



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I749120 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 12 月 11 日

(21)申請案號：106143628

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 12 月 12 日

(51)Int. Cl. : *A61K35/74 (2015.01)* *A61P1/00 (2006.01)*
A61P37/02 (2006.01) *A61P37/08 (2006.01)*
A61P37/00 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*
C12N1/20 (2006.01) *C12R1/00 (2006.01)*

(30)優先權：2016/12/12 英國 1621123.7

(71)申請人：英商 4D 製藥有限公司 (英國) 4D PHARMA PLC (GB)
英國(72)發明人：傑佛瑞 伊恩 JEFFERY, IAN (IE)；沙納 費格斯 SHANAHAN, FERGUS (IE)；
奧托爾 保羅 OTOOLE, PAUL (IE)；史蒂芬森 艾利克斯 STEVENSON, ALEX
(GB)；慕得 映姆科 MULDER, IMKE (NL)；薩維耶 埃萊娜 SAVIGNAC,
HELENE (FR)

(74)代理人：陳長文

(83)生物材料寄存：

食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心 BCRC 910744 2016 年 09 月 20 日

食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心 BCRC 910745 2016 年 09 月 20 日

(56)參考文獻：

US 2010316617A1

4d Pharma Plc: "Clinical Update - RNS - London Stock Exchange", 19
July 2016, [http://www.londonstockexchange.com/exchange/news/
market-news/market-news-detail/DDDD/12896979.html](http://www.londonstockexchange.com/exchange/news/market-news/market-news-detail/DDDD/12896979.html)DINO MUSTAFIĆ, "4D pharma's Blautix for Irritable Bowel Syndrome
shows positive impact", December 13, 2016, pharmaceutical daily,
[https://pharmaceuticaldaily.com/4d-pharmas-blautix-for-irritable-
bowel-syndrome-shows-positive-impact/](https://pharmaceuticaldaily.com/4d-pharmas-blautix-for-irritable-bowel-syndrome-shows-positive-impact/)

審查人員：王顥棟

申請專利範圍項數：13 項 圖式數：10 共 93 頁

(54)名稱

包含細菌品系之組合物

(57)摘要

本文提供了包含布勞特氏菌屬之細菌品系之組合物，其用於增加受試者之微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性的方法中。

Provided are compositions comprising a bacterial strain of the genus *Blautia*, for use in a method of increasing the microbiota diversity and/or inducing stability of the microbiota of a subject.

指定代表圖：





I749120

【發明摘要】

【中文發明名稱】 包含細菌品系之組合物

【英文發明名稱】 COMPOSITIONS COMPRISING BACTERIAL STRAINS

【中文】

本文提供了包含布勞特氏菌屬之細菌品系之組合物，其用於增加受試者之微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性的方法中。

【英文】

Provided are compositions comprising a bacterial strain of the genus *Blautia*, for use in a method of increasing the microbiota diversity and/or inducing stability of the microbiota of a subject.

【指定代表圖】 圖 2

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 包含細菌品系之組合物

【英文發明名稱】 COMPOSITIONS COMPRISING BACTERIAL STRAINS

【技術領域】

【0001】 本發明處於包含自哺乳動物消化道分離之細菌品系的組合物及此類組合物在治療疾病中之用途的領域。

【先前技術】

【0002】 認為人類腸在子宮內為無菌的，但在出生後立即暴露於多種多樣的母體及環境微生物。此後，微生物區移生及演替之動態期發生，其受諸如分娩方式、環境、飲食及宿主基因型之因素影響，所有該等因素皆影響腸微生物區之組成，特別是在生命早期。隨後，微生物區穩定，且變得像成人一樣[1]。人類腸微生物區含有在豐度水準上由兩個主要細菌分類(門)即擬桿菌門及厚壁菌門佔主導地位的多於 1500 種不同的演化型[2]。由人類腸之細菌移生引起的成功共生關係已經產生廣泛多種代謝、結構、保護及其他有益功能。經移生之腸之代謝活動增強確保否則難消化之膳食組分降解，同時伴有副產物之釋放，由此提供用於宿主之重要營養源及另外的健康益處。類似地，腸微生物區之免疫學重要性為公認的，且在免疫系統受損之無菌動物中例證，該免疫系統在引入共生細菌後在功能上復原[3-5]。

【0003】 已在胃腸病症諸如炎症性腸病(IBD)中記錄微生物區組成之顯著變化。例如，在 IBD 受試者中，梭菌屬群集 XIVa 細菌之水準降低，而大腸桿菌之數目增加，提示腸內共生生物與致病生物(pathobiont)之平衡的偏移[6-9, 18]。

【0004】 鑒於某些細菌品系可對動物腸具有潛在的積極作用，已提出將不同品系用於治療各種疾病(參見，例如[10-13])。已提出將許多品系(包括大多數乳桿菌及雙叉桿菌品系)用於治療各種腸病症(參見[14]之綜述，且參見[15])。參考

文獻[16]提出使用布勞特氏菌(*Blautia*)屬之品系以用於調節消化生態系之微生物平衡。在參考文獻 16 之上下文中，調節係指促進產乙酸細菌群落之活性以不利於產甲烷細菌及硫還原細菌。因此，此文獻僅教導產乙酸細菌之增加。不存在關於屬於許多分類群之物種的多樣性之論述。參考文獻[17]論述使用布勞特氏菌以改善受移植物抗宿主病(GVDH)影響之患者的存活。該參考文獻提及，細菌多樣性增加與 GVDH 相關之死亡率降低有關，且布勞特氏菌屬之細菌量的增加與 GVDH 的減少有關。然而，未提及向患者投與布勞特氏菌實現微生物區多樣性的增加及/或誘導受試者中微生物區之穩定性。

【0005】 不同細菌品系與不同疾病之間的關係，以及特定細菌品系對腸及在全身水準下及對任何特定類型疾病之確切作用尚未充分表徵，且結果迄今仍為變數並且提出的問題要多於提供的答案[18]。

【0006】 與微生物區變更相關聯的許多人類疾病之標誌為微生物區多樣性之損失。與僅僅為相較於健康受試者之一般聚集微生物區變更的微生物區組成的所謂生態失衡不同，微生物區多樣性之損失可藉由樣本中基於序列之細菌分類或操作分類單元(OTU)之數目的可量測之減少來量化，其數目的可量測之減少通常係藉由 16S rRNA 擴增子定序方法來判定。多樣性之損失亦藉由夏農氏多樣性(Shannon Diversity)指數或趙氏指數(Chao index)之減小來量測。在針對肥胖、炎症腸病(IBD)、腸躁症候群(IBS)、2 型糖尿病及孱弱的老年人之近期研究中報導微生物區多樣性之降低[20]。由於腸道中之細菌對移生有耐受性，故重建健康的微生物區可為困難的。當試圖藉由增加微生物區之多樣性來治療不健康受試者之微生物區時，此情況提出了挑戰[19]。微生物代謝功能之伴隨損失被假定為此等病理生理學症狀之促成因素。與微生物區穩定的健康成人相對照，不健康受試者(諸如罹患 IBD、IBS 之彼等受試者)及孱弱的老年受試者之微生物區係不穩定的[18, 20]。

【0007】 需要對腸道細菌之潛在作用進行表徵，以便可開發使用腸道細菌之新療法。

【發明內容】

【0008】 本發明人已開發藉由增加或維持受試者之腸微生物區多樣性來治療及預防疾病及病症的新療法。詳言之，本發明人已鑒別，來自布勞特氏菌屬之細菌品系可有效增加或維持受試者之遠端腸道中不同類型之細菌的數目及/或均勻性。如實例中所述，口服投與包含產氫營養型布勞特氏菌 (*Blautia hydrogenotrophica*) 之組合物增加糞便中的微生物區多樣性。在健康受試者及 IBS 受試者中見到此多樣性的增加。然而，在研究過程期間，接受安慰劑之 IBS 受試者具有統計學顯著的微生物組多樣性減少。另外，實例顯示，在整個研究過程中，用包含產氫營養型布勞特氏菌之組合物而非安慰劑進行的治療提高 IBS 受試者之微生物區的穩定性。接受包含產氫營養型布勞特氏菌之組合物的受試者之微生物區的穩定性與健康對照受試者之微生物區的穩定性相當。

【0009】 因此，在第一實施例中，本發明提供一種包含布勞特氏菌屬之細菌品系的組合物，該組合物用於增加或維持微生物區多樣性之方法中。類似地，亦提供一種增加或維持受試者之微生物區多樣性的方法，該方法包含使用布勞特氏菌屬之細菌品系。

【0010】 術語「增加或維持微生物區多樣性」在本文中用於意指增加或維持受試者之微生物區中不同類型的細菌之數目及/或不同類型的細菌之均勻性。在一些實施例中，增加微生物區多樣性。在一些實施例中，增加微生物區中細菌的不同屬之數目。在一些實施例中，增加微生物區中細菌的不同種之數目。在一些實施例中，增加微生物區中細菌的不同品系之數目。在一些實施例中，維持微生物區多樣性。在一些實施例中，維持微生物區中細菌的不同屬之數目。在一些實施例中，維持微生物區中細菌的不同種之數目。在一些實施例中，維

持微生物區中細菌的不同品系之數目。在一些實施例中，增加或維持微生物區中的屬、種及品系之數目。

【0011】 微生物區多樣性之增加可針對非產乙酸細菌。其亦可能針對產乙酸細菌及非產乙酸細菌兩者。此類細菌為此項技術中熟知的。簡言之，產乙酸細菌產生乙酸鹽作為厭氧呼吸或發酵之終產物。

【0012】 在一些實施例中，微生物區多樣性之損失、增加或維持可分別藉由樣本中基於序列之細菌分類或操作分類單位(OTU)之數目的可量測之減少、增加或維持來量化，一般藉由 16S rRNA 擴增子定序方法來判定。在一些實施例中，多樣性之損失可藉由夏農氏多樣性指數或趙氏指數之減小來量測。相反，在一些實施例中，多樣性之增加可藉由夏農氏多樣性指數或趙氏指數之增加來量測。類似地，在一些實施例中，多樣性之維持可藉由夏農氏多樣性指數或趙氏指數之相同結果來量測。

【0013】 在一些實施例中，增加細菌的不同類型之均勻性。在一些實施例中，在用本發明之組合物治療或預防後，微生物區中細菌的不同類型之相對豐度變得更均勻。

【0014】 本發明人亦已開發用於藉由誘導腸微生物區之穩定性來治療及預防疾病及病症的新療法。特別地，本發明人已經鑒別，來自布勞特氏菌屬之細菌品系誘導腸微生物區之穩定性。「誘導穩定性」意指微生物區多樣性保持穩定，且微生物區中不同屬之相對數目亦保持穩定。這係重要的，因為多種疾病及病症(包括 IBS 及 IBD)之特徵在於微生物區之穩定性減少。如實例中所述，口服投與包含產氫營養型布勞特氏菌的組合物誘導糞便中微生物區之穩定性。因此，在進一步實施例中，本發明提供一種包含布勞特氏菌屬之細菌品系的組合物，該組合物用於誘導受試者之微生物區之穩定性的方法中。類似地，亦提

供一種誘導受試者之微生物區之穩定性的方法，該方法包含使用布勞特氏菌屬之細菌品系。

【0015】 在一些實施例中，例如在經診斷患有特徵為微生物區之多樣性減少的疾病或病症的受試者中，在用本發明之組合物治療或預防後，受試者之微生物區中不同細菌種之相對數目變得更穩定。在一些實施例中，例如在經診斷患有特徵為微生物區之多樣性減少的疾病或病症的受試者中，在用本發明之組合物治療或預防後，受試者之微生物區中不同細菌屬之相對數目變得更穩定。受試者之微生物區之穩定性可藉由在兩個不同的時間點時比較來自受試者之微生物區來評估。若存在微生物組之差異，則此可指示疾病或病症存在。在一些實施例中，兩個不同的時間點相隔至少三天(例如，相隔至少 1 週、2 週、1 個月、3 個月、6 個月、1 年、2 年)。在一些實施例中，兩個不同的時間點相隔 3-7 天、相隔 1-2 週、相隔 2-4 週、相隔 4-8 週、相隔 8-24 週、相隔 24-40 週、相隔 40-52 週或相隔多於 52 週。在一些實施例中，使用多於兩個不同的時間點，例如，三、四、五或多於五個時間點。例如，如以上所陳述，選擇不同時間點之間的合適間隔。

【0016】 在本發明之所有態樣之較佳實施例中，細菌品系屬於產氫營養型布勞特氏菌，且較佳為以登錄號 DSM 10507/14294 寄存之細菌。

【0017】 在一些實施例中，微生物區多樣性及/或微生物區之穩定性係指受試者之糞便中微生物區多樣性及/或穩定性。在一些實施例中，微生物區多樣性及/或微生物區之穩定性係指來自受試者之糞便樣本中微生物區多樣性及/或穩定性。在一些實施例中，微生物區多樣性及/或微生物區之穩定性係指受試者之遠端腸道中微生物區多樣性及/或穩定性。在一些實施例中，微生物區多樣性及/或微生物區之穩定性係指受試者之胃腸道中微生物區多樣性及/或穩定性。在一些實施例中，微生物區多樣性及/或微生物區之穩定性係指盲腸中微生物區多樣

性及/或穩定性。在一些實施例中，微生物區多樣性及/或微生物區之穩定性係指結腸中微生物區多樣性及/或穩定性。

【0018】 在一些實施例中，本發明提供一種包含布勞特氏菌屬之細菌品系的組合物，該組合物係用於治療或預防與相對於健康受試者之微生物區多樣性而言微生物區多樣性之水準降低相關的疾病或病症之方法中。在一些實施例中，使用本發明之組合物進行的治療或預防導致微生物區多樣性增至健康個體中存在之水準。在一些實施例中，使用本發明之組合物進行的治療或預防導致微生物區多樣性增至比一些健康個體中存在之彼等水準更高的水準。在一些實施例中，健康個體與受試者具有相似/相同的年齡且/或與受試者具有相似/相同的種族。類似地，本發明亦提供一種治療或預防與相對於健康受試者之微生物區多樣性而言微生物區多樣性之水準降低相關的疾病或病症的方法，其中該方法包含投與包含布勞特氏菌屬之細菌品系之組合物。與微生物區多樣性之水準降低相關的疾病或病症之實例包括但不限於：IBS、IBD [21]、肥胖症[22]、2 型糖尿病、感染性疾病、過敏性疾病、自體免疫疾病及代謝疾病/病症。此等疾病及病症之治療或預防係由本發明涵蓋。在一些實施例中，疾病或病症為 IBS。

【0019】 在一些實施例中，受試者為分別與健康嬰兒或兒童相比具有減少的微生物區多樣性之嬰兒或兒童。已觀察到，後來在生命中發展過敏性疾病之一些兒童如同 1 週齡嬰兒一樣具有減少的糞便微生物區多樣性[23]。因此，在一些實施例中，嬰兒小於 1 週齡、小於 2 週齡、小於一月齡、小於兩月齡或小於四月齡。在一些實施例中，受試者為未經由陰道生產分娩之嬰兒。例如，在一些實施例中，受試者為已藉由剖腹生產術分娩之嬰兒。亦已報導孱弱的老年受試者中之微生物區多樣性的減少。因此，在一些實施例中，受試者為老年受試者，例如孱弱的老年受試者。在一些實施例中，受試者之年齡為 65 歲或更大

(例如，70 歲或更大、75 歲或更大、80 歲或更大、85 歲或更大、或 90 歲或更大年齡) [20]。

【0020】 據估計，單個人類個體在其微生物區中具有大約 101 個不同的細菌種及 195 個不同的品系[24]。因此，在一些實施例中，組合物係用於治療在其微生物區中具有少於 101 個不同的細菌種(例如，小於 100、99、98、97、96、95、94、93、92、91、90、85、80、75 或 70 個細菌種)及/或少於 195 個不同的品系(例如，小於 194、193、192、191、190、189、188、187、186、185、183、180、175、170、165、160、150、140 個細菌品系)之受試者。在一些實施例中，治療或預防使得微生物區多樣性增至多於 80 個細菌種(例如，多於 85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99 或 100 個細菌種)或增至 101 個細菌種。例如，在一些實施例中，治療或預防使得微生物區多樣性增至多於 90 個細菌種。例如，在一些實施例中，治療或預防使得微生物區多樣性增至多於 95 個細菌種。例如，在一些實施例中，治療或預防使得微生物區多樣性增至多於 97 個細菌種。例如，在一些實施例中，治療或預防使得微生物區多樣性增至多於 99 個細菌種。在一些實施例中，治療或預防使得微生物區多樣性增至多於 160 個細菌品系(例如，多於 165、170、185、186、187、188、189、190、191、192、193 或 194 個細菌種)或增至 195 個細菌品系。例如，在一些實施例中，治療或預防使得微生物區多樣性增至多於 175 個細菌品系。例如，在一些實施例中，治療或預防使得微生物區多樣性增至多於 185 個細菌品系。例如，在一些實施例中，治療或預防使得微生物區多樣性增至多於 190 個細菌品系。

【0021】 在一些實施例中，治療或預防使得微生物區多樣性增加了至少一個細菌屬(例如，至少二、三、四、五、六、七、八、九或十個細菌屬)。在一些實施例中，治療或預防使得微生物區多樣性增加了至少一個細菌種(例如，至少

二、三、四、五、六、七、八、九、十、12、15、17 或 20 個細菌種)。在一些實施例中，治療或預防使得微生物區多樣性增加了至少一個細菌品系(例如，至少二、三、四、五、六、七、八、九、十、12、15、17、20 或 25 個細菌品系)。

【0022】 在一些實施例中，本發明提供一種包含布勞特氏菌屬之細菌品系的組合物，該組合物係用於治療或預防與相較於健康受試者之微生物區穩定性(或相較於健康受試者之群體)而言微生物區穩定性降低相關的疾病或病症之方法中。「微生物區之穩定性降低」意指微生物區多樣性不像健康受試者或健康受試者之群體中所觀察到的穩定性一樣保持穩定，且微生物區中不同屬之相對數目亦不像其一樣保持穩定。在一些實施例中，誘導微生物區之穩定性造成穩定性經誘導至與健康受試者或健康受試者之群體中存在的水準相似之水準。在一些實施例中，誘導微生物區之穩定性造成穩定性經誘導至與健康受試者或健康受試者之群體中存在的水準相同之水準。類似地，本發明提供一種治療或預防與微生物區之穩定性降低相關的疾病或病症的方法，其中該方法包含投與包含布勞特氏菌屬之細菌品系之組合物。例如，一些疾病或病症之發病機理之特徵為微生物區之穩定性降低。此類疾病及病症之實例為 IBS、IBD、糖尿病(例如，2 型糖尿病)、過敏性疾病、自體免疫疾病及代謝疾病/病症。因此，在一些實施例中，本發明提供一種包含布勞特氏菌屬之細菌品系的組合物，該組合物係用於治療或預防與微生物區之穩定性降低相關的疾病或病症之方法中，其中該治療或預防包含誘導微生物區之穩定性。在一些實施例中，疾病或病症係選自 IBS、IBD、糖尿病(例如，2 型糖尿病)、過敏性疾病、自體免疫疾病及代謝疾病/病症。在一些實施例中，疾病或病症為 IBS 或 IBD。在一些實施例中，疾病或病症為 IBS。因此，在一些實施例中，本發明提供一種包含布勞特氏菌屬

之細菌品系的組合物，該組合物係用於治療或預防 IBS 或 IBD 之方法中，其中該治療或預防包含誘導微生物區之穩定性。

【0023】 在一些實施例中，本發明提供一種治療或預防與相對於健康受試者之微生物區多樣性而言微生物區多樣性之水準降低相關的疾病或病症的方法，其中該方法包含診斷受試者為具有降低水準之微生物區多樣性，且接著若發現存在降低水準之多樣性，則向受試者投與包含布勞特氏菌屬之細菌品系的組合物。

【0024】 在一些實施例中，本發明提供一種治療或預防與相對於健康受試者之微生物區穩定性而言微生物區穩定性降低相關的疾病或病症的方法，其中該方法包含診斷受試者為具有降低的微生物區穩定性，且接著若發現存在降低的穩定性，則向受試者投與包含布勞特氏菌屬之細菌品系的組合物。

【0025】 在本發明之較佳實施例中，組合物中之細菌品系屬於產氫營養型布勞特氏菌。亦可使用密切相關之品系，諸如具有與產氫營養型布勞特氏菌之細菌品系之 16s rRNA 序列至少 97%、98%、99%、99.5%或 99.9%一致的 16s rRNA 序列之細菌品系。較佳地，細菌品系具有與 SEQ ID NO:5 至少 97%、98%、99%、99.5%或 99.9%一致的 16s rRNA 序列。較佳地，細菌品系具有 SEQ ID NO:5 之 16s rRNA 序列。最佳地，組合物中之細菌品系為以登錄號 DSM 10507/14294 寄存之產氫營養型布勞特氏菌品系。

【0026】 在本發明之進一步實施例中，組合物中之細菌品系屬於糞便布勞特氏菌(*Blautia stercoris*)。亦可使用密切相關之品系，諸如具有與糞便布勞特氏菌之細菌品系之 16s rRNA 序列至少 97%、98%、99%、99.5%或 99.9%一致的 16s rRNA 序列之細菌品系。較佳地，細菌品系具有與 SEQ ID NO:1 或 3 至少 97%、98%、99%、99.5%或 99.9%一致的 16s rRNA 序列。較佳地，序列一致

性為相較於 SEQ ID NO:3 之序列一致性。較佳地，用於本發明之細菌品系具有由 SEQ ID NO:3 表示之 16s rRNA 序列。

【0027】 在本發明之進一步實施例中，組合物中之細菌品系屬於韋克斯勒布勞特氏菌(*Blautia wexlerae*)。亦可使用密切相關之品系，諸如具有與韋克斯勒布勞特氏菌之細菌品系之 16s rRNA 序列至少 97%、98%、99%、99.5%或 99.9%一致的 16s rRNA 序列之細菌品系。較佳地，細菌品系具有與 SEQ ID NO:2 或 4 至少 97%、98%、99%、99.5%或 99.9%一致的 16s rRNA 序列。較佳地，序列一致性為相較於 SEQ ID NO:4 之序列一致性。較佳地，用於本發明之細菌品系具有由 SEQ ID NO:4 表示之 16s rRNA 序列。

【0028】 在某些實施例中，本發明之組合物係用於口服投與。口服投與本發明之品系可有效增加微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性。再者，口服投與對於受試者及從業者較為方便，且允許傳遞至及/或部分或完全移生於腸。

【0029】 在某些實施例中，本發明之組合物包含一或多種醫藥學上可接受之賦形劑或載劑。

【0030】 在某些實施例中，本發明之組合物包含已凍乾之細菌品系。凍乾為用於製備允許細菌傳遞之穩定組合物的有效且方便的技術，且顯示在實例中提供有效的組合物。

【0031】 在某些實施例中，本發明提供一種包含如上所述之組合物的食物產品。

【0032】 在某些實施例中，本發明提供一種包含如上所述之組合物的疫苗組合物。

【0033】 另外，本發明提供一種增加微生物區多樣性及/或誘導微生物區穩定性從而治療或預防與減少的微生物區多樣性及/或降低的微生物區穩定性相關之疾病或病症的方法，該方法包含投與包含布勞特氏菌屬之細菌品系的組合物。

【圖式簡單說明】

【0034】 圖 1：健康患者與 IBS 患者之微生物區之比較。

【0035】 圖 2：健康患者與 IBS 患者在用 BlautiX 或安慰劑處理後第 16 日與第 1 日之間的微生物區多樣性之比較。

【0036】 圖 3：A)在 BlautiX 處理後第 1 日、第 16 日及研究結束時健康患者之微生物組之互連性，B)在 BlautiX 處理後第 1 日、第 16 日及研究結束時 IBS 患者之微生物組之互連性。圖 3A 中呈現的第 1 日、第 16 日及研究結束時所見的健康個體之互連性結果亦分別示於圖 3A1、圖 3A2 及圖 3A3 中。圖 3B 中呈現的第 1 日、第 16 日及研究結束時所見的 IBS 患者之互連性結果亦分別示於圖 3B1、圖 3B2 及圖 3B3 中。

【0037】 圖 4：在 A)第 16 日及第 1 日、B)研究結束及第 1 日以及 C)研究結束及第 16 日時用 BlautiX 或安慰劑處理後的健康患者與 IBS 患者之微生物區概況之不穩定性的比較。

【0038】 圖 5：健康患者與 IBS 患者在 BlautiX 處理後於不同時間點時的微生物區多樣性之比較。

【0039】 圖 6：A)在 BlautiX 處理後第 1 日、第 16 日及研究結束時健康患者之互斥網路，B)在 BlautiX 處理後第 1 日、第 16 日及研究結束時 IBS 患者之互斥網路。圖 6A 中呈現的第 1 日、第 16 日及研究結束時所見的健康個體之互斥結果亦分別示於圖 6A1、圖 6A2 及圖 6A3 中。圖 6B 中呈現的第 1 日、第 16 日及研究結束時所見的 IBS 患者之互斥結果亦分別示於圖 6B1、圖 6B2 及圖 6B3 中。

【0040】 圖 7：微生物區之階層群集。

【0041】 圖 8：基於 Bray-Curtis 相異性，Blautix 處理之前(D14)和之後(D32)微生物區概況的比較。

【0042】 圖 9：(A) 基於 Bray-Curtis 相異性，使用 PCoA，在 D-14 時不同組之微生物區概況之可視化。(B) 基於 Bray-Curtis 相異性，使用 PCoA，在 D14 時各組之微生物區概況之可視化。(C) 在各時間點之間可見 Blautix 組之微生物區概況之顯著差異(p 值=0.002)。

【0043】 圖 10：基於 Bray-Curtis 相異性，在研究時間點(D-14、D-1、D34)時 Blautix 處理之微生物區概況的比較。

【實施方式】

細菌品系

【0044】 本發明之組合物包含布勞特氏菌屬之細菌品系。該等實例證實，此屬之細菌適用於增加微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性。較佳細菌品系為產氫營養型布勞特氏菌、糞便布勞特氏菌及韋克斯勒布勞特氏菌種。最佳為產氫營養型布勞特氏菌，特別是以登錄號 DSM 10507/14294 寄存之細菌。

【0045】 用於本發明中之布勞特氏菌品系的實例包括產氫營養型布勞特氏菌、糞便布勞特氏菌、糞布勞特氏菌(*B. faecis*)、球狀布勞特氏菌(*B. coccoides*)、*B. gluceracea*、漢氏布勞特氏菌(*B. hansenii*)、魯提布勞特氏菌(*B. luti*)、產生性布勞特氏菌(*B. producta*)、*B. schinkii* 及韋克斯勒布勞特氏菌(*B. wexlerae*)。布勞特氏菌種為革蘭氏反應陽性、非運動型細菌，其可為球菌狀或橢圓形的，且全部皆為產生乙酸作為葡萄糖發酵之主要終產物的專性厭氧菌 [25]。布勞特氏菌可自人類腸道中分離，但產生性布勞特氏菌係自敗血症樣本中分離。

【0046】 產氫營養型布勞特氏菌(先前稱為產氫營養型瘤胃球菌(*Ruminococcus hydrogenotrophicus*))已自哺乳動物之腸道中分離，為嚴格厭氧的，且將 H_2/CO_2 代謝為乙酸鹽，這對於人類營養及健康可為重要的。產氫營養型布勞特氏菌之類型品系為 S5a33 = DSM 10507 = JCM 14656。產氫營養型布

勞特氏菌品系 S5a36 之 16S rRNA 基因序列之 GenBank 登錄號為 X95624.1 (在本文中揭示為 SEQ ID NO:5)。此示範性產氫營養型布勞特氏菌品系係描述於 [25]及[26]中。S5a33 品系及 S5a36 品系對應於自健康受試者之糞便樣本中分離的產乙酸品系之兩個次純系。該兩個次純系顯示一致的形態學、生理學及代謝，且具有一致的 16S rRNA 序列。因此，在一些實施例中，用於本發明之產氫營養型布勞特氏菌具有 SEQ ID NO:5 之 16S rRNA 序列。

【0047】 以登錄號 DSM 10507 寄存且亦以登錄號 DSM 14294 寄存之產氫營養型布勞特氏菌細菌在實例中測試，且在本文中亦稱為品系 BH。品系 BH 於 2001 年 5 月 10 日作為「*Ruminococcus hydrogenotrophicus*」以登錄號 DSM 10507 且亦以登錄號 DSM 14294 寄存在 Deutsche Sammlung von Mikroorganismen [德國微生物保藏中心](Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Germany)。寄存者為法國 INRA Laboratoire de Microbiologie CR de Clermont-Ferrand/Theix 63122 Saint Genès Champanelle。作為 DSM 10507 及 DSM 14294 寄存之細菌之所有權已轉讓於 4D Pharma Plc。

