédé de l'invention a été exercé.
- [0298] Une augmentation de la biomasse (par exemple biomasse moyenne ou en nombre) peut être une augmentation d'au moins 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 ou 50 % par rapport à la biomasse d'une/de plante(s) qui n'ont pas été exposées aux bactéries porteuses, mais qui comprennent les bactéries cibles. Les augmentations de la biomasse végétale peuvent être déterminées en mesurant le poids de la matière récoltée (par exemple fruits, céréales, canne, feuilles, tubercules, noix ou graines) par zone récoltée et en comparant la mesure de la matière récoltée à partir de plantes qui ont été traitées conformément à l'invention par rapport à la même surface de matériau récolté à partir de plantes de la même espèce et de la même souche cultivées qui n'ont pas été traitées conformément à l'invention, où toutes les plantes sont cultivées dans les mêmes conditions, par exemple dans le même champ. Dans certains systèmes, des unités de volume, comme les boisseaux, sont utilisées à la place des unités de poids.
- [0299] Dans un aspect, le procédé est un procédé pour favoriser la croissance d'une plante ou la germination d'une graine de plante, le procédé étant mis en oeuvre en utilisant une première population cellulaire comprenant une pluralité de cellules porteuses qui sont mises en contact avec une deuxième population cellulaire comprenant une pluralité de cellules cibles, des copies dudit acide nucléique étant transférées depuis des cellules porteuses jusque dans des cellules cibles, moyennant quoi certaines ou toutes les cellules de la deuxième population sont modifiées pour exprimer P1, la graine comprenant lesdites cellules cibles et ladite croissance ou germination étant favorisée.
- [0300] La promotion de la germination peut être la réduction du délai jusqu'à l'apparition de la germination et/ou la réduction de la durée de la germination. La promotion de la germination peut être l'augmentation du pourcentage (par exemple d'au moins 5, 10, 15 ou 20 %) de germination de graines comprises par une pluralité de graines qui sont exposées aux cellules porteuses dans le procédé.
- [0301] Chaque graine peut comprendre des cellules cibles sur la surface de la graine.
- [0302] Une augmentation de la germination (par exemple germination moyenne) dans une pluralité de graines exposées aux cellules porteuses dans le procédé peut être obtenue,

qui est une augmentation d'au moins 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 ou 50 % par rapport à la germination de graines qui n'ont pas été exposées aux cellules porteuses, mais dont les graines comprennent les bactéries cibles.

[0303] Le procédé peut être utile pour traiter des jeunes plants pré-émergents ayant des agents pathogènes présents qui interrompent une germination réussie. Chaque jeune plant peut comprendre des cellules cibles sur des feuilles et/ou tiges du jeune plant.

[0304] Une augmentation de la croissance (par exemple croissance moyenne) dans une pluralité de jeunes plants exposés aux cellules porteuses dans le procédé peut être obtenue, qui est une augmentation d'au moins 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 ou 50 % par rapport à la croissance de jeunes plants qui n'ont pas été exposés aux cellules porteuses, mais dont les jeunes plants comprennent les bactéries cibles.

[0305] Dans un aspect, le procédé est un procédé d'augmentation de la production de chlorophylle foliaire (par exemple la chlorophylle a et/ou b) dans une plante, le procédé étant mis en œuvre en utilisant une première population cellulaire comprenant une pluralité de cellules porteuses qui sont mises en contact avec une deuxième population cellulaire comprenant une pluralité de cellules cibles, des copies dudit acide nucléique étant transférées depuis des cellules porteuses jusque dans les cellules cibles, moyennant quoi certaines ou toutes les cellules de la deuxième population sont modifiées pour exprimer P1, la plante comprenant lesdites cellules cibles (optionnellement sur des feuilles et/ou des tiges de celle-ci, ou comprises par l'apoplaste de la plante), moyennant quoi des cellules cibles sont modifiées et la chlorophylle est augmentée dans la plante. La mesure de la chlorophylle peut être mesurée par exemple par spectrophotométrie, chromatographie liquide à haute performance (HPLC, de l'anglais « high performance liquid chromatography ») ou fluorométrie.

[0306] Dans un aspect, le procédé est un procédé de modification de cellules cibles comprises par un biofilm, le biofilm étant compris par un sujet ou compris sur une surface, le biofilm comprenant des cellules cibles, le procédé étant mis en œuvre en utilisant une première population cellulaire comprenant une pluralité de cellules porteuses qui sont mises en contact avec une deuxième population de cellules comprenant une pluralité de cellules cibles, des copies dudit acide nucléique étant transférées depuis des cellules porteuses jusque dans les cellules cibles, modifiant ainsi les cellules cibles dans le biofilm pour exprimer P1, le procédé étant optionnellement mis en œuvre ex vivo ou in vitro.

[0307] Le sujet peut être un humain ou un animal, optionnellement la surface étant une surface pulmonaire.

[0308] Le sujet peut être une plante, le biofilm étant optionnellement compris par un/une feuille, tronc, racine ou tige de la plante.

[0309] La surface peut être comprise par un appareil ou récipient domestique ou industriel,

par exemple une cuve de fermentation.

[0310] Il est en outre proposé :-

[0311] Une cellule bactérienne porteuse (par exemple destinée à une utilisation dans un procédé selon l'invention) pour administration à un microbiote comprenant une cellule cible, la cellule porteuse comprenant un plasmide conjugatif, le plasmide étant un vecteur de l'invention, la cellule porteuse étant capable de se conjuguer à la cellule cible, le plasmide étant transféré jusque dans la cellule cible pour modifier la cellule cible afin qu'elle exprime P1.

[0312] La cellule porteuse peut être n'importe quelle cellule porteuse ou cellule porteuse divulguée ici. La cellule cible peut être n'importe quelle cellule porteuse ou cellule cible divulguée ici.

[0313] Il est proposé :-

[0314] Une cellule porteuse (par exemple une cellule bactérienne) comprenant un vecteur selon l'invention. L'invention propose également une pluralité de telles cellules porteuses (par exemple les cellules étant génétiquement identiques ou toutes les cellules codant pour le même P1). Dans une alternative, les cellules de la pluralité codent pour des protéines P1 différentes.

[0315] Une composition pharmaceutique comprenant une pluralité de cellules porteuses de l'invention pour une administration à un sujet humain ou animal pour modifier une pluralité de cellules cibles bactériennes comprises par le sujet pour exprimer P1, des vecteurs de l'invention (par exemple des plasmides conjugatifs) codant pour P1 étant capables d'être introduits à partir de cellules porteuses jusque dans des cellules cibles (par exemple par conjugaison) et P1 étant produit dans des cellules cibles.

[0316] De préférence, au moins 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ou 99 % des cellules cibles sont modifiées ainsi.

[0317] La pluralité de cellules cibles peut comprendre au moins 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} ou 10^{12} cellules cibles. Par exemple, la pluralité de cellules cibles est comprise par un microbiote intestinal, sanguin, pulmonaire, de la cavité buccale, hépatique, rénal, de la vessie, de l'urètre ou cutané du sujet.

[0318] Il est proposé :-

[0319] Un procédé de traitement ou de prévention d'une maladie ou d'une affection chez un sujet, le procédé comprenant la mise en contact du sujet (par exemple un microbiote intestinal où le sujet est un humain ou un animal) avec une composition comprenant une pluralité de cellules porteuses de l'invention, des vecteurs de l'invention (par exemple des plasmides conjugatifs) codant pour P1 étant introduits à partir de cellules porteuses jusque dans des cellules cibles (par exemple par conjugaison) et P1 étant produit dans des cellules cibles, moyennant quoi la maladie ou l'affection est traitée ou prévenue.

- [0320] Utilisation d'une pluralité de cellules porteuses de l'invention dans la fabrication d'une composition destinée à une administration à un sujet ou environnement (par exemple le sol), pour modifier des cellules cibles bactériennes comprises par le sujet ou l'environnement pour exprimer P1, les cellules cibles étant mises en contact avec les cellules porteuses et des vecteurs de l'invention (par exemple des plasmides conjugatifs) codant pour P1 étant introduits à partir de cellules porteuses dans des cellules cibles (par exemple par conjugaison) et P1 étant produit dans des cellules cibles.
- [0321] Par exemple, le sujet est un humain ou un animal. Par exemple, le sujet est un mammifère. Par exemple, le sujet est un oiseau, un poisson, un protozoaire ou un insecte. Par exemple, l'animal est un animal d'élevage. Par exemple, l'animal est un chien, un chat, un cheval, une vache, un mouton ou un cochon.
- [0322] Par exemple, le sujet est une plante et optionnellement le procédé comprend la mise en contact de la plante (par exemple une ou plus tige(s) et/ou une ou plus feuille(s) de la plante, ou l'apoplaste de la plante) avec la composition comprenant une pluralité de cellules porteuses.
- [0323] Il est proposé :
- [0324] Utilisation d'une cellule porteuse de l'invention dans la fabrication d'une composition, pour modifier une cellule cible bactérienne ex vivo ou dans laquelle la cellule cible n'est pas comprise par un humain ou un animal (par exemple la cellule cible est comprise par une plante ou sol ou échantillon de microbiote humain ex vivo), la cellule cible étant mise en contact avec la cellule porteuse et la cellule porteuse se conjuguant à la cellule cible, moyennant quoi l'acide nucléique du vecteur est introduit jusque dans la cellule cible, P1 étant exprimé dans la cellule cible.
- [0325] Par exemple, chaque vecteur est un plasmide conjugatif, la cellule porteuse se conjuguant (ou étant capable de se conjuguer) avec la cellule cible et transférant le plasmide jusque dans la cellule cible par conjugaison. Optionnellement, le plasmide comprend une origine ou transer (oriT) et des gènes pour autoconjugaison, moyennant quoi le plasmide est capable d'un transfert conjugatif depuis la cellule cible jusqu'à une autre cellule (la cellule cible et d'autres cellules sont par exemple comprises par un microbiote).
- [0326] Optionnellement, l'utilisation comprend l'utilisation d'une pluralité desdites cellules porteuses pour modifier une pluralité desdites cellules cibles, les cellules cibles étant comprises par une plante ou un environnement végétal (par exemple le sol) et la modification
- [0327] a) augmente (ou est destinée à augmenter) la biomasse de la plante ou d'une partie de celle-ci (par exemple la biomasse de feuilles, fruits, épis, graines, grains, têtes, gousses, tiges, troncs, tubercules et/ou racines est augmentée) ;

- [0328] b) soutient (ou est destinée à soutenir) la germination d'une ou plus graine(s) de la plante ;
- [0329] c) augmente (ou est destinée à augmenter) la quantité de chlorophylle foliaire de la plante ; et/ou
- [0330] d) réduit (ou est destinée à réduire) un biofilm compris par la plante, le biofilm comprenant des cellules cibles (par exemple des cellules de *Pseudomonas*).
- [0331] Optionnellement, la cellule cible ou la pluralité de cellules cibles est dans un environnement, par exemple le sol, ou dans un environnement pour la culture de plantes. Par exemple, P1 est un promoteur de croissance végétale (par exemple un engrais).
- [0332] *Exemple de cellules cibles*
- [0333] Par exemple, chaque cellule cible est une cellule de *Bacteriodes*, par exemple que comprend un sujet humain ou animal. Par exemple, chaque cellule cible est une cellule de *Clostridiales*, par exemple que comprend un sujet humain ou animal.
- [0334] Par exemple, chaque cellule cible est une cellule bactérienne à Gram positif (par exemple un *Staphylococcus* (tel que *S aureus*, par exemple *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM)), *Streptococcus pneumoniae*, *Clostridium difficile*, *Enterococcus* spp. ou une cellule de *Listeria monocytogenes*). Par exemple, chaque cellule cible est une cellule bactérienne à Gram négatif (par exemple une cellule d' *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Campylobacter jejuni*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Vibrio cholerae* ou *Salmonella* spp.) Par exemple, chaque cellule cible est une cellule d'un genre ou d'une espèce divulgué dans le présent **Tableau 1** ou dans le présent **Tableau 2**.
- [0335] Il est fait référence au Journal of Plant Pathology (2010), 92 (3), 551-592 *Edizioni ETS Pisa*, 2010 551, LETTER TO THE EDITOR, "COMPREHENSIVE LIST OF NAMES OF PLANT PATHOGENIC BACTERIA, 1980-2007", C.T. Bull et al, pour fournir des exemples de genres, espèces et souches de bactéries importants pour les plantes et qui peuvent être des genres, espèces et souches de cellules cibles de l'invention. Des exemples sont divulgués dans le présent **Tableau 1**.
- [0336] Par exemple, chaque cellule cible est résistante à un antibiotique de type fluoro-quinolone, β -lactamine (par exemple méthicilline), tétracycline ou linézolide. Par exemple, chaque cellule cible est résistante à la vancomycine, la cellule étant par exemple une cellule d'*Enterococcus* résistante à la vancomycine.
- [0337] Par exemple, chaque cellule cible est une cellule d'*Azotobacter*, *Burkholderia*, *Cupriavidus*, *Enterococcus*, *Lysobacter*, *Paucimonas*, *Paraburkholderia*, *Ralstonia*, *Stenotrophomonas*, *Variovorax*, *Xanthomonas* ou *Pseudomonas*, la cellule cible étant par exemple comprise par une plante.
- [0338] Par exemple, chaque cellule cible est une cellule d'*E coli*.

- [0339] Par exemple, chaque cellule cible est une cellule de *Klebsiella*, par exemple dans laquelle la cellule cible est comprise par une plante.
- [0340] Par exemple, chaque cellule cible est une cellule d'*Azotobacter*, *Burkholderia*, *Cupriavidus*, *Lysobacter*, *Paraburkholderia*, *Ralstonia*, *Variovorax*, *Xanthomonas* ou *Pseudomonas*, la cellule cible étant par exemple comprise par une plante.
- [0341] Par exemple, chaque cellule cible est une cellule d'une espèce de *Pseudomonas*, l'espèce étant optionnellement sélectionnée parmi *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas amygdali*, *Pseudomonas asturiensis*, *Pseudomonas avellanae*, *Pseudomonas cerasi*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas coronafaciens*, *Pseudomonas otitidis*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas salegens*, *Pseudomonas savastanoi*, *Pseudomonas syringae* et *Pseudomonas viridiflava*, la cellule cible étant par exemple comprise par une plante.
- [0342] Par exemple, chaque cellule cible est une cellule d'une espèce sélectionnée parmi *Azotobacter chroococcum*, *Azotobacter salinestris*, *Burkholderia ambifaria*, *Burkholderia cenocepacia*, *Burkholderia lata*, *Burkholderia pyrrocinia*, *Cupriavidus basilensis*, *Cupriavidus necator*, *Cupriavidus taiwanensis*, *Lysobacter gummosus*, *Paraburkholderia sprentiae*, *Paraburkholderia terricola*, *Ralstonia pseudosolanacearum*, *Ralstonia solanacearum*, *Variovorax paradoxus*, *Xanthomonas arboricola*, *Xanthomonas axonopodis*, *Xanthomonas campestris*, *Xanthomonas citri*, *Xanthomonas euvesicatoria* et *Xanthomonas perforans*, la cellule cible étant par exemple comprise par une plante.
- [0343] Par exemple, chaque cellule cible est une cellule de *Stenotrophomonas*, *Enterococcus*, *Paucimonas* ou *Pseudomonas*, la cellule cible étant par exemple comprise par une plante.
- [0344] Par exemple, chaque cellule cible est une cellule d'une espèce de *Pseudomonas*, l'espèce étant optionnellement sélectionnée parmi *Pseudomonas amygdali*, *Pseudomonas asturiensis*, *Pseudomonas avellanae*, *Pseudomonas cerasi*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas coronafaciens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas savastanoi*, *Pseudomonas syringae* et *Pseudomonas viridiflava*, la cellule cible étant par exemple comprise par une plante.
- [0345] Par exemple, chaque cellule cible est une cellule d'une espèce sélectionnée parmi *Stenotrophomonas rhizophila*, *Enterococcus faecalis*, *Paucimonas lemoignei*, *Pseudomonas amygdali*, *Pseudomonas asturiensis*, *Pseudomonas avellanae*, *Pseudomonas cerasi*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas coronafaciens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas savastanoi*, *Pseudomonas syringae* et *Pseudomonas viridiflava*, la cellule cible étant par exemple comprise par une plante.
- [0346] Exemple de cellules porteuses

- [0347] Par exemple, la porteuse est une cellule d'*E coli* (par exemple une cellule d'*E coli* K12, Nissle ou S17), par exemple la cellule étant destinée par exemple à une administration à un sujet humain ou animal, tel que pour traiter ou prévenir une maladie ou une affection. Par exemple, chaque cellule porteuse est une cellule de *Bacteroides*, la cellule étant destinée par exemple à une administration à un sujet humain ou animal, tel que pour traiter ou prévenir une maladie ou une affection. Par exemple, chaque cellule porteuse est une cellule de *Clostridiales*, la cellule étant destinée par exemple à une administration à un sujet humain ou animal, tel que pour traiter ou prévenir une maladie ou une affection.
- [0348] Par exemple, chaque cellule porteuse est une cellule bactérienne à Gram positif. Par exemple, chaque cellule porteuse est une cellule bactérienne à Gram négatif. Par exemple, la cellule porteuse est une cellule d'un genre ou d'une espèce divulgué dans le **Tableau 1** de WO2017211753.
- [0349] Par exemple, la cellule porteuse est une cellule du phylum *Proteobacteria*, classe *Gammaproteobacteria*, ordre *Pseudomonadales* ou famille *Pseudomonadaceae*. Dans un exemple préféré, le porteur est une cellule de *Pseudomonas* (par exemple *P fluorescens*), la cellule cible étant par exemple comprise par une plante.
- [0350] Par exemple, chaque cellule porteuse est une cellule de *Klebsiella*, par exemple dans laquelle la cellule cible est comprise par une plante.
- [0351] Par exemple la porteuse est une cellule à Gram positif, par exemple une cellule de *Bacillus* (tel que *Bacillus subtilis*) ou de *Clostridiales* (tel que *Clostridium butyricum*).
- [0352] Dans un exemple, le sujet est un fruit de mer. Le fruit de mer peut être sélectionné parmi les crevettes, écrevisses, crabes, homards, palourdes, pétoncles, huîtres, crevettes et moules.
- [0353] Le sujet peut être n'importe quel sujet divulgué ici. Le sujet peut être un animal, tel qu'un animal d'élevage, par exemple un oiseau (tel qu'une volaille ; ou un poulet ou une dinde) ou un porc,
- [0354] Dans une alternative, le sujet est une plante, par exemple, et les bactéries cibles sont des bactéries phytopathogènes. Dans un exemple, les bactéries cibles sont des *Pseudomonas*, par exemple *P syringae* ou *P aeruginosa*.
- [0355] Dans une variante, les cellules porteuses et cibles sont des cellules archéennes. Par exemple les cellules cibles sont des cellules de *methanobacterium*. Par exemple les cellules cibles sont des cellules méthanogènes. Par exemple, les cellules cibles comprennent une ou plus espèce(s) de cellule(s) sélectionnée(s) parmi :
- [0356] • *Methanobacterium bryantii*
 - [0357] • *Methanobacterium formicum*
 - [0358] • *Methanobrevibacter arboriphilicus*
 - [0359] • *Methanobrevibacter gottschalkii*

- [0360] • *Methanobrevibacter ruminantium*
- [0361] • *Methanobrevibacter smithii*
- [0362] • *Methanococcus chunghsingensis*
- [0363] • *Methanococcus burtonii*
- [0364] • *Methanococcus aeolicus*
- [0365] • *Methanococcus deltae*
- [0366] • *Methanococcus jannaschii*
- [0367] • *Methanococcus maripaludis*
- [0368] • *Methanococcus vanniellii*
- [0369] • *Methanocorpusculum labreanum*
- [0370] • *Methanoculleus bourgensis* (*Methanogenium olentangyi* & *Methanogenium bourgense*)
- [0371] • *Methanoculleus marisnigri*
- [0372] • *Methanoflorens stordalenmirensis*
- [0373] • *Methanofollis liminatans*
- [0374] • *Methanogenium cariaci*
- [0375] • *Methanogenium frigidum*
- [0376] • *Methanogenium organophilum*
- [0377] • *Methanogenium wolfei*
- [0378] • *Methanomicrobium mobile*
- [0379] • *Methanopyrus kandleri*
- [0380] • *Methanoregula boonei*
- [0381] • *Methanosaeta concilii*
- [0382] • *Methanosaeta thermophila*
- [0383] • *Methanosarcina acetivorans*
- [0384] • *Methanosarcina barkeri*
- [0385] • *Methanosarcina mazei*
- [0386] • *Methanosphaera stadtmanae*
- [0387] • *Methanospirillum hungatei*
- [0388] • *Methanothermobacter defluvii* (*Methanobacterium defluvii*)
- [0389] • *Methanothermobacter thermoautotrophicus* (*Methanobacterium thermoautotrophicum*)
- [0390] • *Methanothermobacter thermoflexus* (*Methanobacterium thermoflexum*)
- [0391] • *Methanothermobacter wolfei* (*Methanobacterium wolfei*)
- [0392] • *Methanothermobacter soehngenii*
- [0393] Optionnellement, les cellules cibles ne sont pas pathogènes pour le sujet, par exemple lorsque le procédé est un procédé non médical. Dans un exemple, le procédé est un procédé cosmétique.

- [0394] Dans l'exemple, optionnellement le sujet ou l'animal est un animal d'élevage, tel qu'une vache, un mouton, une chèvre ou un poulet (de préférence une vache). Optionnellement, par exemple lorsque le sujet est un animal (par exemple un animal d'élevage ou un animal sauvage), les cellules cibles sont des cellules bactériennes zoonotiques, telles que des cellules d'une espèce sélectionnée parmi *Bacillus anthracis*, *Mycobacterium bovis* (l'animal étant par exemple une vache), *Campylobacter* spp (l'animal étant par exemple une volaille), *Mycobacterium marinum* (l'animal étant par exemple un poisson), *E. coli* producteur de shigatoxines (l'animal étant par exemple un ruminant), *Listeria* spp (l'animal étant par exemple une vache ou un mouton), *Chlamydia abortus* (l'animal étant par exemple un mouton), *Coxiella burnetii* (l'animal étant par exemple une vache, un mouton ou une chèvre), *Salmonella* spp (l'animal étant par exemple une volaille), *Streptococcus suis* (l'animal étant par exemple un porc) et *Corynebacterium* (par exemple *C. ulcerans*) (l'animal étant par exemple une vache).
- [0395] Dans un exemple, une pluralité de cellules porteuses telles que décrites ici (par exemple des cellules porteuses de n'importe quelle configuration, aspect, exemple ou mode de réalisation décrit ici) est administrée au sujet, les cellules porteuses comprenant l'acide nucléique codant pour P1.
- [0396] Dans un exemple, chaque animal est un poulet. Dans un exemple, chaque animal est une vache (par exemple un boeuf ou une vache laitière).
- [0397] Optionnellement, le procédé modifie des cellules cibles dans le tractus gastro-intestinal du sujet humain ou animal ; optionnellement, le procédé modifie des cellules cibles dans le jéjunum, l'iléon, le côlon, le foie, la rate ou le caecum du sujet ; l'animal étant optionnellement un oiseau et le procédé modifiant des cellules cibles dans le caecum de l'oiseau. Dans un exemple, le procédé est mis en oeuvre sur un groupe (optionnellement un groupe d'oiseau ou un troupeau) d'animaux, certains ou tous les animaux comprenant des cellules cibles.
- [0398] Optionnellement, le plasmide comprend une origine de transfert RP4 (*oriT*). Le plasmide peut être n'importe quel type de plasmide divulgué ici.
- [0399] P2
- [0400] P2 peut être n'importe quel agent antibactérien divulgué ici ou un composant de celui-ci, de préférence une nucléase guidée qui est programmée pour couper une ou plusieurs séquences cibles dans des cellules cibles. Une nucléase appropriée peut être une TALEN, une méganucléase, une nucléase à doigt de zinc ou une nucléase Cas. Par exemple, l'agent comprend un ou plus composant(s) (par exemple une nucléase Cas et/ou un ARN guide ou un ARNcr) d'un système CRISPR/Cas qui est utilisable dans une cellule cible pour couper une séquence de protoespaceur comprise par la cellule cible (par exemple compris par le vecteur, de sorte que le vecteur coupé est dégradé dans la cellule cible). Par exemple, le système est exploitable pour couper au moins 2 ou 3

séquences de protoespaceurs différentes que comprend le vecteur de l'invention. Optionnellement, P2 est utilisable pour couper une pluralité de séquences différentes de protoespaceurs comprises par le vecteur (et optionnellement utilisable en outre pour couper le génome de la cellule porteuse, par exemple une séquence de protoespaceur chromosomique ou épisomique de la cellule porteuse, la coupe de celui-ci étant létale pour la cellule porteuse - comme expliqué ailleurs ici, cela est utile pour réduire ou retirer des cellules porteuses du sujet ou du microbiote lorsque cela est souhaité, tel qu'après qu'un niveau souhaité d'expression de P1 dans des cellules cibles ait été obtenu). Optionnellement, l'agent comprend un ou plus composant(s) d'un système CRISPR/Cas qui est utilisable pour couper au moins 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 séquences de protoespaceur différentes comprises par le vecteur et/ou génome de la cellule porteuse (par exemple compris par le chromosome de la cellule porteuse).

- [0401] Dans un mode de réalisation, P2
- [0402] (a) comprend une nucléase guidée qui est capable dans une cellule cible de reconnaître et de couper une séquence de protoespaceur comprise par le vecteur ; et/ou
- [0403] (b) code pour un ARN guide ou un ARNcr d'un système CRISPR/Cas qui fonctionne avec une nucléase Cas dans une cellule cible pour couper une séquence de protoespaceur comprise par le vecteur ;
- [0404] la nucléase étant capable de couper le vecteur dans la cellule cible et le vecteur étant dégradé dans la cellule cible.
- [0405] Ceci est utile comme "interrupteur d'arrêt" pour retirer le vecteur de la cellule cible, par exemple pour réguler à la baisse la capacité d'expression de P1 dans une pluralité de cellules cibles qui ont été précédemment mises en contact avec des cellules porteuses et dans lesquelles des vecteurs, de l'invention, de cellules cibles ont été transférés pour l'expression de P1. Par exemple, cela peut utilement être utilisé pour nettoyer le microbiote d'un sujet afin qu'il puisse produire moins ou pas de P1 après que la coupe de l'acide nucléique du vecteur ait eu lieu. Ainsi, par exemple, il est possible dans un premier temps de modifier un microbiote d'un sujet (par exemple un microbiote intestinal humain) pour qu'il produise P1 (par exemple où l'expression de P1 est utile pour le traitement ou la prévention d'une maladie ou affection ou alternativement pour une utilité non médicale) et ensuite l'expression de P1 peut être réduite ou retirée et le microbiote peut être restauré dans une condition partiellement modifiée ou non modifiée.
- [0406] Toute administration de cellules à un sujet mentionnée ici peut être par administration orale. Toute administration de cellules à un sujet mentionnée ici peut de préférence se faire par administration au tractus GI. Toute administration de cellules à un sujet mentionnée ici peut être par administration systémique, intranasale ou inhalée.
- [0407] *Il est fourni les définitions suivantes : -*

- [0408] **Homologue** : Séquence de gène, de nucléotide ou de protéine relative à une deuxième séquence de gène, de nucléotide ou de protéine par descendance à partir d'une séquence d'ADN ou de protéine ancestrale commune. Le terme, homologue, peut s'appliquer à la relation entre des gènes séparés par l'événement de ou à la relation entre des gènes séparés par l'événement de duplication génétique.
- [0409] **Orthologue** : Les orthologues sont des séquences de gènes, nucléotides ou protéines chez différentes espèces qui ont évolué à partir d'une séquence de gène, de nucléotide ou de protéine ancestrale commune par spéciation. Normalement, les orthologues conservent la même fonction au cours de l'évolution.
- [0410] Optionnellement, chaque P2 est un ARN guide. Optionnellement, chaque vecteur (par exemple un plasmide) code pour une pluralité d'ARN guides ou d'ARNcr d'un système CRISPR/Cas, les ARN guides ou les ARNcr pouvant fonctionner avec la nucléase Cas dans la cellule cible pour reconnaître une pluralité de séquences de protoespaceurs comprises par le vecteur et/ou le génome de la cellule porteuse, les séquences de protoespaceurs comprenant optionnellement une ou plus séquence(s) nucléotidique(s) de gènes sélectionnés. Dans un exemple, le vecteur code en plus ou alternativement une Cas, par exemple une Cas9, Cas3, Cpf1, Cas12, Cas13, CasX ou CasY.
- [0411] Dans un mode de réalisation, une Cas mentionnée ici est une Cas de Type I, II, III, IV, V ou VI, de préférence une Cas de Type I ou II.
- [0412] Dans un exemple, le vecteur code également pour une Cas3 et des protéines Cascade apparentées (par exemple CasA, B, C, D et E). Optionnellement, les Cas (et Cascade du présent) sont des Cas (et Cascade) d'E coli.
- [0413] Le plasmide peut comprendre un ou plus espaceur(s) CRISPR, chaque espaceur étant constitué de 20-40, 25-35 ou 30-35 nucléotides consécutifs, par exemple des nucléotides consécutifs sélectionnés parmi
- [0414] Optionnellement, le plasmide comprend une origine de transfert RP4 (oriT) et/ou une origine de répllication p15A.
- [0415] Dans un exemple, le plasmide est un phagémide conjugatif.
- [0416] Dans un exemple, le vecteur code pour une Cas3 et optionnellement une ou plus protéine(s) Cascade (par exemple une ou plus parmi CasA, B, C, D et E). Dans un mode de réalisation, le vecteur code pour une Cas3 et CasA, B, C, D et E. Dans un mode de réalisation, le vecteur code pour une Cas3 d'E coli et CasA, B, C, D et E. Optionnellement, la nucléase guidée (par exemple Cas3) est une Cas de Type I-A, -B, -C, -D, -E, -F ou -U.
- [0417] Dans un exemple, P2 dans n'importe quelle configuration, aspect, exemple, option ou mode de réalisation mentionné(e) ici comprend un ou plus composant(s) d'un système CRISPR/Cas qui est utilisable dans la cellule cible pour couper une séquence de pro-

toespaceur comprise par le vecteur. De plus, dans un exemple, P2 dans n'importe quelle configuration, aspect, exemple, option ou mode de réalisation mentionné(e) ici comprend un ou plus composant(s) d'un système CRISPR/Cas (par exemple le même système que dans la première phrase de ce paragraphe) qui est utilisable dans la cellule porteuse pour couper une séquence de protoespaceur comprise par le génome de la cellule porteuse (par exemple une séquence chromosomique ou épisomique dont la coupe est létale pour la cellule porteuse). Ceci est utile pour nettoyer la cellule porteuse du sujet (par exemple d'un microbiote intestinal) lorsque l'expression de P1 n'est plus nécessaire.

- [0418] Dans exemple, le système est exploitable pour couper au moins 3 séquences de protoespaceurs différentes que comprend le génome de la cellule porteuse ou le vecteur.
- [0419] Dans un exemple, le vecteur
- [0420] (a) code pour une nucléase guidée qui est capable de reconnaître et de modifier une séquence d'acide nucléique de cellule porteuse, la séquence étant comprise par un chromosome endogène ou un épisode de la cellule porteuse, la nucléase coupant le chromosome ou l'épisode pour tuer la cellule porteuse ou inhiber la croissance ou prolifération de la cellule cible ; et/ou
- [0421] (b) code pour un ARN guide ou un ARNcr d'un système CRISPR/Cas qui fonctionne avec une nucléase Cas dans la cellule porteuse pour couper une séquence de protoespaceur comprise par la cellule.
- [0422] L'expression de (a) et/ou (b) peut être inductible par l'exposition de la cellule porteuse à un agent régulateur, par exemple R. Par exemple, l'exposition des cellules porteuses et cibles à R peut induire la production de P2, P2 comprenant le composant (a) et/ou (b), moyennant quoi l'acide nucléique du vecteur est coupé dans la cellule cible et le génome de la cellule porteuse est également coupé. Ceci tue la cellule porteuse et conduit à la dégradation du vecteur dans la cellule cible. Cela peut alors utilement débarrasser le sujet du vecteur et de la cellule porteuse, par exemple après qu'une quantité souhaitable de P1 ait été exprimée chez le sujet.
- [0423] Optionnellement, les Cas, protéines Cascade, ARNg et ARNc sont des Cas, protéines Cascade, ARNg et ARNc d'*E. coli* K12 (MG1655), respectivement. Optionnellement, le vecteur est dépourvu de séquences nucléotidiques codant pour les protéines Cas1 et Cas2.
- [0424] Dans des modes de réalisation, par l'action de P2 (par exemple les composants (a) et/ou (b)) dans les cellules porteuses, la croissance ou la prolifération des cellules porteuses est réduite (par exemple d'au moins 40, 50, 60, 70, 80, ou 90 % par rapport à une croissance en l'absence de P2).
- [0425] Par exemple, les cellules porteuses peuvent être comprises par un médicament pour le traitement ou la prévention d'une maladie ou d'une affection chez un humain ou un

animal ; un agent promoteur de croissance destiné à être administré à des animaux pour favoriser leur croissance ; la mise à mort de bactéries zoonotiques chez les animaux ; pour administration au bétail en tant que pesticide ; un pesticide à appliquer sur des plantes ; ou un engrais à végétaux.

[0426] Un avantage peut être que les cellules porteuses peuvent être utilisées en tant que cellules productrices dans lesquelles des vecteurs de l'invention peuvent être répliqués (par exemple avant (par exemple *in vitro*) et/ou après l'administration au sujet).

[0427] *Exemples de plasmides*

[0428] Un procédé de distribution d'un vecteur peut être par conjugaison bactérienne, un processus naturel par lequel une bactérie donneuse (bactérie porteuse) transfère de l'ADN plasmidique d'elle-même à une bactérie réceptrice (bactérie cible). Les bactéries donneuses élaborent une structure de surface, le pilus qui peut être considéré comme une seringue ou une paille pour boire à travers laquelle l'ADN est distribué. Le pilus donneur se lie à la surface d'un receveur réceptif et cet événement déclenche le processus de transfert d'ADN. Les plasmides conviennent pour ce procédé conjugatif, où le plasmide comprend de l'ADN codant pour l'agent de l'invention.

[0429] Le transfert d'ADN par conjugaison ne peut avoir lieu qu'avec un « receveur sensible », mais ne se produit généralement pas avec un receveur porteur d'un type similaire de plasmide. Parce que la conjugaison se fait via un pont pilus, il est possible que ce pont ne s'attache non pas à un receveur mais à la bactérie donneuse. Cela pourrait entraîner un cycle futile de transfert de l'ADN plasmidique sur lui-même. Les plasmides codent donc naturellement pour des facteurs d'incompatibilité. L'une est une protéine matricée en surface qui empêche le pilus de se lier à la bactérie présentant cette protéine de surface telle qu'elle-même ou toute autre bactérie portant le même plasmide. De plus, les plasmides codent naturellement pour un autre système d'incompatibilité qui régule étroitement le nombre de copies du plasmide à l'intérieur d'une bactérie. Ainsi, si un événement de conjugaison parvient à échapper à l'exclusion de surface et commence à transférer l'ADN par conjugaison, le receveur empêchera ce plasmide de s'établir car il maintient déjà le nombre de copies courant et n'acceptera pas et maintenir une autre copie supplémentaire indésirable.

[0430] Dans un exemple de l'invention, le plasmide est un membre d'un groupe d'incompatibilité plasmidique, la cellule cible ne comprenant pas de plasmide dudit groupe. Optionnellement, le plasmide de l'invention est un membre du groupe d'incompatibilité P (c-à-d que le plasmide est un plasmide incP). Par exemple, parmi les *Enterobacteriaceae*, voici une liste non exclusive de plasmides potentiels qui pourraient être utilisés pour la distribution : *IncFI*, *IncFII*, *IncFIII*, *IncFIV*, *IncFV*, *IncM*, *Inc9*, *InclO*, *Incl*, *IncA*, *IncB*, *IncC*, *IncH*, *IncIa*, *InclIc*, *IncI2*, *IncIy*, *IncJ*, *IncL*, *IncN*, *Inc2e*, *IncO*, *IncP*, *IncS*, *IncT* et/ou *IncW*. Ainsi, optionnellement, la cellule cible

est une cellule d'Enterobacteriaceae et le vecteur de l'invention est un plasmide, le plasmide étant sélectionné parmi un *IncFI*, *IncFII*, *IncFIII*, *IncFIV*, *IncFV*, *IncM*, *Inc9*, *InclO*, *Incl*, *IncA*, *IncB*, *IncC*, *IncH*, *IncIa*, *InclIc*, *IncI1*, *IncI2*, *IncIy*, *IncJ*, *IncL*, *IncN*, *Inc2e*, *IncO*, *IncP*, *IncS*, *IncT* et *IncW*.

[0431] De préférence, le sujet est un humain ou un animal et le plasmide est un plasmide *IncI*, par exemple un plasmide *IncI1* ou *IncI2*.

[0432] Dans un exemple, la cellule porteuse de l'invention comprend deux ou plus plasmides, chaque plasmide comprenant un ADN qui code pour un P1 et P2 respectif (P1/P2 peuvent être le même dans les cellules ou les cellules peuvent comprendre différents P1 et/ou P2). Optionnellement, un premier desdits plasmides est un membre d'un premier groupe d'incompatibilité, la cellule cible ne comprenant pas de plasmide dudit premier groupe, et un deuxième desdits plasmides est un membre d'un deuxième groupe d'incompatibilité, la cellule cible ne comprenant pas de plasmide dudit deuxième groupe. Par exemple, une cellule porteuse peut comprendre un plasmide *incP* codant pour P1 et P2 (par exemple un système CRISPR-Cas ou un composant de celui-ci (par exemple codant pour un premier ARNcr ou ARN guide qui cible une première séquence de protoespaceur du vecteur)) et la cellule porteuse comprenant en outre un plasmide *incFI* (par exemple codant pour P1 et P2 (par exemple un système anti-cellule porteuse CRISPR-Cas ou un composant de celui-ci (par exemple codant pour un deuxième ARNcr ou ARN guide qui cible une séquence de protoespaceur du génome de la cellule porteuse))). Les protoespaceurs peuvent comprendre différentes séquences nucléotidiques. Optionnellement, la cellule porteuse comprend un groupe de plasmides comprenant 2, 3, 4, 5, 6 ou plus types différents de plasmides, chaque plasmide étant capable d'être transféré conjugativement jusque dans une cellule cible, les plasmides codant pour différents produits P1 et/ou P2. Par exemple, les plasmides codent pour différents ARNc ou ARNg qui ciblent différents protoespaceurs compris par le vecteur, la cellule porteuse et/ou le génome de la cellule cible. Par exemple, le groupe de plasmides comprend jusqu'à n types différents de plasmides, les plasmides étant membres de jusqu'à n groupes d'incompatibilité différents, par exemple des groupes sélectionnés parmi *IncFI*, *IncFII*, *IncFIII*, *IncFIV*, *IncFV*, *IncM*, *Inc9*, *InclO*, *Incl*, *IncA*, *IncB*, *IncC*, *IncH*, *IncIa*, *InclIc*, *IncI2*, *IncIy*, *IncJ*, *IncL*, *IncN*, *Inc2e*, *IncO*, *IncP*, *IncS*, *IncT* et *IncW*. Par exemple, n=2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10.

[0433] Par exemple, la cellule porteuse comprend (i) un premier vecteur (par exemple plasmide) qui code pour un P2 qui est un premier type de système CRISPR/Cas qui cible un premier protoespaceur compris par le vecteur, ou code pour un composant dudit système ; et (ii) un deuxième vecteur (par exemple un plasmide) qui code pour un P2 qui est un deuxième type de système CRISPR/Cas qui cible un deuxième protoespaceur compris par le vecteur ou le génome de la cellule porteuse (par exemple une

séquence chromosomique de la cellule porteuse), ou code pour un composant dudit système, les premier et deuxième types étant différents. Par exemple, le premier type est un système de Type I et le deuxième type est un système de Type II (par exemple le premier vecteur code pour une Cas3, Cascade et un ARNcr ou un ARN guide qui fonctionne avec les Cas3 et Cascade dans la cellule cible pour modifier le premier protoespaceur ; et le deuxième vecteur code pour une Cas9 et un ARNcr ou ARN guide qui est utilisable avec la Cas9 dans la cellule cible pour modifier le deuxième protoespaceur). Dans une alternative, les Cas3 et Cascade sont codés par des gènes d'une cellule cible endogène, le premier vecteur codant pour l'ARNcr ou l'ARN guide qui est utilisable avec les Cas3 et Cascade endogènes dans la cellule cible pour modifier le premier protoespaceur. Dans une alternative, la Cas9 est codée par un gène d'une cellule cible endogène, le deuxième vecteur codant pour l'ARNcr ou l'ARN guide qui est utilisable avec la Cas9 endogène dans la cellule cible pour modifier le deuxième protoespaceur. Optionnellement, les Cas3 et Cascade sont codées par des gènes endogènes de la cellule cible et la Cas9 est codé par le deuxième vecteur.

[0434] Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation un premier vecteur (par exemple un plasmide) codant pour un système CRISPR/Cas de Type I (ou un composant de celui-ci, par exemple une Cas3 ou un ARNcr ou un ARNg) et un deuxième vecteur (par exemple un plasmide) codant pour un système CRISPR/Cas de Type III (ou un composant de celui-ci). Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation un premier vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type I (ou un composant de celui-ci) et un deuxième vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type IV (ou un composant de celui-ci). Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation un premier vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type I (ou un composant de celui-ci) et un deuxième vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type V (ou un composant de celui-ci). Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation un premier vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type I (ou un composant de celui-ci) et un deuxième vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type VI (ou un composant de celui-ci).

[0435] Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation un premier vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type II (ou un composant de celui-ci, par exemple une Cas9 ou un ARNcr ou un ARNg) et un deuxième vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type III (ou un composant de celui-ci). Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation un premier vecteur codant pour

un système CRISPR/Cas de Type II (ou un composant de celui-ci) et un deuxième vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type IV (ou un composant de celui-ci). Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation un premier vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type II (ou un composant de celui-ci) et un deuxième vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type V (ou un composant de celui-ci). Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation un premier vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type II (ou un composant de celui-ci) et un deuxième vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type VI (ou un composant de celui-ci).

[0436] Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation un premier vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type V (ou un composant de celui-ci, par exemple une Cas12a ou un ARNcr) et un deuxième vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type III (ou un composant de celui-ci). Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation un premier vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type V (ou un composant de celui-ci) et un deuxième vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type IV (ou un composant de celui-ci). Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation un premier vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type V (ou un composant de celui-ci) et un deuxième vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type V (ou un composant de celui-ci). Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation un premier vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type V (ou un composant de celui-ci) et un deuxième vecteur codant pour un système CRISPR/Cas de Type VI (ou un composant de celui-ci).

[0437] Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation des premier et deuxième vecteurs (par exemple des plasmides), codant chacun pour un système CRISPR/Cas de Type I (ou un composant de celui-ci). Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation des premier et deuxième vecteurs, codant chacun pour un système CRISPR/Cas de Type II (ou un composant de celui-ci). Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation des premier et deuxième vecteurs, codant chacun pour un système CRISPR/Cas de Type III (ou un composant de celui-ci). Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation des premier et deuxième vecteurs, codant chacun pour un système CRISPR/Cas de Type IV (ou un composant de celui-ci). Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention

propose alternativement dans un mode de réalisation des premier et deuxième vecteurs, codant chacun pour un système CRISPR/Cas de Type V (ou un composant de celui-ci). Au lieu d'un système de Type I et de Type II, l'invention propose alternativement dans un mode de réalisation des premier et deuxième vecteurs, codant chacun pour un système CRISPR/Cas de Type VI (ou un composant de celui-ci).

- [0438] Optionnellement, les plasmides sont des membres de groupes d'incompatibilité différents, par exemple des groupes sélectionnés parmi *IncFI*, *IncFII*, *IncFIII*, *IncFIV*, *IncFV*, *IncM*, *Inc9*, *InclO*, *Incl*, *IncA*, *IncB*, *IncC*, *IncH*, *IncIa*, *InclIc*, *IncII*, *InclI2*, *IncIy*, *IncJ*, *IncL*, *IncN*, *InclI2*, *IncO*, *IncP*, *IncS*, *IncT* et *IncW*. Dans un exemple ici, la cellule cible est une cellule d'*Enterobacteriaceae*.
- [0439] Avantageusement, les cellules porteuses sont destinées au traitement ou à la prévention d'une infection cellulaire cible chez un sujet humain ou animal (par exemple un chien, chat, cheval, poulet, vache, mouton, chèvre, porc, poisson ou fruit de mer).
- [0440] Avantageusement, les cellules porteuses sont d'une espèce probiotique pour ledit sujet ou probiotique pour les humains ou animaux (par exemple poulets). Par exemple, les cellules porteuses sont des cellules probiotiques de *Bacterioidetes* (par exemple *Bacteriodes*), le sujet étant par exemple un humain. Par exemple, les cellules porteuses sont des cellules probiotiques de *Clostridiales*, le sujet étant par exemple un humain. Par exemple, les cellules porteuses sont des cellules probiotiques E coli. Par exemple, les cellules porteuses sont des cellules probiotiques de *Bacillus*, le sujet étant par exemple une plante.
- [0441] Avantageusement, chaque vecteur (par exemple virus ou plasmide) code pour un ou plus ARN guides ou un ou plus ARNcr capables de s'hybrider dans la cellule cible à la ou aux séquence(s) d'acide nucléique cible du vecteur respectif. Par exemple, chaque vecteur code pour 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 (ou plus de 10) ARNg différents ou ARNcr différents qui s'hybrident à une séquence cible respective, les séquences cibles étant différentes l'une de l'autre. Par exemple, 3 ARNg ou ARNcr différents sont codés par chaque vecteur. Par exemple, 2 ARNg ou ARNcr différents sont codés par chaque vecteur. Par exemple, 3 ARNg ou ARNcr différents sont codés par chaque vecteur. Par exemple, 4 ARNg ou ARNcr différents sont codés par chaque vecteur. Par exemple, 3 ARNg ou ARNcr différents sont codés par chaque vecteur. Par exemple, 5 ARNg ou ARNcr différents sont codés par chaque vecteur. Par exemple, 6 ARNg ou ARNcr différents sont codés par chaque vecteur. Par exemple, 7 ARNg ou ARNcr différents sont codés par chaque vecteur. Par exemple, 8 ARNg ou ARNcr différents sont codés par chaque vecteur. Par exemple, 9 ARNg ou ARNcr différents sont codés par chaque vecteur. Par exemple, 10 ARNg ou ARNcr différents sont codés par chaque vecteur. Par exemple, 11 ARNg ou ARNcr différents sont codés par chaque vecteur. Par

exemple, 12 ARNg ou ARNcr différents sont codés par chaque vecteur. Par exemple, 13 ARNg ou ARNcr différents sont codés par chaque vecteur.

