

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年10月3日(03.10.2024)



(10) 国際公開番号

WO 2024/204715 A1

(51) 国際特許分類:

C12N 7/00 (2006.01) *A61K 35/76* (2015.01)
A01N 63/40 (2020.01) *A61P 31/04* (2006.01)
A01P 1/00 (2006.01) *A61P 43/00* (2006.01)
A01P 3/00 (2006.01) *C12Q 1/70* (2006.01)
A23K 10/16 (2016.01) *C12N 15/33* (2006.01)
A23L 33/10 (2016.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2024/013049

(22) 国際出願日: 2024年3月29日(29.03.2024)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2023-057035 2023年3月31日(31.03.2023) JP

(71) 出願人: 株式会社カネカ (KANEKA CORPORATION) [JP/JP]; 〒5308288 大阪府大阪市北区中之島二丁目3番18号 Osaka (JP). 学校法人酪農学園(RAKUNO GAKUEN UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒0698501 北海道江別市文京台緑町582番地 Hokkaido (JP). 三井物産株式会社 (MITSUI & CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1008631 東京都千代田区大手町一丁目2番1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 吉田 慎一 (YOSHIDA Shinichi); 〒4380802 静岡県磐田市東原700 株式会社カネカ内 Shizuoka (JP). 道順 暢彦 (DOJUN Nobuhiko); 〒4380802 静岡県磐田市東原700 株式会社カネカ内 Shizuoka (JP). 岩野 英知 (IWANO Hidetomo); 〒0698501 北海道江別市文京台緑町582番地 酪農学園大学内 Hokkaido (JP). 村田 亮 (MURATA Ryo); 〒0698501 北海道江別市文京台緑町582番地 酪農学園大学内 Hokkaido (JP). 内田 郁夫 (UCHIDA Ikuo); 〒0698501 北海道江別市文京台緑町

582番地 酪農学園大学内 Hokkaido (JP). 畠中 義史 (HATANAKA Yoshifumi); 〒1008631 東京都千代田区大手町一丁目2番1号 三井物産株式会社内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 弁理士法人平木国際特許事務所 (HIRAKI & ASSOCIATES); 〒1056232 東京都港区愛宕二丁目5-1 愛宕グリーンヒルズ MORIタワー32階 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

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

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第21条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

(54) Title: BACTERIOPHAGE, COMPOSITION, AND METHOD FOR CONTROLLING BACTERIA BELONGING TO GENUS SALMONELLA

(54) 発明の名称: バクテリオファージ、組成物、及びサルモネラ属細菌の防除方法

(57) Abstract: One purpose of the present invention is to provide a bacteriophage having a wide host range among bacteria belonging to the genus Salmonella. The present invention is a bacteriophage having a genomic DNA sequence that includes a gene encoding a tail tip protein that comprises a specific amino acid sequence, said bacteriophage exhibiting a lytic activity against bacteria belonging to the genus Salmonella.

(57) 要約: 本発明の目的の一つは、サルモネラ属細菌に対して広宿主域を有するバクテリオファージを提供することである。本発明は、特定のアミノ酸配列からなるテイルチップタンパク質をコードする遺伝子を含むゲノムDNA配列を有する、サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を示すバクテリオファージである。



WO 2024/204715 A1

明 細 書

発明の名称：

バクテリオファージ、組成物、及びサルモネラ属細菌の防除方法

技術分野

[0001] 本発明は、バクテリオファージ、それを含む組成物、及びそれを用いたサルモネラ属細菌の防除方法に関する。

背景技術

[0002] サルモネラ属 (Salmonella) 細菌は食中毒の主要な原因菌の一つであり、ヒトや家畜等の動物に感染して下痢等のサルモネラ症を引き起こす。サルモネラ属細菌はヒトや家畜等の動物の消化管に存在しており、糞便に含まれて排出されることによって汚染をもたらす。サルモネラ属細菌への感染は、多くの場合、サルモネラ属細菌で汚染された飲食物や飼料を摂取することによって起こる。

[0003] 従来、サルモネラ属細菌に対する抗菌剤としては低分子化合物が使用されてきたが、これらの継続的な使用は多剤耐性菌の出現等の負の影響をもたらすため、新たな防除手段が探索されている。近年、標的特異性が高く微生物叢にダメージを与えないことや、毒性が低いことから、バクテリオファージがサルモネラ属細菌の新たな防除手段として注目されている（非特許文献1）。

[0004] バクテリオファージ（本明細書では、しばしば単に「ファージ」と略記する）は細菌にのみ感染するウイルスの総称である。多くのファージは、宿主である標的細菌に吸着した後、自身のDNAを細菌内に注入し、細菌の翻訳機構を利用して自己増幅する。さらに、その細菌を溶菌することによって増幅したファージを拡散させ、新たな標的細菌への感染を繰り返す（非特許文献2）。

[0005] サルモネラ属細菌に溶菌性を示すファージとしては、例えば特許文献1及び2に報告例が記載されている。サルモネラ属細菌を溶菌するファージは、

例えば養鶏や養豚におけるサルモネラ属細菌の制御や、食品産業領域におけるサルモネラ属細菌の検出や制御に使用することができる（非特許文献3）。実際に、サルモネラ属細菌に溶菌性を示すファージを含む製品として、ニフトリのサルモネラ属細菌感染を予防するための飼料添加物であるBAFASAL[®] (Proteon Pharmaceuticals)、食品中のサルモネラ属細菌を殺菌する食品加工用の製剤であるSalmoFresh[™] (intralytix) 及びPhageGuard (Microeos) 等が既に上市されている（非特許文献4）。

先行技術文献

特許文献

- [0006] 特許文献1：WO2013-027146
特許文献2：特開2014-217336

非特許文献

- [0007] 非特許文献1：Jun-Hyun Oh et al., 2017, J. Microbiol. Biotechnol., 27 (12), 2075-2088
非特許文献2：Sharma S. et al., Folia Microbiol., 2017, 62:17-55
非特許文献3：Shuai Wei et al., Microorganisms, 2019, 7, 570
非特許文献4：Katarzyna Zbikowska et al., Animals, 2020, 10, 872

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0008] 上述の通り、サルモネラ属細菌の溶菌組成物の開発の観点から、サルモネラ属細菌を標的とするファージの探索が求められている。
- [0009] しかしながら、特定のファージを多用した場合、当該ファージに耐性を有

するサルモネラ属細菌が生じることが想定されることから、新たなファージの発掘は依然として求められている。

[0010] また、溶菌組成物に用いられるファージに求められる特性の一つとして、サルモネラ属細菌に対する宿主域が広いことが挙げられる。広宿主域を有するファージであれば、様々な植物病害に適用し得、適応範囲が広がるために望ましい。

[0011] そこで、本開示の目的の一つは、サルモネラ属細菌に対して広宿主域を有するバクテリオファージを提供することである。

課題を解決するための手段

[0012] 本発明者らは、サルモネラ属細菌を培養した軟寒天培地上に形成される溶菌プラークを検出する手法を用いて、天然の汚水・土壌から新規ファージを単離し、種々のサルモネラ属細菌に対するそのファージの溶菌活性を評価し、またそのゲノム配列を解析した。その結果、特定の3個のバクテリオファージが、サルモネラ属細菌に対して広域の溶菌活性、具体的には *S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、及び *S. Javiana* に対して溶菌活性を有することが明らかとなった。本発明は、上記研究開発結果に基づき完成に至ったものであり、具体的には、以下の態様例を提供する。

[0013] (1) 以下の (a) ~ (c) のいずれかに示されるアミノ酸配列からなり、標的細菌の認識活性を有するテイルチップタンパク質をコードする遺伝子を含むゲノムDNAを有する、サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を示すバクテリオファージ：

(a) 配列番号8で示されるアミノ酸配列；

(b) 配列番号8で示されるアミノ酸配列において1個又は複数個のアミノ酸が付加、欠失、及び／又は置換されたアミノ酸配列；

(c) 配列番号8で示されるアミノ酸配列と99%以上の配列同一性を有するアミノ酸配列。

(2) テイルチップタンパク質をコードする遺伝子が、以下の (d) ~ (

f) のいずれかに示される塩基配列を含む、(1) に記載のバクテリオファージ :

(d) 配列番号 9 で示される塩基配列 ;

(e) 配列番号 9 で示される塩基配列において 1 個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び/又は置換された塩基配列 ;

(f) 配列番号 9 で示される塩基配列に対して 95% 以上の配列同一性を有する塩基配列。

(3) ゲノム DNA 配列が、以下の (g) ~ (k) のいずれかに示される塩基配列を含む、(1) 又は (2) に記載のバクテリオファージ :

(g) 配列番号 10 ~ 12 のいずれかで示される塩基配列 ;

(h) 配列番号 10 ~ 12 のいずれかで示される塩基配列において、前記遺伝子の塩基配列以外の塩基配列に 1 個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び/又は置換された塩基配列 ;

(i) 配列番号 10 ~ 12 のいずれかで示される塩基配列において、前記遺伝子の塩基配列以外の塩基配列が 80% 以上の配列同一性を有する塩基配列 ;

(j) 配列番号 10 ~ 12 のいずれかで示される塩基配列において、1 個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び/又は置換された塩基配列 ;

(k) 配列番号 10 ~ 12 のいずれかで示される塩基配列に対して 90% 以上の配列同一性を有する塩基配列。

(4) サルモネラ属細菌が、*S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、及び *S. Javiana* である、(1) ~ (3) のいずれか 1 つに記載のバクテリオファージ。

(5) (1) ~ (4) のいずれか 1 つに記載のバクテリオファージを含む、組成物。

(6) *S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、及び *S. Jav*

i a n a 防除用組成物である、(5)に記載の組成物。

(7) 医薬組成物である、(5)又は(6)に記載の組成物。

(8) 飲食品添加剤、飼料添加剤又は飲水添加剤である、(5)又は(6)に記載の組成物。

(9) 飲食品又は飼料である、(5)又は(6)に記載の組成物。

(10) 洗浄剤、消毒剤、殺菌剤、又は除菌剤である、(5)又は(6)に記載の組成物。

(11) サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を示す他のバクテリオファージをさらに含む、(5)～(10)のいずれか1つに記載の組成物。

(12) (1)～(4)のいずれか1つに記載のバクテリオファージ、又は(5)～(11)のいずれか1つに記載の組成物を施用対象に接触させる接触工程を含む、サルモネラ属細菌を防除する方法。

(13) (1)～(4)のいずれか1つに記載のバクテリオファージ、又は(5)～(11)のいずれか1つに記載の組成物を対象に投与する投与工程を含む、対象においてサルモネラ属細菌による感染症を治療又は予防する方法。

(14) サルモネラ属細菌の同定方法であって、

サルモネラ属細菌を含むことが疑われる検体から単離された被験細菌を培養し、培養物を得る培養工程、

培養物と(1)～(4)のいずれか1つに記載のバクテリオファージとを混合して混合物を得る混合工程、

混合物を所定の条件下で培養する混合物培養工程、及び

混合物培養工程後に被験細菌が溶菌していたときに被験細菌がサルモネラ属細菌であると判定する判定工程

を含む、方法。

(15) 混合物培養工程において、混合物が軟寒天含有液体培地をさらに含み、該混合物を固体培地上で培養する、(14)に記載の方法。

(16) 培養工程において、培養物が軟寒天含有液体培地を含み、培養物

を固体培地上で培養する、(14)又は(15)に記載の方法。

(17) 培養工程前にサルモネラ属細菌を含むことが疑われる検体から被験細菌を単離する単離工程をさらに含む、(14)～(16)のいずれか1つに記載の方法。

本明細書は本願の優先権の基礎となる日本国特許出願番号2023-057035号の開示内容を包含する。

発明の効果

[0014] 本発明は、サルモネラ属細菌に対して広宿主域を有するバクテリオファージを提供することができる。

図面の簡単な説明

[0015] [図1]実施例1で得られた第1のバクテリオファージの溶菌活性を示す図である。Aは、アガープレートにサルモネラ属細菌を展開し、第1のファージ精製液を滴下して静置培養したときの、培養後のアガープレートの写真を示している。BはAに対応するプレート図であり、各プレートに展開したサルモネラ属細菌の株IDと滴下したファージ精製液の位置を示している。B中、aは配列番号7のゲノムDNA配列を有するファージの精製液の位置を示している。

[図2]実施例1で得られた第1のバクテリオファージの溶菌活性を示す図である。Aは、アガープレートにサルモネラ属細菌を展開し、第1のファージ精製液を滴下して静置培養したときの、培養後のアガープレートの写真を示している。BはAに対応するプレート図であり、各プレートに展開したサルモネラ属細菌の株IDと滴下したファージ精製液の位置を示している。B中、a、b、c、d、e、f、gはそれぞれ、配列番号1、2、3、4、5、6、7のゲノムDNA配列を有するファージの精製液の位置を示している。

[図3]実施例2で得られた第2のバクテリオファージの溶菌活性を示す図である。Aは、アガープレートにサルモネラ属細菌を展開し、第2のファージ精製液を滴下して静置培養したときの、培養後のアガープレートの写真を示している。BはAに対応するプレート図であり、各プレートに展開したサルモ

ネラ属細菌の株 I D と滴下したファージ精製液の位置を示している。B 中、a は配列番号 10 のゲノム DNA 配列を有するファージの精製液の位置を示している。

[図4]図3に続き、実施例2で得られた第2のバクテリオファージの溶菌活性を示す図である。

[図5]実施例2で得られた第2のバクテリオファージの溶菌活性を示す図である。Aは、アガープレートにサルモネラ属細菌を展開し、第2のファージ精製液を滴下して静置培養したときの、培養後のアガープレートの写真を示している。BはAに対応するプレート図であり、各プレートに展開したサルモネラ属細菌の株 I D と滴下したファージ精製液の位置を示している。B中、a、b、cはそれぞれ、配列番号10、11、12のゲノムDNA配列を有するファージの精製液の位置を示している。

[図6]実施例3で得られた第3のバクテリオファージの溶菌活性を示す図である。Aは、アガープレートにサルモネラ属細菌 (*S. Typhimurium*) を展開し、第3のファージ精製液を滴下して静置培養したときの、培養後のアガープレートの写真を示している。BはAに対応するプレート図であり、各プレートに展開したサルモネラ属細菌 (*S. Typhimurium*) の株 I D と滴下したファージ精製液の位置を示している。B中、aは、配列番号13のゲノムDNA配列を有するファージの精製液の位置を示している。

[図7]実施例4で得られた第4のバクテリオファージの溶菌活性を示す図である。Aは、アガープレートにサルモネラ属細菌を展開し、第4のファージ精製液を滴下して静置培養したときの、培養後のアガープレートの写真を示している。BはAに対応するプレート図であり、各プレートに展開したサルモネラ属細菌の株 I D と滴下したファージ精製液の位置を示している。B中、aは配列番号14のゲノムDNA配列を有するファージの精製液の位置を示している。

[図8]実施例5で得られた第5のバクテリオファージの溶菌活性を示す図であ

る。Aは、アガープレートにサルモネラ属細菌を展開し、第1のファージ精製液を滴下して静置培養したときの、培養後のアガープレートの写真を示している。BはAに対応するプレート図であり、各プレートに展開したサルモネラ属細菌の株IDと滴下したファージ精製液の位置を示している。B中、aは配列番号17のゲノムDNA配列を有するファージの精製液の位置を示している。

[図9]実施例6で得られた第6のバクテリオファージの溶菌活性を示す図である。Aは、アガープレートにサルモネラ属細菌を展開し、第6のファージ精製液を滴下して静置培養したときの、培養後のアガープレートの写真を示している。BはAに対応するプレート図であり、各プレートに展開したサルモネラ属細菌の株IDと滴下したファージ精製液の位置を示している。B中、aは配列番号20のゲノムDNA配列を有するファージの精製液の位置を示している。

[図10]実施例7で得られた第7のバクテリオファージの溶菌活性を示す図である。Aは、アガープレートにサルモネラ属細菌を展開し、第7のファージ精製液を滴下して静置培養したときの、培養後のアガープレートの写真を示している。BはAに対応するプレート図であり、各プレートに展開したサルモネラ属細菌の株IDと滴下したファージ精製液の位置を示している。B中、aは配列番号23のゲノムDNA配列を有するファージの精製液の位置を示している。

[図11]実施例2における、クエリ配列（得られた第2のファージのテイルチップタンパク質のアミノ酸配列（配列番号8））と検索された配列のアライメントを示している。

[図12A]実施例6において実施したマルチプルアラインメントを示している。

[図12B]図12Aに続き、実施例6において実施したマルチプルアラインメントを示している。

[図12C]図12Bに続き、実施例6において実施したマルチプルアラインメントを示している。

発明を実施するための形態

[0016] 以下、本発明を詳細に説明する。

[0017] 1. バクテリオファージ

1-1. 概要

本発明の第1の態様は、サルモネラ属細菌に対して溶菌性を示すバクテリオファージである。本発明のバクテリオファージは、*S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、及び*S. Javiana*に対して溶菌活性を示すことができる。本発明のバクテリオファージは、特定のアミノ酸配列からなるテイルチップタンパク質をコードする遺伝子を含むゲノムDNA配列を有する。

[0018] 本発明のバクテリオファージによれば、標的細菌としてのサルモネラ属細菌を溶菌し、防除することができる。

[0019] 1-2. 定義

本明細書で使用する用語について、以下で定義する。

本明細書において「溶菌」とは、細菌の細胞膜を破壊する現象をいう。溶菌によって、細菌は死滅する。溶菌は、ファージが標的細菌に特異的に吸着し、テイル部を介して自身のDNAを標的細菌の細胞内に注入することを出発点とする。その後、細菌の翻訳機構を利用して自己を複製して大量の子ファージを生産した後、その細菌を溶菌して、子ファージを外界に放出する。

[0020] 本明細書において「溶菌剤」とは、標的細菌に対して溶菌活性を有するバクテリオファージを含む薬剤をいう。溶菌剤は、標的細菌を特異的に溶菌するための溶菌剤（標的細菌特異的溶菌剤）であり得る。溶菌剤はバクテリオファージ自体であってもよい。

[0021] 本明細書において「細菌」とは、古細菌、真核生物と共に全生物界を三分する生物の主要な系統の一つである。細菌は、細胞核が無い細胞からなり、栄養源があれば自己複製が可能である。

[0022] 本明細書において「標的細菌」とは、本発明の溶菌剤を構成するファージ

、又は本発明の組成物に含まれるファージの標的となり得る宿主細菌をいう。具体的には、例えば、上記ファージによって認識される細胞外膜上の膜表面レセプターを有する細菌である。あるいは、例えば、特定のアミノ酸配列からなるテイルファイバータンパク質、テイルチップタンパク質、テイルスパイクタンパク質、又はテイルチューブタンパク質によって認識される細胞外膜上の膜表面レセプターを有する細菌である。「膜表面レセプター」は、ファージの例えば、尾部及び尾部繊維等が結合する場であって、細菌外膜の外層に存在するタンパク質、リポ多糖又は線毛等で構成される。本明細書における標的細菌は、特にサルモネラ属細菌である。

[0023] 本明細書において「サルモネラ属細菌」とは、サルモネラ属 (*genus Salmonella*) に属する細菌である。サルモネラ属細菌は、*Salmonella enterica* と *Salmonella bongori* の2菌種に分類され、前者はさらに、*ssp. enterica*、*ssp. salamae*、*ssp. arizonae*、*ssp. diarizonae*、*ssp. houtenae*、*ssp. indica* の6つの亜種 (*subspecies*) に分けられる。サルモネラ属細菌はまた、菌体抗原 (O抗原とも称される。) 及び鞭毛抗原 (H抗原とも称される。) の2種類の表面構造によって各血清型に分けられる。サルモネラ属細菌の亜種名及び血清型は、細菌名の後にそれぞれ *subspecies (ssp.)*、*serovar* (又は *serotype*) をつけて示される。サルモネラ属細菌の名称は、S. の後に血清型を記載することにより略記される場合もある。例えば、*S. enterica ssp. enterica serovar Typhimurium* は、*S. Typhimurium* と省略される場合がある。分類の最小単位は株 (*strain*) であり、遺伝学的に均一と考えられる細胞の集団を指す。

[0024] 具体的なサルモネラ属細菌の血清型としては、例えば、*S. Enteritidis* (*Salmonella enterica ssp. enterica serovar Enteritidis*)、*S. Typ*

himurium (*Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar Typhimurium)、*S.* Newport、*S.* Javiana (*Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar Javiana)、*S.* Heidelberg、*S.* Infantis (*Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar Infantis)、*S.* Saintpaul、*S.* Muenchen、*S.* Montevideo (*Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar Montevideo)、*S.* Braenderup、*S.* Oranienburg、*S.* Thompson、*S.* Mississippi、*S.* Agona、*S.* Typhi、*S.* Bareilly、*S.* Paratyphi B、*S.* Poona、*S.* Berta、*S.* Abony、*S.* Anatum、*S.* Baidon、*S.* Bredeney、*S.* Chester、*S.* Gaminara、*S.* Hartford、*S.* Kentucky、*S.* Kiambu、*S.* Mbandaka、*S.* Nchanga、*S.* Reading、*S.* Senftenberg、*S.* Stanley、*S.* Virchow、*S.* Urbana等が挙げられる。

[0025] 本明細書において「サルモネラ属細菌溶菌剤」とは、サルモネラ属細菌を溶菌するための溶菌剤をいう。同様に、「*S.* Enteritidis溶菌剤」は、*S.* Enteritidisを溶菌するための溶菌剤をいう。*S.* Enteritidis溶菌剤は、*S.* Enteritidisを特異的に溶菌するための溶菌剤（*S.* Enteritidis特異的溶菌剤）であってもよい。「*S.* Montevideo溶菌剤」は、*S.* Montevideoを溶菌するための溶菌剤をいう。*S.* Montevideo溶菌剤は、*S.* Montevideoを特異的に溶菌するための溶菌剤（*S.* Montevideo特異的溶菌剤）であってもよい。「*S.*

「Typhimurium溶菌剤」は、S. Typhimuriumを溶菌するための溶菌剤をいう。S. Typhimurium溶菌剤は、S. Typhimuriumを特異的に溶菌するための溶菌剤（S. Typhimurium特異的溶菌剤）であってもよい。

[0026] 本明細書において細菌の「防除」とは、細菌を死滅させること、及び／又は細菌の増殖を抑制することを意味する。

[0027] 本明細書において「多剤耐性」とは、複数の抗菌剤（例えば抗生物質）に耐性を奏することを意味する。抗菌剤としては、特に制限されるものではないが、例えば、アンピシリン、クロラムフェニコール、ストレプトマイシン、サルファ剤、テトラサイクリン、カナマイシン、スルファメトキサゾール／トリメトプリム、セファゾリン、セフォタキシム、ナリジクス酸、又はゲンタマイシン等が挙げられる。