【0048】 糞便布勞特氏菌品系 GAM6-1^T之 16S rRNA 基因序列之 GenBank 登錄號為 HM626177 (在本文中揭示為 SEQ ID NO:1)。示範性糞便布勞特氏菌品系係描述於[27]中。韋克斯勒布勞特氏菌之類型品系為 WAL 14507 = ATCC BAA-1564 = DSM 19850 [25]。韋克斯勒布勞特氏菌品系 WAL 14507 T 之 16S rRNA 基因序列之 GenBank 登錄號為 EF036467 (在本文中揭示為 SEQ ID NO:2)。此示範性韋克斯勒布勞特氏菌品系係描述於[25]中。

【0049】 較佳糞便布勞特氏菌品系為以登錄號 NCIMB 42381 寄存之品系，其在本文中亦稱為品系 830。SEQ ID NO:3 中提供 830 品系之 16S rRNA 序列。品系 830 於 2015 年 3 月 12 日作為「*Blautia stercoris* 830」由 GT Biologics Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, Scotland)寄存於國際寄

存機構 NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, Scotland), 且經分配登錄號 NCIMB 42381。GT Biologics Ltd.隨後更名為 4D Pharma Research Limited。

【0050】 較佳韋克斯勒布勞特氏菌品系為以登錄號 NCIMB 42486 寄存之品系，其在本文中亦稱為品系 MRX008。SEQ ID NO:4 中提供 MRX008 品系之 16S rRNA 序列。品系 MRX008 於 2015 年 11 月 16 日作為「*Blautia/Ruminococcus*」由 4D Pharma Research Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, Scotland) 寄存於國際寄存機構 NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, Scotland), 且經分配登錄號 NCIMB 42486。

【0051】 亦預期與實例中測試之品系密切相關之細菌品系有效增加微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性。在某些實施例中，用於本發明中之細菌品系具有與產氫營養型布勞特氏菌之細菌品系之 16s rRNA 序列至少 97%、98%、99%、99.5%或 99.9%一致的 16s rRNA 序列。較佳地，用於本發明中之細菌品系具有與 SEQ ID NO:5 至少 97%、98%、99%、99.5%或 99.9%一致的 16s rRNA 序列。較佳地，用於本發明中之細菌品系具有含有 SEQ ID NO:5 之序列的 16s rRNA 序列。

【0052】 在某些實施例中，用於本發明中之細菌品系具有與糞便布勞特氏菌之細菌品系之 16s rRNA 序列至少 97%、98%、99%、99.5%或 99.9%一致的 16s rRNA 序列。較佳地，用於本發明中之細菌品系具有與 SEQ ID NO:1 或 SEQ ID NO:3 至少 97%、98%、99%、99.5%或 99.9%一致的 16s rRNA 序列。較佳地，序列一致性為相較於 SEQ ID NO:3 之序列一致性。較佳地，用於本發明之細菌品系具有由 SEQ ID NO:3 表示之 16s rRNA 序列。在某些實施例中，用於本發明中之細菌品系具有與韋克斯勒布勞特氏菌之細菌品系之 16s rRNA 序列至少

97%、98%、99%、99.5%或 99.9%一致的 16s rRNA 序列。較佳地，用於本發明中之細菌品系具有與 SEQ ID NO:2 或 SEQ ID NO:4 至少 97%、98%、99%、99.5%或 99.9%一致的 16s rRNA 序列。較佳地，序列一致性為相較於 SEQ ID NO:4 之序列一致性。較佳地，用於本發明之細菌品系具有由 SEQ ID NO:4 表示之 16s rRNA 序列。

【0053】 亦預期作為以登錄號 DSM 10507/14294 寄存之細菌的生物型或以登錄號 NCIMB 42381 及 NCIMB 42486 寄存之細菌的生物型之細菌品系有效增加微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性。生物型為具有相同或非常相似的生理及生化特徵之緊密相關之品系。

【0054】 作為以登錄號 DSM 10507/14294、NCIMB 42381 或 NCIMB 42486 寄存之細菌的生物型且適用於本發明中之品系可藉由對以登錄號 DSM 10507/14294、NCIMB 42381 或 NCIMB 42486 寄存之細菌的其他核苷酸序列進行定序來鑒別。例如，實質上可對全基因組進行定序，且用於本發明中之生物型品系可在其全基因組之至少 80%內(例如，在至少 85%、90%、95%或 99%內，或在其全基因組內)具有至少 97%、98%、99%、99.5%或 99.9%序列一致性。例如，在一些實施例中，生物型品系在其基因組之至少 98%內具有至少 98%序列一致性，或在其基因組之 99%內具有至少 99%序列一致性。用於鑒別生物型品系之其他合適序列可包括 hsp60 或重複序列，諸如 BOX、ERIC、(GTG)₅ 或 REP 或[28]。生物型品系可具有與以登錄號 DSM 10507/14294、NCIMB 42381 或 NCIMB 42486 寄存之細菌之相應序列具有至少 97%、98%、99%、99.5%或 99.9%序列一致性的序列。在一些實施例中，生物型品系具有與以登錄號 DSM 10507/14294 寄存之產氫營養型布勞特氏菌品系之相應序列具有至少 97%、98%、99%、99.5%或 99.9%序列一致性的序列，且包含與 SEQ ID NO:5 至少 99%一致的(例如，至少 99.5%或至少 99.9%一致的)16S rRNA 序列。

在一些實施例中，生物型品系具有與以登錄號 DSM 10507/14294 寄存之產氫營養型布勞特氏菌品系之相應序列具有至少 97%、98%、99%、99.5%或 99.9%序列一致性的序列，且具有 SEQ ID NO:5 之 16S rRNA 序列。

【0055】 或者，作為以登錄號 DSM 10507/14294、NCIMB 42381 或 NCIMB 42486 寄存之細菌之生物型且適用於本發明中之品系可藉由使用以下來鑒別：登錄號 DSM 10507/14294 寄存物、登錄號 NCIMB 42381 寄存物或登錄號 NCIMB 42486 寄存物、以及限制片段分析及/或 PCR 分析，例如藉由使用螢光擴增片段長度多型性(FAFLP)及重複 DNA 元件(rep)-PCR 指紋分析或蛋白質譜或部分 16S 或 23s rDNA 定序。在較佳實施例中，此類技術可用於鑒別其他產氫營養型布勞特氏菌、糞便布勞特氏菌或韋克斯勒布勞特氏菌品系。

【0056】 在某些實施例中，當藉由擴增之核糖體 DNA 限制分析(ARDRA)來分析時，例如當使用 Sau3AI 限制酶時(對於示範性方法及指導，參見例如 [29])，作為以登錄號 DSM 10507/14294、NCIMB 42381 或 NCIMB 42486 寄存之細菌之生物型且適用於本發明中之品系為提供與以登錄號 DSM 10507/14294、NCIMB 42381 或 NCIMB 42486 寄存之細菌相同的模式之品系。或者，將生物型品系鑒別為與以登錄號 DSM 10507/14294、NCIMB 42381 或 NCIMB 42486 寄存之細菌具有相同碳水化合物發酵模式之品系。

【0057】 適用於本發明之組合物及方法中之其他布勞特氏菌品系，諸如以登錄號 DSM 10507/14294、NCIMB 42381 或 NCIMB 42486 寄存之細菌之生物型可使用任何適當方法或策略(包括實例中所述之檢定)來鑒別。例如，用於本發明中之品系可藉由培養細菌且向大鼠投與以便在膨脹檢定中測試來鑒別。詳言之，與以登錄號 DSM 10507/14294、NCIMB 42381 或 NCIMB 42486 寄存之細菌具有類似生長模式、代謝類型及/或表面抗原之細菌品系可適用於本發明中。有用的品系將與 DSM 10507/14294、NCIMB 42381 或 NCIMB 42486 品系具有

相當的微生物區調節活性。詳言之，生物型品系將對微生物區產生與實例中所示效果相當之效果，此可藉由使用實例中描述之培養及投與程序來鑒別。

【0058】 本發明之一尤其較佳品系為以登錄號 DSM 10507/14294 寄存之產氫營養型布勞特氏菌品系。其為實例中所測試且顯示有效增加微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性的示範性 BH 品系。因此，本發明提供以登錄號 DSM 10507/14294 寄存之產氫營養型布勞特氏菌品系或其衍生物之細胞(諸如經分離之細胞)，以用於療法中，特別是用於本文所述之疾病及病症中。

【0059】 以登錄號 DSM 10507/14294、NCIMB 42381 或 NCIMB 42486 寄存之品系之衍生物可為子代品系(後代)或自原始品系培養(次選殖)之品系。本發明之品系之衍生物可例如在遺傳層面上進行修飾，而不消除生物活性。詳言之，本發明之衍生品系具有治療活性。衍生品系將與原始 DSM 10507/14294、NCIMB 42381 或 NCIMB 42486 品系具有相當的微生物區調節活性。詳言之，衍生品系將對微生物區產生與實例中所示效果相當之效果，此可藉由使用實例中描述之培養及投與程序來鑒別。DSM 10507/14294 品系之衍生物通常將為 DSM 10507/14294 品系之生物型。NCIMB 42381 品系之衍生物通常將為 NCIMB 42381 品系之生物型。NCIMB 42486 品系之衍生物通常將為 NCIMB 42486 品系之生物型。

【0060】 對以登錄號 DSM 10507/14294 寄存之產氫營養型布勞特氏菌品系之細胞的提及涵蓋與以登錄號 DSM 10507/14294 寄存之品系具有相同安全性及治療功效特徵的任何細胞，且此類細胞由本發明所涵蓋。對以登錄號 NCIMB 42381 寄存之糞便布勞特氏菌品系之細胞的提及涵蓋與以登錄號 NCIMB 42381 寄存之品系具有相同安全性及治療功效特徵的任何細胞，且此類細胞由本發明所涵蓋。對以登錄號 NCIMB 42486 寄存之韋克斯勒布勞特氏菌品系之細胞的

提及涵蓋與以登錄號 NCIMB 42486 寄存之品系具有相同安全性及治療功效特徵的任何細胞，且此類細胞由本發明所涵蓋。

【0061】 在較佳實施例中，本發明組合物中之細菌品系為有生活力的，且能夠部分或完全移生於腸。

治療用途

【0062】 在某些實施例中，本發明之組合物係用於增加微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性。微生物區之多樣性減少及/或微生物區之穩定性降低與許多病理性疾病及病症相關，且該等實例證實本發明之組合物可有效地增加微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性。因此，欲使用本發明之組合物治療或預防的疾病或病症較佳為與相對於健康受試者之微生物區多樣性而言微生物區多樣性之水準降低相關的疾病或病症及/或與微生物區之穩定性降低相關的疾病或病症。因此，在一些實施例中，疾病或病症可與相對於健康受試者之微生物區多樣性而言微生物區多樣性之水準降低相關，且亦與微生物區之穩定性降低相關。

【0063】 在某些實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防選自以下之疾病或病症：IBS、IBD、肥胖症、2 型糖尿病、一或多種感染性疾病、一或多種過敏性疾病、一或多種自體免疫疾病及一或多種代謝疾病/病症。亦設想治療或預防其他疾病及病症。在某些實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防 IBS 或 IBD。在某些實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防 IBS。在某些實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防 IBD。在某些實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防一或多種過敏性疾病。在某些實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防肥胖症。在某些實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防一或多種感染性疾病。在某些實施例中，本發明之組合物係用於治療或預防一或多種自體免疫疾病。在某些實施例中，本發明之組合物係用於治

療或預防一或多種代謝疾病/病症。較佳地，治療或預防包含增加受試者之微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性。

【0064】 在某些實施例中，一或多種感染性疾病係選自病毒性、細菌性或真菌性疾病。在某些實施例中，一或多種過敏性疾病為哮喘。在某些實施例中，一或多種代謝疾病/病症係選自糖尿病(例如 2 型糖尿病)及肥胖症。在某些實施例中，一或多種自體免疫疾病係選自多發性硬化症及類風濕性關節炎。

【0065】 在某些實施例中，本發明之組合物係用於藉由增加微生物區中之微生物區多樣性來治療或預防 IBS、IBD、肥胖症、2 型糖尿病、一或多種感染性疾病、一或多種過敏性疾病、一或多種自體免疫疾病或一或多種代謝疾病/病症。在某些實施例中，本發明之組合物係用於藉由誘導微生物區之穩定性來治療或預防 IBS 或 IBD。在某些實施例中，本發明之組合物係用於藉由誘導微生物區之穩定性來治療或預防 IBS

【0066】 在較佳實施例中，本發明提供一種包含布勞特氏菌屬之細菌品系的組合物，該組合物係用於治療或預防 IBD、IBS、肥胖症、2 型糖尿病、一或多種感染性疾病、一或多種過敏性疾病、或一或多種過敏性疾病、一或多種自體免疫疾病或一或多種代謝疾病/病症，其中治療或預防包含增加受試者之微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性。

【0067】 在一些實施例中，本發明提供一種包含布勞特氏菌屬之細菌品系的組合物，該組合物係用於治療或預防選自以下之疾病或病症：IBS、IBD、肥胖症、2 型糖尿病、一或多種感染性疾病、一或多種過敏性疾病、一或多種自體免疫疾病及一或多種代謝疾病/病症。在一些實施例中，本發明提供一種治療或預防選自以下之疾病或病症的方法：IBS、IBD、肥胖症、2 型糖尿病、一或多種感染性疾病、一或多種過敏性疾病、一或多種自體免疫疾病及一或多種代謝疾病/病症，該方法包含投與包含布勞特氏菌屬之細菌品系的組合物。

【0068】 在較佳實施例中，本發明之組合物包含以登錄號 DSM 10507/14294 寄存之細菌，且在 IBD、IBS、肥胖症、2 型糖尿病、一或多種感染性疾病、一或多種過敏性疾病、一或多種自體免疫疾病或一或多種代謝疾病/病症之治療中用於增加受試者之微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性。在進一步較佳實施例中，本發明之組合物包含以登錄號 DSM 10507/14294 寄存之細菌，且用於藉由增加微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性來治療或預防 IBD、IBS、肥胖症、2 型糖尿病、一或多種感染性疾病、一或多種過敏性疾病、一或多種自體免疫疾病或一或多種代謝疾病/病症。

【0069】 在一些實施例中，疾病或病症之發病機理影響腸。在一些實施例中，疾病或病症之發病機理未影響腸。在一些實施例中，疾病或病症之發病機理不局限於腸處。在一些實施例中，治療或預防在並非腸之部位處進行。在一些實施例中，治療或預防在腸處進行且亦在並非腸之部位處進行。在某些實施例中，疾病或病症為全身性的。

【0070】 在某些實施例中，組合物係用於例如當相較於健康受試者或健康受試者之群體時展現或預期展現降低的微生物區多樣性之水準的受試者中。例如，在一些實施例中，組合物係用於治療在其微生物區中具有小於 101 個不同的細菌種(例如，小於 100、99、98、97、96、95、93、90、85、80、75 或 70 個細菌種)及/或小於 195 個不同的品系(例如，小於 193、190、187、185、183、180、175、170、165、160、150、140 個細菌品系)之受試者。例如，在一些實施例中，組合物係用於治療相較於健康受試者或相較於健康受試者之群體而言在其腸微生物區中具有少於至少一個細菌屬(例如，少於至少 2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個細菌屬)的受試者。在一些實施例中，治療或預防包含以下步驟：診斷受試者為具有降低的微生物區多樣性之水準，且接著若發現存在降低的多樣性之水準，則用根據本發明之組合物處理受試者。

【0071】 在某些實施例中，組合物係用於展現或預期展現降低的微生物區之穩定性的受試者中。在一些實施例中，組合物係用於例如當相較於健康受試者或健康受試者之群體時展現或預期展現降低的其微生物區之穩定性的受試者中。在一些實施例中，治療或預防包含以下步驟：診斷受試者為具有降低的其微生物區之穩定性、且接著若發現存在降低的穩定性，則用根據本發明之組合物處理受試者。

【0072】 在某些實施例中，受試者為嬰兒。在某些實施例中，受試者為兒童。在某些實施例中，受試者為成人。

【0073】 在某些實施例中，受試者為健康受試者。例如，在組合物用於預防疾病或病症之一些實施例中，受試者為健康受試者，視情況為經鑒別為處於發展特徵為微生物區多樣性減少之疾病或病症之風險中的受試者。

【0074】 在某些實施例中，受試者先前已接受、正在接受或將接受抗生素治療。因此，在一些實施例中，治療或預防包含在抗生素治療之後、與其一起或在其之前投與本發明之組合物。本發明之組合物與一或多種抗生素可用於分開的、同時的或依序的投與。

【0075】 在一些實施例中，本發明之組合物係用於一種相對於健康受試者而言在呼吸中具有升高的氫水準之受試者中增加微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性的方法中。在一些實施例中，本發明之組合物係用於降低展現或預期展現降低的其微生物區多樣性之水準及/或降低的微生物區之穩定性的受試者之呼氣中的氫水準。受試者較佳為經診斷為患有 IBS、IBD、肥胖症、2 型糖尿病、一或多種感染性疾病、一或多種過敏性疾病、一或多種自體免疫疾病及/或一或多種代謝疾病/病症的受試者。用本發明之組合物進行的治療降低氫呼氣測試中偵測到之氫水準。因此，氫水準較佳使用氫呼氣測試來評估。氫呼氣測試

為此項技術中熟知的，因此技術人員將知道如何進行該種測試。在一些實施例中，向受試者投與乳果糖作為測試之受質。

【0076】 氫呼氣測試亦為用於監測增加微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性及使用本發明之組合物進行治療或預防的有效性或可能有效性之有用工具。例如，在用本發明之組合物治療後，受試者呼氣中偵測到之氫水準之降低可指示治療具有提高、穩定、治療性或預防性效果。因此，在一些實施例中，本發明之方法及用途進一步包含：在用本發明之組合物治療期間及/或之後監測受試者呼氣中之氫水準，從而評估提高、穩定、治療或預防的有效性或可能的有效性。例如，氫水準可在一或多個(例如，1、2、3、4 或多於 4 個)時間時(例如，包括在治療之前、在治療開始時、在治療期間、在治療結束時及/或在治療之後，根據需要)監測。在一些實施例中，給藥期結束時及/或給藥期之後(在此期間向受試者投與組合物)受試者呼氣中之氫水準與給藥期開始時及/或給藥期之前的水準進行比較，且水準之降低指示提高、穩定、治療或預防的有效性或可能的有效性。例如，在給藥期為 16 天之實施例中，可能需要在第 1 日及第 16 日或者例如在第 1 日、第 2 日、第 15 日及第 16 日進行量測。在一些實施例中，進行多次量測且獲得彼等量測之平均值(例如，第 1 日及第 2 日之平均值以及第 15 日及第 16 日之平均值)。在一些實施例中，氫水準 C_{max} 減小至少 40 ppm 指示提高、穩定、治療或預防為有效的或可能為有效的。在一些實施例中，例如僅在治療結束時或治療之後量測受試者呼氣中之氫水準一次，且發現水準處於或接近預定水準指示提高、穩定、治療或預防可能已為有效的。氫呼氣測試為標準檢定，因此預定水準為此項技術中已知的。

【0077】 治療或預防可指的是例如症狀嚴重性減輕、或惡化發生率減少或作為受試者之問題的觸發範圍減小。

【0078】 可使用標準技術(諸如實施例中所用之 qPCR 技術)在來自受試者之

糞便中偵測微生物區中之細菌。

投與方式

【0079】 較佳地，本發明之組合物待向胃腸道投與以使得能夠用本發明之細菌品系傳遞至及/或部分或完全移生於腸。通常，本發明之組合物係經口投與，但其亦可以直腸、鼻內或經頰或舌下途徑投與。

【0080】 在某些實施例中，本發明之組合物可作為泡沫劑、作為噴霧劑或凝膠劑來投與。

【0081】 在某些實施例中，本發明之組合物可作為栓劑(諸如直腸栓劑，例如呈可可油(可可脂)、合成硬脂肪(例如，suppocire、witepsol)、甘油-明膠、聚乙二醇或皂甘油組合物之形式)來投與。

【0082】 在某些實施例中，本發明之組合物經由管(諸如鼻胃管、口胃管、胃管、空腸管(J 管))、經皮內窺鏡胃造口術(PEG)或口(諸如提供胃、空腸之進入的胸壁口及其他合適進入口)來向胃腸道投與。

【0083】 本發明之組合物可投與一次，或其可作為治療方案之一部分來依次投與。在某些實施例中，將每日投與本發明之組合物。該等實例證實，每日投與提供成功的傳遞及臨床益處。

【0084】 在某些實施例中，定期(諸如每日、每兩日或每週)投與本發明之組合物，達一段延長的時間，諸如至少一週、兩週、一個月、兩個月、六個月或一年。該等實例證實產氫營養型布勞特氏菌投與可能不會造成腸之長久移生，因此一段延長時間的定期投與可提供較大的治療性及/或防治性益處。

【0085】 在本發明之某些實施例中，根據本發明之治療伴隨著對受試者腸道微生物區之評估。若未達成本發明之品系之傳遞及/或用本發明之品系進行的部分或完全移生以致於未觀察到功效，則重複治療，或者若傳遞及/或部分或完全移生成功且觀察到功效，則可停止治療。

【0086】 在某些實施例中，可向懷孕動物(例如哺乳動物，諸如人類)投與本發明之組合物，以防止微生物區中降低的多樣性之水準及/或降低的微生物區之穩定性在其子宮內的兒童中發展及/或在該兒童出生後發展。

【0087】 本發明之組合物可向已診斷為相對於健康受試者而言具有減少的微生物區多樣性及/或降低的微生物區之穩定性、或患有與相對於健康受試者而言減少的微生物區多樣性及/或降低的微生物區之穩定性相關的疾病或病症、或已鑒別為相對於健康受試者而言處於減少的微生物區多樣性及/或降低的微生物區之穩定性之風險中的受試者投與。組合物亦可作為防治性措施投與，以防止相對於健康受試者而言減少的微生物區多樣性及/或健康受試者中降低的微生物區之穩定性的發展。

【0088】 本發明之組合物可向已鑒別為具有異常腸道微生物區之受試者投與。例如，該受試者可具有減少的或不存在布勞特氏菌之移生，且特別是產氫營養型布勞特氏菌、糞便布勞特氏菌或韋克斯勒布勞特氏菌之移生。

【0089】 本發明之組合物可作為食物產品諸如營養補充劑投與。

【0090】 通常，本發明之組合物係用於治療人類，但其可用於治療包括單胃哺乳動物(諸如家禽、豬、貓、狗、馬或兔)之動物。本發明之組合物可適用於增強動物之生長及表現。若向動物投與，則可使用口服管飼法。

組合物

【0091】 通常，本發明之組合物包含細菌。在本發明之較佳實施例中，組合物以冷凍乾燥形式調配。例如，本發明之組合物可包含有包含本發明之細菌品系的顆粒或明膠膠囊，例如硬明膠膠囊。

【0092】 較佳地，本發明之組合物包含凍乾細菌。細菌之凍乾為一種良好確立的程序，且相關指導可在例如參考文獻[30-32]中獲得。該等實例證實凍乾物(lyophilisate)組合物為特別有效的。

【0093】 或者，本發明之組合物可包含活的、活性細菌培養物。

【0094】 在一些實施例中，本發明組合物中之細菌品系未經滅活，例如未經熱滅活。在一些實施例中，本發明組合物中之細菌品系未經殺滅，例如未經熱殺滅。在一些實施例中，本發明組合物中之細菌品系未經減毒，例如未經熱減毒。例如，在一些實施例中，本發明組合物中之細菌品系未經殺滅、滅活及/或減毒。例如，在一些實施例中，本發明組合物中之細菌品系為活的。例如，在一些實施例中，本發明組合物中之細菌品系為有生活力的。例如，在一些實施例中，本發明組合物中之細菌品系能夠部分或完全移生於腸。例如，在一些實施例中，本發明組合物中之細菌品系為有生活力的，且能夠部分或完全移生於腸。

【0095】 在一些實施例中，組合物包含活的細菌品系與已經殺滅之細菌品系的混合物。

【0096】 在較佳實施例中，本發明之組合物經封裝以使細菌品系能夠傳遞至腸。封裝保護組合物免受降解直至經由例如用化學或物理刺激(諸如壓力、酶活性或物理崩解(其可由 pH 值變化觸發))破裂來在目標位置處傳遞。可使用任何適當封裝方法。示範性封裝技術包括包埋多孔基質內、附著或吸附在固體載劑表面上、藉由絮凝或用交聯劑進行自聚集、及機械容納在多微孔膜或微膠囊後面。關於可適用於製備本發明組合物之封裝的指導可在例如參考文獻[33]和[34]中獲得。

【0097】 組合物可經口投與且可為錠劑、膠囊或散劑之形式。封裝產品為較佳的，因為布勞特氏菌為厭氧菌。可包括其他成分(例如，諸如維生素 C)作為氧清除劑及益生元受質以改善活體內傳遞及/或部分或完全移生及存活。或者，本發明之益生菌組合物可作為食物或營養產品(諸如基於乳或乳清之發酵乳產品)或作為醫藥產品經口投與。

【0098】 組合物可經調配為益生菌。

【0099】 本發明之組合物包括治療有效量的本發明之細菌品系。治療有效量的細菌品系足以對受試者施加有益作用。治療有效量的細菌品系可足以造成傳遞至及/或部分或完全移生於受試者之腸。

【0100】 例如，對於成人，合適的細菌日劑量可為約 1×10^3 至約 1×10^{11} 個菌落形成單位(CFU)；例如約 1×10^7 至約 1×10^{10} CFU；在另一實例中為約 1×10^7 至約 1×10^{11} CFU；在另一實例中為約 1×10^8 至約 1×10^{10} CFU；在另一實例中為約 1×10^8 至約 1×10^{11} CFU；在另一實例中為約 1×10^6 至約 1×10^{10} CFU。

【0101】 在某些實施例中，細菌之劑量為每日至少 10^9 個細胞，諸如每日至少 10^{10} 個、至少 10^{11} 個或至少 10^{12} 個細胞。

【0102】 在某些實施例中，相對於組合物之重量，組合物含有約 1×10^6 至約 1×10^{11} CFU/g 之量的細菌品系；例如約 1×10^8 至約 1×10^{10} CFU/g。劑量可為例如 1 g、3 g、5 g 及 10 g。

【0103】 通常，益生菌(諸如本發明之組合物)視情況與至少一種合適的益生元化合物組合。益生元化合物通常為不可消化之碳水化合物，諸如寡糖或多糖或糖醇，其不會在上消化道中降解或吸收。已知益生元包括商業產品，諸如菊糖及反式半乳寡糖。

【0104】 在某些實施例中，相對於總重量組合物，本發明之益生菌組合物包括約 1 重量%至約 30 重量%(例如，5 重量%至 20 重量%)之量的益生元化合物。碳水化合物可選自由以下所組成之群組：果寡糖(或 FOS)、短鏈果寡糖、菊糖、異麥芽寡糖、果膠、木寡糖(或 XOS)、幾丁聚糖-寡糖(或 COS)、 β -葡聚糖、阿拉伯膠、改質及耐受性澱粉、聚葡萄糖、D-塔格糖、阿拉伯膠纖維、角豆樹、燕麥及柑橘纖維。在一態樣中，益生元為短鏈果寡糖(為簡單起見，在下文中示

為 FOSs-c.c)；該 FOSs-c.c.為不可消化之碳水化合物，一般藉由甜菜糖之轉化獲得，且包括三個葡萄糖分子所鍵結之蔗糖分子。

【0105】 本發明之組合物可包含醫藥學上可接受之賦形劑或載劑。此等合適賦形劑之實例可見於參考文獻[35]。用於治療用途的可接受之載劑或稀釋劑為醫藥技術領域中熟知的，且描述於例如參考文獻[36]中。合適載劑之實例包括乳糖、澱粉、葡萄糖、甲基纖維素、硬脂酸鎂、甘露醇、山梨醇及其類似物。合適稀釋劑之實例包括乙醇、甘油及水。醫藥載劑、賦形劑或稀釋劑之選擇可關於預期投與途徑及標準醫藥實踐來選擇。醫藥組合物可包含任何合適的一種(或多種)黏合劑、潤滑劑、懸浮劑、塗佈劑、增溶劑作為載劑、賦形劑或稀釋劑，或包含除了任何合適的一種(或多種)黏合劑、潤滑劑、懸浮劑、塗佈劑、增溶劑以外的載劑、賦形劑或稀釋劑。合適黏合劑之實例包括澱粉、明膠、天然糖(諸如葡萄糖、無水乳糖、自由流動乳糖、 β -乳糖)、玉米甜味劑、天然及合成膠(諸如阿拉伯膠、黃蓍膠或海藻酸鈉)、羧甲基纖維素及聚乙二醇。合適潤滑劑之實例包括油酸鈉、硬脂酸鈉、硬脂酸鎂、苯甲酸鈉、乙酸鈉、氯化鈉及類似者。可在醫藥組合物中提供防腐劑、穩定劑、染料及甚至調味劑。防腐劑之實例包括苯甲酸鈉、山梨酸、半胱氨酸及對羥基苯甲酸酯。亦可使用抗氧化劑及懸浮劑。合適載劑之進一步實例為蔗糖。防腐劑之進一步實例為半胱氨酸。