- [0442] Dans un exemple, les cellules cibles sont des cellules de *Salmonella* (le sujet étant par exemple un poulet). Dans un exemple, les cellules cibles sont des cellules de *Campylobacter* (le sujet étant par exemple un poulet). Dans un exemple, les cellules cibles sont des cellules d'*Edwardsiella* (le sujet étant par exemple un poisson ou un fruit de mer, par exemple un poisson-chat ou une crevette). Dans un exemple les cellules cibles sont des cellules de *Bacterioidetes* (par exemple *Bacteriodes*). Dans un exemple les cellules cibles sont des cellules de *Clostridiales*. Dans un exemple, les cellules cibles sont des cellules d'*E coli*.
- [0443] Optionnellement, chaque plasmide comprend un module tra1 et/ou tra2 exprimable ou un homologue de celui-ci pour le transfert conjugatif du plasmide entre les cellules. Tout épisode mentionné ici peut être un plasmide.
- [0444] Optionnellement, chaque plasmide comprend un opéron exprimable d'un module tra1 et/ou tra2 ou un homologue de celui-ci pour le transfert conjugatif du plasmide entre les cellules.
- [0445] Optionnellement, chaque plasmide est un plasmide RK2 ou R6K modifié. La modification comprend une insertion de séquences nucléotidiques codant pour P1 et P2.
- [0446] Optionnellement, chaque plasmide comprend une *oriV*, par exemple, *oriV* d'un plasmide *IncI* (par exemple *IncI1* ou *IncI2*), RK2 ou R6K, ou un homologue de ceux-ci. Optionnellement, chaque plasmide comprend un *oriV* d'un plasmide *IncI* (par exemple *IncI1* ou *IncI2*), RK2 ou R6K, ou un homologue de ceux-ci
- [0447] Optionnellement, chaque plasmide comprend une *oriT*, par exemple *oriT* d'un plasmide *IncI1* ou *IncI2*. Optionnellement, chaque plasmide est un plasmide *IncI* modifié (par exemple *IncI1* ou *IncI2*). La modification (pour les Première à Troisième Configurations, et optionnellement pour la Quatrième Configuration) comprend une insertion de séquences nucléotidiques codant pour P1 et P2.
- [0448] Optionnellement, P2 comprend un ou plus composant(s) d'un système CRISPR/Cas qui est utilisable dans la cellule cible pour couper une séquence de protoespaceur comprise par le vecteur ou le génome de la cellule porteuse, la séquence de protoespaceur étant par exemple comprise par le chromosome de la cellule porteuse.
- [0449] Dans un mode de réalisation, la coupe mentionnée ici tue la cellule porteuse ou provoque la dégradation du vecteur dans la cellule cible. En alternative, la coupe inhibe la croissance ou la prolifération de la cellule cible.
- [0450] Optionnellement, P2 code pour un ARN guide ou un ARNcr d'un système CRISPR/Cas qui est utilisable avec une nucléase Cas dans la cellule cible pour couper une séquence de protoespaceur comprise par le vecteur.
- [0451] Dans un exemple des Première à Troisième Configurations, le protoespaceur est

composé d'un gène nécessaire pour la viabilité ou le maintien du vecteur dans la cellule. Dans un exemple de la Quatrième Configuration, le protoespaceur est compris par un gène requis pour la viabilité de la cellule porteuse.

- [0452] Optionnellement, chaque vecteur (par exemple virus (par exemple phage) ou plasmide) comprend un gène qui code pour un produit, le produit étant essentiel à la survie ou prolifération de la cellule porteuse lorsqu'elle se trouve dans un environnement dépourvu du produit, le chromosome de la cellule porteuse ne comprenant pas de gène exprimable codant pour le produit et optionnellement l'acide nucléique du vecteur étant le seul acide nucléique épisomique compris par la cellule porteuse qui code pour le produit. Par exemple, le gène est sélectionné parmi un gène *aroA*, *argH*, *hisD*, *leuB*, *lysA*, *metB*, *proC*, *thrC*, *pheA*, *tyrA*, *trpC* et *pflA* ; ou le gène étant un gène anti-toxine et le vecteur codant optionnellement pour une toxine apparentée.
- [0453] Par exemple, la cellule porteuse est une cellule d'*E coli* (par exemple souche d'*E coli* Nissle, F18 ou S17). Par exemple, la cellule porteuse est une cellule de *Bacillus* (par exemple *B subtilis*), d'*Enterococcus* ou de *Lactobacillus*, le sujet étant par exemple une plante.
- [0454] Optionnellement, chaque cellule porteuse est destinée à une administration à un microbiote d'un sujet humain ou animal à des fins médicales.
- [0455] Par exemple, l'utilisation médicale est destinée au traitement ou à la prévention d'une maladie divulguée ici. Par exemple, l'utilisation médicale est destinée au traitement ou à la prévention d'une affection divulguée ici.
- [0456] Optionnellement, l'utilisation médicale est destinée au traitement ou à la prévention d'une maladie ou d'une affection médiée par lesdites cellules cibles. Optionnellement, l'utilisation médicale est destinée au traitement ou à la prévention d'une maladie ou d'une affection médiée par des cellules d'un microbiote qui comprend également lesdites cellules cibles. Par exemple, P1 est sécrétée à partir de cellules cibles et agit pour tuer ou modifier la croissance ou le métabolisme de cellules voisines dans le microbiote.
- [0457] Optionnellement, la ou les cellule(s) porteuse(s) sont destinées à être administrées à un humain ou à un animal pour améliorer la croissance ou le poids de l'humain ou de l'animal. Optionnellement, la ou les cellule(s) porteuse(s) sont destinées à être administrées à un humain ou à un animal pour réduire la croissance ou le poids de l'humain ou de l'animal. Optionnellement, la ou les cellule(s) porteuse(s) sont destinées à être administrées à un humain ou à un animal pour réduire l'obésité de l'humain ou de l'animal.
- [0458] Dans un mode de réalisation, l'administration est destinée à un humain pour améliorer la croissance ou le poids de l'humain.
- [0459] Optionnellement, l'amélioration n'est pas une thérapie médicale. Optionnellement,

l'amélioration est une thérapie médicale.

- [0460] Optionnellement, l'utilisation comprend l'administration d'une pluralité de cellules porteuses à un microbiote (par exemple un microbiote intestinal) d'un sujet humain ou animal, le microbiote comprenant des cellules cibles et l'acide nucléique du vecteur étant transféré dans des cellules cibles pour y exprimer P1, tuant ainsi des cellules du microbiote chez le sujet ou réduisant la croissance ou la prolifération de cellules du microbiote.
- [0461] Optionnellement, l'utilisation comprend l'administration d'une pluralité de cellules porteuses à un microbiote (par exemple un microbiote intestinal) d'un sujet humain ou animal, le microbiote comprenant des cellules cibles et l'acide nucléique du vecteur étant transféré dans des cellules cibles pour y exprimer P1, favorisant ainsi la croissance ou le métabolisme des cellules du microbiote chez le sujet.
- [0462] Optionnellement, l'utilisation comprend l'administration d'une pluralité de cellules porteuses à un microbiote (par exemple un microbiote intestinal) d'un sujet humain ou animal, le microbiote comprenant des cellules cibles et l'acide nucléique du vecteur étant transféré dans des cellules cibles pour y exprimer P1, P1 étant une protéine (par exemple une enzyme) dans une voie métabolique dans les cellules du microbiote. Par exemple, P1 est sécrété par des cellules cibles et est absorbé par d'autres cellules dans le microbiote pour l'utilisation de P1 dans une voie métabolique dans les autres cellules.
- [0463] Optionnellement, l'utilisation comprend l'administration d'une pluralité de cellules porteuses à un microbiote (par exemple un microbiote intestinal) d'un sujet humain ou animal, le microbiote comprenant des cellules cibles et l'acide nucléique du vecteur étant transféré dans des cellules cibles pour y exprimer P1, P1 étant une protéine qui est capable de séquestrer une substance (par exemple un/une protéine, peptide, acide nucléique (par exemple de l'ARN), glucide (par exemple un sucre ou un précurseur de celui-ci), acide aminé, lipide, acide gras, ion ou composé chimique) chez le sujet. Par exemple, P1 est sécrété par des cellules cibles et est absorbé par d'autres cellules dans le microbiote pour l'utilisation de P1 comme agent séquestrant dans les autres cellules. Par exemple, P1 est sécrété par des cellules cibles pour une utilisation de P1 comme agent séquestrant chez le sujet, par exemple dans le microbiote, un organe, un tissu, une cellule ou le système sanguin du sujet.
- [0464] Par exemple, une plante mentionnée ici dans n'importe quelle configuration ou mode de réalisation de l'invention est sélectionnée parmi un plant de tomate, de pomme de terre, de blé, de maïs fourrager, de maïs alimentaire, un pommier, un plant de haricots, un plant de pois, un plant de betterave, un plant de fruits à noyau, un plante d'orge, un plant de houblon et une graminée. Par exemple, la plante est un arbre, par exemple un palmier, châtaignier, pin, chêne ou feuillu. Par exemple, la plante est une plante qui

produit des fruits sélectionnés parmi les fraises, framboises, mûres, les grsœilles, kiwis, bananes, pommes, abricots, avocats, cerises, oranges, clémentines, satsumas, pamplemousses, plus, dattes, figues, citrons verts, citrons, melons, mangues, poires, olives ou raisins. Optionnellement, la plante est une dicotylédone. Optionnellement, la plante est une plante à fleurs. Optionnellement, la plante est un monocotylédon.

[0465] Dans un exemple, le poids (c'est-à-dire la biomasse) d'une plante est le poids sec. Par exemple, le procédé est destiné à augmenter le poids sec de plantes (par exemple sous 1 ou 2 semaines de ladite administration). Optionnellement, l'augmentation est une augmentation d'au moins 5, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ou 20 % par rapport à une plante témoin de la même espèce ou souche à laquelle l'administration si cellules porteuses n'est pas survenue, toutes les plantes étant maintenues dans les mêmes conditions environnementales. Par exemple, une telle augmentation se situe dans les 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou 8 semaines suivant la première administration des cellules porteuses. Dans un exemple, le procédé consiste à augmenter le poids sec d'une feuille et/ou d'un fruit de la plante, telle qu'un plant de tomate.

[0466] Dans un exemple, le poids est le poids humide. Par exemple, le procédé est destiné à augmenter le poids humide de plantes (par exemple sous 1 ou 2 semaines de ladite administration). Optionnellement, l'augmentation est une augmentation d'au moins 5, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ou 20 % par rapport à une plante témoin de la même espèce ou souche à laquelle l'administration si cellules porteuses n'est pas survenue, toutes les plantes étant maintenues dans les mêmes conditions environnementales. Par exemple, une telle augmentation se situe dans les 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou 8 semaines suivant la première administration des cellules porteuses. Dans un exemple, le procédé consiste à augmenter le poids sec d'une feuille et/ou d'un fruit de la plante, telle qu'un plant de tomate.

[0467] Par exemple, le microbiote est compris par un(e) feuille, tronc, racine ou tige de la plante.

[0468] Les bactéries cibles (ou cellule cible) peuvent être comprise par un microbiote d'une plante. Dans un exemple, le microbiote est compris par une feuille. Dans un exemple, le microbiote est compris par un xylème. Dans un exemple, le microbiote est compris par un phloème. Dans un exemple, le microbiote est compris par une racine. Dans un exemple, le microbiote est compris par un xylème. Dans un exemple, le microbiote est compris par un bulbe. Dans un exemple, le microbiote est compris par une graine. Dans un exemple, le microbiote est composé d'un exocarpe, d'un épicarpe, d'un mésocarpe ou d'un endocarpe. Dans un exemple, le microbiote est compris par un fruit, par exemple un simple fruit ; des fruits agrégés ; ou de multiples fruits. Dans un exemple, le microbiote est compris par une graine ou un embryon, par exemple par un tégument ; un ou des cotylédon(s) ; ou une radicule. Dans un exemple, le microbiote

est compris par une fleur, par exemple compris par un pédoncule ; sépale : pétales ; étamine ; filament ; anthère ou pistil. Dans un exemple, le microbiote est compris par une racine ; par exemple un système racinaire pivotant ou un système racinaire fibreux. Dans un exemple, le microbiote est compris par une ou des feuille(s), par exemple compris par un limbe, un pétiole ou une stipule d'une feuille. Dans un exemple, le microbiote est compris par une tige, par exemple compris par un/une écorce, épiderme, phloème, cambium, xylème ou moelle.

- [0469] Par exemple, le biofilm est compris par un poumon du sujet, les cellules cibles étant par exemple des cellules de *Pseudomonas* (par exemple *P. aeruginosa*). Cela peut être utile lorsque le sujet est un être humain souffrant d'une maladie ou affection pulmonaire, tel qu'une pneumonie ou une fibrose kystique, P1 étant une protéine thérapeutique qui est exprimée par des cellules cibles modifiées du biofilm. Par exemple, le biofilm est compris par un organe animal ou humain divulgué ici. Par exemple, le biofilm est compris par un microbiote d'un humain ou d'un animal divulgué ici.
- [0470] Optionnellement, ladite surface est une surface ex vivo, telle qu'une surface comprise par un appareil ou récipient domestique ou industriel.
- [0471] Optionnellement, les cellules cibles sont comprises par un biofilm, par exemple, un biofilm tel que divulgué ici.
- [0472] Il est proposé :-
- [0473] une composition pharmaceutique, composition favorisant la croissance du bétail, amendement de sol, herbicide, engrais à végétaux, composition stérilisante d'aliment ou d'ingrédient alimentaire, composition dentaire, composition d'hygiène personnelle ou composition désinfectante (par exemple à usage domestique ou industriel) comprenant une pluralité de cellules porteuses.
- [0474] Ici, une cellule porteuse est, par exemple une cellule commensale ou probiotique destinée à une administration à un sujet humain ou animal. Par exemple, la cellule porteuse est commensale dans un microbiote (par exemple un microbiote intestinal ou sanguin) d'un sujet humain ou animal, la porteuse étant destinée à une administration au sujet. Dans un exemple, une cellule porteuse est une cellule procaryote. Dans un exemple, une cellule porteuse est une cellule bactérienne (et optionnellement la cellule cible est une cellule bactérienne). Dans un exemple, une cellule porteuse est une cellule archéenne (et optionnellement la cellule cible est une cellule archéenne)
- [0475] Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne à Gram positif et la cellule cible est une cellule bactérienne à Gram positif.
- [0476] Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne à Gram positif et la cellule cible est une cellule bactérienne à Gram négatif.
- [0477] Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne à Gram négatif et la cellule cible est une cellule bactérienne à Gram positif.

- [0478] Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne à Gram négatif et la cellule cible est une cellule bactérienne à Gram négatif.
- [0479] Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne de *Bacteriodes* et la cellule cible est une cellule bactérienne à Gram positif. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne de *Bacteriodes* et la cellule cible est une cellule bactérienne à Gram négatif. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne de *Bacteriodes* et la cellule cible est une cellule bactérienne de *Bacteriodes*. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne de *Bacteriodes* et la cellule cible est une cellule bactérienne d'*E coli*. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne d'*E coli* et la cellule cible est une cellule bactérienne de *Bacteriodes*. Par exemple, dans ces options, le sujet est un humain ou un animal, de préférence un humain.
- [0480] Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne de *Clostridiales* et la cellule cible est une cellule bactérienne à Gram positif. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne de *Clostridiales* et la cellule cible est une cellule bactérienne à Gram négatif. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne de *Bacteriodes* et la cellule cible est une cellule bactérienne de *Clostridiales*. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne de *Clostridiales* et la cellule cible est une cellule bactérienne d'*E Coli*. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne d'*E Coli* et la cellule cible est une cellule bactérienne de *Clostridiales*. Par exemple, dans ces options, le sujet est un humain ou un animal, de préférence un humain.
- [0481] Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne d'*Escherichia* (par exemple d'*E coli*) et la cellule cible est une cellule bactérienne à Gram positif. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne d'*Escherichia* (par exemple d'*E coli*) et la cellule cible est une cellule bactérienne à Gram négatif. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne de *Bacteriodes* et la cellule cible est une cellule bactérienne d'*Escherichia* (par exemple d'*E coli*). Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne d'*Escherichia* (par exemple d'*E coli*) et la cellule cible est une cellule bactérienne d'*E coli*. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne d'*E coli* et la cellule cible est une cellule bactérienne d'*Escherichia* (par exemple d'*E coli*). Par exemple, dans ces options, le sujet est un humain ou un animal, de préférence un humain.
- [0482] Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne de *Bacillus* et la cellule cible est une cellule bactérienne à Gram positif. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne de *Bacillus* et la cellule cible est une cellule bactérienne à Gram négatif. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne de *Bacillus* et la cellule cible est une cellule bactérienne de *Salmonella*. Op-

tionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne de *Bacillus* et la cellule cible est une cellule bactérienne d'*E coli*. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne d'*E coli* et la cellule cible est une cellule bactérienne de *Pseudomonas*. Par exemple, dans ces options, le sujet est une plante.

[0483] Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne d'*E coli* et la cellule cible est une cellule bactérienne à Gram positif.

[0484] Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne d'*E coli* et la cellule cible est une cellule bactérienne à Gram négatif.

[0485] Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne d'*E coli* et la cellule cible est une cellule bactérienne de *Salmonella*.

[0486] Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne d'*E coli* et la cellule cible est une cellule bactérienne d'*E coli*.

[0487] Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne d'*E coli* et la cellule cible est une cellule bactérienne de *Pseudomonas*.

[0488] Une cellule de *Bacillus* mentionnée ici est optionnellement une cellule de *B subtilis*.

[0489] Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne probiotique ou commensale de *Bacteriodes* pour administration à un sujet humain ou animal. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne probiotique ou commensale de *Clostridiales* pour administration à un sujet humain ou animal. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne probiotique ou commensale d'*E coli* pour administration à un sujet humain ou animal. Optionnellement, la cellule porteuse est une cellule bactérienne probiotique ou commensale de *Bacillus* pour administration à un sujet humain ou animal.

[0490] Ici, optionnellement, le plasmide est un ADN circulaire fermé.

[0491] Dans un mode de réalisation, l'acide nucléique vecteur (par exemple plasmide) est de l'ADN. Optionnellement, l'ADN est un ADNdb. Dans un mode de réalisation, l'ADN vecteur est un ADNsb Dans un mode de réalisation, l'acide nucléique vecteur (par exemple plasmide) est de l'ARN.

[0492] Dans un exemple, la cellule cible est une cellule d'une espèce qui ne provoque pas d'infection nosocomiale chez les humains.

[0493] Optionnellement, la cellule cible est comprise par un microbiote animal (par exemple de volaille (tel que le poulet), porc, vache, poisson (par exemple poisson-chat ou saumon) ou fruit de mer (par exemple crevette ou homard)). Optionnellement, le microbiote est un microbiote intestinal. Par exemple, la cellule cible est une cellule comprise par un biofilm intestinal humain ou animal (par exemple de poulet). Par exemple, la cellule cible est une cellule comprise par un échantillon de biofilm intestinal *ex vivo*. Par exemple, la cellule cible est une cellule comprise par un biofilm pulmonaire humain ou animal (par exemple de poulet). Par exemple, la cellule cible est

une cellule comprise par un échantillon de biofilm pulmonaire *ex vivo*. Par exemple, la cellule cible est une cellule comprise par un biofilm cutané humain ou animal (par exemple de poulet). Par exemple, la cellule cible est une cellule comprise par un échantillon de biofilm cutané *ex vivo*.

- [0494] Dans un mode de réalisation, chaque plasmide comprend un oriV et/ou un oriT. Dans un mode de réalisation, chaque plasmide comprend un oriV et/ou un oriT bactérien.
- [0495] Dans un mode de réalisation, le plasmide comprend un oriV et ne code pour aucune protéine de réplication (par exemple *pir* ou *trfA*) qui soit utilisable avec l'oriV pour initier la réplication du plasmide.
- [0496] Dans un exemple, l'invention concerne une composition comprenant une pluralité de cellules porteuses de l'invention. Optionnellement, toutes les cellules porteuses comprennent lesdits vecteurs identiques (par exemple des plasmides). Optionnellement, la pluralité comprend une première sous-population de cellules porteuses (premières cellules) et une deuxième sous-population de cellules porteuses (deuxièmes cellules), les premières cellules comprenant des premiers dits vecteurs identiques et les deuxièmes cellules comprenant des deuxièmes dits vecteurs identiques (qui sont différents des premiers vecteurs des premières cellules). Par exemple, les premiers vecteurs codent pour un premier ARN guide ou ARNcr et les deuxièmes vecteurs codent pour un deuxième ARN guide ou ARNcr, le premier ARN guide/ARNcr étant capable de s'hybrider à une première séquence de protoespaceur comprise par le vecteur dans des premières cellules cibles ; et le deuxième ARN guide/ARNcr étant capable de s'hybrider à une deuxième séquence de protoespaceur dans des cellules porteuses ou cibles, les protoespaceurs étant différents.
- [0497] Optionnellement, la composition est comprise par un liquide (par exemple un liquide aqueux ou dans l'eau), la composition comprenant les cellules porteuses en une quantité allant de 1×10^3 à 1×10^{10} (par exemple de 1×10^4 à 1×10^{10} ; de 1×10^4 à 1×10^9 ; de 1×10^4 à 1×10^8 ; de 1×10^4 à 1×10^7 ; de 1×10^3 à 1×10^{10} ; de 1×10^3 à 1×10^9 ; de 1×10^3 à 1×10^8 ; de 1×10^3 à 1×10^7 ; de 1×10^5 à 1×10^{10} ; de 1×10^5 à 1×10^9 ; de 1×10^5 à 1×10^8 ; de 1×10^5 à 1×10^7 ; de 1×10^6 à 1×10^{10} ; de 1×10^6 à 1×10^9 ; de 1×10^6 à 1×10^8 ou de 1×10^6 à 1×10^7) ufc/ml. Par exemple, le liquide est une boisson, telle que pour la consommation humaine ou animale. Par exemple la boisson est une boisson pour bétail, par exemple une boisson pour volaille (c-à-d une boisson destinée à la consommation par une volaille, telle que du poulet).
- [0498] Dans un exemple, la composition est une composition diététique (par exemple un supplément diététique) destinée à la consommation par des humains ou animaux. Dans un exemple, la composition est une composition amincissante destinée à la consommation par des humains ou animaux. Dans un exemple, la composition est une composition stimulatrice de croissance destinée à la consommation par des humains ou

animaux. Dans un exemple, la composition est une composition de construction musculaire destinée à la consommation par des humains. Dans un exemple, la composition est une composition probiotique destinée à la consommation par des humains ou animaux. Dans un exemple, la composition est une composition biocide destinée à la consommation par des humains ou animaux. Dans un exemple, la composition est une composition pesticide destinée à la consommation par des humains ou animaux. Dans un exemple, la composition est une composition de contrôle de zoonose destinée à la consommation par des animaux.

- [0499] Dans un exemple, la composition comprend des vitamines en plus des cellules porteuses. Dans un exemple, la composition comprend de la vitamine A, B (par exemple B12), C, D, E et/ou K en plus des cellules porteuses. Dans un exemple, la composition comprend des lipides en plus des cellules porteuses. Dans un exemple, la composition comprend des glucides en plus des cellules porteuses. Dans un exemple, la composition comprend des protéines et/ou des acides aminés en plus des cellules porteuses. Dans un exemple, la composition comprend des minéraux en plus des cellules porteuses. Dans un exemple, la composition comprend des ions métalliques (par exemple Mg^{2+} , Cu^{2+} et/ou Zn^{2+}) en plus des cellules porteuses. Dans un exemple, la composition comprend des ions sodium, des ions potassium, des ions magnésium, des ions calcium, des ions manganèse, des ions fer, des ions cobalt, des ions cuivre, des ions zinc et/ou des ions molybdène.
- [0500] Dans un exemple, la composition est une composition d'engrais à végétaux. Dans un exemple, la composition est un herbicide. Dans un exemple, la composition est une composition pesticide destinée à être appliquée aux plantes.
- [0501] Dans tout mode de réalisation ou exemple, le cas échéant : Les plantes sont par exemple des plantes agricoles. Les plantes sont, par exemple, du blé. Les plantes sont, par exemple, du maïs alimentaire. Les plantes sont, par exemple, du maïs fourrager. Les plantes sont par exemple des plantes fruitières. Les plantes sont par exemple des plantes potagères. Les plantes sont par exemple des plants de tomates. Les plantes sont par exemple des plants de pommes de terre. Les plantes sont par exemple des graminées. Les plantes sont, par exemple, des plantes à fleurs. Les plantes sont, par exemple, des arbres. Les plantes sont, par exemple, des arbustes.
- [0502] Dans un exemple, la composition est destinée à une application environnementale, l'environnement étant un environnement extérieur (par exemple une application à un champ ou un cours d'eau ou un réservoir).
- [0503] Dans un exemple, la composition est comprise par un aliment ou un ingrédient alimentaire (par exemple pour consommation humaine ou animale). Dans un exemple, la composition est comprise par une boisson ou un ingrédient de boisson (par exemple pour consommation humaine ou animale).

- [0504] Dans un exemple, la ou les cellule(s) cible(s) sont des cellules de biofilm trouvées chez un humain, le biofilm étant par exemple un biofilm intestinal, cutané, pulmonaire, ophtalmique, nasal, d'oreille, de tractus gastro-intestinal (tractus GI), stomacal, capillaire, rénal, urétral, de bronchiole, de la cavité buccale, buccal, hépatique, cardiaque, anal, rectal, vésical, du côlon, intestinal, pénien, vaginal ou scrotal. Dans un exemple, la ou les cellule(s) cible(s) sont des cellules de biofilm animal, le biofilm étant par exemple un biofilm intestinal, cutané, pulmonaire, ophtalmique, nasal, d'oreille, de tractus gastro-intestinal (tractus GI), du caecum, jéjunal, iléal, du côlon, stomacal, capillaire, de plumes, d'écailles, rénal, urétral, de bronchiole, de la cavité buccale, buccal, hépatique, de la rate, cardiaque, anal, rectal, vésical, du côlon, intestinal, pénien, vaginal ou scrotal. Par exemple, le biofilm est un biofilm de caecum d'oiseau (par exemple de poulet). Par exemple, le biofilm est un biofilm du tractus gastro-intestinal (tractus GI) d'un oiseau (par exemple de poulet), du caecum, jéjunal, iléal, du côlon, stomacal.
- [0505] Dans un exemple, tout procédé mentionné ici est ex vivo. Dans un exemple, un procédé mentionné ici est in vivo. Dans un exemple, un procédé mentionné ici est in vitro. Dans un exemple, un procédé mentionné ici est mis en œuvre dans un environnement, par exemple dans un environnement domestique (tel que dans une maison), industriel (tel que dans une usine) ou agricole (tel que dans un champ). Dans un exemple, un procédé mentionné ici est mis en œuvre dans ou sur un récipient ; ou sur une surface.
- [0506] Dans un exemple, chaque vecteur (par exemple un plasmide) code pour un ou plus composant(s) d'un système CRISPR/Cas utilisable pour réaliser une coupe de protoespaceur de vecteur dans la cellule cible (le protoespaceur comprenant par exemple 10-20, 10-30, 10-40, 10-100, 12-15 ou 12-20 nucléotides consécutifs capables de s'hybrider dans la cellule cible avec un ARNcr ou ARNg codé par le vecteur). Par exemple, le système est un système CRISPR/Cas de Type I, II, III, IV ou V.
- [0507] Dans un exemple, chaque vecteur code pour une Cas9 (et optionnellement une deuxième Cas, différente, tel qu'une Cas3, Cas9, Cpf1, Cas13a, Cas13b ou Cas10) ; et/ou une Cas3 (et optionnellement une deuxième Cas, différente, tel qu'une Cas3, Cas9, Cpf1, Cas13a, Cas13b ou Cas10). Dans un exemple, chaque vecteur code pour une Cas sélectionnée parmi Cas3, Cas9, Cpf1, Cas13a, Cas13b et Cas10. De plus ou alternativement, le vecteur code pour un ARN guide ou ARNcr ou ARNtracr. Par exemple, l'ARN guide ou l'ARNcr ou l'ARNtracr est apparenté à (c'est-à-dire exploitable avec, dans la cellule cible) la première Cas.
- [0508] Dans un exemple, une Cas mentionnée ici est une Cas9. Dans un exemple, une Cas mentionnée ici est une Cas3. La Cas peut être identique à une Cas codé par la bactérie cible.

- [0509] Dans un mode de réalisation, chaque plasmide est un vecteur navette.
- [0510] Optionnellement, la cellule cible est dépourvue d'un système CRISPR/Cas endogène fonctionnel avant le transfert du vecteur dans celle-ci, par exemple, le vecteur codant par exemple pour un composant d'un système CRISPR/Cas exogène qui est fonctionnel dans la cellule cible. Un mode de réalisation fournit un médicament comprenant une pluralité de cellules porteuses de l'invention, chaque cellule cible étant optionnellement selon ce paragraphe, destinée à une administration à un sujet humain ou animal à des fins médicales.
- [0511] Dans un exemple, la composition de l'invention est un herbicide, pesticide, insecticide, engrais à végétaux ou agent de nettoyage.
- [0512] Optionnellement, les bactéries cibles mentionnées ici sont comprises par un microbiote du sujet, par exemple un microbiote intestinal. Alternativement, le microbiote est un microbiote de la peau, du cuir chevelu, des cheveux, de l'oeil, de l'oreille, oral, de la gorge, des poumons, du sang, du rectal, anal, vaginal, scrotal, pénien, nasal ou de la langue.
- [0513] Dans un exemple, le sujet (par exemple humain ou animal) se voit en outre administrer un médicament simultanément ou séquentiellement avec l'administration des cellules porteuses. Dans un exemple, le médicament est un antibiotique, anticorps ou fragment d'anticorps (par exemple un scFv, nanocorps ou Fab), un inhibiteur de point de contrôle immunitaire (par exemple un anticorps anti-PD-1, anti-PD-L1 ou anti-CTLA4), thérapie cellulaire adoptive (par exemple thérapie CAR-T) ou un vaccin.
- [0514] Dans un mode de réalisation, le vecteur code pour une nucléase guidée, telle qu'une nucléase Cas, TALEN, une nucléase à doigt de zinc ou une méganucléase. Ainsi, P2 peut comprendre une nucléase guidée, telle qu'une nucléase Cas, TALEN, une nucléase à doigt de zinc ou une méganucléase. Optionnellement, le vecteur code pour une nucléase de restriction qui est capable de couper le vecteur et/ou le génome de la cellule porteuse (par exemple le chromosome de la cellule porteuse).
- [0515] Optionnellement, la composition est une composition pharmaceutique destinée une utilisation en médecine pratiquée sur un sujet humain ou animal. Optionnellement, la composition n'est pas un médicament.
- [0516] Dans un exemple, l'animal est un bétail ou un animal de compagnie (par exemple un/une vache, cochon, chèvre, mouton, cheval, chien, chat ou lapin). Dans un exemple, l'animal est un insecte (un insecte à n'importe quel stade de son cycle de vie, par exemple un œuf, une larve ou une pupe). Dans un exemple, l'animal est un protozoaire. Dans un exemple, l'animal est un céphalopode.
- [0517] Optionnellement, la composition est un herbicide, un pesticide, un agent de traitement d'aliment ou de boisson, un additif d'aliment ou de boisson, un agent de traitement pétrochimique ou de carburant, un agent de purification de l'eau, un additif

cosmétique, un additif détergent ou un additif environnemental (par exemple du sol) ou un agent de nettoyage.

- [0518] Par exemple, les bactéries porteuses sont des bactéries *Lactobacillus* (par exemple *L reuteri* ou *L lactis*), *E coli*, *Bacillus* ou *Streptococcus* (par exemple *S thermophilus*). De manière utile, la porteuse peut fournir une protection pour le plasmide vis-à-vis de l'environnement alentour. L'utilisation d'une porteuse peut être utile pour une administration orale ou d'autres voies là où la porteuse peut fournir une protection pour le vecteur contre l'estomac acide ou d'autres environnements difficiles chez le sujet. En outre, la porteuse peut être formulée en une boisson, par exemple une boisson probiotique, par exemple un Yakult (marque déposée), Actimel (marque déposée), Kevita (marque déposée), Activia (marque déposée), Jarrow (marque déposée) adaptés ou une boisson similaire pour une consommation humaine.
- [0519] Optionnellement, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition sont destinées à une administration à un sujet humain ou animal à des fins médicales, comprenant la mise à mort de bactéries cibles en utilisant P1 ou un métabolite de celui-ci qui est produit dans la cellule cible, les bactéries cibles médiant en tant que maladie ou affection chez le sujet. Dans un exemple, lorsque le sujet est un humain, le sujet n'est pas un embryon. Dans un exemple, les cellules porteuses sont probiotiques chez le sujet.
- [0520] Optionnellement, l'environnement est un microbiote de sol ; une plante, une partie d'une partie (par exemple une feuille, un fruit, un légume ou une fleur) ou un produit végétal (par exemple une pulpe) ; de l'eau ; un cours d'eau ; un fluide ; un aliment ou un ingrédient de celui-ci ; une boisson ou un ingrédient de celle-ci ; un dispositif médical ; un produit cosmétique ; un détergent ; du sang ; un fluide corporel ; un appareil médical ; un appareil industriel ; une plate-forme pétrolière ; un appareil de traitement, de stockage ou de transport pétrochimique ; un véhicule ou un récipient.
- [0521] Optionnellement, l'environnement est un fluide corporel (par exemple urine, sang, produit sanguin, sueur, larmes, expectoration ou crachat), solide corporel (par exemple matières fécales) ou tissu *ex vivo* d'un sujet humain ou animal à qui la composition a été administrée.
- [0522] Optionnellement, l'environnement est un fluide corporel (par exemple urine, sang, produit sanguin, sueur, larmes, expectoration ou crachat), solide corporel (par exemple matières fécales) ou tissu *in vivo* d'un sujet humain ou animal à qui la composition a été administrée.
- [0523] Dans un mode de réalisation, le plasmide est un phagémide ou un vecteur de clonage (par exemple un vecteur navette, par exemple un vecteur pUC). Dans un mode de réalisation, le plasmide est un plasmide conjugatif.
- [0524] Optionnellement, P2 comprend un ou plus composant(s) d'un système CRISPR/Cas,

par exemple une séquence d'ADN codant pour un ou plus composant(s) de Cascade de Type I (par exemple CasA).

- [0525] Optionnellement, P2 comprend une séquence d'ADN codant pour une nucléase guidée, telle qu'une nucléase Cas, TALEN, une nucléase à doigts de zinc ou une méga-nucléase.
- [0526] Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition sont comprises par un récipient médical, par exemple un/une seringue, flacon, poche à IV, inhalateur, compte-gouttes oculaire ou nébuliseur. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par un récipient stérile. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par un récipient compatible médicalement. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par un récipient de fermentation, par exemple un récipient en métal, verre ou plastique. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par un appareil agricole. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par un appareil de production ou de transformation d'aliment. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par un appareil horticole. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par un appareil agricole. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par un appareil de récupération ou de transformation de produits pétrochimiques. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par un appareil de distillation. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par un réceptacle de culture cellulaire (par exemple ayant une capacité d'au moins 50, 100, 1 000, 10 000 ou 100 000 litres). De plus ou alternativement, la ou les cellule(s) cible(s) sont comprises par l'un quelconque de ces appareils, etc.
- [0527] Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition sont comprises par un médicament, par exemple en combinaison avec des instructions ou une étiquette d'emballage avec des instructions pour administrer le médicament par voie orale, IV, sous-cutanée, intranasale, intraoculaire, vaginale, topique, rectale ou inhalée à un sujet humain ou animal. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par une formulation médicamenteuse orale. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par une formulation médicamenteuse intranasale ou oculaire. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par une composition d'hygiène personnelle (par exemple shampoing, savon ou déodorant) ou une formulation cosmétique. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprise(s) par une formulation détergente. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la com-

position sont comprises par une formulation nettoyante, pour par exemple nettoyer un dispositif ou appareil médical ou industriel. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par un produit alimentaire, un ingrédient de produit alimentaire ou un agent de transformation de produit alimentaire. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par une boisson, un ingrédient de boisson ou un agent de transformation de boisson. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par un bandage médical, un tissu, un pansement ou un dispositif de prélèvement. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par un herbicide ou pesticide. Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont comprises par un insecticide.

[0528] Dans un exemple, le ou les composant(s) CRISPR/Cas sont un/des composant(s) d'un système CRISPR/Cas de Type I. Dans un exemple, le ou les composant(s) CRISPR/Cas sont un/des composant(s) d'un système CRISPR/Cas de Type II. Dans un exemple, le ou les composant(s) CRISPR/Cas sont un/des composant(s) d'un système CRISPR/Cas de Type III. Dans un exemple, le ou les composant(s) CRISPR/Cas sont un/des composant(s) d'un système CRISPR/Cas de Type IV. Dans un exemple, le ou les composant(s) CRISPR/Cas sont un/des composant(s) d'un système CRISPR/Cas de Type V. Dans un exemple, le ou les composant(s) CRISPR/Cas comprennent une séquence nucléotidique codant pour une Cas9 (par exemple Cas9 de *S pyogenes*, Cas9 de *S aureus* ou Cas9 de *S thermophilus*). Dans un exemple, le ou les composant(s) CRISPR/Cas comprennent une séquence nucléotidique codant pour une Cas3 (par exemple Cas3 d'*E coli*, Cas3 de *C difficile* ou Cas3 de *Salmonella*). Dans un exemple, le ou les composant(s) CRISPR/Cas comprennent une séquence nucléotidique codant pour la Cpf. Dans un exemple, le ou les composant(s) CRISPR/Cas comprennent une séquence nucléotidique codant pour une CasX. Dans un exemple, le ou les composant(s) CRISPR/Cas comprennent une séquence nucléotidique codant pour une CasY.

[0529] Optionnellement, les bactéries cibles sont des bactéries à Gram négatif (par exemple une spirille ou une vibron). Optionnellement, les bactéries cibles sont des bactéries à Gram positif. Optionnellement, les bactéries cibles sont des mycoplasmes, chlamydiae, spirochètes ou mycobactéries. Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Streptococcus* (par exemple *pyogenes* ou *thermophilus*). Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Staphylococcus* (par exemple *aureus*, par exemple SARM). Optionnellement, les bactéries cibles sont des *E. coli* (par exemple O157:H7), la Cas étant par exemple codée par le veceur ou une activité de nucléase Cas de cellule cible endogène (par exemple Cas3) est dé-réprimée. Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Pseudomonas* (par exemple *syringae* ou *aeruginosa*). Optionnellement, les bactéries

cibles sont des *Vibro* (par exemple *cholerae* (par exemple O139) ou *vulnificus*). Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Neisseria* (par exemple *gonorrhoeae* ou *meningitidis*). Optionnellement, les bactéries cibles sont *Bordetella* (par exemple *pertussis*). Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Haemophilus* (par exemple *influenzae*). Optionnellement, les bactéries cibles sont *Shigella* (par exemple *dysenteriae*). Optionnellement, les bactéries cibles sont *Brucella* (par exemple *abortus*). Optionnellement, les bactéries cibles sont l'hôte *Francisella*. Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Xanthomonas*. Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Agrobacterium*. Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Erwinia*. Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Legionella* (par exemple *pneumophila*). Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Listeria* (par exemple *monocytogenes*). Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Campylobacter* (par exemple *jejuni*). Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Yersinia* (par exemple *pestis*). Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Borelia* (par exemple *burgdorferi*). Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Helicobacter* (par exemple *pylori*). Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Clostridium* (par exemple *difficile* ou *botulinum*). Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Erlichia* (par exemple *chaffeensis*). Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Salmonella* (par exemple *typhi* ou *enterica*, par exemple sérotype *typhimurium*, par exemple DT 104). Optionnellement, les bactéries cibles sont *Chlamydia* (par exemple *pneumoniae*). Optionnellement, les bactéries cibles sont l'hôte *Parachlamydia*. Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Corynebacterium* (par exemple *amycolatum*). Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Klebsiella* (par exemple *pneumoniae*). Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Enterococcus* (par exemple *faecalis* ou *faecim*, par exemple résistantes au linézolide). Optionnellement, les bactéries cibles sont des *Acinetobacter* (par exemple *baumannii*, par exemple multirésistantes aux médicaments).

[0530] D'autres exemples de cellules cibles sont comme suit : -

[0531] (a) Optionnellement, les bactéries cibles sont des cellules de *Staphylococcus aureus*, par exemple résistantes à un antibiotique sélectionné parmi la méthicilline, la vancomycine, le linézolide, la daptomycine, la quinupristine, la dalfoprastine et la teicoplanine.

[0532] (b) Optionnellement, les bactéries cibles sont des cellules de *Pseudomonas aeruginosa*, par exemple résistantes à un antibiotique sélectionné parmi les céphalosporines (par exemple la ceftazidime), les carbapénèmes (par exemple l'imipénème ou le méropénème), les fluoroquinolones, les aminoglycosides (par exemple la gentamicine ou la tobramycine) et la colistine.

[0533] (c) Optionnellement, les bactéries cibles sont des cellules de *Klebsiella* (par exemple *pneumoniae*), par exemple résistantes au carbapénème.

- [0534] (d) Optionnellement, les bactéries cibles sont des cellules de *Streptococcus* (par exemple *thermophilus*, *pneumoniae* ou *pyogenes*), par exemple résistantes à un antibiotique sélectionné parmi l'érythromycine, la clindamycine, le bêta-lactame, le macrolide, l'amoxicilline, l'azithromycine et la pénicilline.
- [0535] (e) Optionnellement, les bactéries cibles sont des cellules de *Salmonella* (par exemple de sérotype *Typhi*), par exemple résistantes à un antibiotique sélectionné parmi la ceftriaxone, l'azithromycine et la ciprofloxacine.
- [0536] (f) Optionnellement, les bactéries cibles sont des cellules de *Shigella*, par exemple résistantes à un antibiotique sélectionné parmi la ciprofloxacine et l'azithromycine.
- [0537] (g) Optionnellement, les bactéries cibles sont des cellules de *Mycobacterium tuberculosis*, par exemple résistantes à un antibiotique sélectionné parmi résistance à l'isoniazide (INH), la rifampicine (RMP), la fluoroquinolone, l'amikacine, la kanamycine et la capréomycine et l'azithromycine.
- [0538] (h) Optionnellement, les bactéries cibles sont des cellules d'*Enterococcus*, par exemple résistantes à la vancomycine.
- [0539] (i) Optionnellement, les bactéries cibles sont des cellules d'*Enterobacteriaceae*, par exemple résistantes à un antibiotique sélectionné parmi une céphalosporine et un carbapénème.
- [0540] (j) Optionnellement, les bactéries cibles sont des cellules d'*E. coli*, par exemple résistantes à un antibiotique sélectionné parmi le triméthoprim, l'itrofurantoïne, la céfalexine et l'amoxicilline.
- [0541] (k) Optionnellement, les bactéries cibles sont des cellules de *Clostridium* (par exemple *difficile*), par exemple résistantes à un antibiotique sélectionné parmi l'antibiotique fluoroquinolone et le carbapénème.
- [0542] (l) Optionnellement, les bactéries cibles sont des cellules de *Neisseria gonorrhoea*, par exemple résistantes à un antibiotique sélectionné parmi le céfixime (par exemple une céphalosporine orale), la ceftriaxone (une céphalosporine injectable), l'azithromycine et la tétracycline.
- [0543] (m) Optionnellement, les bactéries cibles sont des cellules d'*Acinetobacter baumannii*, par exemple résistantes à un antibiotique sélectionné parmi le bêta-lactame, le méropénème et un carbapénème.
- [0544] (n) Optionnellement, les bactéries cibles sont des cellules de *Campylobacter* (ex. *jejuni*), par exemple résistantes à un antibiotique sélectionné parmi la ciprofloxacine et l'azithromycine.
- [0545] (o) Optionnellement, la ou les cellule(s) cible(s) produisent de la bêta (β)-lactamase (par exemple *E. coli* productrice de BLSE* ou *Klebsiella* productrice de BLSE). [* (β)-lactamase à Spectre Elargi]
- [0546] (p) Optionnellement, la ou les cellule(s) cible(s) sont des cellules bactériennes qui

sont résistantes à un antibiotique énoncé dans l'un quelconque des exemples (a) à (n).

- [0547] Dans un exemple, la ou les cellule(s) cible(s) sont une cellule d'une espèce sélectionnée parmi *Shigella*, *E. coli*, *Salmonella*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Pseudomonas* et *Enterobacter*, le sujet étant par exemple une plante. Optionnellement, la composition comprend des cellules porteuses qui sont chacune ou en combinaison capables de transfert conjugatif de l'acide nucléique du vecteur jusque dans des cellules cibles d'espèces sélectionnées parmi deux ou plus parmi *Shigella*, *E coli*, *Salmonella*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Pseudomonas* et *Enterobacter*, par exemple le sujet étant une plante.
- [0548] Dans un exemple, la réduction de la croissance ou de la prolifération des cellules cibles est d'au moins 50, 60, 70, 80, 90 ou 95 %.
- [0549] Dans des modes de réalisation, le plasmide contient un gène marqueur criblable ou sélectionnable. Par exemple, le gène marqueur sélectionnable est un gène de résistance aux antibiotiques.
- [0550] Les bactéries porteuses peuvent être des bactéries d'une espèce ou d'un genre comme suit. Par exemple, l'espèce se trouve chez les animaux à sang chaud (par exemple les vertébrés de type bétail). Par exemple, l'espèce se trouve chez les humains. Par exemple, l'espèce se trouve chez les plantes. De préférence, des bactéries non pathogènes qui colonisent les parties non stériles du corps humain ou animal (par exemple peau, tractus digestif, région urogénitale, bouche, voies nasales, gorge et voies respiratoires supérieures, oreilles et yeux) sont utilisées comme cellules porteuses, et dans un exemple, la méthodologie de l'invention est utilisée pour combattre une infection bactérienne de cellule cible d'une telle partie du corps d'un humain ou d'un animal. Dans un autre mode de réalisation, l'infection est une infection systémique. Des exemples d'espèces bactériennes porteuses comprennent, mais ne sont pas limités à : des souches non pathogènes d'*Escherichia coli* (*E. coli* F18, S17 et *E. coli* de souche Nissle), diverses espèces de *Lactobacillus* (telles que *L. casei*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. zeae* et *L. gasseri*), ou d'autres bactéries non pathogènes ou probiotiques colonisant la peau ou l'appareil digestif telles que *Lactococcus*, *Bifidobacteria*, *Eubacteria* et les mini-cellules bactériennes, qui sont des cellules anucléoïdes destinées à mourir mais toujours capable de transférer des plasmides (voir par exemple Adler et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 57 ; 321-326, 1970 ; Frazer et Curtiss III, Current Topics in Microbiology and Immunology* 69 : 1-84, 1975 (*de l'anglais, soit « Sujets actuels en microbiologie et immunologie ») ; Brevet US n° 4,968,619 délivré à Curtiss III). Dans certains modes de réalisation, les cellules réceptrices cibles sont des bactéries pathogènes comprises par un humain, un animal ou une plante, par exemple sur la peau ou dans le tractus digestif, la région urogénitale, la bouche, les voies nasales, la gorge et les voies respiratoires supérieures, un

ou les yeux(x) et une ou les oreille(s). Les souches pathogènes de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus pneumoniae* et autres espèces, *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp. et *Mycobacterium tuberculosis* présentent un intérêt particulier pour le ciblage et l'éradication.