[0028] 本明細書において「バクテリオファージ」（前述のように、本明細書では、しばしば単に「ファージ」と略記する）とは、細菌に感染するウイルスの総称である。一般的なファージは、頭部（ヘッド部：head）、尾部（テイル部：tail）、及び尾部繊維（テイルファイバー部：tail fiber）の3部で構成される。頭部は、外被タンパク質であるカプソメアで構成され、二十面体構造を有するカプシド（ウイルス殻）からなり、その内部空間にファージのゲノムDNAを内包する。尾部は、テイルチューブタンパク質とそれを被覆するシースタンパク質からなる管状構造を有する。尾部の一端は頭部と、また他端は尾部繊維と連結する。尾部は、頭部のゲノムDNAを宿主細菌の細胞内に注入する導入管としての機能を担う。尾部繊維は、テイルファイバータンパク質からなる数本の繊維構造で構成される。尾部及び尾部繊維は、宿主細菌の外膜表面上に存在するレセプターを認識し、その細胞表面に吸着する宿主認識機能及び吸着機能を担う。ファージは、宿主特異性が極めて高く、その特徴は尾部及び尾部繊維の機能に基づく。より具体的には、下記に示すテイルファイバータンパク質、テイルチューブタンパク質、テイルチップタンパク質、及びテイルスパイクタンパク質のいずれか

のタンパク質がその機能の中心を担う。

[0029] 本明細書において「テイルファイバータンパク質」とは、前述のように、ファージの尾部繊維を構成するタンパク質である。テイルファイバータンパク質は、尾部及び尾部繊維の宿主認識及び吸着能の特異性に重要な役割を果たすことが知られている (Nobrega F. L. et al., Nat. Rev. Microbiol., 2018, 16:760-773)。したがって、テイルファイバータンパク質に特徴を有する新規ファージは、宿主細菌が既知ファージと同一であっても、宿主認識部位が異なるため、既知ファージに対する感染耐性等を有する細菌であっても溶菌活性を示し得る等、その利用価値は非常に高い。

[0030] 本明細書において「テイルファイバー遺伝子」とは、ファージのゲノムDNA中に含まれ、前記テイルファイバータンパク質をコードする遺伝子をいう。

[0031] 本明細書において「テイルチューブタンパク質」とは、前述のように、ファージの尾部の管状構造を構成するタンパク質である。テイルチューブタンパク質は、尾部繊維と相互作用し、尾部繊維と共に宿主認識及び吸着能の特異性に重要な役割を果たすことが知られている (Maozhi Hu, et al., 2020, 9:1, 855-867)。テイルチューブタンパク質としては、テイルチューブファイバータンパク質A及びテイルチューブタンパク質Bが知られている。「テイルチューブタンパク質A」とは、尾部の管状構造の下部においてリングを形成し、尾部繊維と相互作用するタンパク質である。「テイルチューブタンパク質B」とは、尾部の管状構造の下部末端を形成し、宿主細菌の外膜表面上に存在するレセプターに結合するタンパク質である。

[0032] 本明細書において「テイルチューブ遺伝子」とは、ファージのゲノムDNA中に含まれ、前記テイルチューブタンパク質をコードする遺伝子をいう。「テイルチューブタンパク質A遺伝子」は、テイルチューブタンパク質Aをコードする遺伝子を、「テイルチューブタンパク質B遺伝子」は、テイルチ

ューブタンパク質Bをコードする遺伝子をそれぞれ指す。

[0033] 本明細書において「テイルチップタンパク質」とは、ファージの尾部先端を構成するタンパク質であり、その鋭利な構造によって宿主細菌の細胞壁の貫通に役割を果たすが、前述のように、宿主細菌のレセプターに結合する機能も有する。テイルチップタンパク質は、宿主細菌のレセプターに結合する機能を有するために、宿主認識及び吸着能に重要な役割を果たすことが知られている (Nobrega F. L. et al., Nat. Rev. Microbiol., 2018, 16:760-773)。

[0034] 本明細書において「テイルチップ遺伝子」とは、ファージのゲノムDNA中に含まれ、前記テイルチップタンパク質をコードする遺伝子をいう。

[0035] 本明細書において「テイルスパイクタンパク質」とは、ファージの尾部先端を構成するタンパク質であり、前述のように、宿主細菌のレセプターに結合する機能を有する。テイルスパイクタンパク質は、ファージの尾部先端に皿状の構造（テイルプレート）が存在する場合に、そのプレートの底にスパイク様の構造を形成する。テイルスパイクタンパク質は、宿主細菌のレセプターに結合する機能を有するために、宿主認識及び吸着能に重要な役割を果たすことが知られている (Nobrega F. L. et al., Nat. Rev. Microbiol., 2018, 16:760-773)。

[0036] 本明細書において「テイルスパイク遺伝子」とは、ファージのゲノムDNA中に含まれ、前記テイルスパイクタンパク質をコードする遺伝子をいう。

[0037] なお、ファージは、上記のテイルファイバー遺伝子、テイルチューブ遺伝子、テイルチップ遺伝子、及びテイルスパイク遺伝子をすべて有するとは限らない。ファージは、テイルファイバー遺伝子、テイルチューブ遺伝子、テイルチップ遺伝子、及びテイルスパイク遺伝子のうちの1つ、2つ、3つ又は4つすべてを含むものであり得る。

[0038] 本明細書において「エンドヌクレアーゼ」とは、ポリヌクレオチド鎖内でポリヌクレオチド鎖を切断する酵素をいう。溶菌ファージは、感染と同時に

宿主細菌の生命維持機構を様々な手段で乗っ取り、自己の複製のみを可能とするが、その際、宿主ゲノムの複製をシャットダウンすることが知られている。そのメカニズムに関し今もなお詳細は明らかになっていないが、ファージ由来のヌクレアーゼによる宿主ゲノムの分解が関与していることは古くより明らかになっている (Warren et. al., Journal of Virology, Vol. 2, No. 4, 1968)。したがって、溶菌ファージのエンドヌクレアーゼは、宿主ゲノムの複製をシャットダウンする機構に関与すると考えられる。

[0039] ファージは、真核生物には感染しないため、ファージを用いた薬剤はヒト、動物、植物に対して無害である。なお、ファージの生活環は、「溶菌サイクル」、「溶原サイクル」、及び「溶菌／溶原サイクル」に大別される。溶原サイクルでは、ファージは、標的細菌を溶菌せずに細菌の染色体内に自身のDNAを組み込み、細菌の増殖と共に増殖する。一方、溶菌サイクルでは、ファージは、宿主細菌の細胞内で自己増殖した後、宿主細菌を溶菌して、大量の子ファージを放出する。本発明のファージは、溶菌サイクル又は溶菌／溶原サイクルを経るファージであり得る。

[0040] 本明細書において「複数個」とは、2～10個、例えば、2～7個、2～5個、2～4個、又は2～3個をいう。

[0041] 本明細書において「塩基 (の) 配列同一性」とは、二つの塩基配列の比較範囲内における塩基の種類が同一な部位の割合を示す数値である。塩基配列同一性は、二つの塩基配列の長さが異なる場合であっても、比較範囲内の塩基一致度が最も高くなるように整列 (アラインメント) することで算出可能である。限定はしないが、このような解析を行う代表的なアルゴリズムがBLASTである。BLASTは、様々なソフトやWebサービスで利用可能である。例えば、遺伝情報処理ソフトウェアGENETYX (<https://www.genetyx.co.jp/>)、NCBI提供BLASTサーバー (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 等を利用して、塩基配列同一性を容易に算出するこ

とができる。また、BLAST以外にもFASTAと呼ばれるアルゴリズム等もあり、妥当な同一性が算出できれば利用可能である。また、MUMmer等の解析アルゴリズムを塩基配列同一性の解析を行うことも可能である。なお、ソフトや解析サーバーによっては、配列同一性を示す指標としてAverage Nucleotide Identity (ANI) 等で示されることがあるが、これらを用いても良い。なお、上記のソフトウェアやWebサービスでは、ファージゲノムDNA等の長大な塩基配列を整列させた場合、自動的に比較範囲が決定され、当該比較範囲における配列同一性が算出される場合がある。したがって、前記のソフトやWebサービスで自動的に整列配置した範囲において、上記配列同一性を有していてもよい。例えばNCBI提供BLASTサーバーを用いた解析では、整列可能な最大の範囲にて自動的にクエリ配列 (Query sequence) 及び対象配列 (Subject sequence) が整列され比較範囲が決定され、比較範囲における配列同一性が算出されるとともに、比較範囲がクエリ配列の全範囲に占める比率が、Query Coverと呼ばれる値として算出される場合がある。このような場合、その結果に基づいて、整列された塩基配列の全範囲における配列同一性を推定することもできる。例えば、Query Cover値に、比較範囲における配列同一性の値を乗算した値を全範囲における配列同一性の推定値とし得る。この際、推定値の精度を上げるために、例えば、整列範囲以外の範囲において期待される配列同一性を算入する等のさらなる修正を加えてもよい。なお、ファージのゲノムDNAがパッケージングされる際には、線状 (linear) の場合と環状 (circular) の場合がある。また、次世代ゲノムシーケンサー解析においては、ゲノムDNAを断片化した後に個々の断片の塩基配列を読み、それらを繋げる解析を経て配列を決定する。ファージの場合には、参照とするゲノムDNA配列を置かずに繋げる (de novo assembly) ことが多い。ゆえに、解析ゲノムの開始点・末端を一義的に決めることは困難である (Merrill, B. D., et al. BMC Genomics,

2016 17, 679)。そのため、比較するゲノム配列の開始点・末端は異なっても良く、ソフトや解析サーバーを用いた解析では自動的に考慮される。

[0042] 本明細書において「高ストリンジェントな条件」とは、非特異的なハイブリダイゼーションを生じ難い環境条件をいう。高ストリンジェントな条件下では、標的塩基配列を有する核酸とはハイブリッドを形成可能であるが、非特異的な塩基配列を有する核酸はハイブリッドを実質的に形成することができない。一般に高ストリンジェントな条件とは、低塩濃度で、かつ高温な条件をいう。低塩濃度とは、例えば、15～750 mM、好ましくは15～500 mM、15～300 mM又は15～200 mMをいう。また、高温とは、例えば、50～68℃、又は55～70℃をいう。高ストリンジェントな条件の具体例として、ハイブリダイゼーション後の洗浄において、65℃、0.1×SSC及び0.1% SDSで洗浄する条件が挙げられる。

[0043] 本明細書において「アミノ酸（の）配列同一性」とは、二つのアミノ酸配列の比較範囲内におけるアミノ酸残基の種類が同一な部位の割合を示す数値である。アミノ酸配列同一性は、二つのアミノ酸配列の長さが異なる場合であっても、比較範囲内のアミノ酸一致度が最も高くなるように整列（アラインメント）することで算出可能である。限定はしないが、このような解析を行う代表的なアルゴリズムがBLASTである。BLASTは、様々なソフトやWebサービスで利用可能である。例えば、遺伝情報処理ソフトウェアGENETYX (<https://www.genetyx.co.jp/>)、NCBI提供BLASTサーバー (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)等を利用して、アミノ酸配列同一性を容易に算出することができる。また、BLAST以外にもFASTAと呼ばれるアルゴリズム等もあり、妥当な同一性が算出できれば利用可能である。

[0044] 本明細書において「（アミノ酸の）置換」とは、天然のタンパク質を構成する20種類のアミノ酸間において、電荷、側鎖、極性、芳香族性等の性質

の類似する保存的アミノ酸群内での置換をいうことが好ましい。例えば、低極性側鎖を有する無電荷極性アミノ酸群（Gly、Asn、Gln、Ser、Thr、Cys、Tyr）、分枝鎖アミノ酸群（Leu、Val、Ile）、中性アミノ酸群（Gly、Ile、Val、Leu、Ala、Met、Pro）、親水性側鎖を有する中性アミノ酸群（Asn、Gln、Thr、Ser、Tyr、Cys）、酸性アミノ酸群（Asp、Glu）、塩基性アミノ酸群（Arg、Lys、His）、芳香族アミノ酸群（Phe、Tyr、Trp）内での置換が挙げられる。置換は、1種単独で存在してもよく、2種以上が存在してもよい。これらの群内でのアミノ酸置換であれば、ポリペプチドの性質に変化を生じにくいことが知られているため好ましい。

[0045] 1-3. 構成

本発明のバクテリオファージは、サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有する以下の構成を有するファージ（本発明では、以下「第2のファージ」と表記する）である。

[0046] 第2のファージは、特定のアミノ酸配列からなり、標的細菌の認識活性を有するテイルチップタンパク質をコードする遺伝子を含むゲノムDNAを有する。

[0047] 本発明者らは、サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有する3種のファージを発見し、これらのファージのゲノムDNA配列（それぞれ配列番号10～12）各々からテイルチップタンパク質（配列番号8）及びテイルチップ遺伝子（配列番号9）を特定した。3種のファージのゲノム配列の配列同一性は99%であり、それぞれのテイルチップタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号8に示される通りであり、それぞれ完全に一致していた。

[0048] テイルチップタンパク質は、637個のアミノ酸残基で構成される配列番号8で示されるアミノ酸配列からなる。本発明では、配列番号8で示されるアミノ酸配列からなるテイルチップタンパク質により、サルモネラ属細菌に特異的であり、かつ、そのサルモネラ属の中では様々な菌種に幅広く溶菌活性を示すという、有用性が極めて高い宿主特異性が実現され得る。

[0049] (1-1) テイルチップタンパク質

本発明におけるテイルチップタンパク質は、以下の (a) ~ (c) のいずれかに示されるアミノ酸配列からなる：

(a) 配列番号 8 で示されるアミノ酸配列；

(b) 配列番号 8 で示されるアミノ酸配列において 1 個又は複数個のアミノ酸が付加、欠失、及び／又は置換されたアミノ酸配列；

(c) 配列番号 8 で示されるアミノ酸配列と 99% 以上の配列同一性を有するアミノ酸配列。

[0050] (c) で規定される配列同一性は、99.1% 以上、99.2% 以上、99.3% 以上、99.4% 以上、99.5% 以上、99.6% 以上、99.7% 以上、99.8% 以上、99.9% 以上であることが好ましい。

[0051] (b) 又は (c) で規定されるアミノ酸配列において、テイルチップタンパク質の配列番号 8 の 258 番目に対応する位置のアミノ酸がフェニルアラニンであり、及び／又は配列番号 8 の 617 番目に対応する位置のアミノ酸がセリンであることが好ましい。なお、位置番号は、開始メチオニンを 1 番目として表される。

[0052] (1-2) テイルチップ遺伝子

テイルチップタンパク質をコードする遺伝子は、以下の (d) ~ (f) のいずれかに示される塩基配列を含む：

(d) 配列番号 9 で示される塩基配列；

(e) 配列番号 9 で示される塩基配列において 1 個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；

(f) 配列番号 9 で示される塩基配列に対して 95% 以上の配列同一性を有する塩基配列。

あるいは、配列番号 9 で示される塩基配列に相補的な塩基配列に対して高ストリンジентな条件でハイブリダイズする塩基配列も挙げられる。

[0053] (f) で規定される配列同一性は、96% 以上、97% 以上、98% 以上、99% 以上であることが好ましい。

[0054] (1-3) ゲノムDNA

第2のバクテリオファージは、テイルチップタンパク質をコードする遺伝子を含むゲノムDNAを有する。

[0055] ゲノムDNA配列は、以下の(g)～(k)のいずれかに示される塩基配列を含む：

(g) 配列番号10～12のいずれかで示される塩基配列；

(h) 配列番号10～12のいずれかで示される塩基配列において、前記遺伝子の塩基配列以外の塩基配列に1個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；

(i) 配列番号10～12のいずれかで示される塩基配列において、前記遺伝子塩基配列以外の塩基配列が80%以上の配列同一性を有する塩基配列；

(j) 配列番号10～12のいずれかで示される塩基配列において、1個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；

(k) 配列番号10～12のいずれかで示される塩基配列に対して90%以上の配列同一性を有する塩基配列。

[0056] (i) で規定される配列同一性は、81%以上、82%以上、83%以上、84%以上、85%以上、86%以上、87%以上、88%以上、89%以上、90%以上、90.5%以上、91.0%以上、91.5%以上、92.0%以上、92.5%以上、93.0%以上、93.5%以上、94.0%以上、94.5%以上、95.0%以上、95.5%以上、96.0%以上、96.5%以上、97.0%以上、97.5%以上、98.0%以上、98.5%以上、99.0%以上、99.1%以上、99.2%以上、99.3%以上、99.4%以上、99.5%以上、99.6%以上、99.7%以上、99.8%以上、又は99.9%以上であることが好ましい。

[0057] (i) で規定される塩基配列は、換言すると、配列番号10～12のいずれかで示される塩基配列における前記遺伝子塩基配列以外の塩基配列に対する、前記遺伝子に相当する遺伝子以外の塩基配列の配列同一性が80%以上

である塩基配列である。

[0058] (k) で規定される配列同一性は、90.5%以上、91.0%以上、91.5%以上、92.0%以上、92.5%以上、93.0%以上、93.5%以上、94.0%以上、94.5%以上、95.0%以上、95.5%以上、96.0%以上、96.5%以上、97.0%以上、97.5%以上、98.0%以上、98.5%以上、99.0%以上、99.1%以上、99.2%以上、99.3%以上、99.4%以上、99.5%以上、99.6%以上、99.7%以上、99.8%以上、又は99.9%以上であることが好ましい。

[0059] 一実施形態において、第2のファージは、特定の塩基配列を含むゲノムDNA配列を有することを特徴とし、標的細菌に対して溶菌活性を示す。第2のファージが有するゲノムDNA配列としては、配列番号10~12（それぞれ、113946bp、113936bp、113949bp）のいずれかで示される塩基配列、配列番号10~12のいずれかで示される塩基配列において、1個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列、配列番号10~12のいずれかで示される塩基配列に対して80%以上、81%以上、82%以上、83%以上、84%以上、85%以上、86%以上、87%以上、88%以上、89%以上、90%以上、90.5%以上、91.0%以上、91.5%以上、92.0%以上、92.5%以上、93.0%以上、93.5%以上、94.0%以上、94.5%以上、95.0%以上、95.5%以上、96.0%以上、96.5%以上、97.0%以上、97.5%以上、98.0%以上、98.5%以上、99.0%以上、99.1%以上、99.2%以上、99.3%以上、99.4%以上、99.5%以上、99.6%以上、99.7%以上、99.8%以上、又は99.9%以上の配列同一性を有する塩基配列を含むゲノムDNA配列が挙げられる。

[0060] (1-4) 効果

第2のファージは、サルモネラ属の様々な菌種に幅広く溶菌活性を示すこ

とができるため、サルモネラ属細菌を効果的に防除することができる。また、第2のファージは、食中毒を治療又は予防するためにも有用である。第2のファージは、広宿主域を有するため、標的細菌の多様性を効果的にカバーすることができる。したがって、本発明のバクテリオファージのように、様々な菌種に幅広く溶菌活性を示すファージの有用性は極めて高い。

[0061] 2. 組成物

2-1. 概要

本発明の第2の態様は、第2のファージを含む組成物、特にサルモネラ属細菌防除用組成物である。本発明の組成物は、第1態様に記載のバクテリオファージを含むことを特徴とする。本発明の組成物において、標的細菌は特にサルモネラ属細菌、特に*S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、及び*S. Javiana*である。

[0062] 本発明の組成物によれば、人体に安全で、かつ環境に対する薬害がない、標的細菌を防除することが可能な、医薬組成物、添加剤（例えば、飲食品添加剤、飼料添加剤、飲水添加剤）、飲食品、飼料、洗浄剤、消毒剤、殺菌剤、除菌剤等を提供し得る。

[0063] 2-2. 構成

(1) 必須の有効成分

本発明の組成物は、第1態様に記載のバクテリオファージを必須の有効成分として含有する。本発明の組成物は、この有効成分によって標的細菌を溶菌し、防除することができる。

[0064] バクテリオファージの具体的な構成は、第1態様で詳述していることからここでの説明は省略する。

[0065] 本発明の組成物中のバクテリオファージの量は、組成物の用途、使用対象、使用方法、剤形、溶菌対象の細菌の種類等の諸条件によって左右されるが、バクテリオファージが使用対象中の標的細菌に接触、感染する上で十分な量とすることが好ましい。本発明の組成物中のバクテリオファージの量は、

当該分野の技術常識の範囲において、本発明の組成物中のバクテリオファージが標的細菌を防除するのに有効な量であり得る。本発明の組成物におけるファージの力価は、例えば、 $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^{15}$ p f u / m L、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^{13}$ p f u / m L、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^{11}$ p f u / m L、又は $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^9$ p f u / m L であり得る。

[0066] (2) 他の有効成分

本発明の組成物は、第1態様に記載のバクテリオファージに加えて、当該バクテリオファージの溶菌活性に影響しない範囲において、当該バクテリオファージと同一の薬理作用、及び／又は異なる薬理作用を有する他の有効成分を一以上含むことができる。

[0067] 他の有効成分の種類は問わない。他の有効成分は、例えば、第1態様に記載のバクテリオファージの標的細菌と同一の細菌、及び／又は異なる細菌に対して溶菌活性を有するファージであってもよい。そのようなファージは、例えば、サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有するファージであってもよい。サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有するファージとしては、例えば、以下の第1及び3～7のファージが挙げられる。第1及び3～7のファージは、1種を単独で用いてもよく、2種以上を組み合わせ用いてもよい。

[0068] <第1のファージ>

第1のファージは、サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有する以下の構成を有するファージである。第1のファージは、特定の塩基配列を含むゲノムDNA配列を有する。第1のファージは、以下の(a)～(c)のいずれかに示される塩基配列を含むか、又はそれからなるゲノムDNA配列を有する。

(a) 配列番号1～7のいずれかで示される塩基配列；

(b) 配列番号1～7のいずれかで示される塩基配列において、1個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；

(c) 配列番号1～7のいずれかで示される塩基配列と99%以上の配列同一性を有する塩基配列。

[0069] <第3のファージ>

第3のファージは、サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有する以下の構成を有するファージである。第3のファージは、特定の塩基配列を含むゲノムDNAを有する。第3のファージは、以下の(a)～(c)のいずれかに示される塩基配列を含むか、又はそれからなるゲノムDNAを有する。

(a) 配列番号13で示される塩基配列；

(b) 配列番号13で示される塩基配列において1個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；

(c) 配列番号13で示される塩基配列に対して90%以上の配列同一性を有する塩基配列。

[0070] <第4のファージ>

第4のファージは、サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有する以下の構成を有するファージからなる。第4のファージは、特定の塩基配列を含むゲノムDNA配列を有する。第4のファージは、以下の(a)～(c)のいずれかに示される塩基配列を含むか、又はそれからなるゲノムDNA配列を有する。