【0106】 本發明之組合物可經調配為食物產品。例如，除了本發明之治療作用外，食物產品亦可諸如在營養補充劑中提供營養益處。類似地，可調配食物產品以增強本發明組合物之味道，或藉由更加類似於普通食物而非醫藥組合物來使組合物更具消費吸引力。在某些實施例中，本發明之組合物經調配成乳基產品。術語「乳基產品」意指具有不同脂肪含量的基於任何液體或半固體乳或乳清之產品。乳基產品可為例如牛乳、山羊乳、綿羊乳、脫脂乳、全乳、不經

任何處理而由乳粉及乳清重組之乳、或加工產品諸如酸奶、凝結乳(curdled milk)、凝乳、酸乳、酸全乳、黃油乳及其他酸乳產品。另一重要群組包括乳飲料，諸如乳清飲料、發酵乳、濃縮乳、嬰兒奶或幼兒乳；調味乳、冰淇淋；含乳食物，諸如糖果。

【0107】 在某些實施例中，本發明之組合物含有單個細菌品系或種，且不含有任何其他細菌品系或種。此類組合物可僅包含微小量的或生物不相關量的其他細菌品系或種。此類組合物可為實質上不含其他種類有機體之培養物或凍乾物。

【0108】 在某些實施例中，本發明之組合物包含布勞特氏菌屬之一或多個細菌品系(諸如產氫營養型布勞特氏菌)，且不含任何其他細菌屬，或僅包含微小量的或生物不相關量的另一個屬之細菌。在某些實施例中，本發明之組合物包含布勞特氏菌之單個種(例如產氫營養型布勞特氏菌)，且不含任何其他細菌種，或僅包含微小量的或生物不相關量的另一個種之細菌。在某些實施例中，本發明之組合物包含布勞特氏菌(例如產氫營養型布勞特氏菌)之單個品系，且不含任何其他細菌品系或種，或僅包含微小量的或生物不相關量的另一個品系或種之細菌。

【0109】 在一些實施例中，本發明之組合物包含多於一個細菌品系或種。例如，在一些實施例中，本發明之組合物包含來自同一種內之多於一個品系(例如，多於 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40 或 45 個品系)，且視情況不含來自任何其他種之細菌。在一些實施例中，本發明之組合物包含來自同一種內之小於 50 個品系(例如，小於 45、40、35、30、25、20、15、12、10、9、8、7、6、5、4 或 3 個品系)，且視情況不含來自任何其他種之細菌。在一些實施例中，本發明之組合物包含來自同一種內之 1-40、1-30、1-20、1-19、1-18、1-15、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、1-4、1-3、1-2、2-50、2-

40、2-30、2-20、2-15、2-10、2-5、6-30、6-15、16-25 或 31-50 個品系，且視情況不含來自任何其他種之細菌。在一些實施例中，本發明之組合物包含來自同一屬內之多於一個種(例如，多於 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、17、20、23、25、30、35 或 40 個種)，且視情況不含來自任何其他屬之細菌。在一些實施例中，本發明之組合物包含來自同一屬內之少於 50 個種(例如，少於 50、45、40、35、30、25、20、15、12、10、8、7、6、5、4 或 3 個種)，且視情況不含來自任何其他屬之細菌。在一些實施例中，本發明之組合物包含來自同一屬內之 1-50、1-40、1-30、1-20、1-15、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、1-4、1-3、1-2、2-50、2-40、2-30、2-20、2-15、2-10、2-5、6-30、6-15、16-25 或 31-50 個種，且視情況不含來自任何其他屬之細菌。本發明包含前述者之任何組合。

【0110】 在一些實施例中，組合物包含微生物共同體。例如，在一些實施例中，組合物包含布勞特氏菌細菌品系(例如產氫營養型布勞特氏菌細菌品系)作為微生物共同體之一部分。例如，在一些實施例中，布勞特氏菌細菌品系與一或多個(例如，至少 2、3、4、5、10、15 或 20 個)來自可與其共生生活於活體內的其他屬之其他細菌品系組合存在於腸中。例如，在一些實施例中，組合物包含與來自不同屬之細菌品系組合的產氫營養型布勞特氏菌之細菌品系。在一些實施例中，微生物共同體包含自單個有機體(例如人類)之糞便樣本獲得之兩個或更多個細菌品系。在一些實施例中，微生物共同體未在自然界中一起發現。例如，在一些實施例中，微生物共同體包含自至少兩個不同有機體之糞便樣本獲得之細菌品系。在一些實施例中，兩個不同有機體來自同一物種，例如兩個不同的人。在一些實施例中，兩個不同的有機體為嬰兒及成人。在一些實施例中，兩個不同的有機體為人類及非人類哺乳動物。

【0111】 在一些實施例中，本發明之組合物另外包含與以登錄號 DSM

10507/14294 寄存之產氫營養型布勞特氏菌品系具有相同安全性及治療功效特徵但不為以登錄號 DSM 10507/14294 寄存之產氫營養型布勞特氏菌品系或不為產氫營養型布勞特氏菌或不為布勞特氏菌之細菌品系。

【0112】 在本發明之組合物包含多於一個細菌品系、種或屬之一些實施例中，各個細菌品系、種或屬可用於分開的、同時的或依序的投與。例如，組合物可包含多於一個細菌品系、種或屬之全部，或細菌品系、種或屬可分開儲存且可分開、同時或依序投與。在一些實施例中，多於一個細菌品系、種或屬分開儲存，但在使用前混合在一起。

【0113】 在一些實施例中，用於本發明之細菌品系獲自人類成人糞便。在本發明之組合物包含多於一個細菌品系之一些實施例中，所有細菌品系皆獲自人類成人糞便，或若存在其他細菌品系，則該等其他細菌品系僅以微小量存在。在一些實施例中，細菌可在自人類成人糞便中獲得之後培養，且在本發明之組合物中使用。

【0114】 在一些實施例中，一或多個布勞特氏菌細菌品系為本發明組合物中唯一的一種(或多種)治療活性劑。在一些實施例中，組合物中之一個(或多個)細菌品系為本發明組合物中唯一的一種(或多種)治療活性劑。

【0115】 根據本發明使用之組合物可需要或不需行銷核可。

【0116】 在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中該細菌品系為凍乾的。在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中該細菌品系為噴霧乾燥的。在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中該細菌品系為凍乾或噴霧乾燥的，且其中其為活的。在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中該細菌品系為凍乾或噴霧乾燥的，且其中其為有生活力的。在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中該細菌品系為凍乾或噴霧乾燥的，且其中其能夠部分或完全移生於腸。在某些實施例中，本發明提供以上醫

藥組合物，其中該細菌品系為凍乾或噴霧乾燥的，且其中其為有生活力的且能夠部分或完全移生於腸。

【0117】 在一些情況下，經凍乾或噴霧乾燥的細菌品系在投與前經復原。在一些情況下，復原係藉由使用本文所述之稀釋劑來進行。

【0118】 本發明之組合物可包含醫藥學上可接受之賦形劑、稀釋劑或載劑。

【0119】 在某些實施例中，本發明提供包含以下之醫藥組合物：如在本發明中使用之細菌品系；及醫藥學上可接受之賦形劑、載劑或稀釋劑；其中該細菌品系之量足以增加受試者之微生物區多樣性及/或誘導微生物區之穩定性、及/或治療與減少的微生物區多樣性及/或降低的微生物區之穩定性(在向有需要之受試者投與時)相關之病症，微生物區多樣性相關疾病或病症係諸如 IBS、IBD、肥胖症、2 型糖尿病、一或多種感染性疾病、一或多種過敏性疾病、一或多種自體免疫疾病或一或多種代謝疾病/病症。

【0120】 在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中相對於組合物之重量，細菌品系之量為每克約 1×10^3 至約 1×10^{11} 個菌落形成單位。

【0121】 在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中組合物以 1 g、3 g、5 g 或 10 g 之劑量投與。

【0122】 在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中組合物藉由選自由以下所組成之群組的方法來投與：經口、直腸、皮下、鼻、經頰及舌下。

【0123】 在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其包含選自由以下所組成之群組的載劑：乳糖、澱粉、葡萄糖、甲基纖維素、硬脂酸鎂、甘露醇及山梨醇。

【0124】 在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其包含選自由以下所組成之群組的稀釋劑：乙醇、甘油及水。

【0125】 在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其包含選自由以下

所組成之群組的賦形劑：澱粉、明膠、葡萄糖、無水乳糖、自由流動乳糖、 β -乳糖、玉米甜味劑、阿拉伯膠、黃蓍膠、海藻酸鈉、羧甲基纖維素、聚乙二醇、油酸鈉、硬脂酸鈉、硬脂酸鎂、苯甲酸鈉、乙酸鈉及氯化鈉。

【0126】 在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其進一步包含防腐劑、抗氧化劑及穩定劑中之至少一者。

【0127】 在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其包含選自由以下所組成之群組的防腐劑：苯甲酸鈉、山梨酸及對羥基苯甲酸酯。

【0128】 在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中該細菌品系為凍乾的。

【0129】 在某些實施例中，本發明提供以上醫藥組合物，其中當組合物在約 4°C 或約 25°C 下儲存在密封容器中且容器置於具有 50% 相對濕度之氣氛中時，如以菌落形成單位所量測，至少 80% 細菌品系在至少約 1 個月、3 個月、6 個月、1 年、1.5 年、2 年、2.5 年或 3 年之時期後剩餘。

【0130】 在一些實施例中，本發明之組合物在包含如本文所述之組合物的密封容器中提供。在一些實施例中，密封容器為小袋或瓶子。在一些實施例中，本發明之組合物在包含如本文所述之組合物的注射器中提供。

【0131】 在一些實施方式中，本發明之組合物可作為醫藥調配物提供。例如，組合物可作為錠劑或膠囊提供。在一些實施例中，膠囊為明膠膠囊(「凝膠帽」)。

【0132】 在一些實施例中，本發明之組合物係經口投與。經口投與可涉及吞嚥以使化合物進入胃腸道及/或經頰、經舌或舌下投與以使化合物直接從口腔進入血流。

【0133】 適用於經口投與之醫藥調配物包括固體栓、固體微粒、半固體及液體(包括多相或分散系統)，諸如錠劑；含有多微粒或奈米微粒之軟膠囊或硬膠

囊、液體(例如水溶液)、乳劑或散劑；口含錠(包括液體填充的)；咀嚼劑；凝膠；快速分散劑型；膜劑；卵形體；噴霧劑；及頰/黏膜黏附貼劑。

【0134】 在一些實施例中，醫藥調配物為腸溶調配物，亦即適用於藉由經口投與來將本發明組合物傳遞至腸的胃耐受性調配物(例如，耐受胃 pH)。當組合物之細菌或其他組分為酸敏感性的(在胃條件下易於降解)時，腸溶調配物可尤其有用。

【0135】 在一些實施例中，腸溶調配物包含腸溶塗層。在一些實施例中，調配物為腸溶塗佈之劑型。例如，調配物可為腸溶塗佈之錠劑或腸溶塗佈之膠囊或類似物。腸溶塗層可為習知腸溶塗層，例如用於錠劑、膠囊或類似物以進行經口傳遞之習知塗層。調配物可包含膜塗層，例如腸溶聚合物(例如酸不溶性聚合物)之薄膜層。

【0136】 在一些實施例中，腸溶調配物為固有腸溶的，例如胃耐受性的，而無需腸溶塗層。因此，在一些實施例中，調配物為不包含腸溶塗層之腸溶調配物。在一些實施例中，調配物為由熱膠凝材料製成之膠囊。在一些實施例中，熱膠凝材料為纖維質材料，諸如甲基纖維素、羥甲基纖維素或羥丙基甲基纖維素(HPMC)。在一些實施例中，膠囊包含不含任何成膜聚合物之殼。在一些實施例中，膠囊包含殼，且該殼包含羥丙基甲基纖維素且不包含任何成膜聚合物(例如，參見[37])。在一些實施例中，調配物為固有腸溶膠囊(例如，來自 Capsugel 之 Vcaps®)。

【0137】 在一些實施例中，調配物為軟膠囊。軟膠囊為可由於添加軟化劑(諸如例如膠囊殼中存在之甘油、山梨醇、麥芽糖醇及聚乙二醇)而具有一定彈性及柔軟度之膠囊。軟膠囊可例如在明膠或澱粉之基礎上生產。基於明膠之軟膠囊可由不同供應商購得。視投與方法(諸如，例如經口或直腸)而定，軟膠囊可具

有各種形狀，可為例如圓形、橢圓形、長方形或魚雷形。軟膠囊可藉由習知方法，諸如例如藉由 Scherer 方法、Accogel 方法或微滴或吹製方法來生產。

培養方法

【0138】 用於本發明之細菌品系可使用如在例如參考文獻[38-40]中所詳述之標準微生物學技術來培養。

【0139】 用於培養之固體或液體培養基可為 YCFA 瓊脂或 YCFA 培養基。YCFA 培養基可包括(每 100 ml，近似值)：酪朊(1.0 g)、酵母提取物 (0.25 g)、 NaHCO_3 (0.4 g)、半胱胺酸(0.1 g)、 K_2HPO_4 (0.045 g)、 KH_2PO_4 (0.045 g)、 NaCl (0.09 g)、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.09 g)、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.009 g)、 CaCl_2 (0.009 g)、刃天青 (0.1 mg)、氯高鐵血紅素(1 mg)、生物素(1 μg)、鈷胺素(1 μg)、對胺基苯甲酸(3 μg)、葉酸(5 μg)及吡哆胺(15 μg)。

用於疫苗組合物之細菌品系

【0140】 本發明人已鑒別，本發明之細菌品系可適用於治療或預防與相對於健康受試者之微生物區多樣性(或相對於健康受試者群體之微生物區多樣性)而言微生物區多樣性之水準降低相關的疾病或病症、及/或與相較於健康受試者(或相較於健康受試者之群體)而言微生物區穩定性降低相關的疾病或病症。此可能係由於本發明之細菌品系對宿主免疫系統具有作用。因此，當作為疫苗組合物投與時，本發明之組合物亦可用於預防此類疾病或病症。在某些此類實施例中，本發明之細菌品系為有生活力的。在某些此類實施例中，本發明之細菌品系能夠部分或完全移生於腸。在某些此類實施例中，本發明之細菌品系為有生活力的，且能夠部分或完全移生於腸。在其他某些此類實施例中，本發明之細菌品系可經殺滅、滅活或減毒。在某些此類實施例中，組合物可包含疫苗佐劑。在某些實施例中，組合物係用於經由注射(諸如經由皮下注射)來投與。

總則

【0141】 除非另外指示，否則本發明之實踐將採用此技術之技能範圍內之化學、生物化學、分子生物學、免疫學及藥理學之習知方法。此類技術在文獻中得到充分說明。參見，例如參考文獻[41] 及[42-48]等。

【0142】 術語「包含」涵蓋「包括」以及「由 組成」，例如「包含」X 之組合物可僅由 X 組成，或可包括另外者，例如 X + Y。

【0143】 關於數值 x 之術語「約」為可選的，且意指例如 $x \pm 10\%$ 。

【0144】 詞「實質上」不排除「完全」，例如「實質上不含」Y 之組合物可完全不含 Y。必要時，詞「實質上」可從本發明之定義中省略。

【0145】 對兩個核苷酸序列之間的序列一致性百分比之提及意指當比對時，核苷酸百分比在比較兩個序列方面為相同的。此比對及同源性或序列一致性百分比可使用此項技術中已知的軟體程式，例如參考文獻[49]之 7.7.18 節所述之彼等軟體程式來判定。較佳比對係藉由 Smith-Waterman 同源性搜索算法，使用空隙開放罰分為 12 且空隙延伸罰分為 2、BLOSUM 矩陣為 62 的仿射空隙搜索來判定。Smith-Waterman 同源性搜索算法揭示於參考文獻[50]中。

【0146】 除非特別說明，否則包含許多步驟之過程或方法可包含方法開始或結束時的另外步驟，或可包括另外的介入步驟。而且，若適當，則可將步驟組合、省略或以替代性順序執行。

【0147】 本發明之各種實施例係描述於本文中。應當理解，各實施例中指定之特徵可與其他指定特徵組合，以提供進一步的實施例。特別地，本文中強調為合適、一般或較佳的實施例可彼此組合(除了當該等實施例互相排斥時)。

[具體實施方式]

實例 1—產氫營養型布勞特氏菌處理後患者微生物區之變化

概述

【0148】 在健康患者及 IBS 患者中測試產氫營養型布勞特氏菌對患者微生物

區之多樣性及穩定性的作用。

方法

研究設計

【0149】 進行 I 期臨床試驗，在該試驗中，向患有 IBS 之人類患者或健康人類患者投與產氫營養型布勞特氏菌（「Blautix」，以登錄號 DSM 10507 寄存且亦以登錄號 DSM 14294 寄存之菌株）。在給藥期(第 1-16 日)期間向患者投與 Blautix，洗脫期為第 19-23 日。在基線亦即處理前 1 日(D1)時；在第 16 日(D-16)處理結束時；及在研究結束(EOS) (亦即處理後 2-4 週(洗脫))時自安慰劑或 Blautix 處理之 IBS 及健康受試者中收集糞便樣本。

16S 擴增子定序

【0150】 按照製造商說明，使用 Qiagen DNeasy 血液及組織套組，以在基線亦即處理前 1 日(D1)時；在第 16 日(D-16)處理結束時；及在研究結束(EOS) (亦即處理後 2-4 週(洗脫))時自來自安慰劑或 Blautix 處理之 IBS 及健康受試者的 0.2 g 冷凍糞便樣本提取微生物 DNA。

【0151】 使用由 Illumina (San Diego, California, USA)開發之 16S 定序文庫製備 Nextera 程序進行 16S rRNA 基因擴增子之製備及定序。使用 PCR 及靶向 16S rRNA 基因之 V3/V4 可變區的引子擴增 50 ng 的各 DNA 糞便提取物。將產物純化，且藉由第二輪接頭 PCR 附接正向及反向條形碼。將所得 PCR 產物純化、定量且接著將等莫耳之各擴增子合併，之後發送至商業供應商 GATC GmbH.以在 MiSeq (2×250 bp 化學)或 HiSeq (2 x 300 bp 化學)平台上進行定序。

資料分析(定序後)

【0152】 使用快閃方法合併修剪原始序列資料。此舉濾除低質量讀數。使用 USEARCH 管道方法(版本 8.1.1861_i86_linux64)來鑒別單元素(singleton)，且將其對 OTU (操作分類單位)生成步驟隱藏。使用 UPARSE 算法來將序列群集成

OTU。使用 UCHIME 嵌合體去除算法與 Chimeraslayer 參考資料庫(下載於：2016 年 9 月 9 日)來去除擴增步驟中產生之嵌合序列。接著使用 USEARCH 全域比對算法來將所有讀數(包括單元素)映射至剩餘的 OTU 序列上。接著使用內部腳本將序列分組至如由 USEARCH 全域比對算法分類之 OTU 中。將各個序列分組至 OTU 中，以得到微生物組組成資訊(豐度及多樣性)。

高級資料分析

【0153】 使用 R 3.3.1 中之素文庫(Vegan library)生成各樣本配對之 Bray-Curtis 相異性矩陣。使用主坐標分析與 Bray-Curtis 相異性矩陣來將資料集可視化。

【0154】 使用內部熱圖 R 函數來產生熱圖可視化與基於 Bray-Curtis 相異性及 ward 連接法(ward linkage)之分層群集。

【0155】 在 R 中使用 phyloseq 文庫產生夏儂氏及辛普森(Simpson)多樣性指數。

【0156】 使用 DESeq2 方法來鑒別對於所選比較重要的分類變量。

【0157】 在 R 中使用 Adonis 函數來對相異性矩陣執行排列 MANOVA。

結果

【0158】 合併兩群組(71 名 IBS 患者及 67 名健康對照，包括 Blautix 處理組及安慰劑組)之來自所有時間點的樣本。使用在全微生物組資料集上產生之距離量度執行分析。圖 1 報導，IBS 受試者之微生物區與健康受試者之微生物區顯著不同。

【0159】 使用觀察到之預測分類群(OTU)、夏儂氏多樣性指數及辛普森多樣性指數進行多樣性分析。兩個處理組在第 16 日時間點時顯示多樣性增加，此對觀察到之 OTU 很重要，且顯示辛普森之趨勢(原始 P 值： < 0.1) (圖 2)。在用

安慰劑處理之患者內未觀察到此多樣性增加。在研究結束與第 1 日之間，在未經處理之 IBS 安慰劑群組中觀察到微生物區多樣性之顯著減少。

【0160】 圖 3 報導，Blautix 處理增加某些健康相關分類群之微生物區網路連接性。在健康患者中，自第 1 日至第 16 日(在 Blautix 處理後)觀察到微生物間連接之實質性增加，由此表明合作及微生物區結構之增加(圖 3A)。連接性與多樣性及穩定性相關。在洗脫期後，網路結構回復至與第 1 日觀察到之網路類似之網路。因此，Blautix 處理能夠增加健康患者之互連性，但是該作用在洗脫後損失。在 IBS 患者中，網路在第 1 日與第 16 日之間的連接性方面保持相似，但是在研究結束時觀察到連接性增加，表明 Blautix 處理之 IBS 患者中洗脫期後的微生物區結構增加(圖 3B)。因此，相較於健康患者，Blautix 對微生物組連接性之作用在 IBS 患者中延遲。

【0161】 微生物區概況之不穩定性/變化由同一受試者之一些時間點之間的 Bray Curtis 距離表示。Bray-Curtis 顯示種豐度概況之間的相異性限於 0 至 1 之間(0 =相同；1 =未共享任何種)。用 Blautix 對 IBS 患者進行之處理減少處理期間(圖 4A)及處理後(圖 4B-4C)的微生物區變化之量級。這顯示 Blautix 增加 IBS 患者之微生物區之穩定性，且該變化在介入之後繼續。在向 IBS 患者投與安慰劑時未觀察到此提高的穩定性(圖 4A-C)。

【0162】 圖 5 報導，相較於第 1 日，在第 16 日用 Blautix 處理之 IBS 患者之屬水準下的微生物區多樣性存在顯著增加。使用應用於屬水準之夏農氏多樣性指數(原始 p 值：0.04，第 1 日對第 16 日)進行多樣性分析。

【0163】 圖 6A 及圖 6B 顯示 Blautix 處理後健康患者及 IBS 患者中互斥網路之變化。在健康個體中，互斥網路在第 16 日時變得更密集且更互連，由此表明競爭及抑制增加。然而，在研究結束時，隨著網路結構回復至洗脫期期間的初始時間點(圖 6A)，此作用損失。在 IBS 患者中，Blautix 對互斥連接性之作用

為在處理期劑清除期內增加網路直徑。此與在網路變得更密集之健康個體中所見之作用相反。在 IBS 患者之洗脫階段期間，觀察到先前未見之多個獨立交互。多個獨立交互表示以獨立於網路之其餘部分(亦即，其等與網路之其餘部分沒有任何交互)的方式進行交互之分類群對。

【0164】 微生物區之可視化顯示，在 Blautix 處理後，某些健康相關分類群之網路連接性增加(圖 7)。健康相關分類群包括梭菌屬群集 IV、雙叉桿菌屬及普雷沃菌屬。震顫桿菌屬(*Oscillibacter*)亦潛在地為健康相關屬。此等健康相關分類群涉及對處理之反應。

實例2-在神經發育障礙之模型中的保護作用

BTBR 小鼠模型

【0165】 BTBR 小鼠模型使用展示出穩定的類自閉(*autistic-like*)表現型之近親配種的基因改造小鼠。在此品系中已報道社交行為缺陷、重複行為增加、及焦慮相關行為增加[51]。由於此穩定的行為表現型，BTBR 小鼠係用於評估新型治療劑對於治療自閉相關行為之功效的理想動物模型。活體生物治療劑(*live biotherapeutic*)對此類症狀之減輕亦可指示該生物治療劑在治療其他精神性或神經性疾病中之功效。

小鼠

【0166】 室內飼養雄性 BTBR 小鼠。以 12 小時暗週期(7:00-19:00 小時光照)將動物圈養在溫度和濕度受控之室內。所有實驗係根據 European Directive 2010/63/EEC、S.I. No 543/2012 之要求進行，且得到科克大學學院(*University College Cork*)之動物實驗倫理委員會(*Animal Experimentation Ethics Committee*)批准。

品系

【0167】 以登錄號 DSM 10507 及登錄號 DSM 14294 寄存之細菌產氫營養型

布勞特氏菌。

【0168】 生物治療劑提供在甘油原液中。活體生物治療劑在厭氧條件下生長於設施中。

活體生物治療劑投與

【0169】 當小鼠 8 週齡時開始用產氫營養型布勞特氏菌給藥。此等小鼠經由口服管飼法每天治療一次，持續 3 週。

投與計劃

【0170】 口服投與之載體為 PBS。經由口服管飼法每天口服投與。

糞便收集

【0171】 在產氫營養型布勞特氏菌投與之前及之後自各別小鼠收集新鮮糞便樣本。將至少 20 mg 新鮮糞便置於微量離心管中，該微量離心管立即置於冰上且接著存儲於-80°C。

結果

【0172】 圖 8 中示出在時間點(D14、D32)之間 Blautix 處理對微生物區之作用。在治療之前(D14)及治療之後(D32)研究時間點之間觀察到微生物區概況之顯著時間變化(p 值 = 0.001)。

【0173】 使用 DESeq2 之差異分析產生了 D14 與 D32 自閉研究時間點之間 Blautix 處理之 25 個顯著(經調整 p 值< 0.05)差異分類群。該等分類群列在下表 1 中。

OTU_ID	最低 水平	分類	log2 倍數變 化	標準誤	經調整 p 值
2440650	屬	梭菌屬 XIVa	19.706	3.008	6.9E-10
307526	種	產酸擬桿菌(Bacteroides acidifaciens)	11.275	0.912	5.0E-33
39008	種	產酸擬桿菌	10.501	1.345	1.0E-13
277773	種	芬氏別樣桿菌(Alistipes finegoldii)	9.954	0.906	2.8E-26
1105465	屬	巴內斯氏菌屬(Barnesiella)	9.255	0.923	2.8E-22
943687	科	紫單胞菌科	9.200	0.850	1.1E-25

		(Porphyromonadaceae)			
47662	種	腸結巴內斯氏菌(<i>Barnesiella</i>	8.844	0.988	7.0E-18
		<i>intestinihominis</i>)			
181003	屬	別樣桿菌屬(<i>Alistipes</i>)	8.370	2.069	4.2E-04
1282905	種	腸結巴內斯氏菌	7.373	1.004	2.8E-12
1370810	種	腸結巴內斯氏菌	6.633	1.986	0.006
1203483	種	產酸擬桿菌	6.599	1.584	2.7E-04
74179	種	芽胞別樣桿菌(<i>Alistipes</i>	6.318	1.899	0.006
		<i>massiliensis</i>)			
1640334	種	腸結巴內斯氏菌	6.258	2.066	0.013
76239	科	毛螺旋菌科(<i>Lachnospiraceae</i>)	6.202	1.229	4.6E-06
308030	種	腸結巴內斯氏菌	6.196	1.451	1.8E-04
1156020	科	丹毒絲菌科	5.827	1.607	0.002
		(<i>Erysipelotrichaceae</i>)			
712755	種	腸結巴內斯氏菌	5.614	1.749	0.008
11297	科	紫單胞菌科	5.450	1.021	1.0E-06
2218722	屬	梭菌屬 IV	3.983	1.017	0.001
594012	種	乳酸發酵梭菌(<i>Clostridium</i>	2.900	0.952	0.013
		<i>lactatifermentans</i>)			
453043	種	凸腹真桿菌(<i>Eubacterium</i>	-3.675	1.260	0.018
		<i>ventriosum</i>)			
451019	種	腸結巴內斯氏菌	-4.055	1.540	0.041
466087	種	嗜黏蛋白阿克曼氏菌	-6.727	0.876	2.5E-13
		(<i>Akkermansia muciniphila</i>)			
2153421	屬	布勞特氏菌屬 XIVa	-8.051	2.577	0.010
866478	種	腸結巴內斯氏菌	-8.961	0.846	9.3E-25