- [0551] La présente invention trouve une utilisation dans un large éventail de contextes ou d'environnements, par exemple dans des contextes thérapeutiques, agricoles ou autres, y compris, mais sans s'y limiter, ceux décrits dans les brevets US 6,271,359, 6,261,842, 6,221,582, 6,153,381, 6,106,854 et 5,627,275. D'autres sont également mentionnés ici, et d'autres encore apparaîtront facilement aux personnes du métier.
- [0552] Une seule souche bactérienne porteuse peut héberger plus d'un type de ce vecteur (par exemple différant par le P1 pour lequel ils codent). En outre, dans un autre exemple, deux ou plus souches bactériennes porteuses différentes, chacune contenant un ou plus de ces vecteurs, peuvent être combinées pour produire une pluralité de produits P1 différents chez le sujet.
- [0553] La présente invention trouve une utilité pour le traitement des humains et dans une variété d'applications vétérinaires, agronomiques, horticoles et de transformation alimentaire. Pour un usage humain et vétérinaire, et selon la population cellulaire ou le tissu ciblé pour la protection, les modes d'administration suivants des bactéries porteuses de l'invention sont envisagés : topique, oral, nasal, oculaire, auditif, pulmonaire (par exemple via un inhalateur), ophtalmique, rectal, urogénital, sous-cutané, intrapéritonéal et intraveineux. Les bactéries peuvent être fournies sous la forme d'une composition pharmaceutique, dans un véhicule de distribution adapté au mode d'administration sélectionné pour le patient traité. Le terme « patient » ou « sujet » tel qu'utilisé ici peut désigner des humains ou des animaux (les animaux étant particulièrement utiles comme modèles pour l'efficacité clinique d'une souche donneuse particulière, par exemple, ou étant des animaux de ferme ou d'élevage). Des animaux commercialement pertinents sont le/la poulet, dinde, canard, poisson-chat, saumon, morue, hareng, homard, les crevettes roses, crevettes grises, vaches, moutons, chèvres, porcs, chèvres, oies ou lapins.
- [0554] Par exemple, pour distribuer les bactéries vectrices dans le tractus gastro-intestinal ou dans les voies nasales, le mode d'administration préféré peut être par ingestion orale ou aérosol nasal, ou par l'alimentation (isolément ou incorporée dans l'alimentation ou la nourriture et/ou la boisson du sujet, comme l'eau de boisson). A cet égard, les cellules porteuses peuvent être comprises par un aliment pour bétail (ou animal d'élevage ou de compagnie), par exemple les bactéries porteuses sont comprises par un additif alimentaire pour bétail. En variante, l'additif est un additif de boisson (par exemple de l'eau) pour le bétail. Il est à noter que les bactéries probiotiques, telles que *Lactobacillus acidophilus*, sont commercialisées sous forme de capsules gélifiées contenant

un mélange lyophilisé de cellules bactériennes et un support solide tel que du mannitol. Lorsque la gélule est ingérée avec du liquide, les cellules lyophilisées sont réhydratées et deviennent des bactéries colonogènes viables. Ainsi, d'une manière similaire, les cellules bactériennes porteuses de la présente invention peuvent être fournies sous la forme d'une préparation pulvérulente lyophilisée dans une capsule de gel, ou en vrac, par exemple, à saupoudrer sur des aliments ou boissons. Les cellules bactériennes viables réhydratées peupleront et/ou coloniseront ensuite des sites dans tout le système gastro-intestinal supérieur et/ou inférieur, et entreront ensuite en contact avec les bactéries cibles.

- [0555] Pour des applications topiques, les bactéries porteuses peuvent être formulées sous forme de pommade ou de crème à disperser sur la surface cutanée affectée. Les formulations d'onguent ou de crème conviennent également à une administration rectale ou vaginale, ainsi que d'autres formulations standard, telles que les suppositoires. Les formulations appropriées pour une administration topique, vaginale ou rectale sont bien connues des chimistes médicaux.
- [0556] La présente invention peut être utile pour des administrations topiques ou muqueuses pour traiter une variété d'infections bactériennes ou d'affections indésirables liés aux bactéries. Certains exemples représentatifs de ces utilisations incluent le traitement (1) de la conjonctivite, provoquée par *Haemophilus* sp., et des ulcères cornéens, provoqués par *Pseudomonas aeruginosa* ; (2) de l'otite externe, provoquée par *Pseudomonas aeruginosa* ; (3) de la sinusite chronique, provoquée par de nombreux cocci à Gram positif et bâtonnets à Gram négatif, ou pour une décontamination générale des bronches ; (4) de la fibrose kystique, associée à *Pseudomonas aeruginosa* ; (5) de l'entérite provoquée par *Helicobacter pylori* (par exemple pour traiter ou prévenir les ulcères gastriques), *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Campylobacter* ou *Shigella* sp. ; (6) des plaies ouvertes, telles que chirurgicales ou non chirurgicales, par exemple en tant que mesure prophylactique ; (7) des brûlures pour éliminer *Pseudomonas aeruginosa* ou d'autres pathogènes à Gram négatif ; (8) de acné, par exemple provoquée par *Propionobacter acnes* ; (9) des infection nasales ou cutanées, par exemple provoquées par *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) ; (10) des odeurs corporelles, par exemple provoquées par des bactéries anaérobies à Gram positif (c-à-d. utilisation de cellules porteuses dans des déodorants) ; (11) de la vaginose bactérienne, par exemple associée à *Gardnerella vaginalis* ou à d'autres anaérobies ; et (12) de la gingivite et/ou de la carie dentaire provoquées par divers organismes.
- [0557] Dans un exemple, les cellules cibles sont des cellules d'*E coli* et la maladie ou l'affection à traiter ou à prévenir chez un être humain est une infection du tractus utérin ou une infection associée à un ventilateur, par exemple une pneumonie, un sepsis, une

septicémie ou un SHU.

[0558] Dans d'autres modes de réalisation, les cellules porteuses de la présente invention trouvent une application dans le traitement de surfaces pour le retrait ou l'atténuation de bactéries cibles indésirables ou pour la modification de bactéries sur les surfaces, par exemple une utilisation dans un procédé de traitement d'une telle surface ou d'un tel environnement comprenant des bactéries cibles, le procédé comprenant la mise en contact de la surface ou de l'environnement avec des bactéries porteuses de l'invention, permettant le transfert de l'acide nucléique du vecteur de l'invention des bactéries porteuses aux cibles, et l'expression de P1 dans des cellules cibles. Par exemple, les surfaces qui peuvent être utilisées dans des traitements invasifs tels que la chirurgie, le cathétérisme et similaires peuvent être traitées pour empêcher une infection d'un sujet par des contaminants bactériens sur la surface. Il est envisagé que les procédés et compositions de la présente invention puissent être utilisés pour traiter de nombreuses surfaces, objets, matériaux et similaires (par exemple des équipements médicaux ou de premiers soins, des équipements et surfaces de garderie (en anglais : « nursery ») et de cuisine) pour contrôler la contamination bactérienne sur ceux-ci.

[0559] Des préparations pharmaceutiques ou d'autres compositions comprenant les bactéries porteuses peuvent être formulées sous forme de dosage unitaire pour faciliter l'administration et l'uniformité du dosage. La forme unitaire du dosage, telle qu'utilisée ici, fait référence à une unité physiquement discrète de la préparation pharmaceutique appropriée pour le patient ou la plante ou l'environnement ou la surface subissant un traitement. Chaque dosage doit contenir une quantité des bactéries porteuses calculée pour produire l'effet antibactérien souhaité en association avec la porteuse sélectionnée. Les procédures pour déterminer l'unité de dosage appropriée sont bien connues des personnes du métier. Les unités de dosage peuvent être proportionnellement augmentées ou diminuées en fonction du poids d'un/une patient, plante, surface ou environnement. Des concentrations appropriées pour obtenir l'éradication des cellules cibles pathogènes (par exemple comprises par un tissu du patient) peuvent être déterminées par des calculs de courbe de concentration de dosage, comme cela est connu dans l'art.

[0560] D'autres utilisations des bactéries porteuses de l'invention sont également envisagées. Celles-ci comprennent une variété d'applications agricoles, horticoles, environnementales et de transformation alimentaire. Par exemple, dans l'agriculture et l'horticulture, diverses bactéries phytopathogènes peuvent être ciblées afin de minimiser les maladies des plantes. Un exemple d'agent pathogène végétal convenant au ciblage est *Erwinia* (par exemple *E amylovora*, l'agent à l'origine du feu bactérien). Des stratégies similaires peuvent être utilisées pour réduire ou prévenir le flétrissement de fleurs coupées. Pour l'élevage vétérinaire ou animal, les cellules porteuses de

l'invention peuvent être incorporées dans l'alimentation animale (poulets, porcs, volailles, chèvres, moutons, poissons, fruits de mer ou aliments pour bovins) afin de réduire la charge biologique ou d'éliminer certains organismes pathogènes (par exemple *Salmonella*, comme dans le poulet, la dinde ou d'autres volailles). Dans d'autres modes de réalisation, l'invention peut être appliquée sur la viande ou d'autres aliments pour éliminer des bactéries indésirables ou pathogènes (par exemple *E. coli* O157:H7 sur la viande, ou *Proteus* spp., une cause de "l'odeur de poisson" sur les fruits de mer).

- [0561] Les utilités environnementales comprennent, par exemple bactéries porteuses issues d'une ingénierie, par exemple *Bacillus thurengiensis* et l'un de ses plasmides conjugatifs, pour délivrer et exprimer conditionnellement un agent insecticide en plus ou à la place d'un agent antibactérien (par exemple pour le contrôle des moustiques qui disséminent le paludisme ou virus du Nil occidental). Dans de telles applications, ainsi que dans les applications agricoles et horticoles ou autres décrites ci-dessus, la formulation des bactéries porteuses en tant que solutions, aérosols ou gélules est envisagée.
- [0562] Dans un exemple, le plasmide (par exemple lorsque le microbiote est un microbiote humain, animal ou végétal) est un plasmide RK2 ayant subi une modification (c'est-à-dire un plasmide RK2 qui a été modifié par la technologie à ADN recombinant ou une descendance d'un tel plasmide modifié). Le plasmide RK2 est un plasmide de promiscuité qui peut se répliquer dans 29 (et probablement beaucoup plus) espèces à Gram négatif (Guiney and Lanka, 1989, p 27-54. In C. M. Thomas (ed) Promiscuous plasmids in gram-negative bacteria. London, Ltd London United Kingdom. ; de l'anglais « Guiney et Lanka, 1989, p 27-54. Dans C. M. Thomas (ed) Plasmides de promiscuité dans des bactéries à Gram négatif. Londres, Ltd London United Kingdom »). Le plasmide RK2 est un plasmide autotransmissible de 60 kb avec une séquence nucléotidique complète connue (Pansegrau et al., 1994, J. Mol. Biol. 239, 623-663). Un réplicon minimal dérivé de ce grand plasmide a été obtenu, lequel est dépourvu de tous ses gènes à l'exception d'un gène *trfA*, qui code pour la protéine Rep du plasmide appelée TrfA, et d'une origine de réplication végétative *oriV* Pour un rappel de la réplication de RK2 et de son contrôle par la protéine TrfA, voir Helinski et al., 1996 (In *Escherichia coli* and *Salmonella* Cellular and Molecular Biology, Vol. 2 (ed. F. Neidhardt, et al., 2295-2324, ASM Press, Washington DC).
- [0563] Dans un exemple, le plasmide (par exemple lorsque le microbiote est un microbiote humain, animal ou végétal) est un plasmide R6K ayant subi une modification (c'est-à-dire un plasmide R6K qui a été modifié par la technologie à ADN recombinant ou une descendance d'un tel plasmide modifié).
- [0564] La présente invention est optionnellement destinée à une utilisation industrielle ou

domestique, ou est utilisée dans un procédé pour une telle utilisation. Par exemple, elle est destinée à ou utilisée dans l'agriculture, l'industrie pétrolière ou des hydrocarbures, l'industrie alimentaire ou des boissons, l'industrie du vêtement, l'industrie de l'emballage, l'industrie électronique, l'industrie informatique, l'industrie environnementale, l'industrie chimique, l'industrie aérospatiale, l'industrie automobile, l'industrie biotechnologique, l'industrie médicale, l'industrie de la santé, l'industrie dentaire, l'industrie de l'énergie, l'industrie des produits de consommation, l'industrie pharmaceutique, l'industrie minière, l'industrie du nettoyage, l'industrie forestière, l'industrie de la pêche, l'industrie des loisirs, l'industrie du recyclage, l'industrie cosmétique, l'industrie des plastiques, l'industrie de la pâte à papier ou du papier, l'industrie textile, l'industrie de l'habillement, l'industrie du cuir ou daim ou des peaux animales, l'industrie du tabac ou l'industrie de l'acier.

[0565] La présente invention est optionnellement destinée à être utilisée dans une industrie ou l'environnement est un environnement industriel, l'industrie étant une industrie d'un domaine sélectionné à partir du groupe consistant en les domaines des industries médicale et des soins de santé ; pharmaceutique ; de l'alimentation humaine ; de l'alimentation animale ; des engrais à végétaux ; des boissons ; des produits laitiers ; de la transformation de la viande ; de l'agriculture ; de l'élevage ; de l'aviculture ; de la pisciculture et de la conchyliculture ; vétérinaire ; pétrolière ; gazière ; pétrochimique ; du traitement de l'eau ; du traitement des eaux usées ; de l'emballage ; électronique et informatique ; des soins de santé personnels et articles de toilette ; cosmétique ; dentaire ; dentaire non médicale ; ophtalmique ; ophtalmologie non médicale ; de l'extraction et du traitement de minéraux ; de l'extraction et du traitement de métaux ; de l'exploitation de carrières ; de l'aviation ; automobile ; ferroviaire ; de l'expédition ; spatiale ; environnementale ; du traitement du sol ; de la pâte et du papier ; de la confection de vêtements ; des teintures ; de l'impression ; des adhésifs ; du traitement de l'air ; des solvants ; de la biodéfense ; des suppléments vitaminiques ; de l'entreposage frigorifique ; du rouissage et de la production de fibres ; de la biotechnologie ; chimique ; des produits de nettoyage industriels ; des produits d'entretien ménager ; des savons et détergents ; des produits de consommation ; de la sylviculture ; de la pêche ; des loisirs ; du recyclage ; des plastiques ; de la peau, des cuirs et du daim ; de la gestion des déchets ; des funérailles et de l'entreprise ; du carburant ; de la construction ; de l'énergie ; de l'acier ; et du tabac.

[0566] Dans un exemple, le plasmide comprend une matrice CRISPR, la matrice comprenant un, ou deux ou plus espaceurs différents (par exemple 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 espaceurs ou plus) pour cibler le vecteur et/ou le génome d'une bactérie porteuse.

[0567] Dans un exemple, les bactéries cibles sont comprises par un environnement comme

suit. Dans un exemple, l'environnement est un microbiote d'un humain, par exemple le microbiote de la cavité buccale ou le microbiote intestinal ou le système sanguin. Dans un exemple, l'environnement n'est pas un environnement dans ou sur un humain. Dans un exemple, l'environnement n'est pas un environnement dans ou sur un animal non humain. Dans un mode de réalisation, l'environnement est un environnement aérien. Dans un mode de réalisation, l'environnement est un environnement agricole. Dans un mode de réalisation, l'environnement est un environnement de récupération de pétrole ou d'hydrocarbures, par exemple un champ ou un puits de pétrole ou d'hydrocarbures. Dans un exemple, l'environnement est un environnement dans ou sur un produit alimentaire ou une boisson pour la consommation humaine ou animale non humaine. Dans un exemple, l'environnement est un environnement maritime, par exemple dans l'eau de mer ou sur un bateau (par exemple dans l'eau de ballast d'un navire ou d'un bateau).

- [0568] Dans un exemple, l'environnement est un microbiote humain ou animal (par exemple microbiote intestinal, vaginal, du cuir chevelu, des aisselles, de la peau ou de la cavité buccale). Dans un exemple, les bactéries cibles sont comprises par un microbiote humain ou animal (par exemple microbiote intestinal, vaginal, du cuir chevelu, des aisselles, de la peau ou de la cavité buccale).
- [0569] Dans un exemple, les bactéries porteuses ou la composition de l'invention sont administrées par voie intranasale, topique ou orale à un animal humain ou non humain, ou sont destinées à une telle administration. La personne du métier visant à traiter un microbiote de l'humain ou l'animal saura déterminer le meilleur mode d'administration, en fonction du microbiote d'intérêt. Par exemple, lorsque le microbiote est un microbiote intestinal, l'administration peut être intranasale ou orale. Lorsque le microbiote est un microbiote du cuir chevelu ou des aisselles, l'administration peut être topique. Lorsque le microbiote est dans la bouche ou la gorge, l'administration peut se faire par voie orale.
- [0570] Dans un exemple, l'environnement est abrité par une boisson ou de l'eau (par exemple un cours d'eau ou de l'eau potable pour consommation humaine) ou un sol. L'eau se trouve optionnellement dans un système de chauffage, refroidissement ou industriel, ou dans un réservoir de stockage d'eau potable.
- [0571] Dans un exemple, les bactéries porteuses et/ou cibles sont des *Firmicutes* sélectionnées parmi *Anaerotruncus*, *Acetanaerobacterium*, *Acetitomaculum*, *Acetivibrio*, *Anaerococcus*, *Anaerofilum*, *Anaerosinus*, *Anaerostipes*, *Anaerovorax*, *Butyrivibrio*, *Clostridium*, *Capracoccus*, *Dehalobacter*, *Dialister*, *Dorea*, *Enterococcus*, *Ethanoligenens*, *Faecalibacterium*, *Fusobacterium*, *Gracilibacter*, *Guggenheimella*, *Hespellia*, *Lachnobacterium*, *Lachnospira*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Megamonas*, *Moryella*, *Mitsuokella*, *Oribacterium*, *Oxobacter*, *Papillibacter*, *Pro-*

prionispira, Pseudobutyrvibrio, Pseudoramibacter, Roseburia, Ruminococcus, Sarcina, Seionella, Shuttleworthia, Sporobacter, Sporobacterium, Streptococcus, Subdoligranulum, Syntrophococcus, Thermobacillus, Turibacter et Weisella.

- [0572] Dans un exemple, la bactérie porteuse, la composition, l'utilisation ou le procédé est destiné(e) à réduire les infections pathogènes ou à rééquilibrer le biofilm intestinal ou oral, par exemple pour traiter ou prévenir l'obésité ou une maladie chez un humain ou un animal ; ou pour traiter ou prévenir une affection GI (telle que la maladie de Crohn, une MII ou une colite). Par exemple, le vecteur, les bactéries porteuses, la composition, l'utilisation ou le procédé sont destinés à détruire les bactéries *Salmonella*, *Campylobacter*, *Erwinia*, *Xanthomonas*, *Edwardsiella*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Pectobacterium*, *Clostridium difficile* ou *E coli* dans un biofilm intestinal d'un humain ou animal ou d'une plante, de préférence chez un humain ou un animal.
- [0573] Dans un exemple, l'animal est un poulet, par exemple, et les bactéries cibles sont *Salmonella* ou *Campylobacter*. Dans un exemple, l'animal est un poisson (par exemple poisson-chat ou saumon) ou un fruit de mer (par exemple crevette ou homard), par exemple, et les bactéries cibles sont des *Edwardsiella*. Dans un exemple, la plante est un plant de pomme de terre et, par exemple les bactéries cibles sont des *Pectobacterium*. Dans un exemple, la plante est un plant de chou et, par exemple, les bactéries cibles sont des *Xanthomonas* (par exemple des *X campestris*).
- [0574] Optionnellement, l'environnement est compris par, ou les bactéries cibles sont comprises par, un biofilm intestinal, un biofilm cutané, un biofilm de la cavité buccale, un biofilm de la gorge, un biofilm des cheveux, un biofilm des aisselles, un biofilm vaginal, un biofilm rectal, un biofilm anal, un biofilm oculaire, un biofilm nasal, un biofilm lingual, un biofilm pulmonaire, un biofilm du foie, un biofilm rénal, un biofilm génital, un biofilm pénien, un biofilm scrotal, un biofilm de glande mammaire, un biofilm d'oreille, un biofilm de l'urètre, un biofilm labial, un biofilm d'organe ou un biofilm dentaire. Optionnellement, l'environnement est compris par, ou les bactéries cibles sont comprises par, une plante (par exemple un tabac, une plante cultivée, une plante fruitière, une plante potagère ou un tabac, par exemple à la surface d'une plante ou contenue dans une plante) ou par un environnement (par exemple un sol ou de l'eau ou un cours d'eau ou un liquide aqueux).
- [0575] *Maladies et affections*
- [0576] Dans un exemple, la ou les cellule(s) porteuse(s) ou la composition est/sont destinée(s) au traitement d'une maladie ou affection chez un animal ou humain. Dans un exemple, la maladie ou l'affection est provoqué(e) par ou médié(e) par la présence d'une protéine ou d'un métabolite chez le sujet humain ou animal et l'expression de P1 par des cellules cibles comprenant l'acide nucléique du vecteur provoque une réduction de la protéine ou du métabolite chez le sujet. Dans un exemple, la maladie ou

l'affection est provoquée par ou médiée par l'absence d'une protéine ou d'un métabolite chez le sujet humain ou animal et l'expression de P1 par des cellules cibles comprenant l'acide nucléique du vecteur provoque une augmentation de la protéine ou du métabolite chez le sujet. Dans un exemple, la maladie ou l'affection est provoquée par un niveau indésirablement élevé d'une protéine ou d'un métabolite chez le sujet humain ou animal et l'expression de P1 par des cellules cibles comprenant l'acide nucléique du vecteur provoque une réduction de la protéine ou du métabolite chez le sujet. Dans un exemple, la maladie ou l'affection est provoquée par un niveau indésirablement bas d'une protéine ou d'un métabolite chez le sujet humain ou animal et l'expression de P1 par des cellules cibles comprenant l'acide nucléique du vecteur provoque une augmentation de la protéine ou du métabolite chez le sujet. Le métabolite peut être un/une protéine, peptide, acide aminé, glucide, sucre, lipide, acide gras ou ion (par exemple un ion métallique). Le métabolite peut être toxique pour les cellules humaines du sujet humain. Le métabolite peut être une hormone, un facteur de croissance ou un antibiotique. Le métabolite peut être un minéral. Le métabolite peut être un sel. Le métabolite peut être un acide nucléique, par exemple un ARN (par exemple un ARNm) ou un ADN.

- [0577] Dans un exemple, la maladie ou l'affection est un cancer, une maladie ou une affection inflammatoire ou auto-immune, par exemple l'obésité, le diabète la MII IBD, une affection du tractus GI ou une affection de la cavité buccale.
- [0578] Optionnellement, la maladie ou l'affection d'un sujet humain ou animal est sélectionnée parmi
- [0579] (a) Une maladie ou affection neurodégénérative ;
- [0580] (b) Une maladie ou affection du cerveau ;
- [0581] (c) Une maladie ou affection du SNC ;
- [0582] (d) Perte ou altération de la mémoire ;
- [0583] (e) Une maladie ou affection cardiaque ou cardiovasculaire, par exemple une crise cardiaque, un accident vasculaire cérébral ou une fibrillation auriculaire ;
- [0584] (f) Une maladie ou affection du foie ;
- [0585] (g) Une maladie ou affection des reins, par exemple, une maladie rénale chronique (MRC) ;
- [0586] (h) Une maladie ou affection du pancréas ;
- [0587] (i) Une maladie ou affection pulmonaire, par exemple une fibrose kystique ou la MPOC ;
- [0588] (j) Une maladie ou affection gastro-intestinale ;
- [0589] (k) Une maladie ou affection de la gorge ou de la cavité buccale ;
- [0590] (l) Une maladie ou affection oculaire ;
- [0591] (m) Une maladie ou affection génitale, par exemple une maladie ou affection

- vaginale, labiale, pénienne ou scrotale ;
- [0592] (n) Une maladie ou affection sexuellement transmissible, par exemple une gonorrhée, infection par le VIH, la syphilis ou infection à *Chlamydia* ;
 - [0593] (o) Une maladie ou affection de l'oreille ;
 - [0594] (p) Une maladie ou affection de la peau ;
 - [0595] (q) Une maladie ou affection cardiaque ;
 - [0596] (r) Une maladie ou affection nasale ;
 - [0597] (s) Une maladie ou affection hématologique, par exemple une anémie, par exemple une anémie issue d'une maladie chronique ou d'un cancer ;
 - [0598] (t) Une infection virale ;
 - [0599] (u) Une infection bactérienne pathogène ;
 - [0600] (v) Un cancer ;
 - [0601] (w) Une maladie ou une affection auto-immune, par exemple le LED ;
 - [0602] (x) Une maladie ou une affection inflammatoire, par exemple la polyarthrite rhumatoïde, le psoriasis, l'eczéma, l'asthme, la rectocolite hémorragique, la colite, la maladie de Crohn ou une MICI (en anglais IBD) ;
 - [0603] (y) Autisme ;
 - [0604] (z) TDAH ;
 - [0605] (aa) Un trouble bipolaire ;
 - [0606] (bb) SLA [Sclérose Latérale Amyotrophique] ;
 - [0607] (cc) Arthrose ;
 - [0608] (dd) Un défaut ou une affection congénitale ou de développement ;
 - [0609] (ee) Une fausse couche ;
 - [0610] (ff) Une maladie de la coagulation du sang ;
 - [0611] (gg) Une bronchite ;
 - [0612] (hh) Une DMLA sèche ou humide ;
 - [0613] (ii) Une néovascularisation (par exemple d'une tumeur ou dans l'œil) ;
 - [0614] (jj) Un rhume commun ;
 - [0615] (kk) L'épilepsie ;
 - [0616] (ll) Une fibrose, par exemple fibrose hépatique ou pulmonaire ;
 - [0617] (mm) Une maladie ou une affection fongique, par exemple le muguet ;
 - [0618] (nn) Une maladie ou affection métabolique, par exemple, l'obésité, l'anorexie, les diabètes, les diabètes de Type I ou de Type II ;
 - [0619] (oo) Un/Des ulcère(s), par exemple, ulcération gastrique ou ulcération cutanée ;
 - [0620] (pp) Une peau sèche ;
 - [0621] (qq) Syndrome de Sjögren ;
 - [0622] (rr) Un choc cytokinique ;
 - [0623] (ss) Une surdité, perte ou déficience auditive ;

- [0624] (tt) Un métabolisme lent ou rapide (c-à-d plus lent ou plus rapide que la moyenne pour le poids, le sexe et l'âge du sujet) ;
- [0625] (uu) Un trouble de la conception, par exemple infertilité ou faible fertilité ;
- [0626] (vv) Un ictère ;
- [0627] (ww) Une éruption cutanée ;
- [0628] (xx) Une maladie de Kawasaki ;
- [0629] (yy) Une maladie de Lyme ;
- [0630] (zz) Une allergie, par exemple aux noix, à l'herbe, au pollen, aux acariens, à la fourrure de chat ou de chien ou aux squames ;
- [0631] (aaa) Le paludisme, la fièvre typhoïde, la tuberculose ou le choléra ;
- [0632] (bbb) Une dépression ;
- [0633] (ccc) Un retard mental ;
- [0634] (ddd) Une microcéphalie ;
- [0635] (eee) Une malnutrition ;
- [0636] (fff) Une conjonctivite ;
- [0637] (ggg) Une pneumonie ;
- [0638] (hhh) Une embolie pulmonaire ;
- [0639] (iii) Une hypertension pulmonaire ;
- [0640] (jjj) Un trouble osseux ;
- [0641] (kkk) Un sepsis ou choc septique ;
- [0642] (lll) Une sinusite ;
- [0643] (mmm) Un stress (par exemple un stress professionnel) ;
- [0644] (nnn) Une thalassémie, anémie, maladie de von Willebrand ou hémophilie ;
- [0645] (ooo) Un zona ou bouton de fièvre ;
- [0646] (ppp) Les menstruations ;
- [0647] (qqq) Un faible nombre de spermatozoïdes.
- [0648] Maladies ou affections neurodégénératives ou du SNC à traiter ou prévenir au moyen de l'invention
- [0649] Dans un exemple, la maladie ou l'affection neurodégénérative ou du SNC est sélectionnée dans le groupe consistant en la maladie d'Alzheimer, la gériopsychose, le syndrome de Down, la maladie de Parkinson, la maladie de Creutzfeldt-Jakob, la neuropathie diabétique, le syndrome de Parkinson, la maladie de Huntington, la maladie de Machado-Joseph et la sclérose latérale amyotrophique. Par exemple, la maladie est la maladie d'Alzheimer. Par exemple, la maladie est le syndrome de Parkinson.
- [0650] Dans un exemple, le procédé de l'invention étant pratiqué sur un sujet humain ou animal pour traiter une maladie ou une affection du SNC ou neurodégénérative, le procédé provoque une régulation à la baisse des cellules Treg chez le sujet, favorisant ainsi l'entrée de macrophages systémiques dérivés de monocytes et/ ou de cellules Treg

à travers le plexus choroïde dans le cerveau du sujet, moyennant quoi la maladie ou l'affection (par exemple la maladie d'Alzheimer) est traitée, prévenue ou sa progression est réduite. Dans un mode de réalisation, le procédé provoque une augmentation des IFN-gamma dans le système SNC (par exemple dans le cerveau et/ou le LCR (de l'anglais CerebroSpinal Fluid ou CSF) du sujet. Dans un exemple, le procédé restaure la fibre nerveuse et/ou réduit la progression des lésions des fibres nerveuses. Dans un exemple, le procédé restaure la myéline nerveuse et/ou réduit la progression des lésions de la myéline nerveuse. Dans un exemple, le procédé de l'invention traite ou prévient une maladie ou une affection divulguée dans WO2015136541 et/ou le procédé peut être utilisé avec n'importe quel procédé divulgué dans WO2015136541.

[0651] *Cancers à traiter*

[0652] Les cancers qui peuvent être traités comprennent les tumeurs qui ne sont pas vascularisées, ou pas substantiellement vascularisées, ainsi que les tumeurs vascularisées. Les cancers peuvent comprendre des tumeurs non solides (telles que des tumeurs hématologiques, par exemple des leucémies et des lymphomes) ou peuvent comprendre des tumeurs solides. Les types de cancers à traiter avec l'invention comprennent, mais sans s'y limiter, le carcinome, le blastome et le sarcome, et certaines leucémies ou malignités lymphoïdes, tumeurs bénignes et malignes, et malignités par exemple, sarcomes, carcinomes et mélanomes. Les tumeurs/cancers de l'adulte et les tumeurs/cancers pédiatriques sont également inclus.

[0653] Les cancers hématologiques sont des cancers du sang ou de la moelle osseuse. Des exemples de cancers hématologiques (ou hématogènes) incluent les leucémies, y compris les leucémies aiguës (telles que la leucémie aiguë lymphoïde, la leucémie aiguë myéloïde, la leucémie aiguë myélogène et les myéloblastes, promyélocytaires, myélomonocytaires, monocytaires et érythroleucémie), les leucémies chroniques (telles que la leucémie myéloïde (granulocytaire) chronique, la leucémie myélogène chronique et la leucémie lymphoïde chronique), la polyglobulie essentielle, le lymphome, la maladie de Hodgkin, le lymphome non hodgkinien (formes indolentes et de haut grade), les myélomes multiples, la macroglobulinémie de Waldenström, la maladie des chaînes lourdes, le syndrome myélodysplasique, la leucémie à tricholeucocytes et la myélodysplasie.

[0654] Les tumeurs solides sont des masses tissulaires anormales qui ne contiennent généralement pas de kyste ou de zone liquide. Les tumeurs solides peuvent être bénignes ou malignes. Différents types de tumeurs solides sont nommés d'après le type de cellules qui les forment (telles que les sarcomes, les carcinomes et les lymphomes). Des exemples de tumeurs solides, tels les sarcomes et carcinomes, incluent : fibrosarcome, myxosarcome, liposarcome, chondrosarcome, l'ostéosarcome et autres sarcomes, synoviome, mésothéliome, tumeur d'Ewing, léiomyosarcome, rhabdomyosarcome,

carcinome du côlon, lymphopathie maligne, cancer du pancréas, cancer du sein, cancers du poumon, cancer de l'ovaire, cancer de la prostate, carcinome hépatocellulaire, carcinome épidermoïde (en anglais squamous cell carcinoma), carcinome basocellulaire, adénocarcinome, carcinome des glandes sudoripares, carcinome médullaire thyroïdien, carcinome papillaire thyroïdien, phéochromocytomes, carcinome des glandes sébacées, carcinome papillaire, adénocarcinomes papillaires, carcinome médullaire, carcinome bronchogénique, carcinome des cellules rénales, carcinome hépatocellulaire (en anglais hepatoma), cholangiocarcinome, choriocarcinome, tumeur de Wilms, cancer cervical, tumeur testiculaire, séminome, carcinome de la vessie, mélanome et tumeurs du SNC (tel que le gliome (tel que le gliome du tronc cérébral et les gliomes mixtes), le glioblastome (également appelé glioblastome multiforme), astrocytome, lymphome du SNC, germinome, médulloblastome, craniopharyngiome à neurinome, épéndymome, pinéaliome, hémangioblastome, néurinome de l'acoustique, oligodendrogliome, méningiome, neuroblastome, rétinoblastome et métastases cérébrales).

[0655] *Maladie auto-immune à traiter ou prévenir*

[0656] 1. Encéphalomyélite aiguë disséminée (de l'anglais ADEM ou Acute Disseminated Encephalomyelitis)

[0657] 2. Leucoencéphalite hémorragique aiguë nécrosante

[0658] 3. Maladie d'Addison

[0659] 4. Agammaglobulinémie

[0660] 5. Pelade (en anglais Alopecia areata)

[0661] 6. Amylose

[0662] 7. Spondylarthrite ankylosante

[0663] 8. Néphrite anti-GBM/Anti-TBM

[0664] 9. Syndrome des antiphospholipides (SAP)

[0665] 10. Angio-œdème auto-immun

[0666] 11. Anémie aplasique auto-immune

[0667] 12. Dystonie neurovégétative auto-immune

[0668] 13. Hépatite auto-immune

[0669] 14. Hyperlipidémie auto-immune

[0670] 15. Immunodéficience auto-immune

[0671] 16. Maladie auto-immune de l'oreille interne (en anglais AIED ou Autoimmune inner ear disease)

[0672] 17. Myocardite auto-immune

[0673] 18. Ovarite auto-immune

[0674] 19. Pancréatite auto-immune

[0675] 20. Rétinopathie auto-immune

- [0676] 21. Purpura thrombocytopénique auto-immun (en anglais ATP ou Autoimmune thrombocytopenic purpura)
- [0677] 22. Maladie auto-immune thyroïdienne
- [0678] 23. Urticaire auto-immune
- [0679] 24. Neuropathies axonales et neuronales
- [0680] 25. Maladie de Balo
- [0681] 26. Maladie de Behçet
- [0682] 27. Pemphigoïde bulleuse
- [0683] 28. Cardiomyopathie
- [0684] 29. Maladie de Castleman
- [0685] 30. Maladie coeliaque
- [0686] 31. Maladie de Chagas
- [0687] 32. Syndrome de fatigue chronique
- [0688] 33. Polyneuropathie inflammatoire démyélinisante chronique (en anglais Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy ou CIDP)
- [0689] 34. Ostomyélite multifocale chronique récurrente (en anglais Chronic recurrent multifocal osteomyelitis ou CRMO)
- [0690] 35. Syndrome de Churg-Strauss
- [0691] 36. Pemphigoïde cicatricielle/pemphigoïde muqueuse bénigne
- [0692] 37. Maladie de Crohn
- [0693] 38. Syndrome de Cogan
- [0694] 39. Maladie des agglutinines froides
- [0695] 40. Bloc cardiaque congénital
- [0696] 41. Myocardite à *Coxsackie*
- [0697] 42. Syndrome de CREST
- [0698] 43. Cryoglobulinémie mixte essentielle
- [0699] 44. Neuropathies démyélinisantes
- [0700] 45. Dermatite herpétiforme
- [0701] 46. Dermatomyosite
- [0702] 47. Maladie de Devic (neuromyéélite optique)
- [0703] 48. Lupus discoïde
- [0704] 49. Syndrome de Dressler
- [0705] 50. Endométriose
- [0706] 51. Eosinophilic esophagitis
- [0707] 52. Eosinophilic fasciitis
- [0708] 53. Erythème noueux
- [0709] 54. Encéphalomyélite allergique expérimentale
- [0710] 55. Syndrome d'Evans

- [0711] 56. Fibromyalgie
- [0712] 57. Alvéolite fibrosante
- [0713] 58. Artérite à cellules géantes (artérite temporale)
- [0714] 59. Myocardite à cellules géantes
- [0715] 60. Glomérulonéphrite
- [0716] 61. Syndrome de Goodpasture
- [0717] 62. Granulomatose avec polyangéite (GPA) (anciennement appelée granulomatose de Wegener)
- [0718] 63. Maladie de Graves
- [0719] 64. Syndrome de Guillain-Barré
- [0720] 65. Encéphalite de Hashimoto
- [0721] 66. Thyroïdite d'Hashimoto
- [0722] 67. Anémie hémolytique
- [0723] 68. Purpura d'Hénoc-Schönlein
- [0724] 69. Herpès gestationnel
- [0725] 70. Hypogammaglobulinémie
- [0726] 71. Purpura thrombocytopénique idiopathique (PTI)
- [0727] 72. Néphropathie à IgA
- [0728] 73. Maladie sclérosante associée aux IgG4
- [0729] 74. Lipoprotéines immunorégulatrices
- [0730] 75. Myosite à inclusions
- [0731] 76. Cystite interstitielle
- [0732] 77. Arthrite juvénile
- [0733] 78. Diabète juvénile (diabète de Type 1)
- [0734] 79. myosite juvénile
- [0735] 80. syndrome de Kawasaki
- [0736] 81. syndrome de Lambert-Eaton
- [0737] 82. vascularite leucocytoclasique
- [0738] 83. lichen plan
- [0739] 84. Lichen scléreux
- [0740] 85. Conjonctivite ligneuse
- [0741] 86. Maladie à IgA linéaires (en anglais LAD ou Linear IgA disease)
- [0742] 87. Lupus (LED)
- [0743] 88. Maladie de Lyme, chronique
- [0744] 89. Maladie de Ménière
- [0745] 90. Polyangéite microscopique
- [0746] 91. Maladie du tissu conjonctif mixte (en anglais MCTD ou Mixed connective tissue disease)

- [0747] 92. Ulcère de Mooren
- [0748] 93. Maladie de Mucha-Habermann
- [0749] 94. Sclérose en plaques
- [0750] 95. Myasthénie grave
- [0751] 96. Myosite
- [0752] 97. Narcolepsie
- [0753] 98. Neuromyéélite optique (Devic)
- [0754] 99. Neutropénie
- [0755] 100. Pemphigoïde cicatricielle oculaire
- [0756] 101. Névrite optique
- [0757] 102. Rhumatisme palindromique
- [0758] 103. PANDAS (troubles neuropsychiatriques auto-immuns pédiatriques associés au streptocoque, de l'anglais Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococcus)
- [0759] 104. Dégénérescence cérébelleuse paranéoplasique
- [0760] 105. Hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN)
- [0761] 106. Syndrome de Parry Romberg
- [0762] 107. Syndrome de Parsonnage-Turner
- [0763] 108. Pars planitis (uvéïte périphérique)
- [0764] 109. Pemphigus
- [0765] 110. Neuropathie périphérique
- [0766] 111. Encéphalomyélite périveineuse
- [0767] 112. Anémie pernicieuse
- [0768] 113. Syndrome POEMS
- [0769] 114. Périartérite noueuse
- [0770] 115. Syndromes polyglandulaires auto-immuns de Type I, II et III
- [0771] 116. Syndrome de Forestier-Certonciny
- [0772] 117. Polymyosite
- [0773] 118. Syndrome post-infarctus du myocarde
- [0774] 119. Syndrome postpéricardiotomie
- [0775] 120. Dermate à progestérone
- [0776] 121. Cirrhose biliaire primitive
- [0777] 122. Cholangite sclérosante primitive
- [0778] 123. Psoriasis
- [0779] 124. Arthrite psoriasique
- [0780] 125. Fibrose pulmonaire idiopatique
- [0781] 126. Pyoderma gangrenosum
- [0782] 127. Aplasie pure des globules rouges

- [0783] 128. Phénomène de Raynaud
- [0784] 129. Arthrite réactive
- [0785] 130. Dystrophie sympathique réflexe
- [0786] 131. Syndrome de Reiter
- [0787] 132. Polychondrite récidivante
- [0788] 133. Syndrome des jambes sans repos
- [0789] 134. Fibrose rétropéritonéale
- [0790] 135. Fièvre rhumatismale
- [0791] 136. Polyarthrite rhumatoïde
- [0792] 137. Sarcoïdose
- [0793] 138. Syndrome de Schmidt
- [0794] 139. Scleritis
- [0795] 140. Sclérodermie
- [0796] 141. Syndrome de Sjögren
- [0797] 142. Auto-immunité au sperme et testiculaire
- [0798] 143. Syndrome de la personne raide
- [0799] 144. Endocardite bactérienne subaiguë (en anglais : Subacute bacterial endocarditis ou SBE)
- [0800] 145. Syndrome de Susac
- [0801] 146. Ophtalmie sympathique
- [0802] 147. Artérite de Takayasu
- [0803] 148. Artérite temporale/Artérite à cellules géantes
- [0804] 149. Purpura thrombocytopénique (PTT)
- [0805] 150. Syndrome de Tolosa-Hunt
- [0806] 151. Myélite transverse
- [0807] 152. Diabète de Type 1
- [0808] 153. Rectocolite hémorragique
- [0809] 154. Maladie du tissu conjonctif indifférencié (en anglais UCTD ou Undifferentiated connective tissue disease)
- [0810] 155. Uvéite
- [0811] 156. Vascularite
- [0812] 157. Dermatose vésiculobulleuse
- [0813] 158. Vitiligo
- [0814] 159. Granulomatose de Wegener (maintenant appelée Granulomatose avec polyangéite (en anglais : Granulomatosis with Polyangiitis ou GPA).
- [0815] *Maladies inflammatoires à traiter ou prévenir*
- [0816] 1. Alzheimer
- [0817] 2. spondylarthrite ankylosante

- [0818] 3. arthrite (arthrose, polyarthrite rhumatoïde (PR), arthrite psoriasique)
- [0819] 4. asthme
- [0820] 5. athérosclérose
- [0821] 6. maladie de Crohn
- [0822] 7. colite
- [0823] 8. dermatite
- [0824] 9. diverticulite
- [0825] 10. fibromyalgie
- [0826] 11. hépatite
- [0827] 12. syndrome du côlon irritable (SCI)
- [0828] 13. lupus érythémateux disséminé (LED)
- [0829] 14. néphrite
- [0830] 15. maladie de Parkinson
- [0831] 16. rectocolite hémorragique
- [0832] Par exemple, la composition comprenant des cellules porteuses est un aliment et/ou une boisson humaine ou animale (par exemple mélangée à de l'eau de boisson pour la consommation du bétail). Lorsqu'il est fourni dans une boisson, le vecteur peut être compris par des bactéries porteuses, les bactéries porteuses étant comprises dans la boisson en une quantité allant de 1×10^3 à 1×10^{10} (par exemple de 1×10^4 à 1×10^{10} ; de 1×10^4 à 1×10^9 ; de 1×10^4 à 1×10^8 ; de 1×10^4 à 1×10^7 ; de 1×10^3 à 1×10^{10} ; de 1×10^3 à 1×10^9 ; de 1×10^3 à 1×10^8 ; de 1×10^3 à 1×10^7 ; de 1×10^5 à 1×10^{10} ; de 1×10^5 à 1×10^9 ; de 1×10^5 à 1×10^8 ; de 1×10^5 à 1×10^7 ; de 1×10^6 à 1×10^{10} ; de 1×10^6 à 1×10^9 ; de 1×10^6 à 1×10^8 ou de 1×10^6 à 1×10^7) ufc/ml. Lorsqu'il est fourni dans une boisson, le vecteur peut être compris par des bactéries porteuses, les bactéries porteuses étant comprises dans la boisson en une quantité d'au moins 1×10^8 ufc/ml, le sujet étant par exemple un humain ou un animal (par exemple une volaille, tel qu'un poulet).
- [0833] Optionnellement, la nucléase guidée est n'importe quelle nucléase guidée divulguée ici, par exemple une Cas, TALEN, une méganucléase ou une nucléase à doigt de zinc. Dans un exemple, le composant est un ARNcr ou un ARN guide qui est exploitable dans des cellules cibles avec une nucléase Cas apparentée. La nucléase Cas peut être toute nucléase Cas divulguée ici. La nucléase Cas peut être une Cas endogène des cellules cibles ou peut être codée par un acide nucléique exogène qui est administré à l'animal.
- [0834] Il est prévu selon la Cinquième Configuration :
- [0835] Procédé d'ingénierie d'un microbiome (par exemple tout microbiome divulgué ici), le procédé comprenant la mise en contact du microbiome avec une pluralité de vecteurs tels que décrits ici (par exemple en combinant le microbiome avec des cellules

porteuses comme décrit) et permettant optionnellement un transfert dudit acide nucléique du vecteur jusque dans des cellules cibles du microbiote.

- [0836] Un microbiote modifié obtenu ou obtenable par le procédé mentionné ici, optionnellement le microbiote étant compris par une composition pharmaceutique pour utilisation en tant que médicament pour traiter une maladie ou une affection chez un sujet humain ou animal.
- [0837] Toutes les fonctionnalités divulguées dans le contexte des Première à Quatrième Configurations peuvent s'appliquer mutatis mutandis à la Cinquième Configuration.
- [0838] Concepts :
- [0839] L'invention propose également les Concepts suivants.
- [0840] 1. Une cellule hôte comprenant un acide nucléique qui comprend
- [0841] (a) une séquence nucléotidique exprimable d'intérêt (NS1) pour produire un produit d'intérêt (P1) dans la cellule hôte ; et
- [0842] (b) une séquence nucléotidique exprimable (NS2) pour produire un produit régulateur (P2) dans la cellule hôte, P2 étant exploitable dans la cellule hôte pour réguler l'expression ou l'activité de P1 ;
- [0843] dans laquelle
- [0844] (c) NS1 est sous le contrôle d'un premier promoteur (par exemple un promoteur constitutif ou inductible) pour l'expression de P1 ; et
- [0845] (d) l'expression ou l'activité de P2 dans la cellule hôte est régulable par exposition de la cellule hôte comprenant l'au moins un vecteur à un agent régulateur (R), régulant ainsi l'expression ou l'activité de P1 ;
- [0846] dans lequel la cellule hôte est une cellule bactérienne, archéenne ou fongique.
- [0847] Optionnellement, l'acide nucléique est compris par au moins un vecteur d'acide nucléique pour le transfert depuis la cellule hôte jusque dans une cellule d'un microbiote. Par exemple, la cellule hôte et la cellule du microbiote sont des cellules bactériennes.
- [0848] Par exemple, la cellule fongique est une cellule de levure. La cellule bactérienne peut être une cellule de n'importe quelle espèce ou genre bactérien divulgué(e) ici.
- [0849] 2. La cellule du Concept 1, dans laquelle
- [0850] (a) l'acide nucléique est compris par au moins un vecteur d'acide nucléique de la cellule ;
- [0851] (b) NS1 est compris par un vecteur d'acide nucléique de la cellule et NS2 est compris par un chromosome de la cellule ;
- [0852] (c) NS1 est compris par un chromosome de la cellule et NS2 est compris par un vecteur d'acide nucléique de la cellule ; ou
- [0853] (d) NS1 est compris par un chromosome de la cellule et NS2 est compris par un chromosome de la cellule.