(a) 配列番号14で示される塩基配列；

(b) 配列番号14で示される塩基配列において、1個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；

(c) 配列番号14で示される塩基配列と95%以上の配列同一性を有する塩基配列。

[0071] <第5のファージ>

第5のファージは、サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有する以下の構成を有するファージからなる。第5のファージは、特定のアミノ酸配列からなり、エンドヌクレアーゼ活性を有するエンドヌクレアーゼをコードする遺伝子を含むゲノムDNAを有する。第5のファージにおけるエンドヌクレアーゼは、以下の(a)～(c)のいずれかに示されるアミノ酸配列からなる：

- (a) 配列番号 15 で示されるアミノ酸配列；
- (b) 配列番号 15 で示されるアミノ酸配列において 1 個又は複数個のアミノ酸が付加、欠失、及び／又は置換されたアミノ酸配列；
- (c) 配列番号 15 で示されるアミノ酸配列と 90% 以上の配列同一性を有するアミノ酸配列。

エンドヌクレアーゼをコードする遺伝子は、例えば、以下の (d) ~ (f) のいずれかに示される塩基配列を含む：

- (d) 配列番号 16 で示される塩基配列；
- (e) 配列番号 16 で示される塩基配列において 1 個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；
- (f) 配列番号 16 で示される塩基配列と 90% 以上の配列同一性を有する塩基配列。

あるいは、配列番号 16 で示される塩基配列に相補的な塩基配列に対して高ストリンジентな条件でハイブリダイズする塩基配列も挙げられる。

[0072] 第5のファージは、エンドヌクレアーゼをコードする遺伝子を含むゲノム DNA を有する。ゲノム DNA 配列は、例えば、以下の (g) ~ (k) のいずれかに示される塩基配列を含むか、又はそれからなる：

- (g) 配列番号 17 で示される塩基配列；
- (h) 配列番号 17 で示される塩基配列において、前記遺伝子の塩基配列以外の塩基配列に 1 個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；
- (i) 配列番号 17 で示される塩基配列において、前記遺伝子塩基配列以外の塩基配列が 80% 以上の配列同一性を有する塩基配列；
- (j) 配列番号 17 で示される塩基配列において、1 個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；
- (k) 配列番号 17 で示される塩基配列と 90% 以上の配列同一性を有する塩基配列。

[0073] (i) で規定される塩基配列は、換言すると、配列番号 17 で示される塩

基配列における前記遺伝子塩基配列以外の塩基配列に対する、前記遺伝子に相当する遺伝子以外の塩基配列の配列同一性が80%以上である塩基配列である。

[0074] 一実施形態において、第5のファージは、特定の塩基配列を含むゲノムDNA配列を有することを特徴とし、標的細菌に対して溶菌活性を示す。第5のファージが有するゲノムDNA配列としては、配列番号17（47638bp）で示される塩基配列、配列番号17で示される塩基配列において、1個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列、配列番号17で示される塩基配列と90%以上の配列同一性を有する塩基配列を含むゲノムDNA配列が挙げられる。

[0075] <第6のファージ>

第6のファージは、サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有する以下の構成を有するファージである。第6のファージは、特定のアミノ酸配列からなり、標的細菌の認識活性を有するテイルファイバータンパク質をコードする遺伝子を含むゲノムDNAを有する。第6のファージにおけるテイルファイバータンパク質は、以下の（a）～（c）のいずれかに示されるアミノ酸配列からなる：

（a）配列番号18で示されるアミノ酸配列；

（b）配列番号18で示されるアミノ酸配列において1個又は複数個のアミノ酸が付加、欠失、及び／又は置換されたアミノ酸配列；

（c）配列番号18で示されるアミノ酸配列に対して99%以上の配列同一性を有するアミノ酸配列。

（b）又は（c）で規定されるアミノ酸配列において、211番目に対応するアミノ酸はValであり、321番目に対応するアミノ酸はValであり、485番目に対応するアミノ酸はValであり、533番目に対応するアミノ酸はAlaであり、577番目に対応するアミノ酸はSerであり、及び／又は583番目に対応するアミノ酸はSerであることが好ましい。なお、位置番号は、開始メチオニンを1番目として表される。

テイルファイバータンパク質をコードする遺伝子は、例えば、以下の（d）～（f）のいずれかに示される塩基配列を含む：

（d）配列番号 19 で示される塩基配列；

（e）配列番号 19 で示される塩基配列において 1 個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；

（f）配列番号 19 で示される塩基配列に対して 97% 以上の配列同一性を有する塩基配列。

あるいは、配列番号 19 で示される塩基配列に相補的な塩基配列に対して高ストリンジENTな条件でハイブリダイズする塩基配列も挙げられる。

[0076] 第6のファージは、テイルファイバータンパク質をコードする遺伝子を含むゲノムDNAを有する。ゲノムDNA配列は、例えば、以下の（g）～（k）のいずれかに示される塩基配列を含む：

（g）配列番号 20 で示される塩基配列；

（h）配列番号 20 で示される塩基配列において、前記遺伝子の塩基配列以外の塩基配列に 1 個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；

（i）配列番号 20 で示される塩基配列において、前記遺伝子塩基配列以外の塩基配列が 90% 以上の配列同一性を有する塩基配列；

（j）配列番号 20 で示される塩基配列において、1 個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；

（k）配列番号 20 で示される塩基配列において、95% 以上の配列同一性を有する塩基配列。

[0077] （i）で規定される塩基配列は、換言すると、配列番号 20 で示される塩基配列における前記遺伝子塩基配列以外の塩基配列に対する、前記遺伝子に相当する遺伝子以外の塩基配列の配列同一性が 90% 以上である塩基配列である。

[0078] 一実施形態において、第6のファージは、特定の塩基配列を含むゲノムDNA配列を有することを特徴とし、標的細菌に対して溶菌活性を示す。第6

のファージが有するゲノムDNA配列としては、配列番号20（それぞれ、40784bp）で示される塩基配列、配列番号20で示される塩基配列において、1個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列、配列番号20で示される塩基配列に対して90%以上の配列同一性を有する塩基配列を含むゲノムDNA配列が挙げられる。

[0079] <第7のファージ>

第7のファージは、サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有する以下の構成を有する第7のファージからなる。第7のファージは、特定のアミノ酸配列からなり、標的細菌の認識活性を有するテイルスパイクタンパク質をコードする遺伝子を含むゲノムDNAを有する。本発明におけるテイルスパイクタンパク質は、配列番号21で示されるアミノ酸配列からなる。テイルスパイクタンパク質をコードする遺伝子は、例えば、配列番号22で示される塩基配列を含む。

[0080] 第7のバクテリオファージは、テイルスパイクタンパク質をコードする遺伝子を含むゲノムDNAを有する。ゲノムDNA配列は、例えば、以下の（a）～（e）のいずれかに示される塩基配列を含むか、又はそれからなる：

（a）配列番号23で示される塩基配列；

（b）配列番号23で示される塩基配列において、前記遺伝子の塩基配列以外の塩基配列に1個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；

（c）配列番号23で示される塩基配列において、前記遺伝子の塩基配列以外の塩基配列が99%以上の配列同一性を有する塩基配列；

（d）配列番号23で示される塩基配列において、1個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；

（e）配列番号23で示される塩基配列と99%以上の配列同一性を有する塩基配列。

[0081] （c）で規定される塩基配列は、換言すると、配列番号23で示される塩基配列における前記遺伝子塩基配列以外の塩基配列に対する、前記遺伝子に

相当する遺伝子以外の塩基配列の配列同一性が99%以上である塩基配列である。

[0082] 一実施形態において、第7のファージは、特定の塩基配列を含むゲノムDNA配列を有することを特徴とし、標的細菌に対して溶菌活性を示す。第7のファージが有するゲノムDNA配列としては、配列番号23（39162bp）で示される塩基配列、配列番号23で示される塩基配列において、1個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列、配列番号23で示される塩基配列99.0%以上の配列同一性を有する塩基配列を含むゲノムDNA配列が挙げられる。

[0083] 本明細書における配列同一性は、特に限定しない。具体的には、例えば、基準となる配列に対して、80%以上、81%以上、82%以上、83%以上、84%以上、85%以上、86%以上、87%以上、88%以上、89%以上、90.0%以上、90.5%以上、91.0%以上、91.5%以上、92.0%以上、92.5%以上、93.0%以上、93.5%以上、94.0%以上、94.5%以上、95.0%以上、95.5%以上、96.0%以上、96.5%以上、97.0%以上、97.5%以上、98.0%以上、98.5%以上、99.0%以上、99.1%以上、99.2%以上、99.3%以上、99.4%以上、99.5%以上、99.6%以上、99.7%以上、99.8%以上、又は99.9%以上の配列同一性であり得る。

[0084] 本発明の組成物は、例えば、第1態様に記載のバクテリオファージに加えて、上記の第1及び3～7のファージからなる群から選択される少なくとも1種のファージを有効成分として組み合わせて含むことができる。

[0085] 例えば、第1態様に記載のバクテリオファージと標的細菌が異なるファージや、標的細菌が同一であるが異なる細胞表面レセプターを認識するファージは、第1態様に記載のバクテリオファージと組み合わせることによって溶菌活性の相乗的効果や補完効果を期待することができる。

[0086] その他、公知の抗生物質等も他の有効成分として挙げられる。

[0087] (3) 非有効成分

本発明の組成物は、第1態様に記載のバクテリオファージの溶菌活性に影響しない範囲において、非有効成分、例えば担体（固体担体や液体担体など）、賦形剤、界面活性剤、乳化剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、溶解補助剤、懸濁化剤、コーティング剤、着色剤、矯味矯臭剤、保存剤、安定剤、等張化剤、キレート剤、粘稠剤、増粘剤、緩衝剤、pH調整剤等をさらに含み得る。

[0088] 2-3. 施用対象

本発明の組成物の施用対象（本明細書では、しばしば単に「対象」と略記する）としては、限定されないが、例えば、養鶏場、養豚場、牧場、酪農場等の家畜の飼育場（例えば、家屋、ケージ、土壌等を含む）；飲食品又は飼料；飲食品加工工場又は飼料製造工場；飲食品又は飼料の加工装置；飲食品又は飼料の容器；ヒト、家畜（ウマ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ニワトリ等）、愛玩動物（イヌ、ネコ、ウサギ、トリ等）、実験動物（マウス、ラット、サル等）等を含む任意の脊椎動物が挙げられる。

[0089] 2-4. 形態

本発明の組成物は、医薬組成物、添加剤（例えば、飲食品添加剤、飼料添加剤、飲水添加剤）、飲食品、飼料、洗浄剤、消毒剤、殺菌剤、除菌剤の形態であり得る。各形態について、以下に詳述する。

[0090] (1) 医薬組成物

本発明の組成物は、医薬組成物であり得る。

[0091] 本発明の医薬組成物は、例えば、対象において標的細菌を防除するために使用することができる。本発明の医薬組成物はまた、例えば、標的細菌による感染症を治療又は予防するために使用することができる。本発明の医薬組成物において、標的細菌は、特にサルモネラ属細菌、特に、*S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、及び*S. Javiana*である。

[0092] 本明細書において、「サルモネラ属細菌による感染症」とは、サルモネラ

属細菌によって引き起こされる疾患であり、サルモネラ感染症、サルモネラ症とも称される。サルモネラ属細菌による感染症の症状としては、発熱、腹痛、下痢、悪心、嘔気、嘔吐、菌血症等が挙げられる。サルモネラ属細菌による感染症は、例えば食中毒であり得る。

本発明の医薬組成物は、第1態様に記載のバクテリオファージに加えて、製薬上で許容される上述の非有効成分（即ち、医薬品添加剤）をさらに含んでもよい。

[0093] 本発明の医薬組成物は、錠剤、顆粒剤、散剤、丸剤、カプセル剤等の固形製剤、液剤、懸濁剤、シロップ剤等の液体製剤、ジェル剤、エアロゾル剤等の任意の剤形に製剤化されたものであってよい。なお、医薬組成物を液体製剤として用いる場合には、それを使用する直前に、例えば、生理食塩水で再構成することを意図した乾燥物として製剤化することもできる。また、本発明の医薬組成物は、第1態様に記載のバクテリオファージの配合量を適宜設定することができ、剤形や対象の疾患の重症度等によって、その配合量を変更することができる。

[0094] 本発明の医薬組成物の投与の対象としては、ヒト、家畜（ウマ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ニワトリ等）、愛玩動物（イヌ、ネコ、ウサギ、トリ等）、実験動物（マウス、ラット、サル等）等を含む任意の脊椎動物を挙げることができるが、好ましくはヒトである。

本発明の医薬組成物の投与経路としては、限定されないが、経口、静脈内、直腸内、経膣、局所投与等が挙げられる。

[0095] 本発明の医薬組成物は、その投与経路や被験体の年齢、体重、症状等の種々の要因を考慮して、その投与量を適宜設定することができる。本発明の医薬組成物は、単回投与してもよく、数時間～数か月の間隔で複数回投与してもよい。

[0096] (2) 飲食品添加剤

本発明の組成物は、飲食品添加剤であり得る。

本発明の飲食品添加剤は、例えば、飲食品中の標的細菌を防除するために

使用することができる。本発明の飲食品添加剤はまた、飲食品に添加することにより、飲食品に特定の作用（標的細菌の防除作用又は標的細菌による感染症の治療若しくは予防作用）を付与するために使用することができる。本発明の飲食品添加剤において、標的細菌は、特にサルモネラ属細菌、特に *S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、及び *S. Javiana* である。

本発明の飲食品添加剤は、第1態様に記載のバクテリオファージに加えて、飲食品の製造で許容される上述の非有効成分をさらに含んでもよい。

[0097] 本発明の飲食品添加剤は、液体、ゲル又は乾燥粉末の形態であってもよい。本発明の飲食品添加剤を添加する対象の飲食品の種類は、「(4) 飲食品」に記載の通りである。

[0098] 本発明の飲食品添加剤は、当業者が利用可能である任意の適切な方法によって、飲食品に添加、塗布、又は噴霧することができる。例えば、本発明の飲食品添加剤は、飲食品の製造時に飲食品の原料に混ぜ込んでもよい。

[0099] (3) 飼料添加剤・飲水添加剤

本発明の組成物は、飼料添加剤又は飲水添加剤であり得る。本発明の飼料添加剤又は飲水添加剤は、例えば家畜等を飼育する際に使用し得る。

[0100] 本発明の飼料添加剤又は飲水添加剤は、例えば、飼料又は飲水中の標的細菌を防除するために使用することができる。本発明の飼料添加剤又は飲水添加剤はまた、飼料又は飲水に添加することにより、飼料又は飲水に特定の作用（標的細菌の防除作用又は標的細菌による感染症の治療若しくは予防作用）を付与するために使用することができる。本発明の飼料添加剤又は飲水添加剤において、標的細菌は、特にサルモネラ属細菌、特に *S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、及び *S. Javiana* である。

[0101] 本発明の飼料添加剤は、第1態様に記載のバクテリオファージに加えて、飼料の製造で許容される上述の非有効成分をさらに含んでもよい。

[0102] 本発明の飼料添加剤は、液体、ゲル又は乾燥粉末の形態であってもよい。本発明の飼料添加剤を添加する対象の飼料の種類は、「(5) 飼料」に記載の通りである。

[0103] 本発明の飼料添加剤は、当業者が利用可能である任意の適切な方法によって、飼料に添加、塗布、又は噴霧ことができる。例えば、本発明の飼料添加剤は、飼料の製造時に飼料の原料に混ぜ込んでもよい。

[0104] 本発明の飲水添加剤は、液体、ゲル又は乾燥粉末の形態であってもよい。本発明の飲水添加物を添加する対象の飲水は、例えば水道水、井戸水、地下水、または雨水などであってもよく、特に限定はされない。飲水は、その他の成分（例えば抗生物質等）を含んでもよい。

[0105] 本発明の飲水添加剤は、当業者が利用可能である任意の適切な方法によって、飲水に添加することができる。例えば、本発明の飲水添加剤は、適当な容器に入った飲水に混ぜてもよいし、給水装置中の飲水に混ぜてもよい。

[0106] (4) 飲食品

本発明の組成物は、飲食品であり得る。

本発明の飲食品は、例えば、対象において標的細菌を防除するために使用することができる。本発明の飲食品はまた、例えば、標的細菌による感染症を治療又は予防するために使用することができる。本発明の飲食品において、標的細菌は、特にサルモネラ属細菌、特に、*S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、及び*S. Javiana*である。標的細菌による感染症は、例えば食中毒であり得る。

[0107] 本発明の飲食品は、第1態様に記載のバクテリオファージに加えて、飲食品の製造で許容される上述の非有効成分をさらに含んでもよい。

[0108] 本発明の飲食品は、生鮮食品（野菜、果物、肉、魚介類、穀物等）、加工食品、惣菜、菓子、調味料、飲料、機能性食品等の任意の形態であってもよい。機能性食品としては、例えば、特定保健用食品（条件付きトクホ〔特定保健用食品〕を含む）、機能性表示食品、栄養機能食品を含む保健機能食品

、特別用途食品、栄養補助食品、健康補助食品、サプリメント（例えば、錠剤、被覆錠、糖衣錠、カプセル、液剤等の各種の剤形のもの）、美容食品（例えば、ダイエット食品）等が包含される。飲食品はまた、固体、液体、混合物、懸濁液、ペースト、ゲル、粉末、顆粒、カプセル等の任意の形態に調製されたものであってよい。本発明の飲食品は、当業者が利用可能である任意の適切な方法によって、第1態様に記載のバクテリオファージを含ませればよい。具体的には、本発明の飲食品は、バクテリオファージをカプセルに封入してもよいし、バクテリオファージを可食フィルムや食用コーティング剤などで包み込んでもよいし、バクテリオファージに適切な賦形剤等を配合（添加）した後に、錠剤等の任意の形態に成形してもよい。本発明の飲食品は、本発明のバクテリオファージと他の食品原料とを含む組成物を加工することにより製造してもよい。そして、本発明の飲食品は、例えば、各種の食品（飲料、流動食、病者用食品、栄養食品、冷凍食品、加工食品、その他の市販食品等）にバクテリオファージを配合（添加）することによって製造することもできる。

[0109] (5) 飼料

本発明の組成物は、飼料であり得る。

本発明の飼料は、例えば、対象において標的細菌を防除するために使用することができる。本発明の飼料はまた、例えば、標的細菌による感染症を治療又は予防するために使用することができる。本発明の飼料において、標的細菌は、特にサルモネラ属細菌、特に *S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、及び *S. Javiana* である。標的細菌による感染症は、例えば食中毒であり得る。

[0110] 本発明の飼料は、第1態様に記載のバクテリオファージに加えて、飼料の製造で許容される上述の非有効成分をさらに含んでもよい。

[0111] 本発明の飼料としては、限定されないが、例えば、牧草、藁、ススキ、乾草、サイレージ、穀物（トウモロコシ、オオムギ、コムギ、コメ等）、配合

飼料、食品副産物（おから、ビール粕、パン屑等）等が挙げられる。飼料はまた、固体、液体、混合物、懸濁液、ペースト、ゲル、粉末、顆粒、カプセル等の任意の形態に調製されたものであってよい。

[0112] 本発明の飼料は、当業者が利用可能である任意の適切な方法によって、第1態様に記載のバクテリオファージを含ませればよい。具体的には、本発明の飼料は、バクテリオファージをカプセルに封入してもよいし、バクテリオファージを可食フィルムや食用コーティング剤などで包み込んでもよいし、バクテリオファージに適切な賦形剤等を配合（添加）した後に、錠剤等の任意の形態に成形してもよい。本発明の飼料は、本発明のバクテリオファージと他の飼料原料とを含む組成物を加工することにより製造してもよい。そして、本発明の飼料は、例えば、各種の飼料にバクテリオファージを配合（添加）することによって製造することもできる。

[0113] (6) 洗浄剤、消毒剤、殺菌剤、除菌剤

本発明の組成物は、洗浄剤、消毒剤、殺菌剤、又は除菌剤であり得る。本明細書において「洗浄剤」とは、施用対象から汚れを取り除くことを目的とした組成物をいう。本明細書において「消毒剤」とは、施用対象において病原性微生物を害のない程度にまで減らすことを目的とした組成物を意味する。本明細書において「殺菌剤」とは、施用対象において細菌を殺すことを目的とした組成物をいう。本明細書において「除菌剤」とは、施用対象において細菌を減らすことを目的とした組成物を意味する。

[0114] 本発明の洗浄剤、消毒剤、殺菌剤、又は除菌剤は、例えば、施用対象において標的細菌を防除するために使用することができる。本発明の洗浄剤、消毒剤、殺菌剤、又は除菌剤において、標的細菌は、特にサルモネラ属細菌、特に、*S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、及び*S. Javiana*である。

[0115] 本発明の洗浄剤、消毒剤、殺菌剤、又は除菌剤は、液体、ゲル又は乾燥粉末の形態であってもよい。

[0116] 本発明の洗浄剤、消毒剤、殺菌剤、又は除菌剤を施用する対象である施用対象としては、限定されないが、例えば、養鶏場、養豚場、牧場、酪農場等の家畜の飼育場（例えば、家屋、ケージ、土壌等を含む）；飲食品又は飼料；飲食品加工工場又は飼料製造工場；飲食品又は飼料の加工装置；飲食品又は飼料の容器；ヒト、家畜（ウマ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ニワトリ等）、愛玩動物（イヌ、ネコ、ウサギ、トリ等）、実験動物（マウス、ラット、サル等）等を含む任意の脊椎動物が挙げられる。

[0117] 本発明の洗浄剤、消毒剤、殺菌剤、又は除菌剤は、例えば、施用対象に添加、塗布、噴霧又は散布する形態で用いることができる。本発明の洗浄剤、消毒剤、殺菌剤、又は除菌剤はまた、例えば、施用対象を浸漬させる形態で用いることができる。

[0118] 3. 標的細菌防除方法

3-1. 概要

本発明の第3の態様は、標的細菌を防除する方法である。本発明の標的細菌防除方法は、第1態様に記載のバクテリオファージ又は第2態様に記載の組成物を、標的細菌の防除に用いることを特徴とする。本発明の標的細菌防除方法において、標的細菌は、特にサルモネラ属細菌、特に *S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、及び *S. Javiana* である。

[0119] 本発明の防除方法によれば、施用対象において標的細菌を防除することができる。

[0120] 3-2. 方法

本発明の標的細菌防除方法は、接触工程を必須の工程として含む。

「接触工程」とは、第1態様に記載のバクテリオファージ又は第2態様に記載の組成物を施用対象に接触させる工程である。

[0121] 本態様において「接触」とは、第1態様に記載のバクテリオファージ又は第2態様に記載の組成物と施用対象が直接接することをいう。より具体的には、第1態様に記載のバクテリオファージ又は第2態様に記載の組成物中の