表 1. 自閉研究中 D14 與 D32 時間點之間的顯著差異分類群。正的倍數變化係解讀為 D32 時相較於 D14 時之增加。

概述

【0174】 在對動物投與 Blautix 之自閉小鼠模型中，觀察到其微生物組之顯著變化，包括細菌多樣性之實質淨增加。

實例3 –在大腦局部缺血中之作用

概述

【0175】 在大腦局部缺血之小鼠模型中測試產氫營養型布勞特氏菌之保護作用。為此，測試三組小鼠，每組 5-17 只。該研究中僅包括行為正常之動物。第一給藥日為第-14 天。一組接受經冷凍乾燥之細菌，自第一給藥日開始每天一次，直至研究終止。對照組接受載體或凍乾緩衝液(lyobuffer)。

【0176】 第 1 天，麻醉所有小鼠。在頸部之腹側形成中線切口，以暴露左、右總頸動脈。然後，使用血管夾，藉由雙側總頸動脈閉塞(BCCAO)經時 15 分鐘來誘導大腦局部缺血-再灌注 I/R 模型。每次閉塞結束時，移除夾子。

品系

【0177】 以登錄號 DSM 10507 及登錄號 DSM 14294 寄存之細菌產氫營養型布勞特氏菌。

投與計劃

動物個數	處理	劑量水平(mg/kg)	劑量體積(ml/kg 或 ml/動物)
12	PBS (陰性對照)	n/a	10
17	經冷凍乾燥之粉末	7.8 mg 於 100 µl 中	100 µl/動物
13	經冷凍乾燥之細菌	15.6 mg 於 100µl 中 (細菌劑量= 2x10 ⁸)	100 µl/動物

研究設計

【0178】 第-14 天至第 14 天：每日劑量的 PBS 對照(凍乾緩衝液)、經冷凍乾燥之粉末對照(載體)、或經冷凍乾燥之細菌(Blautix)。

【0179】 第 1 天：手術誘導之大腦局部缺血-再灌注 I/R 模型。

【0180】 第 14 天：每一組中的一半小鼠研究終止。

【0181】 第 14 天至第 28 天：對於每一組中的剩餘小鼠，每日劑量的 PBS 對照(凍乾緩衝液)、經冷凍乾燥之粉末對照(載體)、或經冷凍乾燥之細菌(Blautix)。

【0182】 第 28 天：剩餘小鼠之研究終止。

【0183】 在三個時間點收集糞便球粒：第-14 天、第 14 天、及第 28 天。每次採集在無菌環境下進行(完全無菌=動物之間係經清潔的)，其中將每只小鼠取出籠子且單獨置於新無菌箱中進行各別球粒收集。盡可能多地收集球粒以達到每只小鼠最少 80 mg 且較佳地 100 mg 之材料。

結果

【0184】 在投與 Blautix 之前的 D-14，未偵測到 Blautix 處理、載體及凍乾緩衝液組之間微生物區概況的顯著差異(p 值= 0.177)(見圖 9A)。然而，在第 14 天，觀察到不同處理組之間微生物區概況的顯著差異(見圖 9B)，其中所觀察 p 值為 0.011。發明人進一步評估了 Blautix 處理組之微生物區之時間變化且發現了顯著差異(見圖 9C)，其中所觀察 p 值為 0.002。

【0185】 使用 DESeq2 之差異分析在中風(Stroke)研究中產生了時間點之間載體、凍乾緩衝液及 Blautix 處理之顯著(經調整 p 值< 0.05)差異分類群，如表 2 中所示，其證實了由 Blautix 產生的對細菌多樣性之長期影響。Blautix 處理之分類群列在表 3、表 4 及表 5 中。

	D-14->D14	D14->D28	D-14->D28
載體	4	0	2
凍乾緩衝液	17	2	0
Blautix	7	14	12

表 2. 在中風研究中時間點之間的顯著差異分類群。

OTU_ID	最低水平	分類	log2 倍數變化	標準誤	經調整 p 值
321825	科	瘤胃菌科 (Ruminococcaceae)	1.647	0.470	0.027
74771	種	芽胞別樣桿菌	1.530	0.442	0.027
567799	屬	別樣桿菌屬	-1.215	0.308	0.008
77091	屬	梭菌屬	-1.634	0.489	0.036
472737	科	毛螺旋菌科	-2.585	0.667	0.008
615246	科	毛螺旋菌科	-3.003	0.711	0.007
166882	科	毛螺旋菌科	-5.547	1.406	0.008

表 3. 在中風研究中 Blautix 處理之 D-14 與 D14 時間點之間的顯著差異分類群。

正的倍數變化係解讀為 D14 時相較於 D-14 時之增加。

OTU_ID	最低水平	分類	log2 倍數變化	標準誤	經調整 p 值
1101936	目	梭菌目(Clostridiales)	3.275	0.709	0.001
218505	種	羅斯伯裡氏菌 (Roseburia faecis)	2.568	0.630	0.002
948888	屬	巴內斯氏菌屬	2.499	0.575	0.001
612631	屬	梭菌屬 XIVa	2.473	0.723	0.011
201398	門	擬桿菌門(Bacteroidetes)	2.045	0.605	0.011
1370810	種	腸結巴內斯氏菌	1.878	0.579	0.016

770554	種	腐爛別樣桿菌(<i>Alistipes putredinis</i>)	1.868	0.626	0.033
558330	屬	普 雷 沃 氏 菌 屬 (<i>Prevotella</i>)	1.795	0.453	0.002
943687	科	紫單胞菌科	1.586	0.546	0.039
308030	種	腸結巴內斯氏菌	1.324	0.361	0.005
176124	門	擬桿菌門	1.163	0.294	0.002
565518	種	吉氏顫螺菌(<i>Oscillospira guilliermondii</i>)	-1.571	0.488	0.016
544582	種	普 氏 梭 桿 菌 (<i>Flavonifractor plautii</i>)	-1.599	0.569	0.050
25678	種	舍 氏 黏 液 螺 桿 菌 (<i>Mucispirillum schaedleri</i>)	-2.751	0.640	0.001

表 4. 在中風研究中 Blautix 處理之 D14 與 D28 時間點之間的顯著差異分類群。
正的倍數變化係解讀為 D28 時相較於 D14 時之增加。

OTU_ID	最 低 水平	分 類	log2 倍 數變化	標準誤	經調整 p 值
688867	屬	梭菌屬 XIVa	8.296	1.136	3.8E-11
612631	屬	梭菌屬 XIVa	7.814	1.348	3.1E-07
560658	科	毛螺旋菌科	5.241	1.243	0.001
929749	種	反芻真桿菌 (<i>Eubacterium ruminantium</i>)	3.190	0.829	0.003
518034	種	費氏脫硫弧菌 (<i>Desulfovibrio fairfieldensis</i>)	3.098	0.982	0.024
74771	種	芽胞別樣桿菌	2.548	0.714	0.007
23310	種	<i>Odoribacter laneus</i>	1.621	0.475	0.011
117624	目	梭菌目	-1.748	0.612	0.049
411272	屬	梭菌屬 XIVa	-2.923	1.019	0.049
39008	種	產酸擬桿菌	-2.953	0.816	0.007
331352	屬	梭菌屬 XIVa	-3.969	0.626	1.6E-08
77091	屬	梭菌屬	-4.247	1.426	0.039

表 5. 在中風研究中 Blautix 處理之 D-14 與 D28 時間點之間的顯著差異分類群。
正的倍數變化係解讀為 D28 時相較於 D-14 時之增加。

【0186】 使用 DESeq2 之差異分析產生了中風研究時間點時 Blautix 處理對載體以及 Blautix 處理對凍乾緩衝液之顯著(經調整 p 值< 0.05)差異分類群，如表 6

中所示。該等分類群列在表 7、表 8 及表 9 中。

	D-14	D14	D28
Blautix 對載體	0	10	0
Blautix 對凍乾緩衝液	2	13	0

表 6. 在中風研究中 Blautix 處理之顯著差異分類群。

OTU_ID	最低水平	分類	log2 倍數變化	標準誤	經調整 p 值
25678	種	舍氏黏液螺桿菌	2.604	0.688	0.014
3119687	科	毛螺旋菌科	2.445	0.642	0.014
321825	科	瘤胃菌科	2.174	0.564	0.014
627	屬	梭菌屬 XIVa	1.915	0.601	0.043
308030	種	腸結巴內斯氏菌	-1.324	0.419	0.043
1370810	種	腸結巴內斯氏菌	-1.540	0.425	0.019
187271	種	黃化瘤胃球菌 (Ruminococcus flavefaciens)	-3.475	1.065	0.042
277773	種	芬氏別樣桿菌	-3.751	1.178	0.043
940566	種	緩慢葡萄球菌 (Staphylococcus lentus)	-5.228	1.519	0.026
930972	屬	葡萄球菌屬	-5.418	1.536	0.023

表 7. 在中風研究中 D14 時 Blautix 處理對載體之顯著差異分類群。

OTU_ID	最低水平	分類	log2 倍數變化	標準誤	經調整 p 值
1161472	科	毛螺旋菌科	6.511	1.403	0.001
392940	界	細菌	-5.169	1.346	0.022

表 8. 在中風研究中 D-14 時 Blautix 處理對凍乾緩衝液之顯著差異分類群

OTU_ID	最低水平	分類	log2 倍數變化	標準誤	經調整 p 值
25678	種	舍氏黏液螺桿菌	2.704	0.753	0.012
1379349	屬	梭菌屬 XIVa	2.517	0.771	0.027
742656	種	產戊酸震顫桿菌 (Oscillibacter valericigenes)	1.738	0.459	0.009
558330	屬	普雷沃氏菌屬	-1.634	0.406	0.006
1370810	種	腸結巴內斯氏菌	-1.780	0.390	0.001
712755	種	腸結巴內斯氏菌	-1.827	0.464	0.006
47662	種	腸結巴內斯氏菌	-2.109	0.606	0.014
1640334	種	腸結巴內斯氏菌	-2.260	0.693	0.027
1105465	屬	巴內斯氏菌屬	-2.306	0.627	0.010
161658	科	毛螺旋菌科	-2.565	0.816	0.037

277773	種	芬氏別樣桿菌	-3.619	1.034	0.014
187271	種	黃化瘤胃球菌	-3.924	1.057	0.010
459041	種	約氏乳酸桿菌 (Lactobacillus johnsonii)	-4.029	0.981	0.006

表 9. 在中風研究中 D14 時 Blautix 處理對凍乾緩衝液之顯著差異分類群
概述

【0187】 相較於凍乾緩衝液或載體對照，Blautix 在中風小鼠模型之整個研究期內實現了微生物區多樣性之顯著增加。

實例 4-在神經發炎病況之模型中的保護作用

【0188】 實驗性自體免疫性腦脊髓炎(EAE)係 CNS 炎症之小鼠模型，其反映出人類疾病 MS 之許多方面且 EAE 為人類 MS 之最常用實驗模型。EAE 亦更通常用作 CNS 特異性自體免疫病症[52]及其他特異性病況(包括急性瀰漫性腦脊髓炎)之模型。EAE 之誘導係使用髓鞘肽及佐劑進行免疫以引發免疫及發炎反應，該反應接近地對應於 CNS 之許多自體免疫及發炎病症、尤其係 MS 之潛在機制。在 EAE 中顯示出功效之許多療法亦在治療人類患者之 MS 上顯示出功效[52]。最重要地，EAE 再現了 MS 之關鍵特徵，包括發炎、脫髓鞘、神經軸突喪失(axonal loss)、及神經膠樣變性(gliososis)。EAE 中，脫髓鞘之影響主要局限於脊髓，腦幹及小腦有很少變化。EAE 中，CD4+ T 細胞為存在於 CNS 中之佔優勢細胞群。

方法學

【0189】 產氫營養型布勞特氏菌(「Blautix」，以登錄號 DSM 10507 及登錄號 DSM 14294 寄存之品系)係以經冷凍乾燥之粉末形式使用且需要時重構。

【0190】 使用 12 只成年雌性 C57BL/6J 小鼠。

【0191】 第 0 天及第 7 天，在氣體(異氟烷)麻醉下藉由皮下注射對動物投與含有 MOG35-55 及完全弗氏佐劑(complete Freund’s adjuvant, CFA)、補充有結核分枝桿菌(Mycobacterium Tuberculosis) H37Ra 之乳劑。第 0 天，在側腹部進行

兩次皮下注射；背部每個下象限一次。第 7 天，在側腹部進行兩次皮下注射；背部每個上象限一次。

【0192】 第 0 天及第 2 天，藉由腹膜內注射對動物投與磷酸鹽緩衝液(PBS)中之百日咳毒素(PTx)。第 0 天，在 MOG 注射後進行 PTx 投與。

【0193】 根據以下計劃，自第-14 天開始投與 Blautix 或對照之處理：

第 0 天：MOG/CFA，一次，SC

第 0 天：PTx，一次，IP

第 2 天：PTx，一次，IP

第 7 天：MOG/CFA，一次，SC

【0194】 在製備好的 15 分鐘內投與處理。Blautix 係以 2×10^8 之劑量投與；100μl/小鼠。

【0195】 自第 0 天直至實驗結束，每天針對 EAE 之臨床症狀對動物評分，該等臨床症狀包括尾巴及/或四肢之輕癱及麻痺。

【0196】 第-14 天、第-1 天及第 34 天，自每只動物收集糞便球粒，立即急速冷凍且存儲在-80°C。

結果

【0197】 對於 MS 模型在時間點(D-14、D-1、D34)之間 Blautix 處理對微生物區之作用示於圖 10 中。對於研究時間點觀察到微生物區概況之顯著時間變化(p 值 = 0.001)。

【0198】 使用 DESeq2 之差異分析產生了研究時間點之間 Blautix 處理之顯著(經調整 p 值< 0.05)差異分類群，如表 10 中所示。該等分類群列在表 11、表 12 及表 13 中。

	D-14->D-1	D-1->D34	D-14->D34
MS (Blautix)	42	30	58

表 10. 在 MS 研究中時間點之間的顯著差異分類群。

OTU_ID	最低水平	分類	log2 倍數變化	標準誤	經調整 p 值
1105465	屬	巴內斯氏菌屬	8.076	0.702	2.2E-28
48633	屬	梭菌屬 XIVa	7.304	0.825	7.0E-17
490405	種	嗜血蘇黎士桿菌 (Turicibacter sanguinis)	6.824	0.778	1.0E-16
491106	種	普氏梭桿菌	5.116	0.923	4.3E-07
43241	屬	梭菌屬 XIVa	5.041	0.739	2.2E-10
948888	屬	巴內斯氏菌屬	4.649	0.605	4.3E-13
47662	種	腸結巴內斯氏菌	4.276	0.501	5.1E-16
1288839	科	毛螺旋菌科	4.117	1.170	0.003
11297	科	紫單胞菌科	4.081	0.600	2.2E-10
198591	科	毛螺旋菌科	3.757	0.788	2.3E-05
49543	科	毛螺旋菌科	3.275	0.897	0.002
1009304	種	吉氏顫螺菌	3.140	1.043	0.015
930464	種	陌生非適應螺菌 (Insolitispirillum peregrinum)	2.804	1.033	0.029
1793164	屬	副薩特菌屬 (Parasutterella)	2.720	0.576	2.6E-05
1260915	界	細菌	2.678	0.804	0.006
36112	種	柔嫩梭菌(Clostridium leptum)	2.584	0.887	0.018
181003	屬	別樣桿菌屬	2.581	0.555	3.3E-05
149837	科	毛螺旋菌科	2.434	0.678	0.002
1056232	屬	梭菌屬 XIVa	2.308	0.856	0.030
770554	種	腐爛別樣桿菌	2.223	0.556	0.001
1176501	科	毛螺旋菌科	2.079	0.758	0.028
33530	種	酢酸、酪酸生成菌 (Acetatifactor muris)	1.965	0.569	0.004
43033	屬	別樣桿菌屬	1.788	0.379	2.6E-05
576748	科	瘤胃菌科	1.740	0.603	0.019
50759	種	吉氏顫螺菌	1.570	0.409	0.001
592877	種	Pseudoflavonifractor capillosus	1.512	0.418	0.002
712755	種	腸結巴內斯氏菌	1.509	0.502	0.015
375558	種	腸結巴內斯氏菌	1.505	0.554	0.029
307526	種	產酸擬桿菌	1.499	0.492	0.014
74641	種	產酸擬桿菌	1.418	0.532	0.032
943687	科	紫單胞菌科	1.162	0.397	0.018
791734	屬	梭菌屬 XIVa	-1.064	0.377	0.023
19031	種	人腸道厭氧棒狀菌 (Anaerotruncus colihominis)	-1.391	0.516	0.030
74179	種	芽胞別樣桿菌	-1.810	0.305	4.7E-08
211238	種	非溶菌厭氧支原體 (Anaeroplasma)	-2.662	0.859	0.012

		abactoclasticum)			
76239	科	毛螺旋菌科	-2.721	0.668	4.2E-04
743544	屬	梭菌屬 XIVa	-3.014	0.672	7.0E-05
993522	屬	梭菌屬 XIVa	-3.394	0.708	2.2E-05
76325	屬	乳桿菌屬(Lactobacillus)	-3.621	0.575	5.2E-09
209309	科	毛螺旋菌科	-3.857	1.295	0.016
567799	屬	別樣桿菌屬	-5.435	0.634	4.3E-16
77091	屬	梭菌屬	-6.877	1.048	1.0E-09

表 11. 在 MS 研究中 D-14 與 D-1 時間點之間的顯著差異分類群。正的倍數變化係解讀為 D-1 時相較於 D-14 時之增加。

OTU_ID	最低水平	分類	log2 倍數變化	標準誤	經調整 p 值
1370810	種	腸結巴內斯氏菌	4.794	1.196	0.001
1684470	種	Parasutterella	4.434	1.167	0.002
		excrementihominis			
1070245	種	叢尾真桿菌(Eubacterium	3.870	0.961	0.001
		plexicaudatum)			
518034	種	費氏脫硫弧菌	3.867	0.962	0.001
1482481	種	產氣莢膜梭菌(Clostridium	3.228	1.112	0.029
		disporicum)			
567799	屬	別樣桿菌屬	3.218	0.864	0.002
1404432	種	產酸擬桿菌	2.978	0.835	0.004
1067514	屬	巴內斯氏菌屬	2.967	0.921	0.011
76325	屬	乳桿菌屬	2.893	0.683	0.001
307526	種	產酸擬桿菌	2.218	0.351	1.8E-08
1288839	科	毛螺旋菌科	2.084	0.746	0.035
866478	種	腸結巴內斯氏菌	1.936	0.647	0.022
23133	科	瘤胃菌科	1.840	0.544	0.007
472737	科	毛螺旋菌科	1.697	0.524	0.011
842401	目	梭菌目	1.601	0.535	0.022
39008	種	產酸擬桿菌	1.494	0.390	0.002
74179	種	芽胞別樣桿菌	1.426	0.328	3.9E-04
277773	種	芬氏別樣桿菌	1.323	0.461	0.029
76234	科	毛螺旋菌科	-1.183	0.333	0.004
948888	屬	巴內斯氏菌屬	-1.453	0.520	0.035
150155	科	毛螺旋菌科	-1.609	0.421	0.002
783115	科	脫硫弧菌科	-2.262	0.608	0.002
		(Desulfovibrionaceae)			
773427	種	人腸道厭氧棒狀菌	-2.443	0.661	0.003
201157	科	毛螺旋菌科	-2.587	0.754	0.006
596894	屬	梭菌屬 XIVa	-2.616	0.909	0.029
43033	屬	別樣桿菌屬	-3.236	0.718	2.2E-04
1793164	屬	副薩特菌屬	-3.758	0.632	1.4E-07
49543	科	毛螺旋菌科	-4.849	0.920	5.5E-06
490405	種	嗜血蘇黎士桿菌	-5.152	0.704	2.5E-11

48282	科	毛螺旋菌科	-5.460	0.666	4.7E-14
-------	---	-------	--------	-------	---------

表 12. 在 MS 研究中 D-1 與 D34 時間點之間的顯著差異分類群。正的倍數變化係解讀為 D34 時相較於 D-1 時之增加。

OTU_ID	最低 水平	分類	log2 倍 數變化	標準誤	經調整 p 值
1105465	屬	巴內斯氏菌屬	7.221	0.754	2.1E-19
48633	屬	梭菌屬 XIVa	6.734	0.959	8.7E-11
1288839	科	毛螺旋菌科	5.820	0.811	3.5E-11
518034	種	費氏脫硫弧菌	5.459	0.999	8.3E-07
1684470	種	Parasutterella excrementihominis	5.289	1.408	0.001
1482481	種	產氣莢膜梭菌	4.947	1.295	0.001
1370810	種	腸結巴內斯氏菌	4.734	1.263	0.001
1070245	種	叢尾真桿菌	4.620	0.794	1.3E-07
1067514	屬	巴內斯氏菌屬	4.544	1.103	2.8E-04
1575843	種	反芻梭菌(Clostridium ruminantium)	4.393	1.743	0.040
43241	屬	梭菌屬 XIVa	4.284	0.817	2.4E-06
47662	種	腸結巴內斯氏菌	4.273	0.478	3.8E-17
1728285	屬	Lachnospiracea incertae sedis	4.204	1.221	0.003
11297	科	紫單胞菌科	3.921	0.577	3.4E-10
307526	種	產酸擬桿菌	3.539	0.534	9.9E-10
198591	科	毛螺旋菌科	3.273	0.762	1.4E-04
236126	種	吉氏顫螺菌	3.175	1.086	0.015
930464	種	陌生非適應螺菌	3.152	0.848	0.001
948888	屬	巴內斯氏菌屬	3.040	0.629	1.6E-05
491106	種	普氏梭桿菌	3.039	1.170	0.034
563211	科	毛螺旋菌科	2.564	0.965	0.030
149837	科	毛螺旋菌科	2.562	0.890	0.016
770554	種	腐爛別樣桿菌	2.520	0.455	6.2E-07
1260915	界	細菌	2.505	0.677	0.001
36112	種	柔嫩梭菌	2.483	0.916	0.026
1056232	屬	梭菌屬 XIVa	2.319	0.664	0.002
39008	種	產酸擬桿菌	2.107	0.274	9.9E-13
23133	科	瘤胃菌科	2.049	0.614	0.004
74641	種	產酸擬桿菌	2.002	0.457	1.0E-04
712755	種	腸結巴內斯氏菌	1.977	0.470	2.0E-04
277773	種	芬氏別樣桿菌	1.881	0.388	1.6E-05
1404432	種	產酸擬桿菌	1.805	0.563	0.006
1176501	科	毛螺旋菌科	1.654	0.630	0.032
544582	種	普氏梭桿菌	1.418	0.540	0.032
76234	科	毛螺旋菌科	-0.991	0.389	0.038
80190	科	毛螺旋菌科	-1.113	0.348	0.006
182471	目	梭菌目	-1.315	0.472	0.021

494032	種	乳清西愛梭菌(Clostridium oroticum)	-1.502	0.580	0.034
2367602	目	梭菌目	-1.518	0.472	0.006
74771	種	芽胞別樣桿菌	-1.617	0.408	0.001
172154	屬	梭菌屬 XIVa	-1.628	0.442	0.001
993522	屬	梭菌屬 XIVa	-1.799	0.594	0.011
791734	屬	梭菌屬 XIVa	-1.842	0.387	2.2E-05
150155	科	毛螺旋菌科	-1.859	0.532	0.002
743544	屬	梭菌屬 XIVa	-2.196	0.558	0.001
567799	屬	別樣桿菌屬	-2.378	0.513	3.9E-05
96345	屬	梭菌屬 XIVa	-2.528	0.667	0.001
19031	種	人腸道厭氧棒狀菌	-2.575	0.610	1.9E-04
201157	科	毛螺旋菌科	-2.615	0.866	0.011
578360	科	毛螺旋菌科	-2.870	0.586	1.4E-05
76239	科	毛螺旋菌科	-3.325	0.631	2.3E-06
1165458	科	毛螺旋菌科	-3.346	0.754	8.1E-05
773427	種	人腸道厭氧棒狀菌	-3.475	0.776	7.0E-05
209309	科	毛螺旋菌科	-3.639	1.042	0.002
320120	屬	梭菌屬 XIVa	-3.670	0.811	5.9E-05
1628488	種	Vallitalea guaymasensis	-4.144	1.538	0.027
48282	科	毛螺旋菌科	-4.653	1.012	4.5E-05
77091	屬	梭菌屬	-7.493	1.192	7.9E-09

表 13. 在 MS 研究中 D-14 與 D34 時間點之間的顯著差異分類群。正的倍數變化係解讀為 D34 時相較於 D-14 時之增加。

概述

【0199】 在多發性硬化症之動物模型中，Blautix 實現了微生物區多樣性之顯著增加且導致處理期間之顯著時間變化。

【0200】 以上僅藉由實例之方式描述本發明，且應當理解，可進行處於申請專利範圍之範疇內的進一步修改。

序列

SEQ ID NO:1 (糞便布勞特氏菌品系 GAM6-1 16S 核糖體 RNA 基因，部分序列-HM626177)

```

1  tgcaagtcca gccaagcgct tacgacagaa ccttcggggg aagatgtaag ggactgagcg
61  ggggacgggt gactaacgag tgggtaacct gccatatac gggggataac agttggaaac
121  ggctgctaata accgcataag cgcacgggtat cgcattgatac agtgtgaaaa actccgggtgg
181  tatgagatgg acccgcgctc gattagctag ttggaggggt aacggccac caaggcgagc
241  atcagtagcc ggccctgagag ggtgaacggc cacattggga ctgagacacg gccagacac
301  ctacgggagg cagcagtggt gaattattga caatggggga aacctgatg cagcgacgcc
361  gcgtagaaga agaagtatct cggtagttaa acttctatca gcagggaaga aaatgacggg
421  acctgactaa gaagcccggt ctaactacgt gccagcagcc ggggtaatac gtagggggca
481  agcggttatcc ggacttactg ggtgtaaaag gagcgtagac ggaagagcaa gtctgatgtg
541  aaaggctggg gcttaacccc aggaactgat tggaaactgt tttctctgag tgccggagag
601  gtaagcggaa ttcttagtgt agcgggtgaa tgcgtagata ttaggaggaa caccagtgcc
661  gaaggcggct tactggacgg taactgacgt tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg
721  attagatacc ctggtagtcc acgcggtaaa cgatgaatac taggtgttgg ggagcaaagg
781  tcttcgggtg cgcagcaaac gcaataagta ttccacctgg ggagtaactt cgcagaatg
841  aaactcaaag gaattgacgg ggaccgcgac aagcggtgga gcattgtggt taattogaag
901  caacgcgaag aaccttacc agtcttgaca tcgattctgac cggttctgta tggaaacctt
961  ccttcgggac agagaagaca ggtggtgcat ggttgctctc agctcgtctc gtgagatgtt
1021  ggggttaagtc ccgcaacgag cgcacccctt atctcagta gccagcaggt gaagctgggc
1081  acctctgtga gactgccagg gataacctgg aggaaggcgg ggacgaactc aaatcatcat
1141  gccccttatg atttgggcta cacacgtgct acaatggcgt aaacaaaggg aagcgagccc
1201  gcgaggggga gcaaatccca aaaataacgt cccagttcgg actgcagttc gcaactcgac
1261  tgcaacgaagc tggaaatcgt agtaatcgcg aatcagaatg tcgcggtgaa tacgttcccg
1321  ggtcttgtac acaccgcggt tcacaccatg ggagtcagta acgcgcgaag tc

```

SEQ ID NO:2 (韋克斯勒布勞特氏菌品系 WAL 14507 16S 核糖體 RNA 基因，部分序列-EF036467)