- [0854] 3. Cellule selon l'un quelconque des Concepts 2(a)-(c), le vecteur ou chaque vecteur étant un plasmide conjugatif pour transfert à une cellule d'un microbiote compris par un sujet humain ou animal.
- [0855] 4. Cellule selon l'un quelconque des Concepts précités, la cellule étant une cellule d'espèce bactérienne commensale ou probiotique d'un microbiote humain ou animal, optionnellement une cellule d'*E coli* ou une cellule de *Bacteroides*.
- [0856] 5. Cellule de l'un quelconque des Concepts précités, NS2 étant sous le contrôle d'un deuxième promoteur qui peut être régulé pour l'expression de P2, la liaison d'un agent régulateur (R) à l'acide nucléique du vecteur régulant le deuxième promoteur, régulant ainsi l'expression de P2 et P1.
- [0857] 6. Cellule selon l'un quelconque des Concepts précités, P2 comprenant une nucléase guidée par ARN (optionnellement une nucléase Cas), la nucléase étant utilisable pour couper l'acide nucléique au niveau d'un motif de séquence prédéterminé.
- [0858] 7. La cellule du Concept 6,
- [0859] (a) le motif de séquence étant compris par un chromosome de la cellule et la coupe tue la cellule ; ou le motif de séquence étant compris par un gène (sur un chromosome ou un vecteur de la cellule) comprenant NS1 pour la production de P1 et la coupe régule à la baisse la production de P1 ; ou
- [0860] (b) le motif de séquence étant compris par un dit vecteur comprenant NS1.
- [0861] Ceci est utile pour favoriser la dégradation du vecteur, réduisant ou inhibant ainsi la production de P1. Par exemple, le vecteur coupé est dégradé dans la cellule.
- [0862] 8. La cellule selon l'un quelconque des Concepts précités pour le traitement ou la prévention d'une maladie ou d'une affection chez un sujet humain ou animal, la cellule étant administrée à un microbiote (optionnellement un microbiote intestinal) du sujet pour produire P1 chez le sujet traitant ou prévenant ainsi la maladie ou l'affection chez le sujet.
- [0863] *Régulation par le Xylitol ou le Xylose*
- [0864] Plus de la moitié du xylitol ingéré chez les humains n'est pas adsorbé par les cellules humaines mais atteint plutôt le tractus gastro-intestinal où il est absorbé par le microbiome (Livesey, 2003), ce qui est utile pour contrôler nos interrupteurs dans le tractus gastro-intestinal. Comme illustré ic à titre d'exemple, nous avons trouvé de manière avantageuse que le xylitol induit une expression en levant la répression que le régulateur transcriptionnel exerce sur le promoteur. De plus, les souches d'*E. coli* manquent généralement de la xylose réductase et de la xylitol déshydrogénase typiquement nécessaires au métabolisme du xylitol (Ge et al., 2018). Nous nous sommes rendu compte que cela pouvait être utile pour un contrôle plus précis ou durable par le xylitol lorsque la souche ne peut pas métaboliser le xylitol. L'utilisation de doses plus faibles de xylitol peut être possible lorsque la souche ne peut pas métaboliser le xylitol.

Ainsi, dans un exemple la cellule de l'invention est une cellule d'*E coli* et le promoteur est régulable par le xylitol.

- [0865] 1. Cellule (optionnellement selon l'une quelconque des Concepts précités), comprenant un acide nucléique, l'acide nucléique comprenant un gène codant pour un produit d'intérêt (P1), le gène comprenant une séquence nucléotidique (NS1) codant pour P1 et une région de régulation 29-37' de NS1 qui comprend un promoteur (Px) pour contrôler l'expression de NS1, la combinaison de Px et NS1 étant hétérologue à la cellule et Px étant régulable par le xylitol ou le xylose.
- [0866] Par exemple, NS1 n'est pas trouvé dans une cellule de type sauvage de la même espèce que la cellule de l'invention. Par exemple, NS1 est une séquence non bactérienne (par exemple une séquence animale, humaine, mammifère ou végétale). De préférence, NS1 est une séquence humaine.
- [0867] Par exemple, NS1 est une séquence endogène de la cellule et Px est hétérologue à la cellule.
- [0868] 2. Cellule selon le Concept 1, le promoteur étant un promoteur régulable au xylitol ou au xylose d'une espèce de *Morganella*, optionnellement *M morganii*.
- [0869] Par exemple, la *M morganii* est la souche ZJG812 de *Morganella morganii*.
- [0870] 3. La cellule du Concept 1 ou 2, le promoteur comprenant la SEQ ID NO : 3 ou une séquence nucléotidique qui est au moins à 70 % identique à la SEQ ID NO : 3.
- [0871] Par exemple, tout pourcentage d'identité mentionné ici est d'au moins 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 ou 99 %.
- [0872] Optionnellement, la cellule comprend la SEQ ID NO : 4 ou une séquence nucléotidique codant pour un promoteur régulable au xylitol. Par exemple, la séquence code en outre pour un répresseur qui est apparenté au promoteur. Par exemple, la séquence code en outre pour une xylitol isomérase.
- [0873] 4. Cellule selon l'un quelconque des Concepts 1 à 3, Px étant homologue à un promoteur régulable au xylitol ou au xylose de *Morganella morganii*.
- [0874] Par exemple, le promoteur est un promoteur régulable au xylitol. Par exemple, le promoteur est répressible par un répresseur et le xylitol est capable de déréprimer le répresseur.
- [0875] 5. Cellule selon l'un quelconque des Concepts 1 à 4, le génome cellulaire codant pour un répresseur qui est capable de réprimer Px, dans laquelle le xylitol et/ou le xylose sont capables de dé-réprimer le répresseur.
- [0876] 6. La cellule du Concept 5, le répresseur étant codé par la SEQ ID NO : 1 ou une séquence nucléotidique qui est au moins à 70 % identique à la SEQ ID NO : 1.
- [0877] Par exemple, l'identité est d'au moins 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 ou 99 %.
- [0878] Par exemple, le répresseur comprend la SEQ ID NO : 2 ou une séquence d'acides aminés qui est au moins à 70 % identique à la SEQ ID NO : 2.

- [0879] 7. Cellule selon l'une quelconque des Concepts 1-6, dans laquelle la cellule comprend un transporteur de xylitol, optionnellement un transporteur ABC du xylitol.
- [0880] Nos données suggèrent de manière surprenante que la présence d'un transporteur de xylitol augmente la sensibilité des souches donneuses envers le xylitol dans le milieu de croissance.
- [0881] 8. Cellule selon l'un quelconque des Concepts 1 à 7, la cellule étant dépourvue d'un gène xylitol isomérase.
- [0882] Par exemple, le génome cellulaire comprend un promoteur inductible par le xylitol d'une espèce de *Morganii* et exclut un gène de la sucre isomérase. Par exemple, la cellule comprend un promoteur inductible par le xylitol d'une espèce de *Morganii* et exclut une séquence nucléotidique codant pour une xylitol isomérase.
- [0883] Dans un exemple, le génome cellulaire comprend un opéron xylABC de *Morganella morganii*. Optionnellement, l'opéron est dépourvu d'une séquence nucléotidique codant pour une xylitol isomérase.
- [0884] 9. Vecteur d'acide nucléique comprenant un gène tel qu'énoncé dans l'un quelconque des Concepts 1-8.
- [0885] 10. Vecteur selon le Concept 9, le vecteur étant un plasmide (optionnellement un plasmide conjugatif), un transposon, un phagémide ou un phage.
- [0886] Dans un exemple, la cellule de l'invention comprend tout vecteur de l'invention tel que décrit ici.
- [0887] On comprendra que les modes de réalisation particuliers décrits ici sont présentés à titre d'illustration et non en tant que limitations de l'invention. Les caractéristiques principales de cette invention peuvent être utilisées dans divers modes de réalisation sans s'écarter de la portée de l'invention. Les personnes du métier reconnaîtront, ou seront capable de déterminer en n'utilisant rien de plus qu'une étude de routine, de nombreux équivalents aux procédures spécifiques décrites ici. De tels équivalents sont considérés comme étant compris dans la portée de cette invention et sont couverts par les revendications. Toutes les publications et demandes de brevet mentionnées dans la description sont indicatives du niveau de compétence des personnes du métier auxquelles cette invention se rapporte. Tout au long de cette demande, le terme « environ » est utilisé pour indiquer qu'une valeur comprend la variation d'erreur inhérente au dispositif, le procédé étant employé pour déterminer la valeur, ou la variation, qui existe parmi les sujets d'étude.
- [0888] Le terme « ou combinaisons de ceux-ci/celles-ci » ou similaire ainsi qu'utilisé ici se réfère à toutes les permutations et combinaisons des éléments énumérés précédant le terme. Par exemple, « A, B, C ou des combinaisons de ceux-ci » sont censés inclure au moins l'un des éléments suivants : A, B, C, AB, AC, BC ou ABC, et si l'ordre est important dans un contexte particulier, également BA, CA, CB, CBA, BCA, ACB,

BAC ou CAB. En poursuivant avec cet exemple, les combinaisons qui contiennent des répétitions d'un ou plusieurs éléments ou termes, tels que BB, AAA, MB, BBC, AAABCCCC, CBBAAA, CABABB, et ainsi de suite, sont expressément incluses. La personne du métier comprendra qu'il n'y a typiquement pas de limite au nombre d'éléments ou de termes dans une quelconque combinaison, à moins que le contraire ne ressorte du contexte.

[0889] Toute partie de cette divulgation peut être lue en combinaison avec toute autre partie de la divulgation, à moins que le contraire ne ressorte du contexte.

[0890] Toutes les compositions et/ou tous les procédés divulgué(e)s et revendiqué(e)s ici peuvent être préparé(e)s et exécuté(e)s sans expérimentation excessive à la lumière de la présente divulgation. Bien que les compositions et les procédés de cette invention aient été décrits au moyen des modes de réalisation préférés, il apparaîtra à la personne du métier que des variations peuvent être appliquées aux compositions et/ou aux procédés et aux étapes ou à la séquence d'étapes du procédé mentionné ici sans s'écarter du concept, de l'esprit et de la portée de l'invention. Tous tels substituts et modifications similaires apparents à la personne du métier sont considérés comme compris dans l'esprit, la portée et le concept de l'invention tels que définis par les revendications jointes.

EXEMPLES

[0891] **EXEMPLE 1 : Construction de VGC de production conjuguatifs et autociblants**

[0892] Arrière-plan de l'Exemple 1

[0893] • Le plasmide basé sur pBBR1 utilisé contient une oriT mobilisable par la machinerie de transfert de plasmide RP4 portée en trans dans la souche d'*E. coli* JKE201 (voir : Harms, A., Liesch, M., Körner, J., Québatte, M., Engel, P. and Dehio, C., 2017. A bacterial toxin-antitoxin module is the origin of inter-bacterial and inter-kingdom effectors of *Bartonella*. [de l'anglais : Un module bactérien toxine-antitoxine est à l'origine des effecteurs inter-bactériens et inter-règnes de *Bartonella*. PLOS Genetics, 13(10), p.e1007077) qui hébergera le plasmide.

[0894] • Les gènes codant pour la Cas3 de Type I-E d'*E. coli* ont été clonés sous le contrôle d'un promoteur pBad (qui est induit par exposition à l'arabinose). Une séquence nucléotidique codant pour la Protéine Fluorescente Verte Superfolder (sfGFP, de l'anglais « Superfolder Green Fluorescent Protein ») et une matrice CRISPR ciblant la sfGFP contrôlée par un promoteur inductible par le rhamnose seront insérées dans le réplicon. La matrice codera pour un ou plus ARNcr pour la formation d'ARN guides, qui sont apparentés à la Cas3 et utilisables pour cibler la séquence sfGFP afin de guider la Cas3 vers la séquence et de la couper.

[0895] Composants plasmidiques :

- [0896] • pBBR1-msc2, une navette mobilisable et un vecteur d'expression ;
- [0897] • oriT du plasmide RP4 ;
- [0898] • Un marqueur de résistance à l'antibiotique kanamycine ;
- [0899] • rmtB (gène de l'ARNr 16S méthylase) qui confère une résistance à l'amikacine et à la gentamicine
- [0900] • système *E coli* CRISPR/cas avec promoteur pBAD, le système comprenant des séquences nucléotidiques codant pour les protéines Cas3 de Type I-E, protéines Cascade A-E sous le contrôle d'un promoteur pBAD, le système comprenant également la matrice CRISPR ;
- [0901] • Terminateur de *S. pyogenes* après la Cascade.
- [0902] • promoteur de rhamnose devant la matrice CRISPR, qui est programmée pour cibler le gène sfGFP (contient un espaceur qui peut s'hybrider avec la séquence sfGFP) ; et
- [0903] • gène sfGFP exprimé de manière constitutive.
- [0904] L'ordre des composants :
- [0905] Gène de résistance à la kanamycine, pBBR1-msc2, oriT provenant du plasmide RP4, araC, promoteur pBad, séquence de Cas3 de Type I-E d'*E. coli*, séquence de Cascade, terminateur de *S. pyogenes*, promoteur de rhamnose, matrice comprenant un espaceur pouvant s'hybrider à la séquence sfGFP, rmtB (gène de l'ARNr 16S méthylase) qui confère une résistance à l'amikacine et à la gentamicine, gène sfGFP
- [0906] Procédés, clonage :
- [0907] • Squelette
- [0908] Le p1075 contenant le réplicon pBBR1 et le système CRISPR/Cas, a été utilisé comme trame pour le clonage du gène sfGFP, le terminateur de *S. pyogenes* après la Cas3 de Type I-E et la Cascade d'*E. coli*, la matrice CRISPR avec cible sfGFP et le promoteur de rhamnose pour contrôler la matrice CRISPR avec cible sfGFP (voir carte plasmidique [Fig.1]).
- [0909] • Transformation, sélection et vérification de séquence
- [0910] Technique de transformation : La construction finale (p1364) est électroporée à la souche d'intérêt (cellules NEB 10-bêta pour le clonage ou souche JKE201 pour conjugaison supplémentaire). Les colonies correctes sont sélectionnées sur 3 marqueurs antibiotiques (kanamycine, gentamicine, amikacine), les colonies auront une couleur verte distinctive (due à l'expression de la GFP) et avec confirmation en utilisant une PCR de colonie avec les amorces spécifiques de construction.
- [0911] La vérification de la séquence est effectuée en soumettant le plasmide purifié à un séquençage avec des amorces spécifiques à la construction pour couvrir l'ensemble de la construction.
- [0912] Voir la [Fig.1] pour une carte plasmidique mettant en évidence les principaux composants du plasmide final, p1364.

[0913] **EXEMPLE 2 : Distribution conjugative à partir de la souche donneuse d'*E. coli* JKE201 à la souche receveuse d'*E. coli* b52**

[0914] Procédés :

[0915] La souche JKE201 a été transformée avec du p1364 et un clone positif a été sélectionné sur des plaques LB à kanamycine (additionnées de DAP) et ensuite vérifié par le signal de positivité à la GFP. Une colonie de la souche donneuse JKE201/p1364 transformée ainsi que la souche receveuse b52 (souche C-1a-CGSC, obtenue auprès du Coli Genetic Stock Center) ont été cultivées en phase exponentielle dans du LB liquide (JKE201 additionnée de DAP). Les deux cultures ont ensuite été mélangées à 5:1 (JKE201/p1364 : b52) et déposées par points gélose LB solide pour incuber pendant la nuit.

[0916] Après conjugaison pendant une nuit, le mélange a été retiré par grattage et dissous dans du LB liquide et étalé sur des plaques de LB contenant de la kanamycine mais sans DAP pour sélectionner uniquement les transconjugants b52. Ceux-ci ont été dénombrés par rapport au décompte total de receveurs sur des plaques LB.

[0917] Les résultats sont illustrés en [Fig.2].

[0918] Le p1364 se transfère à haute fréquence dans la souche modèle b52. La [Fig.2] montre le nombre de transconjugants formés à la suite du transfert de RP4 oriT sur p1364 et l'absence résultante de transconjugants lorsqu'oriT est absente.

[0919] **EXEMPLE 3 : Production d'une protéine d'intérêt à partir d'un plasmide mobilisable dans la souche 'bactérie de production' (souche receveuse) b52**

[0920] Des cellules receveuses transconjugantes (cellules b52 contenant le plasmide p1364) ont été produites comme décrit dans l'Exemple 2. Les transconjugants, contenant la construction exprimant la sfGFP avec une matrice CRISPR autociblante, le plasmide conjugatif p1364, a été cultivé dans un milieu LB à et OD600 de 1. Une souche b52 exempte de plasmide a été cultivée au même niveau pour être utilisée comme témoin négatif/d'autofluorescence. Chaque culture a été transférée sur une plaque de microtitrage et mesurée dans un lecteur de plaque Synergy™ H1. La production de la sfGFP a été quantifiée en utilisant et une longueur d'onde d'excitation de 485 nm et une longueur d'onde d'émission de 510 nm.

[0921] Les résultats sont illustrés en [Fig.3]. La fluorescence de la GFP a été déterminée dans des cellules b52 hébergeant le plasmide p1364 et dans des cellules témoins b52 dépourvues du plasmide à OD = 0,7. La fluorescence de la GFP a été environ cinq fois supérieure à la fluorescence de fond de la souche témoin b52, montrant une expression fiable de la sfGFP

[0922] **EXEMPLE 4 : Retrait du plasmide conjugatif de la souche réceptrice b52**

[0923] Des cellules transconjugantes b52 (de l'Exemple 2) portant le plasmide p1364 ont été cultivées avec une sélection pour p1364 (kanamycine) pendant 2 h et ensuite lavées

dans du LB pour retirer les antibiotiques résiduels.

[0924] La culture remise en suspension a ensuite été divisée en deux portions de 1 ml et des inducteurs (1 % d'arabinose, 10 mM de rhamnose) ont été ajoutés à l'un des tubes pour induire le mécanisme de Cas autociblante. Juste après l'induction, les cellules de chacune des cultures ont été étalées sur des plaques LB (sans ajout d'inducteur, instant 0). Par la suite, des échantillons issus de chaque tube (induit et non induit) ont été étalés sur des plaques LB à des instants : 1h et 24h après induction. Toutes les plaques ont été incubées pendant une nuit, après quoi la proportion de cellules exprimant la sfGFP a été déterminée par comptage de colonies dans un transilluminateur à lumière bleue (365 nm, transilluminateur à UV de paillasse, VWR®).

[0925] Les résultats sont représentés en [Fig.4] et montrent la proportion de cellules positives à la GFP au fil du temps pour les cultures induites et non induites. L'induction du système CRISPR et de la matrice correspondante sur p1364 permettent un curage rapide du plasmide autociblante. Le système permet > 70 % de curage du plasmide en 1 h et > 95 % du plasmide purgés en 24 h.

[0926] Pour valider que la perte de la sfGFP a bien été due à la perte de plasmide, une PCR spécifique au squelette plasmidique a été réalisée sur 14 colonies sélectionnées au hasard à partir de la plaque de l'instant 24h. Voir l'image de gel résultant en [Fig.5].

[0927] **EXEMPLE 5 : Tuer la souche donneuse par CRISPR**

[0928] Une construction de plasmide conjugatif a été faite qui pourrait être introduite dans des cellules hôtes pour produire des cellules donneuses. Le plasmide sera un vecteur pour un gène d'intérêt (par exemple GFP dans les exemples ci-dessus) et une CRISPR/matrice autociblante pour cibler le plasmide dans des cellules receveuses après qu'il ait été transféré par conjugaison des cellules donneuses aux receveuses.

[0929] Le plasmide a été modifié de manière à ce que, lors de l'induction du système CRISPR/cas avec de l'arabinose, le plasmide soit capable de cibler le génome des cellules hôtes. Le plasmide a été fabriqué en utilisant le plasmide RP4 comme point de départ. La Cascade Cas3 d'*E. coli* de Type I-E inductible par l'arabinose suivie d'une matrice CRISPR pour produire un ARN guide ciblant le gène chromosomique *lptA* d'*E. coli* a été intégrée dans le plasmide RP4 par recombinaison.

[0930] Le système Cas et la matrice avec le promoteur arabinose ont été amplifiés en même temps qu'un gène de résistance à la spectinomycine et *araC* à partir d'un vecteur de clonage les contenant.

[0931] Le produit du PCR ont été flanqués de bras d'homologie qui permettaient l'insertion de la cassette CRISPR/cas-*araC*-Spectinomycine dans le gène de la tétracycline de RP4.

[0932] Une recombinaison a été effectuée. Brèvement, les cellules JKE201 avec un allèle mutant *lptA*, non ciblé par la matrice, qui contenaient le plasmide de recombinaison

apSIM5 ont été cultivées jusqu'à une OD de 0,5 dans du LB additionné de DAP et de chloramphénicol. Ensuite, le système lambda RED a été induit à 42 °C pendant 15 minutes et la culture a été placée sur de la glace pour préparer les cellules à la transformation par lavage dans de l'eau MiliQ froide. Des cellules ont été transformées avec le produit du PCR à 18 kv et récupérées pendant 12 h avant d'être étalées sur des plaques sélectives contenant du DAP et de la spectinomycine. Les clones recombinants résultants ont été confirmés par PCR.

[0933] Un clone positif ainsi que JKE201 avec le plasmide RP4 de type sauvage (témoin négatif sans CRISPR/Cas) a été cultivé dans du LB liquide avec de la spectinomycine pendant 4 heures. Des cellules MG1655 de type sauvage ont été cultivées jusqu'à la même OD et mélangées avec les JKE201/RP4::Cas et JKE201/RP4 pour permettre le transfert et l'amplification du plasmide dans cette souche. Les mélanges ont été remis en suspension dans du LB sans DAP pour retirer la souche donneuse JKE201 initiale. La population résultante de MG1655 (cellules donneuses de plasmide nouvellement formées) contenant le plasmide a maintenant été étalée sur des plaques LB avec et sans arabinose (arabinose pour l'induction CRISPR/cas) pour activer l'autociblage et la mise à mort des cellules donneuses en coupant la cible *lptA* comprise par dle chromosome donneur. La population contenant le plasmide RP4 de type sauvage a été étalée sur le même milieu comme témoin. Après une nuit d'incubation, les cellules survivantes ont été dénombrées et présentées en [Fig.6].

[0934] Les résultats illustrés en [Fig.6] démontrent qu'une contre-sélection robuste d'une souche avec une ou plus cible(s) d'intérêt peut être effectuée lors de l'induction du CRISPR/cas. Le plasmide conjugatif ayant subi une modification présenté ici a été capable de discriminer entre deux souches étroitement liées dans une culture mixte, ce qui suggère qu'il sera utile pour le retrait précis de la souche donneuse dans un contexte de microbiome, comme *in vivo* chez un sujet humain ou animal. Avec des cibles supplémentaires ajoutées à la matrice, plusieurs cibles peuvent être touchées simultanément. Une approche multi-cible est la mise en œuvre idéale d'une stratégie de bioconfinement étroit, combinant essentiellement les deux approches de ciblage du génome de la cellule donneuse et du plasmide présentées ici, qui permettra le retrait complet du produit (voie) d'intérêt du microbiome d'une manière contrôlable.

[0935] **EXEMPLE 6 : Voies illustratives exploitant les vecteurs, les cellules et les procédés de l'invention**

[0936] Divers schémas de voies métaboliques peuvent être envisagés là où l'invention fonctionne. Par exemple, la voie peut être dans n'importe quel environnement comprenant un microbiote, tel que chez un sujet humain ou animal. Des exemples de schémas sont proposés en [Fig.7]. Le schéma de voie peut fonctionner chez le sujet, tel que confiné au microbiote (ou même confiné dans la cellule cible qui a reçu l'acide

nucléique du vecteur codant pour P1 et P2). Alternativement, une partie du schéma (au moins une partie impliquant la cellule cible) se déroule dans le microbiote et une autre partie se déroule en dehors du microbiote dans l'environnement ou le sujet, tel que lorsqu'un métabolite est sécrété à partir de la cellule cible et est métabolisé dans la partie aval du déroulement de la voie. Dans un mode de réalisation, R peut être produit sous forme de métabolite (dans la cellule cible ou dans une cellule différente, telle qu'une cellule différente du microbiote), fournissant ainsi R pour réguler l'expression de P2 (et donc de P1) dans une boucle à rétroaction.

- [0937] R peut réguler à la hausse l'expression de P2, P2 régule à la baisse l'expression de P1 et optionnellement P1 est un composant d'une voie métabolique (par exemple dans le microbiote ou la cellule cible ou chez un sujet ou dans un environnement comprenant le microbiote ou la cellule cible) dans laquelle un produit de production (X) de la voie en aval de P1 provoque une régulation de l'expression de P1 ou P2. Voir, par exemple, les Scénarios 1, 3 et 4 ([Fig.7]). Dans un mode de réalisation, X est R ou un précurseur de R. Dans un mode de réalisation, X régule le premier et/ou le deuxième promoteur. Dans un mode de réalisation, X régule à la hausse l'expression de P1 ou P2. Dans un mode de réalisation, X régule à la hausse l'expression de P1 ou P2.
- [0938] R peut réguler à la hausse l'expression de P2, P2 régule à la hausse l'expression de P1 et optionnellement P1 est un composant d'une voie métabolique (par exemple dans le microbiote ou la cellule cible ou chez un sujet ou dans un environnement comprenant le microbiote ou la cellule cible) dans laquelle un produit de production (X) de la voie en aval de P1 provoque une régulation de l'expression de P1 ou P2. Voir, par exemple, Scénario 2 ([Fig.7]). Dans un mode de réalisation, X est R ou un précurseur de R. Dans un mode de réalisation, X régule le premier et/ou le deuxième promoteur. Dans un mode de réalisation, X régule à la hausse l'expression de P1 ou P2. Dans un mode de réalisation, X régule à la hausse l'expression de P1 ou P2.

[0939] **EXEMPLE 7 : Retrait du vecteur par autociblage à CRISPR dans les *Bacteroides***

[0940] 1. Résumé opérationnel

[0941] Dans cette étude, nous avons développé et testé un plasmide comprenant un système CRISPR/Cas (que nous appelons un vecteur guidé par CRISPR (VGC)) qui pourrait être retiré d'une population de *Bacteroides thetaiotaomicron* à l'aide d'espaceurs portés par vecteurs ciblant le VGC lui-même (VGC auto-ciblant). Le VGC hébergeait un opéron inductible de type I-B CRISPR/Cas provenant de *Clostridioides difficile* aux côtés de cinq espaceurs ciblant le VGC. Nous avons démontré que lors de l'induction, le système CRISPR/Cas entraînait le retrait du VGC de plus de 99,9 % de la population de *Bacteroides* sans tuer les cellules hôtes au cours du processus.

[0942] *Objectifs*

[0943] Objectif 1

[0944] Distribuer un VGC autociblant à des *Bacteroides thetaiotaomicron* VPI-5482 (bSNP2978) via la conjugaison à partir d'un donneur *Escherichia coli* pour montrer que le VGC peut être efficacement retiré lors de l'induction CRISPR/Cas.

[0945] Objectif 2

[0946] Démontrer que les VGC autociblant sont retirés d'une population de *Bacteroides thetaiotaomicron* VPI-5482 (bSNP2978) sans effets hors cible.

[0947] 2 Matériels et procédés

[0948] 2.1 Souches bactériennes et conditions de croissance

[0949] Des souches d'*Escherichia coli* ont été cultivées à 37°C dans un milieu de culture LB (LB) à 250 tr/min, ou sur des plaques de gélose LB solide (faites avec 1,5 % (p/v) de gélose). Pour la sélection des plasmides, le milieu a été additionné d'ampicilline (Amp, 100 µg ml⁻¹) ou de spectinomycine (Spc, 400 µg ml⁻¹). Pour la croissance de souches auxotrophes, le milieu a été en outre additionné d'acide diaminopimélique (DAP, 40 µg ml⁻¹).

[0950] *Bacteroides thetaiotaomicron* VPI-5482 (bSNP2978) ne se développe qu'en anaérobiose mais ne meurt pas dans des conditions aérobies. Pour cette raison, le « poste de travail à atmosphère variable M45 » (de l'anglais « M45 variable atmosphere workstation ») (Don Whitley, Yorkshire, Royaume-Uni) a été utilisé et réglé pour contenir un mélange de gaz N₂, H₂ et CO₂ selon le rapport 92:6:2. Tou(te)s les solutions et milieux destinés aux *Bacteroides* ont été laissés à réduire dans ces conditions pendant ~24 heures avant d'être utilisés.

[0951] Toutes les souches de *Bacteroides* ont été cultivées systématiquement à 37°C dans un bouillon coeur-cervelle (ou BHI, de l'anglais « Brain Heart Infusion ») additionné de cystéine (1 g l⁻¹), d'hémine (5 mg l⁻¹) et de NaHCO₃ (0,2 % (p/v)). Ce milieu, noté BHipp, est basé sur un récent protocole à *Bacteroides* (Bacic & Smith, 2008). Lorsqu'une croissance sur milieu solide s'est avérée nécessaire, le bouillon BHipp a été additionné d'agar (1,5 % (p/v)). Pour la sélection du plasmide, le milieu a été additionné d'érythromycine (Erm, 10 µg l⁻¹). Pour la contre-sélection de la souche donneuse d'*E. coli*, le milieu BHipp a été additionné de gentamicine (Gm, 30 µg l⁻¹).

[0952] 2.2 Conception et assemblage du VGC

[0953] Le VGC pSNP1599 est basé sur un plasmide navette, qui peut être distribué dans la souche réceptrice *Bacteroides thetaiotaomicron* VPI-5482 (bSNP2978) par conjugaison à partir d'une souche donneuse basée sur *E. coli* (bSNP3235).

[0954] Pour construire pSNP1599, cinq espaceurs complémentaires aux protoespaceurs trouvés dans le plasmide-même (détails à trouver à l'**Annexe C**) ont d'abord été assemblés dans une matrice CRISPR, puis clonés jusque dans le plasmide navette. Dans la même réaction de clonage, l'opéron de Type I-B CRISPR/Cas de la souche

630 Δ erm de *Clostridioides difficile* (désigné par CdCas) a également été cloné jusque dans le plasmide.

[0955] L'expression du système CRISPR/Cas porté par vecteur a été régulée par un promoteur inductible par le rhamnose (Prha), ce qui a permis de contrôler le retrait du plasmide. Des informations détaillées quant à la construction de pSNP1599 se trouvent dans l'**Annexe B**.

[0956] 2.3 *Transfert conjugatif de VGC de E. coli à B. thetaiotaomicron*

[0957] Tout d'abord, la souche donneuse à base de bSNP3235 portant le plasmide d'intérêt a été cultivée en aérobiose dans 30 ml de milieu LB additionné de DAP tandis que le receveur bSNP2978 a été cultivé en anaérobiose dans 5 ml de bouillon BHipp. Une fois que les cultures donneuses et réceptrices ont atteint des densités optiques (OD600) de $0,4 \pm 0,2$ et $0,15 \pm 0,05$, respectivement, elles ont été mélangées, en utilisant 25 ml de la donneuse et 2,5 ml de la réceptrice. Le mélange a été centrifugé ($9000 \times g$ pendant 10 minutes), le surnageant retiré et le culot remis en suspension dans 100 μ l de PBS (de l'anglais « Phosphate-buffered saline », soit Tampon phosphate salin). Le culot remis en suspension a été déposé par points sur une plaque de gélose BHipp et laissé incubé en aérobiose à 37°C pendant 18 heures pour faciliter la conjugaison.

[0958] Le point d'accouplement a été collecté et remis en suspension dans 500 μ l de bouillon BHipp pré-réduit (à partir de ce point, le reste de l'expérience a été réalisé dans le poste de travail anaérobie). Une dilution en série de 10 fois a été préparée dans un PBS (dilutions couvrant de 100 à 10^{-6}) puis déposée par points sur des milieux sélectifs (gélose BHipp + Gm + Erm) avec et sans inducteur. Les plaques ont été emballées dans des sacs en plastique et laissées à incuber en anaérobiose à 37°C pendant 2 à 3 jours. Toutes les unités formant colonies (UFC) transconjugantes émergeant des plaques ont été dénombrées. Deux exemples de plaques après 3 jours d'incubation sont donnés en [Fig.10].

[0959] 2.4 *Test de retrait de plasmide*

[0960] Une colonie de bSNP2978 contenant le VGC pSNP1599 autociblant intact (vérifié par séquençage) a été inoculée dans 5 ml de bouillon BHipp additionné de gentamicine et d'érythromycine et laissée croître anaérobiquement pendant une nuit. La culture a ensuite été lavée trois fois (chaque lavage consistant en une centrifugation à $4500 \times g$ pendant 2 min, retrait du surnageant et remise en suspension dans 5 ml de PBS) pour retirer toute trace d'érythromycine.

[0961] Deux aliquotes de 5 μ l de la culture lavée ont été transférées dans des tubes séparés contenant 5 ml de bouillon BHipp pré-réduit frais. Un tube a été additionné de l'inducteur rhamnose (10 mM) tandis que l'autre tube a reçu un volume égal de milliQ H₂O. Les cultures induites et non induites ont été laissées se développer de manière anaérobie au cours d'une journée, avec des aliquotes de 200 μ l prélevées sur chaque

culture à 0, 1, 3, 6 et 24 heures après l'induction.

[0962] Des dilutions en série de 10 fois ont été préparées dans du PBS pour chaque aliquot collecté (dilutions couvrant de 100 à 10⁻⁹) et déposées par points (2,5 µl par dilution) sur des plaques de gélose BHipp additionnées de gentamicine (plaques non sélectives) ou de gentamicine et d'érythromycine (plaques sélectives). Les plaques ont été emballées dans des sacs en plastique et laissées à incuber en anaérobiose pendant 2 à 3 jours. Les UFC ont été comptées. L'expérience a été réalisée avec des triplicats biologiques. Deux exemples de plaques après 3 jours d'incubation sont donnés en [Fig.11]

[0963] 3 Résultats

[0964] 3.1 Estimation de l'efficacité du retrait du VGC médié par CRISPR

[0965] Un VGC autociblant, appelé pSNP1599, a été généré, comprenant un système CRISPR/Cas de type I de *C. difficile* (CdCas) et cinq espaceurs qui ciblent le VGC lui-même. Lors de l'induction au rhamnose, le système CdCas est activé, ce qui conduit au ciblage CRISPR et, à son tour, au retrait du VGC.

[0966] L'efficacité de retrait a été testée en conjuguant le VGC dans la souche modèle *Bacteroides thetaiotaomicron* VPI-5482 (bSNP2978) via un accouplement avec une souche donneuse à base d'*E. coli* (bSNP3235) et en étalant le mélange d'accouplement sur un milieu solide qui sélectionne pour le VGC avec et sans rhamnose. En tant que témoin, le plasmide pSNP1380 vide a été conjugué via un accouplement séparé.

[0967] Des expériences de conjugaison ont montré que le VGC a été efficacement retiré, puisque 1000 fois moins de transconjugants émergeaient sur le milieu sélectif avec induction par rapport aux plaques sans induction (~10⁴ UFC/ml et ~10⁷ UFC/ml, respectivement) ([Fig.8]). La conjugaison du plasmide témoin vide ne montre aucune différence dans les transconjugants indépendamment de l'induction.

[0968] 3.2 Test des effets hors cible des VGC autociblants

[0969] Pour tester si le VGC autociblant est retiré sans tuer l'hôte *Bacteroides*, nous avons cultivé bSNP2978 (pSNP1599) avec et sans rhamnose (Figure 9A, haut). A différents moments, nous avons prélevé des aliquotes, fait des dilutions en série et les avons dispersées sur des plaques de milieu solide avec et sans érythromycine (marqueur antibiotique de VGC) (Figure 9A, bas), ce qui nous a permis d'estimer les tailles de la population hébergeant le plasmide et la population totale, respectivement.

[0970] Une heure après l'induction, environ 99 % des cellules de la population ont perdu leurs VGC (Figure 9B). Cette différence est progressivement augmentée tout au long de l'expérience. Comme attendu, pour la culture non induite, le nombre de cellules a été similaire quelle que soit la sélection, suggérant que notre VGC était stable dans les *Bacteroides* à moins que nous ne le retirions activement en ajoutant l'inducteur.

[0971] 4 Conclusions

[0972] Un nouveau VGC portant un système CRISPR/Cas autociblant (CdCas) peut efficacement être retiré de plus de 99,9 % des cellules d'une population de *B. thetaiotaomicron* lors de l'induction avec du rhamnose.

[0973] Il a également été démontré que la survie et la croissance des cellules de *B. thetaiotaomicron* n'ont pas été affectées par le VGC autociblant induit, ce qui suggère que le retrait du VGC médié par CRISPR/Cas n'a eu aucun effet hors cible.

[0974] **Annexe A : Souches bactériennes utilisées dans cette étude**

Identifiant de la souche bactérienne	Description	Référence ou source
bSNP2522	<i>E. coli</i> NEB® 10-beta. Utilisée comme souche de clonage.	New England Biolabs
		(Catalog # C3020K)
bSNP2978	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> VPI-5482. Bactérie anaérobie connue pour être abondante dans l'intestin humain.	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSM No. 2079) (de l'allemand : « Collection Allemande de Microorganismes et de Cultures Cellulaires SàRL)

[0975] **Annexe B : construction et clonage du VCG pSNP1599 autociblant**

[0976] *Conception et assemblage de la matrice CRISPR*

[0977] Une matrice CRISPR a été conçue en identifiant cinq protoespaces de 37 pb dans le squelette du plasmide navette (détails à l'**Annexe C**), chacun positionné adjacent à la séquence consensus de type I-B PAM (5'-CCW-3'). Une recherche préliminaire de similarité de séquence (BLASTn, non illustrée) n'a pas prédit de hors-cible pour l'un quelconque des cinq espaces choisis pour le chromosome de bSNP2978. La séquence répétée (5'- GTTTTATATTAAGTGGTATGTAAAT-3') compatible avec le système CRISPR/Cas de Type I-B a été choisie.

[0978] **Annexe C :**

pSNP1599	Basé sur un plasmide navette, contenant un opéron Cas de Type I-B de 6,6 kb de la souche 630Δerm de <i>C. difficile</i> (CdCas) et une matrice CRISPR de 359 pb contenant cinq espaceurs de 37 pb qui sont conçus pour cibler le VGC lui-même. Le locus entier a été régulé par un promoteur inductible par le rhamnose et la séquence consensus RBS utilisée par les <i>Bacteroides</i> spp.. Les cinq espaceurs sont listés ci-dessous : <u>Gène cible :Séquence d'espaceur (5'→3')</u>: <i>mobB</i>: 5'-TTCCGGGGAACTGTACCGGGACAACCTGGATAGGGAAA-3' <i>ampR</i>: 5'-TGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCTCC-3' <i>ermG</i>: 5'-AACTATCAAATAGTAAATGATGATATACTGAAATTTA-3' <i>P_rha</i>: 5'-TCAAAACCAATGTAATATTCCGTCCATCCGGTCTGCC-3' <i>pSC101</i>: 5'-GTTCTATTAGGTGTTACATGCTGTTCATCTGTTACAT-3'
----------	--

[0979] **EXEMPLE 8 : Evaluation du promoteur inductible par le xylitol de *Morganella morganii***

[0980] **Résumé opérationnel**

[0981] Un promoteur dont il a été prévu l'induction par le xylitol provenant de la bactérie *Morganella morganii* a été cloné et étudié dans le contexte de diverses souches d' *Escherichia coli*.

[0982] Il a été démontré que le promoteur est réprimé par une protéine régulatrice transcriptionnelle IZ184_04885 et que la répression pouvait être levée soit progressivement en ajoutant du xylitol au milieu de croissance, soit complètement en mutant le régulateur transcriptionnel. La sensibilité du promoteur vis-à-vis du xylitol a augmenté lorsque le système transporteur ABC du xylitol a également été inclus.

[0983] **Objectifs**

[0984] **Objectif 1**

[0985] Démontrer que la répression du promoteur inductible par le xylitol peut être levée en ajoutant des quantités croissantes de xylitol au milieu de croissance.

[0986] **Objectif 2**

[0987] Démontrer que la répression du promoteur inductible par le xylitol est évitée en mutant la protéine régulatrice transcriptionnelle IZ184_04885.

[0988] **Objectif 3**

- [0989] Etudier si l'expression du transporteur ABC du xylitol augmente la sensibilité du promoteur inductible par le xylitol envers le xylitol dans le milieu.
- [0990] **Matériels et procédés**
- [0991] **Souches bactériennes et conditions de croissance pour le clonage plasmidique**
- [0992] Toutes les souches d'*Escherichia coli* utilisées dans cette étude sont répertoriées dans le **Tableau 5, Annexe A**. Pour le clonage, des souches d'*E. coli* ont été cultivées à 37°C dans un milieu de culture LB (LB) à 250 tr/min ou sur des plaques de gélose LB solide (faites avec 1,5 % (p/v) de gélose). Pour la sélection plasmidique, le milieu a été additionné de tétracycline (10 µg.ml⁻¹) et/ou de spectinomycine (Spc, 100 µg.ml⁻¹).
- [0993] **Construction plasmidique**
- [0994] Plasmides rapporteurs de la GFP
- [0995] Basé sur une séquence annotée du génome de la souche ZJG812 de *Morganella morganii* (identifiant de génome : CP064831.1), une séquence d'ADN de 1213 pb codant pour le système de régulation inductible par le xylitol (à l'exclusion du gène de la sucre isomérase IZ184_04880) a été définie et commandée sous forme de fragment gBlock auprès d'Integrated DNA technologies™ (Coralville, IA, USA). Le fragment d'ADN gBlock a été encore amplifié par PCR à l'aide du Premix PCR CloneAmp HiFi de Takara Bio (Mountain View, CA, USA) avec des amorces SEM1770 et SEM1771. En parallèle, le squelette du plasmide pSNP1248 a été amplifié par PCR à l'aide du prémélange PCR CloneAMP HiFi avec les amorces SEM1282 et SEM1769, donnant un fragment d'ADN de 3250 pb qui contient le gène rapporteur fluorescent (*gfp*), une origine de répllication à faible nombre de copies (*cloDF13*) et un marqueur de résistance à la spectinomycine (Spc^R). La liste complète des amorces utilisées dans cette étude se trouve dans le **Tableau 6, Annexe B**.
- [0996] Les fragments d'ADN amplifiés ont été traités systématiquement avec DpnI (1 heure à 37°C suivie de 20 minutes à 80°C) et purifiés par extraction sur gel en utilisant le kit MinElute de Qiagen (Hilden, Allemagne) conformément aux instructions du fabricant. L'ADN du système de régulation purifié a été inséré dans le squelette pSNP1248 linéarisé avec le kit In-Fusion® HD Cloning de Takara Bio conformément aux instructions du fabricant. Des cellules bSNP2480 chimiquement compétentes ont été transformées avec l'ADN provenant du mélange réactionnel In-Fusion®. Des cellules transformées ont été dispersées sur des plaques de gélose LB+Spc100 et laissées incubées pendant une nuit. Les plasmides ont été purifiés à partir de colonies individuelles à l'aide du kit QIAprep Spin Miniprep de Qiagen conformément aux instructions du fabricant et ensuite vérifiés par séquençage Sanger. Le clone positif a été enregistré en tant que plasmide pSNP1902. De plus, un clone inopiné contenant une délétion de 595 pb située dans le cadre de lecture ouvert (ORF de l'anglais « Open Reading Frame ») du régulateur transcriptionnel (IZ184_04885) a été identifié et en-

registré en tant que plasmide pSNP1903.

[0997] plasmide transporteur ABC du xylitol

[0998] L'opéron *xyIABC* de 3728 pb de la souche ZJG812 de *Morganella morganii* (identifiant de génome: CP064831.1) a été commandé sous forme de deux fragments d'ADN gBlock auprès d'Integrated DNA Technologies™. Le squelette plasmidique a été préparé par amplification PCR du plasmide pSNP639 en utilisant le CloneAmp HiFi PCR Premix avec les amorces SEM1814 et SEM1815. Le fragment amplifié a été traité par DpnI et purifié par extraction sur gel, en suivant le même procédé que celui décrit dans la section 3.2.1.

[0999] Les deux fragments d'ADN gBlock et l'ADN de squelette linéarisé ont été fusionnés à l'aide du kit In-Fusion® HD Cloning de Takara Bio conformément aux instructions du fabricant. Des cellules bSNP2522 chimiquement compétentes ont été transformées avec l'ADN provenant du mélange réactionnel In-Fusion®. Des cellules transformées ont été dispersées sur des plaques de gélose LB+Tet¹⁰ et laissées incuber pendant une nuit. Les plasmides ont été purifiés à partir de colonies individuelles à l'aide du kit QIAprep Spin Miniprep de Qiagen conformément aux instructions du fabricant et ensuite vérifiés par séquençage Sanger. Le clone positif a été enregistré en tant que plasmide pSNP1939. La liste complète des plasmides utilisés dans cette étude se trouve dans le **Tableau 7, Annexe C**.

[1000] **Test d'expression GFP pour la caractérisation du promoteur inductible par le xylitol**

[1001] Préparation de souches modèles

[1002] Les plasmides rapporteurs de la GFP construits (pSNP1902 et pSNP1903), le plasmide contenant le transporteur ABC du xylitol (pSNP1939) ainsi que les plasmides témoins (voir **Tableau 7, Annexe C**) ont été transformés individuellement ou en combinaison dans les souches modèles *E. coli* MG1655 (bSNP230) et un isolat probiotique d'*E. coli* (bSNP463) par électroporation. Les cellules transformées ont été dispersées sur des plaques de gélose LB+Spc¹⁰⁰-, LB+Tet¹⁰- ou LB+Spc¹⁰⁰+Tet¹⁰ selon que les cellules ont été transformées avec le plasmide rapporteur de la GFP, le plasmide transporteur ABC du xylitol, ou les deux, respectivement. Les plaques ont été laissées à incuber pendant une nuit. Trois colonies de chaque souche ont été prélevées et utilisées comme triplicats biologiques dans le test d'expression *gfp* sur 24 heures qui a suivi.

[1003] Test d'expression *gfp* sur 24 heures

[1004] Des colonies triplicats ont été inoculées dans 5 ml de milieu LB ou 5 ml de bouillon de milieu minimal M9 (recette trouvée à l'**Annexe D**) additionnés de Tet (10 µg ml⁻¹) et/ou de Spc (100 µg ml⁻¹) et laissées à incuber pendant la nuit (~16 heures) à 37°C et 250 tr/min. Les cultures auraient atteint des densités optiques (OD₆₀₀) de 0,8±0,3 en

milieu minimal M9 et de $1,4 \pm 0,2$ en milieu LB.

- [1005] Chaque culture d'une nuit a ensuite été diluée 100x dans un milieu frais additionné d'antibiotiques appropriés (comme ci-dessus) et distribuée dans 3 à 6 nouvelles cultures auxquelles a été donné du xylitol à différentes concentrations dans une plage de 0 % à 5 % (les concentrations exactes de xylitol sont listées dans les figures afférentes en section 4). Les cultures ont ensuite été transférées sous forme d'aliquotes de 200 µl dans une plaque de microtitration noire à 96 puits à fond transparent. Pour normaliser les émissions de fluorescence, une rangée de puits dans la plaque a été dédiée à des cellules qui hébergent les plasmides témoins pSNP958 et pSNP1617 qui ne codent pas pour gfp (pour estimer l'autofluorescence) et une autre rangée dédiée aux milieux sans aucune cellule (pour estimer la fluorescence de fond). La plaque de microtitration a été scellée avec une membrane d'étanchéité Breath-Easy® de Merck (Whitehouse station, NJ, USA) et placée dans le lecteur de microplaques Synergy H1 d'Agilent Biotek (Winooski, VT, USA) programmé pour incuber pendant 24 heures à 37 °C avec une agitation constante. L'OD600 et la fluorescence GFP (excitation à 485 nm, émission à 516 nm, gain de 90) ont toutes deux été mesurées toutes les 10 minutes tout au long de l'incubation. Les émissions de fluorescence enregistrées ont été normalisées conformément aux densités cellulaires correspondantes et corrigées quant aux niveaux de fond et d'autofluorescence.