第1態様に記載のバクテリオファージ、すなわちファージが施用対象、好ましくは標的細菌による汚染の恐れのある部位に接することをいう。この工程は、有効成分であるファージを標的細菌に感染させることを目的とするもので、それによって標的細菌は溶菌される。その結果、標的細菌の防除効果が発揮され得る。

[0122] 本発明の標的細菌防除方法において、施用対象は、第2態様に記載した通りである。

[0123] 本発明の標的細菌防除方法では、接触工程は、例えば、第1態様に記載のバクテリオファージ又は第2態様に記載の組成物（特に医薬組成物、飲食品添加剤、飼料添加剤、飲水添加剤、洗浄剤、消毒剤、殺菌剤、除菌剤）を施用対象に添加、塗布、噴霧、散布すること、又は第1態様に記載のバクテリオファージ又は第2態様に記載の組成物（特に医薬組成物、飲食品添加剤、飼料添加剤、飲水添加剤、洗浄剤、消毒剤、殺菌剤、除菌剤）に施用対象を浸漬することにより行うことができる。

[0124] 接触工程はまた、第2態様に記載の組成物（特に医薬組成物、飲食品、飼料）を施用対象に投与することにより行うことができる。

[0125] 4. 標的細菌による感染症の治療又は予防方法

4-1. 概要

本発明の第4の態様は、標的細菌としてのサルモネラ属細菌による感染症を治療又は予防する方法である。本発明の治療又は予防方法は、第1態様に記載のバクテリオファージ又は第2態様に記載の組成物を、標的細菌による感染症の治療又は予防に用いることを特徴とする。

[0126] 4-2. 方法

本発明の治療又は予防方法は、投与工程を必須の工程として含む。「投与工程」は、第1態様に記載のバクテリオファージ又は第2態様に記載の組成物を対象に投与する工程である。本発明の治療又は予防方法において、標的細菌は、特にサルモネラ属細菌、特に *S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montev*

ideo、及びS. Javianaである。

[0127] 本発明の治療又は予防方法において、投与対象及び投与方法（投与量、投与経路、投与頻度）は上記「2-4. (1) 医薬組成物」に記載の通りである。

[0128] 5. サルモネラ属細菌同定方法

5-1. 概要

本発明の第5の態様は、サルモネラ属細菌、特にS. Enteritidis、S. Typhimurium、S. Infantis、S. Montevideo、及びS. Javianaの同定方法である。本発明の同定方法は、第1態様に記載のバクテリオファージのサルモネラ属細菌に対する溶菌活性を利用して、サルモネラ属細菌（特にS. Enteritidis、S. Typhimurium、S. Infantis、S. Montevideo、及びS. Javiana）を同定することを特徴とする。

[0129] 本発明によれば、未同定の細菌がサルモネラ属細菌であるか否かを判定し、同定することができる。

[0130] 5-2. 方法

本発明の同定方法は、培養工程、混合工程、混合物培養工程、及び判定工程を必須の工程として、また、単離工程を選択工程として含む。以下、それぞれの工程について、説明をする。

[0131] (1) 単離工程

「単離工程」は、サルモネラ属細菌を含むことが疑われる検体から被験細菌を単離する工程である。本工程は、選択工程であり、必要に応じて行えばよい。

[0132] 「被験細菌」とは、本発明の同定方法に供される細菌であって、その菌種が明らかにされていない細菌をいう。

[0133] 検体は、糞便、飲食品、又は飼料であってもよいし、家畜の飼育場、飲食品加工工場、飼料製造工場等から採取した拭き取り検体であってもよい。

[0134] 検体中のサルモネラ属細菌量が多いことが予想される場合（サルモネラ症を示す対象の便を検体とする場合等）には、検体を直接寒天培地にストリークして分離培養することができる。分離培養後、単一コロニーをピックすることによって、被験細菌を単離することができる。検体中のサルモネラ属細菌量が少ないことが予想される場合（食品や拭き取り検体を検体とする場合等）には、検体を培地に入れて増菌培養した後、当該培養液を寒天培地にストリークして分離培養することができる。分離培養後、上記と同様に被験細菌を単離することができる。サルモネラ属細菌が損傷を受けているか、又は休眠状態にあることが予想される場合（加工食品を検体とする場合等）には、増菌培養の前にさらに前増菌培養を行ってもよい。

[0135] (2) 培養工程

「培養工程」は、単離された被験細菌を培養し培養物を得る工程である。被験細菌の培養方法は、当該分野で公知の方法で行えばよい。

[0136] 「培養物」とは、被験細菌を培養して得られるもので、液体、又は固体のいずれであってもよい。

[0137] 本工程では、被験細菌は未同定の状態であるため、本工程で使用する培地は、細菌を広く培養可能な培地を用いることが望ましい。少なくとも本発明の同定対象細菌であるサルモネラ属細菌を培養可能な培地を用いる。そのような培地として、例えば、ペプトン、トリプトン等のタンパク酵素分解物、ポテトデキストロース、イーストエキス等の生物由来抽出物、グルタミン酸等のアミノ酸又はその塩、グルコース、スクロース、ラクトース等の糖類、塩化ナトリウム、塩化マグネシウム、リン酸二水素カリウム、チオ硫酸ナトリウム等の無機塩から選ばれる一以上の成分を含む培地であればよい。具体的な培地及び組成としては、LB培地（Lysogeny Broth培地；トリプトン、イーストエキス、塩化ナトリウムを含む標準培地）、DHL培地（Desoxycholate Hydrogen sulfide lactose培地；デソキシコレート等を含む腸内細菌科細菌用の培地）、SS培地（Salmonella-Shigella培地；肉エキス、ペ

プトン等を含むサルモネラ属細菌やシゲラ属細菌の選択培地)、RV培地(Rappaport-Vassiliadis培地;ペプトン等を含むサルモネラ属細菌増菌培地)等が挙げられる。

[0138] 単離された被験細菌を前記培地に播種し、適切な培養条件下で培養する。培養条件は、例えば20~40℃、20~30℃、22~28℃、又は24~26℃であり、液体培地の場合には攪拌しながら培養することで培養物を得ることができる。培養時間は、限定はしないが、例えば600nmでの濁度が1.0程度に達するまで培養すればよい。本工程によって、被験細菌の培養物が得られる。また、培養は、二以上の多段階培養であってもよい。例えば、液体培地で培養後に得られた培養液に軟寒天含有液体培地を加え、寒天培地のような固体培地上に注いで固化した後、さらに培養することができる。

[0139] (3) 混合工程

「混合工程」は、前記培養工程で得られた培養物と第1態様に記載のバクテリオファージを混合し混合物を得る工程である。

[0140] 「混合物」とは、培養物とバクテリオファージとを混合したもので、液体、又は固体のいずれであってもよい。

[0141] 前記培養物とバクテリオファージを混合することができれば、混合方法は特に限定はしない。第1態様に記載のバクテリオファージは固体状態でもよいが、水や液体培地で懸濁した液体状態で投与してもよい。

[0142] 培養物とバクテリオファージが共に液体であれば、培養物とバクテリオファージの容量比を、1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、又は9:1にすればよい。投与後は、培養物とバクテリオファージを攪拌等によって十分に混合すればよい。一方、前述のように軟寒天含有液体培地を積層した場合、培養物は固体である。この場合、ゲル表面のような固体培養物上にバクテリオファージを滴下することによって、固体培地上で両者を混合し、混合物を得てもよい。

[0143] (4) 混合物培養工程

「混合物培養工程」は、前記混合物を所定の条件下で培養する工程である。

[0144] なお、混合物の培養にあたり、混合物に軟寒天含有液体培地を加え、寒天培地のような固体培地上に注いで固化した後、さらに培養することもできる。

[0145] 本工程の基本的手順は前記培養工程に準ずる。本工程では、限定はしないが、次述の判定工程においてバクテリオファージによる被験細菌の溶菌の有無を確認しやすいように、いわゆるプラークアッセイ法に基づいた培養を行うことが好ましい。例えば、混合液の一部を同組成の軟寒天培地と混合した後、その軟寒天培地が固化する前に、同じく同組成の寒天培地上に注ぎ、培地全体に展開すればよい。その後、前記培養工程と同様の条件で培養すればよい。

[0146] (5) 判定工程

「判定工程」は、前記培養工程後の被験細菌が溶菌していたときに前記被験細菌がサルモネラ属細菌であると判定する工程である。

[0147] 溶菌の有無の判断は限定しないが、例えば、プラークアッセイ法に基づく場合であれば、プラーク形成の有無によって判定すればよい。前述の混合物培養工程後に、寒天培地上に展開され、固化した軟寒天培地にプラークが存在する場合、被験細菌は本発明のバクテリオファージの感染により溶菌されたことを示す。したがって、このときの被験細菌は、サルモネラ属細菌であると判定することができる。一方、被験細菌が寒天培地上全体で増殖し、プラークが全く存在しない場合であれば、被験細菌はサルモネラ属細菌ではないと判定することができる。

[0148] より正確な判定を行うために、混合物培養工程においてバクテリオファージを含まない培地と混合する陰性対照、及び／又は被験細菌に代えて、同定済みのサルモネラ属細菌を培養工程から用いる陽性対照を同時調製し、陰性対照ではプラークを生じないこと、及び陽性対照ではプラークが観察されることを確認してもよい。

[0149] 5-3. 効果

本発明のサルモネラ属細菌同定方法によれば、例えば食中毒、下痢、嘔吐等の原因がサルモネラ属細菌であるか否かを同定することができる。また本発明のサルモネラ属細菌同定方法によれば、サルモネラ属細菌による汚染の有無を検出することができる。

実施例

[0150] 以下、実施例を用いて本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明の技術的範囲はこれら実施例に限定されるものではない。

[0151] [サルモネラ属細菌の入手と培養]

本実施例（実施例1～7）で用いた細菌株は、各実施例の項目で示す表中に記載するが、表中に示される酪農学園大学所有の菌株は、日本国内の動物より単離したサルモネラ属細菌株である。また、表中に示される農研機構（NARO）動物衛生研究所より入手した菌株は、日本国内のニワトリや養鶏場から単離されたサルモネラ属細菌株である。

[0152] また、表中の株IDは、本明細書において付した識別番号である。表中の各菌株の血清型は、サルモネラ診断用免疫血清（デンカ生研）を用いた凝集試験の結果から、Kaufmann-Whiteの抗原構造表に基づいて同定されたものである。血清型は、必要に応じてPFGE (pulsed-field gel electrophoresis) やPCR (polymerase chain reaction) 等の遺伝子分析手法によっても確認されている。

[0153] 表中のST1～6の菌株については、その薬剤感受性やPFGE型等が調べられている（田村雪乃、「牛由来*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium*に関する分子疫学的研究」、酪農学園大学獣医学群獣医学類博士論文（2015年度））。

[0154] 各種サルモネラ属細菌の培養には、トリプトン10g、イーストエキス5g及び塩化ナトリウム10gをH₂O 1Lに溶解してオートクレーブした液

体培地 (LB Broth) を用いた。また、寒天培地として、上記 LB Broth に 1 L あたり 15 g の寒天を加えてオートクレーブした寒天培地 (「LB Agar」と表記する) を用いた。さらに、寒天培地上層に積層する軟寒天培地として、上記 LB Broth に 1 L あたり 5 g のアガロースを加えて、オートクレーブした軟寒天培地 (「LB Top Agar」と表記する) を用いた。軟寒天培地は約 50°C で保管し、必要に応じて利用した。

[0155] 乾燥粉末状態の上記各菌株を LB Broth 0.1 mL にて懸濁した後、LB Agar にて 25°C で画線培養を行い、シングルコロニーを単離した。単離コロニーを LB Broth に接種して 25°C で振盪培養し、これを前培養液とした。本培養として、前培養液を LB Broth に接種し、濁度 (Optical Density 600 nm) が 1.0 程度に達するまで、25°C にて 10~30 時間培養した。培養後の培養液をそのまま菌液として使用した。

[0156] [ファージの単離及び純化]

新規ファージは、日本国内で得た天然の汚水、又は土壌から単離した。ファージの単離方法は、常法のプラークアッセイ法に基づいて行った。まず、池や湖等の汚水、又は土壌を水で懸濁した汚水を、0.45 µm フィルターでろ過し、ファージ含有液を調製した。続いて、菌液とファージ含有液を等量混合し、室温 10 分程度放置した。次に、菌/ファージ混合液 0.2 mL を LB Top Agar 3 mL に添加し、素早くボルテックスミキサーにかけて混合した後、LB Agar 上に注いだ。LB Top Agar が固化した後に 25°C にて 12 時間程度静置培養した。培養によって形成された菌のローン (Lawn) 上に溶菌プラーク (Plaque) を形成させた。その後、先端切断チップを用いてプラーク部分のゲルを吸引し、サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有するファージを単離した。その後、単離したファージを高濃度に含むファージ含有液を汚水の代わりに用い、この手順を繰り返すことによって、ファージを純化した。

[0157] 単離したファージは、SM Bufferに懸濁し、0.2 μ mフィルターを通したファージ含有液として回収した。このファージ含有液を上記条件で前記菌液と混合し、再度ファージを単離した。この手順を数回繰り返すことによって、さらにファージを純化した。SM Bufferの組成は下記表に示す。

[0158] [表1]

SM Buffer	Final	Add to 1L
NaCl	0.1 M	5.8 g
Mg ₂ SO ₄ ·7H ₂ O	10 mM	1 g
1M Tris-HCl pH 8.0	50 mM	50 mL
ゼラチン	0.1 %	0.1 g

[0159] [ファージの増幅及び精製]

単離及び純化したファージを増幅し、精製するためにプラークアッセイ法を用いた増幅法であるプレートライセート (PL) 法を実施した。LB Agar上に多くのプラークが形成されるように、菌/ファージ混合液を調製し、LB Top Agarと混合した後、LB Agar上に展開させて培養した。その後、プラークが形成されたLB Top Agar上に3 mL SM Bufferを添加して、25℃で30分程度振盪し、上清を0.2 μ mフィルターに通してファージを含有する回収液を回収した。

[0160] 前記回収液10 mLに、PEG 6000 1 g (最終濃度10%)、NaCl 0.4 g (最終濃度4%)を加え溶解し、ローテーターを用いて4℃で一晩、回転処理を行った。その後、 $\times 15,000$ g/4℃/60分にて遠心し、上清を除いた。回収したペレットをSM Buffer 0.5 mLで再懸濁した。続いて、クロロホルム0.5 mLを加え、激しく攪拌し、氷上で6時間放置した。 $\times 8,000$ g/4℃/10分で遠心した後で、上層を慎重に回収し、ファージ精製液を得た。ファージ精製液の濃度は、プラークアッセイ法でのプラーク数 (Plaque Forming Unit, PFU) をベースとした力価 [PFU/mL] で表すのが一般的であり、溶菌活性を示す一つの指標となる。調製したファージ精製液の力価は、

適宜希釈した溶液を用いたブランクアッセイ法によって求めた。

[0161] [ファージの宿主域評価]

ファージの宿主域をスポットテスト法にて評価した。菌液のみ0.1 mLをLB Top Agar 3 mLに添加して混合後、LB Agarに注いで、プレート全体に展開し固化させた。菌液としては、各実施例で調製した各サルモネラ属細菌の菌液を用いた。その後、ファージ精製液を5 μ L程度プレート上に滴下し、25 $^{\circ}$ Cにて12時間前後静置培養した。菌のローンが形成されたプレート上でファージを滴下した場所が円（直径約1 cm）状に透明（Clear）になれば、滴下したファージがその菌株に対して溶菌活性があると判定した。

[0162] [ファージのゲノムDNAの調製と配列決定]

TURBO DNA-free™ kit (Thermo Fisher Scientific社) を用いてファージのゲノムを抽出した。キットに付属マニュアルに従った処理により、夾雑物となる宿主細菌由来ゲノムDNAを除去した。その後、NucleoSpin (登録商標) Virus (Machery-Nagel社) を用い、付属マニュアルに従い、Proteinase K処理によってファージ外殻分子を分解した。シリカスピнкаラムを用いたゲノムDNA精製を経て、ファージのゲノムDNA溶液を調製した。その後、Qubit dsDNA HS Assay kit (Thermo Fisher Scientific社) を用いてゲノムDNAの濃度を測定し、終濃度0.2 ng/ μ LとなるようゲノムDNA溶液を50 μ L調製した。続いて、Nextera XT DNA Library Prep (Illumina社) を用い、付属マニュアルに従った処理により、ファージのゲノムの断片化及びPCRによるアダプター配列の付加を行った。次に、Agilent High Sensitivity DNA Kit (Agilent Technologies社) を用いて、Bioanalyzer (Agilent Technologies社) による電気泳動を行い、サンプルの平均bpサイズを測定し、DNA断片

の濃度を求めた。最後にMiseq Reagent kit (Illumina社)を用い、付属マニュアルに従った処理により測定用サンプルを調製し、次世代シーケンサーMiseq (Illumina社)を用いた測定を行った。CLC genomics workbench (Qiagen社)を利用し、得られたデータの前処理(トリミング等)を行った後、de novoアセンブリーを行い、ファージのゲノム配列に相当するcontig配列を取得した。

[0163] <実施例1：第1のバクテリオファージの単離とその溶菌活性>

(目的)

サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有する新規バクテリオファージを単離し、サルモネラ属細菌に対するその溶菌活性について検証する。

[0164] (方法と結果)

(1) サルモネラ属細菌の入手と培養

実施例1で用いた細菌株を下記表に記載する。

[0165] [表2]

株 ID	血清型	株名	供給源
SE6	S. Entertidis	L-2728	農研機構動物衛生研究所
SE8	S. Entertidis	L-2844	農研機構動物衛生研究所
SE12	S. Entertidis	L-3164	農研機構動物衛生研究所
SE17	S. Entertidis	L-3782	農研機構動物衛生研究所
SE18	S. Entertidis	L-5104	農研機構動物衛生研究所
ST1	S. Typhimurium	HRS-TST-129	酪農学園大学獣医学群
ST4	S. Typhimurium	HRS-KST-31	酪農学園大学獣医学群
ST6	S. Typhimurium	HRS-U1	酪農学園大学獣医学群
SI1	S. Infantis	O7:Hr70A	酪農学園大学獣医学群
SI3	S. Infantis	O7:Hr1.5	酪農学園大学獣医学群
SM	S. Montevideo	S. Montevideo No.1	酪農学園大学獣医学群
SJ	S. Javiana	L-750	酪農学園大学獣医学群

[0166] (2) 第1のファージの単離及び純化

上記 [ファージの単離及び純化] の欄に記載の方法に従って、天然の汚水・土壌から新たなファージを7種単離し、純化した(第1のファージに該当

)。

[0167] (3) 第1のファージの増幅及び精製

上記〔ファージの増幅及び精製〕の欄に記載の方法に従って、第1ファージ精製液を調製し、力価を測定した。力価は 10^8 PFU/mL以上であることを確認した。

[0168] (4) 第1のファージの宿主域評価

上記〔ファージの宿主域評価〕の欄に記載の方法に従って、第1のファージの宿主域をスポットテスト法にて評価した。

[0169] 結果の一例を図1及び図2に示した。本実施例によって得られた7種類の第1のファージは、様々な*S. Enteritidis*の細菌株に溶菌活性を示したが、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、*S. Javiana*に対しては溶菌活性を示さなかった。

[0170] *S. Enteritidis*はヒトの食中毒において最も高い頻度で検出される血清型である (Oh and Park, *J. Microbiol. Biotechnol.* (2017), 27(12), 2075-2088)。したがって、第1のファージは、例えば、ヒトの食中毒を治療又は予防するために特に有用である。また、第1のファージは、*S. Enteritidis*に特異的に溶菌活性を示したことから、*S. Enteritidis*の同定に特に有用である。

[0171] (5) 第1のファージのゲノム解析

第1のファージについてゲノムDNA配列を決定し、解析した。

[0172] (i) 第1のファージのゲノムDNAの調製と配列決定

上記〔ファージのゲノムDNAの調製と配列決定〕の欄に記載の方法に従って、第1のファージのゲノムDNA配列を決定した。決定した7種の第1のファージのゲノムDNA配列を配列番号1～7に示す。

[0173] (ii) ゲノム配列情報に基づくバイオインフォマティクス解析

第1のファージのゲノムDNA配列（配列番号1～7）は互いに高い配列

同一性を有していた。遺伝情報処理ソフトウェアGENETYX (<https://www.genetyx.co.jp/>) を用いて最も短い配列番号7のゲノムDNA配列の配列番号1～6のゲノムDNA配列に対する配列同一性 (Identity) を算出した結果、全範囲に渡って100%であった。

[0174] NCB I 提供BLASTサーバー (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) において、配列番号2及び7のゲノムDNA配列をクエリ配列として、類似DNA配列を検索した。配列番号2又は7に対して全範囲における配列同一性が高いゲノムDNA配列を有するファージについて、さらに宿主域に関する先行文献を調査した。その結果、配列番号2又は7に対し全範囲における配列同一性が99%以上であると推定されるゲノムDNA配列を有し、かつ第1のファージと同じ宿主域を有することが知られているファージは見つからなかった。

[0175] <実施例2：第2のバクテリオファージの単離とその溶菌活性>

(目的)

サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有する新規バクテリオファージを単離し、サルモネラ属細菌に対するその溶菌活性について検証する。

[0176] (方法と結果)

(1) サルモネラ属細菌の入手と培養

実施例2で用いた細菌株を下記表に記載する。

[0177]

[表3]

株 ID	血清型	株名	供給源
SE1	S. Entertidis	L-2596	農研機構動物衛生研究所
SE2	S. Entertidis	L-2653	農研機構動物衛生研究所
SE3	S. Entertidis	L-2602	農研機構動物衛生研究所
SE4	S. Entertidis	L-2685	農研機構動物衛生研究所
SE5	S. Entertidis	L-2712	農研機構動物衛生研究所
SE6	S. Entertidis	L-2728	農研機構動物衛生研究所
SE7	S. Entertidis	L-2777	農研機構動物衛生研究所
SE8	S. Entertidis	L-2844	農研機構動物衛生研究所
SE9	S. Entertidis	L-2916	農研機構動物衛生研究所
SE10	S. Entertidis	L-2917	農研機構動物衛生研究所
SE11	S. Entertidis	L-3080	農研機構動物衛生研究所
SE12	S. Entertidis	L-3164	農研機構動物衛生研究所
SE13	S. Entertidis	L-3241	農研機構動物衛生研究所
SE14	S. Entertidis	L-3244	農研機構動物衛生研究所
SE15	S. Entertidis	L-3246	農研機構動物衛生研究所
SE16	S. Entertidis	L-3247	農研機構動物衛生研究所
SE17	S. Entertidis	L-3782	農研機構動物衛生研究所
SE18	S. Entertidis	L-5104	農研機構動物衛生研究所
ST3	S. Typhimurium	HRS-TST-219	酪農学園大学獣医学群
SI1	S. Infantis	O7:Hr70A	酪農学園大学獣医学群
SI2	S. Infantis	O7:Hd70B	酪農学園大学獣医学群
SI3	S. Infantis	O7:Hr1.5	酪農学園大学獣医学群
SM	S. Montevideo	S. Montevideo No.1	酪農学園大学獣医学群
SJ	S. Javiana	L-750	酪農学園大学獣医学群