1 caagtcgaac ggggaattant ttattgaaac ttcggtcgat ttaattttaat tctagtggcg
61 gacgggtgag taacgcgtgg gtaacctgcc ttatacaggg ggataacagt cagaaatggc
121 tgctaatacc gcataagcgc acagagctgc atggctcagt gtgaaaaact ccggtggtat
181 aagatggacc cgcgttggat tagcctgttg gtggggtaac ggcccaccaa ggcgacgac
241 catagccggc ctgagagggc gaacggccac attgggactg agacacggcc cagactccta
301 cgggaggcag cagtggggaa tattgcacaa tgggggaaac cctgatgcag cgacgcgcg
361 tgaaggaga agtatctcgg tatgtaaaact tctatcagca ggaagatag tgacggtacc
421 tgactaagaa gccccggcta actacgtgcc agcagccgcg gtaatacgtg gggggcaagc
481 gttatccgga tttactgggc gtaaaggag cgtagacggg gtggcaagtc tgatgtgaaa
541 ggcattgggt caacctgtgg actgcattgg aaactgtcat acttgagtgc cggaggggta
601 agcggaaatc ctagtgtagc ggtgaaatgc gtagatatta ggaggaaacac cagtggcgaa
661 ggcggttac tggacggtaa ctgacgttga ggctcgaaag cgtggggagc aaacaggatt
721 agataccctg gtagtccacg ccgtaaacga tgaataacta ggtgtcgggt ggcaaagcca
781 ttcggtgccg tcgcaaacgc agtaagtatt ccacctgggg agtacgttcg caagaatgaa
841 actcaagga attgacgggg acccgacaa gcggtggagc atgtggttta attcgaagca
901 acgcgaagaa ccttaccag tcttgacatc cgcctgaccg atccttaacc ggatctttcc
961 ttcgggacag gcgagacagg tgggtgcattg ttgtcgtcag ctctgtcgt gagatgttgg
1021 gtaagtccc gaaacgagcg caaccttat cctcagtagc cagcatttaa ggtgggcact
1081 ctggggagac tgccagggat aacctggagg aaggcgggga tgacgtcaaa tcatcatgcc
1141 ccttatgatt tgggtacac acgtgctaca atggcgtaa caaagggaag cgagattgtg
1201 agatggagca aatcccaaaa ataacgtccc agttcggact gtagtctgca acccgactac
1261 acgaagctgg aatcgctagt aatcgcggt cagaatgcg cgggtgaatac gttcccggt
1321 ctgttacaca cggcccgta caccatggga gtcagtaacg ccggaagtca gtgacctaac
1381 tgcaaagaag gagctgcga aggcgggacc gatgactggg gtgaagtcgt aacaaggt

SEQ ID NO:3 (糞便布勞特氏菌品系 830 之共同 16S rRNA 序列)

TTTKGTCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGAAGCGCTTACGACAGAACCTT
CGGGGGAAGATGTAAGGGACTGAGCGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACCTGCCTCATACAGGGGGATAACA
GTTGGAAACGGCTGCTAATACCGCATAAGCGCACAGTATCGCATGATACAGTGTGAAAAACTCCGGTGGTATGAGAT
GGACCCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGAGGGGTAACGGCCACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGCGCTGAGAGGGTGA
ACGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAA
CCCTGATGCAGCGACGCCGCTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATGTAACTTCTATCAGCAGGGGAAGAAAATGACGG
TACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTT
ACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGAAGAGCAAGTCTGATGTGAAAGGCTGGGGCTTAACCCCAGGACTGCATTGG
AAACTGTTTTTCTTGAGTGCCGGAGAGGTAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAA
CACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACGGTAACGTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAGGTGTTGGGGAGCAAAGCTCTTCGGTGCCGACGCAAACGCAA

TAAGTATTCCACCTGGGGAGTACGTTTCGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAG
CATGTGGTTTATTTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCGATCTGACCGGTTCGTAATGGAACCTT
TCCTTCGGGACAGAGAAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCCTATCGTCAGTAGCCAGCAGGTAAAGCTGGGCACTCTGAGGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGG
AAGGCGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGGG
AAGCGAGCCCCGCGAGGGGGAGCAAATCCCAAAAATAACGTCCCAGTTCGGACTGCAGTCTGCAACTCGACTGCACGA
AGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCCGTAC
ACCATGGGAGTCAGTAACGCCCGAAGTCAGTGACCCAACCTTAGGGAGGGAGCTGCCGAAGGCGGGATTGATAACTG
GGGTGAAGTCTAGGGGGT

SEQ ID NO:4 (韋克斯勒布勞特氏菌品系 MRX008 之共同 16S rRNA 序列)

TTCATTGAGACTTCGSTGGATTTAGATTCTATTTCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACTGCCTTAT
ACAGGGGGATAACAGTCAGAAATGGCTGCTAATAACCGCATAAGCGCACAGAGCTGCATGGCTCAGTGTGAAAACTC
CGGTGGTATAAGATGGACCCGCGTTGGATTAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCCACCAAGGCGACGATCCATAGCCG
GCCTGAGAGGGTGAACGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTG
CACAATGGGGGAAACCCGTATGCAGCGACGCCGCGTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATGTAAACTTCTATCAGCAGG
GAAGATAGTGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGGGCAAG
CGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGTGTGGCAAGTCTGATGTGAAAGGCATGGGCTCAACCT
GTGGACTGCATTGGAACTGTCATACTTGAGTGCCGGAGGGGTAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTA
GATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACGGTAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGC
AAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAGGTGTCNCGGGAGCATGGCTCTTCGGTG
CCGTGCGAAACGCAGTAAGTATTCCACCTGGGGAGTACGTTTCGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCCGCCTGACCGA
TCCTTAACCGGATCTTTCTTCGGGACAGGGCAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTT
GGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCTCAGTAGCCAGCATTAAAGGTGGGCACTCTGGGGAGACTGCCA
GGGATAACCTGGAGGAAGGCGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAAT
GGCGTAAACAAAGGGAAGCGAGATCGTGAGATGGAGCAAATCCCAAAAATAACGTCCCAGTTCGGACTGTAGTCTGC
AACCCGACTACACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTA
CACACCGCCCCGTACACCATGGGAGTCAGTAACGCCCGAAGTCAGTGACCTAACTGCAAAGAAGGAGCTGCCGAA

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

```

1 gatgaacgct ggcggcggtgc ttaacacatg caagtogaac gaagcgatag agaacggaga
61 ttccggttga agttttctat tgactgagtg gcggacgggt gagtaacgcg tgggtaacct
121 gccctataca gggggataac agttagaaat gactgctaata accgcataag cgcacagcct
181 cgcattgaagc ggtgtgaaaa actgaggtgg tataggatgg acccgcggtg gattagctag
241 ttggtgaggt aacggccac caaggcgagc atccatagcc ggcccgagag ggtgaacggc
301 cacattggga ctgagacacg gccaaaactc ctacgggagg cagcagtggt gaattattga
361 caatggggga aacctgatg cagcgacgc gcgtgaagga agaagtatct cggtatgtaa
421 acctctatca gcagggaaga aagtgaaggc acctgactaa gaagcccgcg ctaattacgt
481 gccagcagcc gcggtaatac gtaaggggca agcggtatcc ggatttactg ggtgtaaagg
541 gagcgtagac ggtttggcaa gtctgatgtg aaaggcatgg gctcaacctg tggactgcac
601 tggaaaactgt cagacttgag tgccggagag gcaagcgga ttcctagtgt agcggtgaaa
661 tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc gaaggcgcc tgctggacgg taactgaagt
721 tgaggctoga aagcggtggg agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc acgctgtaaa
781 cgatgaatac taggtgtcgg gtggcaaac cattcggtgc cgcagcaaac gcaataagta
841 ttcccaacctg gggagtacgt tcgcaagaat gaaactcaaa ggaattgacg gggaccgcga
901 caagcggtgg agcatgtgg ttaactcgaa gcaacgcgaa gaacctacc aaatcttgac
961 atccctctga cggggaagta atgtccctt ttcttcggaa cagaggagac aggtggtgca
1021 tggttgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga gcgcaacctc
1081 tattcttagt agccagcagg tagagctggg cactctaggg agactgccag ggataacctg
1141 gaggaagggt gggatgacgt caaacatca tgcccttat gatttgggt acacacgtgc
1201 tacaatggcg taaacaaagg gaagcgaagg ggtgacctg agcaatctc aaaaataacg
1261 tccagttcg gatgtagtgc tgcaactcga ctacatgaag ctggaatcgc tagtaatcgc
1321 gaatcagaat gtccgggtga atacgttccc gggctctgta cacacgcgc gtcacacat
1381 gggagtacgt aacgcccga gtcagtgaac caacnaaag gagggagctg ccgaagggtg
1441 gactgataac tgggggtga

```

參考文獻

- [1] Spor *et al.* (2011) *Nat Rev Microbiol.* 9(4):279-90.
- [2] Tap *et al.* (2009), *Environ Microbiol*, 11(10):2574-84
- [3] Macpherson *et al.* (2001) *Microbes Infect.* 3(12):1021-35
- [4] Macpherson *et al.* (2002) *Cell Mol Life Sci.* 59(12):2088-96.
- [5] Mazmanian *et al.* (2005) *Cell* 15;122(1):107-18.
- [6] Frank *et al.* (2007) *PNAS* 104(34):13780-5.
- [7] Scanlan *et al.* (2006) *J Clin Microbiol.* 44(11):3980-8.
- [8] Kang *et al.* (2010) *Inflamm Bowel Dis.* 16(12):2034-42.
- [9] Machiels *et al.* (2013) *Gut.* 63(8):1275-83.
- [10] WO 2013/050792
- [11] WO 03/046580
- [12] WO 2013/008039
- [13] WO 2014/167338
- [14] Lee and Lee (2014) *World J Gastroenterol.* 20(27): 8886-8897.
- [15] Xie *et al.* (2016) *Journal Dairy Sci.* 99:6913-6921

- [16] WO 01/85187
- [17] WO2016/086161
- [18] YQ et al. (2016), *J. Dig. Dis.*, “*Therapeutic Modulation of the Gut Microbiota in IBD - More Questions to Be Answered*”, Oct 15, 1751-2980, 12422, Epub ahead of print.
- [19] Lozupone (2012). *Nature*. 2012 September 13; 489 (7415): 220–230
- [20] Claesson, et al. (2012) *Nature*, 488, 178-184.
- [21] Hansen, et al., (2010), *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 26(6): 564-571.
- [22] Turnbaugh et al. *Nature*, 457(7228): 480-484.
- [23] Wang et al. (2009) *ISME J.* 3(8): 944-954.
- [24] Faith et al. (2013), *Science*, 341(6141): 1237439
- [25] Liu et al. (2008) *Int J Syst Evol Microbiol* 58, 1896–1902.
- [26] Bernalier et al. (1996) *Arch. Microbiol.* 166 (3), 176-183.
- [27] Park et al. (2012) *Int J Syst Evol Microbiol.* 62(Pt 4):776-9.
- [28] Masco et al. (2003) *Systematic and Applied Microbiology*, 26:557-563.
- [29] Srůtková et al. (2011) *J. Microbiol. Methods*, 87(1):10-6.
- [30] Miyamoto-Shinohara et al. (2008) *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 54, 9–24.
- [31] Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols, ed. by Day and McLellan, Humana Press.
- [32] Leslie et al. (1995) *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 3592–3597.
- [33] Mitropoulou et al. (2013) *J Nutr Metab.* (2013) 716861.
- [34] Kailasapathy et al. (2002) *Curr Issues Intest Microbiol.* 3(2):39-48.
- [35] Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd Edition, (1994), Edited by A Wade and PJ Weller
- [36] Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985)
- [37] US 2016/0067188
- [38] *Handbook of Microbiological Media, Fourth Edition* (2010) Ronald Atlas, CRC Press.
- [39] *Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry* (1996) Jennie C. Hunter-Cevera, Academic Press
- [40] Strobel (2009) *Methods Mol Biol.* 581:247-61.
- [41] Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. 20th edition, ISBN: 0683306472.
- [42] *Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course*, (Ream et al., eds., 1998, Academic Press).
- [43] *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan, eds., Academic Press, Inc.)
- [44] *Handbook of Experimental Immunology*, Vols. I-IV (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds, 1986, Blackwell Scientific Publications)
- [45] Sambrook et al. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd edition (Cold Spring Harbor Laboratory Press).
- [46] *Handbook of Surface and Colloidal Chemistry* (Birdi, K.S. ed., CRC Press, 1997)

- [47] Ausubel *et al.* (eds) (2002) *Short protocols in molecular biology*, 5th edition (Current Protocols).
- [48] *PCR (Introduction to Biotechniques Series)*, 2nd ed. (Newton & Graham eds., 1997, Springer Verlag)
- [49] *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel *et al.*, eds., 1987) Supplement 30
- [50] Smith & Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2: 482-489.
- [51] Meyza and Blanchard (2017) *Neurosci Biobehav Rev.*;76(Pt A):99-110
- [52] Constantinescu *et al.* (2011) *Br J Pharmacol.* 164(4):1079–1106

【生物材料寄存】

[主張利用生物材料 1]

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

[主張利用生物材料 2]

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

[主張利用生物材料 3]

GB 英國；英國食品工業與海洋細菌菌種保藏中心(NCIMB)；2015/03/12；
NCIMB 42381

[主張利用生物材料 4]

GB 英國；英國食品工業與海洋細菌菌種保藏中心(NCIMB)；2015/11/16；
NCIMB 42486

【序列表】

<110> 英商4D製藥有限公司(4D Pharma PLC)

<120> 包含細菌品系之組合物

<130> D95474-209961

<140> 106143628

<141> 2017-12-12

<150> GB1621123.7

<151> 2016-12-12

<160> 5

<170> SeqWin2010, 版本 1.0

<210> 1

<211> 1372

<212> DNA

<213> 糞便布勞特氏菌

<400> 1

tgcaagtcga gcgaagcgct tacgacagaa ccttcggggg aagatgtaag ggactgagcg 60

gcggacgggt gagtaacgcg tgggtaacct gccataca ggggataac agttggaaac 120

ggctgctaata accgcataag cgcacgggtat cgcatacag agtgtgaaaa actccgggtg 180

tatgagatgg accgcgtctt gattagctag ttggaggggt aacggccac caaggcgacg 240

atcagtagcc ggctgagag ggtgaacggc cacattggga ctgagacac gccagactc 300

ctacgggagg cagcagtggg gaattattgca caatggggga aaccctgatg cagcgacgcc 360

gcgtgaagga agaagtattt cgggtatgta acttctatca gcagggaaga aaatgacggg 420

acctgactaa gaagccccgg ctaactactg gccagcagcc gcggtaatac gtagggggca 480

agcgttatcc ggatttactg ggtgtaaagg gacgtagac ggaagagcaa gtctgatgtg 540

aaaggctggg gcttaacccc aggactgcat tggaaactgt tttcttgag tgccggagag 600

gtaagcgga ttcctagtgt agcggtgaaa tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc 660

gaaggcggtt tactggacgg taactgacgt tgaggtcga aagcgtgggg agcaaacagg 720

attagatacc ctggtagtcc acgccgtaa cgatgaatac taggtgttgg ggagcaaagc 780

tcttcgggtg cgcagcaaac gcaataagta ttccacctgg ggagtacgtt cgcaagaatg 840

aaactcaaag gaattgacgg ggacccgcac aagcgggtga gcatgtggtt taattcgaag 900

caacgcgaag aaccttacca agtcttgaca tcgatctgac cggttcgtta tggaaccttt 960

ccttcgggac agagaagaca ggtggtgcat ggttgctgac agctcgtgac gtgagatgtt 1020

gggttaagtc ccgcaacgag cgcaaccctt atcctcagta gccagcaggt gaagctgggc 1080

actctgtgga gactgccagg gataacctgg aggaaggcgg ggacgacgac aaatcatcat 1140

gcccccttatg atttgggcta cacacgtgct acaatggcgt aaacaaaggg aagcgagccc 1200

gcgaggggga gcaaatccca aaaataacgt cccagttcgg actgcagtct gcaactcgac 1260

tgcacgaagc tggaatcgct agtaatcgcg aatcagaatg tcgcggtgaa tacgttcccg 1320
ggtcttgtac acaccgcccc tcacaccatg ggagtcagta acgcccgaag tc 1372

- <210> 2
- <211> 1438
- <212> DNA
- <213> 韋克斯勒布勞特氏菌

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> 19
- <223> 『n』 為 a、c、g、或 t

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> 19
- <223> 『n』 為 a、c、g、或 t

<400> 2
caagtcgaac gggaattant ttattgaaac ttcggtcgat ttaatttaat tctagtggcg 60
gacgggtgag taacgcgtgg gtaacctgcc ttatacaggg ggataacagt cagaaatggc 120
tgctaatacc gcataagcgc acagagctgc atggctcagt gtgaaaaact ccggttggtat 180
aagatggacc cgcgttggat tagcttgttg gtggggtaac ggcccaccaa ggcgacgac 240
catagccggc ctgagagggt gaacggccac attgggactg agacacggcc cagactccta 300
cgggaggcag cagtggggaa tattgcacaa tgggggaaac cctgatgcag cgacgcccg 360
tgaaggaaga agtatctcgg tatgtaaact tctatcagca gggaagatag tgacggtacc 420
tgactaagaa gccccggcta actacgtgcc agcagcccg gtaatacgta gggggcaagc 480
gttatccgga ttactgggt gtaaaggag cgtagacggt gtggcaagtc tgatgtgaaa 540
ggcatgggct caacctgtgg actgcattgg aaactgtcat acttgagtgc cggaggggta 600
agcgggaattc ctagtgtagc ggtgaaatgc gtagatatta ggaggaacac cagtggcgaa 660
ggcggettac tggacggtaa ctgacgttga ggtcggaaag cgtggggagc aaacaggatt 720
agataccctg gtagtccacg ccgtaaacga tgaataacta ggtgtcgggt ggcaaagcca 780
ttcgggtgccg tcgcaaacgc agtaagtatt ccacctgggg agtacgttcg caagaatgaa 840
actcaaagga attgacgggg acccgacaaa gcggtggagc atgtggttta attcgaagca 900
acgcaagaa ccttaccaag tcttgacatc cgctgaccg atccttaacc ggatctttcc 960
ttcgggacag gcgagacagg tgggtcatgg ttgtcgtcag ctcgtgtcgt gagatgttgg 1020
gttaagtecc gcaacgagcg caaccctat cctcagtagc cagcatttaa ggtgggcact 1080
ctggggagac tgccagggat aacctggagg aaggcgggga tgacgtcaaa tcatcatgcc 1140
ccttatgatt tgggctacac acgtgtaca atggcgtaaa caaagggaag cgagattgtg 1200
agatggagca aatcccaaaa ataacgtccc agttcggact gtagtctgca acccgactac 1260
acgaagctgg aatcgctagt aatcgcgat cagaatgccg cggatgaatac gttcccggt 1320
cttgtaaca cgcctcgta caccatggga gtcagtaacg cccgaagtca gtgacctaac 1380
tgcaaagaag gagctgccga aggcgggacc gatgactggg gtgaagtcgt aacaaggt 1438

<210> 3
<211> 1481
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 糞便布勞特氏菌之一致的 16s

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

<210> 4
<211> 1384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 韋克斯勒布勞特氏菌之一致的 16s

<220>

<221> misc_feature
<222> 749
<223> 『n』為 a、c、g、或 t

<220>
<221> misc_feature
<222> 749
<223> 『n』為 a、c、g、或 t

<400> 4
ttcattgaga cttcggtgga tttagattct atttctagtg gcggacgggt gagtaacgcg 60
tgggtaacct gccttataca gggggataac agtcagaaat ggctgctaata accgcataag 120
cgcacagagc tgcattggctc agtgtgaaaa actccgggtg tataagatgg acccgcttg 180
gattagcttg ttggtggggg aacggcccaac caaggcgacg atccatagcc ggctgagag 240
ggtgaacggc cacattggga ctgagacacg gccagactc ctacgggagg cagcagtggg 300
gaatattgca caatggggga aacctgatg cagcgacgcc gcgtgaagga agaagtatct 360
cgggtatgtaa acttctatca gcagggaaga tagtgacggt acctgactaa gaagccccgg 420
ctaactacgt gccagcagcc gcggtataac gtagggggca agcgttatcc ggatttactg 480
ggtgtaaagg gagcgtagac ggtgtggcaa gtctgatgtg aaaggcatgg gctcaacctg 540
tggactgcat tggaaactgt catacttgag tgccggaggg gtaagcggaa ttcttagtgt 600
agcgggtgaaa tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc gaaggcggt tactggacgg 660
taactgacgt tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc 720
acgccgtaaa cgatgaatac taggtgtcng gggagcatgg ctcttcggtg ccgtcgcaaa 780
cgcagtaagt attccacctg gggagtagct tcgcaagaat gaaactcaaa ggaattgacg 840
gggacccgca caagcgggtg agcatgtggt ttaattcgaa gcaacgcga gaaccttacc 900
aagtcttgac atccgctga ccgacctta accgatctt tccttcggga caggcgagac 960
aggtggtgca tggttgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga 1020
gcgcaacccc tatectcagt agccagcatt taaggtgggc actctgggga gactgccagg 1080
gataacctgg aggaaggcgg ggtgacgac aaatcatcat gccccttatg atttgggcta 1140
cacacgtgct acaatggcgt aaacaaaggg aagcgagatc gtgagatgga gcaaatccca 1200
aaaataacgt ccagttcgg actgtagtct gcaacccgac tacacgaagc tggaatcgct 1260
agtaatcgcg gatcagaatg ccgcggtgaa tacgttcccg ggtcttgtag acaccgcccg 1320
tcacaccatg ggagtcagta acgcccgaag tcagtgcact aactgcaaag aaggagctgc 1380
cgaa 1384

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

<220>
<221> misc_feature
<222> 1416
<223> 『n』為 a、c、g、或 t

<220>
<221> misc_feature
<222> 1416
<223> 『n』 為 a、c、g、或 t

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

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】

一種包含產氫營養型布勞特氏菌(*Blautia hydrogenotrophica*)菌種之細菌品系的組合物之用途，其用於製備治療或預防個體中之腸躁症候群(irritable bowel syndrome)之製劑，其中該治療或預防包含增加該個體之微生物區(microbiota)多樣性。

【請求項 2】

如請求項 1 之用途，其中該個體在其微生物區中具有少於 99 個不同的細菌種及/或少於 190 個不同的細菌品系(strain)。

【請求項 3】

如請求項 1 或 2 之用途，其中微生物區多樣性之增加係針對非產乙酸細菌或產乙酸細菌及非產乙酸細菌兩者。

【請求項 4】

如請求項 1 或 2 之用途，其中：

- (a) 該個體為孱弱的老年個體；或
- (b) 該個體為已藉由剖腹生產術分娩之嬰兒。

【請求項 5】

如請求項 1 或 2 用途，其中在該個體之腸中及/或遠端腸道中之微生物區多樣性增加。

【請求項 6】

如請求項 1 或 2 之用途，其中該細菌品系為以登錄號 DSM 10507 寄存及亦以登錄號 DSM 14294 寄存之產氫營養型布勞特氏菌。

【請求項 7】

如請求項 1 或 2 之用途，其中：

- (a) 該組合物用於口服投與；及/或
- (b) 該組合物包含一或多種醫藥學上可接受之賦形劑或載劑；及/或
- (c) 該細菌品系為凍乾的；及/或
- (d) 該細菌品系為存活的；及/或
- (e) 該細菌品系能夠部分或完全移生(colonising)於腸。