[1006] **Résultats**

[1007] **Critères et choix du promoteur inductible**

- [1008] Nous avons développé une stratégie de bioconfinement utilisant les systèmes CRISPR/Cas comme interrupteurs d'arrêt de nos circuits de production ou souches. Cela nécessite que le système CRISPR/Cas soit sous contrôle transcriptionnel étroit à partir d'un promoteur qui est activé lors de l'ajout d'une molécule inductrice externe.
- [1009] Dans le domaine de la microbiologie moléculaire, des opérons de gènes liés à la conversion/utilisation de sucres peuvent être induits par les sucres eux-mêmes lorsqu'ils se lient et influencent les protéines répresseurs transcriptionnels. Pour la présente étude, il a été décidé d'étudier un promoteur négativement inductible dont il a été prévu l'induction par le xylitol. Cet alcool de sucre à 5 carbones présente plusieurs avantages. Tout d'abord, le xylitol est généralement considéré comme sûr pour la consommation humaine par la FDA (Xiang et al., 2021). De plus, plus de la moitié du xylitol ingéré n'est pas adsorbé par les cellules humaines mais atteint plutôt le tractus gastro-intestinal où il est absorbé par le microbiome (Livesey, 2003), ce qui est utile pour contrôler nos interrupteurs dans le tractus gastro-intestinal. Enfin, le xylitol est un métabolite connu pour certaines bactéries : Il est soit repris directement par un complexe transporteur de type ABC (Madigan et al., 2015) et/ou généré par l'intermédiaire d'une réduction du sucre D-xylose correspondant. Subséquemment, le

xylitol peut être déshydrogéné et phosphorylé en xylulose-5-phosphate qui est ensuite catabolisé dans la voie des pentoses phosphates.

- [1010] A partir d'une thèse de doctorat datée (Gallo, 1991), nous avons trouvé un opéron dans le génome de la souche de bactérie *Morganella morganii* ZJG812 qui contient des gènes relatifs à l'absorption et au métabolisme du xylitol (détails résumés en [Fig.8](ii)). Cet opéron est situé en aval d'une région de régulation d'environ 1800 pb qui, entre autres éléments, consiste en un promoteur inductible négativement et une protéine de régulation transcriptionnelle apparentée IZ184_04885 (détails en **Annexe E**) à laquelle le xylitol est suggéré de se lier.
- [1011] ***Estimation de l'activité du promoteur en réponse au xylitol dans le milieu de croissance***
- [1012] Pour cette étude, deux plasmides rapporteurs ont été construits consistant en un gène rapporteur de la Protéine Fluorescente Verte (GFP, de l'anglais « Green Fluorescent Protein ») situé en aval du système de régulation inductible par le xylitol, soit sans (pSNP1902, [Fig.8](i)A) soit avec (pSNP1903, [Fig.8](ii)B) une délétion avec perte de fonction située dans le cadre de lecture ouvert (ORF) du régulateur transcriptionnel.
- [1013] Les plasmides rapporteurs consistent en un gène rapporteur de la protéine fluorescente verte (GFP) situé en aval du promoteur prévu inductible par le xylitol, qui à son tour est contrôlé par le régulateur transcriptionnel de liaison à l'ADN de la famille LacI (gène IZ184_04885). Deux plasmides rapporteurs sont faits, soit (A) avec un régulateur transcriptionnel pleine longueur (plasmide pSNP1902) ou (B) avec une délétion de perte de fonction (LOF, de l'anglais « Loss-Of-Function ») de 595 pb dans le cadre de lecture ouvert (ORF) du régulateur transcriptionnel (plasmide pSNP1903).
- [1014] Les plasmides rapporteurs de la GFP pSNP1902 et pSNP1903 ont été transformés en la souche d'isolat probiotique bSNP463 et testés en mesurant la densité optique (OD600) et la fluorescence verte émise à partir de cultures après une incubation de 24 heures en présence de quantités croissantes de xylitol. Les résultats de ces tests sont résumés en [Fig.9]. On observe comment l'intensité de fluorescence par cellule augmente jusqu'à 6 fois lorsque le xylitol est ajouté aux souches qui hébergent le plasmide rapporteur de la GFP avec le régulateur transcriptionnel pleine longueur (Figure 9A). **Lorsque le régulateur transcriptionnel est muté par une délétion de 595 pb (Figure 9B), l'intensité de fluorescence basale est environ 30 fois plus élevée que celle des souches avec le régulateur transcriptionnel pleine longueur et l'intensité de la fluorescence ne change pas lorsque du xylitol est ajouté. Ceci suggère que le xylitol induit l'expression en levant la répression que le régulateur transcriptionnel exerce sur le promoteur.**
- [1015] Le test du plasmide rapporteur de la GFP avec le régulateur transcriptionnel pleine longueur (pSNP1902) a été répété dans un bouillon moyen minimal en utilisant la

souche *E. coli* MG1655 (bSNP230) qui a donné des résultats similaires (comme montré en [Fig.10]). Il est à noter que les concentrations appliquées de xylitol étaient plus faibles pour ces tests car il a été démontré que des concentrations croissantes de xylitol ralentissaient le taux de croissance des bactéries lorsqu'elles étaient cultivées sur un milieu minimal additionné de glycérol. En outre, lorsque toutes les autres sources de carbone que le xylitol ont été omises du milieu minimal, les souches d'*E. coli* n'ont pas crû du tout (comme illustré à partir des profils de croissance montrés en [Fig.11]). Ceci est probablement dû au fait que les souches d'*E. coli* manquent généralement de la xylose réductase et de la xylitol déshydrogénase typiquement nécessaires au métabolisme du xylitol (Ge et al., 2018). Cela peut être utile pour un contrôle plus précis ou durable par le xylitol lorsque la souche ne peut pas métaboliser le xylitol. L'utilisation de doses plus faibles de xylitol peut être possible lorsque la souche ne peut pas métaboliser le xylitol.

[1016] Tester si la présence du transporteur ABC du xylitol augmente la sensibilité du promoteur inductible par le xylitol

[1017] L'activité d'un promoteur inductible négativement dépendra de l'import de la molécule inductrice jusque dans la cellule. Dans ce contexte, il a été émis l'hypothèse que l'expression de l'opéron transporteur ABC du xylitol prévu (mentionné en section 4.1) permettrait à plus de xylitol de pénétrer dans la cellule et ainsi d'augmenter la sensibilité du promoteur. Pour tester cela, le plasmide pSNP1939 a été transformé dans la construction bSNP230 contenant déjà le plasmide rapporteur de la GFP pSNP1902 et testé par le même test de 24 heures que celui utilisé précédemment. Pour ces expériences, les milieux minimaux M9 bien définis ont été utilisés soit avec du glycérol soit avec du glucose comme source de carbone pour la croissance. Le glucose a été choisi car c'est le sucre préféré pour la croissance bactérienne, mais il pourrait également avoir un effet inhibiteur sur les promoteurs qui régulent des voies métaboliques alternatives telles que celles relatives au xylitol. Le glycérol a été choisi car il avait été précédemment démontré par nous-même (données non présentées) comme n'influençant pas l'expression du promoteur inductible par le xylitol. Les résultats sont résumés en [Fig.12].

[1018] Nous avons utilisé des souches bSNP230 contenant le plasmide rapporteur de la GFP (pSNP1902) avec ou sans un plasmide corésident contenant le transporteur ABC du xylitol (pSNP1939) ont été cultivées pendant 24 heures dans un milieu minimal additionné de 0,4 % (v/v) de glycérol (A) ou 0,4 % (p/v) de glucose (B) en présence ou en l'absence de xylitol. L'émission de fluorescence ajustée de la densité cellulaire après 24 heures d'incubation est montrée ci-dessus. Les barres d'erreur indiquent des écarts types basés sur deux (A) et trois (B) répétitions biologiques, respectivement. Les courbes de croissance correspondantes sont montrées en [Fig.13].

[1019] A ces faibles concentrations de xylitol, la souche bSNP230/pSNP1902 n'a présenté aucun changement d'intensité de fluorescence (mais des concentrations plus élevées de xylitol dans une expérience différente peuvent conduire à une fluorescence accrue). Pour la souche bSNP230/pSNP1902p+pSNP1939, cependant, il a été observé que l'intensité de la fluorescence augmentait à mesure que du xylitol était ajouté - un effet qui était plus prononcé lorsque le milieu minimal était additionné de glycérol (Figure 13A) plutôt que de glucose (Figure 13B). Ces données suggèrent que la présence du transporteur ABC du xylitol augmente la sensibilité des souches porteuses de plasmide rapporteur vis-à-vis du xylitol dans le milieu de croissance.

[1020] **Conclusions**

[1021] Le promoteur inductible par le xylitol provenant de *Morganella morganii* est réprimé par la protéine régulatrice transcriptionnelle IZ184_04885 lorsqu'il est testé dans diverses souches d'*E. coli*. Cette répression a été levée progressivement en ajoutant du xylitol au milieu de croissance ou totalement en mutant IZ184_04885. La sensibilité du promoteur vis-à-vis du xylitol dans le milieu de croissance a été encore améliorée en incluant le système transporteur ABC du xylitol.

Références

- [1022] Gallo, M. A. (1991). Molecular characterization of xylitol catabolic pathways in the Enterobacteriaceae. Cornell University.
- [1023] Ge, X., Chang, C., Zhang, L., Cui, S., Luo, X., Hu, S., Qin, Y., & Li, Y. (2018). Conversion of Lignocellulosic Biomass Into Platform Chemicals for Biobased Polyurethane Application. In *Advances in Bioenergy* (Vol. 3, pp. 161–213). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/BS.AIBE.2018.03.002>
- [1024] Livesey, G. (2003). Health potential of polyols as sugar replacers, with emphasis on low glycaemic properties. *Nutrition Research Reviews*, 16(2), 163–191. <https://doi.org/10.1079/nrr200371>
- [1025] Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., Stahl, D. A., & Brock, T. (2015). Microbial Metabolism. In *Brock Biology of Microorganisms* (14th ed.). Pearson.
- [1026] Xiang, S., Ye, K., Li, M., Ying, J., Wang, H., Han, J., Shi, L., Xiao, J., Shen, Y., Feng, X., Bao, X., Zheng, Y., Ge, Y., Zhang, Y., Liu, C., Chen, J., Chen, Y., Tian, S., & Zhu, X. (2021). Xylitol enhances synthesis of propionate in the colon via cross-feeding of gut microbiota. *Microbiome*, 9(1), 1–21. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01029-6>

Annexes

Annexe A : Origine des souches bactériennes

[1027] *Tableau 5. Origines des souches bactériennes utilisées dans cette étude*

ID de souche	Description	Référence ou source
bSNP230	<i>E. coli</i> MG1655	Notre collection
bSNP463	Isolat probiotique <i>E. coli</i>	Notre collection
bSNP2480	<i>E. coli</i> Takara Stellar	Takara Bio (Mountain View, CA, Etats-Unis), Cat#636763
bSNP2522	<i>E. coli</i> NEB 10-beta	New England Biolabs (Ipswich, MA, Etats-Unis), Cat# C3019H

[1028] **Annexe B : Amorces**

[1029] Tableau 6. Amorces pertinentes et leurs séquences

Identifiant d'amorce	Séquence (5' → 3')
SEM1282	GCTAGCAGAGTTTGTAGAAACGC
SEM1769	ATGCGTAAAGGCGAAGAACTGT
SEM1770	TTTCTACAAACTCTGCTAGCTTAAGATTTGAGGAGACCGCGCAC
SEM1771	AGTTCTTCGCCTTTACGCATGATCATTTCTTTTCATTAAAATGAT ATCGATATC
SEM1814	GACCTCCGGGTATTCTGATGCATTGAATTCCTCCTGCTAGCCT
SEM1815	ACTGGATGCCCGTAAATAAATGTTGTTTGTCTGGTGAACCTCTGC

[1030]

[1031] **Annexe C : Plasmides**

[1032] Tableau 7. Plasmides utilisés dans cette étude

Identifiant de vecteur	Description	Référence ou source
pSNP639	Squelette plasmidique utilisé pour la construction de pSNP1939. Code pour un	Notre collection

	marqueur de résistance à la tétracycline (Tet ^R).	
pSNP958	Plasmide utilisé comme témoin négatif dans les analyses de fluorescence car il possède le même marqueur de résistance (Spc ^R) et la même origine de réplication que les plasmides dérivés de pSNP1248 mais est exempt du gène rapporteur de la <i>gfp</i> .	Notre collection
pSNP1248	Plasmide codant pour le gène rapporteur de la <i>gfp</i> . Les plasmides pSNP1902 et pSNP1903 sont basés sur ce squelette. Code pour un marqueur de résistance à la spectinomycine (Spc ^R).	Notre collection
pSNP1617	Plasmide utilisé comme témoin négatif car il possède le même marqueur de résistance (Tet ^R) et la même origine de réplication que pSNP1939 mais est exempt du transporteur ABC du xylitol.	Notre collection
pSNP1902	Plasmide rapporteur de la GFP contenant le système de régulation inductible par le xylitol provenant de <i>Morganella morganii</i> mais sans le gène de la sucre isomérase (IZ184_04880). Code pour un marqueur de résistance à la spectinomycine (Spc ^R).	Cette étude
pSNP1903	Identique à p1902 sauf que le cadre de lecture ouvert (ORF) de la protéine répresseur contient une délétion de 595 pb.	Cette étude
pSNP1939	Plasmide codant pour le système transporteur ABC du xylitol (<i>xylABC</i>) provenant de <i>Morganella morganii</i> . Code	Cette étude

	pour un marqueur de résistance à la tétracycline (Tet ^R).	
--	---	--

[1033] **Annexe D : Recette du milieu minimal M9**

[1034] Le milieu minimal M9 utilisé dans ce rapport d'étude consiste en une solution de sels de milieu additionnée d'une source de carbone (glucose ou glycérol), de vitamine B1, de magnésium, de calcium et d'une source de fer.

[1035] La solution de sels de milieu est une composition de quatre sels cruciaux. Nous recommandons

[1036] de la préparer sous la forme d'une solution mère 5x selon le **Tableau 8** ci-dessous :

[1037] *Tableau 8. Solution de sels minimale 5x M9*

Composant	Quantité ajoutée par litre	Concentration finale
Na ₂ HPO ₄	30 g	210 mM
KH ₂ PO ₄	15 g	110 mM
NaCl	5 g	428 mM
NH ₄ Cl	2,5 g	93 mM
Remplir un bécher avec ~ 800 ml de H ₂ O distillée et ajouter les quantités spécifiées des quatre sels tandis que la solution est minutieusement mélangée par une barre d'agitation magnétique. Une fois les composants dissous, compléter avec de l'H ₂ O distillée jusqu'à 1000 ml. Stériliser en autoclavant la solution à 121 °C pendant 15 minutes. La solution de sels 5x M9 peut être conservée à température ambiante jusqu'à un an.		

[1038] Toutes les solutions mères restantes nécessaires pour fabriquer la solution de sels moyenne M9 sont préparées systématiquement en pesant la quantité appropriée du composant, en le dissolvant dans de l'H₂O distillée sous agitation constante et en le stérilisant par filtration (taille des pores = 0,2 µm). Une fois préparées, mélanger les solutions mères ensemble selon les instructions du **Tableau 9** ci-dessous :

[1039] *Tableau 9. Recette du milieu minimal M9 pour la croissance d'E. coli*

Solution mère	Quantité ajoutée par litre de milieu M9	Concentration finale
Solution de sels 5x M9	200 ml	42 mM (Na ₂ HPO ₄) 27 mM (KH ₂ PO ₄) 85,6 mM (NaCl) 18,6 mM (NH ₄ Cl)

20 % (v/v) de glycérol	20 ml	0,4 %
ou		
glucose à 20 % (p/v)		
2M MgSO ₄ •7H ₂ O	2 ml	4 mM
0,1 M CaCl ₂ •2H ₂ O	2 ml	0,2 mM
0,05 M FeCl ₂ •6H ₂ O	1 ml	0,05 mM
Thiamine-HCl à 1 % (p/v)	1 ml	0,001 % (p/v)
Eau déminéralisée	Jusqu'à 1000 ml	-
Remplir un b��cher avec ~600 ml d'H ₂ O distillée et ajouter les volumes spécifiés de solutions mères. La solution de milieu minimal 1x M9 peut être conserv��e �� temperature ambiante jusqu'à un mois.		

[1040] **Annexe E : Séquence d'ADN et d'acides aminés du régulateur transcriptionnel de liaison à l'ADN de la famille LacI IZ184_04885**

[1041] Séquence d'ADN IZ184_04885 (5'→3') (SEQ ID NO : 1)

[1042] ttggcgggaaccccgacacagaaagtcacactggaaaatgtggccgctattgcgaatgtcagtaagatcacgcacatccc
gcgcatttttcgcagccggataaggttcacccggaaactctcaggcgtattctcgcagccgcagataaaatcggttatgtggtg
aatgcggcgccgcagcagcctgcgcgcgaaatcctcccgtaccatcggtattgtcagcccgacatgagcaacccgttttcg
gcgggctggccaagcgcacacccctggaagcctataacgcggggtatgacacgctgatgtttgactcctatgaatcacgtga
aaatgaagcgcgtatcattgataagctgattggttacaacgtggatgccatcattctgtccgttctccgccgaaagggtgat
cgccccggcgtatatgaaacagctggaactgctcaatattccgggtgatcctggttgaccgtgagctggatgccaaaggcatgca
gcggcgctttacatgataatctcgactgcggattgcaggcagggcgctatctgctgtcacaaaaagcggataacgtggtgatt
gtctccggccccggaagattccaatgtggcccaggatcgcgtaaccggcatggtggccggtctgcacggccagggtcagcag
cgtcaatgtgctgcatcgggacttctgatggatgaagcctttaaagtcaccgaccattacctgaaataccatcccgcgccgg
attattttgcggctgcaataaccagatctcactcgggattatcaaagcctgtatccgccacaatctgatcccgcaaaaagatgt
ctcgtgttcagcatgatgaagtctctcatgccgatatttacggattcaatttcccgatcttctcatgatttacaggaaattgcc
tggcaggccattaacatggcagtagcgggcgacggatgcagcgccccggcgagcaagggtggtgtgcgcggtctcc
tcaaattcttaa

[1043] Séquence d'acides aminés IZ184_04885 (SEQ ID NO : 2)

[1044] MAEPRTQKVLTLENVAIAINVSKITASRAFSQPKVHPETLRRILDAADKIGY
VVNAAARSLRAKSSRTIGIVSPDMSNPFFGGLAKRITLEAYNAGYDTLMFDSY
ESRENEARIIDKLIGYNVDAILSVVSAERVYRPAVMKQLELLNIPVILVDRELD
AKACSGVYIDNLCGLQAGRYLLSQKADNVVIVSGPEDSNVAQDRVVTGMVA
GLHGQVSSVNVLHADFLMDEAFKVTDHYLKYHPAPDYFVGCNNQISLGIKA
CIRHNLIPQKDVSLFSIDEVSHADIYGFNFPCISHDLQEIAWQAINMAVRRATDR

SAPASKVVVRGLLKS

[1045] **Annexe F : Autres séquences**

[1046] Séquence du promoteur (5'→3') (SEQ ID NO : 3)

[1047] cctgaatgatatcggtatcattatagccttggtcacagatagcaaagatgtgacccggaagaccctttgccgaatactacatga
gtagatcagactttatttaataaaagttaacatcatcacataattataataaattgtcttattatccgcatcatagtaatgatc
gatatcattttaagaaaggaaatgatc

[1048] Séquence comprenant (dans le sens 5' vers 3') la séquence du répresseur, de
l'isomérase et du promoteur de la souche *Morganella morganii* ZJG812 (SEQ ID NO :
4)

[1049] Cette séquence peut être utilisée dans l'invention et fournit le répresseur et le
promoteur.

[1050] ttaagatttgaggagaccgcgacacaaccaccttgctcgccggggcgctgcatccgctgccccgcgtactgccatgtaa
tggcctgccaggcaatttctgtaaatcatgagaaatgcacgggaaattgaatccgtaaatacggcatgagagacttcatcg
atgctgaacagcgagacatcttttgcgggatcagattgtggcggtacagccttgataatcccagtgagatctggttattgc
agccgacaaaataatccggcgcggtatggtatctcaggtaatggtcggtgactttaaggcttcatccatcaggaagtcgca
tgcagcacattgacgctgctgacctggcgtgcagaccggccaccatgccggttacgcgacatctggccacattggaattt
ccgggcccggagacaatcaccacgttatccgcttttgtgacagcagatagcgccctgcctgcaatccgcagtcgagattatc
gatgtaaaccgctgcatgacctggcatccagctcacggtcaaccagatcacccgaatattgagcagttccagctgtttca
tatacgccgggagataccctttcggcgagacaacggacagaatgatggcatccacgttgtaaccaatcagcttatcaat
gatacgcgcttcaattttcagtgattcataggagtcacacatcagcgtgtacacccggcggtatagcctccagggtgatgcg
cttggccagccccgcgaaaaacgggtgctcatgtccgggctgacaataccgatggtacgggaggatttcgcgcgcaggct
gcgtgccgcgcattcaccacataaccgattttatctgcggcatcgagaatacgcctgagagtttccgggtgaaccttatccg
gctgcgaaaatgcgcgggatgcggtgatcttactgacattcgcaatagcggccacattttccagtgtgactttctgttccggg
gttccgccaattttctctccttagcagcaacgtatcattttataaccattataatcatctaaatcattcagtcacgtgaaaaacac
gctttttattacttaaacgacactaacaacttttaacactcagctctttttatccgcggatcggtaaaaatgtcgtattcatcggtg
ttttctgtggagaactccgacaccaccgcgcctgcgggtccggctttaaaccagtggcggtatccggcatgatggtgactg
ctctccggggcgagcagaataaagcgggtcacagggtgaccattctcatccccctgcggcgagggcagaccggattgc
cctgagcatcctgattcagtgtagcgcgggatcatccacaaacagatacacctcaccacagcggcagcgaaagtctctg
cttaccggccgggtctttgtacggcggtgacgggtgctccggacaggtctggtcagcaaagagaaccagctctttggcgca
gtacagcgggctgttgacgtgagcagttgcaggccagagcggggataatccggcagattaaagtgagcaatttcaat
atgctgctgttccgcttctgtcagaatgatgtgcctgttcagaaccgccagtgattccgcgatatacggctgtttattcatctg
cctctctctgaatgatcgttatcattatagccttggtcacagatagcaaagatgtgacccggaagaccctttgccgaatacta
catgagtagatcagactttatttaataaaagttaacatcatcacataattataataaattgtcttattatccgcatcatagtaat
gatatcgatatcattttaagaaaggaaatgatc

[1051] **TABLEAU 1 : Exemple de Genres, d'Espèces et de Souches de Cellules**

[1052] Chaque cellule porteuse peut être une cellule d'un genre ou d'une espèce divulguée
dans ce tableau et/ou une cellule cible peut être une cellule d'un genre ou d'une espèce
divulguée dans ce tableau ; les genres des cellules porteuses et cibles peuvent être

identiques de différents ; les espèces des cellules porteuses et cibles peuvent être identiques de différentes.

Acidovorax avenae sous-esp. *cattleyae*

Acidovorax avenae sous-esp.

Acidovorax konjaci

Acidovorax valerianellae

Agrobacterium

Agrobacterium larrymoorei

Agrobacterium radiobacter

Agrobacterium rhizogenes

Agrobacterium rubi

Agrobacterium tumefaciens

Agrobacterium vitis

Arthrobacter

Arthrobacter ilicis

Bacillus

Bacillus megaterium

Bacillus megaterium pv. *cerealis*

Bacillus pumilus

Brenneria

Brenneria alni

Brenneria nigrifluens

Brenneria quercina

Brenneria rubrifaciens

Brenneria salicis

Burkholderia

Burkholderia andropogonis

Burkholderia caryophylli

Burkholderia cepacia

Burkholderia gladioli

Burkholderia gladioli pv. *agaricicola*

Burkholderia gladioli pv. *alliicola*

Burkholderia gladioli pv. *gladioli*

Burkholderia glumae

Burkholderia

Clavibacter

Clavibacter michiganensis

Clavibacter michiganensis sous-esp.

Clavibacter michiganensis sous-esp. *michiganensis*

Clavibacter michiganensis sous-esp. *nebraskensis*

Clavibacter michiganensis sous-esp. *sepedonicus*

Clavibacter michiganensis sous-esp. *tessellarius*

Clavibacter rathayi

Clavibacter toxicus

Clavibacter tritici

Clavibacter xyl

Clavibacter xyli sous-esp. *cynodontis*

Clavibacter xyli sous-esp. *xyli*

Clostridium

Clostridium puniceum

Corynebacterium

Corynebacterium betae

Corynebacterium beticola

Corynebacterium fascians

Corynebacterium flaccumfaciens

Corynebacterium flaccumfaciens pv. *betae*

Corynebacterium flaccumfaciens pv. *flaccumfaciens*

Corynebacterium flaccumfaciens pv. *oortii*

Corynebacterium flaccumfaciens pv. *poinsettiae*

Corynebacterium flaccumfaciens sous-esp.

Corynebacterium flaccumfaciens sous-esp. *flaccumfaciens*

Corynebacterium flaccumfaciens sous-esp. *oortii*

Corynebacterium flaccumfaciens sous-esp. *poinsettiae*

Corynebacterium ilicis

Corynebacterium insidiosum

Corynebacterium iranicum

Corynebacterium michiganense

Corynebacterium michiganensis pv. *insidiosus*

Corynebacterium michiganensis pv. *iranicum*
Corynebacterium michiganense pv. *nebraskense*
Corynebacterium michiganense pv. *rathayi*
Corynebacterium michiganense pv. *sepedonicum*
Corynebacterium michiganense pv. *tritici*
Corynebacterium michiganense sous-esp. *insidiosum*
Corynebacterium michiganense sous-esp.
Corynebacterium michiganense sous-esp. *nebraskense*
Corynebacterium michiganense sous-esp. *sepedonicum*
Corynebacterium michiganense sous-esp. *tessellarius*
Corynebacterium oortii

Corynebacterium
Corynebacterium rathayi
Corynebacterium sepedonicum

Corynebacterium tritici
Curtobacterium
Curtobacterium flaccumfaciens

Curtobacterium flaccumfaciens pv.
Curtobacterium flaccumfaciens pv. *flaccumfaciens*
Curtobacterium flaccumfaciens pv. *ilicis*
Curtobacterium flaccumfaciens pv. *oortii*
Curtobacterium flaccumfaciens pv. *poinsettiae*

Dickeya
Dickeya chrysanthemi
Dickeya chrysanthemi pv. *chrysanthemi*
Dickeya chrysanthemi pv. *parthenii*
Dickeya dadantii
Dickeya dianthicola
Dickeya dieffenbachiae
Dickeya paradisiaca
Dickeya zeae

Enterobacter
Enterobacter agglomerans

Enterobacter cancerogenus
Enterobacter cloacae
Enterobacter cloacae sous-esp. *dissolvens*
Enterobacter nimipressuralis
Enterobacter pyrinus

Erwinia

Erwinia alni
Erwinia amylovora .
Erwinia amylovora pv. *pyri*
Erwinia ananatis corrig.
Erwinia ananatis pv. *ananatis*
Erwinia ananas pv. *uredovora*
Erwinia cacticida
Erwinia cancerogena
Erwinia carnegieana
Erwinia carotovora
Erwinia carotovora pv. *atroseptica*
Erwinia carotovora pv. *carotovora*
Erwinia carotovora sous-esp. *atroseptica*
Erwinia carotovora sous-esp. *carotovora*
Erwinia carotovora sous-esp. *betavascularum*
Erwinia carotovora sous-esp. *odorifera*
Erwinia carotovora sous-esp. *wasabiae*
Erwinia chrysanthemi
Erwinia chrysanthemi pv. *chrysanthemi*
Erwinia chrysanthemi pv.
Erwinia chrysanthemi pv. *dieffenbachiae*
Erwinia chrysanthemi pv. *paradisiaca*
Erwinia chrysanthemi pv. *parthenii*
Erwinia chrysanthemi pv. *zeae*
Erwinia cypripedii
Erwinia dissolvens
Erwinia herbicola
Erwinia herbicola f. *sp.*
Erwinia herbicola pv. *milletiae*
Erwinia mallotivora

Erwinia nigrifluens
Erwinia nimipressuralis
Erwinia papayae
Erwinia proteamaculans
Erwinia persicina
Enterobacter pyrinus
Erwinia psidii
Erwinia pyrifoliae
Erwinia rhapontici
Erwinia rubrifaciens
Erwinia salicis
Erwinia stewartii
Erwinia tracheiphila
Erwinia uredovora
Ewingella
Ewingella americana
Gluconobacter Asai
Gluconobacter oxydans
Herbaspirillum
Herbaspirillum rubrisubalbicans
Janthinobacterium
Janthinobacterium agaricidamnosum
Leifsonia
Leifsonia cynodontis
Leifsonia xyli
Leifsonia xyli sous-esp. cynodontis
Leifsonia xyli sous-esp. xyli

Nocardia

Nocardia vaccinii

Pantoea
Pantoea agglomerans
Pantoea agglomerans pv. *gypsophilae*
Pantoea agglomerans pv. *milletiae*
Pantoea ananatis

Pantoea ananatis pv. *ananatis*

Pantoea ananatis pv. *uredovora*

Pantoea stewartii

Pantoea stewartii sous-esp. *indologenes*

Pantoea stewartii sous-esp. *stewartii*

Pectobacterium

Pectobacterium

Pectobacterium

Pectobacterium cacticida corrig

Pectobacterium

Pectobacterium carotovorum

Pectobacterium carotovorum sous-esp. *atrosepticum*

Pectobacterium carotovorum sous-esp. *betavascularum*

Pectobacterium carotovorum sous-esp. *brasiliensis*

Pectobacterium carotovorum sous-esp. *carotovorum*

Pectobacterium carotovorum sous-esp. *odoriferum*

Pectobacterium carotovorum sous-esp. *wasabiae*

Pectobacterium chrysanthemi

Pectobacterium chrysanthemi pv. *chrysanthemi*

Pectobacterium chrysanthemi pv. *dianthicola*

Pectobacterium chrysanthemi pv. *dieffenbachiae*

Pectobacterium chrysanthemi pv. *parthenii*

Pectobacterium chrysanthemi pv. *zeae*

Pectobacterium cypripedii

Pectobacterium rhapontici

Pectobacterium wasabiae

Pseudomonas

Pseudomonas agarici

Pseudomonas amygdali

Pseudomonas andropogonis pv. *andropogonis*

Pseudomonas andropogonis pv. *sojae*

Pseudomonas andropogonis pv. *stizolobii*

Pseudomonas asplenii

Pseudomonas avellanae

Pseudomonas avenae

Pseudomonas avenae sous-esp. *avenae*
Pseudomonas avenae sous-esp. *citrulli*
Pseudomonas avenae sous-esp. *konjaci*
Pseudomonas beteli corrig.
Pseudomonas cannabina
Pseudomonas caricapapayae
Pseudomonas caryophylli
Pseudomonas cattleyae
Pseudomonas cepacia
Pseudomonas cichorii
Pseudomonas cissicola
Pseudomonas coronafaciens
Pseudomonas corrugata
Pseudomonas costantinii
Pseudomonas dodoneae
Pseudomonas ficuserectae
Pseudomonas flectens
Pseudomonas fuscovaginae
Pseudomonas gingeri
Pseudomonas gladioli
Pseudomonas gladioli pv. *agaricicola*
Pseudomonas gladioli pv. *alliicola*
Pseudomonas gladioli pv. *gladioli*
Pseudomonas glumae
Pseudomonas hibiscicola
Pseudomonas marginalis
Pseudomonas marginalis pv. *alfalfae*
Pseudomonas marginalis pv. *marginalis*
Pseudomonas marginalis pv. *pastinacae*
Pseudomonas mediterranea
Pseudomonas meliae
Pseudomonas palleroniana
Pseudomonas plantarii
Pseudomonas pomi
Pseudomonas pseudoalcaligenes sous-esp. *citrulli*
Pseudomonas pseudoalcaligenes sous-esp. *konjaci*
Pseudomonas rubrilineans
Pseudomonas rubrisubalbicans

Pseudomonas salomonii
Pseudomonas savastanoi
Pseudomonas savastanoi pv. *fraxini*
Pseudomonas savastanoi pv. *glycinea*
Pseudomonas savastanoi pv. *nerii*
Pseudomonas savastanoi pv. *phaseolicola*
Pseudomonas savastanoi pv. *retacarpa*
Pseudomonas savastanoi pv. *savastanoi*
Pseudomonas syringae
Pseudomonas syringae pv. *aceris*
Pseudomonas syringae pv. *actinidiae*
Pseudomonas syringae pv. *aesculi*
Pseudomonas syringae pv. *alisalensis*
Pseudomonas syringae pv. *antirrhini*
Pseudomonas syringae pv. *apii*
Pseudomonas syringae pv. *aptata*
Pseudomonas syringae pv.
Pseudomonas syringae pv. *atropurpurea*
Pseudomonas syringae pv. *avellanae*
Pseudomonas syringae pv. *avii*
Pseudomonas syringae pv. *berberidis*
Pseudomonas syringae pv. *broussonetiae*
Pseudomonas syringae pv. *castaneae*
Pseudomonas syringae pv. *cerasicola*
Pseudomonas syringae pv. *ciccaronei*
Pseudomonas syringae pv. *coriandricola*
Pseudomonas syringae pv. *coronafaciens*
Pseudomonas syringae pv. *coryli*
Pseudomonas syringae pv. *cunninghamiae*
Pseudomonas syringae pv. *daphniphylli*
Pseudomonas syringae pv. *delphinii*
Pseudomonas syringae pv. *dendropanacis*
Pseudomonas syringae pv. *dysoxylis*
Pseudomonas syringae pv. *eriobotryae*
Pseudomonas syringae pv. *garcae*
Pseudomonas syringae pv. *glycinea*
Pseudomonas syringae pv. *helianthi*
Pseudomonas syringae pv.

Pseudomonas syringae pv.
Pseudomonas syringae pv.
Pseudomonas syringae pv. *lapse*
Pseudomonas syringae pv. *maculicola*
Pseudomonas syringae pv.
Pseudomonas syringae pv. *mori*
Pseudomonas syringae pv. *morsprunorum* .
Pseudomonas syringae pv. *myricae*
Pseudomonas syringae pv.
Pseudomonas syringae pv. *papulans*
Pseudomonas syringae pv. *passiflorae*
Pseudomonas syringae pv.
Pseudomonas syringae pv. *philadelphi*
Pseudomonas syringae pv. *photiniae*
Pseudomonas syringae pv. *psi*
Pseudomonas syringae pv. *porri*
Pseudomonas syringae pv. *primulae*
Pseudomonas syringae pv. *rhapiolepidis*
Pseudomonas syringae pv. *ribicola*
Pseudomonas syringae pv. *sesami*
Pseudomonas syringae pv. *solidagae*
Pseudomonas syringae pv. *spinaceae*
Pseudomonas syringae pv. *syringae*
Pseudomonas syringae pv. *tagetis*
Pseudomonas syringae pv. *theae*
Pseudomonas syringae pv. *tomato*
Pseudomonas syringae pv. *ulmi*
Pseudomonas syringae pv. *viburni*
Pseudomonas syringae pv.
Pseudomonas syzygii
Pseudomonas tolaasii
Pseudomonas tremae
Pseudomonas viridiflava

Ralstonia
Ralstonia solanacearum
Ralstonia syzygii
Rathayibacter

Rathayibacter iranicus

Rathayibacter rathayi

Rathayibacter

Rathayibacter tritici

Rhizobacter

Rhizobacter dauci corrig.

Rhizobium

Rhizobium larrymoorei

Rhizobium radiobacter

Rhizobium rhizogenes

Rhizobium rubi

Rhizobium vitis

Rhodococcus

Rhodococcus fascians

Samsonia

Samsonia erythrinae

Serratia

Serratia marcescens

Serratia proteamaculans

Sphingomonas

Sphingomonas melonis Buonauro

Sphingomonas suberifaciens

Spiroplasma

Spiroplasma citri

Spiroplasma kunkelii

Spiroplasma phoeniceum

Streptomyces

Streptomyces acidiscabies

Streptomyces albidoflavus

Streptomyces candidus

Streptomyces caviscabies
Streptomyces collinus
Streptomyces europaeiscabiei
Streptomyces intermedius
Streptomyces ipomoeae
Streptomyces luridiscabiei
Streptomyces niveiscabiei
Streptomyces puniscabiei
Streptomyces reticuliscabei
Streptomyces scabiei corrig.
Streptomyces setonii
Streptomyces steliiscabiei
Streptomyces turgidiscabies
Streptomyces wedmorensis

Xanthomonas
Xanthomonas albilineans
Xanthomonas alfalfae
Xanthomonas alfalfae sous-esp. *alfalfae*
Xanthomonas alfalfae sous-esp. *citrumelonis*
Xanthomonas arboricola
Xanthomonas axonopodis
Xanthomonas bromi
Xanthomonas campestris
Xanthomonas cassavae
Xanthomonas citri
Xanthomonas cucurbitae
Xanthomonas euvesicatoria
Xanthomonas fragariae
Xanthomonas fuscans
Xanthomonas fuscans
Xanthomonas gardneri
Xanthomonas hortorum
Xanthomonas hortorum
Xanthomonas hyacinthi
Xanthomonas oryzae
Xanthomonas populi
Xanthomonas sacchari

Xanthomonas theicola

Xanthomonas translucens

Xanthomonas vasicola

Xylella

Xylella fastidiosa

Xylophilus

Xylophilus ampelinus

Bactéries Phytopathogènes 'Candidatus'

'*Candidatus Liberibacter*'

'*Candidatus Liberibacter asiaticus*'

'*Candidatus Phlomobacter*'

'*Candidatus Phlomobacter fragariae*'

'*Candidatus Phytoplasma*'

[1053] **TABLEAU 2 : Autres Exemples de Bactéries**

[1054] Optionnellement, les cellules porteuses sont sélectionnées à partir de ce Tableau et/ ou les cellules cibles sont sélectionnées à partir de ce Tableau (par exemple les cellules porteuses et cibles étant d'une espèce différente ; ou de la même espèce mais sont d'une souche différente ou *vice versa*).

Abiotrophia

[1055] *Abiotrophia defectiva*

Acaricomes

[1056] *Acaricomes phytoseiuli*

Acetitomaculum

[1057] *Acetitomaculum ruminis*

Acetivibrio

[1058] *Acetivibrio cellulolyticus*

[1059] *Acetivibrio ethanolgignens*

[1060] *Acetivibrio multivorans*

Acetoanaerobium

[1061] *Acetoanaerobium noterae*

Acetobacter

[1062] *Acetobacter aceti*

[1063] *Acetobacter cerevisiae*

[1064] *Acetobacter cibinongensis*

- [1065] *Acetobacter estunensis*
- [1066] *Acetobacter fabarum*
- [1067] *Acetobacter ghanensis*
- [1068] *Acetobacter indonesiensis*
- [1069] *Acetobacter lovaniensis*
- [1070] *Acetobacter malorum*
- [1071] *Acetobacter nitrogenifigens*
- [1072] *Acetobacter oeni*
- [1073] *Acetobacter orientalis*
- [1074] *Acetobacter orleanensis*
- [1075] *Acetobacter pasteurianus*
- [1076] *Acetobacter pornorurn*
- [1077] *Acetobacter senegalensis*
- [1078] *Acetobacter xylinus*

Acetobacterium

- [1079] *Acetobacterium bakii*
- [1080] *Acetobacterium carbinolicum*
- [1081] *Acetobacterium dehalogenans*
- [1082] *Acetobacterium fimetarium*
- [1083] *Acetobacterium malicum*
- [1084] *Acetobacterium paludosum*
- [1085] *Acetobacterium tundrae*
- [1086] *Acetobacterium wieringae*
- [1087] *Acetobacterium woodii*

Acetofilamentum

- [1088] *Acetofilamentum rigidum*

Acetohalobium

- [1089] *Acetohalobium arabaticum*

Acetomicrobium

- [1090] *Acetomicrobium faecale*
- [1091] *Acetomicrobium flavidum*

Acetonema

- [1092] *cetonema longum*

Acetothermus

- [1093] *Acetothermus paucivorans*

Acholeplasma

- [1094] *Acholeplasma axanthum*

- [1095] *Acholeplasma brassicae*
- [1096] *Acholeplasma cavigenitalium*
- [1097] *Acholeplasma equifetale*
- [1098] *Acholeplasma granularum*
- [1099] *Acholeplasma hippikon*
- [1100] *Acholeplasma laidlawii*
- [1101] *Acholeplasma modicum*
- [1102] *Acholeplasma morum*
- [1103] *Acholeplasma multilocale*
- [1104] *Acholeplasma oculi*
- [1105] *Acholeplasma palmae*
- [1106] *Acholeplasma parvum*
- [1107] *Acholeplasma pleciae*
- [1108] *Acholeplasma vituli*

Achromobacter

- [1109] *Achromobacter denitrificans*
- [1110] *Achromobacter insolitus*
- [1111] *Achromobacter piechaudii*
- [1112] *Achromobacter ruhlandii*
- [1113] *Achromobacter spanius*

Acidaminobacter

- [1114] *Acidaminobacter hydrogeniformans*

Acidaminococcus

- [1115] *Acidaminococcus fermentans*
- [1116] *Acidaminococcus intestini*

Acidicaldus

- [1117] *Acidicaldus organivorans*

Acidimicrobium

- [1118] *Acidimicrobium ferrooxidans*

Acidiphilium

- [1119] *Acidiphilium acidophilum*
- [1120] *Acidiphilium angustum*
- [1121] *Acidiphilium cryptum*
- [1122] *Acidiphilium multivorum*
- [1123] *Acidiphilium organovorum*
- [1124] *Acidiphilium rubrum*

Acidisoma

[1125] *Acidisoma sibiricum*

[1126] *Acidisoma tundrae*

Acidisphaera

[1127] *Acidisphaera rubrifaciens*

Acidithiobacillus

[1128] *Acidithiobacillus albertensis*

[1129] *Acidithiobacillus caldus*

[1130] *Acidithiobacillus ferrooxidans*

[1131] *Acidithiobacillus thiooxidans*

Acidobacterium

[1132] *Acidobacterium capsulatum*

Acidocella

[1133] *Acidocella aminolytica*

[1134] *Acidocella facilis*

Acidomonas

[1135] *Acidomonas methanolica*

Acidotherrmus

[1136] *Acidotherrmus cellulolyticus*

Acidovorax

[1137] *Acidovorax anthurii*

[1138] *Acidovorax caeni*

[1139] *Acidovorax cattleyae*

[1140] *Acidovorax citrulli*

[1141] *Acidovorax defluvii*

[1142] *Acidovorax delafieldii*

[1143] *Acidovorax facilis*

[1144] *Acidovorax konjaci*

[1145] *Acidovorax temperans*

[1146] *Acidovorax valerianellae*

Acinetobacter

[1147] *Acinetobacter baumannii*

[1148] *Acinetobacter baylyi*

[1149] *Acinetobacter bouvetii*

[1150] *Acinetobacter calcoaceticus*

[1151] *Acinetobacter gernerii*

[1152] *Acinetobacter haemolyticus*

[1153] *Acinetobacter johnsonii*

- [1154] *Acinetobacter junii*
- [1155] *Acinetobacter lwoffii*
- [1156] *Acinetobacter parvus*
- [1157] *Acinetobacter radioresistens*
- [1158] *Acinetobacter schindleri*
- [1159] *Acinetobacter soli*
- [1160] *Acinetobacter tandoii*
- [1161] *Acinetobacter tjernbergiae*
- [1162] *Acinetobacter townneri*
- [1163] *Acinetobacter ursingii*
- [1164] *Acinetobacter venetianus*

Acrocarpospora

- [1165] *Acrocarpospora corrugata*
- [1166] *Acrocarpospora macrocephala*
- [1167] *Acrocarpospora pleiomorpha*

Actibacter

- [1168] *Actibacter sediminis*

Actinoalloteichus

- [1169] *Actinoalloteichus cyanogriseus*
- [1170] *Actinoalloteichus hymeniacidonis*
- [1171] *Actinoalloteichus spitiensis*

Actinobacillus

- [1172] *Actinobacillus capsulatus*
- [1173] *Actinobacillus delphinicola*
- [1174] *Actinobacillus hominis*
- [1175] *Actinobacillus indolicus*
- [1176] *Actinobacillus lignieresii*
- [1177] *Actinobacillus minor*
- [1178] *Actinobacillus muris*
- [1179] *Actinobacillus pleuropneumoniae*
- [1180] *Actinobacillus porcinus*
- [1181] *Actinobacillus rossii*
- [1182] *Actinobacillus scotiae*
- [1183] *Actinobacillus seminis*
- [1184] *Actinobacillus succinogenes*
- [1185] *Actinobacillus suis*
- [1186] *Actinobacillus ureae*

Actinobaculum

- [1187] *Actinobaculum massiliense*
- [1188] *Actinobaculum schaalii*
- [1189] *Actinobaculum suis*
- [1190] *Actinomyces urinale*

Actinocatenispora

- [1191] *Actinocatenispora rupis*
- [1192] *Actinocatenispora thailandica*
- [1193] *Actinocatenispora sera*

Actinocorallia

- [1194] *Actinocorallia aurantiaca*
- [1195] *Actinocorallia aurea*
- [1196] *Actinocorallia cavernae*
- [1197] *Actinocorallia glomerata*
- [1198] *Actinocorallia herbida*
- [1199] *Actinocorallia libanotica*
- [1200] *Actinocorallia longicatena*

Actinomadura

- [1201] *Actinomadura alba*
- [1202] *Actinomadura atramentaria*
- [1203] *Actinomadura bangladeshensis*
- [1204] *Actinomadura catellatispora*
- [1205] *Actinomadura chibensis*
- [1206] *Actinomadura chokoriensis*
- [1207] *Actinomadura citrea*
- [1208] *Actinomadura coerulea*
- [1209] *Actinomadura echinospora*
- [1210] *Actinomadura fibrosa*
- [1211] *Actinomadura formosensis*
- [1212] *Actinomadura hibisca*
- [1213] *Actinomadura kijaniata*
- [1214] *Actinomadura latina*
- [1215] *Actinomadura livida*
- [1216] *Actinomadura luteofluorescens*
- [1217] *Actinomadura macra*
- [1218] *Actinomadura madurae*
- [1219] *Actinomadura oligospora*

- [1220] *Actinomadura pelletieri*
- [1221] *Actinomadura rubrobrunea*
- [1222] *Actinomadura rugatobispora*
- [1223] *Actinomadura umbrina*
- [1224] *Actinomadura verrucosospora*
- [1225] *Actinomadura vinacea*
- [1226] *Actinomadura viridilutea*
- [1227] *Actinomadura viridis*
- [1228] *Actinomadura yumaensis*

Actinomyces

- [1229] *Actinomyces bovis*
- [1230] *Actinomyces denticolens*
- [1231] *Actinomyces europaeus*
- [1232] *Actinomyces georgiae*
- [1233] *Actinomyces gerencseriae*
- [1234] *Actinomyces hordeovulneris*
- [1235] *Actinomyces howellii*
- [1236] *Actinomyces hyovaginalis*
- [1237] *Actinomyces israelii*
- [1238] *Actinomyces johnsonii*
- [1239] *Actinomyces meyeri*
- [1240] *Actinomyces naeslundii*
- [1241] *Actinomyces neuui*
- [1242] *Actinomyces odontolyticus*
- [1243] *Actinomyces oris*
- [1244] *Actinomyces radingae*
- [1245] *Actinomyces slackii*
- [1246] *Actinomyces turicensis*
- [1247] *Actinomyces viscosus*

Actinoplanes

- [1248] *Actinoplanes auranticolor*
- [1249] *Actinoplanes brasiliensis*
- [1250] *Actinoplanes consettensis*
- [1251] *Actinoplanes deccanensis*
- [1252] *Actinoplanes derwentensis*
- [1253] *Actinoplanes digitatis*
- [1254] *Actinoplanes durhamensis*