[0178] (2) 第2のファージの単離及び純化

上記 [ファージの単離及び純化] の欄に記載の方法に従って、天然の汚水・土壌から新たなファージを3種単離し、純化した(第2のファージに該当)。

[0179] (3) 第2のファージの増幅及び精製

上記 [ファージの増幅及び精製] の欄に記載の方法に従って、第2ファージ精製液を調製し、力価を測定した。力価は、 10^8 PFU/mL以上であることを確認した。

[0180] (4) 第2のファージの宿主域評価

上記 [ファージの宿主域評価] の欄に記載の方法に従って、第2のファージの宿主域をスポットテスト法にて評価した。

[0181] 結果の一例を図3～図5に示した。本実施例によって得られた3種類の第2のファージは、様々な細菌株に溶菌活性を示し、試験した *S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、*S. Javiana* のいずれの細菌株に対しても溶菌活性を示した。これらの細菌株はいずれもヒトの食中毒において高い頻度で検出される血清型である。したがって、第2のファージは、例えば、ヒトの食中毒を治療又は予防するために特に有用である。

[0182] (5) 第2のファージのゲノム解析

第2のファージについてゲノムDNA配列を決定し、解析した。

[0183] (i) 第2のファージのゲノムDNAの調製と配列決定

上記 [ファージのゲノムDNAの調製と配列決定] の欄に記載の方法に従って、第2のファージのゲノムDNA配列を決定した。決定した3種の第2のファージのゲノムDNA配列を配列番号10～12に示す。

[0184] (ii) ゲノム配列情報に基づくバイオインフォマティクス解析

得られた3種のファージのゲノムDNA配列 (配列番号10～12) の配列同一性は99%であり、それぞれのテイルチップタンパク質のアミノ酸配列は、配列番号8に示される通りであり、それぞれ完全に一致していた。

[0185] 得られた3種のファージのゲノムDNA配列 (配列番号10～12) について、NCBI提供BLASTサーバー (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) を用いて、類似DNA配列の検索と配列同一性の確認を実施した。検索の結果、最も同一性が高い塩基配列は、*Salmonella phage S124* (GenBankアクセッション番号: NC_048013.1) のゲノム配列であり、全範囲における配列同一性は79.14% (Query Cover/Per. Ident値が83%/95.36%) であった。

[0186] 得られた3種のファージとS124における宿主域の相違の原因を検証す

るため、両者のテイルチップタンパク質の配列を比較した。得られた3種のファージからテイルチップタンパク質遺伝子を同定した。遺伝子の同定には、RASTサーバー (<https://rast.nmpdr.org/>) 及びPHASTERサーバー (<https://phaster.ca/>) を利用した。その結果、テイルチップタンパク質遺伝子として配列番号9で示される塩基配列が特定された。

[0187] さらに、配列番号9で示される塩基配列を含む遺伝子がコードするアミノ酸配列 (配列番号8) は、S124の類縁タンパク質アミノ酸配列 (アクセスコード: YP_009806053.1) と比較したところ、配列同一性は97.49%であった。この配列の相違が宿主域の差に繋がっている可能性が高いと考えられる。なお、得られた3種のファージのテイルチップタンパク質のアミノ酸配列 (配列番号8) のみをクエリ配列として、NCBI提供BLASTサーバーで検索すると、配列同一性が95%以上の公知配列が4件検出された。クエリ配列と検索された配列のアラインメントを図11に示す。図11において、「HCH9411546.1」のアミノ酸配列は配列番号24で示され、「YP_009966103.1」のアミノ酸配列は配列番号25で示され、「YP_009194791.1」のアミノ酸配列は配列番号26で示され、「YP_009806053.1」のアミノ酸配列は配列番号27で示される。これら4件の公知配列のうちS124以外の配列は、宿主域に関する詳細な情報が報告されていないか、または、プロファージ由来の配列である。クエリ配列 (得られた3種のファージのテイルチップタンパク質のアミノ酸配列) における258番目のF (Phe) 及び617番目のS (Ser) は、上記4件の公知配列の対応残基とは異なり、クエリ配列のみで見られるユニークなアミノ酸残基であることがわかる。これらの配列における特徴が、第2のファージの幅広い血清型に対する溶菌活性に繋がっていると推定される。

[0188] <実施例3: 第3のバクテリオファージの単離とその溶菌活性>

(目的)

サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有する新規バクテリオファージを単

離し、サルモネラ属細菌に対するその溶菌活性について検証する。

[0189] (方法と結果)

(1) サルモネラ属細菌の入手と培養

実施例3で用いた細菌株を下記表に記載する。

[0190] [表4]

株 ID	血清型	株名	供給源
ST1	S. Typhimurium	HRS-TST-129	酪農学園大学獣医学群
ST2	S. Typhimurium	HRS-TST-139	酪農学園大学獣医学群
ST3	S. Typhimurium	HRS-TST-219	酪農学園大学獣医学群
ST4	S. Typhimurium	HRS-KST-31	酪農学園大学獣医学群

[0191] (2) 第3のファージの単離及び純化

上記 [ファージの単離及び純化] の欄に記載の方法に従って、天然の汚水・土壌から新たなファージを1種単離し、純化した(第3のファージに該当)。

[0192] (3) 第3のファージの増幅及び精製

上記 [ファージの増幅及び精製] の欄に記載の方法に従って、第3ファージ精製液を調製し、力価を測定した。力価は 10^8 PFU/mL以上であることを確認した。

[0193] (4) 第3のファージの宿主域評価

上記 [ファージの宿主域評価] の欄に記載の方法に従って、第3のファージの宿主域をスポットテスト法にて評価した。

[0194] 結果の一例を図6に示した。本実施例によって得られた1種類の第3のファージは、様々なS. Typhimuriumの細菌株に溶菌活性を示した。S. Typhimuriumはヒトの食中毒において高い頻度で検出される血清型である。

[0195] また、S. Typhimuriumは、薬剤耐性を有し、抗生物質が効きにくい細菌であることが知られている。例えば、本実施例で用いたS. Typhimuriumは、様々な抗生物質に対して多剤耐性を示すことが確認されており、具体的には、ST1はS/Su、ST4はA/C/S/S

u/T、ST2はA/C/Su、ST3はA/S/Su/Tに対して、それぞれ薬剤耐性を有することが知られている（玉村 雪乃 著、「牛由来 *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium*に関する分子疫学的研究」、酪農学園大学・博士論文、2015年）。なお、Aはアンピシリン、Cはクロラムフェニコール、Sはストレプトマイシン、Suはサルファ剤、Tはテトラサイクリンを表す。したがって、第3のファージは、薬剤耐性を有するために抗生物質が効きにくいS. *Typhimurium*を効果的に防除することができ、ヒトの食中毒を治療又は予防するために特に有用である。

[0196] さらに、図示していないが、第3のファージは、ST5 (S. *Typhimurium* HRS-KST-203、酪農学園大学獣医学群) 及びST6 (S. *Typhimurium* HRS-U1、酪農学園大学獣医学群) に対しても溶菌活性を示すことを確認した。

[0197] (5) 第3のファージのゲノム解析

第3のファージについてゲノムDNA配列を決定し、解析した。

[0198] (i) 第3のファージのゲノムDNAの調製と配列決定

上記 [ファージのゲノムDNAの調製と配列決定] の欄に記載の方法に従って、第3のファージのゲノムDNA配列を決定した。決定した1種の第3のファージのゲノムDNA配列を配列番号13に示す。

[0199] (ii) ゲノム配列情報に基づくバイオインフォマティクス解析

NCBI提供BLASTサーバー (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) を用いて、第3のファージのゲノムDNA配列 (配列番号13) をクエリ配列として、類似DNA配列の検索と配列同一性の確認を実施した。検索の結果、最近接の塩基配列は *Escherichia phage vB_EcoM-RPN242* (GenBankアクセッション番号: OL656110.1) のゲノム配列であり、全範囲における配列同一性は87.85% (Query Cover/Per. Ident値が89%/98.71%) であった。配列同一性

が85%程度となる最近接の塩基配列としては他に *Escherichia phage vB_EcoM-ZQ1* (GenBankアクセッション番号: MW650886.1) のゲノム配列があり、全範囲における配列同一性は84.35% (Query Cover/Per. Ident値が86%/98.09%) であった。いずれのファージも宿主がサルモネラ属細菌ではないので、第3のファージは類縁ゲノム配列が全く知られていない新規ゲノム配列を有するファージであることを示唆している。

[0200] <実施例4：第4のバクテリオファージの単離とその溶菌活性>

(目的)

サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有する新規バクテリオファージを単離し、サルモネラ属細菌に対するその溶菌活性について検証する。

[0201] (方法と結果)

(1) サルモネラ属細菌の入手と培養

実施例4で用いた細菌株を下記表に記載する。

[0202] [表5]

株 ID	血清型	株名	供給源
SE1	S. Entertidis	L-2596	農研機構動物衛生研究所
SE2	S. Entertidis	L-2653	農研機構動物衛生研究所
SE8	S. Entertidis	L-2844	農研機構動物衛生研究所
SE10	S. Entertidis	L-2917	農研機構動物衛生研究所
SE11	S. Entertidis	L-3080	農研機構動物衛生研究所
ST2	S. Typhimurium	HRS-TST-139	酪農学園大学獣医学群
ST3	S. Typhimurium	HRS-TST-219	酪農学園大学獣医学群
ST6	S. Typhimurium	HRS-U1	酪農学園大学獣医学群
SI1	S. Infantis	O7:Hr70A	酪農学園大学獣医学群
SI3	S. Infantis	O7:Hr1.5	酪農学園大学獣医学群
SJ	S. Javiana	L-750	酪農学園大学獣医学群
SM	S. Montevideo	S. Montevideo No.1	酪農学園大学獣医学群

[0203] (2) 第4のファージの単離及び純化

上記 [ファージの単離及び純化] の欄に記載の方法に従って、天然の汚水・土壌から新たなファージを単離し、純化した (第4のファージに該当)。

[0204] (3) 第4のファージの増幅及び精製

上記〔ファージの増幅及び精製〕の欄に記載の方法に従って、第4ファージ精製液を調製し、力価を測定した。力価は 10^8 PFU/mL以上であることを確認した。

[0205] (4) 第4のファージの宿主域評価

上記〔ファージの宿主域評価〕の欄に記載の方法に従って、第4のファージの宿主域をスポットテスト法にて評価した。

[0206] 結果の一例を図7に示した。本実施例によって得られた第4のファージは、*S. Montevideo*に対して溶菌活性を示したが、*S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Javiana*に対しては溶菌活性を示さなかった。

[0207] (5) 第4のファージのゲノム解析

第4のファージについてゲノムDNA配列を決定し、解析した。

[0208] (i) 第4のファージのゲノムDNAの調製と配列決定

上記〔ファージのゲノムDNAの調製と配列決定〕の欄に記載の方法に従って、第4のファージのゲノムDNA配列を決定した。決定した第4のファージのゲノムDNA配列を配列番号14に示す。

[0209] (ii) ゲノム配列情報に基づくバイオインフォマティクス解析

NCBI提供BLASTサーバー (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)において、第4のファージのゲノムDNA配列をクエリ配列として、類似DNA配列を検索した。検索の結果、最近接のDNA配列は*Escherichia coli bacteriophage esc-cop-9*のゲノム配列（米国特許出願公開第2019/0321423号の配列番号1）であり、全範囲における配列同一性は90.68%と推定された。しかし、全範囲における配列同一性が95%以上であり、かつサルモネラ属細菌を宿主とするファージは見つからなかった。

[0210] <実施例5：第5のバクテリオファージの単離とその溶菌活性>

(目的)

サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有する新規バクテリオファージを単離し、サルモネラ属細菌に対するその溶菌活性について検証する。

[0211] (方法と結果)

(1) サルモネラ属細菌の入手と培養

実施例5で用いた細菌株を下記表に記載する。

[0212] [表6]

株 ID	血清型	株名	供給源
ST3	S. Typhimurium	HRS-TST-219	酪農学園大学獣医学群
ST4	S. Typhimurium	HRS-KST-31	酪農学園大学獣医学群
ST5	S. Typhimurium	HRS-KST-203	酪農学園大学獣医学群
ST6	S. Typhimurium	HRS-U1	酪農学園大学獣医学群

[0213] (2) 第5のファージの単離及び純化

上記 [ファージの単離及び純化] の欄に記載の方法に従って、天然の汚水・土壌から新たなファージを単離し、純化した (第5のファージに該当)。

[0214] (3) 第5のファージの増幅及び精製

上記 [ファージの増幅及び精製] の欄に記載の方法に従って、第5ファージ精製液を調製し、力価を測定した。力価は 10^8 PFU/mL以上であることを確認した。

[0215] (4) 第5のファージの宿主域評価

上記 [ファージの宿主域評価] の欄に記載の方法に従って、第5のファージの宿主域をスポットテスト法にて評価した。

[0216] 結果の一例を図8に示した。本実施例によって得られた第5のファージは、S. Typhimuriumに対して非常に高い溶菌活性を示した。なお、同様の方法によりS. Enteritidisを含む他の血清型のサルモネラ属細菌に対する溶菌活性を調べたが、第5のファージは他の血清型のサルモネラ属細菌に対しては溶菌活性を示さなかった。

[0217] (5) 第5のファージのゲノム解析

第5のファージについてゲノムDNA配列を決定し、解析した。

[0218] (i) 第5のファージのゲノムDNAの調製と配列決定

上記「ファージのゲノムDNAの調製と配列決定」の欄に記載の方法に従って、第5のファージのゲノムDNA配列を決定した。決定した第5のファージのゲノムDNA配列を配列番号17に示す。

[0219] (ii) ゲノム配列情報に基づくバイオインフォマティクス解析

NCBI提供BLASTサーバー (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) において、第5のファージのゲノムDNA配列をクエリ配列として、類似DNA配列を検索した。検索の結果、最近接の塩基配列は *Salmonella phage Skate* のゲノム配列 (GenBankアクセッション番号: NC_054639.1) であり、全範囲における配列同一性は86.61%と推定された。両ファージのゲノムDNA配列を詳細に比較した結果、第5のファージのゲノムDNA配列の2385~3606番目に相当する領域が *Skate* では欠失していることが判明した。この領域には、エンドヌクレアーゼをコードする遺伝子 (配列番号17の2434~3000番目) が存在する。当該エンドヌクレアーゼのアミノ酸配列とそれをコードする塩基配列を、それぞれ配列番号15及び16に示す。ヌクレアーゼは宿主ゲノムの複製をシャットダウンする機構に関与することが知られている。したがって、上記のエンドヌクレアーゼ遺伝子を有している第5のファージは、宿主ゲノムの複製を効率的にシャットダウンすることができ、そのために高い溶菌活性を有することが示唆された。

[0220] 上記のエンドヌクレアーゼのアミノ酸配列をクエリ配列として、BLASTサーバーにて類似アミノ酸配列を検索した結果、配列同一性が50%以上のヌクレアーゼ配列を有するファージのゲノム配列は存在しなかった。したがって、第5のファージは、新規エンドヌクレアーゼ遺伝子を有する新規ファージであることが示された。

[0221] <実施例6：第6のバクテリオファージの単離とその溶菌活性>

(目的)

サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有する新規バクテリオファージを単離し、サルモネラ属細菌に対するその溶菌活性について検証する。

[0222] (方法と結果)

(1) サルモネラ属細菌の入手と培養

実施例6で用いた細菌株を下記表に記載する。

[0223] [表7]

株 ID	血清型	株名	供給源
SE1	S. Entertidis	L-2596	農研機構動物衛生研究所
SE4	S. Entertidis	L-2685	農研機構動物衛生研究所
SE6	S. Entertidis	L-2728	農研機構動物衛生研究所
SE8	S. Entertidis	L-2844	農研機構動物衛生研究所
ST1	S. Typhimurium	HRS-TST-129	酪農学園大学獣医学群
ST4	S. Typhimurium	HRS-KST-31	酪農学園大学獣医学群
ST5	S. Typhimurium	HRS-KST-203	酪農学園大学獣医学群
ST6	S. Typhimurium	HRS-U1	酪農学園大学獣医学群
SJ	S. Javiana	L-750	酪農学園大学獣医学群
SI1	S. Infantis	O7:Hr70A	酪農学園大学獣医学群
SI3	S. Infantis	O7:Hr1.5	酪農学園大学獣医学群
SM	S. Montevideo	S. Montevideo No.1	酪農学園大学獣医学群

[0224] (2) 第6のファージの単離及び純化

上記 [ファージの単離及び純化] の欄に記載の方法に従って、天然の汚水・土壌から新たなファージを1種単離し、純化した(第6のファージに該当)。

[0225] (3) 第6のファージの増幅及び精製

上記 [ファージの増幅及び精製] の欄に記載の方法に従って、第6ファージ精製液を調製し、力価を測定した。力価は、 10^8 PFU/mL以上であることを確認した。

[0226] (4) 第6のファージの宿主域評価

上記 [ファージの宿主域評価] の欄に記載の方法に従って、第6のファージの宿主域をスポットテスト法にて評価した。

[0227] 結果の一例を図9に示した。本実施例によって得られた1種類の第6のフ

ァージは、試験した複数の細菌株に対して溶菌活性を示し、具体的には、*S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Javiana*の細菌株に対して溶菌活性を示した。これらの細菌株はいずれもヒトの食中毒において高い頻度で検出される血清型である。したがって、第6のファージは、例えば、ヒトの食中毒を治療又は予防するために特に有用である。

[0228] (5) 第6のファージのゲノム解析

第6のファージについてゲノムDNA配列を決定し、解析した。

[0229] (i) 第6のファージのゲノムDNAの調製と配列決定

上記「ファージのゲノムDNAの調製と配列決定」の欄に記載の方法に従って、第6のファージのゲノムDNA配列を決定した。決定した1種の第6のファージのゲノムDNA配列を配列番号20に示す。

[0230] (ii) ゲノム配列情報に基づくバイオインフォマティクス解析

得られた1種のファージのゲノムDNA配列（配列番号20）を解析した結果、32468～34522番目の塩基配列（CDS）がコードするアミノ酸配列がテイルファイバータンパク質であることが分かった。このテイルファイバータンパク質のアミノ酸配列をクエリ配列として、NCBI提供BLASTサーバー（<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>）を用いて、類似アミノ酸配列の検索と配列同一性の確認を実施した。その結果、多数のサルモネラ属細菌に対するファージのテイルファイバータンパク質のアミノ酸配列が検出されたが、配列同一性が100%のものは検出されなかった。そこで、アミノ酸配列の長さが第6のファージのテイルファイバータンパク質と同じ684残基であり、かつ配列同一性が95%以上の配列を検索により抽出して、マルチプルアラインメントを実施した。その結果を図12A、図12B及び図12Cに示す。また、アラインメントに用いた配列のファージ名称、配列同一性、Genbankアクセスコード、本明細書で付与した配列番号、および、登録情報や文献情報から確認できた反応する血清型（特に*Enteritidis*と

Typhimuriumに着目して) の情報を下記表に示した。

[0231] [表8]

Salmonella Phage Name	Identity (%)	GenBank Accession No.	配列 番号	血清型			
				Enteritidis	Typhimurium	P	U
GSP003	98.1	UXE05692.1	28			○	
vB_SenTO17	98.1	YP_010582355.1	29	×	○		
TS6	97.81	YP_010582256.1	30		○		
LP31	97.51	UGC97882.1	31			○	
vB_SenS_SE1	97.37	YP_010582462.1	32		×		○
GRNsp6	97.37	URG17609.1	33	○	○		
PSDA-2	97.22	QVW27666.1	34		○		
vB_SpuS_Sp4	97.08	AWY03030.1	35				○
CKT1	96.78	UJP30002.1	36			○	
nctD30	96.64	USL89603.1	37				○
SHWT1	96.64	QNI20443.1	38	△	○	○	
vB_STM-ZS	96.49	YP_010582402.1	39		○		
GRNsp27	96.35	YP_010582173.1	40	○	○		
S55	96.05	QMS41869.1	41	○		○	

>75%: ○、75~50%: △、50%>: ×、P: Pullorum、U: Unknown

[0232] 表8に示されるように、EnteritidisとTyphimuriumの2種に着目するだけでも、テイルファイバータンパク質の配列同一性が95%以上であるにもかかわらず、各々のファージの宿主域は異なる可能性が高いと言える。

[0233] また、アミノ酸配列のアラインメントの結果から分かる通り、第6のファージのテイルファイバータンパク質は、他の全ての配列と異なるユニークなアミノ酸残基が複数存在する。211番目のVal（他は全てIle）、321番目のVal（他は全てIle）、485番目のVal（他はIleかMet）、533番目のAla（他は全てSer）、577番目のSer（他は全てGly）および583番目のSer（他は全てGly）である。このように多くの部位に関して、他のファージのテイルファイバータンパク質では高度に保存されているにもかかわらず、異なるアミノ酸残基となっているのは驚くべきことであり、第6のファージの特徴的な宿主域に繋がっていると考えられる。

[0234] 第6のファージのゲノムDNA配列に関してもBLASTサーバーで検索した結果、最も配列同一性が高かったものは、Salmonella phage GRNs p27であり、配列同一性は94.64% (Cover 95%/Ident 99.62%)であった。しかし、遺伝子解析ソフトGENETYX (<https://www.genetyx.co.jp/>)を用いて両者の配列の類似性をMUMmerで比較すると、テイルファイバータンパク質遺伝子(32468~34522番目)周辺に該当する29733~34770のIdentityは87%と低いことが分かった(下記表参照)。やはり、第6のファージは、宿主認識に係る遺伝子領域が公知のファージとは有意に異なる新規のファージであることが示唆された。

[0235] [表9]

Start	End	Identity (%)	Reference Coverage(%)	Query Coverage(%)	Similarity Errors
1	22531	99	55	54	113
22521	28331	96	14	14	217
29733	34770	87	12	12	642
35384	36603	97	2	2	31
37785	38379	85	1	1	85
38434	38582	85	0	0	22
39683	40784	98	2	2	13

[0236] <実施例7：第7のバクテリオファージの単離とその溶菌活性>

(目的)

サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を有する新規バクテリオファージを単離し、サルモネラ属細菌に対するその溶菌活性について検証する。

[0237] (方法と結果)

(1) サルモネラ属細菌の入手と培養

実施例7で用いた細菌株を下記表に記載する。

[0238]