【請求項 8】

如請求項 1 或 2 之用途，其中該組合物包含產氫營養型布勞特氏菌之單個品系。

【請求項 9】

如請求項 1 或 2 之用途，其中該組合物包含產氫營養型布勞特氏菌，且不包含來自任何其他屬之細菌，或僅包含微小量的此類其他細菌。

【請求項 10】

如請求項 1 或 2 之用途，其中該組合物包含產氫營養型布勞特氏菌，且不包含來自任何其他種之細菌，或僅包含微小量的此類其他細菌。

【請求項 11】

如請求項 1 或 2 之用途，其中該組合物包含產氫營養型布勞特氏菌作為微生物共同體(microbial consortium)之一部分。

【請求項 12】

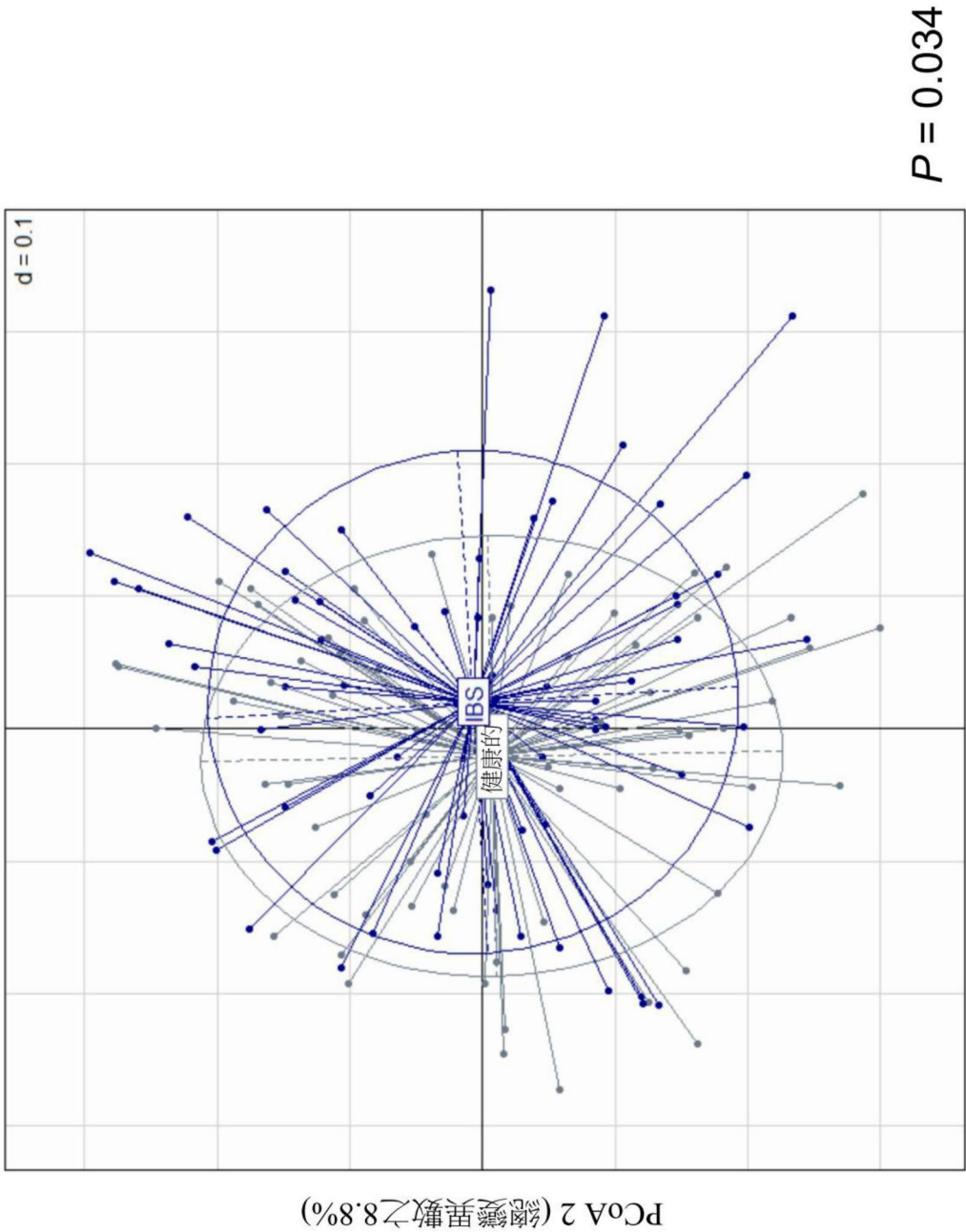
如請求項 1 或 2 之用途，其中該製劑為食物產品。

【請求項 13】

如請求項 1 或 2 之用途，其中該製劑為疫苗組合物。

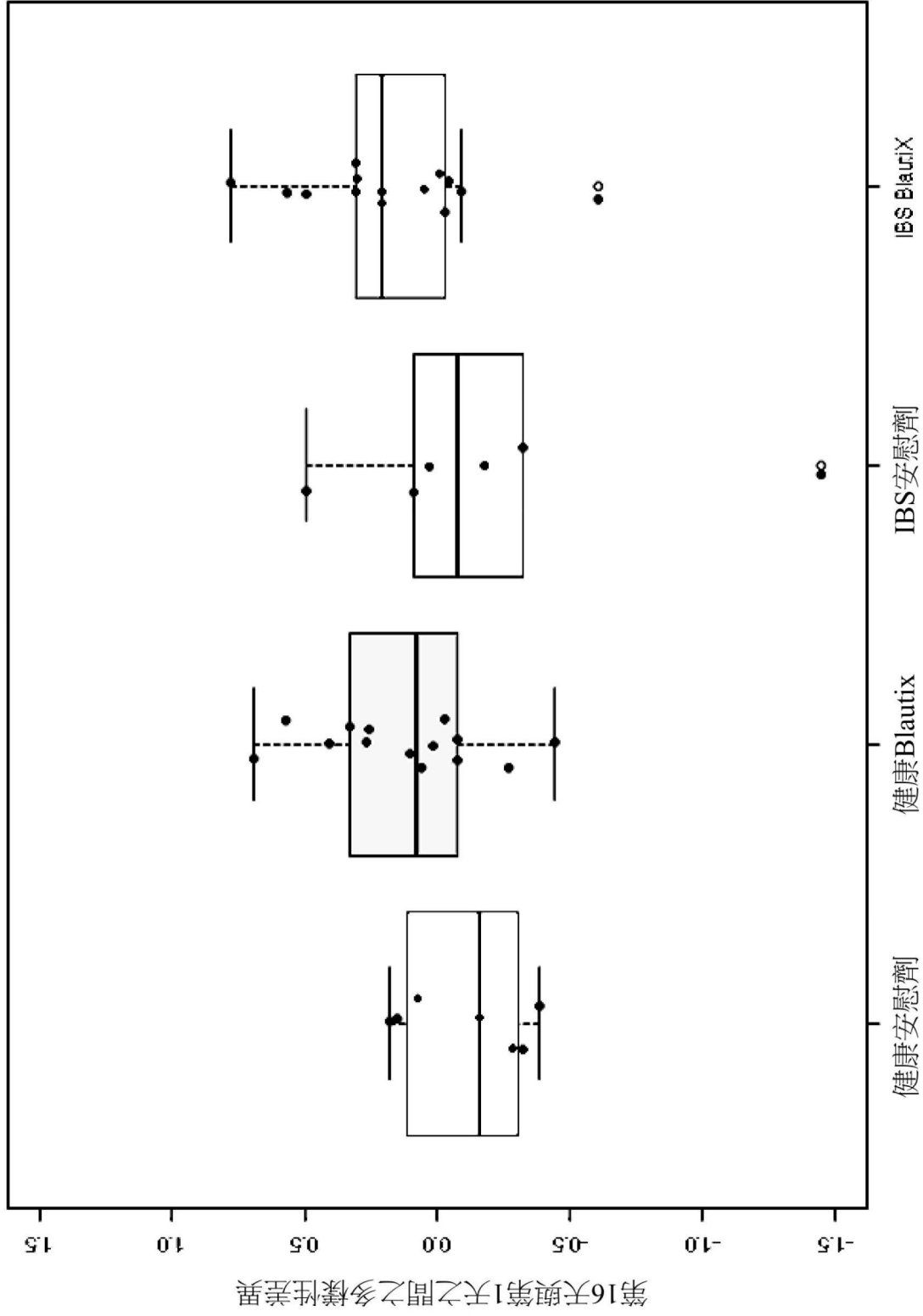
【發明圖式】

健康患者與IBS患者之微生物區比較



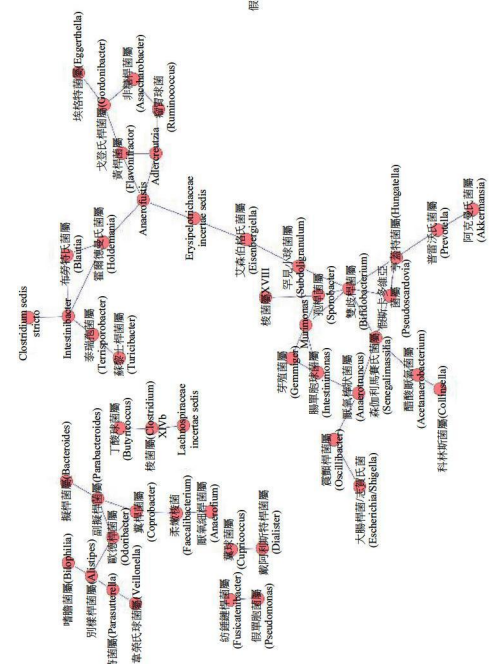
【圖 1】

第16天對第1天之夏
農氏多樣性



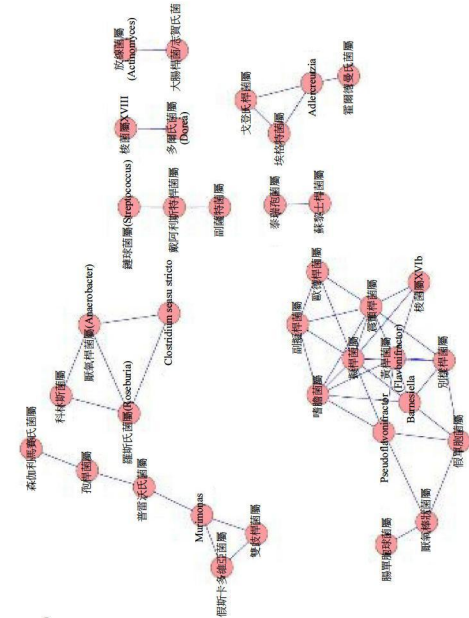
【圖 2】

第1天

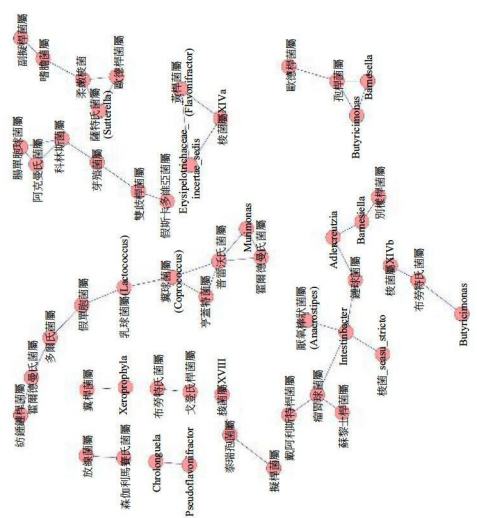


健康個體

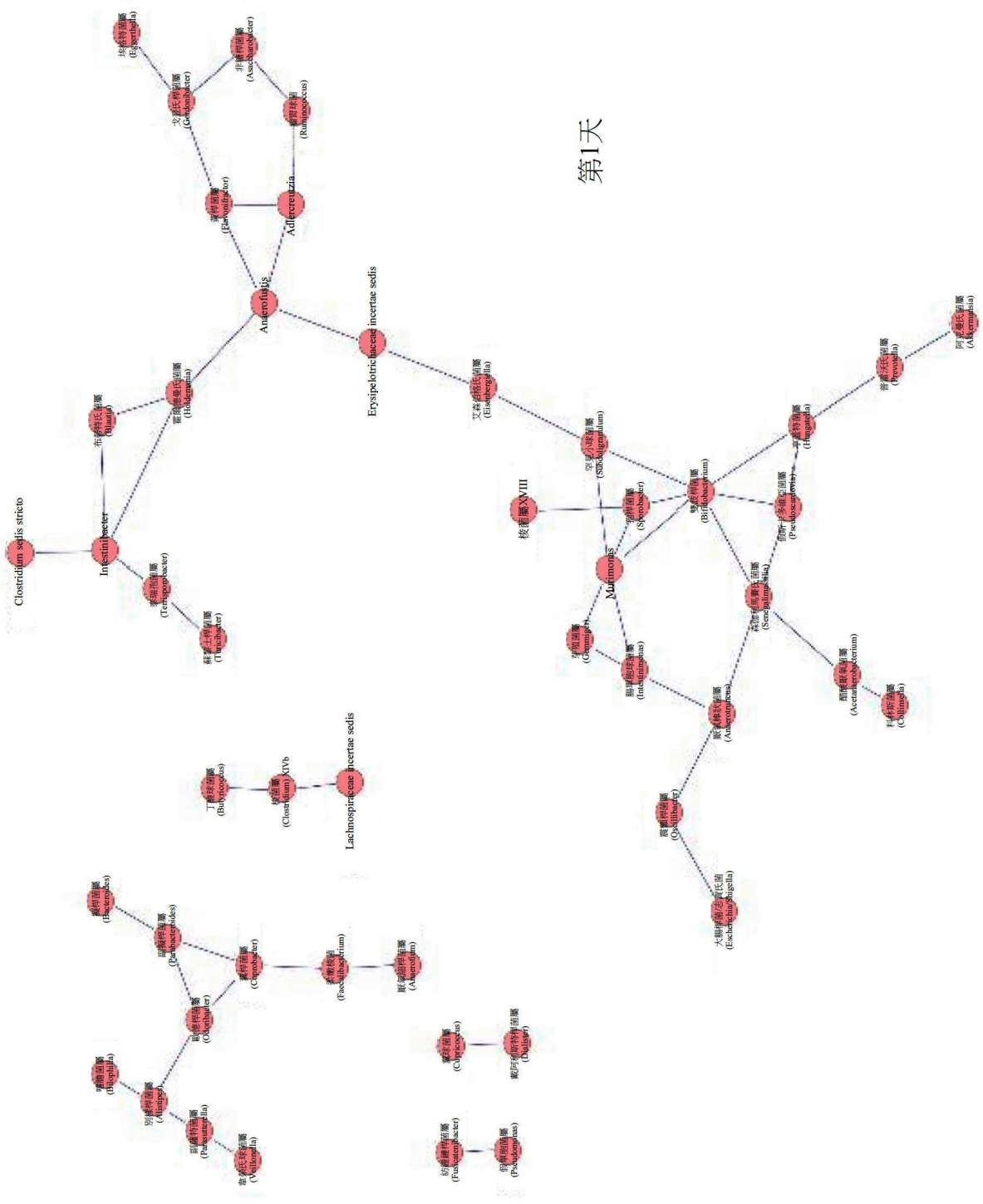
第16天