- [1255] *Actinoplanes ferrugineus*
- [1256] *Actinoplanes globisporus*
- [1257] *Actinoplanes humidus*
- [1258] *Actinoplanes italicus*
- [1259] *Actinoplanes liguriensis*
- [1260] *Actinoplanes lobatus*
- [1261] *Actinoplanes missouriensis*
- [1262] *Actinoplanes palleronii*
- [1263] *Actinoplanes philippinensis*
- [1264] *Actinoplanes rectilineatus*
- [1265] *Actinoplanes regularis*
- [1266] *Actinoplanes teichomyceticus*
- [1267] *Actinoplanes utahensis*

Actinopolyspora

- [1268] *Actinopolyspora halophila*
- [1269] *Actinopolyspora mortivallis*

Actinosynnema

- [1270] *Actinosynnema mirum*

Actinotalea

- [1271] *Actinotalea fermentans*

Aerococcus

- [1272] *Aerococcus sanguinicola*
- [1273] *Aerococcus urinae*
- [1274] *Aerococcus urinaeequi*
- [1275] *Aerococcus urinaehominis*
- [1276] *Aerococcus viridans*

Aeromicrobium

- [1277] *Aeromicrobium erythreum*

Aeromonas

- [1278] *Aeromonas allosaccharophila*
- [1279] *Aeromonas bestiarum*
- [1280] *Aeromonas caviae*
- [1281] *Aeromonas encheleia*
- [1282] *Aeromonas enteropelogenes*
- [1283] *Aeromonas eucrenophila*
- [1284] *Aeromonas ichthiosmia*
- [1285] *Aeromonas jandaei*

- [1286] *Aeromonas media*
- [1287] *Aeromonas popoffii*
- [1288] *Aeromonas sobria*
- [1289] *Aeromonas veronii*

Agrobacterium

- [1290] *Agrobacterium gelatinovorum*

Agrococcus

- [1291] *Agrococcus citreus*
- [1292] *Agrococcus jenensis*

Agromonas

- [1293] *Agromonas oligotrophica*

Agromyces

- [1294] *Agromyces fucosus*
- [1295] *Agromyces hippuratus*
- [1296] *Agromyces luteolus*
- [1297] *Agromyces mediolanus*
- [1298] *Agromyces ramosus*
- [1299] *Agromyces rhizosphaerae*

Akkermansia

- [1300] *Akkermansia muciniphila*

Albidiferax

- [1301] *Albidiferax ferrireducens*

Albidovulum

- [1302] *Albidovulum inexpectatum*

Alcaligenes

- [1303] *Alcaligenes denitrificans*
- [1304] *Alcaligenes faecalis*

Alcanivorax

- [1305] *Alcanivorax borkumensis*
- [1306] *Alcanivorax jadensis*

Algicola

- [1307] *Algicola bacteriolytica*

Alicyclobacillus

- [1308] *Alicyclobacillus disulfidooxidans*
- [1309] *Alicyclobacillus sendaiensis*
- [1310] *Alicyclobacillus vulcanalis*

Alishewanella

[1311] *Alishewanella fetalis*

Alkalibacillus

[1312] *Alkalibacillus haloalkaliphilus*

Alkalilimnicola

[1313] *Alkalilimnicola ehrlichii*

Alkaliphilus

[1314] *Alkaliphilus oremlandii*

[1315] *Alkaliphilus transvaalensis*

Allochromatium

[1316] *Allochromatium vinosum*

Alloiococcus

[1317] *Alloiococcus otitis*

Allokutzneria

[1318] *Allokutzneria albata*

Altererythrobacter

[1319] *Altererythrobacter ishigakiensis*

Altermonas

[1320] *Altermonas haloplanktis*

[1321] *Altermonas macleodii*

Alysiella

[1322] *Alysiella crassa*

[1323] *Alysiella filiformis*

Aminobacter

[1324] *Aminobacter aganoensis*

[1325] *Aminobacter aminovorans*

[1326] *Aminobacter niigataensis*

Aminobacterium

[1327] *Aminobacterium mobile*

Aminomonas

[1328] *Aminomonas paucivorans*

Ammoniphilus

[1329] *Ammoniphilus oxalaticus*

[1330] *Ammoniphilus oxalivorans*

Amphibacillus

[1331] *Amphibacillus xylanus*

Amphritea

[1332] *Amphritea balenae*

[1333] *Amphritea japonica*

Amycolatopsis

[1334] *Amycolatopsis alba*

[1335] *Amycolatopsis albidoflavus*

[1336] *Amycolatopsis azurea*

[1337] *Amycolatopsis coloradensis*

[1338] *Amycolatopsis lurida*

[1339] *Amycolatopsis mediterranei*

[1340] *Amycolatopsis rifamycinica*

[1341] *Amycolatopsis rubida*

[1342] *Amycolatopsis sulphurea*

[1343] *Amycolatopsis tolypomycina*

Anabaena

[1344] *Anabaena cylindrica*

[1345] *Anabaena flos-aquae*

[1346] *Anabaena variabilis*

Anaeroarcus

[1347] *Anaeroarcus burkinensis*

Anaerobaculum

[1348] *Anaerobaculum mobile*

Anaerobiospirillum

[1349] *Anaerobiospirillum succiniciproducens*

[1350] *Anaerobiospirillum thomasi*

Anaerococcus

[1351] *Anaerococcus hydrogenalis*

[1352] *Anaerococcus lactolyticus*

[1353] *Anaerococcus prevotii*

[1354] *Anaerococcus tetradius*

[1355] *Anaerococcus vaginalis*

Anaerofustis

[1356] *Anaerofustis stercorihominis*

Anaeromusa

[1357] *Anaeromusa acidaminophila*

Anaeromyxobacter

[1358] *Anaeromyxobacter dehalogenans*

Anaerorhabdus

- [1359] *Anaerorhabdus furcosa*
Anaerosinus
- [1360] *Anaerosinus glycerini*
Anaerovirgula
- [1361] *Anaerovirgula multivorans*
Ancalomicrobium
- [1362] *Ancalomicrobium adetum*
Ancylobacter
- [1363] *Ancylobacter aquaticus*
Aneurinibacillus
- [1364] *Aneurinibacillus aneurinilyticus*
[1365] *Aneurinibacillus migulanus*
[1366] *Aneurinibacillus thermoaerophilus*
Angiococcus
- [1367] *Angiococcus disciformis*
Angulomicrobium
- [1368] *Angulomicrobium tetraedrale*
Anoxybacillus
- [1369] *Anoxybacillus pushchinoensis*
Aquabacterium
- [1370] *Aquabacterium commune*
[1371] *Aquabacterium parvum*
Aquaspirillum
- [1372] *Aquaspirillum polymorphum*
[1373] *Aquaspirillum putridiconchylum*
[1374] *Aquaspirillum serpens*
Aquimarina
- [1375] *Aquimarina latercula*
Arcanobacterium
- [1376] *Arcanobacterium haemolyticum*
[1377] *Arcanobacterium pyogenes*
Archangium
- [1378] *Archangium gephyra*
Arcobacter
- [1379] *Arcobacter butzleri*
[1380] *Arcobacter cryaerophilus*

[1381] *Arcobacter halophilus*

[1382] *Arcobacter nitrofigilis*

[1383] *Arcobacter skirrowii*

Arhodomonas

[1384] *Arhodomonas aquaeolei*

Arsenophonus

[1385] *Arsenophonus nasoniae*

Arthrobacter

[1386] *Arthrobacter agilis*

[1387] *Arthrobacter albus*

[1388] *Arthrobacter aurescens*

[1389] *Arthrobacter chlorophenolicus*

[1390] *Arthrobacter citreus*

[1391] *Arthrobacter crystallopoietes*

[1392] *Arthrobacter cummingsii*

[1393] *Arthrobacter globiformis*

[1394] *Arthrobacter histidinovorans*

[1395] *Arthrobacter ilicis*

[1396] *Arthrobacter luteus*

[1397] *Arthrobacter methylotrophus*

[1398] *Arthrobacter mysorens*

[1399] *Arthrobacter nicotianae*

[1400] *Arthrobacter nicotinovorans*

[1401] *Arthrobacter oxydans*

[1402] *Arthrobacter pascens*

[1403] *Arthrobacter phenanthrenivorans*

[1404] *Arthrobacter polychromogenes*

[1405] *Arthrobacter protophormiae*

[1406] *Arthrobacter psychrolactophilus*

[1407] *Arthrobacter ramosus*

[1408] *Arthrobacter sulfonivorans*

[1409] *Arthrobacter sulfureus*

[1410] *Arthrobacter uratoxydans*

[1411] *Arthrobacter ureafaciens*

[1412] *Arthrobacter viscosus*

[1413] *Arthrobacter woluwensis*

Asaia

[1414] *Asaia bogorensis*

Asanoa

[1415] *Asanoa ferruginea*

Asticcacaulis

[1416] *Asticcacaulis biprosthecium*

[1417] *Asticcacaulis excentricus*

Atopobacter

[1418] *Atopobacter phocae*

Atopobium

[1419] *Atopobium fossor*

[1420] *Atopobium minutum*

[1421] *Atopobium parvulum*

[1422] *Atopobium rimae*

[1423] *Atopobium vaginae*

Aureobacterium

[1424] *Aureobacterium barkeri*

Aurobacterium

[1425] *Aurobacterium liquefaciens*

Avibacterium

[1426] *Avibacterium avium*

[1427] *Avibacterium gallinarum*

[1428] *Avibacterium paragallinarum*

[1429] *Avibacterium volantium*

Azoarcus

[1430] *Azoarcus indigens*

[1431] *Azoarcus tolulyticus*

[1432] *Azoarcus toluvorans*

Azohydromonas

[1433] *Azohydromonas australica*

[1434] *Azohydromonas lata*

Azomonas

[1435] *Azomonas agilis*

[1436] *Azomonas insignis*

[1437] *Azomonas macrocytogenes*

Azorhizobium

[1438] *Azorhizobium caulinodans*

Azorhizophilus

[1439] *Azorhizophilus paspali*

Azospirillum

[1440] *Azospirillum brasilense*

[1441] *Azospirillum halopraeferens*

[1442] *Azospirillum irakense*

Azotobacter

[1443] *Azotobacter beijerinckii*

[1444] *zotobacter chroococcum*

[1445] *Azotobacter nigricans*

[1446] *Azotobacter salinestris*

[1447] *Azotobacter vinelandii*

Bacillus

[1448] *B. acidiceler*

[1449] *B. acidicola*

[1450] *B. acidiproducens*

[1451] *B. acidocaldarius*

[1452] *B. acidoterrestris*

[1453] *B. aeolius*

[1454] *B. Aerijs*

[1455] *B. aerophilus*

[1456] *B. agaradhaerens*

[1457] *B. agri*

[1458] *B. aidingensis*

[1459] *B. akibai*

[1460] *B. Alcalophilus*

[1461] *B. algicola*

[1462] *B. alginolyticus*

[1463] *B. alkalidiazotrophicus*

[1464] *B. alkalinitrilicus*

[1465] *B. alkalisediminis*

[1466] *B. alkalitelluris*

[1467] *B. altitudinis*

[1468] *B. alveayuensis*

[1469] *B. alvei*

[1470] *B. amyloliquefaciens*

- *B. a. subsp. amyloliquefaciens*
- *B. a. subsp. Plantarum*

B. dipsosauri

- [1471] *B. drementensis*
- [1472] *B. edaphicus*
- [1473] *B. ehimensis*
- [1474] *B. eiseniae*
- [1475] *B. Enclensis*
- [1476] *B. endophyticus*
- [1477] *B. endoradicis*
- [1478] *B. farraginis*
- [1479] *B. fastidiosus*
- [1480] *B. fengqiensis*
- [1481] *B. firmus*
- [1482] *B. flexus*
- [1483] *B. foraminis*
- [1484] *B. fordii*
- [1485] *B. formosus*
- [1486] *B. fortis*
- [1487] *B. fumarioli*
- [1488] *B. funiculus*
- [1489] *B. fusiformis*
- [1490] *B. galactophilus*
- [1491] *B. galactosidilyticus*
- [1492] *B. galliciensis*
- [1493] *B. gelatini*
- [1494] *B. gibsonii*
- [1495] *B. ginsengi*
- [1496] *B. ginsengihumi*
- [1497] *B. ginsengisoli*
- [1498] *B. globisporus* (eg, *B. g.* subsp. *Globisporus*; or *B. g.* subsp. *Marinus*)
- [1499] *B. aminovorans*
- [1500] *B. amylolyticus*
- [1501] *B. andreesenii*
- [1502] *B. aneurinilyticus*
- [1503] *B. anthracis*
- [1504] *B. aquimaris*
- [1505] *B. arenosi*
- [1506] *B. arseniciselenatis*
- [1507] *B. arsenicus*

- [1508] *B. aurantiacus*
- [1509] *B. arvi*
- [1510] *B. aryabhattai*
- [1511] *B. asahii*
- [1512] *B. atrophaeus*
- [1513] *B. axarquiensis*
- [1514] *B. azotofixans*
- [1515] *B. azotoformans*
- [1516] *B. badius*
- [1517] *B. barbaricus*
- [1518] *B. bataviensis*
- [1519] *B. beijingensis*
- [1520] *B. benzoovorans*
- [1521] *B. beringensis*
- [1522] *B. berkeleyi*
- [1523] *B. beveridgei*
- [1524] *B. bogoriensis*
- [1525] *B. boroniphilus*
- [1526] *B. borstelensis*
- [1527] *B. brevis* Migula
- [1528] *B. butanolivorans*
- [1529] *B. canaveralius*
- [1530] *B. carboniphilus*
- [1531] *B. cecembensis*
- [1532] *B. cellulosilyticus*
- [1533] *B. centrosporus*
- [1534] *B. cereus*
- [1535] *B. chagannorensis*
- [1536] *B. chitinolyticus*
- [1537] *B. chondroitinus*
- [1538] *B. choshinensis*
- [1539] *B. chungangensis*
- [1540] *B. cibi*
- [1541] *B. circulans*
- [1542] *B. clarkii*
- [1543] *B. clausii*
- [1544] *B. coagulans*
- [1545] *B. coahuilensis*

- [1546] *B. cohnii*
- [1547] *B. composti*
- [1548] *B. curdlanolyticus*
- [1549] *B. cycloheptanicus*
- [1550] *B. cytotoxicus*
- [1551] *B. daliensis*
- [1552] *B. decisifrondis*
- [1553] *B. decolorationis*
- [1554] *B. deserti*
- [1555] *B. glucanolyticus*
- [1556] *B. gordonae*
- [1557] *B. gottheilii*
- [1558] *B. graminis*
- [1559] *B. halmapalus*
- [1560] *B. haloalkaliphilus*
- [1561] *B. halochares*
- [1562] *B. halodenitrificans*
- [1563] *B. halodurans*
- [1564] *B. halophilus*
- [1565] *B. halosaccharovorans*
- [1566] *B. hemicellulosilyticus*
- [1567] *B. hemicentroti*
- [1568] *B. herbersteinensis*
- [1569] *B. horikoshii*
- [1570] *B. horneckiae*
- [1571] *B. horti*
- [1572] *B. huizhouensis*
- [1573] *B. humi*
- [1574] *B. hwajinpoensis*
- [1575] *B. idriensis*
- [1576] *B. indicus*
- [1577] *B. infantis*
- [1578] *B. infernus*
- [1579] *B. insolitus*
- [1580] *B. invictae*
- [1581] *B. iranensis*
- [1582] *B. isabeliae*
- [1583] *B. isronensis*

- [1584] *B. jeotgali*
- [1585] *B. kaustophilus*
- [1586] *B. kobensis*
- [1587] *B. kochii*
- [1588] *B. kokeshiiformis*
- [1589] *B. koreensis*
- [1590] *B. korlensis*
- [1591] *B. kribbensis*
- [1592] *B. krulwichiae*
- [1593] *B. laevolacticus*
- [1594] *B. larvae*
- [1595] *B. Laterosporus*
- [1596] *B. salexigens*
- [1597] *B. saliphilus*
- [1598] *B. schlegelii*
- [1599] *B. sediminis*
- [1600] *B. selenatarsenatis*
- [1601] *B. selenitireducens*
- [1602] *B. seohaeanensis*
- [1603] *B. shacheensis*
- [1604] *B. shackletonii*
- [1605] *B. siamensis*
- [1606] *B. silvestris*
- [1607] *B. simplex*
- [1608] *B. siralis*
- [1609] *B. smithii*
- [1610] *B. soli*
- [1611] *B. solimangrovi*
- [1612] *B. solisalsi*
- [1613] *B. songklensis*
- [1614] *B. sonorensis*
- [1615] *B. sphaericus*
- [1616] *B. sporothermodurans*
- [1617] *B. stearothermophilus*
- [1618] *B. stratosphericus*
- [1619] *B. subterraneus*
- [1620] *B. subtilis* (eg, *B. s.* subsp. *Inaquosorum*; or *B. s.* subsp. *Spizizeni*; or *B. s.* subsp. *Subtilis*)

- [1621] *B. taeansensis*
- [1622] *B. tequilensis*
- [1623] *B. thermantarcticus*
- [1624] *B. thermoaerophilus*
- [1625] *B. thermoamylovorans*
- [1626] *B. thermocatenulatus*
- [1627] *B. thermocloacae*
- [1628] *B. thermocopriae*
- [1629] *B. thermodenitrificans*
- [1630] *B. thermoglucosidasius*
- [1631] *B. thermolactis*
- [1632] *B. thermoleovorans*
- [1633] *B. thermophilus*
- [1634] *B. thermoruber*
- [1635] *B. thermosphaericus*
- [1636] *B. thiaminolyticus*
- [1637] *B. thioparans*
- [1638] *B. thuringiensis*
- [1639] *B. tianshenii*
- [1640] *B. trypoxylicola*
- [1641] *B. tusciae*
- [1642] *B. validus*
- [1643] *B. vallismortis*
- [1644] *B. vedderi*
- [1645] *B. velezensis*
- [1646] *B. vietnamensis*
- [1647] *B. vireti*
- [1648] *B. vulcani*
- [1649] *B. wakoensis*
- [1650] *B. weihenstephanensis*
- [1651] *B. xiamenensis*
- [1652] *B. xiaoxiensis*
- [1653] *B. zhanjiangensis*
- [1654] *B. peoriae*
- [1655] *B. persepolensis*
- [1656] *B. persicus*
- [1657] *B. pervagus*
- [1658] *B. plakortidis*

- [1659] *B. pocheonensis*
- [1660] *B. polygoni*
- [1661] *B. polymyxa*
- [1662] *B. popilliae*
- [1663] *B. pseudalcalophilus*
- [1664] *B. pseudofirmus*
- [1665] *B. pseudomycoides*
- [1666] *B. psychrodurans*
- [1667] *B. psychrophilus*
- [1668] *B. psychrosaccharolyticus*
- [1669] *B. psychrotolerans*
- [1670] *B. pulvifaciens*
- [1671] *B. pumilus*
- [1672] *B. purgationiresistens*
- [1673] *B. pycnus*
- [1674] *B. qingdaonensis*
- [1675] *B. qingshengii*
- [1676] *B. reuszeri*
- [1677] *B. rhizosphaerae*
- [1678] *B. rigui*
- [1679] *B. ruris*
- [1680] *B. safensis*
- [1681] *B. salarius*
- [1682] *B. lautus*
- [1683] *B. lehensis*
- [1684] *B. lentimorbus*
- [1685] *B. lentus*
- [1686] *B. licheniformis*
- [1687] *B. ligniniphilus*
- [1688] *B. litoralis*
- [1689] *B. locisalis*
- [1690] *B. luciferensis*
- [1691] *B. luteolus*
- [1692] *B. luteus*
- [1693] *B. macauensis*
- [1694] *B. macerans*
- [1695] *B. macquariensis*
- [1696] *B. macyae*

- [1697] *B. malacitensis*
- [1698] *B. mannanilyticus*
- [1699] *B. marisflavi*
- [1700] *B. marismortui*
- [1701] *B. marmarensis*
- [1702] *B. massiliensis*
- [1703] *B. megaterium*
- [1704] *B. mesonae*
- [1705] *B. methanolicus*
- [1706] *B. methylotrophicus*
- [1707] *B. migulanus*
- [1708] *B. mojavenensis*
- [1709] *B. mucilaginosus*
- [1710] *B. muralis*
- [1711] *B. murimartini*
- [1712] *B. mycoides*
- [1713] *B. naganoensis*
- [1714] *B. nanhaiensis*
- [1715] *B. nanhaiisediminis*
- [1716] *B. nealsonii*
- [1717] *B. neidei*
- [1718] *B. neizhouensis*
- [1719] *B. niabensis*
- [1720] *B. niacini*
- [1721] *B. novalis*
- [1722] *B. oceanisediminis*
- [1723] *B. odysseyi*
- [1724] *B. okhensis*
- [1725] *B. okuhidensis*
- [1726] *B. oleronius*
- [1727] *B. oryzaecorticis*
- [1728] *B. oshimensis*
- [1729] *B. pabuli*
- [1730] *B. pakistanensis*
- [1731] *B. pallidus*
- [1732] *B. pallidus*
- [1733] *B. panacisoli*
- [1734] *B. panaciterrae*

[1735] *B. pantothenicus*

[1736] *B. parabrevis*

[1737] *B. paraflexus*

[1738] *B. pasteurii*

[1739] *B. patagoniensis*

Bacteriovorax

[1740] *Bacteriovorax stolpii*

Bacteroides

[1741] *Bacteroides caccae*

[1742] *Bacteroides coagulans*

[1743] *Bacteroides eggerthii*

[1744] *Bacteroides fragilis*

[1745] *Bacteroides galacturonicus*

[1746] *Bacteroides helcogenes*

[1747] *Bacteroides ovatus*

[1748] *Bacteroides pectinophilus*

[1749] *Bacteroides pyogenes*

[1750] *Bacteroides salyersiae*

[1751] *Bacteroides stercoris*

[1752] *Bacteroides suis*

[1753] *Bacteroides tectus*

[1754] *Bacteroides thetaiotaomicron*

[1755] *Bacteroides uniformis*

[1756] *Bacteroides ureolyticus*

[1757] *Bacteroides vulgatus*

Balnearium

[1758] *Balnearium lithotrophicum*

Balneatrix

[1759] *Balneatrix alpica*

Balneola

[1760] *Balneola vulgaris*

Barnesiella

[1761] *Barnesiella viscericola*

Bartonella

[1762] *Bartonella alsatica*

[1763] *Bartonella bacilliformis*

[1764] *Bartonella clarridgeiae*

- [1765] *Bartonella doshiae*
- [1766] *Bartonella elizabethae*
- [1767] *Bartonella grahamii*
- [1768] *Bartonella henselae*
- [1769] *Bartonella rochalimae*
- [1770] *Bartonella vinsonii*

Bavariicoccus

- [1771] *Bavariicoccus seileri*

Bdellovibrio

- [1772] *Bdellovibrio bacteriovorus*
- [1773] *Bdellovibrio exovorus*

Beggiatoa

- [1774] *Beggiatoa alba*

Beijerinckia

- [1775] *Beijerinckia derxii*
- [1776] *Beijerinckia fluminensis*
- [1777] *Beijerinckia indica*
- [1778] *Beijerinckia mobilis*

Belliella

- [1779] *Belliella baltica*

Bellilinea

- [1780] *Bellilinea caldifistulae*

Belnapia

- [1781] *Belnapia moabensis*

Bergeriella

- [1782] *Bergeriella denitrificans*

Beutenbergia

- [1783] *Beutenbergia cavernae*

Bibersteinia

- [1784] *Bibersteinia trehalosi*

Bifidobacterium

- [1785] *Bifidobacterium adolescentis*
- [1786] *Bifidobacterium angulatum*
- [1787] *Bifidobacterium animalis*
- [1788] *Bifidobacterium asteroides*
- [1789] *Bifidobacterium bifidum*
- [1790] *Bifidobacterium boum*

- [1791] *Bifidobacterium breve*
- [1792] *Bifidobacterium catenulatum*
- [1793] *Bifidobacterium choerinum*
- [1794] *Bifidobacterium coryneforme*
- [1795] *Bifidobacterium cuniculi*
- [1796] *Bifidobacterium dentium*
- [1797] *Bifidobacterium gallicum*
- [1798] *Bifidobacterium gallinarum*
- [1799] *Bifidobacterium indicum*
- [1800] *Bifidobacterium longum*
- [1801] *Bifidobacterium magnum**Bifidobacterium merycicum*
- [1802] *Bifidobacterium minimum*
- [1803] *Bifidobacterium pseudocatenulatum*
- [1804] *Bifidobacterium pseudolongum*
- [1805] *Bifidobacterium pullorum*
- [1806] *Bifidobacterium ruminantium*
- [1807] *Bifidobacterium saeculare*
- [1808] *Bifidobacterium subtile*
- [1809] *Bifidobacterium thermophilum*

Bilophila

- [1810] *Bilophila wadsworthia*

Biostraticola

- [1811] *Biostraticola tofi*

Bizionia

- [1812] *Bizionia argentinensis*

Blastobacter

- [1813] *Blastobacter capsulatus*
- [1814] *Blastobacter denitrificans*

Blastococcus

- [1815] *Blastococcus aggregatus*
- [1816] *Blastococcus saxobsidens*

Blastochloris

- [1817] *Blastochloris viridis*

Blastomonas

- [1818] *Blastomonas natatoria*

Blastopirellula

- [1819] *Blastopirellula marina*

Blautia

- [1820] *Blautia coccoides*
- [1821] *Blautia hansenii*
- [1822] *Blautia producta*
- [1823] *Blautia wexlerae*

Bogoriella

- [1824] *Bogoriella caseilytica*

Bordetella

- [1825] *Bordetella avium*
- [1826] *Bordetella bronchiseptica*
- [1827] *Bordetella hinzii*
- [1828] *Bordetella holmesii*
- [1829] *Bordetella parapertussis*
- [1830] *Bordetella pertussis*
- [1831] *Bordetella petrii*
- [1832] *Bordetella trematum*

Borrelia

- [1833] *Borrelia afzelii*
- [1834] *Borrelia americana*
- [1835] *Borrelia burgdorferi*
- [1836] *Borrelia carolinensis*
- [1837] *Borrelia coriaceae*
- [1838] *Borrelia garinii*
- [1839] *Borrelia japonica*

Bosea

- [1840] *Bosea minatitlanensis*
- [1841] *Bosea thiooxidans*

Brachybacterium

- [1842] *Brachybacterium alimentarium*
- [1843] *Brachybacterium faecium*
- [1844] *Brachybacterium paraconglomeratum*
- [1845] *Brachybacterium rhamnosum*
- [1846] *Brachybacterium tyrofermentans*

Brachyspira

- [1847] *Brachyspira alvinipulli*
- [1848] *Brachyspira hyodysenteriae*
- [1849] *Brachyspira innocens*

[1850] *Brachyspira murdochii*

[1851] *Brachyspira pilosicoli*

Bradyrhizobium

[1852] *Bradyrhizobium canariense*

[1853] *Bradyrhizobium elkanii*

[1854] *Bradyrhizobium japonicum*

[1855] *Bradyrhizobium liaoningense*

Brenneria

[1856] *Brenneria alni*

[1857] *Brenneria nigrifluens*

[1858] *Brenneria quercina*

[1859] *Brenneria quercina*

[1860] *Brenneria salicis*

Brevibacillus

[1861] *Brevibacillus agri*

[1862] *Brevibacillus borstelensis*

[1863] *Brevibacillus brevis*

[1864] *Brevibacillus centrosporus*

[1865] *Brevibacillus choshinensis*

[1866] *Brevibacillus invocatus*

[1867] *Brevibacillus laterosporus*

[1868] *Brevibacillus parabrevis*

[1869] *Brevibacillus reuszeri*

Brevibacterium

[1870] *Brevibacterium abidum*

[1871] *Brevibacterium album*

[1872] *Brevibacterium aurantiacum*

[1873] *Brevibacterium celere*

[1874] *Brevibacterium epidermidis*

[1875] *Brevibacterium frigoritolerans*

[1876] *Brevibacterium halotolerans*

[1877] *Brevibacterium iodium*

[1878] *Brevibacterium linens*

[1879] *Brevibacterium lyticum*

[1880] *Brevibacterium mcbrellneri*

[1881] *Brevibacterium otitidis*

[1882] *Brevibacterium oxydans*

[1883] *Brevibacterium paucivorans*

[1884] *Brevibacterium stationis*

Brevinema

[1885] *Brevinema andersonii*

Brevundimonas

[1886] *Brevundimonas alba*

[1887] *Brevundimonas aurantiaca*

[1888] *Brevundimonas diminuta*

[1889] *Brevundimonas intermedia*

[1890] *Brevundimonas subvibrioides*

[1891] *Brevundimonas vancouveriensis*

[1892] *Brevundimonas variabilis*

[1893] *Brevundimonas vesicularis*

Brochothrix

[1894] *Brochothrix campestris*

[1895] *Brochothrix thermosphacta*

Brucella

[1896] *Brucella canis*

[1897] *Brucella neotomae*

Bryobacter

[1898] *Bryobacter aggregatus*

Burkholderia

[1899] *Burkholderia ambifaria*

[1900] *Burkholderia andropogonis*

[1901] *Burkholderia anthina*

[1902] *Burkholderia caledonica*

[1903] *Burkholderia caryophylli*

[1904] *Burkholderia cenocepacia*

[1905] *Burkholderia cepacia*

[1906] *Burkholderia cocovenenans*

[1907] *Burkholderia dolosa*

[1908] *Burkholderia fungorum*

[1909] *Burkholderia glathei*

[1910] *Burkholderia glumae*

[1911] *Burkholderia graminis*

[1912] *Burkholderia kururiensis*

[1913] *Burkholderia multivorans*

- [1914] *Burkholderia phenazinium*
- [1915] *Burkholderia plantarii*
- [1916] *Burkholderia pyrrocinia*
- [1917] *Burkholderia silvatlantica*
- [1918] *Burkholderia stabilis*
- [1919] *Burkholderia thailandensis*
- [1920] *Burkholderia tropica*
- [1921] *Burkholderia unamae*
- [1922] *Burkholderia vietnamiensis*

Buttiauxella

- [1923] *Buttiauxella agrestis*
- [1924] *Buttiauxella brennerae*
- [1925] *Buttiauxella ferragutiae*
- [1926] *Buttiauxella gaviniae*
- [1927] *Buttiauxella izardii*
- [1928] *Buttiauxella noackiae*
- [1929] *Buttiauxella warmboldiae*

Butyrivibrio

- [1930] *Butyrivibrio fibrisolvens*
- [1931] *Butyrivibrio hungatei*
- [1932] *Butyrivibrio proteoclasticus*

Caenimonas

- [1933] *Caenimonas koreensis*

Caldalkalibacillus

- [1934] *Caldalkalibacillus uzonensis*

Caldanaerobacter

- [1935] *Caldanaerobacter subterraneus*

Caldanaerobius

- [1936] *Caldanaerobius fijiensis*
- [1937] *Caldanaerobius polysaccharolyticus*
- [1938] *Caldanaerobius zeae*

Caldanaerovirga

- [1939] *Caldanaerovirga acetigignens*

Caldicellulosiruptor

- [1940] *Caldicellulosiruptor bescii*
- [1941] *Caldicellulosiruptor kristjanssonii*
- [1942] *Caldicellulosiruptor owensensis*

Campylobacter

- [1943] *Campylobacter coli*
- [1944] *Campylobacter concisus*
- [1945] *Campylobacter curvus*
- [1946] *Campylobacter fetus*
- [1947] *Campylobacter gracilis*
- [1948] *Campylobacter helveticus*
- [1949] *Campylobacter hominis*
- [1950] *Campylobacter hyointestinalis*
- [1951] *Campylobacter jejuni*
- [1952] *Campylobacter lari*
- [1953] *Campylobacter mucosalis*
- [1954] *Campylobacter rectus*
- [1955] *Campylobacter showae*
- [1956] *Campylobacter sputorum*
- [1957] *Campylobacter upsaliensis*

Capnocytophaga

- [1958] *Capnocytophaga canimorsus*
- [1959] *Capnocytophaga cynodegmi*
- [1960] *Capnocytophaga gingivalis*
- [1961] *Capnocytophaga granulosa*
- [1962] *Capnocytophaga haemolytica*
- [1963] *Capnocytophaga ochracea*
- [1964] *Capnocytophaga sputigena*

Cardiobacterium

- [1965] *Cardiobacterium hominis*

Carnimonas

- [1966] *Carnimonas nigrificans*

Carnobacterium

- [1967] *Carnobacterium alterfunditum*
- [1968] *Carnobacterium divergens*
- [1969] *Carnobacterium funditum*
- [1970] *Carnobacterium gallinarum*
- [1971] *Carnobacterium maltaromaticum*
- [1972] *Carnobacterium mobile*
- [1973] *Carnobacterium viridans*

Caryophanon

[1974] *Caryophanon latum*

[1975] *Caryophanon tenue*

Catellatospora

[1976] *Catellatospora citrea*

[1977] *Catellatospora methionotrophica*

Catenococcus

[1978] *Catenococcus thiocycli*

Catenuloplanes

[1979] *Catenuloplanes atrovinosus*

[1980] *Catenuloplanes castaneus*

[1981] *Catenuloplanes crispus*

[1982] *Catenuloplanes indicus*

[1983] *Catenuloplanes japonicus*

[1984] *Catenuloplanes nepalensis*

[1985] *Catenuloplanes niger*

Chryseobacterium

[1986] *Chryseobacterium balustinum*

Citrobacter

[1987] *C. amalonaticus*

[1988] *C. braakii*

[1989] *C. diversus*

[1990] *C. farmeri*

[1991] *C. freundii*

[1992] *C. gillenbergii*

[1993] *C. koseri*

[1994] *C. murliniae*

[1995] *C. pasteurii*^[1]

[1996] *C. rodentium*

[1997] *C. sedlakii*

[1998] *C. werkmanii*

[1999] *C. youngae*

Clostridium

[2000] *Clostridium absonum*, *Clostridium aceticum*, *Clostridium acetireducens*, *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium acidisoli*, *Clostridium aciditolerans*, *Clostridium acidurici*, *Clostridium aerotolerans*, *Clostridium aestuarii*, *Clostridium akagii*, *Clostridium aldenense*, *Clostridium aldrichii*, *Clostridium algidicarni*, *Clostridium algidixylanolyticum*, *Clostridium algifaecis*, *Clostridium algorithilum*, *Clostridium alka-*

licellulosi, *Clostridium aminophilum*, *Clostridium aminovalericum*, *Clostridium amygdalinum*, *Clostridium amylolyticum*, *Clostridium arbusti*, *Clostridium arcticum*, *Clostridium argentinense*, *Clostridium asparagiforme*, *Clostridium aurantibutyricum*, *Clostridium autoethanogenum*, *Clostridium baratii*, *Clostridium barkeri*, *Clostridium bartlettii*, *Clostridium beijerinckii*, *Clostridium bifermentans*, *Clostridium bolteae*, *Clostridium bornimense*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium bowmanii*, *Clostridium bryantii*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium cadaveris*, *Clostridium caenicola*, *Clostridium caminithermale*, *Clostridium carboxidivorans*, *Clostridium carnis*, *Clostridium cavendishii*, *Clostridium celatum*, *Clostridium celerecrescens*, *Clostridium cellobioparum*, *Clostridium cellulofermentans*, *Clostridium cellulolyticum*, *Clostridium cellulosi*, *Clostridium cellulovorans*, *Clostridium chartatabidum*, *Clostridium chauvoei*, *Clostridium chromiireducens*, *Clostridium citroniae*, *Clostridium clariflavum*, *Clostridium clostridioforme*, *Clostridium coccoides*, *Clostridium cochlearium*, *Clostridium colletant*, *Clostridium colicanis*, *Clostridium colinum*, *Clostridium collagenovorans*, *Clostridium cylindrosporum*, *Clostridium difficile*, *Clostridium diolis*, *Clostridium disporicum*, *Clostridium drakei*, *Clostridium durum*, *Clostridium estertheticum*, *Clostridium estertheticum estertheticum*, *Clostridium estertheticum laramiense*, *Clostridium fallax*, *Clostridium felsineum*, *Clostridium fervidum*, *Clostridium fimetarium*, *Clostridium formicaceticum*, *Clostridium frigidicarnis*, *Clostridium frigoris*, *Clostridium ganghwense*, *Clostridium gasigenes*, *Clostridium ghonii*, *Clostridium glycolicum*, *Clostridium glycyrrhizinilyticum*, *Clostridium grantii*, *Clostridium haemolyticum*, *Clostridium halophilum*, *Clostridium hastiforme*, *Clostridium hathewayi*, *Clostridium herbivorans*, *Clostridium hiranonis*, *Clostridium histolyticum*, *Clostridium homopropionicum*, *Clostridium huakuii*, *Clostridium hungatei*, *Clostridium hydrogeniformans*, *Clostridium hydroxybenzoicum*, *Clostridium hylemonae*, *Clostridium jejuense*, *Clostridium indolis*, *Clostridium innocuum*, *Clostridium intestinale*, *Clostridium irregulare*, *Clostridium isatidis*, *Clostridium josui*, *Clostridium kluyveri*, *Clostridium lactatifermentans*, *Clostridium lacusfryxellense*, *Clostridium laramiense*, *Clostridium lavalense*, *Clostridium lentocellum*, *Clostridium lentoputrescens*, *Clostridium leptum*, *Clostridium limosum*, *Clostridium litorale*, *Clostridium lituseburense*, *Clostridium ljungdahlii*, *Clostridium lortetii*, *Clostridium lundense*, *Clostridium magnum*, *Clostridium malenominatum*, *Clostridium manganotii*, *Clostridium mayombeii*, *Clostridium methoxybenzovorans*, *Clostridium methylpentosum*, *Clostridium neopropionicum*, *Clostridium nexile*, *Clostridium nitrophenolicum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium oceanicum*, *Clostridium orbiscindens*, *Clostridium oroticum*, *Clostridium oxalicum*, *Clostridium papyrosolvans*, *Clostridium paradoxum*, *Clostridium paraperfringens* (Alias: *C. welchii*), *Clostridium paraputrificum*, *Clostridium pascui*, *Clostridium pasteurianum*, *Clostridium peptidivorans*,

Clostridium perenne, *Clostridium perfringens*, *Clostridium pfennigii*, *Clostridium phytofermentans*, *Clostridium piliforme*, *Clostridium polysaccharolyticum*, *Clostridium populeti*, *Clostridium propionicum*, *Clostridium proteoclasticum*, *Clostridium proteolyticum*, *Clostridium psychrophilum*, *Clostridium puniceum*, *Clostridium purinilyticum*, *Clostridium putrefaciens*, *Clostridium putrificum*, *Clostridium quercicolum*, *Clostridium quinii*, *Clostridium ramosum*, *Clostridium rectum*, *Clostridium roseum*, *Clostridium saccharobutylicum*, *Clostridium saccharogumia*, *Clostridium saccharolyticum*, *Clostridium saccharoperbutylacetonicum*, *Clostridium sardiniense*, *Clostridium sartagoforme*, *Clostridium scatologenes*, *Clostridium schirmacherense*, *Clostridium scindens*, *Clostridium septicum*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium sphenoides*, *Clostridium spiroforme*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium sporosphaeroides*, *Clostridium stercorarium*, *Clostridium stercorarium leptospartum*, *Clostridium stercorarium stercorarium*, *Clostridium stercorarium thermolacticum*, *Clostridium sticklandii*, *Clostridium straminisolvens*, *Clostridium subterminale*, *Clostridium sufflavum*, *Clostridium sulfidigenes*, *Clostridium symbiosum*, *Clostridium tagluense*, *Clostridium tepidiprofundii*, *Clostridium termitidis*, *Clostridium tertium*, *Clostridium tetani*, *Clostridium tetanomorphum*, *Clostridium thermaceticum*, *Clostridium thermautotrophicum*, *Clostridium thermoalcaliphilum*, *Clostridium thermobutyricum*, *Clostridium thermocellum*, *Clostridium thermocopriae*, *Clostridium thermohydrosulfuricum*, *Clostridium thermolacticum*, *Clostridium thermopalmarium*, *Clostridium thermopapyrolyticum*, *Clostridium thermosaccharolyticum*, *Clostridium thermosuccinogenes*, *Clostridium thermosulfurigenes*, *Clostridium thiosulfatireducens*, *Clostridium tyrobutyricum*, *Clostridium uliginosum*, *Clostridium ultunense*, *Clostridium villosum*, *Clostridium vincentii*, *Clostridium viride*, *Clostridium xylanolyticum*, *Clostridium xylanovorans*

Coccochloris

- [2001] *Coccochloris elabens*

Corynebacterium

- [2002] *Corynebacterium flavescens*
[2003] *Corynebacterium variabile*

Curtobacterium

- [2004] *Curtobacterium albidum*
[2005] *Curtobacterium citreus*
[2006] *Dactylosporangium*
[2007] *Dactylosporangium aurantiacum*
[2008] *Dactylosporangium fulvum*
[2009] *Dactylosporangium matsuzakiense*

- [2010] *Dactylosporangium roseum*
- [2011] *Dactylosporangium thailandense*
- [2012] *Dactylosporangium vinaceum*
- [2013] *Deinococcus*
- [2014] *Deinococcus aerius*
- [2015] *Deinococcus apachensis*
- [2016] *Deinococcus aquaticus*
- [2017] *Deinococcus aquatilis*
- [2018] *Deinococcus caeni*
- [2019] *Deinococcus radiodurans*
- [2020] *Deinococcus radiophilus*
- [2021] *Delftia*
- [2022] *Delftia acidovorans*
- [2023] *Desulfovibrio*
- [2024] *Desulfovibrio desulfuricans*
- [2025] *Diplococcus*
- [2026] *Diplococcus pneumoniae*
- [2027] *Echinicola*
- [2028] *Echinicola pacifica*
- [2029] *Echinicola vietnamensis*
- [2030] *Enterobacter*
- [2031] *E. aerogenes*
- [2032] *E. amnigenus*
- [2033] *E. agglomerans*
- [2034] *E. arachidis*
- [2035] *E. asburiae*
- [2036] *E. cancerogenus*
- [2037] *E. cloacae*
- [2038] *E. cowanii*
- [2039] *E. dissolvens*
- [2040] *E. gergoviae*
- [2041] *E. helveticus*
- [2042] *E. hormaechei*
- [2043] *E. intermedius*
- [2044] *Enterobacter kobei*
- [2045] *E. ludwigii*
- [2046] *E. mori*
- [2047] *E. nimipressuralis*

- [2048] *E. oryzae*
- [2049] *E. pulveris*
- [2050] *E. pyrinus*
- [2051] *E. radicincitans*
- [2052] *E. taylorae*
- [2053] *E. turicensis*
- [2054] *E. sakazakii* *Enterobacter soli*
- [2055] *Enterococcus*
- [2056] *Enterococcus durans*
- [2057] *Enterococcus faecalis*
- [2058] *Enterococcus faecium*
- [2059] *Erwinia*
- [2060] *Erwinia hapontici*
- [2061] *Escherichia*
- [2062] *Escherichia coli*
- [2063] *Faecalibacterium*
- [2064] *Faecalibacterium prausnitzii*
- [2065] *Fangia*
- [2066] *Fangia hongkongensis*
- [2067] *Fastidiosipila*
- [2068] *Fastidiosipila sanguinis*
- [2069] *Fusobacterium*
- [2070] *Fusobacterium nucleatum*
- [2071] *Flavobacterium*
- [2072] *Flavobacterium antarcticum*
- [2073] *Flavobacterium aquatile*
- [2074] *Flavobacterium aquidurens*
- [2075] *Flavobacterium balustinum*
- [2076] *Flavobacterium croceum*
- [2077] *Flavobacterium cucumis*
- [2078] *Flavobacterium daejeonense*
- [2079] *Flavobacterium defluvii*
- [2080] *Flavobacterium degerlachei*
- [2081] *Flavobacterium denitrificans*
- [2082] *Flavobacterium filum*
- [2083] *Flavobacterium flevense*
- [2084] *Flavobacterium frigidarium*
- [2085] *Flavobacterium mizutaii*

- [2086] *Flavobacterium okeanoikoites*
- [2087] *Gaetbulibacter*
- [2088] *Gaetbulibacter saemankumensis*
- [2089] *Gallibacterium*
- [2090] *Gallibacterium anatis*
- [2091] *Gallicola*
- [2092] *Gallicola barnesae*
- [2093] *Garciella*
- [2094] *Garciella nitratreducens*
- [2095] *Geobacillus*
- [2096] *Geobacillus thermoglucosidasius*
- [2097] *Geobacillus stearothermophilus*
- [2098] *Geobacter*
- [2099] *Geobacter bemidjiensis*
- [2100] *Geobacter bremensis*
- [2101] *Geobacter chapellei*
- [2102] *Geobacter grbiciae*
- [2103] *Geobacter hydrogenophilus*
- [2104] *Geobacter lovleyi*
- [2105] *Geobacter metallireducens*
- [2106] *Geobacter pelophilus*
- [2107] *Geobacter pickeringii*
- [2108] *Geobacter sulfurreducens*
- [2109] *Geodermatophilus*
- [2110] *Geodermatophilus obscurus*
- [2111] *Gluconacetobacter*
- [2112] *Gluconacetobacter xylinus*
- [2113] *Gordonia*
- [2114] *Gordonia rubripertincta*
- [2115] *Haemophilus*
- [2116] *Haemophilus aegyptius*
- [2117] *Haemophilus aphrophilus*
- [2118] *Haemophilus felis*
- [2119] *Haemophilus gallinarum*
- [2120] *Haemophilus haemolyticus*
- [2121] *Haemophilus influenzae*
- [2122] *Haemophilus paracuniculus*
- [2123] *Haemophilus parahaemolyticus*

- [2124] *Haemophilus parainfluenzae*
- [2125] *Haemophilus paraphrohaemolyticus*
- [2126] *Haemophilus parasuis*
- [2127] *Haemophilus pittmaniae*
- [2128] Hafnia
- [2129] *Hafnia alvei*
- [2130] Hahella
- [2131] *Hahella ganghwensis*
- [2132] Halalkalibacillus
- [2133] *Halalkalibacillus halophilus*
- [2134] Helicobacter
- [2135] *Helicobacter pylori*
- [2136] Janibacter
- [2137] *Janibacter anophelis*
- [2138] *Janibacter corallicola*
- [2139] *Janibacter limosus*
- [2140] *Janibacter melonis*
- [2141] *Janibacter terrae*
- [2142] Jannaschia
- [2143] *Jannaschia cystaugens*
- [2144] *Jannaschia helgolandensis*
- [2145] *Jannaschia pohangensis*
- [2146] *Jannaschia rubra*
- [2147] Janthinobacterium
- [2148] *Janthinobacterium agaricidamnosum*
- [2149] *Janthinobacterium lividum*
- [2150] Jejuia
- [2151] *Jejuia pallidilutea*
- [2152] Jeotgalibacillus
- [2153] *Jeotgalibacillus alimentarius*
- [2154] Jeotgalicoccus
- [2155] *Jeotgalicoccus halotolerans*
- [2156] Kaistia
- [2157] *Kaistia adipata*
- [2158] *Kaistia soli*
- [2159] Kangiella
- [2160] *Kangiella aquimarina*
- [2161] *Kangiella koreensis*