[表10]

株 ID	血清型	株名	供給源
SE11	S. Enteritidis	L-3080	農研機構動物衛生研究所
SE13	S. Enteritidis	L-3241	農研機構動物衛生研究所
SE14	S. Enteritidis	L-3244	農研機構動物衛生研究所
SE15	S. Enteritidis	L-3246	農研機構動物衛生研究所
SE16	S. Enteritidis	L-3247	農研機構動物衛生研究所
ST3	S. Typhimurium	HRS-TST-219	酪農学園大学獣医学群
ST4	S. Typhimurium	HRS-KST-31	酪農学園大学獣医学群
SI1	S. Infantis	O7:Hr70A	酪農学園大学獣医学群
SI2	S. Infantis	O7:Hd70B	酪農学園大学獣医学群
SI3	S. Infantis	O7:Hr1.5	酪農学園大学獣医学群
SM	S. Montevideo	S. Montevideo No.1	酪農学園大学獣医学群
SJ	S. Javiana	L-750	酪農学園大学獣医学群

[0239] (2) 第7のファージの単離及び純化

上記 [ファージの単離及び純化] の欄に記載の方法に従って、天然の汚水・土壌から新たなファージを単離し、純化した (第7のファージに該当)。

[0240] (3) 第7のファージの増幅及び精製

[0241] 上記 [ファージの増幅及び精製] の欄に記載の方法に従って、第7ファージ精製液を調製し、力価を測定した。力価は 10^8 PFU/mL 以上であることを確認した。

[0242] (4) 第7のファージの宿主域評価

上記 [ファージの宿主域評価] の欄に記載の方法に従って、第7のファージの宿主域をスポットテスト法にて評価した。

[0243] 結果の一例を図10に示した。本実施例によって得られた第7のファージは、S. Enteritidis に対して溶菌活性を示したが、S. Typhimurium、S. Infantis、S. Montevideo、S. Javiana に対しては溶菌活性を示さなかった。S. Enteritidis はヒトの食中毒において最も高い頻度で検出される血清型である (Oh and Park, J. Microbiol. Biotechnol. (2017), 27 (12), 2075-20

88)。したがって、第7のファージは、例えば、ヒトの食中毒を治療又は予防するために特に有用である。また、第7のファージは、*S. Enteritidis*に特異的に溶菌活性を示したことから、*S. Enteritidis*の同定に特に有用である。

[0244] (5) 第7のファージのゲノム解析

第7のファージについてゲノムDNA配列を決定し、解析した。

[0245] (i) 第7のファージのゲノムDNAの調製と配列決定

上記 [ファージのゲノムDNAの調製と配列決定] の欄に記載の方法に従って、第7のファージのゲノムDNA配列を決定した。決定した第7のファージのゲノムDNA配列を配列番号23に示す。

[0246] (ii) ゲノム配列情報に基づくバイオインフォマティクス解析

NCBI提供BLASTサーバー (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) において、第7のファージのゲノムDNA配列をクエリ配列として、類似DNA配列を検索した。検索の結果、最近接の塩基配列は *Salmonella phage SPN9CC* のゲノム配列 (GenBankアクセッション番号: JF900176.1) であった。Shin et. al., *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, vol. 80, No. 1, 374-384 には、SPN9CCが *S. Typhimurium* の計7株全てに対して溶菌活性を示したことが記載されている。したがって、SPN9CCは、*S. Enteritidis* 特異的に溶菌活性を示す第7のファージとは明らかに宿主域が異なる。そこで、第7のファージとSPN9CCの宿主認識に重要なタンパク質のアミノ酸配列を比較した結果、テイルスパイクタンパク質のアミノ酸配列に相違が見られた。したがって、テイルスパイクタンパク質のアミノ酸配列の相違が両ファージの宿主域の相違の原因であることが示された。なお、テイルスパイクタンパク質をコードする遺伝子は、第7のファージのゲノムDNA配列の30879~32882番目に存在していた。第7のファージが有す

るテイルスパイクタンパク質のアミノ酸配列を配列番号 2 1 に、それをコードする塩基配列を配列番号 2 2 に示す。

[0247] 上記の類似 DNA 配列の検索では、配列番号 2 1 に示されるアミノ酸配列からなるテイルスパイクタンパク質をコードする遺伝子を有し、かつ配列番号 2 3 に示される塩基配列と全範囲における配列同一性が 9 9 % 以上であるゲノム DNA 配列を有するファージは見つからなかった。

本明細書で引用した全ての刊行物、特許及び特許出願はそのまま引用により本明細書に組み入れられるものとする。

請求の範囲

[請求項1] 以下の（a）～（c）のいずれかに示されるアミノ酸配列からなり、標的細菌の認識活性を有するテイルチップタンパク質をコードする遺伝子を含むゲノムDNAを有する、サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を示すバクテリオファージ：

（a）配列番号8で示されるアミノ酸配列；

（b）配列番号8で示されるアミノ酸配列において1個又は複数個のアミノ酸が付加、欠失、及び／又は置換されたアミノ酸配列；

（c）配列番号8で示されるアミノ酸配列と99%以上の配列同一性を有するアミノ酸配列。

[請求項2] テイルチップタンパク質をコードする遺伝子が、以下の（d）～（f）のいずれかに示される塩基配列を含む、請求項1に記載のバクテリオファージ：

（d）配列番号9で示される塩基配列；

（e）配列番号9で示される塩基配列において1個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；

（f）配列番号9で示される塩基配列に対して95%以上の配列同一性を有する塩基配列。

[請求項3] ゲノムDNA配列が、以下の（g）～（k）のいずれかに示される塩基配列を含む、請求項1に記載のバクテリオファージ：

（g）配列番号10～12のいずれかで示される塩基配列；

（h）配列番号10～12のいずれかで示される塩基配列において、前記遺伝子の塩基配列以外の塩基配列に1個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；

（i）配列番号10～12のいずれかで示される塩基配列において、前記遺伝子の塩基配列以外の塩基配列が80%以上の配列同一性を有する塩基配列；

（j）配列番号10～12のいずれかで示される塩基配列において

、1個又は複数個の塩基が付加、欠失、及び／又は置換された塩基配列；

(k) 配列番号10～12のいずれかで示される塩基配列に対して90%以上の配列同一性を有する塩基配列。

[請求項4] サルモネラ属細菌が、*S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、及び*S. Javiana*である、請求項1に記載のバクテリオファージ。

[請求項5] 請求項1に記載のバクテリオファージを含む、組成物。

[請求項6] 少なくとも*S. Enteritidis*、*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Montevideo*、及び*S. Javiana*を防除するための組成物である、請求項5に記載の組成物。

[請求項7] 医薬組成物である、請求項5に記載の組成物。

[請求項8] 飲食品添加剤、飼料添加剤、又は飲水添加剤である、請求項5に記載の組成物。

[請求項9] 飲食品又は飼料である、請求項5に記載の組成物。

[請求項10] 洗浄剤、消毒剤、殺菌剤、又は除菌剤である、請求項5に記載の組成物。

[請求項11] サルモネラ属細菌に対して溶菌活性を示す他のバクテリオファージをさらに含む、請求項5に記載の組成物。

[請求項12] 請求項1に記載のバクテリオファージ、又は請求項5に記載の組成物を施用対象に接触させる接触工程を含む、サルモネラ属細菌を防除する方法。

[請求項13] 請求項1に記載のバクテリオファージ、又は請求項5に記載の組成物を対象に投与する投与工程を含む、対象においてサルモネラ属細菌による感染症を治療又は予防する方法。

[請求項14] サルモネラ属細菌の同定方法であって、

サルモネラ属細菌を含むことが疑われる検体から単離された被験細菌を培養し、培養物を得る培養工程、

培養物と請求項1に記載のバクテリオファージとを混合して混合物を得る混合工程、

混合物を所定の条件下で培養する混合物培養工程、及び

混合物培養工程後に被験細菌が溶菌していたときに被験細菌がサルモネラ属細菌であると判定する判定工程

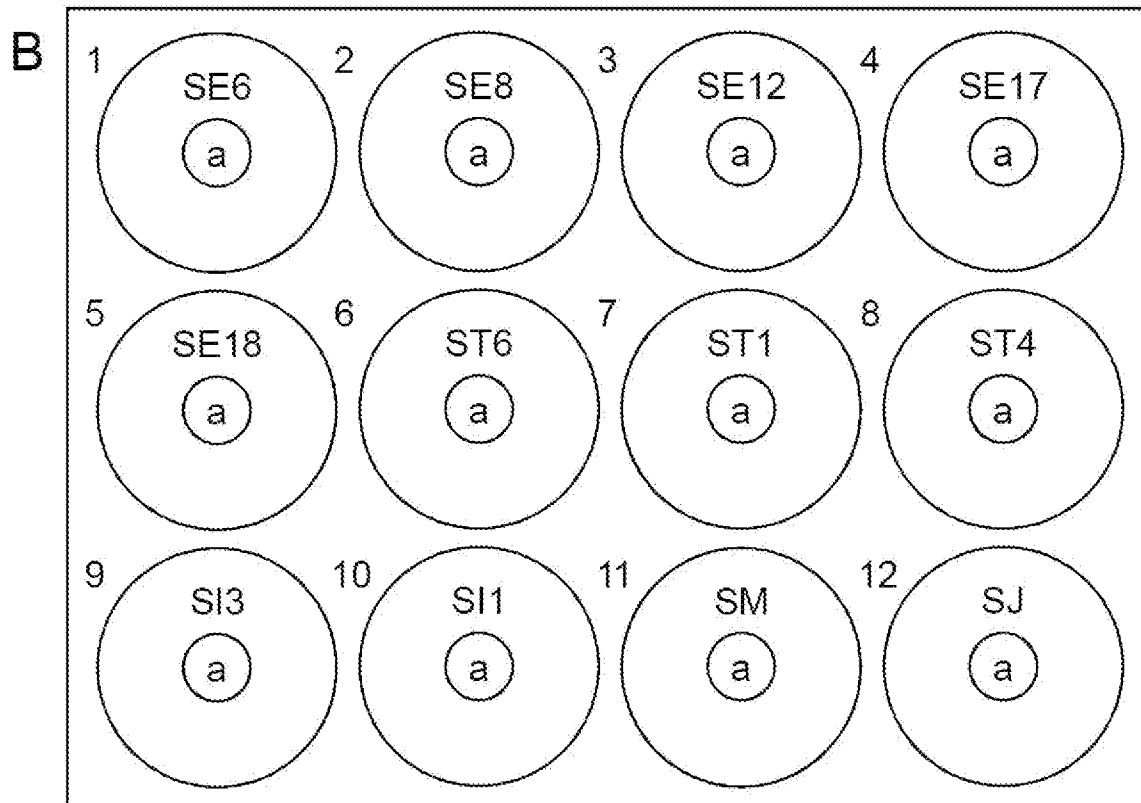
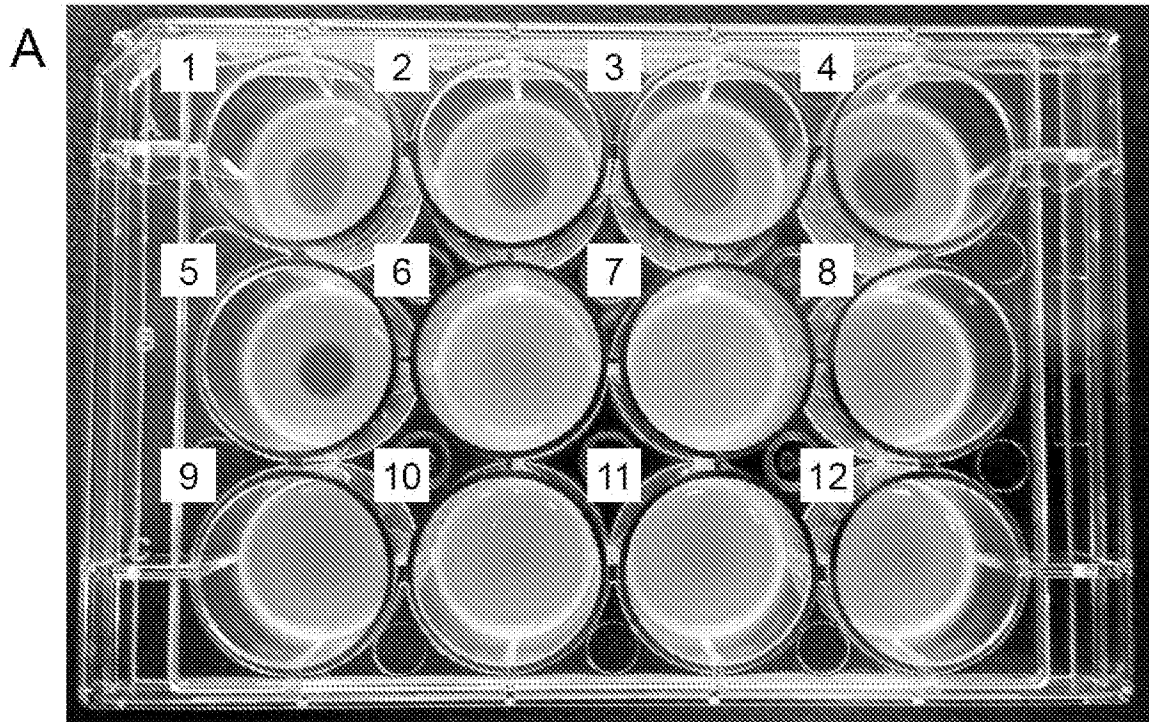
を含む、方法。

[請求項15] 混合物培養工程において、混合物が軟寒天含有液体培地をさらに含み、該混合物を固体培地上で培養する、請求項14に記載の方法。

[請求項16] 培養工程において、培養物が軟寒天含有液体培地を含み、培養物を固体培地上で培養する、請求項14に記載の方法。

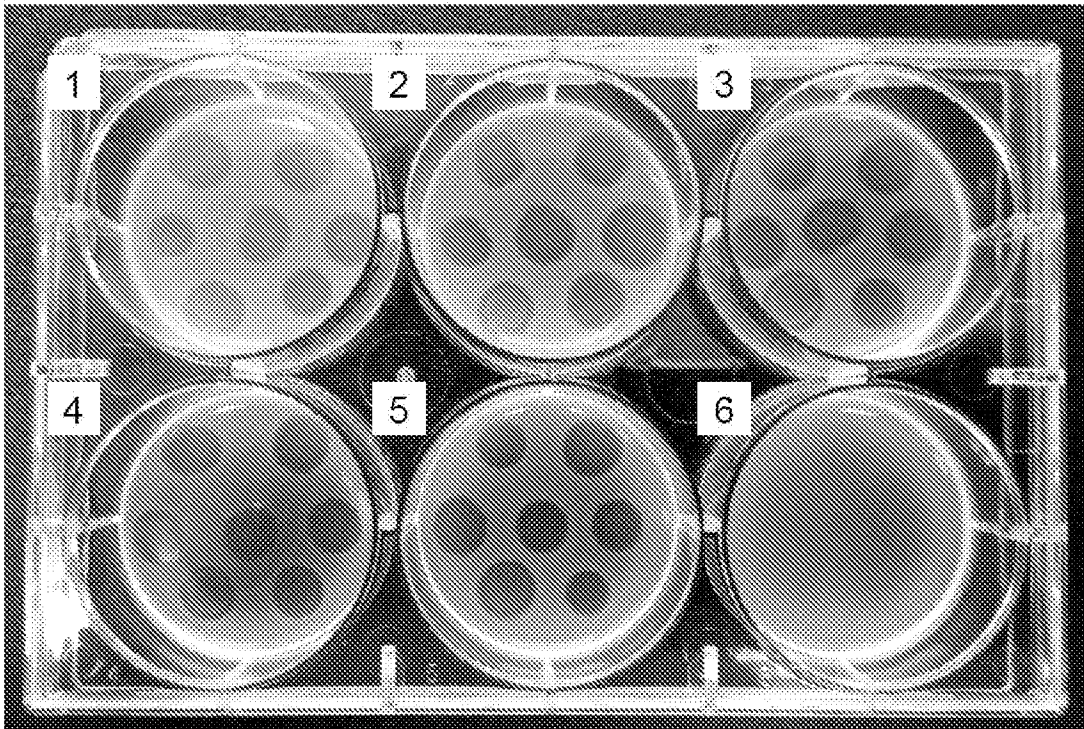
[請求項17] 培養工程前にサルモネラ属細菌を含むことが疑われる検体から被験細菌を単離する単離工程をさらに含む、請求項14に記載の方法。

[図1]

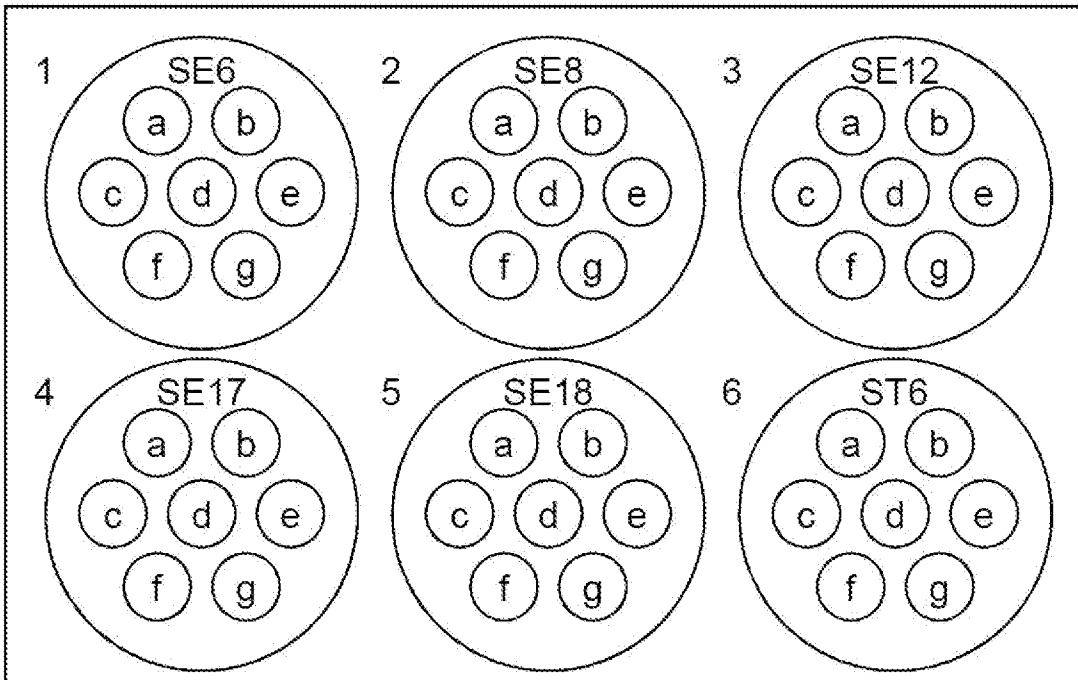


[図2]

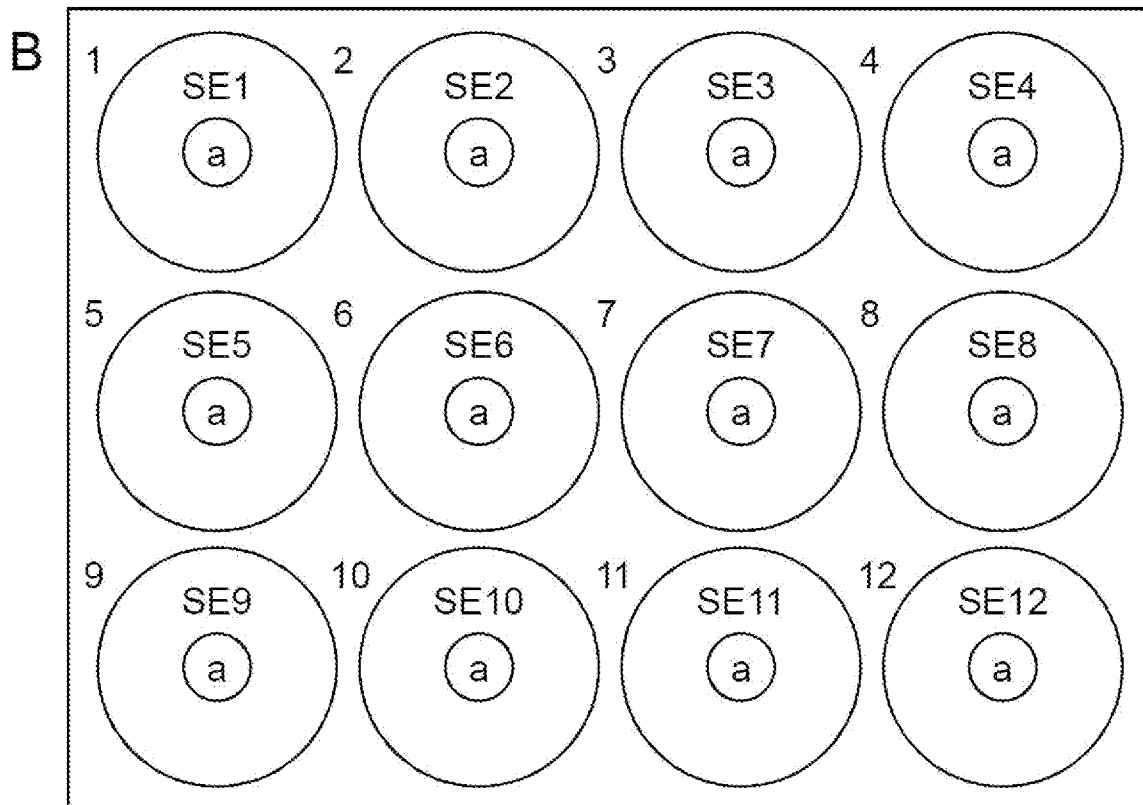
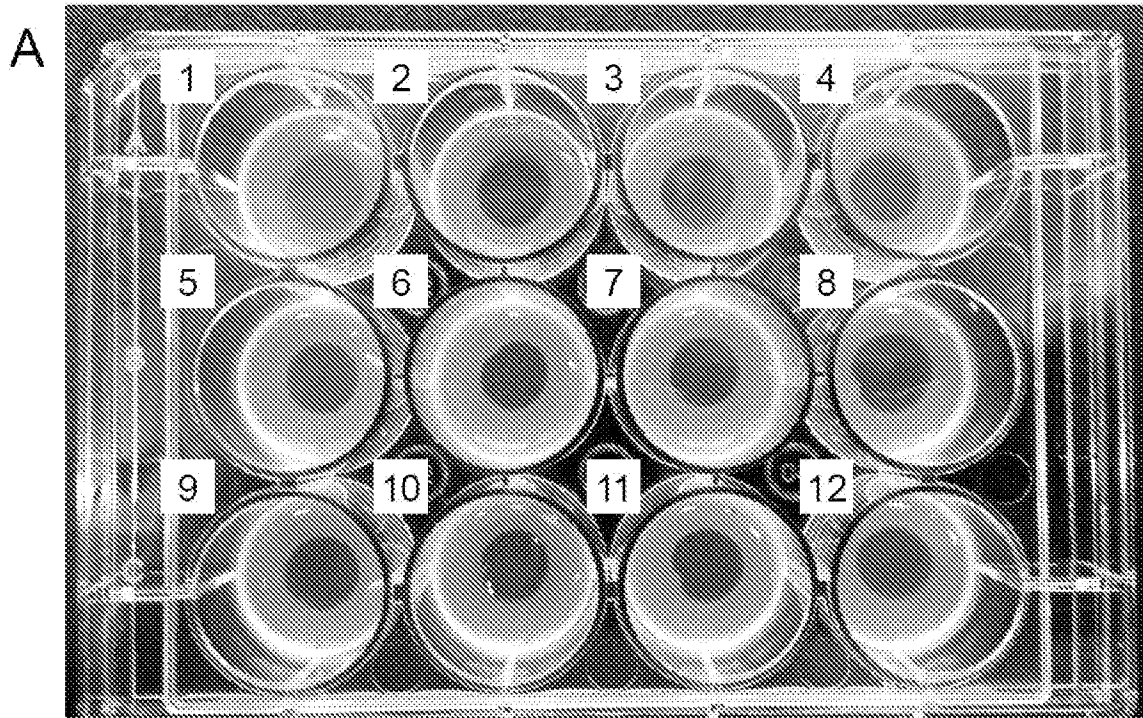
A