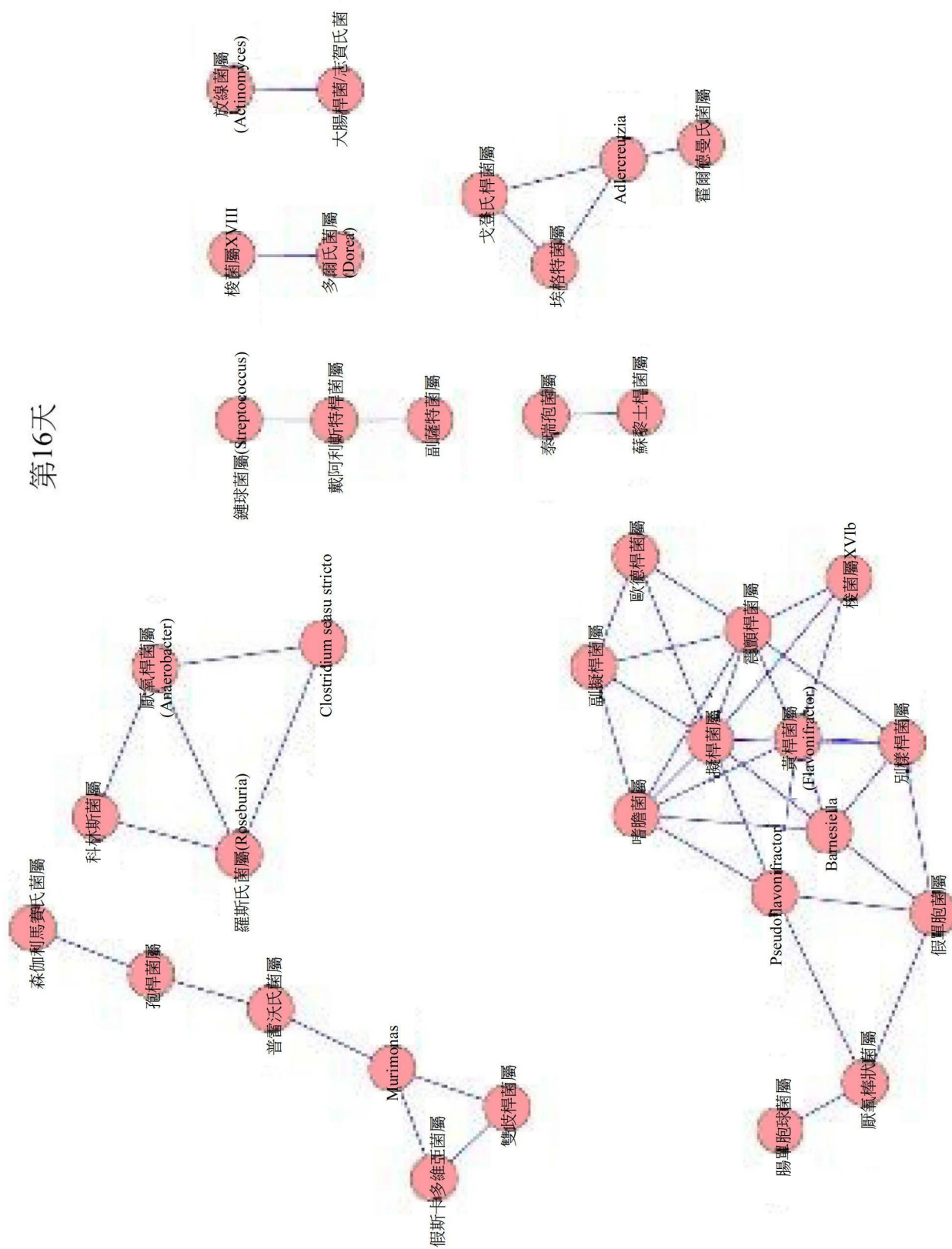


研究結束



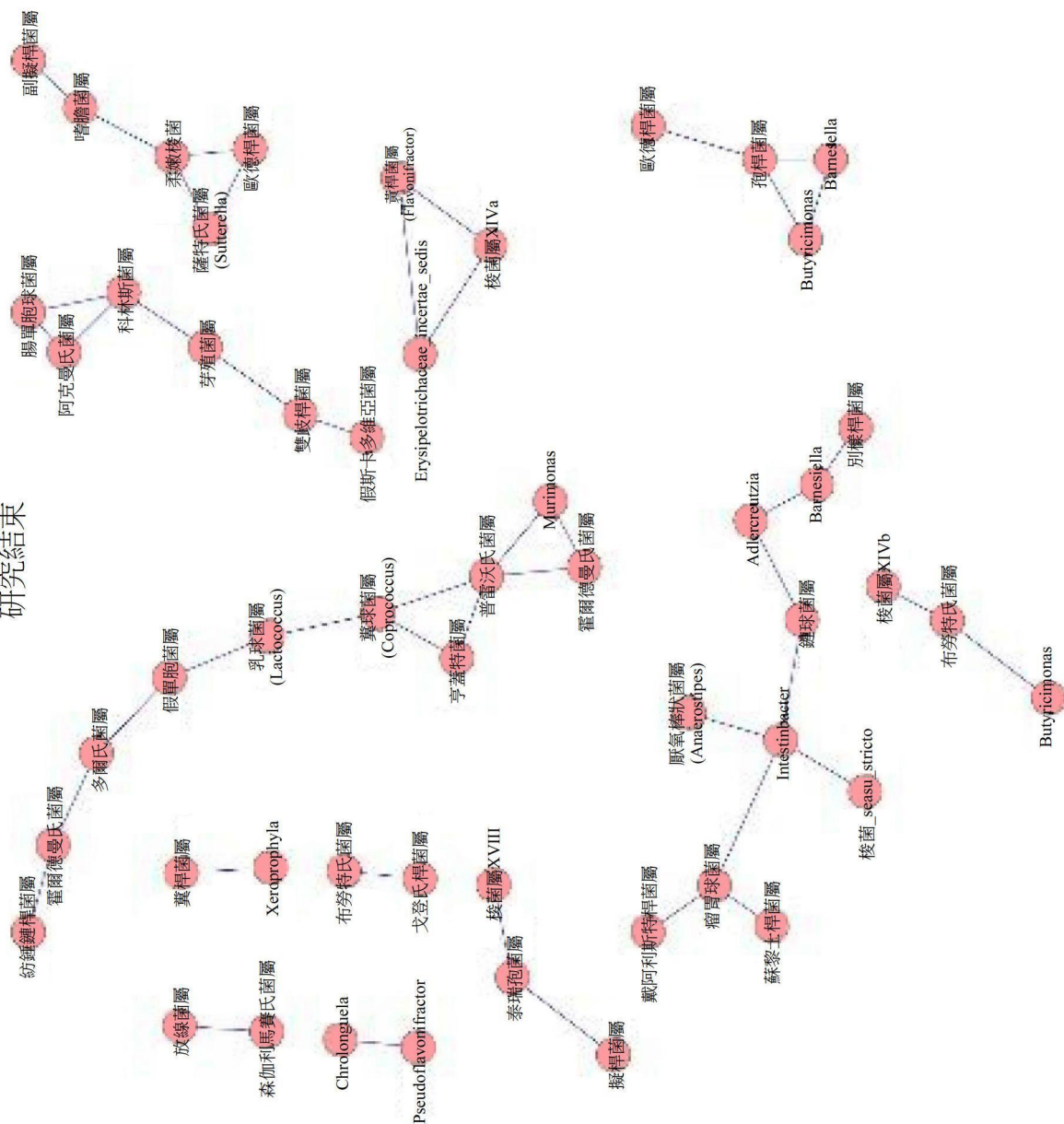
【圖 3A】





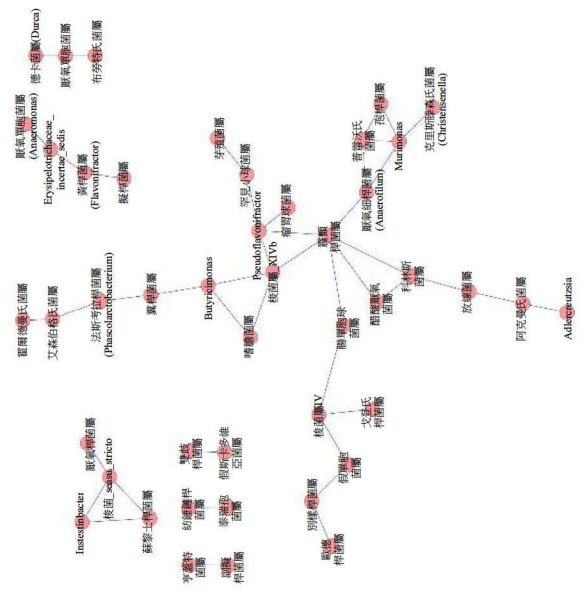
【图 3A2】

【圖 3A3】

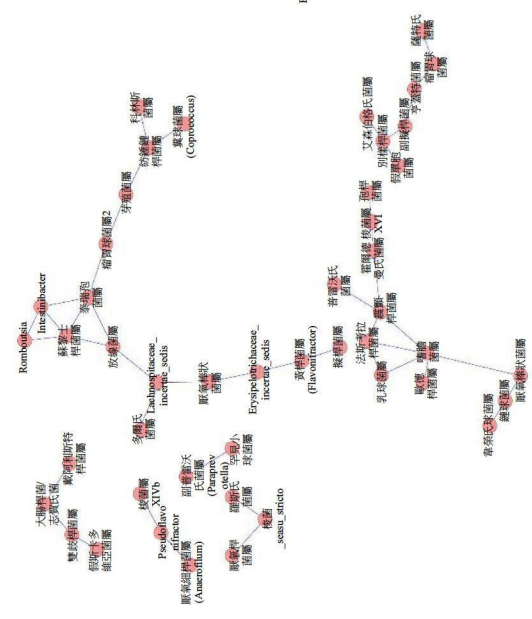


IBS患者

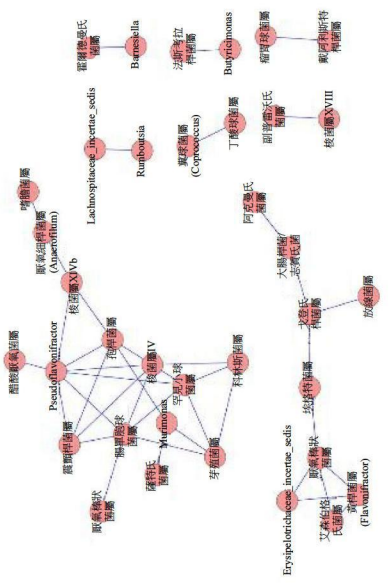
第1天



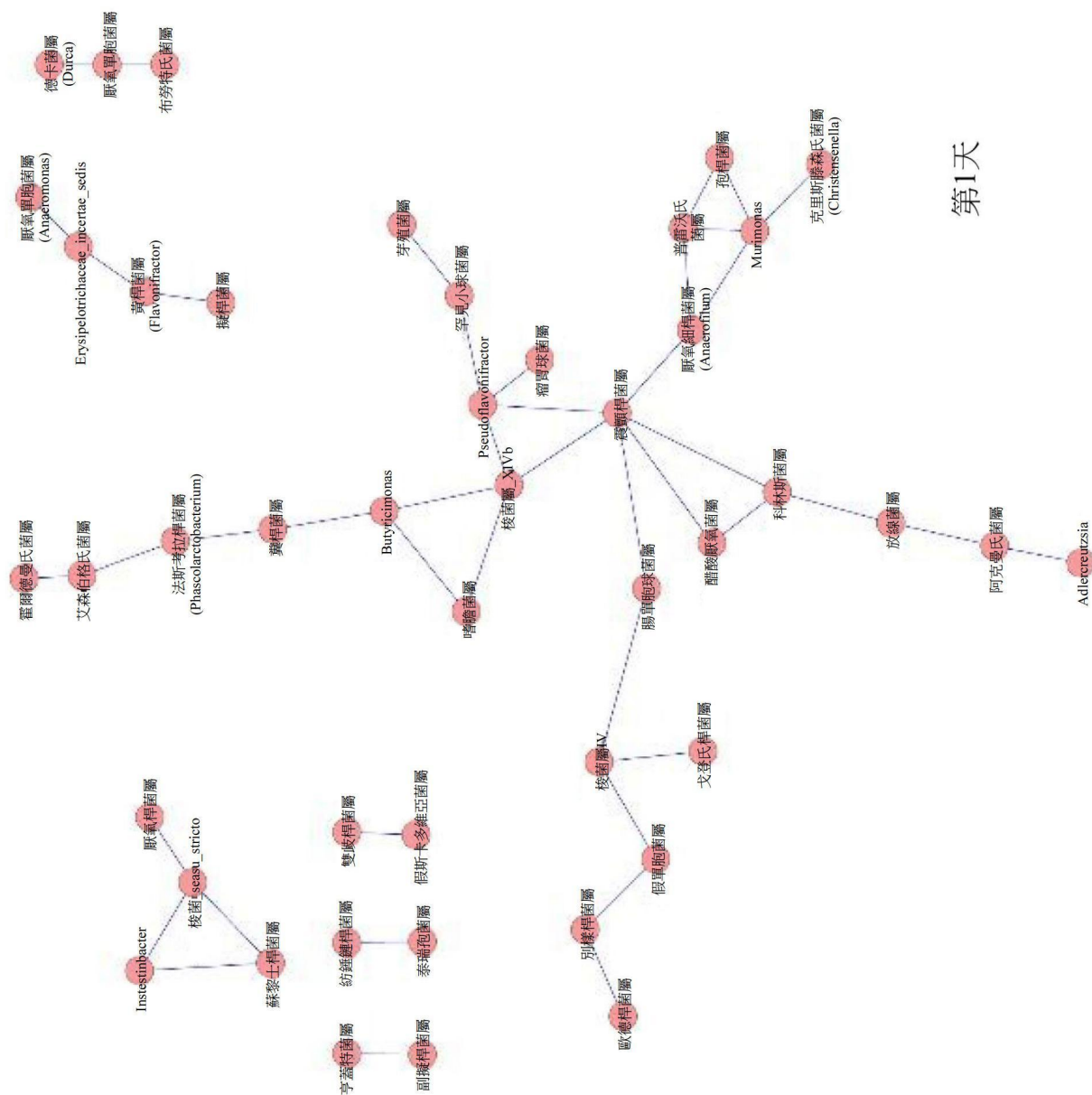
第16天



研究結束

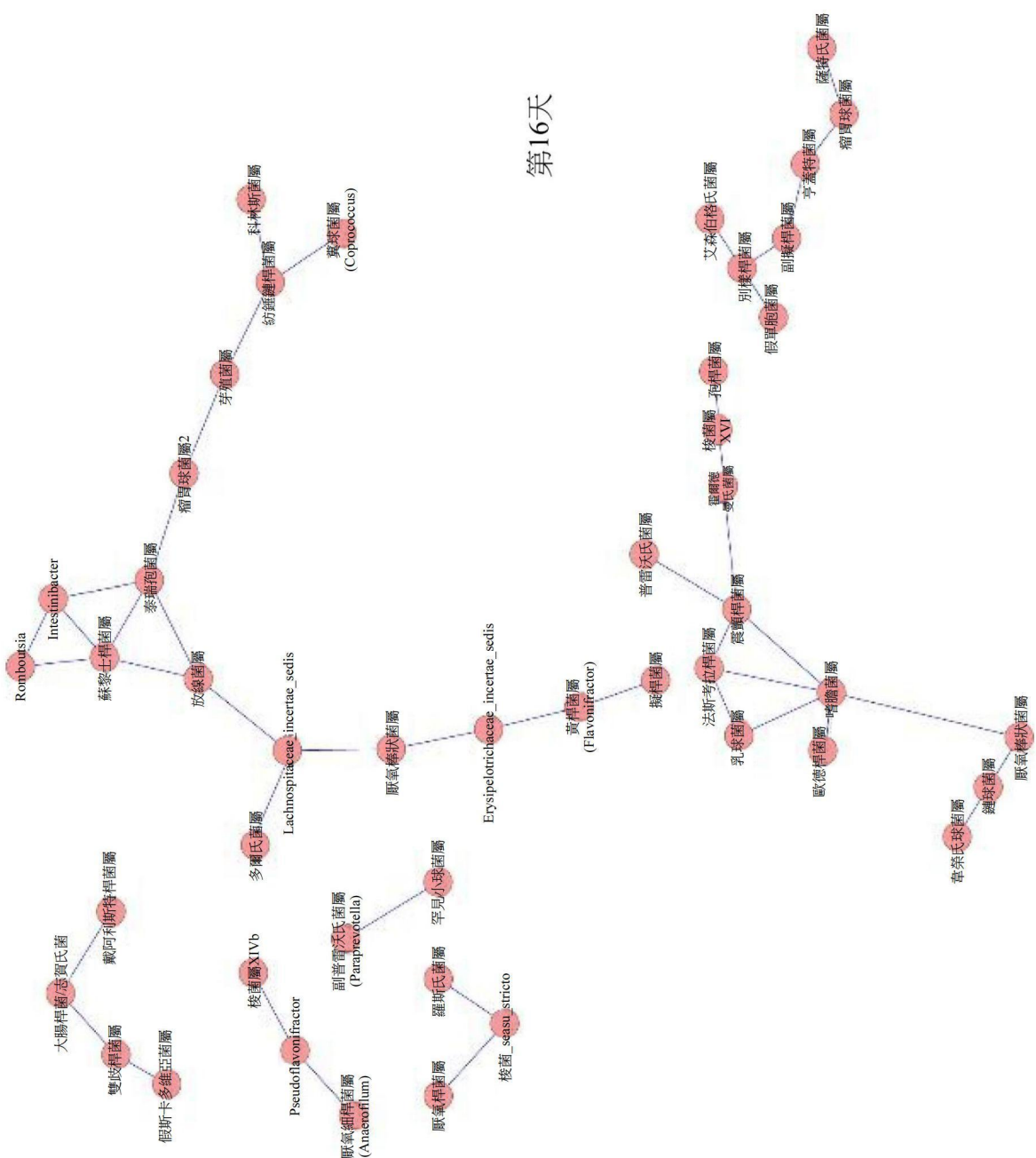


【圖 3B】



【圖 3B1】

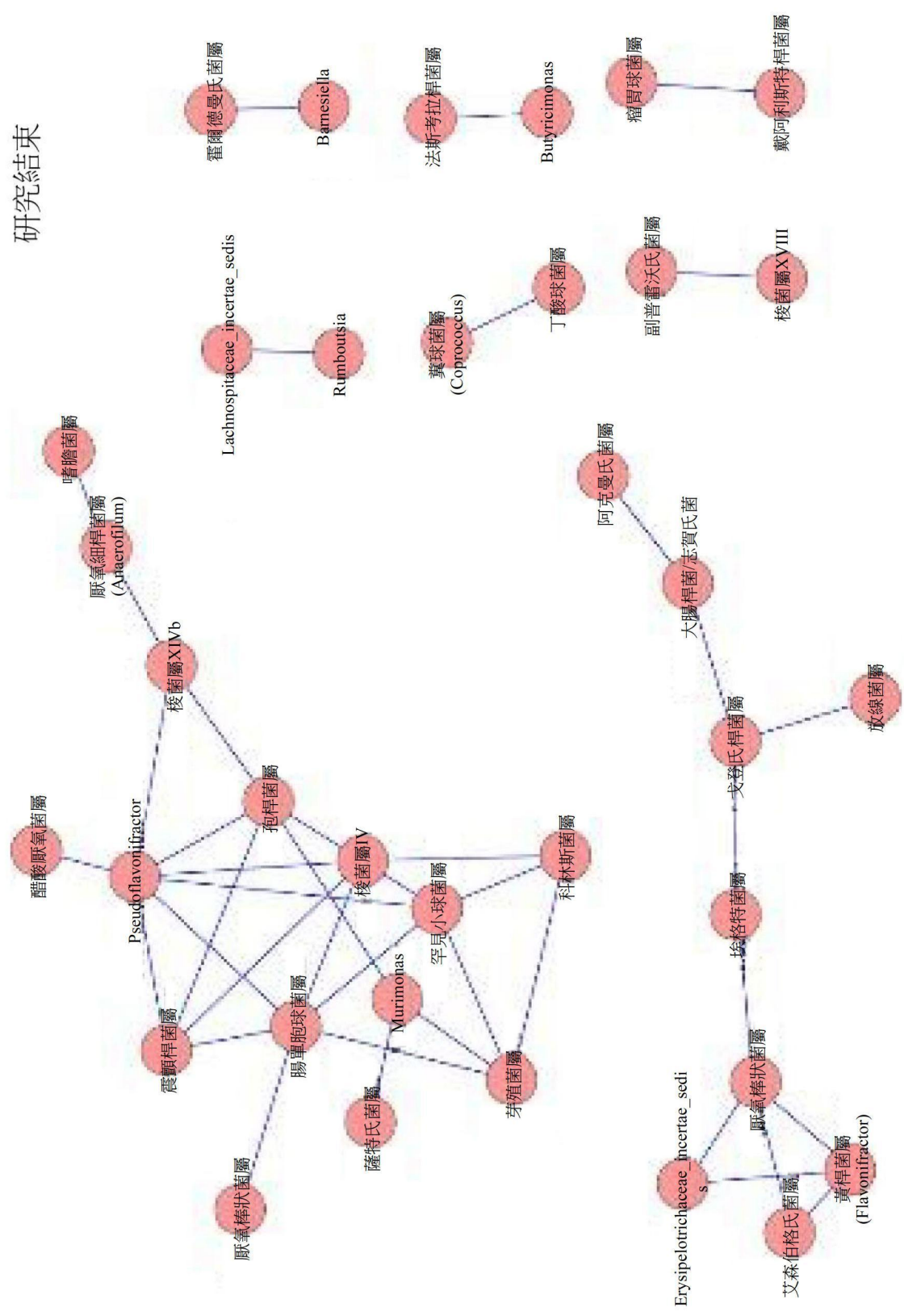
第1天



第16天

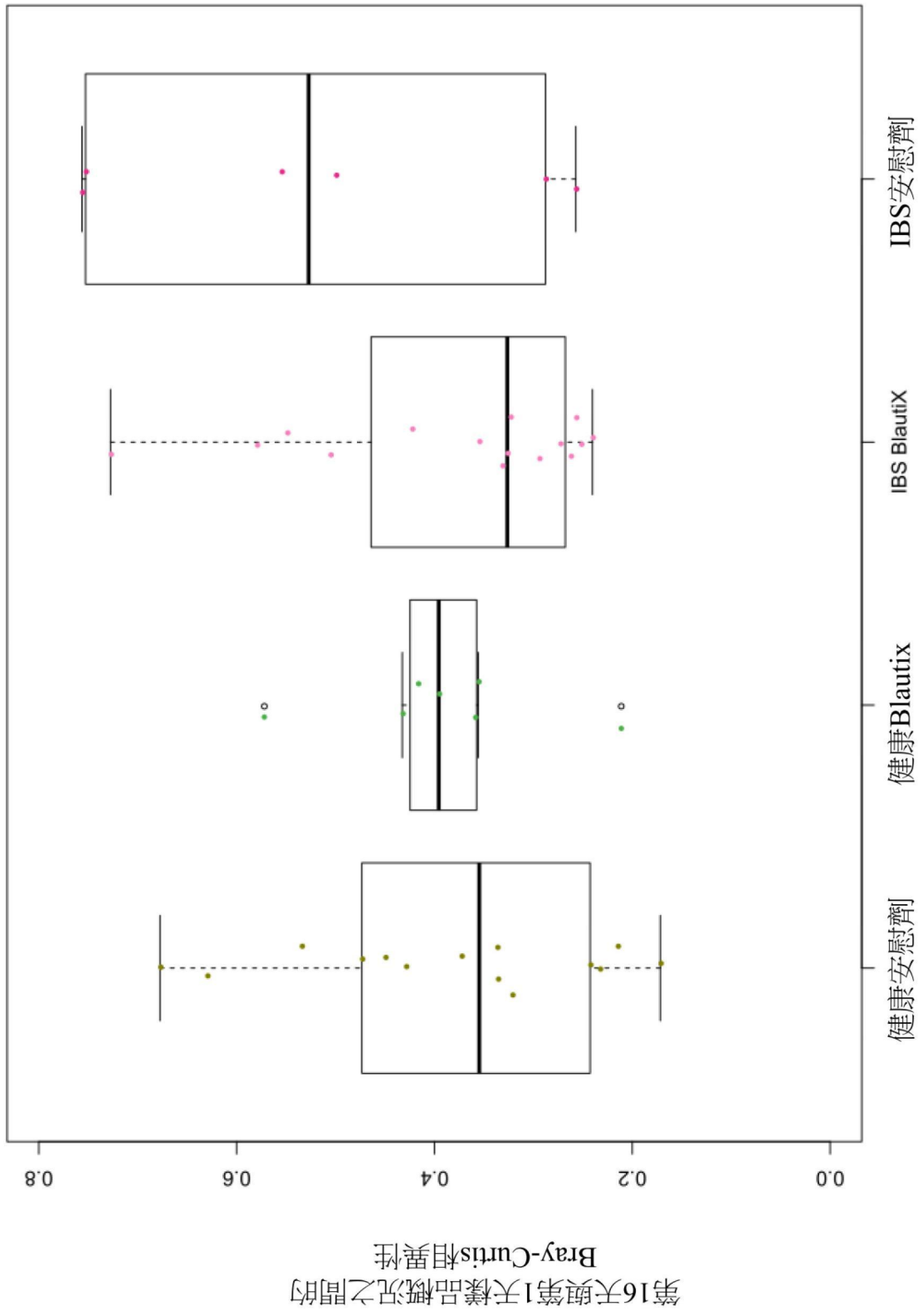
【圖 3B2】

研究結束



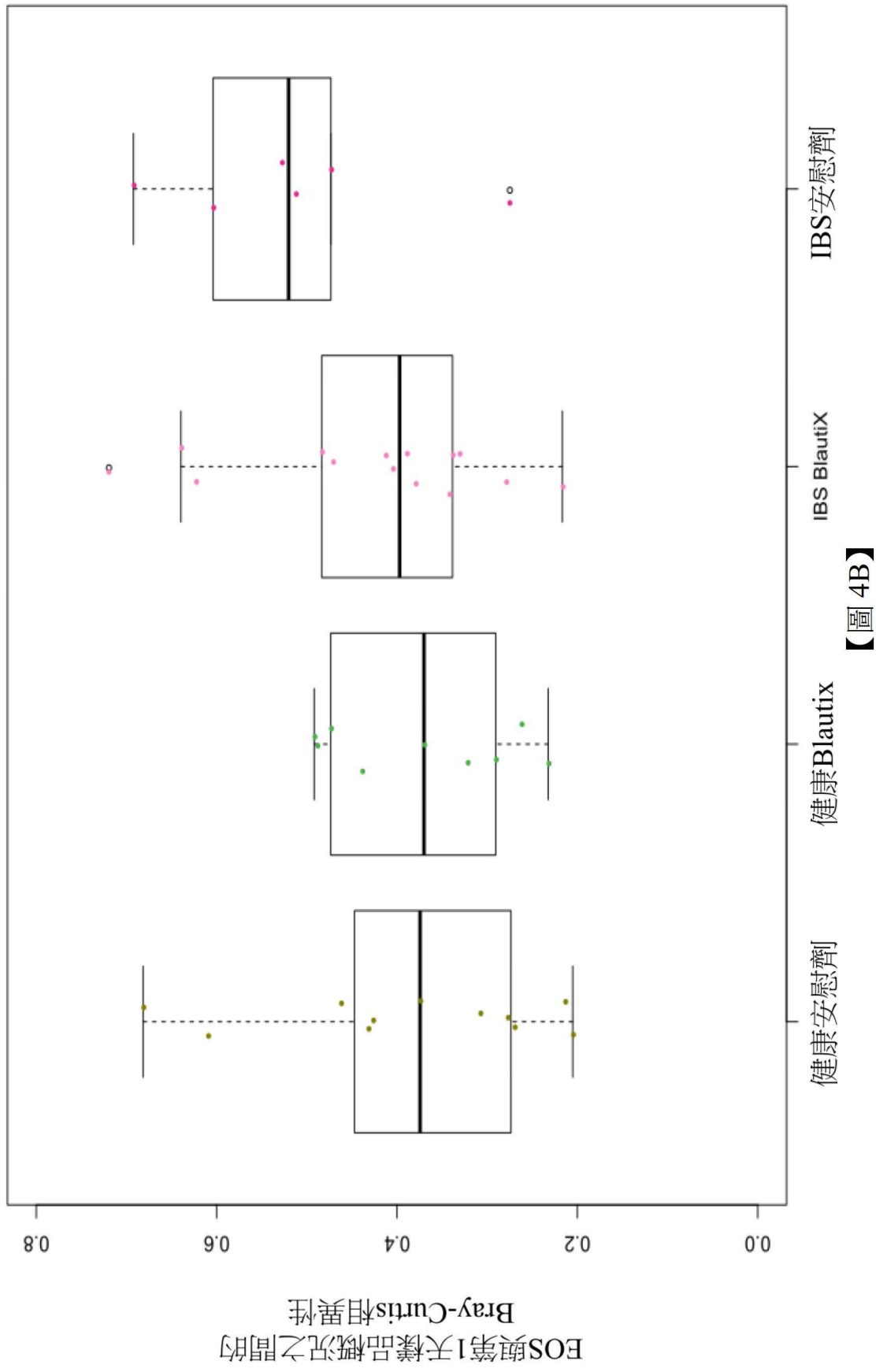
【圖 3B3】

第16天與第1天之間的Bray-Curtis相異性

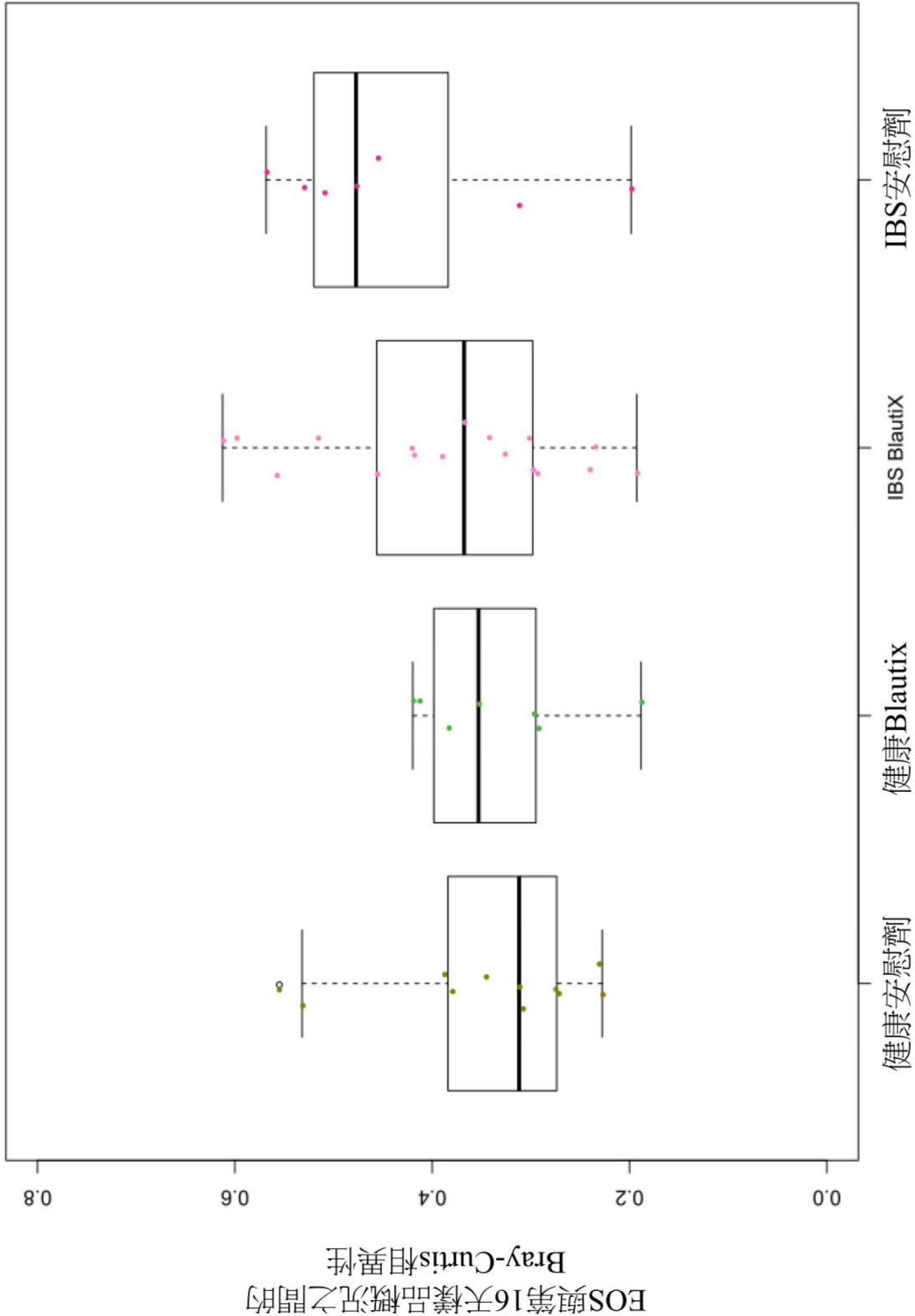


【圖 4A】

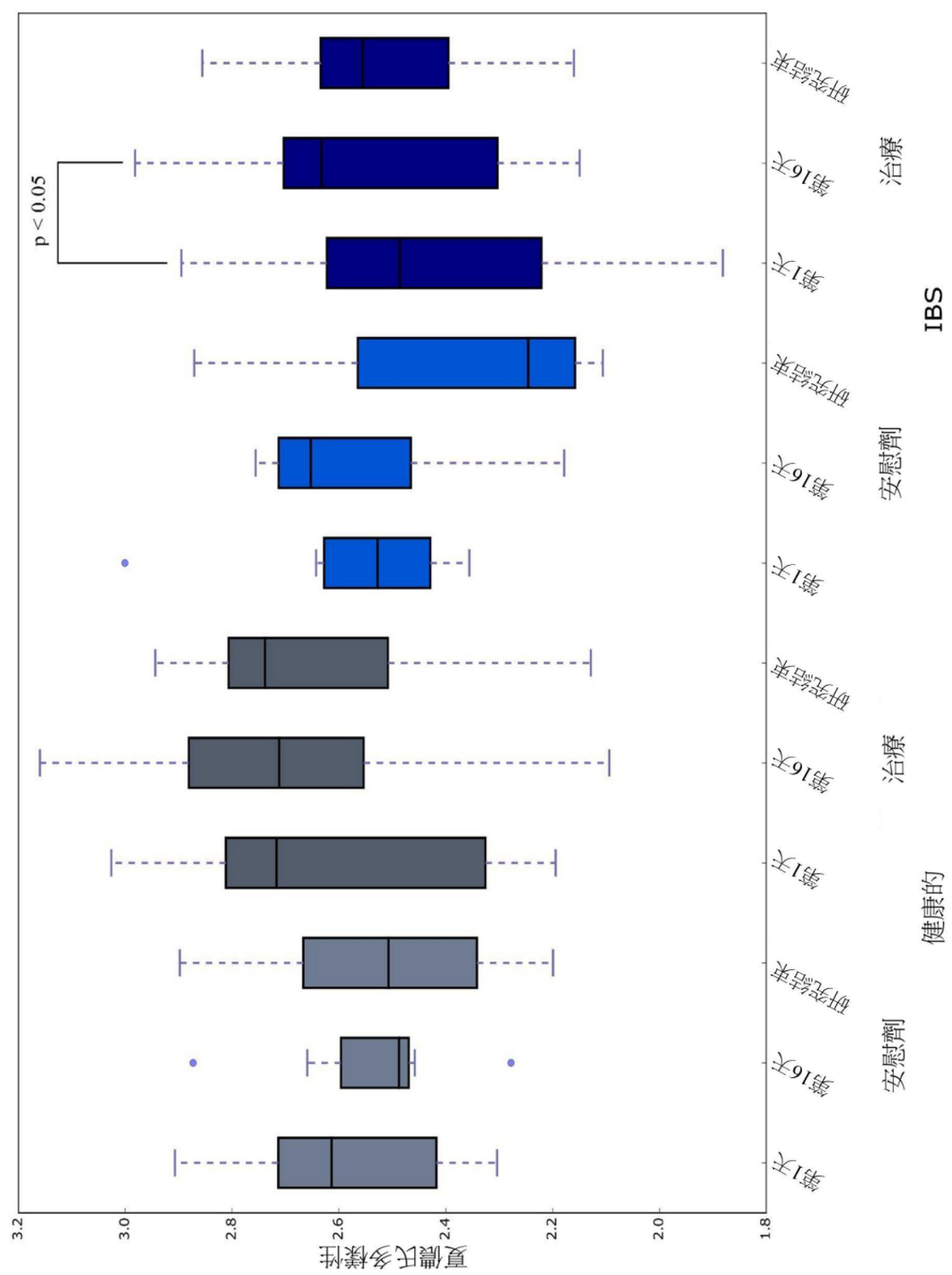
研究結束對第1天之Bray-Curtis相異性



第16天對研究結束之Bray-Curtis相異性