- [2162] Kerstersia
- [2163] *Kerstersia gyiorum*
- [2164] Kiloniella
- [2165] *Kiloniella laminariae*
- [2166] Klebsiella
- [2167] *K. granulomatis*
- [2168] *K. oxytoca*
- [2169] *K. Pneumoniae*
- [2170] *K. terrigena*
- [2171] *K. variicola*
- [2172] Kluyvera
- [2173] *Kluyvera ascorbata*
- [2174] Kocuria
- [2175] *Kocuria roasea*
- [2176] Kocuria varians
- [2177] Kurthia
- [2178] *Kurthia zopfii*
- [2179] Labedella
- [2180] *Labedella gwakjiensis*
- [2181] Labrenzia
- [2182] *Labrenzia aggregata*
- [2183] *Labrenzia alba*
- [2184] *Labrenzia alexandrii*
- [2185] *Labrenzia marina*
- [2186] Labrys
- [2187] *Labrys methylaminiphilus*
- [2188] *Labrys miyagiensis*
- [2189] *Labrys monachus*
- [2190] *Labrys okinawensis*
- [2191] *Labrys portucalensis*
- Lactobacillus
- [2192] *L. acetotolerans*
- [2193] *L. acidifarinae*
- [2194] *L. acidipiscis*
- [2195] *L. acidophilus*
- [2196] *Lactobacillus agilis*
- [2197] *L. algidus*
- [2198] *L. alimentarius*

[2199]	<i>L. amylolyticus</i>
[2200]	<i>L. amylophilus</i>
[2201]	<i>L. amylotrophicus</i>
[2202]	<i>L. amylovorus</i>
[2203]	<i>L. animalis</i>
[2204]	<i>L. antri</i>
[2205]	<i>L. apodemi</i>
[2206]	<i>L. aviarius</i>
[2207]	<i>L. bifermentans</i>
[2208]	<i>L. brevis</i>
[2209]	<i>L. buchneri</i>
[2210]	<i>L. camelliae</i>
[2211]	<i>L. casei</i>
[2212]	<i>L. kitasatonis</i>
[2213]	<i>L. kunkeei</i>
[2214]	<i>L. leichmannii</i>
[2215]	<i>L. lindneri</i>
[2216]	<i>L. malefermentans</i>
[2217]	<i>L. catenaformis</i>
[2218]	<i>L. ceti</i>
[2219]	<i>L. coleohominis</i>
[2220]	<i>L. collinoides</i>
[2221]	<i>L. composti</i>
[2222]	<i>L. concavus</i>
[2223]	<i>L. coryniformis</i>
[2224]	<i>L. crispatus</i>
[2225]	<i>L. crustorum</i>
[2226]	<i>L. curvatus</i>
[2227]	<i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>
[2228]	<i>L. delbrueckii subsp. delbrueckii</i>
[2229]	<i>L. delbrueckii subsp. lactis</i>
[2230]	<i>L. dextrinicus</i>
[2231]	<i>L. diolivorans</i>
[2232]	<i>L. equi</i>
[2233]	<i>L. equigenerosi</i>
[2234]	<i>L. farraginis</i>
[2235]	<i>L. farciminis</i>
[2236]	<i>L. fermentum</i>

- [2237] *L. fornicalis*
- [2238] *L. fructivorans*
- [2239] *L. frumenti*
- [2240] *L. mali*
- [2241] *L. manihotivorans*
- [2242] *L. mindensis*
- [2243] *L. mucosae*
- [2244] *L. murinus*
- [2245] *L. nagelii*
- [2246] *L. namurensis*
- [2247] *L. nantensis*
- [2248] *L. oligofermentans*
- [2249] *L. oris*
- [2250] *L. panis*
- [2251] *L. pantheris*
- [2252] *L. parabrevis*
- [2253] *L. parabuchneri*
- [2254] *L. paracasei*
- [2255] *L. paracollinoides*
- [2256] *L. parafarraginis*
- [2257] *L. homohiochii*
- [2258] *L. iners*
- [2259] *L. ingluviei*
- [2260] *L. intestinalis*
- [2261] *L. fuchuensis*
- [2262] *L. gallinarum*
- [2263] *L. gasseri*
- [2264] *L. parakefiri*
- [2265] *L. paralimentarius*
- [2266] *L. paraplantarum*
- [2267] *L. pentosus*
- [2268] *L. perolens*
- [2269] *L. plantarum*
- [2270] *L. pontis*
- [2271] *L. protectus*
- [2272] *L. psittaci*
- [2273] *L. rennini*
- [2274] *L. reuteri*

- [2275] *L. rhamnosus*
- [2276] *L. rimae*
- [2277] *L. rogosae*
- [2278] *L. rossiae*
- [2279] *L. ruminis*
- [2280] *L. saerimneri*
- [2281] *L. jensenii*
- [2282] *L. johnsonii*
- [2283] *L. kalixensis*
- [2284] *L. kefiranofaciens*
- [2285] *L. kefiri*
- [2286] *L. kimchii*
- [2287] *L. helveticus*
- [2288] *L. hilgardii*
- [2289] *L. sakei*
- [2290] *L. salivarius*
- [2291] *L. sanfranciscensis*
- [2292] *L. satsumensis*
- [2293] *L. secaliphilus*
- [2294] *L. sharpeae*
- [2295] *L. siliginis*
- [2296] *L. spicheri*
- [2297] *L. suebicus*
- [2298] *L. thailandensis*
- [2299] *L. ultunensis*
- [2300] *L. vaccinostercus*
- [2301] *L. vaginalis*
- [2302] *L. versmoldensis*
- [2303] *L. vini*
- [2304] *L. vitulinus*
- [2305] *L. zeae*
- [2306] *L. zymae*
- [2307] *L. gastricus*
- [2308] *L. ghanensis*
- [2309] *L. graminis*
- [2310] *L. hammesii*
- [2311] *L. hamsteri*
- [2312] *L. harbinensis*

- [2313] *L. hayakitensis*
- [2314] *Laceyella*
- [2315] *Laceyella putida*
- [2316] *Lechevalieria*
- [2317] *Lechevalieria aerocolonigenes*

Legionella

- [2318] *Legionella adelaidensis*
- [2319] *Legionella anisa*
- [2320] *Legionella beliardensis*
- [2321] *Legionella birminghamensis*
- [2322] *Legionella bozemanæ*
- [2323] *Legionella brunensis*
- [2324] *Legionella busanensis*
- [2325] *Legionella cardiaca*
- [2326] *Legionella cherrii*
- [2327] *Legionella cincinnatiensis*
- [2328] *Legionella clemsonensis*
- [2329] *Legionella donaldsonii*
- [2330] *Legionella drancourtii*
- [2331] *Legionella dresdenensis*
- [2332] *Legionella drozanskii*
- [2333] *Legionella dumoffii*
- [2334] *Legionella erythra*
- [2335] *Legionella fairfieldensis*
- [2336] *Legionella fallonii*
- [2337] *Legionella feeleei*
- [2338] *Legionella geestiana*
- [2339] *Legionella genomospecies*
- [2340] *Legionella gormanii*
- [2341] *Legionella gratiana*
- [2342] *Legionella gresilensis*
- [2343] *Legionella hackeliae*
- [2344] *Legionella impletisoli*
- [2345] *Legionella israelensis*
- [2346] *Legionella jamestowniensis*
- [2347] *Candidatus*
- [2348] *Legionella jeonii*
- [2349] *Legionella jordanis*

- [2350] *Legionella lansingensis*
- [2351] *Legionella londiniensis*
- [2352] *Legionella longbeachae*
- [2353] *Legionella lytica*
- [2354] *Legionella maceachernii*
- [2355] *Legionella massiliensis*
- [2356] *Legionella micdadei*
- [2357] *Legionella monrovia*
- [2358] *Legionella moravica*
- [2359] *Legionella nagasakiensis*
- [2360] *Legionella nautarum*
- [2361] *Legionella norrlandica*
- [2362] *Legionella oakridgensis*
- [2363] *Legionella parisiensis*
- [2364] *Legionella pittsburghensis*
- [2365] *Legionella pneumophila*
- [2366] *Legionella quateirensis*
- [2367] *Legionella quinlivanii*
- [2368] *Legionella rowbothamii*
- [2369] *Legionella rubrilucens*
- [2370] *Legionella sainthelensi*
- [2371] *Legionella santicrucis*
- [2372] *Legionella shakespearei*
- [2373] *Legionella spiritensis*
- [2374] *Legionella steelei*
- [2375] *Legionella steigerwaltii*
- [2376] *Legionella taurinensis*
- [2377] *Legionella tucsonensis*
- [2378] *Legionella tunisiensis*
- [2379] *Legionella wadsworthii*
- [2380] *Legionella waltersii*
- [2381] *Legionella worsleiensis*
- [2382] *Legionella yabuuchiae*
- [2383] *Listeria*
- [2384] *L. aquatica*
- [2385] *L. booriae*
- [2386] *L. cornellensis*
- [2387] *L. fleischmannii*

- [2388] *L. floridensis*
- [2389] *L. grandensis*
- [2390] *L. grayi*
- [2391] *L. innocua*
- [2392] *Listeria ivanovii*
- [2393] *L. marthii*
- [2394] *L. monocytogenes*
- [2395] *L. newyorkensis*
- [2396] *L. riparia*
- [2397] *L. rocourtiae*
- [2398] *L. seeligeri*
- [2399] *L. weihenstephanensis*
- [2400] *L. welshimeri*
- [2401] Listonella
- [2402] Listonella anguillarum
- [2403] Micrococcus
- [2404] *Micrococcus bovicus*
- [2405] Marinobacter
- [2406] *Marinobacter algicola*
- [2407] *Marinobacter bryozorum*
- [2408] *Marinobacter flavimaris*
- [2409] Meiothermus
- [2410] Meiothermus ruber
- [2411] Methylophilus
- [2412] *Methylophilus methylotrophus*
- [2413] Microbacterium
- [2414] *Microbacterium ammoniaphilum*
- [2415] Microbacterium arborescens
- [2416] *Microbacterium liquefaciens*
- [2417] Microbacterium oxydans
- [2418] Micrococcus
- [2419] Micrococcus luteus
- [2420] *Micrococcus lylae*
- [2421] Moraxella
- [2422] *Moraxella bovis*
- [2423] *Moraxella nonliquefaciens*
- [2424] *Moraxella osloensis*
- [2425] Nakamurella

- [2426] *Nakamurella multipartita*
- [2427] *Nannocystis*
- [2428] *Nannocystis pusilla*
- [2429] *Natranaerobius*
- [2430] *Natranaerobius thermophilus*
- [2431] *Natranaerobius trueperi*
- [2432] *Naxibacter*
- [2433] *Naxibacter alkalitolerans*
- [2434] *Neisseria*
- [2435] *Neisseria cinerea*
- [2436] *Neisseria denitrificans*
- [2437] *Neisseria gonorrhoeae*
- [2438] *Neisseria lactamica*
- [2439] *Neisseria mucosa*
- [2440] *Neisseria sicca*
- [2441] *Neisseria subflava*
- [2442] *Neptunomonas*
- [2443] *Neptunomonas japonica*
- [2444] *Nesterenkonia*
- [2445] *Nesterenkonia holobia*
- [2446] *Nocardia*
- [2447] *Nocardia argentinensis*
- [2448] *Nocardia corallina*
- [2449] *Nocardia otitidiscaviarum*
- [2450] *Oceanibulbus*
- [2451] *Oceanibulbus indolifex*
- [2452] *Oceanicaulis*
- [2453] *Oceanicaulis alexandrii*
- [2454] *Oceanicola*
- [2455] *Oceanicola batsensis*
- [2456] *Oceanicola granulosus*
- [2457] *Oceanicola nanhaiensis*
- [2458] *Oceanimonas*
- [2459] *Oceanimonas baumannii*
- [2460] *Oceaniserpentilla*
- [2461] *Oceaniserpentilla haliotis*
- [2462] *Oceanisphaera*
- [2463] *Oceanisphaera donghaensis*

- [2464] *Oceanisphaera litoralis*
- [2465] *Oceanithermus*
- [2466] *Oceanithermus desulfurans*
- [2467] *Oceanithermus profundus*
- [2468] *Oceanobacillus*
- [2469] *Oceanobacillus caeni*
- [2470] *Oceanospirillum*
- [2471] *Oceanospirillum linum*
- [2472] *Paenibacillus*
- [2473] *Paenibacillus thiaminolyticus*
- [2474] *Pantoea*
- [2475] *Pantoea agglomerans*
- [2476] *Paracoccus*
- [2477] *Paracoccus alcaliphilus*
- [2478] *Paucimonas*
- [2479] *Paucimonas lemoignei*
- [2480] **Pectobacterium** *Pectobacterium aroidearum*
- [2481] *Pectobacterium atrosepticum*
- [2482] *Pectobacterium betavasculorum*
- [2483] *Pectobacterium cacticida*
- [2484] *Pectobacterium carnegieana*
- [2485] *Pectobacterium carotovorum*
- [2486] *Pectobacterium chrysanthemi*
- [2487] *Pectobacterium cypripedii*
- [2488] *Pectobacterium rhapontici*
- [2489] *Pectobacterium wasabiae*
- [2490] *Planococcus*
- [2491] *Planococcus citreus*
- [2492] *Planomicrobium*
- [2493] *Planomicrobium okeanokoites*
- [2494] *Plesiomonas*
- [2495] *Plesiomonas shigelloides*
- [2496] *Proteus*
- [2497] *Proteus vulgaris*
- [2498] *Prevotella*
- [2499] *Prevotella albensis*
- [2500] *Prevotella amnii*
- [2501] *Prevotella bergensis*

[2502]	<i>Prevotella bivia</i>
[2503]	<i>Prevotella brevis</i>
[2504]	<i>Prevotella bryantii</i>
[2505]	<i>Prevotella buccae</i>
[2506]	<i>Prevotella buccalis</i>
[2507]	<i>Prevotella copri</i>
[2508]	<i>Prevotella dentalis</i>
[2509]	<i>Prevotella denticola</i>
[2510]	<i>Prevotella disiens</i>
[2511]	<i>Prevotella histicola</i>
[2512]	<i>Prevotella intermedia</i>
[2513]	<i>Prevotella maculosa</i>
[2514]	<i>Prevotella marshii</i>
[2515]	<i>Prevotella melaninogenica</i>
[2516]	<i>Prevotella micans</i>
[2517]	<i>Prevotella multiformis</i>
[2518]	<i>Prevotella nigrescens</i>
[2519]	<i>Prevotella oralis</i>
[2520]	<i>Prevotella oris</i>
[2521]	<i>Prevotella oulorum</i>
[2522]	<i>Prevotella pallens</i>
[2523]	<i>Prevotella salivae</i>
[2524]	<i>Prevotella stercorea</i>
[2525]	<i>Prevotella tannerae</i>
[2526]	<i>Prevotella timonensis</i>
[2527]	<i>Prevotella veroralis</i>
[2528]	Providencia
[2529]	<i>Providencia stuartii</i>
[2530]	Pseudomonas
[2531]	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
[2532]	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>
[2533]	<i>Pseudomonas anguillispetica</i>
[2534]	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
[2535]	<i>Pseudoalteromonas haloplanktis</i>
[2536]	<i>Pseudomonas mendocina</i>
[2537]	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>
[2538]	<i>Pseudomonas putida</i>
[2539]	<i>Pseudomonas tutzeri</i>

- [2540] *Pseudomonas syringae*
- [2541] *Psychrobacter*
- [2542] *Psychrobacter faecalis*
- [2543] *Psychrobacter phenylpyruvicus*

Quadrisphaera

- [2544] *Quadrisphaera granulorum*

Quatrionicoccus

- [2545] *Quatrionicoccus australiensis*

Quinella

- [2546] *Quinella ovalis*
- [2547] *Ralstonia*
- [2548] *Ralstonia eutropha*
- [2549] *Ralstonia insidiosa*
- [2550] *Ralstonia mannitolilytica*
- [2551] *Ralstonia pickettii*
- [2552] *Ralstonia pseudosolanacearum*
- [2553] *Ralstonia syzygii*
- [2554] *Ralstonia solanacearum*
- [2555] *Ramlibacter*
- [2556] *Ramlibacter henchirensis*
- [2557] *Ramlibacter tataouinensis*
- [2558] *Raoultella*
- [2559] *Raoultella ornithinolytica*
- [2560] *Raoultella planticola*
- [2561] *Raoultella terrigena*
- [2562] *Rathayibacter*
- [2563] *Rathayibacter caricis*
- [2564] *Rathayibacter festucae*
- [2565] *Rathayibacter iranicus*
- [2566] *Rathayibacter rathayi*
- [2567] *Rathayibacter toxicus*
- [2568] *Rathayibacter tritici*
- [2569] *Rhodobacter*
- [2570] *Rhodobacter sphaeroides*
- [2571] *Ruegeria*
- [2572] *Ruegeria gelatinovorans*

Saccharococcus

[2573] *Saccharococcus thermophilus*

Saccharomonospora

[2574] *Saccharomonospora azurea*

[2575] *Saccharomonospora cyanea*

[2576] *Saccharomonospora viridis*

Saccharophagus

[2577] *Saccharophagus degradans*

Saccharopolyspora

[2578] *Saccharopolyspora erythraea*

[2579] *Saccharopolyspora gregorii*

[2580] *Saccharopolyspora hirsuta*

[2581] *Saccharopolyspora hordei*

[2582] *Saccharopolyspora rectivirgula*

[2583] *Saccharopolyspora spinosa*

[2584] *Saccharopolyspora taberi*

Saccharothrix

[2585] *Saccharothrix australiensis*

[2586] *Saccharothrix coeruleofusca*

[2587] *Saccharothrix espanaensis*

[2588] *Saccharothrix longispora*

[2589] *Saccharothrix mutabilis*

[2590] *Saccharothrix syringae*

[2591] *Saccharothrix tangerinus*

[2592] *Saccharothrix texasensis*

Sagittula

[2593] *Sagittula stellata*

Salegentibacter

[2594] *Salegentibacter salegens*

Salimicrobium

[2595] *Salimicrobium album*

Salinibacter

[2596] *Salinibacter ruber*

Salinicoccus

[2597] *Salinicoccus alkaliphilus*

[2598] *Salinicoccus hispanicus*

[2599] *Salinicoccus roseus*

Salinispora

[2600] *Salinispora arenicola*

[2601] *Salinispora tropica*

Salinivibrio

[2602] *Salinivibrio costicola*

Salmonella

[2603] *Salmonella bongori*

[2604] *Salmonella enterica*

[2605] *Salmonella subterranea*

[2606] *Salmonella typhi*

Sanguibacter

[2607] *Sanguibacter keddiei*

[2608] *Sanguibacter suarezii*

Saprospira

[2609] *Saprospira grandis*

Sarcina

[2610] *Sarcina maxima*

[2611] *Sarcina ventriculi*

Sebaldella

[2612] *Sebaldella termitidis*

Serratia

[2613] *Serratia fonticola*

[2614] *Serratia marcescens*

Sphaerotilus

[2615] *Sphaerotilus natans*

Sphingobacterium

[2616] *Sphingobacterium multivorum*

Staphylococcus

[2617] *S. arlettae*

[2618] *S. agnetis*

[2619] *S. aureus*

[2620] *S. auricularis*

[2621] *S. capitis*

[2622] *S. caprae*

[2623] *S. carnosus*

[2624] *S. caseolyticus*

[2625] *S. chromogenes*

[2626] *S. cohnii*

[2627]	<i>S. condimenti</i>
[2628]	<i>S. delphini</i>
[2629]	<i>S. devriesei</i>
[2630]	<i>S. epidermidis</i>
[2631]	<i>S. equorum</i>
[2632]	<i>S. felis</i>
[2633]	<i>S. fleurettii</i>
[2634]	<i>S. gallinarum</i>
[2635]	<i>S. haemolyticus</i>
[2636]	<i>S. hominis</i>
[2637]	<i>S. hyicus</i>
[2638]	<i>S. intermedius</i>
[2639]	<i>S. kloosii</i>
[2640]	<i>S. leei</i>
[2641]	<i>S. lentus</i>
[2642]	<i>S. lugdunensis</i>
[2643]	<i>S. lutrae</i>
[2644]	<i>S. lyticans</i>
[2645]	<i>S. massiliensis</i>
[2646]	<i>S. microti</i>
[2647]	<i>S. muscae</i>
[2648]	<i>S. nepalensis</i>
[2649]	<i>S. pasteuri</i>
[2650]	<i>S. Petrasii</i>
[2651]	<i>S. pettenkoferi</i>
[2652]	<i>S. piscifermentans</i>
[2653]	<i>S. pseudintermedius</i>
[2654]	<i>S. pseudolugdunensis</i>
[2655]	<i>S. pulvereri</i>
[2656]	<i>S. rostri</i>
[2657]	<i>S. saccharolyticus</i>
[2658]	<i>S. saprophyticus</i>
[2659]	<i>S. schleiferi</i>
[2660]	<i>S. sciuri</i>
[2661]	<i>S. simiae</i>
[2662]	<i>S. simulans</i>
[2663]	<i>S. stepanovicii</i>
[2664]	<i>S. succinus</i>

[2665] *S. vitulinus*

[2666] *S. warneri*

[2667] *S. Xylosus*

Stenotrophomonas

[2668] *Stenotrophomonas maltophilia*

Streptococcus

[2669] *Streptococcus agalactiae*

[2670] *Streptococcus anginosus*

[2671] *Streptococcus bovis*

[2672] *Streptococcus canis*

[2673] *Streptococcus constellatus*

[2674] *Streptococcus downei*

[2675] *Streptococcus dysgalactiae*

[2676] *Streptococcus equines*

[2677] *Streptococcus faecalis*

[2678] *Streptococcus ferus*

[2679] *Streptococcus infantarius*

[2680] *Streptococcus iniae*

[2681] *Streptococcus intermedius*

[2682] *Streptococcus lactarius*

[2683] *Streptococcus milleri*

[2684] *Streptococcus mitis*

[2685] *Streptococcus mutans*

[2686] *Streptococcus oralis*

[2687] *Streptococcus tigurinus*

[2688] *Streptococcus orisratti*

[2689] *Streptococcus parasanguinis*

[2690] *Streptococcus peroris*

[2691] *Streptococcus pneumoniae*

[2692] *Streptococcus pseudopneumoniae*

[2693] *Streptococcus pyogenes*

[2694] *Streptococcus ratti*

[2695] *Streptococcus salivariu*

[2696] *Streptococcus thermophilus*

[2697] *Streptococcus sanguinis*

[2698] *Streptococcus sobrinus*

[2699] *Streptococcus suis*

- [2700] *Streptococcus uberis*
- [2701] *Streptococcus vestibularis*
- [2702] *Streptococcus viridans*
- [2703] *Streptococcus zooepidemicus*

Streptomyces

- [2704] *Streptomyces achromogenes*
- [2705] *Streptomyces cesalbus*
- [2706] *Streptomyces cescaepitosus*
- [2707] *Streptomyces cesdiastaticus*
- [2708] *Streptomyces cesexfoliatus*
- [2709] *Streptomyces fimbriatus*
- [2710] *Streptomyces fradiae*
- [2711] *Streptomyces fulvissimus*
- [2712] *Streptomyces griseoruber*
- [2713] *Streptomyces griseus*
- [2714] *Streptomyces lavendulae*
- [2715] *Streptomyces phaeochromogenes*
- [2716] *Streptomyces thermodiastaticus*
- [2717] *Streptomyces tubercidicus*
- [2718] *Tatlockia*
- [2719] *Tatlockia maceachernii*
- [2720] *Tatlockia micdadei*
- [2721] *Tenacibaculum*
- [2722] *Tenacibaculum amylolyticum*
- [2723] *Tenacibaculum discolor*
- [2724] *Tenacibaculum gallaicum*
- [2725] *Tenacibaculum lutimaris*
- [2726] *Tenacibaculum mesophilum*
- [2727] *Tenacibaculum skagerrakense*
- [2728] *Tepidanaerobacter*
- [2729] *Tepidanaerobacter syntrophicus*
- [2730] *Tepidibacter*
- [2731] *Tepidibacter formicigenes*
- [2732] *Tepidibacter thalassicus*
- [2733] *Thermus*
- [2734] *Thermus aquaticus*
- [2735] *Thermus filiformis*
- [2736] *Thermus thermophilus*

- [2737] *Uliginosibacterium*
- [2738] *Uliginosibacterium gangwonense*
- [2739] *Ulvibacter*
- [2740] *Ulvibacter litoralis*
- [2741] *Umezawaea*
- [2742] *Umezawaea tangerina*
- [2743] *Ndibacterium*
- [2744] *Undibacterium pigrum*
- [2745] *Ureaplasma*
- [2746] *Ureaplasma urealyticum*
- [2747] *Ureibacillus*
- [2748] *Ureibacillus composti*
- [2749] *Ureibacillus suwonensis*
- [2750] *Ureibacillus terrenus*
- [2751] *Ureibacillus thermophilus*
- [2752] *Ureibacillus thermosphaericus*

Vagococcus

- [2753] *Vagococcus carniphilus*
- [2754] *Vagococcus elongatus*
- [2755] *Vagococcus fessus*
- [2756] *Vagococcus fluvialis*
- [2757] *Vagococcus lutrae*
- [2758] *Vagococcus salmoninarum*

Variovorax

- [2759] *Variovorax boronicumulans*
- [2760] *Variovorax dokdonensis*
- [2761] *Variovorax paradoxus*
- [2762] *Variovorax soli*

Veillonella

- [2763] *Veillonella atypica*
- [2764] *Veillonella caviae*
- [2765] *Veillonella criceti*
- [2766] *Veillonella dispar*
- [2767] *Veillonella montpellierensis*
- [2768] *Veillonella parvula*
- [2769] *Veillonella ratti*
- [2770] *Veillonella rodentium*

Venenivibrio

[2771] *Venenivibrio stagnispumantis*

Verminephrobacter

[2772] *Verminephrobacter eiseniae*

Verrucomicrobium

[2773] *Verrucomicrobium spinosum*

Vibrio

[2774] *Vibrio aerogenes*

[2775] *Vibrio aestuarianus*

[2776] *Vibrio albensis*

[2777] *Vibrio alginolyticus*

[2778] *Vibrio campbellii*

[2779] *Vibrio cholerae*

[2780] *Vibrio cincinnatiensis*

[2781] *Vibrio coralliilyticus*

[2782] *Vibrio cyclitrophicus*

[2783] *Vibrio diazotrophicus*

[2784] *Vibrio fluvialis*

[2785] *Vibrio furnissii*

[2786] *Vibrio gazogenes*

[2787] *Vibrio haliotocoli*

[2788] *Vibrio harveyi*

[2789] *Vibrio ichthyenteri*

[2790] *Vibrio mediterranei*

[2791] *Vibrio metschnikovii*

[2792] *Vibrio mytili*

[2793] *Vibrio natriegens*

[2794] *Vibrio navarrensis*

[2795] *Vibrio nereis*

[2796] *Vibrio nigripulchritudo*

[2797] *Vibrio ordalii*

[2798] *Vibrio orientalis*

[2799] *Vibrio parahaemolyticus*

[2800] *Vibrio pectenecida*

[2801] *Vibrio penaeicida*

[2802] *Vibrio proteolyticus*

[2803] *Vibrio shilonii*

[2804] *Vibrio splendidus*

[2805] *Vibrio tubiashii*

[2806] *Vibrio vulnificus*

Virgibacillus

[2807] *Virgibacillus halodenitrificans*

[2808] *Virgibacillus pantothenicus*

Weissella

[2809] *Weissella cibaria*

[2810] *Weissella confusa*

[2811] *Weissella halotolerans*

[2812] *Weissella hellenica*

[2813] *Weissella kandleri*

[2814] *Weissella koreensis*

[2815] *Weissella minor*

[2816] *Weissella paramesenteroides*

[2817] *Weissella soli*

[2818] *Weissella thailandensis*

[2819] *Weissella viridescens*

Williamsia

[2820] *Williamsia marianensis*

[2821] *Williamsia maris*

[2822] *Williamsia serinedens*

Winogradskyella

[2823] *Winogradskyella thalassocola*

Wolbachia

[2824] *Wolbachia persica*

Wolinella

[2825] *Wolinella succinogenes*

Zobellia

[2826] *Zobellia galactanivorans*

[2827] *Zobellia uliginosa*

Zoogloea

[2828] *Zoogloea ramigera*

[2829] *Zoogloea resiniphila*

Xanthobacter

[2830] *Xanthobacter agilis*

[2831] *Xanthobacter aminoxidans*

- [2832] *Xanthobacter autotrophicus*
- [2833] *Xanthobacter flavus*
- [2834] *Xanthobacter tagetidis*
- [2835] *Xanthobacter viscosus*

Xanthomonas

- [2836] *Xanthomonas albilineans*
- [2837] *Xanthomonas alfalfae*
- [2838] *Xanthomonas arboricola*
- [2839] *Xanthomonas axonopodis*
- [2840] *Xanthomonas campestris*
- [2841] *Xanthomonas citri*
- [2842] *Xanthomonas codiae*
- [2843] *Xanthomonas cucurbitae*
- [2844] *Xanthomonas euvesicatoria*
- [2845] *Xanthomonas fragariae*
- [2846] *Xanthomonas fuscans*
- [2847] *Xanthomonas gardneri*
- [2848] *Xanthomonas hortorum*
- [2849] *Xanthomonas hyacinthi*
- [2850] *Xanthomonas perforans*
- [2851] *Xanthomonas phaseoli*
- [2852] *Xanthomonas pisi*
- [2853] *Xanthomonas populi*
- [2854] *Xanthomonas theicola*
- [2855] *Xanthomonas translucens*
- [2856] *Xanthomonas vesicatoria*

Xylella

- [2857] *Xylella fastidiosa*

Xylophilus

- [2858] *Xylophilus ampelinus*

Xenophilus

- [2859] *Xenophilus azovorans*

Xenorhabdus

- [2860] *Xenorhabdus beddingii*
- [2861] *Xenorhabdus bovienii*
- [2862] *Xenorhabdus cabanillasii*
- [2863] *Xenorhabdus doucetiae*

- [2864] *Xenorhabdus griffinae*
- [2865] *Xenorhabdus hominickii*
- [2866] *Xenorhabdus koppenhoeferi*
- [2867] *Xenorhabdus nematophila*
- [2868] *Xenorhabdus poinarii*

Xylanibacter

- [2869] *Xylanibacter oryzae*

Yangia

- [2870] *Yangia pacifica*

Yaniella

- [2871] *Yaniella flava*
- [2872] *Yaniella halotolerans*

Yeosuana

- [2873] *Yeosuana aromativorans*

Yersinia

- [2874] *Yersinia aldovae*
- [2875] *Yersinia bercovieri*
- [2876] *Yersinia enterocolitica*
- [2877] *Yersinia entomophaga*
- [2878] *Yersinia frederiksenii*
- [2879] *Yersinia intermedia*
- [2880] *Yersinia kristensenii*
- [2881] *Yersinia mollaretii*
- [2882] *Yersinia philomiragia*
- [2883] *Yersinia pestis*
- [2884] *Yersinia pseudotuberculosis*
- [2885] *Yersinia rohdei*
- [2886] *Yersinia ruckeri*

Yokenella

- [2887] *Yokenella regensburgei*

Yonghaparkia

- [2888] *Yonghaparkia alkaliphila*

Zavarzinia

- [2889] *Zavarzinia compransoris*

Zooshikella

- [2890] *Zooshikella ganghwensis*

Zunongwangia

[2891] *Zunongwangia profunda*

Zymobacter

[2892] *Zymobacter palmae*

Zymomonas

[2893] *Zymomonas mobilis*

Zymophilus

[2894] *Zymophilus paucivorans*

[2895] *Zymophilus raffinivorans*

Zobellella

[2896] *Zobellella denitrificans*

[2897] *Zobellella taiwanensis*

Zeaxanthinibacter

[2898] *Zeaxanthinibacter enoshimensis*

Zhihengliuella

[2899] *Zhihengliuella halotolerans*

Xylanibacterium

[2900] *Xylanibacterium ulmi*

[2901] **TABLEAU 3 : Médicaments**

Inhibiteurs de l'ECA (Enzyme de Conversion de l'Angiotensine, ou en anglais « An-
giotensin-Converting Enzyme ou ACE) avec agents bloquant les canaux calciques
Inhibiteurs de l'ECA avec thiazides
antiviraux adamantane
stéroïdes corticosurrénaux
inhibiteurs corticostéroïdes surrénaux
bronchodilatateurs adrénergiques
agents pour urgences hypertensives
agents pour hypertension pulmonaire
antagonistes des récepteurs de l'aldostérone
agents alkylants
allergènes
inhibiteurs de l'alpha-glucosidase
médecines alternatives
amebicides
aminoglycosides
aminopénicillines
aminosalicylates
antagonistes des récepteurs AMPA

analogues d'amyline
associations antalgiques
antalgiques
stéroïdes androgéniques et anabolisants
inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
inhibiteurs de l'angiotensine II avec bloqueurs de canaux calciques
inhibiteurs de l'angiotensine II avec thiazidiques
bloqueurs des récepteurs de l'angiotensine
bloqueurs des récepteurs de l'angiotensine et inhibiteurs de la néprilysine
préparations anorectales
anorexigènes
antiacides
anthelminthiques
agents ophtalmiques anti-angiogéniques
anticorps monoclonaux anti-CTLA-4
anti-infectieux
anticorps monoclonaux anti-PD-1
agents antiadrénergiques (centraux) avec thiazides
agents antiadrénergiques (périphériques) avec thiazides
agents antiadrénergiques, agissant centralement
agents antiadrénergiques, agissant périphériquement
antiandrogènes
agents anti-angineux
agents antiarythmiques
associations antiasthmatiques
antibiotiques/antinéoplasiques
antiémétiques anticholinergiques
agents antiparkinsoniens anticholinergiques
bronchodilatateurs anticholinergiques
agents chronotropes anticholinergiques
anticholinergiques/antispasmodiques
agents d'inversion anticoagulants
anticoagulants
anticonvulsivants
antidépresseurs
agents antidiabétiques
associations antidiabétiques
antidiarrhéiques

hormones antidiurétiques
antidotes
agents antiémétiques/antivertiges
antifongiques
agents antigonadotropes
agents antigoutteux
antihistaminiques
agents antihyperlipidémiant
associations antihyperlipidémiques
associations antihypertensives
agents antihyperuricémiques
agents antipaludéens
associations antipaludiques
quinoléines antipaludiques
antimétabolites
agents antimigraineux
agents détoxifiants antinéoplasiques
interférons antinéoplasiques
antineoplasiques
agents antiparkinsoniens
agents antiplaquettaires
pénicillines antipseudomonas
antipsoriasiques
antipsychotiques
antirhumatismaux
antiseptiques et germicides
agents antithyroïdiens
antitoxines et antivenins
agents antituberculeux
associations antituberculeuses
antitussifs
agents antiviraux
rappels antiviraux
associations antivirales
interférons antiviraux
anxiolytiques, sédatifs et hypnotiques
inhibiteurs de l'aromatase
antipsychotiques atypiques

antifongiques azolés
vaccins bactériens
anticonvulsivants barbituriques
barbituriques
inhibiteurs de la tyrosine kinase BCR-ABL
anticonvulsivants à la benzodiazépine
benzodiazépines
bêta-bloquants avec inhibiteurs des canaux calciques
bêta-bloquants avec thiazides
agents bloquants bêta-adrénergiques
inhibiteurs de bêta-lactamase
séquestrants des acides biliaires
produits biologiques
bisphosphonates
protéines morphogénétiques osseuses
inhibiteurs de la résorption osseuse
associations bronchodilatatrices
bronchodilatateurs
calcimimétiques
inhibiteurs de la calcineurine
calcitonine
agents bloquant les canaux calciques
anticonvulsivants au(x) carbamate(s)
carbapénèmes
inhibiteurs de l'anhydrase carbonique
décongestionnants
agents dermatologiques
radiopharmaceutiques de diagnostic
diarylquinolines
anticonvulsivants à la dibenzazépine
enzymes digestives
inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase 4
diurétiques
agents antiparkinsoniens dopaminergiques
médicaments utilisés dans la dépendance à l'alcool
échinocandines
Inhibiteurs de l'EGFR
antagonistes des récepteurs d'œstrogènes

œstrogènes
expectorants
inhibiteurs du facteur Xa
anticonvulsivants dérivés d'acides gras
dérivés de l'acide fibrique
céphalosporines de première génération
céphalosporines de quatrième génération
agents des troubles fonctionnels intestinaux
agents solubilisants des calculs biliaires
analogues de l'acide gamma-aminobutyrique
inhibiteurs de la recapture de l'acide gamma-aminobutyrique
agents gastro-intestinaux
anesthésiques généraux
agents du tractus génito-urinaire
stimulants gastro-intestinaux
glucocorticoïdes
agents éleveurs du niveau de glucose
antibiotiques glycopeptidiques
inhibiteurs plaquettaires glycoprotéiques
glycylcyclines
hormones de libération de gonadotrophines
antagonistes de l'hormone de libération de gonadotrophines
gonadotrophines
antiarythmiques du groupe I
antiarythmiques du groupe II
antiarythmiques du groupe III
antiarythmiques du groupe IV
antiarythmiques du groupe V
bloqueurs des récepteurs de l'hormone de croissance
hormones de croissance
agonistes de la guanylate cyclase-C
agents d'éradication de H. pylori
antagonistes d'H2
inhibiteurs de la voie hedgehog
mobilisateur de cellules souches hématopoïétiques
antagonistes de l'héparine
héparines
inhibiteurs du HER2

produits végétaux
inhibiteurs d'histone désacétylase
hormones
hormones/antinéoplasiques
anticonvulsivants à l'hydantoïne
dérivés de l'hydrazide
immunoglobulines
agents immunologiques
immunostimulants
agents immunosuppresseurs
agents contre l'impuissance
produits biologiques de diagnostic in vivo
mimétiques des incréтины
anti-infectieux inhalés
corticostéroïdes inhalés
agents inotropes
insuline
facteur de croissance analogue à l'insuline
inhibiteur de transfert de brin d'intégrase
interférons
inhibiteurs d'interleukine
interleukines
produits nutritionnels intraveineux
produit de contraste iodé
produit de contraste iodé ionique
produits ferreux
kétolides
laxatifs
léprostatiques
modificateurs des leucotriènes
dérivés de la lincomycine
anesthésiques injectables locaux
anesthésiques injectables locaux avec corticostéroïdes
diurétiques de l'anse
surfactants pulmonaires
agents colorants lymphatiques
enzymes lysosomales
dérivés des macrolides

macrolides
produit de contraste pour imagerie par résonance magnétique
stabilisateurs de mastocytes
gaz médicaux
méglinides
agents métaboliques
méthylxanthines
minéralocorticoïdes
agents minéraux et électrolytiques
antalgiques
antibiotiques
anticonvulsivants
antidépresseurs
agents antidiabétiques
antiémétiques
antifongiques
agents antihyperlipidémiantes
associations antihypertensives
antipaludiques
antinéoplasiques
agents antiparkinsoniens
agents antipsychotiques
agents antituberculeux
antiviraux
anxiolytiques, sédatifs et hypnotiques
inhibiteurs de la résorption osseuse
agents cardiovasculaires
agents du système nerveux central
modificateurs de coagulation
colorants de diagnostic
diurétiques
agents du tractus génito-urinaire
agents gastrointestinaux (de l'anglais « GI agents »)
hormones
agents métaboliques
agents ophtalmiques
agents respiratoires
hormones sexuelles

agents topiques
agents non catégorisés
agents vaginaux
inhibiteurs mitotiques
inhibiteurs de la monoamine oxydase
produits pour la bouche et la gorge
Inhibiteurs de la mTOR
mucolytiques
inhibiteurs de multikinases
relaxants musculaires
mydriatiques
associations analgésiques narcotiques
analgésiques narcotiques
anti-infectieux nasaux
antihistaminiques et décongestionnants nasaux
lubrifiants et irrigations nasaux
préparations nasales
stéroïdes nasaux
pénicillines naturelles
inhibiteurs de la néprilysine
inhibiteurs de la neuraminidase
agents bloquants neuromusculaires
ouvreurs de canaux potassiques neuronaux
céphalosporines de génération suivante
dérivés de l'acide nicotinique
antagonistes des récepteurs NK1
INNTI
bêta-bloquants non cardiosélectifs
produit de contraste non iodé
produit de contraste iodé non ionique
non-sulfonylurées
agents anti-inflammatoires non stéroïdiens
inhibiteurs de la NS5A
les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI)
produits nutraceutiques
produits nutritionnels
anesthésiques ophtalmiques
anti-infectieux ophtalmiques

agents anti-inflammatoires ophtalmiques
antihistaminiques et décongestionnants ophtalmiques
agents de diagnostic ophtalmique
agents de traitement du glaucome ophtalmique
lubrifiants et irrigations ophtalmiques
préparations ophtalmiques
stéroïdes ophtalmiques
stéroïdes ophtalmiques avec anti-infectieux
agents chirurgicaux ophtalmiques
compléments alimentaires oraux
immunostimulants
immunosuppresseurs
anesthésiques otiques
anti-infectieux otiques
préparations otiques
stéroïdes otiques
stéroïdes otiques avec anti-infectieux
anticonvulsivants à l'oxazolidinedione
antibiotiques à l'oxazolidinone
hormone parathyroïdienne et analogues
Inhibiteurs de la PARP
Inhibiteurs de la PCSK9
pénicillines résistantes à la pénicillinase
pénicillines
antagonistes des récepteurs d'opioïdes périphériques
agonistes/antagonistes mixtes des récepteurs d'opioïdes périphériques
vasodilatateurs périphériques
agents antiobésité agissant périphériquement
antiémétiques à phénothiazine
antipsychotiques à phénothiazine
antidépresseurs à phénylpipérazine
liants phosphatés
expandeurs de plasma
inhibiteurs de l'agrégation plaquettaire
agents stimulants plaquettaires
polyènes
diurétiques épargneurs de potassium avec thiazides
diurétiques épargneurs de potassium

probiotiques
modulateurs des récepteurs de la progestérone
progestatifs
inhibiteurs de la prolactine
antagonistes de la prostaglandine D2
inhibiteurs de protéase
antagonistes du récepteur 1 activé par la protéase
inhibiteurs du protéasome
inhibiteurs de la pompe à protons
psoralènes
agents psychothérapeutiques
associations psychothérapeutiques
nucléosides puriques
anticonvulsivants à la pyrrolidine
quinolones
agents de radiocontraste
auxiliaires radiologiques
agents radiologiques
agents de conjugaison radiologiques
radiopharmaceutiques
érythropoïétines humaines recombinantes
anticonvulsivants
inhibiteurs de l'anhydrase carbonique
agents de stress cardiaque
bêta-bloquants cardiosélectifs
agents cardiovasculaires
catécholamines
anticorps monoclonaux CD20
anticorps monoclonaux CD30
anticorps monoclonaux CD33
anticorps monoclonaux CD38
anticorps monoclonaux CD52
agents du système nerveux central
céphalosporines
inhibiteurs de bêta-lactamase/céphalosporines
céruménolytiques
associations de CFTR
potentiateurs CFTR

agents chélatants
antagoniste des récepteurs de chimiokines
agents otiques
inhibiteurs de la rénine
agents respiratoires
produits respiratoires inhalés
dérivés de la rifamycine
salicylates
agents sclérosants
céphalosporines de deuxième génération
modulateurs sélectifs des récepteurs d'œstrogènes
immunosuppresseurs sélectifs
inhibiteurs sélectifs de la phosphodiesterase-4
inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine
inhibiteurs de la recapture de la sérotonine-norépinéphrine
modulateurs neuroentériques sérotoninergiques
associations d'hormones sexuelles
hormones sexuelles
inhibiteurs du SGLT-2
associations relaxantes des muscles squelettiques
relaxants des muscles squelettiques
agents de sevrage tabagique
somatostatine et analogues de la somatostatine
spermicides
statines
solutions d'irrigation stériles
dérivés de streptomycines
anticonvulsivants à la succinimide
sulfamides
sulfonamides
stimulants synthétiques de l'ovulation
antidépresseurs tétracycliques
tétracyclines
radiopharmaceutiques thérapeutiques
vaccins thérapeutiques
diurétiques thiazidiques
thiazolidinediones
thioxanthènes

céphalosporines de troisième génération
inhibiteurs de la thrombine
thrombolytiques
médicaments pour la thyroïde
inhibiteurs du TNF alpha
agents tocolytiques
agents topiques contre l'acné
agents topiques
anesthésiques topiques
anti-infectieux topiques
agents anti-rosacée topiques
antibiotiques topiques
antifongiques topiques
antihistaminiques topiques
antinéoplasiques topiques
antipsoriasiques topiques
antiviraux topiques
antiviraux topiques
agents de débridement topiques
agents dépigmentants topiques
émollients topiques
kératolytiques topiques
anti-inflammatoires non stéroïdiens topiques
photochimiothérapie topique
rubéfiant topique
stéroïdes topiques
stéroïdes topiques avec anti-infectieux
anticonvulsivants à la triazine
antidépresseurs tricycliques
anticorps monoclonaux trifonctionnels
produits de contraste pour ultrasons
associations respiratoires supérieures
anticonvulsivants uréiques
agents des troubles du cycle de l'urée
anti-infectieux urinaires
antispasmodiques urinaires
modificateurs du pH urinaire
agents utérotoniques

associations de vaccins
 anti-infectieux vaginaux
 préparations vaginales
 vasodilatateurs
 antagonistes de la vasopressine
 vasopresseurs
 Inhibiteurs du VEGF/VEGFR
 vaccins viraux
 agents de viscosupplémentation
 associations de vitamines et de minéraux
 vitamines
 Inhibiteurs de la 5-alpha-réductase
 5-aminosalicylates
 antagonistes des récepteurs 5HT3
 activateurs des canaux chlorure
 inhibiteurs de l'absorption du cholestérol
 agonistes cholinergiques
 stimulants musculaires cholinergiques
 inhibiteurs de la cholinestérase
 stimulants du SNC
 modificateurs de coagulation
 facteurs de stimulation des colonies
 contraceptifs
 corticotropine
 coumarines et indandiones
 inhibiteurs de la cox-2

[2902] **TABLEAU 4 : Exemple de gènes de conjugaison**

Système Conj.	VirB	IncN Tra	IncF Tra
Famille T4SS	MPFT	<i>MPFN</i>	MPFF
Réf. Plasmide	pTI (A. Tumefaciens)	pKM101	F
Transglycosylase – Pilus biogenesis	virB1	TraL	Orf196(p19)
Pilus biogenesis	VirB2	TraM	TraA
Partie de CMI (Complexe de Membrane Interne)	VirB3	TraA	TraL

Partie d'ATPase majeure de CMI	VirB4	TraB	TraC
Adhésine de pointe de pilus	VirB5	TraC	TraE
Canal de membrane interne de CMI	VirB6	TraD	TraG
Partie de membrane externe de CC	VirB7	TraN	
Composant formant canal de membrane interne	VirB8	TraE	TraH
Canal de membrane externe de CC	VirB9	TraO	TraK
Canal s'étendant à travers la membrane de CC	VirB10	TraF	TraB
ATPase. Transforme ADNsb à partir de T4CP	VirB11	TraG	
T4CP	VirD4	TraJ	TraD

Revendications

[Revendication 1]

Un vecteur d'acide nucléique ou des premier et deuxième vecteurs d'acide nucléique pour transfert dans une cellule hôte d'un microbiote, le(s) vecteur(s) comprenant de l'acide nucléique qui comprend

- (a) une séquence nucléotidique exprimable d'intérêt (NS1) pour produire un produit d'intérêt (P1) dans la cellule hôte ; et
- (b) une séquence nucléotidique exprimable (NS2) pour produire un produit régulateur (P2) dans la cellule hôte, P2 étant exploitable dans la cellule hôte pour réguler l'expression ou l'activité de P1 ;

dans lequel

- (c) NS1 est sous le contrôle d'un premier promoteur (optionnellement un promoteur constitutif ou inductible) pour l'expression de P1 ; et
- (d) l'expression ou l'activité de P2 dans la cellule hôte est régulable par exposition de la cellule hôte comprenant le ou les vecteur(s) à un agent régulateur (R), régulant ainsi l'expression ou l'activité de P1.