B

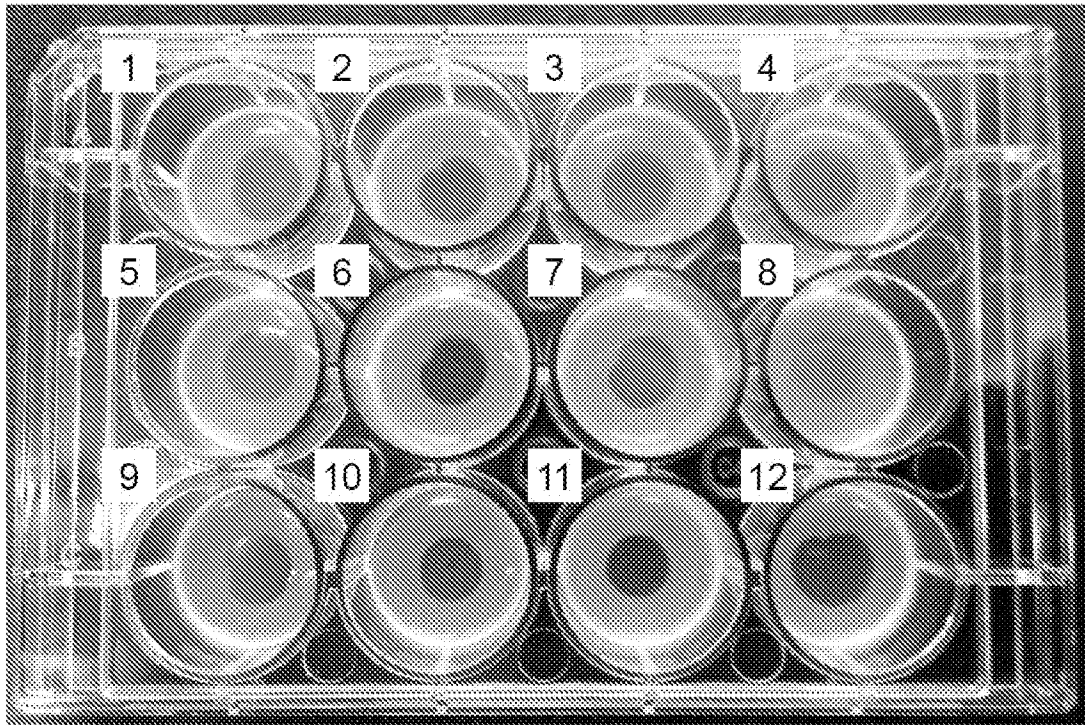


[図3]

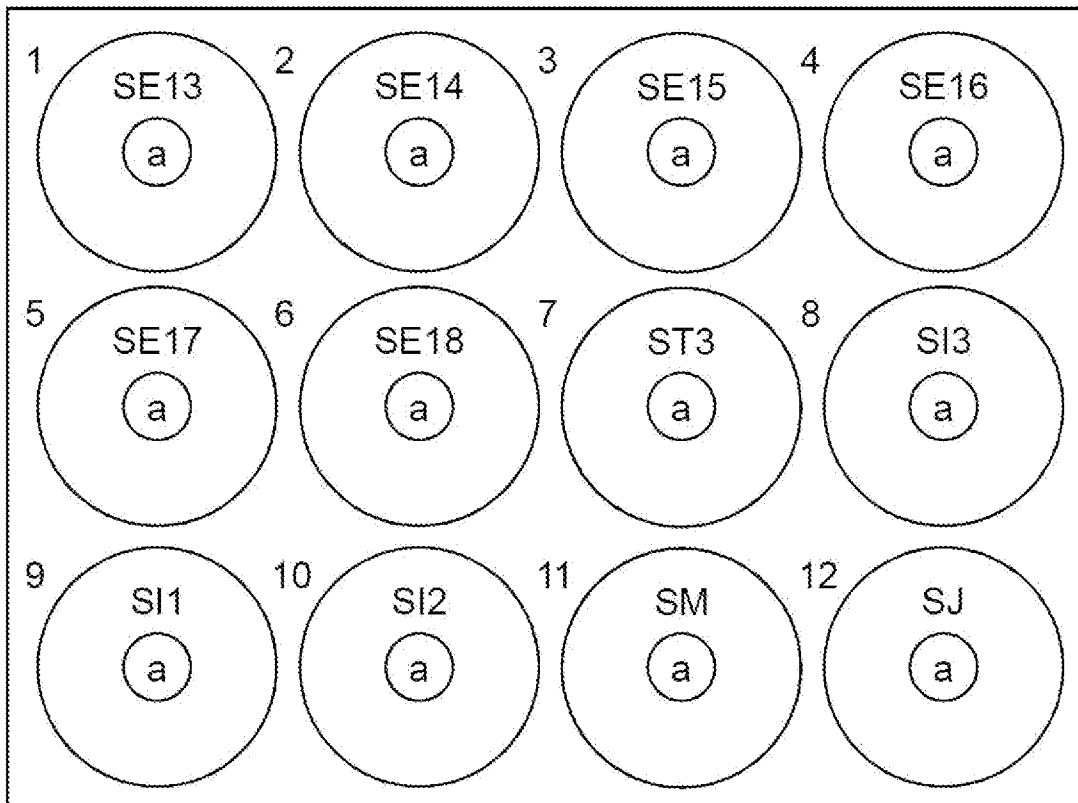


[図4]

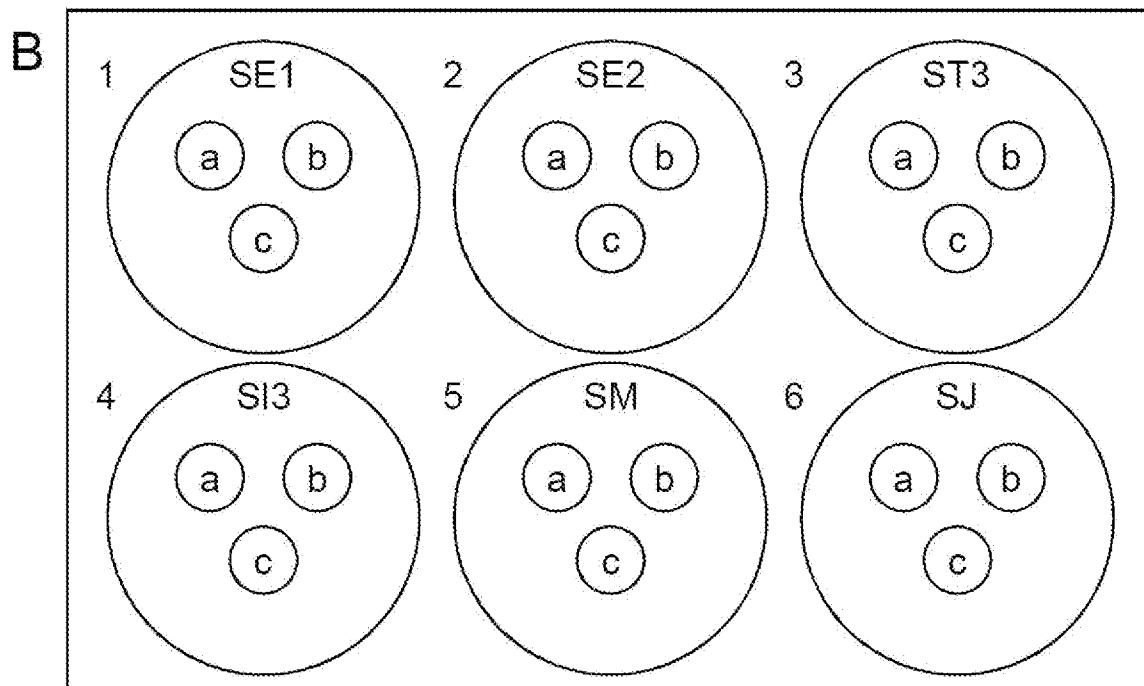
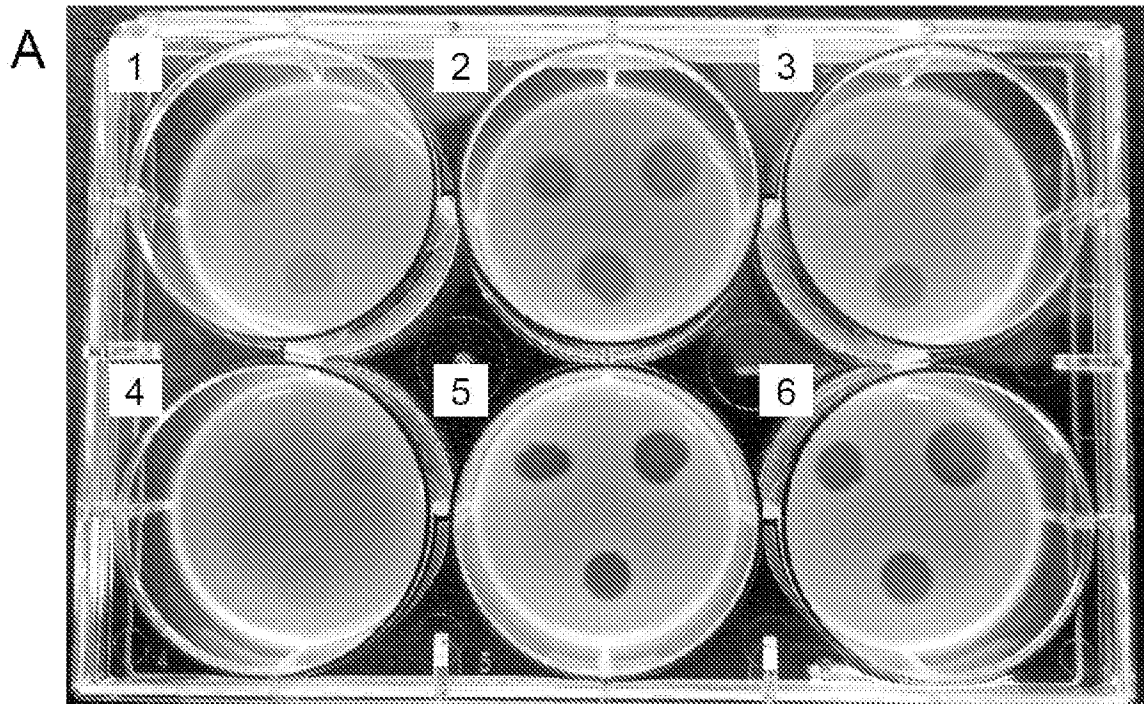
A



B

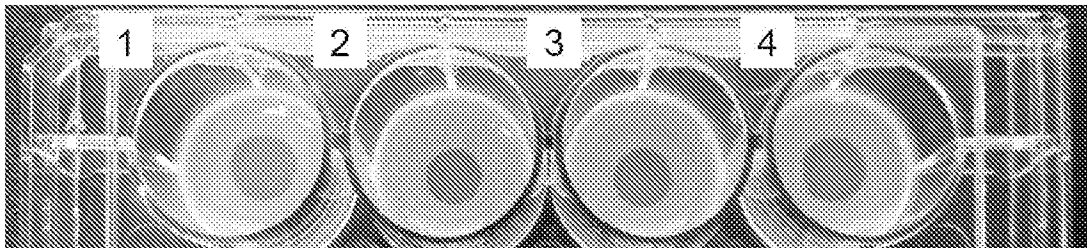


[図5]

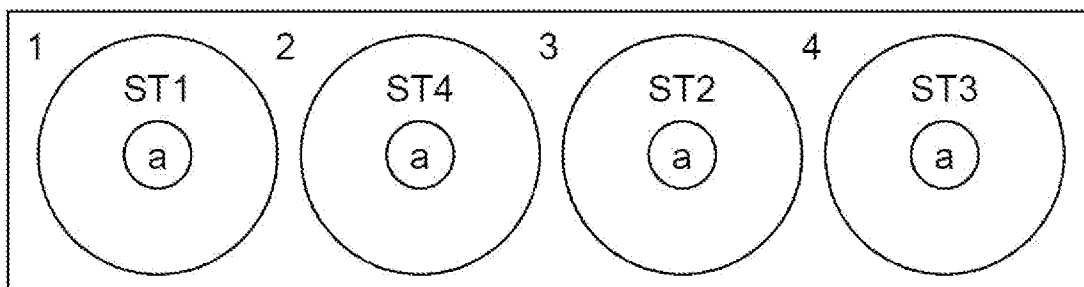


[図6]

A

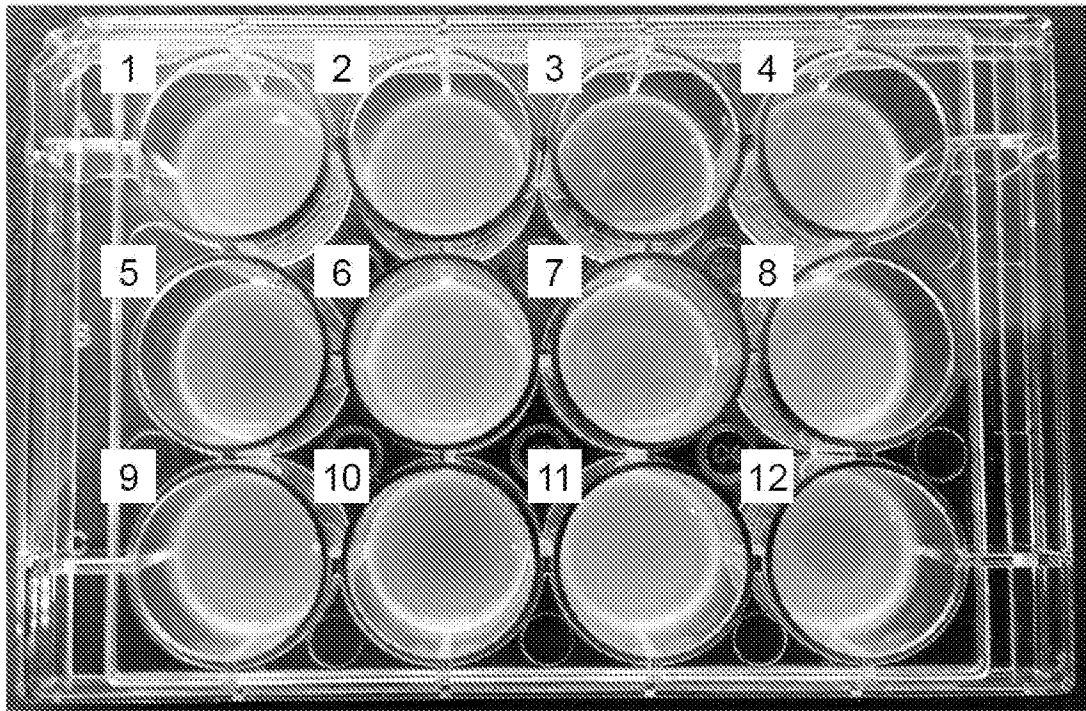


B

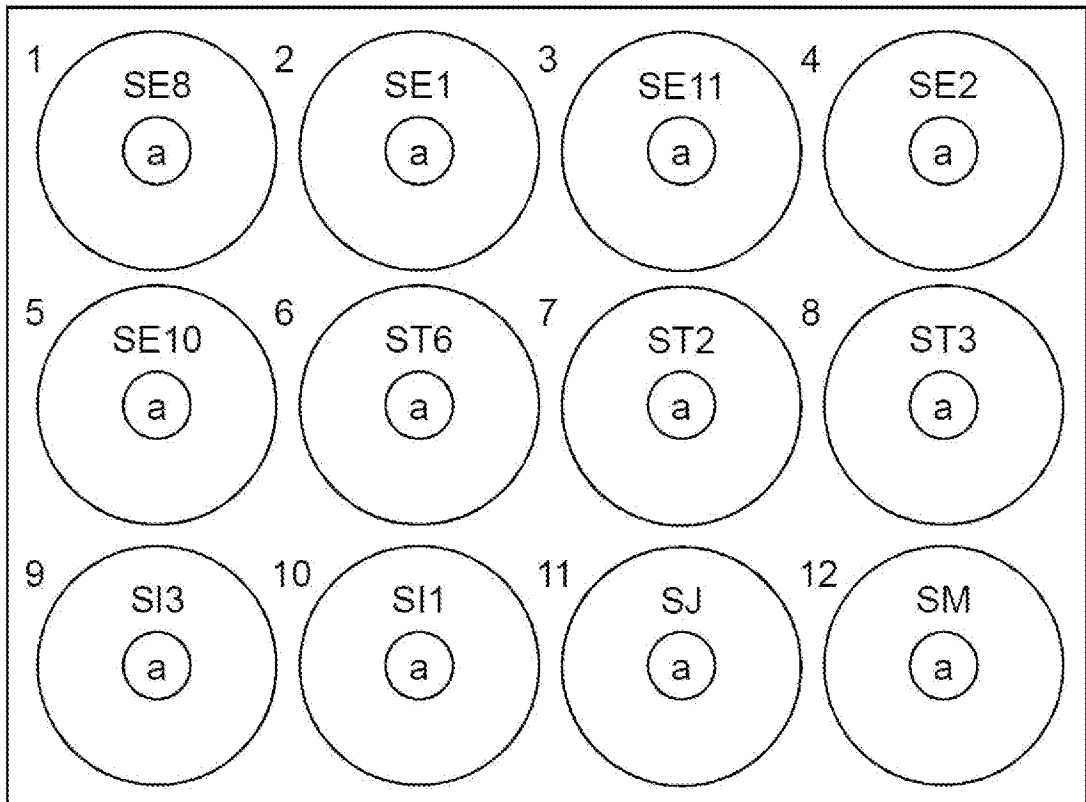


[図7]

A

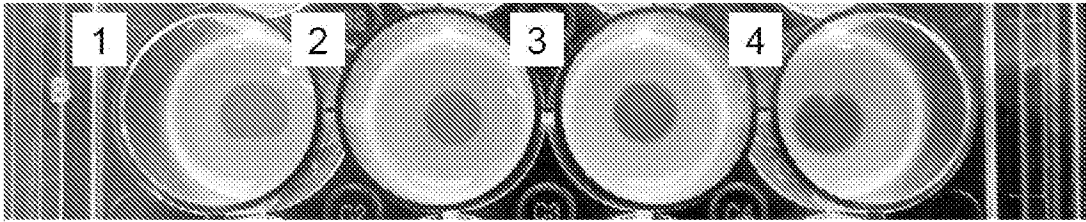


B

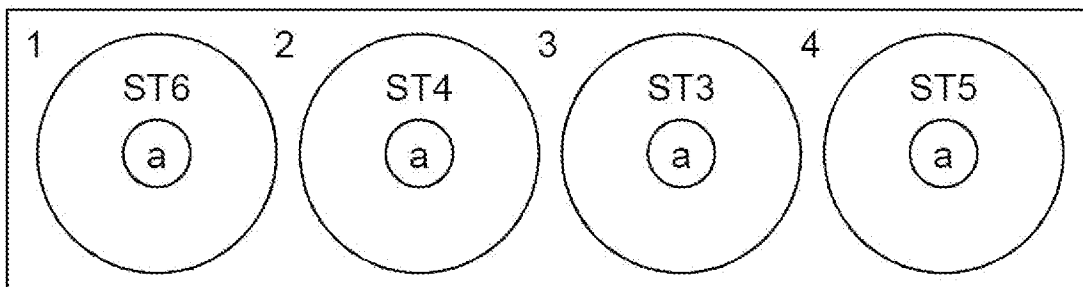


[図8]