【圖 4C】



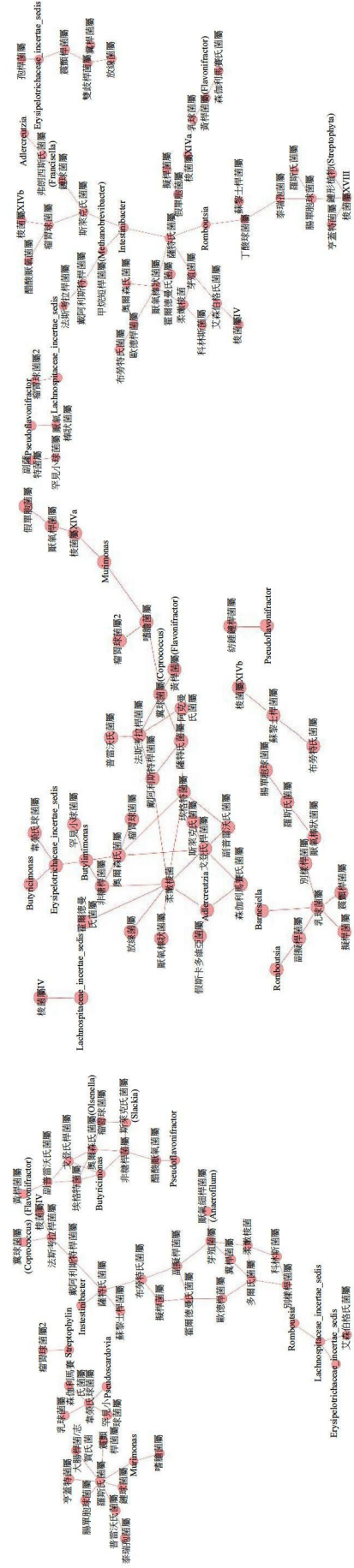
【圖 5】

健康個體

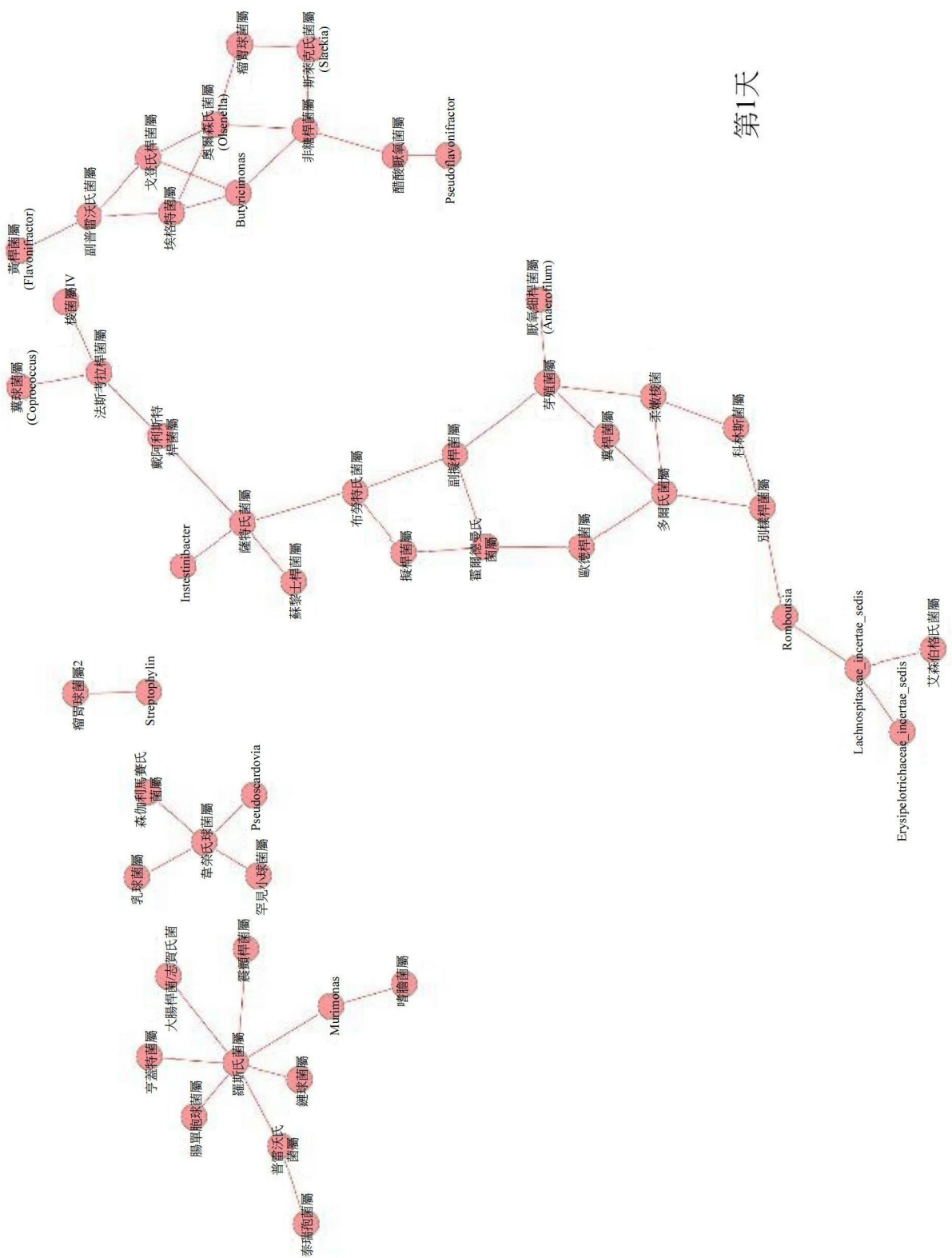
研究結束

第16天

第1天



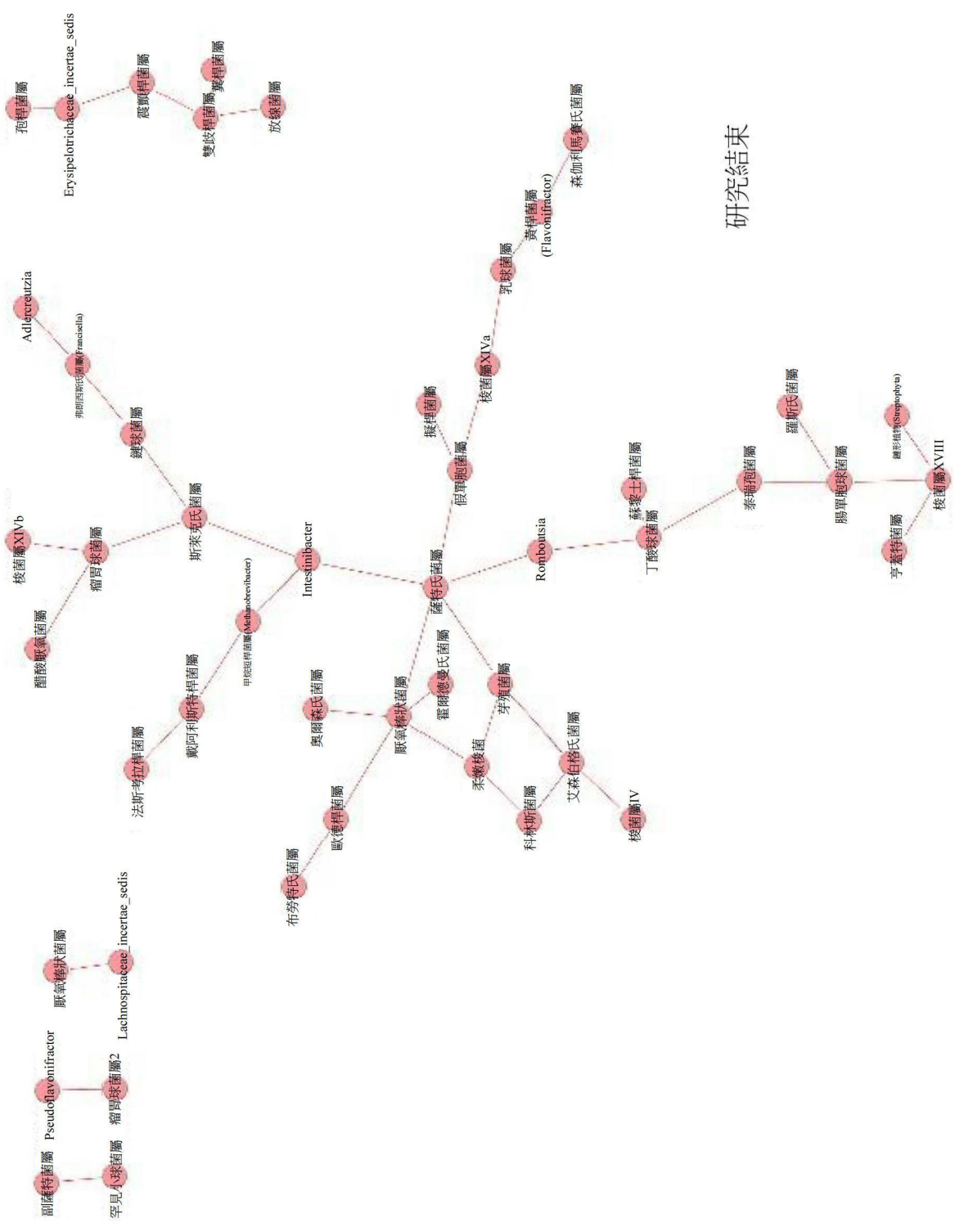
【圖 6A】



第1天

【圖 6A1】





研究結束

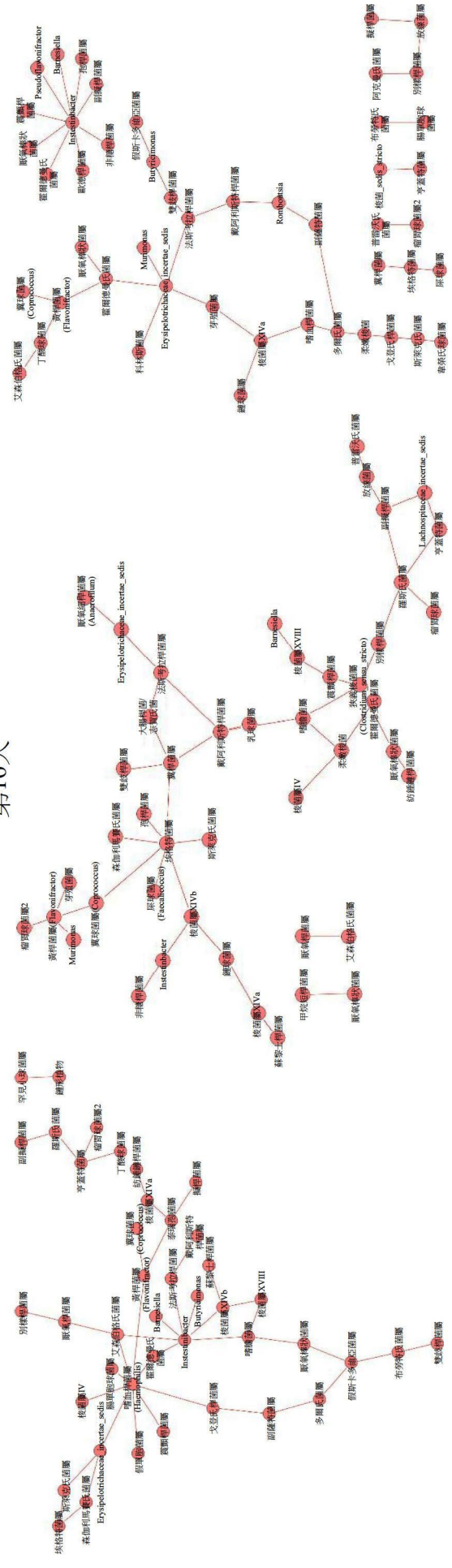
【圖 6A3】

IBS個體

第1天

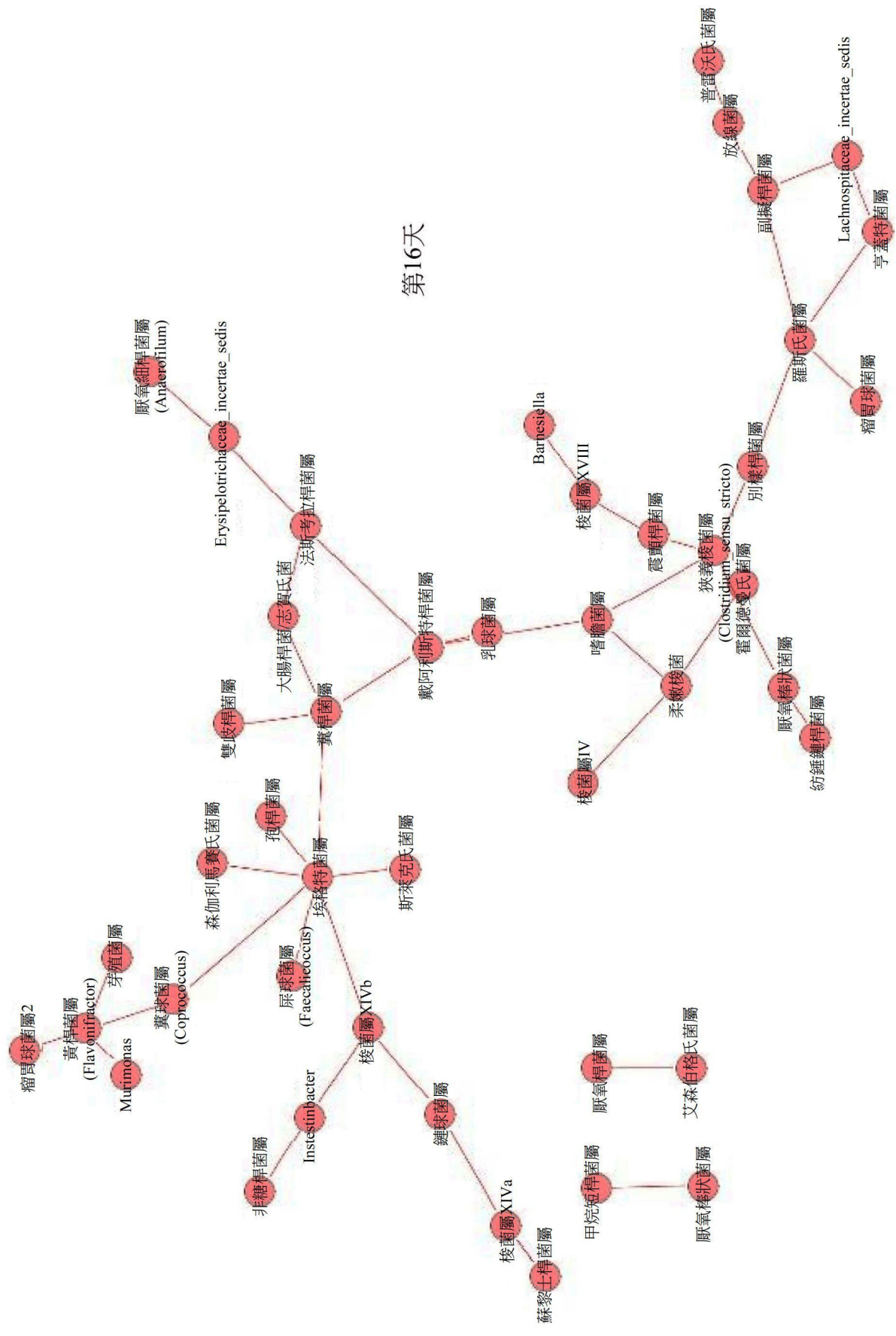
第16天

研究結束



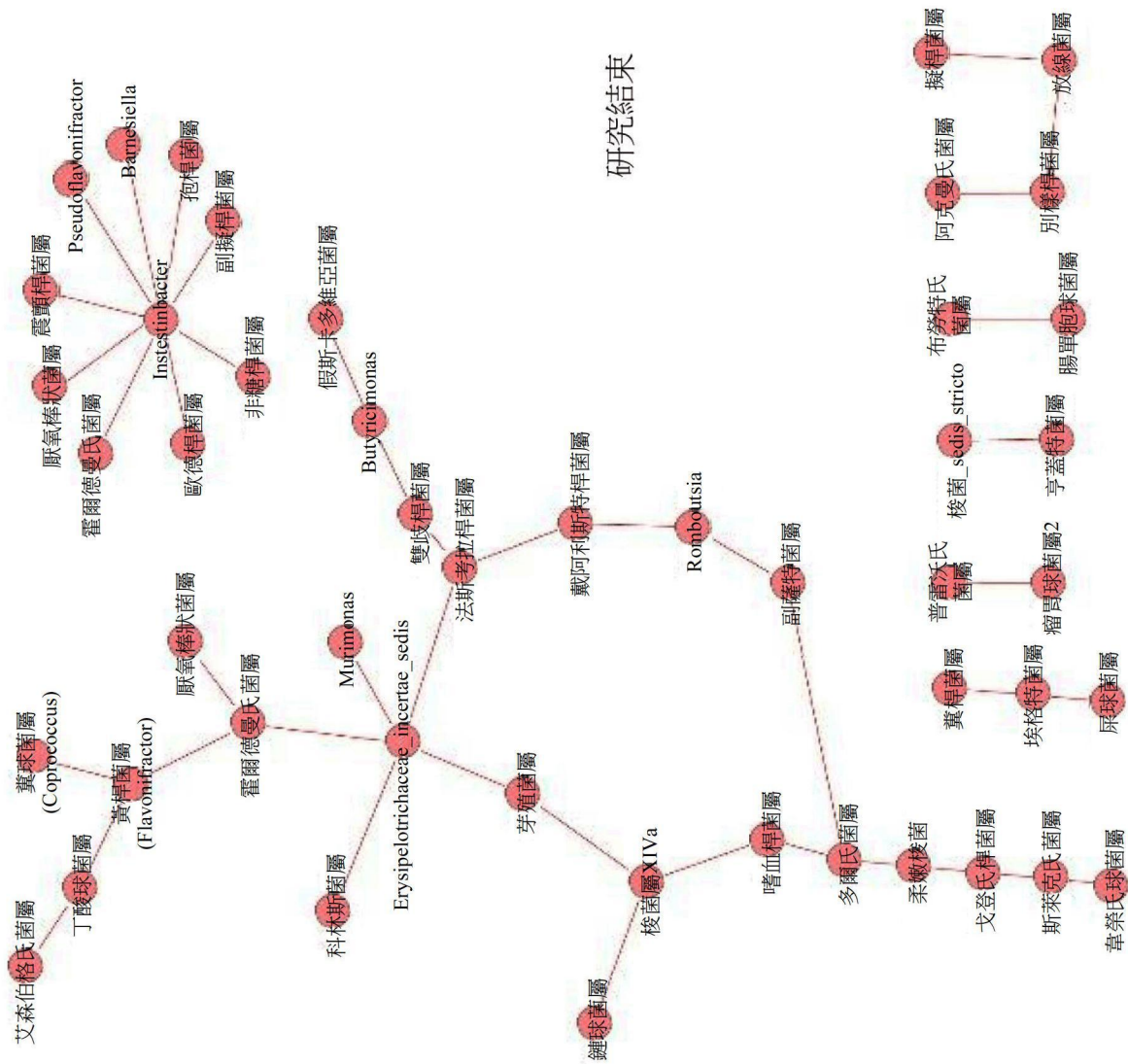
【圖 6B】





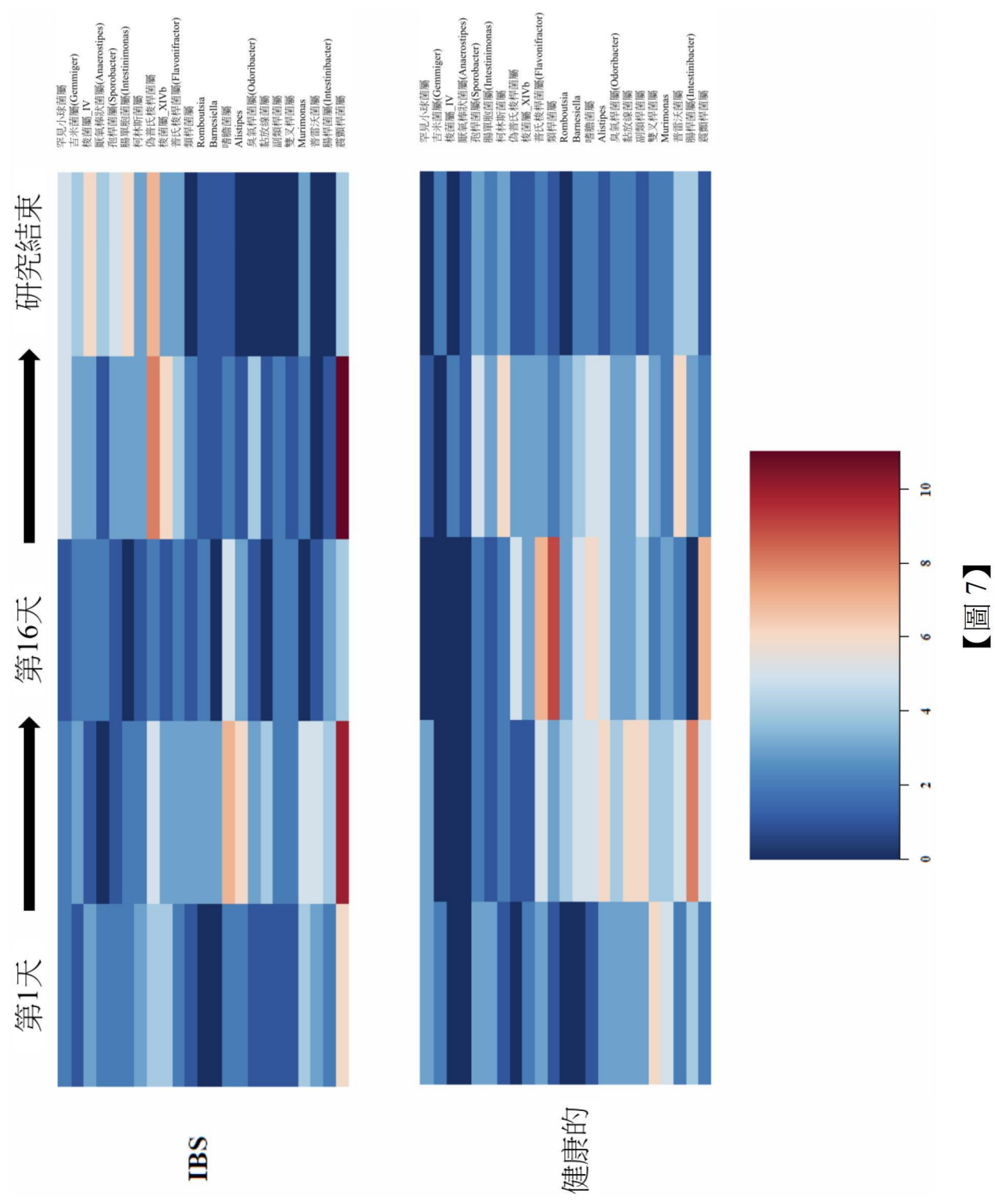
第16天

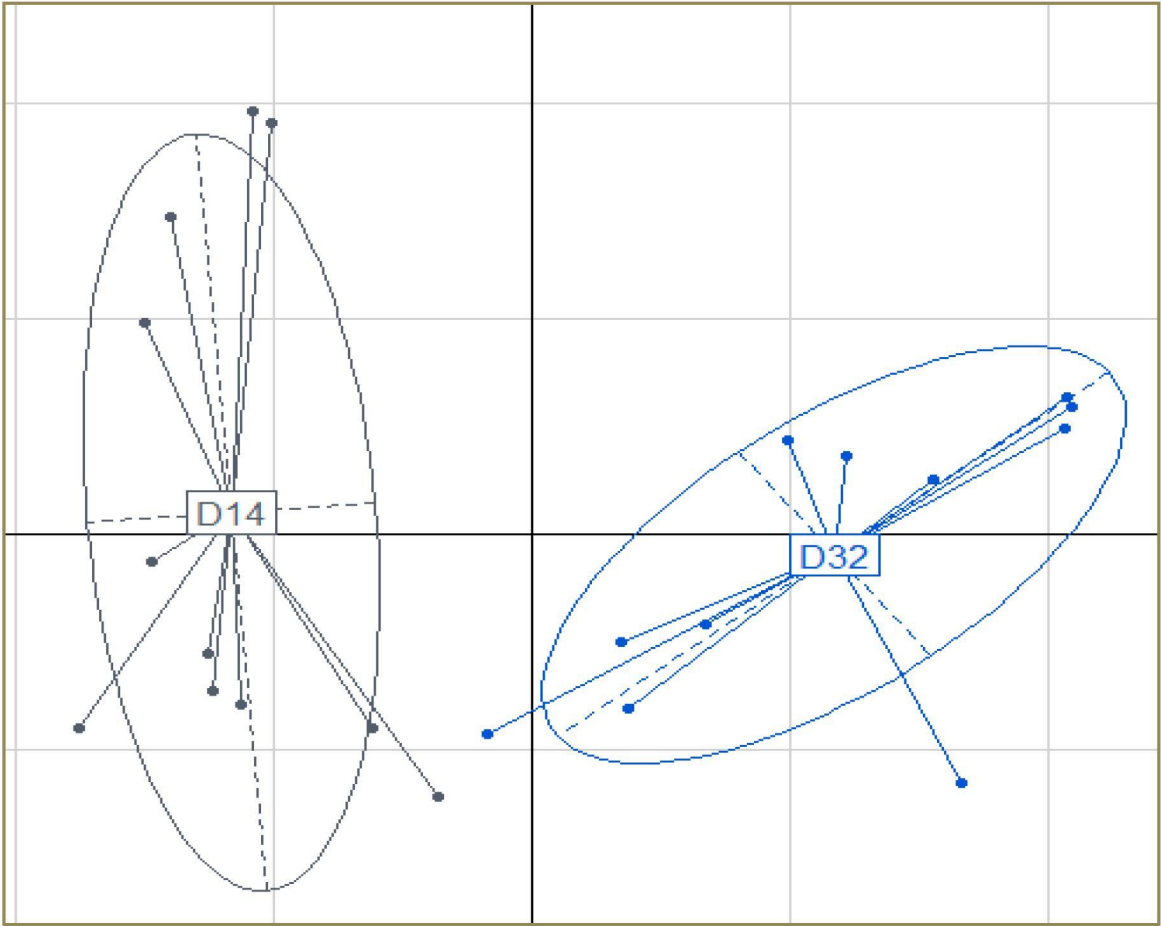
【圖 6B2】



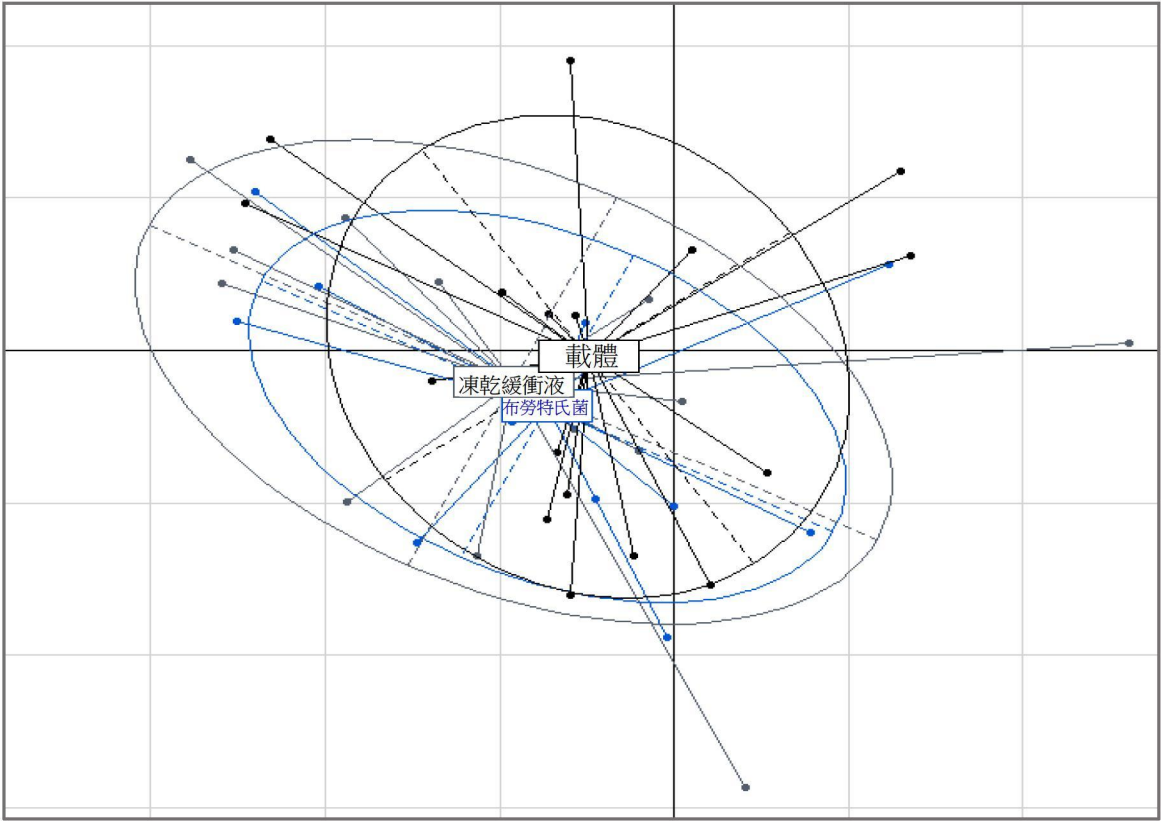
【圖 6B3】

研究結束

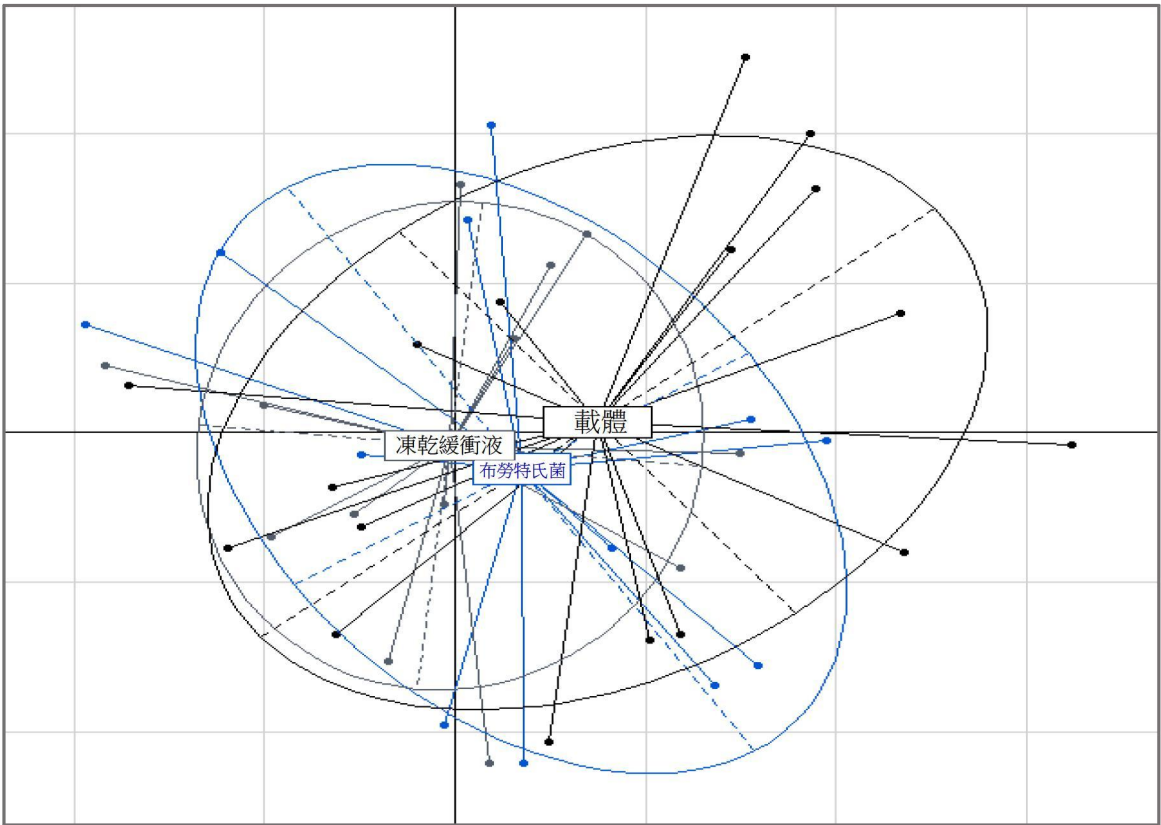




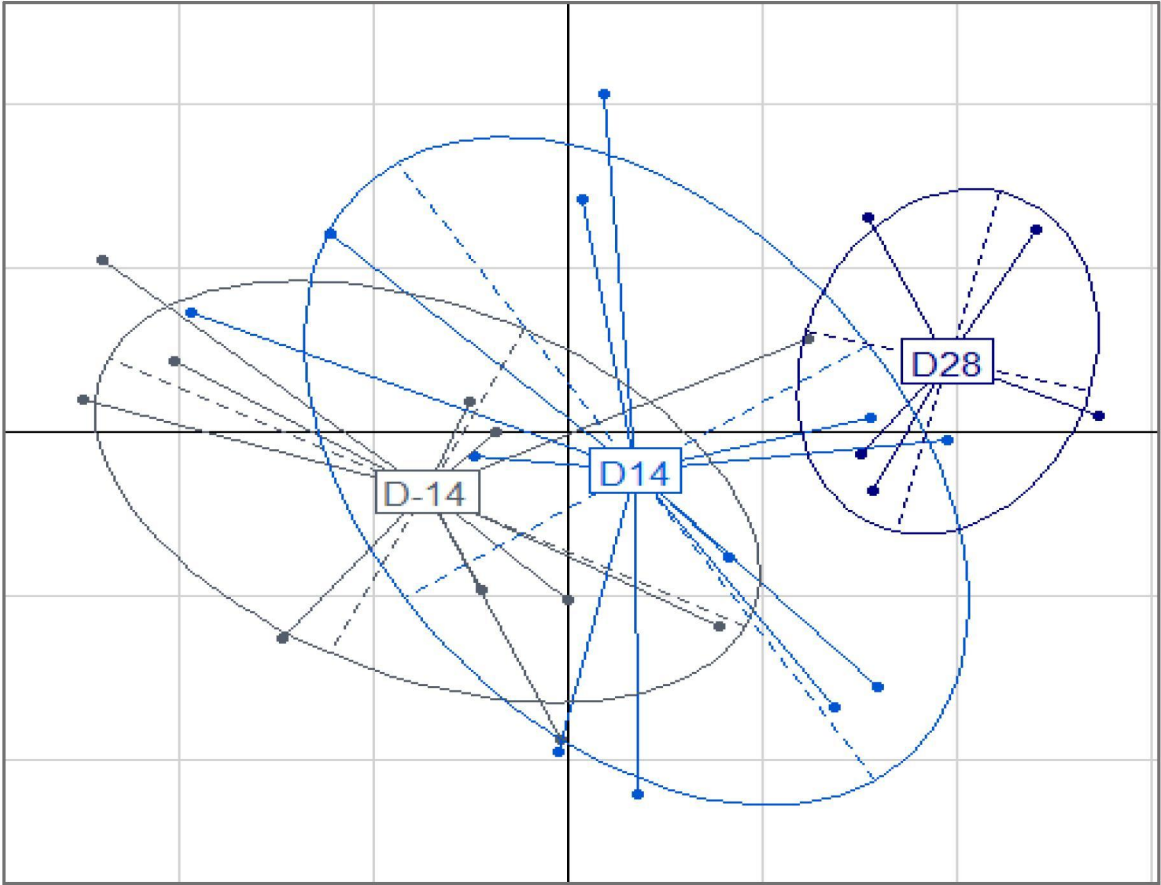
【圖 8】



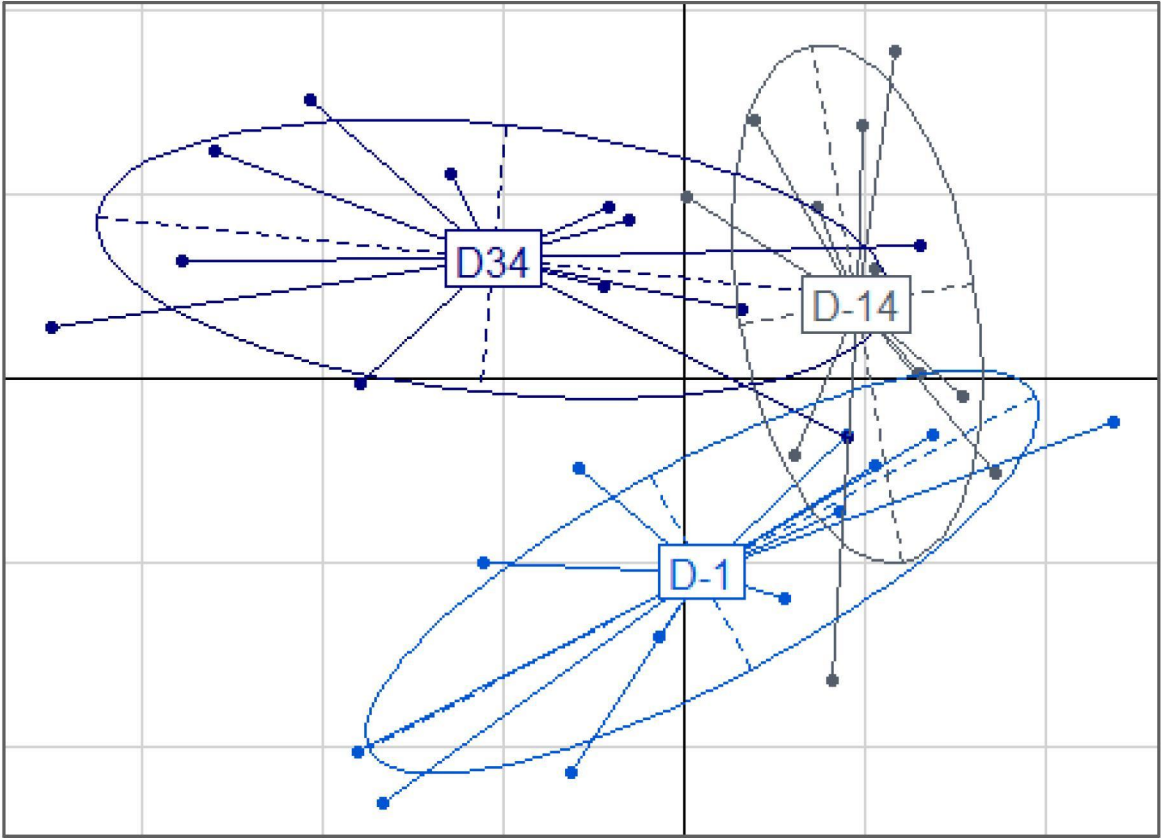
【圖 9A】



【圖 9B】



【圖 9C】



【圖 10】