[Revendication 2]

Vecteur(s) d'acide nucléique selon la revendication 1 pour transfert dans une cellule hôte d'un microbiote, le(s) vecteur(s) comprenant de l'acide nucléique qui comprend

- a) une séquence nucléotidique exprimable d'intérêt (NS1) pour produire un produit d'intérêt (P1) dans la cellule hôte ; et
- b) une séquence nucléotidique exprimable (NS2) pour produire un produit régulateur (P2) dans la cellule hôte, P2 étant exploitable dans la cellule hôte pour se lier à un acide nucléique du vecteur pour réguler l'expression de P1 ;

dans lequel

- c) NS1 est sous le contrôle d'un premier promoteur (optionnellement un promoteur constitutif ou inductible) pour l'expression de P1 ; et
- d) NS2 est sous le contrôle d'un deuxième promoteur qui peut être régulé pour l'expression de P2, dans lequel la liaison ou l'exposition d'un agent régulateur (R) à l'acide nucléique du vecteur régule le deuxième promoteur, régulant ainsi l'expression de P2 et P1 ; optionnellement, dans lequel ledit vecteur est un vecteur qui comprend à la fois NS1 et NS2.

[Revendication 3]

Vecteur(s) selon la revendication 1 ou 2,

- (a) P2 étant exploitable dans la cellule hôte pour se lier à l'acide nucléique du vecteur pour réguler à la baisse l'expression de P1 ; et/ou
- (b) R régulant à la hausse l'expression de P2.

- [Revendication 4] Vecteur(s) selon l'une quelconque des revendications précédentes, P2 étant exprimable dans la cellule hôte pour la formation d'une nucléase qui est exploitable dans la cellule hôte pour couper l'acide nucléique, l'acide nucléique étant optionnellement dégradé, régulant ainsi à la baisse l'expression de P1.
- [Revendication 5] Vecteur(s) selon l'une quelconque des revendications précédentes, P2 comprenant
- (a) une nucléase guidée par ARN ;
 - (b) un ARN qui est exploitable pour guider une nucléase guidée par ARN ou un précurseur d'un tel ARN ; ou
 - (c) une endonucléase de restriction.
- [Revendication 6] Vecteur(s) selon la revendication 5, la nucléase guidée étant une nucléase Cas, TALEN, une méganucléase ou une nucléase à doigt de zinc, de préférence une nucléase Cas.
- [Revendication 7] Vecteur(s) selon l'une quelconque des revendications 4 à 6, la nucléase étant utilisable pour couper l'acide nucléique en un motif de séquence prédéterminé, optionnellement une séquence de protoespaceur ou un site de restriction.
- [Revendication 8] Vecteur(s) selon la revendication 7, l'acide nucléique comprenant une pluralité desdits motifs.
- [Revendication 9] Vecteur(s) selon l'une quelconque des revendications précédentes, P1 étant un acide aminé, une protéine ou un ARN pour la thérapie humaine ou animale.
- [Revendication 10] Vecteur(s) selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel P1 est toxique pour les cellules de la même espèce que la cellule hôte.
- [Revendication 11] Vecteur(s) selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel P1 est un régulateur de transcription ou de traduction dans des cellules de la même espèce que la cellule hôte.
- [Revendication 12] Vecteur(s) selon l'une quelconque des revendications précédentes, R étant un acide aminé, une protéine, un glucide (optionnellement un sucre), un lipide, un ion métallique ou un acide nucléique ; ou R étant un alcool de sucre (optionnellement du xylitol).
- [Revendication 13] Vecteur(s) selon l'une quelconque des revendications précédentes, le vecteur étant un ICE (élément intégratif et conjugatif), un plasmide (optionnellement un plasmide conjugatif), une particule de transduction (optionnellement un phage ou une particule de transduction non autorépliquative) ou une nanoparticule.

- [Revendication 14] Vecteur(s) selon la revendication 13, le vecteur étant compris par une cellule porteuse, le vecteur étant optionnellement un plasmide conjugatif compris par une cellule porteuse (optionnellement une cellule porteuse bactérienne) sous une forme adaptée à l'administration à un microbiote d'un sujet humain ou animal.
- [Revendication 15] Vecteur(s) selon la revendication 14, la cellule porteuse étant une cellule d'une espèce de cellule bactérienne commensale ou probiotique d'un microbiote humain ou animal et/ou la cellule porteuse est une cellule d'une espèce de microbiote intestinal humain ou animal.
- [Revendication 16] Vecteur d'acide nucléique pour transfert dans une cellule hôte d'un microbiote, le vecteur étant compris par une cellule porteuse et codant pour
 (a) une nucléase (optionnellement une nucléase guidée par ARN ou une endonucléase de restriction) qui est exploitable dans la cellule porteuse pour couper un chromosome ou un épisome (qui n'est pas le vecteur) de la cellule porteuse, le chromosome ou l'épisome étant optionnellement dégradé ; et/ou
 (b) un ARN qui est exploitable dans la cellule porteuse pour guider une nucléase guidée par ARN ou un précurseur d'un tel ARN, l'ARN guidant la nucléase pour couper un chromosome ou un épisome (qui n'est pas le vecteur) de la cellule porteuse, le chromosome ou l'épisome étant optionnellement dégradé ;
 le vecteur comprenant un ou plus promoteurs régulables pour réguler l'expression de la nucléase de (a) et/ou de l'ARN ou du composant de (b) dans la cellule porteuse.
- [Revendication 17] Vecteur(s) selon la revendication 16, le vecteur étant selon la revendication 14 ou 15.
- [Revendication 18] Vecteur selon la revendication 16 ou 17, le vecteur comprenant un promoteur inductible ou répressible qui régule l'expression de la nucléase de (a) et/ou le vecteur comprenant un promoteur inductible ou répressible qui régule l'expression de l'ARN ou du composant de (b), le(s) promoteur(s) étant de préférence des promoteurs inductibles.
- [Revendication 19] Vecteur de la revendication 16 ou 18, la nucléase guidée étant sélectionnée parmi :
- a. Une nucléase guidée par ARN ;
 - b. Un ARN qui est exploitable pour guider une nucléase guidée par ARN ou un précurseur d'un tel ARN ; ou
 - c. Une endonucléase de restriction.

- [Revendication 20] Vecteur selon l'une quelconque des revendications 16 à 19, la nucléase guidée étant une nucléase Cas, TALEN, une méganucléase ou une nucléase à doigt de zinc, de préférence une nucléase Cas.
- [Revendication 21] Vecteur selon l'une quelconque des revendications 16 à 20, la nucléase étant utilisable pour couper le chromosome ou l'épisome dans la cellule porteuse en un motif de séquence prédéterminé, optionnellement une séquence de protoespaceur ou un site de restriction.
- [Revendication 22] Vecteur selon l'une quelconque des revendications 16 à 21, la coupe du chromosome ou de l'épisome de la cellule porteuse tuant la cellule porteuse ou réduisant la croissance ou la prolifération de la cellule porteuse, la cellule étant de préférence tuée.
- [Revendication 23] Vecteur selon l'une quelconque des revendications 16 à 22, le vecteur comprenant un oriT pour le transfert dans la cellule hôte, le vecteur étant optionnellement un plasmide conjugatif.
- [Revendication 24] Vecteur de l'une quelconque des revendications 16 à 23, dans lequel
 (a) le vecteur est un plasmide conjugatif ;
 (b) le vecteur comprend un promoteur inductible qui régule l'expression de la nucléase de (a) et/ou le vecteur comprend un promoteur inductible qui régule l'expression de l'ARN ou du composant ;
 (c) optionnellement la nucléase guidée est une nucléase Cas ; et
 (d) la coupe du chromosome ou de l'épisome de la cellule porteuse tue la cellule porteuse ou réduit la croissance ou la prolifération de la cellule porteuse.
- [Revendication 25] Vecteur(s) selon l'une quelconque des revendications précédentes, la cellule hôte étant une cellule d'une espèce trouvée dans un microbiote (optionnellement un microbiote intestinal) d'humains ou d'animaux.
- [Revendication 26] Vecteur(s) selon l'une quelconque des revendications précédentes, la cellule hôte étant une cellule d'une espèce de cellule bactérienne commensale ou probiotique d'un microbiote humain ou animal.
- [Revendication 27] Vecteur(s) selon l'une quelconque des revendications 16 à 26, l'espèce étant sélectionnée parmi: les espèces *Bacteroides*, *Clostridiales* ou *E.coli* .
- [Revendication 28] Vecteur(s) de l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel/lesquels
 (a) P1 est une protéine ou un ARN pour la thérapie humaine ou animale ; et

- (b) P2 comprend (i) un ARNcr qui est utilisable dans la cellule hôte pour guider une nucléase Cas pour se lier à une séquence de protoespaceur comprise par l'acide nucléique pour couper le protoespaceur, l'acide nucléique étant optionnellement dégradé, régulant ainsi à la baisse l'expression de P1, ou (ii) un précurseur d'un tel ARNcr.
- [Revendication 29] Vecteur(s) selon l'une quelconque des revendications précédentes pour son utilisation en tant que médicament.
- [Revendication 30] Une cellule hôte comprenant un acide nucléique qui comprend
 (a) une séquence nucléotidique exprimable d'intérêt (NS1) pour produire un produit d'intérêt (P1) dans la cellule hôte ; et
 (b) une séquence nucléotidique exprimable (NS2) pour produire un produit régulateur (P2) dans la cellule hôte, P2 étant exploitable dans la cellule hôte pour réguler l'expression ou l'activité de P1 ;
 dans laquelle
 (c) NS1 est sous le contrôle d'un premier promoteur (optionnellement un promoteur constitutif ou inductible) pour l'expression de P1 ; et
 (d) l'expression ou l'activité de P2 dans la cellule hôte est régulable par exposition de la cellule hôte à un agent régulateur (R), régulant ainsi l'expression ou l'activité de P1 ;
 la cellule hôte étant une cellule bactérienne, archéenne ou fongique.
- [Revendication 31] Cellule de la revendication 30, dans laquelle
 (a) l'acide nucléique est compris par un vecteur d'acide nucléique ou premier et deuxième vecteurs d'acide nucléique de la cellule ;
 (b) NS1 est compris par un vecteur d'acide nucléique de la cellule et NS2 est compris par un chromosome de la cellule ;
 (c) NS1 est compris par un chromosome de la cellule et NS2 est compris par un vecteur d'acide nucléique de la cellule ; ou
 (d) NS1 est compris par un chromosome de la cellule et NS2 est compris par un chromosome de la cellule.
- [Revendication 32] Cellule selon la revendication 31(a), la revendication 31(b) ou la revendication 31(c) le vecteur ou chaque vecteur étant un plasmide conjugatif pour transfert à une cellule d'un microbiote compris par un sujet humain ou animal.
- [Revendication 33] Cellule selon l'une quelconque des revendications 30 à 32, la cellule étant une cellule d'espèce bactérienne commensale ou probiotique d'un microbiote humain ou animal, optionnellement une cellule d'*E coli* ou une cellule de *Bacteroides*.
- [Revendication 34] Cellule selon l'un quelconque des revendications 30 à 33, NS2 étant

sous le contrôle d'un deuxième promoteur qui peut être régulé pour l'expression de P2, la liaison d'un agent régulateur (R) à l'acide nucléique du vecteur régulant le deuxième promoteur, régulant ainsi l'expression de P2 et P1.

- [Revendication 35] Cellule selon l'une quelconque des revendications 30 à 34, P2 comprenant une nucléase guidée par ARN (optionnellement une nucléase Cas), la nucléase étant utilisable pour couper l'acide nucléique au niveau d'un motif de séquence prédéterminé.
- [Revendication 36] Cellule de la revendication 35,
 (a) le motif de séquence étant compris par un chromosome de la cellule et la coupe tue la cellule ; ou le motif de séquence étant compris par un gène (sur un chromosome ou un vecteur de la cellule) comprenant NS1 pour la production de P1 et la coupe régule à la baisse la production de P1 ; ou
 (b) le motif de séquence étant compris par un dit vecteur comprenant NS1.
- [Revendication 37] Cellule selon l'une quelconque des revendications 30 à 36 pour son utilisation dans le traitement ou la prévention d'une maladie ou d'une affection chez un sujet humain ou animal, la cellule étant administrée à un microbiote (optionnellement un microbiote intestinal) du sujet pour produire P1 chez le sujet traitant ou prévenant ainsi la maladie ou l'affection chez le sujet.
- [Revendication 38] Cellule selon l'une quelconque des revendications 30 à 36 ou la cellule pour son utilisation selon la revendication 37 dans laquelle la cellule comprend le ou les vecteur(s) selon l'une quelconque des revendications 1 à 28.
- [Revendication 39] Composition pharmaceutique comprenant le ou les vecteur(s) selon l'une quelconque des revendications 1 à 28, ou une cellule selon l'une quelconque des revendications 30-36 ou 38 et un support, diluant ou excipient pharmaceutiquement acceptable, optionnellement un antiacide.
- [Revendication 40] Comprimé, suppositoire, pilule, capsule ou formulation liquide sous une forme adaptée à l'administration dans le tractus gastro-intestinal d'un sujet humain ou animal, dans lequel la formulation sous forme de comprimé, suppositoire, pilule, capsule ou formulation liquide comprend le ou les vecteur(s) selon l'une quelconque des revendications 1 à 28 ou une cellule selon l'une quelconque des revendications 30-36 ou 38.

- [Revendication 41] Comprimé, pilule ou capsule selon la revendication 40, le comprimé, la pilule ou la capsule comprenant un enrobage entérique.
- [Revendication 42] Comprimé, pilule, capsule ou formulation liquide selon la revendication 40 ou 41 pour son utilisation en tant que médicament sous une forme adaptée à une administration par voie orale.
- [Revendication 43] Un vecteur ou un premier et deuxième vecteurs pour utilisation dans un procédé de régulation temporelle de la production d'un produit d'expression chez un sujet humain ou animal, le procédé comprenant
 (a) l'administration à un microbiote (optionnellement un microbiote intestinal) dudit sujet du ou des vecteurs comprenant un acide nucléique, dans lequel le microbiote comprend une cellule hôte et l'acide nucléique codant pour un produit d'intérêt (P1) ; l'administration étant optionnellement une administration orale ou topique ;
 (b) la permission du transfert de l'acide nucléique jusque dans la cellule hôte que comprend le microbiote et l'expression de P1 dans la cellule hôte ;
 (c) après l'étape (b), l'exposition du microbiote à un agent régulateur (R) qui régule à la hausse la production d'un complexe nucléase guidée par ARN/ARN guide dans la cellule hôte qui est capable de cibler un protoespaceur compris par l'acide nucléique, la nucléase coupant l'acide nucléique et l'expression de P1 étant rendue non fonctionnelle (optionnellement par dégradation de l'acide nucléique coupé dans la cellule), la nucléase (ou un composant de celle-ci) et/ou l'ARN (ou un composant de celui-ci) étant codé par l'acide nucléique.
- [Revendication 44] Le ou les vecteur(s) selon l'une des revendications 1-28, la cellule selon l'une des revendications 30-36 ou 38, la composition selon la revendication 39, le comprimé selon l'une des revendications 40-42, le suppositoire selon la revendication 40, la pilule selon l'une des revendications 40-42, la gélule selon l'une des revendications 40-42, ou la formulation liquide selon l'une des revendications 40 ou 42 pour utilisation dans un procédé de régulation temporelle de la production d'un produit d'expression chez un sujet humain ou animal, le procédé comprenant
 (a) l'administration à un microbiote (optionnellement un microbiote intestinal) du sujet cellule, composition, comprimé, suppositoire, pilule, capsule ou formulation liquide; l'administration étant optionnellement une administration orale ou topique ;
 (b) la permission du transfert de l'acide nucléique jusque dans une cellule hôte que comprend le microbiote et l'expression de P1 dans la

cellule hôte ; et

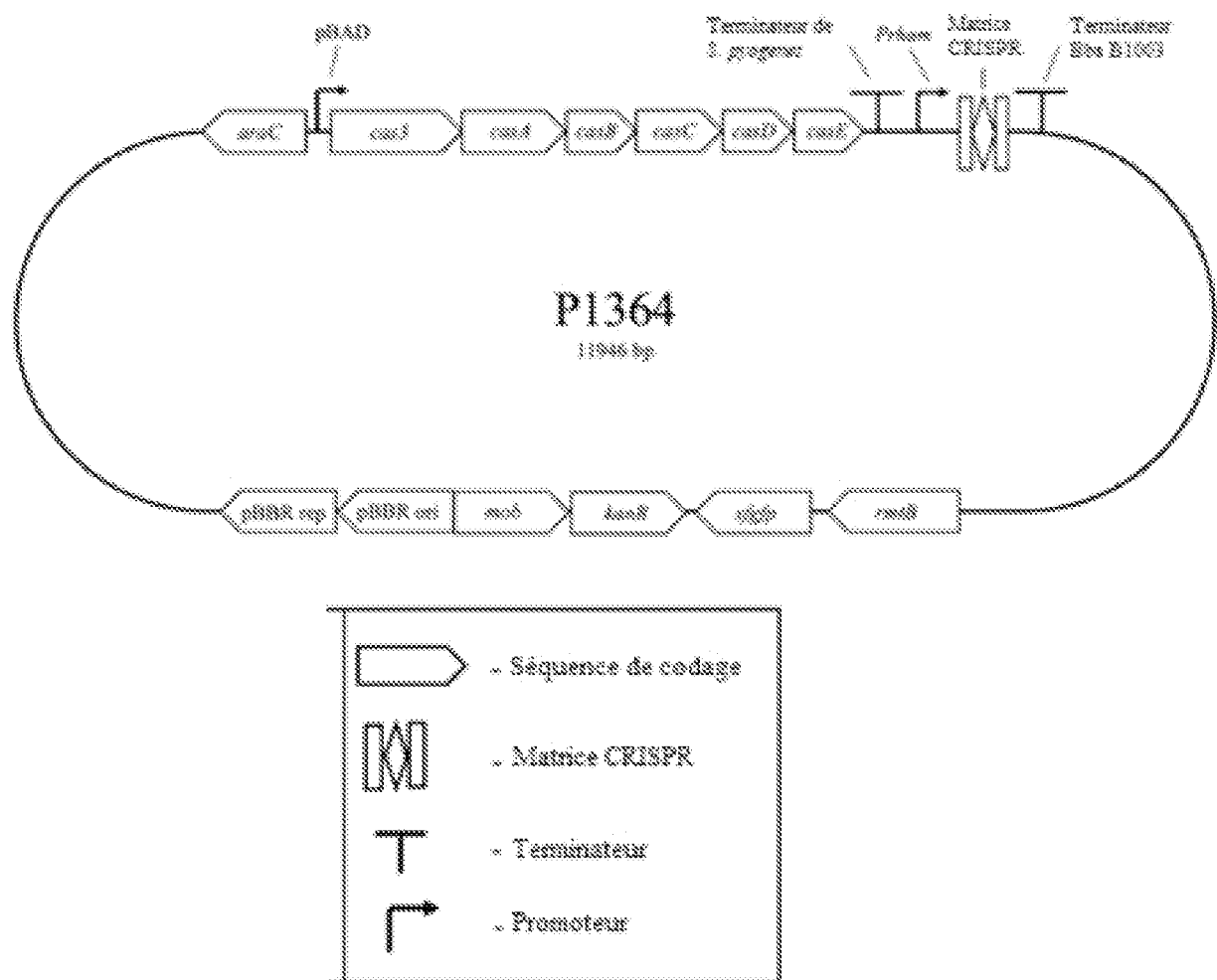
(c) après l'étape (b), l'exposition du microbiote à R (tel que par administration de R au sujet), R régulant le deuxième promoteur, régulant ainsi l'expression de P2 et P1.

- [Revendication 45] Le ou les vecteur(s) pour utilisation selon la revendication 43 ou 44, ou la cellule, la composition, le comprimé, le suppositoire, la pilule, la capsule ou la formulation liquide pour utilisation selon la revendication 44 le procédé étant un procédé de
- (a) traitement ou prévention d'une maladie ou d'une affection chez un sujet humain ou animal en régulant temporellement la production de P1
- [Revendication 46] Le ou les vecteur(s) pour utilisation selon la revendication 43 ou 44, ou la cellule, la composition, le comprimé, le suppositoire, la pilule, la capsule ou la formulation liquide pour utilisation selon la revendication 44, le procédé étant un procédé de modification du microbiote (par exemple un microbiote intestinal) d'un sujet humain ou animal par la régulation temporelle de la production de P1.
- [Revendication 47] Le ou les vecteur(s) pour utilisation selon l'une des revendications 43-46, ou la cellule, la composition, le comprimé, le suppositoire, la pilule, la capsule ou la formulation liquide pour utilisation selon les revendications 44-46 dans lequel P1 est un produit d'expression thérapeutiquement ou prophylactiquement utile chez le sujet.
- [Revendication 48] Le ou les) vecteur(s) pour utilisation selon l'une des revendications 43-47, ou la cellule, la composition, le comprimé, le suppositoire, la pilule, la capsule ou la formulation liquide pour utilisation selon l'une des revendications 44-47 P1 exprimé à partir de l'acide nucléique étant, à l'étape (c), l'agent régulateur (R) ou est un composant d'une voie qui produit R, moyennant quoi une boucle de rétroaction d'expression P1 régule négativement davantage l'expression de P1.
- [Revendication 49] Le ou les vecteur(s) pour l'utilisation selon l'une des revendications 43 à 48 ou la cellule, la composition, le comprimé, le suppositoire, la pilule, la capsule ou la formulation liquide pour utilisation selon l'une quelconque des revendications 44-48, R régulant à la hausse le deuxième promoteur à l'étape (c) et P2 régulant à la baisse l'expression de P1 ; et la régulation positive du deuxième promoteur provoquant optionnellement la production d'une nucléase guidée ou d'une endonucléase de restriction qui coupe l'acide nucléique dans la cellule hôte, l'acide nucléique étant dégradé, régulant ainsi à la baisse l'expression de P1.

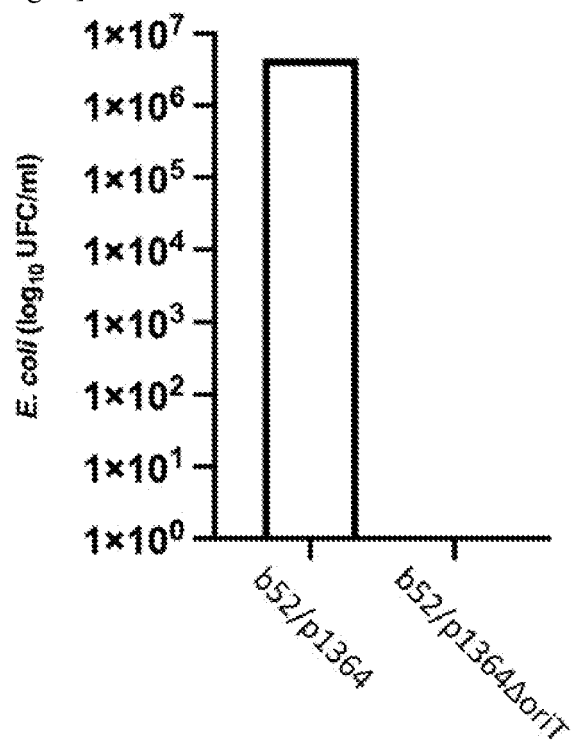
- [Revendication 50] Le ou les vecteur(s) à utiliser selon l'une des revendications 43-49 ou la cellule, la composition, le comprimé, le suppositoire, la pilule, la capsule ou la formulation liquide pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications 44-49, P2 étant capable de réguler à la hausse l'expression de P1 dans la cellule hôte, R régulant à la baisse le deuxième promoteur à l'étape (c) moyennant quoi l'expression de P1 est régulée à la baisse.
- [Revendication 51] Cellule, comprenant un acide nucléique, l'acide nucléique comprenant un gène codant pour un produit d'intérêt (P1), le gène comprenant une séquence nucléotidique (NS1) codant pour P1 et une région de régulation 5' de NS1 qui comprend un promoteur (Px) pour contrôler l'expression de NS1, la combinaison de Px et NS1 étant hétérologue à la cellule et Px étant régulable par le xylitol ou le xylose.
- [Revendication 52] Cellule selon la revendication 51, la cellule étant selon l'une quelconque des revendications 30-36 ou 38.
- [Revendication 53] Cellule selon la revendication 51 ou 52, le promoteur étant un promoteur régulable au xylitol ou au xylose d'une espèce de *Morganella*, optionnellement *M morganii*.
- [Revendication 54] La cellule de la revendication 51-53, le promoteur comprenant la SEQ ID NO : 3 ou une séquence nucléotidique qui est au moins à 70 % identique à la SEQ ID NO : 3.
- [Revendication 55] Cellule selon l'une quelconque des revendications 51 à 54, Px étant homologue à un promoteur régulable au xylitol ou au xylose de *Morganella morganii*.
- [Revendication 56] Cellule selon l'une quelconque des revendications 51 à 55, le génome cellulaire codant pour un répresseur qui est capable de réprimer Px, dans laquelle le xylitol et/ou le xylose sont capables de dé-réprimer le répresseur.
- [Revendication 57] La cellule de la revendication 56, le répresseur étant codé par la SEQ ID NO : 1 ou une séquence nucléotidique qui est au moins à 70 % identique à la SEQ ID NO : 1.
- [Revendication 58] Cellule selon l'une quelconque des revendications 51 à 57, dans laquelle la cellule comprend un transporteur de xylitol, optionnellement un transporteur ABC du xylitol.
- [Revendication 59] Cellule selon l'une quelconque des revendications 51 à 58, la cellule étant dépourvue d'un gène xylitol isomérase.
- [Revendication 60] Vecteur d'acide nucléique comprenant un gène tel qu'énoncé dans l'une quelconque des revendications 51-59.

[Revendication 61] Vecteur selon la revendication 60, dans lequel le vecteur est un plasmide (optionnellement un plasmide conjugatif), un transposon, un phagémide ou un phage.

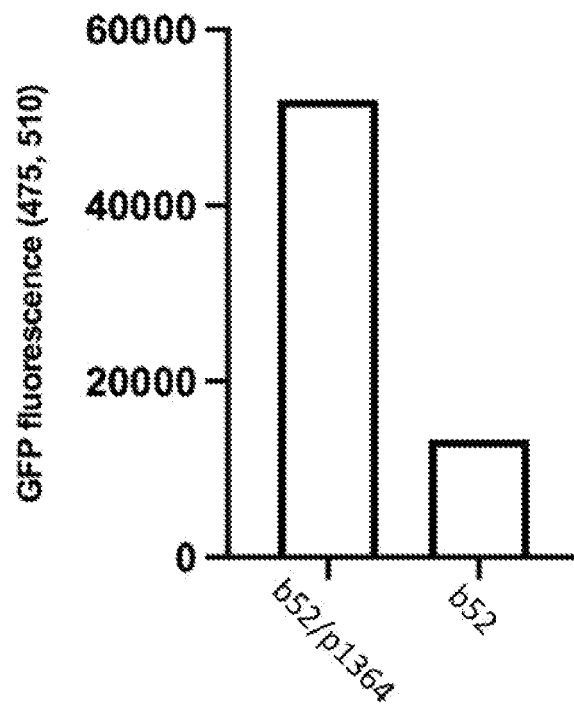
[Fig. 1]



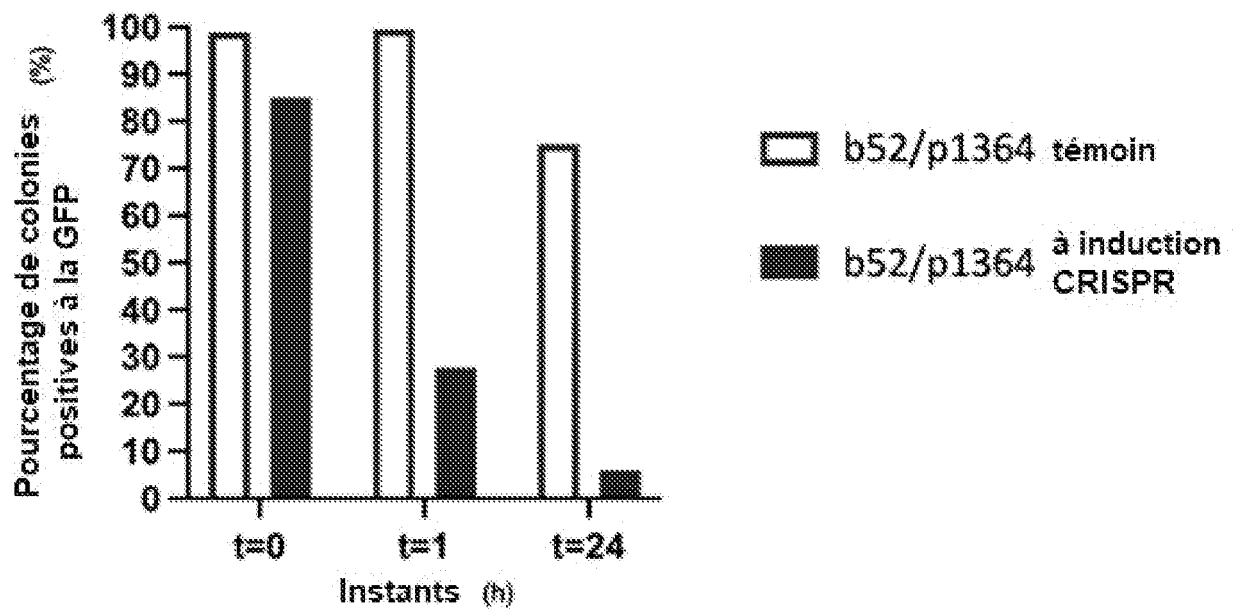
[Fig. 2]



[Fig. 3]



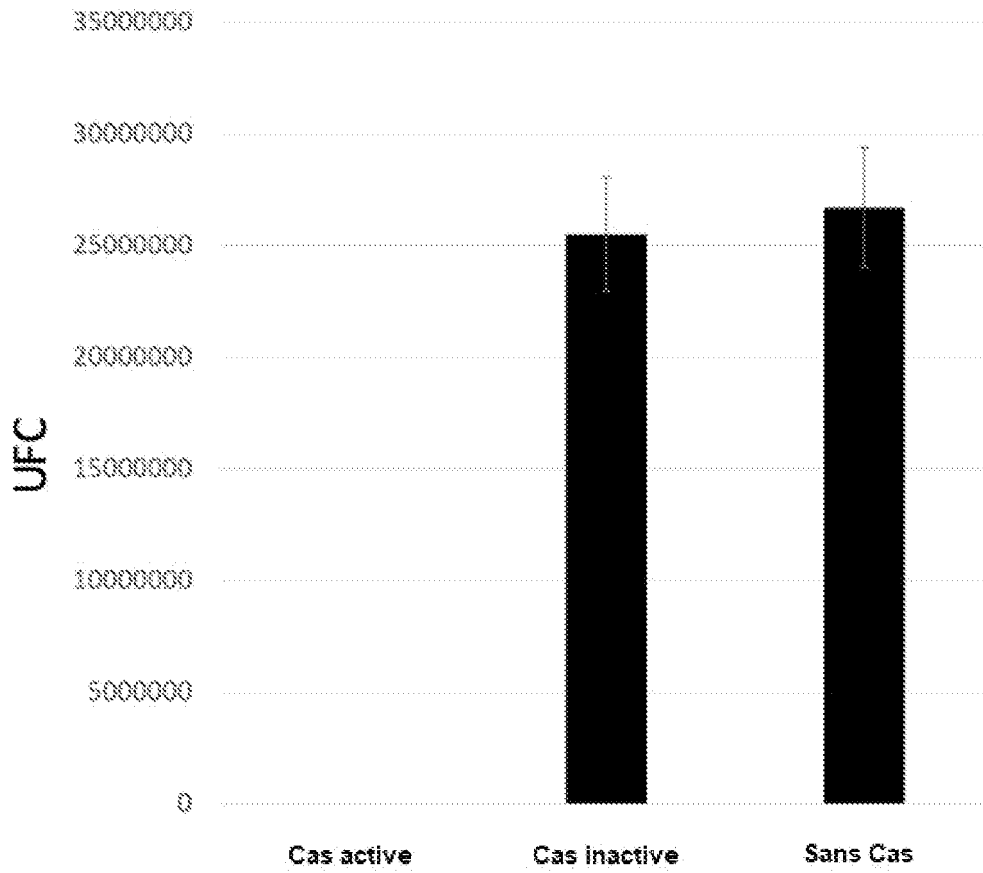
[Fig. 4]



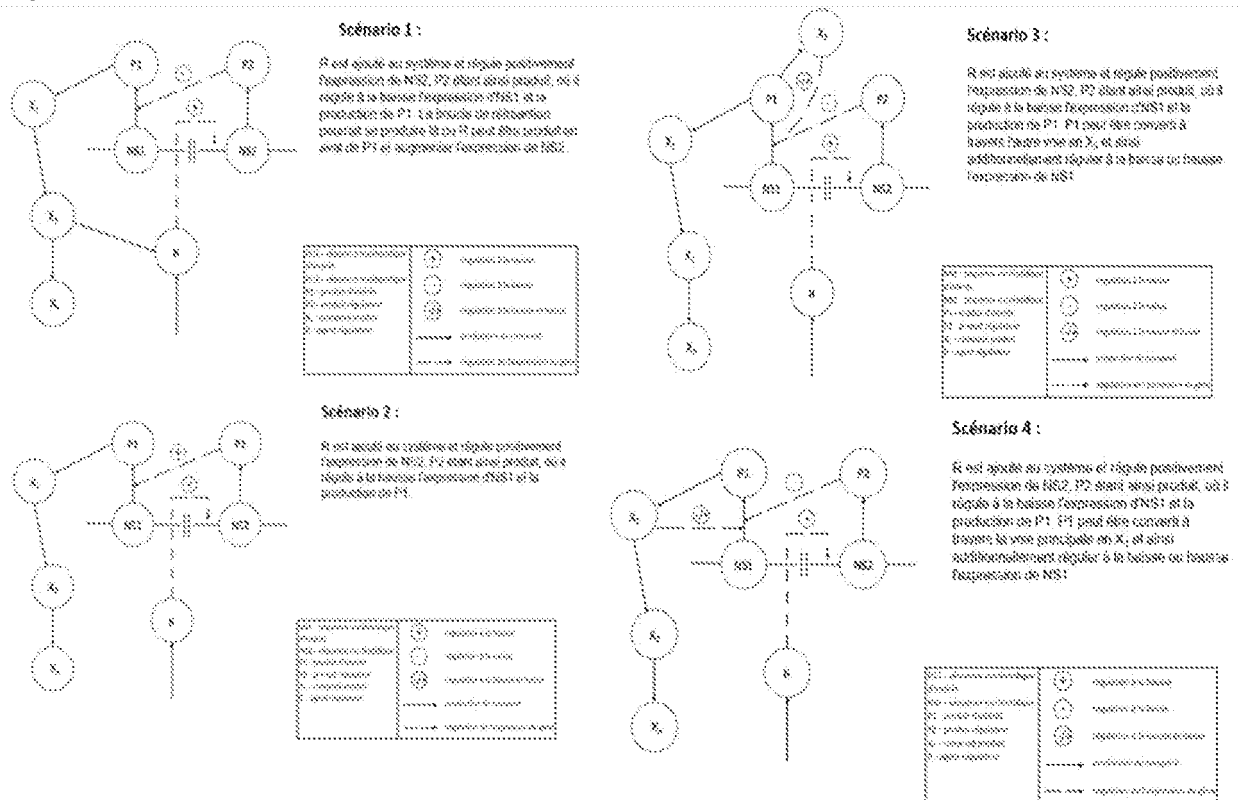
[Fig. 5]



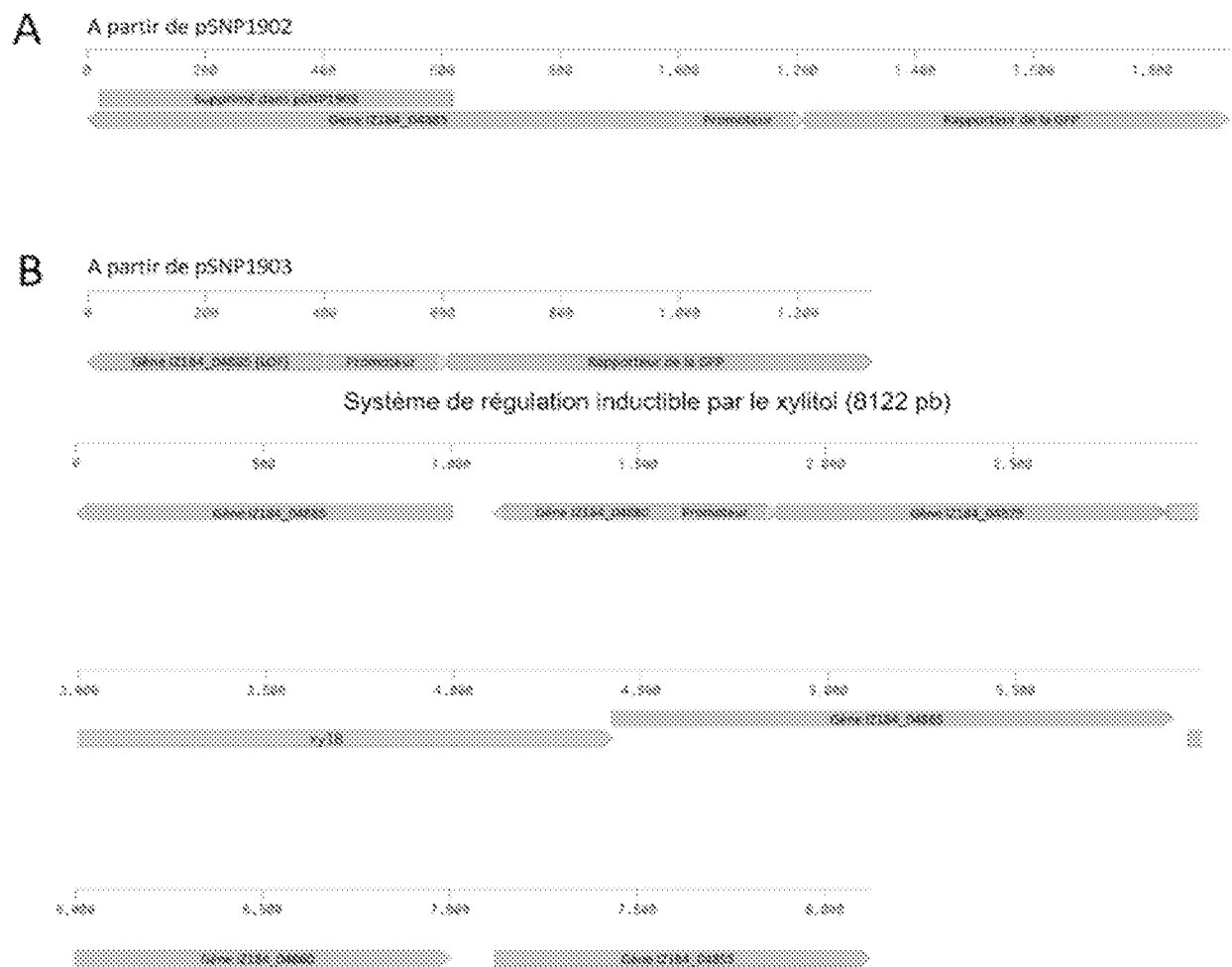
[Fig. 6]



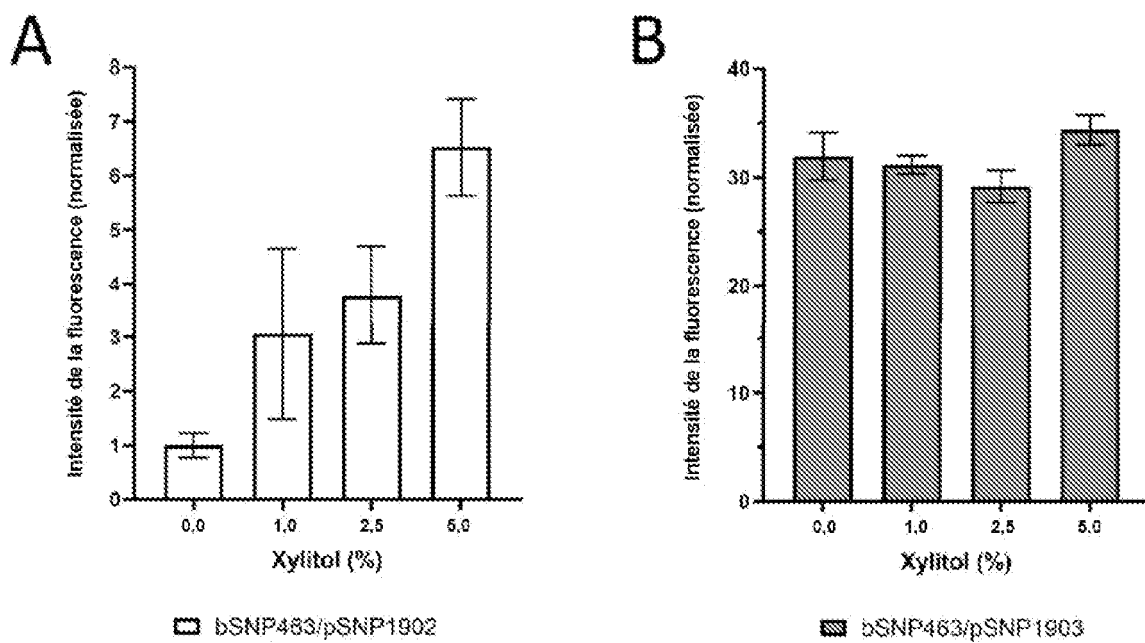
[Fig. 7]



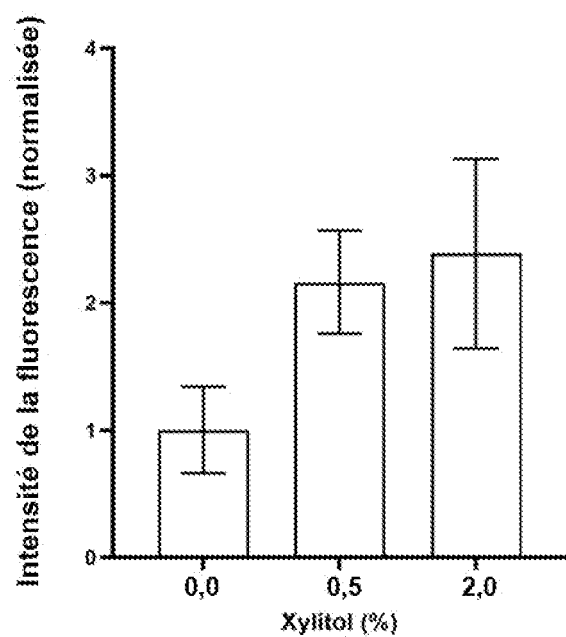
[Fig. 8]



[Fig. 9]

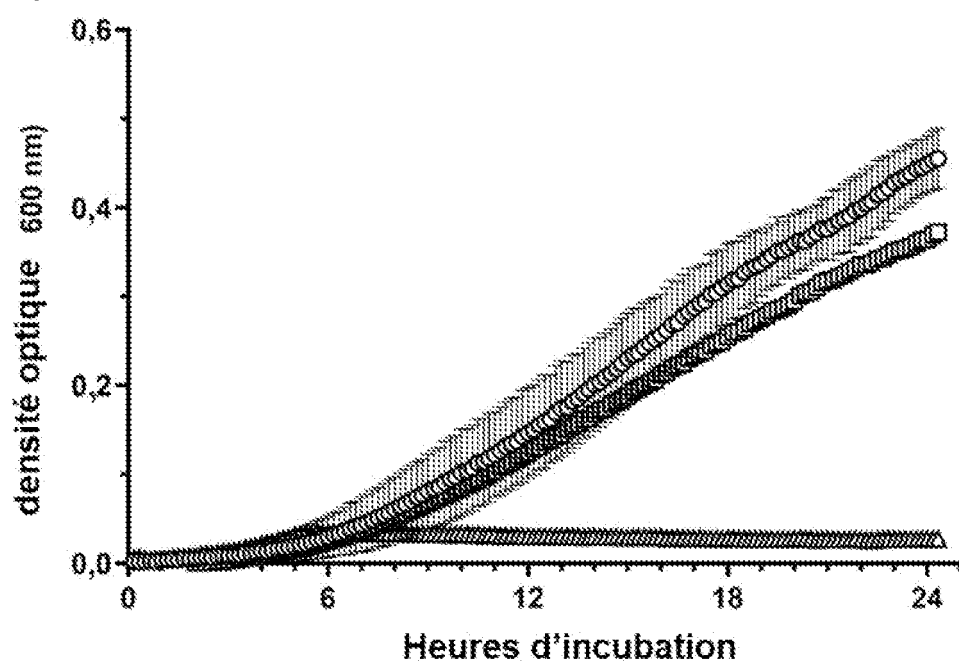


[Fig. 10]



□ bSNP230/pSNP1902

[Fig. 11]

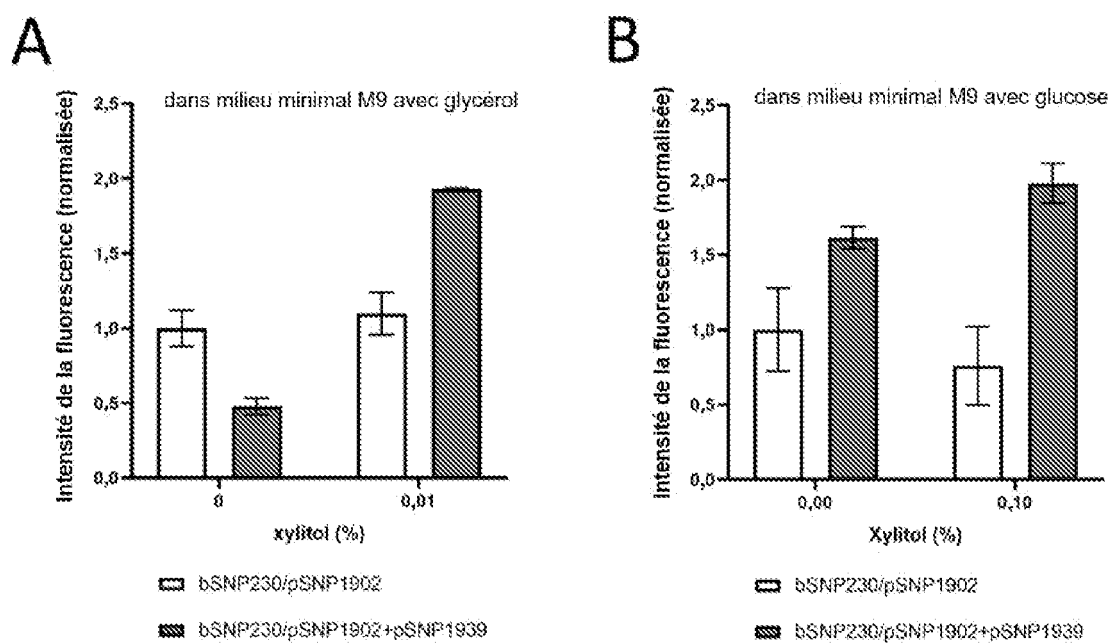


○ 0.4% glycerol

□ 0.4% glycerol + 0.5% xylitol

Δ 0.5% xylitol

[Fig. 12]



[Fig. 13]