A

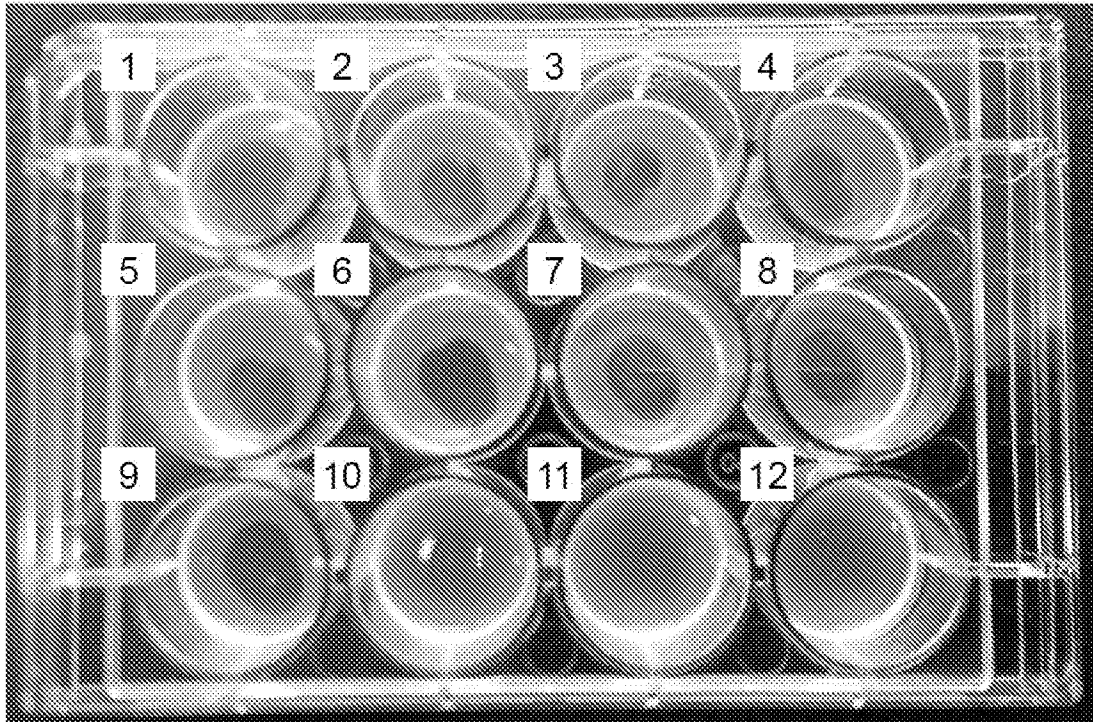


B

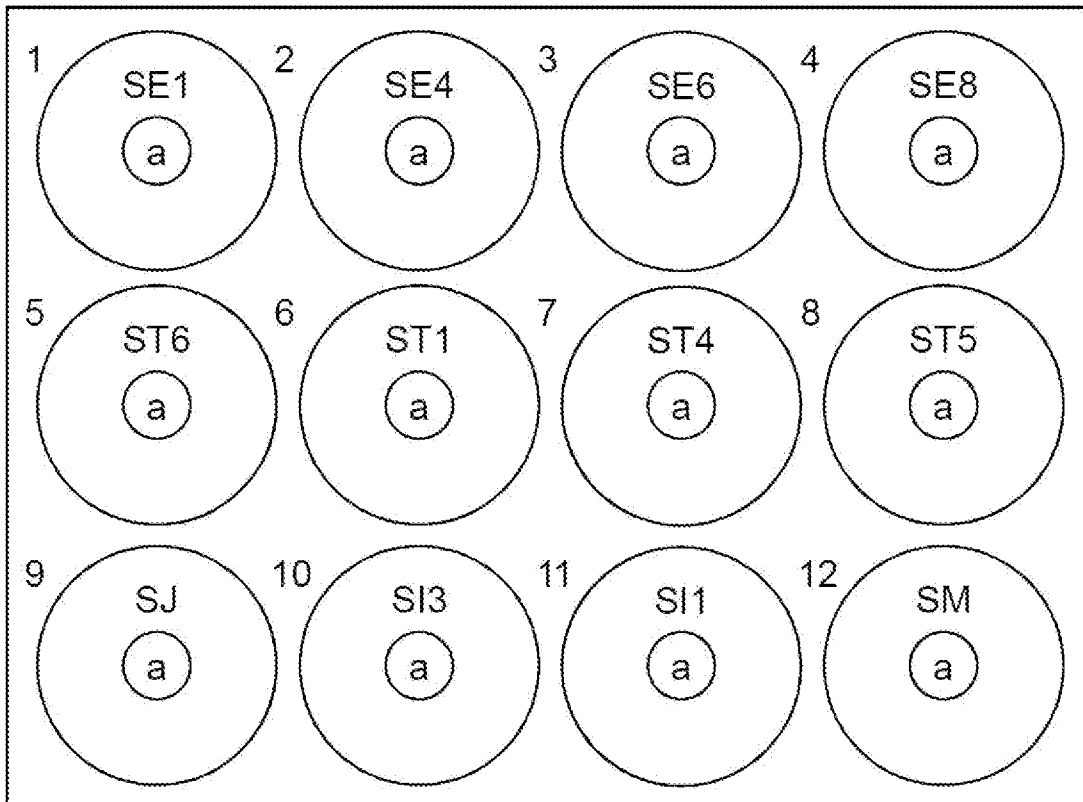


[図9]

A

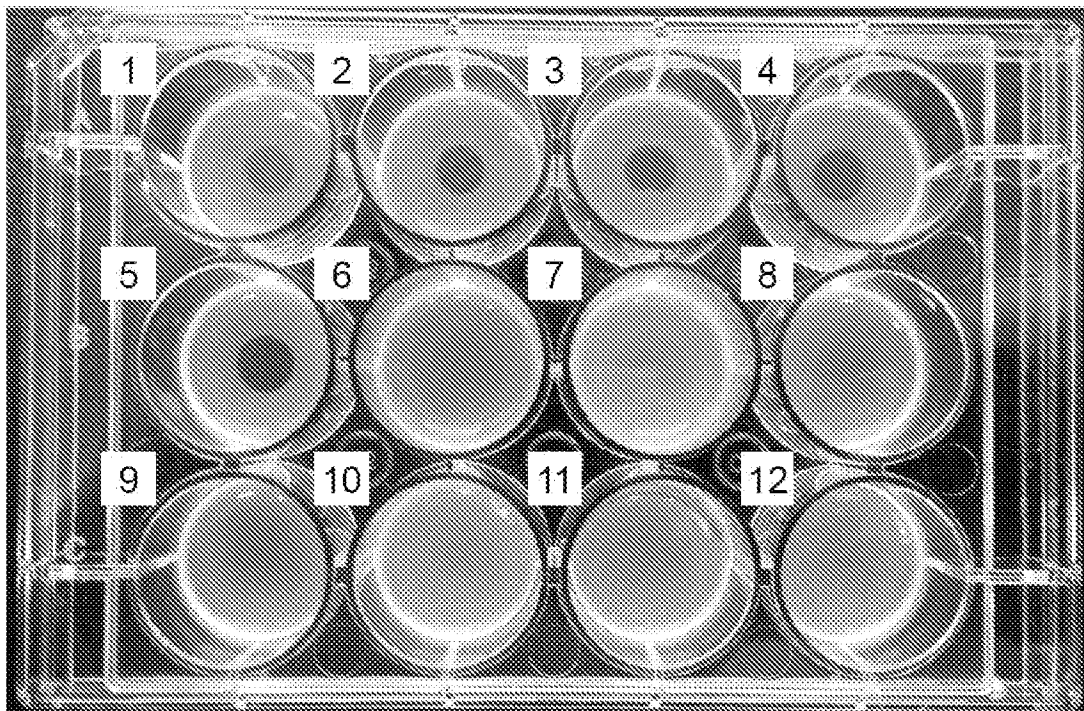


B

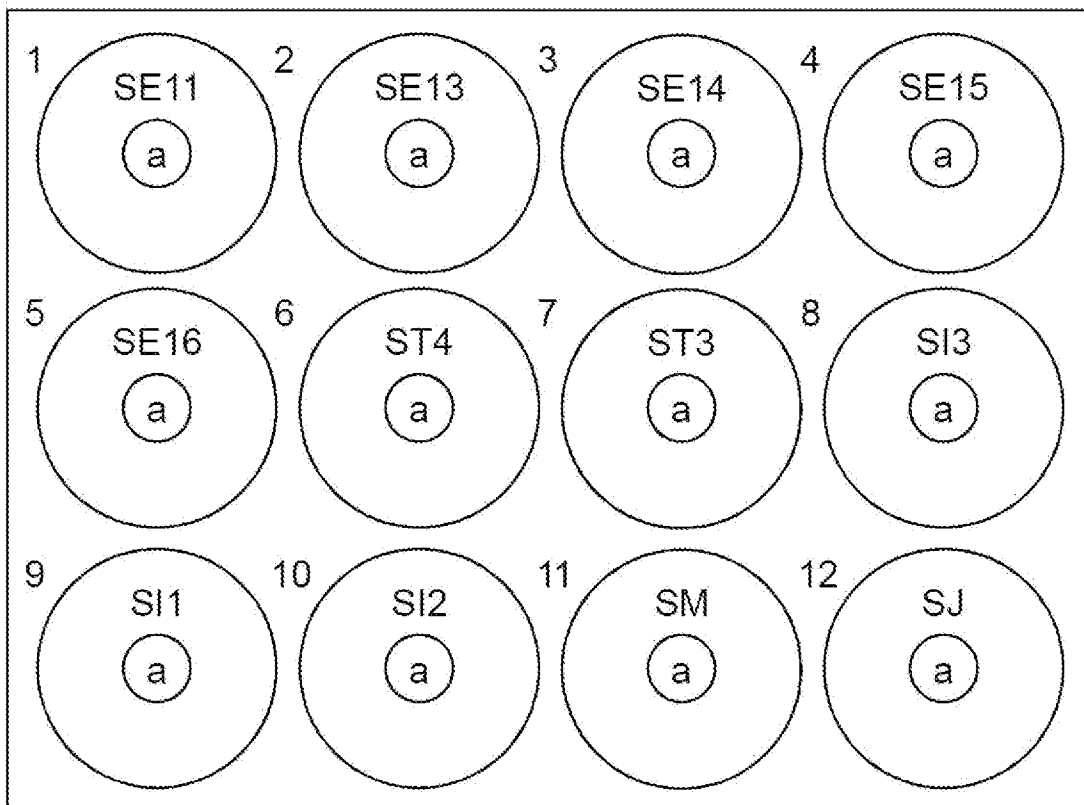


[図10]

A



B



[X 11]

Query range 1: 1 to 150

Query	1	MSFFAGKYTGKTVLSLNRASGGDINVHYSPNTNSIFHSDMPHFVKRRFQVGLGNAGNGYFTGALPSDL SYLLANRAVITLPVLVIRDNADGTEYHGMITGIGRNSTYRWRNL YENISIWGQYTGSIQFDLNL EWGYYKGGAVNDQIG	150
HCH9411546.1	1I.....	150
YP_009966103.1	1I.....	150
YP_009194791.1	1I.....S.....	150
YP_009806053.1	1I.....S.....A.....	150

Query range 2: 151 to 300

Query	151	NYGTGGHIFDHEGGEDYVADAYVDLAGGHIYQWRDPQDNYNTNIPRAGSRPTMNYEDSGLVNPDPYHPLGPFSSYDVAIVRAGGARGATGMGDPNSYGNIAIKYRDLDFPYQIPMANISSAYNTAGAEHYANGRMISGFSEYV	300
HCH9411546.1	151T.....A.....Y.....V.....N.....L.....A.....	300
YP_009966103.1	151T.....A.....Y.....V.....N.....L.....A.....	300
YP_009194791.1	151T.....A.....Y.....V.....N.....L.....A.....	300
YP_009806053.1	151H.....S.....Y.....N.....	300

Query range 3: 301 to 450

Query	301	YPFTPRMEYLVNVTEDNYNGYSAEMLFTGNDIKAKDSFTIKGVDLRNTNYEMLAAVSTGTPSISNIFYSSNVFAWSSTEMDGGAFRFGANAWGGLKGFSGSNTGSTVGNSTPWNIGLYRLPQWNSHTEINSPONKTAINGVDIHSR	450
HCH9411546.1	301S.....	450
YP_009966103.1	301S.....	450
YP_009194791.1	301S.....	450
YP_009806053.1	301S.....	450

Query range 4: 451 to 600

Query	451	NVRPLQLFTQMKANNITLGDNGRL YPMAYGETRLINTVDVGLGGSPPEPSTILLSIEMNGSLCQTDGDVNMQRIGNNAASGAGSPYVGAARRLTKYDYDAGDGVSHQIYVLLHTNTFVPLITNTTSYAGGAAGAPRNKQYYIRKNASN	600
HCH9411546.1	451H.....G.....G.....	600
YP_009966103.1	451H.....G.....G.....	600
YP_009194791.1	451H.....G.....G.....I.....	600
YP_009806053.1	451P.....L.....F.....Y.....	600

Query range 5: 601 to 637

Query	601	ILEFNTSRALPNISGLSNYSYTPWVQYHKLRLNIGRLT	637
HCH9411546.1	601P.....	637
YP_009966103.1	601P.....	637
YP_009194791.1	601P.....	637
YP_009806053.1	601P.....R.....	637


[12A]

Query range 1: 1 to 150

Query	1	MSSGGDVMNSLNDLQAKKHQIFAEVITGKGGVAGGADIDYATHPVTGQTOKTLPVLRGAGFSPASFNFTGGTLGWNADKAVLHPKEDGGGNYAIRGSLPKVTPAASPLATGGISDSANDAFGDIIFREADKKFKYSKLS	150
UXE05692.1	1	A.....S.....	150
YP_010582355.1	1	G.....	150
YP_010582256.1	1	G.....Q.....	150
UGC97882.1	1	E.....S.....	150
YP_010582462.1	1	V.....D.....A.....F.....	150
URGI7609.1	1	E.....S.....	150
QWZ7666.1	1	V.....D.....A.....F.....	150
ANY03030.1	1	L.....Q.....	150
UJP30002.1	1	L.....Q.....I..N.....I.....	150
USL89603.1	1	L.....Q.....I..N.....I.....V.....	150
QNI20443.1	1	L.....Q.....I..N.....I.....V.....	150
YP_010582402.1	1	IT.....L.....A.....Q..L.....D.....I.....S..I.....V.....	150
YP_010582173.1	1	IT.....L.....A.....Q..L.....D.....I.....S..I.....V.....	150
QMS41869.1	1	L.....V.....Q.....AD.....I.....V.....I.....V.....	150

Query range 2: 151 to 300

Query	151	DFTLQQLADAAYDSVLIDRDVNFSSNETWVFGGKTLTIDCKAKFIDGALIFTMNGSSVIEKPFMESATTPWVYPTEDGKWI TDAGAAATLKSKTEGYGQVNDWVWVFPLEALIPONVKDQHVASTLDIRECVGIEVRSAGIL	300
UXE05692.1	151	A.....A.....	300
YP_010582355.1	151	A.A.G.....I.....	300
YP_010582256.1	151	A.I.G.....I.....	300
UGC97882.1	151	I.I.G.....V.....A.....	300
YP_010582462.1	151	I.I.G.....V.....A.....	300
URGI7609.1	151	I.I.G.....V.....A.....	300
QWZ7666.1	151	I.I.G.....V.....A.....	300
ANY03030.1	151	I.I.G.....V.....A.....	300
UJP30002.1	151	I.I.G.....V.....A.....	300
USL89603.1	151	I.I.G.....V.....A.....I.....	300
QNI20443.1	151	I.I.G.....V.....A.....	300
YP_010582402.1	151	A.I.G.....I.....	300
YP_010582173.1	151	I.I.G.....V.....	300
QMS41869.1	151	I.I.G.....R..V.....A.....	300

[12C]

Query range 5: 601 to 684

Query	601	684
UXE05692.1	601	684
YP_010582355.1	601	684
YP_010582256.1	601	684
UG097882.1	601	684
YP_010582462.1	601	684
URG17609.1	601	684
QWZ7666.1	601	684
ANY03030.1	601	684
LUP30002.1	601	684
USL89603.1	601	684
QNI20443.1	601	684
YP_010582402.1	601	684
YP_010582173.1	601	684
QMS41869.1	601	684

T L N G P G S S A M T E T A I S G S L P D A V S L K I N R G D Y H A V E I P V A V T V L P D A A V R D N G S I S L Y L E G D S L K A L Y K R A D G S Y T R L T L A
 A N
 A
 A
 A N
 A N
 V I N
 V I N
 A D
 D
 D
 S
 A N
 A N

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/013049**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

C12N 7/00(2006.01)i; **A01N 63/40**(2020.01)i; **A01P 1/00**(2006.01)i; **A01P 3/00**(2006.01)i; **A23K 10/16**(2016.01)i; **A23L 33/10**(2016.01)i; **A61K 35/76**(2015.01)i; **A61P 31/04**(2006.01)i; **A61P 43/00**(2006.01)i; **C12Q 1/70**(2006.01)i; **C12N 15/33**(2006.01)n

FI: C12N7/00 ZNA; A01N63/40; A01P1/00; A01P3/00; A23K10/16; A23L33/10; A61K35/76; A61P31/04; A61P31/04 171; A61P43/00 121; C12Q1/70; C12N15/33

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N7/00; A01N63/40; A01P1/00; A01P3/00; A23K10/16; A23L33/10; A61K35/76; A61P31/04; A61P43/00; C12Q1/70; C12N15/33

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

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

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN); GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq; UniProt/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	UniProtKB. Accession No. A0A0A7TXK0, [online]. [retrieved on 04 June 2024]. 04 March 2015, Retrieved from the Internet: <URL: https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A0A7TXK0/entry > in particular, Sequence	1-3
Y		4-17
X	UniProtKB. Accession No. A0A2Z5HST2, [online]. [retrieved on 04 June 2024]. 10 October 2018, Retrieved from the Internet: <URL: https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A2Z5HST2/entry > in particular, Sequence	1-3
Y		4-17

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
“D” document cited by the applicant in the international application
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

04 June 2024

Date of mailing of the international search report

18 June 2024

Name and mailing address of the ISA/JP

**Japan Patent Office (ISA/JP)
3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915
Japan**

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/013049

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MUTUSAMY, P. et al. Phenotypic Characterization and Comparative Genomic Analysis of Novel Salmonella Bacteriophages Isolated from a Tropical Rainforest. International Journal of Molecular Sciences. 12 February 2023, vol. 24, 3678 (1-15 and Supplementary) abstract, table 1, fig. 1-7	4-17
Y	JP 2014-217336 A (SARAYA KK) 20 November 2014 (2014-11-20) claims, examples	4-17
Y	JP 2015-525061 A (MICREOS B.V.) 03 September 2015 (2015-09-03) claims, examples	4-17
Y	JP 2022-503765 A (UNIVERSITY OF LEICESTER) 12 January 2022 (2022-01-12) claims, examples	4-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/013049

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed.
 - b. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
 accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2024/013049

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP	2014-217336	A	20 November 2014	(Family: none)	
JP	2015-525061	A	03 September 2015	US 2015/0125424 claims, examples	A1
				WO 2013/169102	A1
				EP 2847323	A1
JP	2022-503765	A	12 January 2022	US 2022/0073885 claims, examples	A1
				WO 2020/065302	A1
				EP 3856215	A1

<p>A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））</p> <p>C12N 7/00(2006.01)i; A01N 63/40(2020.01)i; A01P 1/00(2006.01)i; A01P 3/00(2006.01)i; A23K 10/16(2016.01)i; A23L 33/10(2016.01)i; A61K 35/76(2015.01)i; A61P 31/04(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; C12Q 1/70(2006.01)i; C12N 15/33(2006.01)n FI: C12N7/00 ZNA; A01N63/40; A01P1/00; A01P3/00; A23K10/16; A23L33/10; A61K35/76; A61P31/04; A61P31/04 171; A61P43/00 121; C12Q1/70; C12N15/33</p>																	
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））</p> <p>C12N7/00; A01N63/40; A01P1/00; A01P3/00; A23K10/16; A23L33/10; A61K35/76; A61P31/04; A61P43/00; C12Q1/70; C12N15/33</p> <p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922 - 1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971 - 2024年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996 - 2024年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994 - 2024年</td> </tr> </table> <p>国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）</p> <p>JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN); GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq; UniProt/GeneSeq</p>			日本国実用新案公報	1922 - 1996年	日本国公開実用新案公報	1971 - 2024年	日本国実用新案登録公報	1996 - 2024年	日本国登録実用新案公報	1994 - 2024年							
日本国実用新案公報	1922 - 1996年																
日本国公開実用新案公報	1971 - 2024年																
日本国実用新案登録公報	1996 - 2024年																
日本国登録実用新案公報	1994 - 2024年																
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>UniProtKB, Accession No. A0A0A7TXK0, [online], [retrieved on 2024.06.04], 2015.03.04, Retrieved from the Internet: <URL: https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A0A7TXK0/entry> Especially, Sequence</td> <td>1-3</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td></td> <td>4-17</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>UniProtKB, Accession No. A0A2Z5HST2, [online], [retrieved on 2024.06.04], 2018.10.10, Retrieved from the Internet: <URL: https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A2Z5HST2/entry> Especially, Sequence</td> <td>1-3</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td></td> <td>4-17</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	X	UniProtKB, Accession No. A0A0A7TXK0, [online], [retrieved on 2024.06.04], 2015.03.04, Retrieved from the Internet: <URL: https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A0A7TXK0/entry> Especially, Sequence	1-3	Y		4-17	X	UniProtKB, Accession No. A0A2Z5HST2, [online], [retrieved on 2024.06.04], 2018.10.10, Retrieved from the Internet: <URL: https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A2Z5HST2/entry> Especially, Sequence	1-3	Y		4-17
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号															
X	UniProtKB, Accession No. A0A0A7TXK0, [online], [retrieved on 2024.06.04], 2015.03.04, Retrieved from the Internet: <URL: https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A0A7TXK0/entry> Especially, Sequence	1-3															
Y		4-17															
X	UniProtKB, Accession No. A0A2Z5HST2, [online], [retrieved on 2024.06.04], 2018.10.10, Retrieved from the Internet: <URL: https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A2Z5HST2/entry> Especially, Sequence	1-3															
Y		4-17															
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>																	
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの</p> <p>“D” 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献</p> <p>“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</p> <p>“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）</p> <p>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献</p> <p>“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</p> <p>“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</p> <p>“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</p> <p>“&” 同一パテントファミリー文献</p>																	
<p>国際調査を完了した日</p> <p>04.06.2024</p>	<p>国際調査報告の発送日</p> <p>18.06.2024</p>																
<p>名称及びあて先</p> <p>日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>	<p>権限のある職員（特許庁審査官）</p> <p>福間 信子 4B 3539</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3488</p>																

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	MUTUSAMY P. et al., Phenotypic Characterization and Comparative Genomic Analysis of Novel Salmonella Bacteriophages Isolated from a Tropical Rainforest, International Journal of Molecular Sciences, 2023.02.12, vol. 24, 3678 (1-15 and Supplementary) Abstract, Table 1 and Figures 1-7	4-17
Y	JP 2014-217336 A (サラヤ株式会社) 20.11.2014 (2014 - 11 - 20) 特許請求の範囲, 実施例	4-17
Y	JP 2015-525061 A (マイクロオス ビー. ブイ.) 03.09.2015 (2015 - 09 - 03) 特許請求の範囲, 実施例	4-17
Y	JP 2022-503765 A (ユニバーシティ オブ レスター) 12.01.2022 (2022 - 01 - 12) 特許請求の範囲, 実施例	4-17

第 I 欄 ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第 1 ページの 1. c の続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。
 - a. 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
 - b. 国際出願日後に、国際調査のために提出された配列表（PCT規則13の3.1(a）
 配列表が出願時の国際出願の開示の範囲を超えるものではない旨の陳述書が添付されていた。
2. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、この国際調査報告は、WIPO標準ST.26に準拠する配列表なしで有意義な国際調査をすることができる限度において作成された。
3. 補足意見：

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2024/013049

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2014-217336 A	20.11.2014	(ファミリーなし)	
JP 2015-525061 A	03.09.2015	US 2015/0125424 A1 Claims and Examples WO 2013/169102 A1 EP 2847323 A1	
JP 2022-503765 A	12.01.2022	US 2022/0073885 A1 Claims and Examples WO 2020/065302 A1 EP 3856215 A1	