



등록특허 10-2080040



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년02월25일  
(11) 등록번호 10-2080040  
(24) 등록일자 2020년02월17일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 35/74* (2015.01) *A23L 33/135* (2016.01)  
*A61K 39/02* (2006.01) *A61P 1/00* (2006.01)  
*A61P 11/06* (2006.01) *A61P 19/02* (2006.01)  
*A61P 29/00* (2006.01) *A61P 3/04* (2006.01)  
*A61P 3/10* (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
*A61K 35/74* (2013.01)  
*A23L 33/135* (2016.08)
- (21) 출원번호 10-2019-7006584
- (22) 출원일자(국제) 2017년12월12일  
심사청구일자 2019년03월06일
- (85) 번역문제출일자 2019년03월06일
- (65) 공개번호 10-2019-0033091
- (43) 공개일자 2019년03월28일
- (86) 국제출원번호 PCT/GB2017/053722
- (87) 국제공개번호 WO 2018/109461  
국제공개일자 2018년06월21일
- (30) 우선권주장  
1621123.7 2016년12월12일 영국(GB)
- (56) 선행기술조사문현  
WO2012142605 A1\*  
KR1020150115888 A  
US20140147425 A1  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문현

- (73) 특허권자  
4디 파마 피엘씨  
영국 엘에스1 2제이제트 리즈 본드 코트 9 써드  
플로어
- (72) 발명자  
제프리, 이안  
아일랜드 코크 웨스턴 로드 유니버시티 컬리지 코  
코크 푸드 사이언스 빌딩 룸 447 4디 코크  
리미티드 내  
샤나한, 폐르구스  
아일랜드 카운티 코크 킨세일 시포트 포트 힐  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
양영준, 이윤기

전체 청구항 수 : 총 14 항

심사관 : 윤동준

(54) 발명의 명칭 박테리아 균주를 포함하는 조성물

**(57) 요약**

미생물군 다양성을 증가시키고/증가시키거나 대상체의 미생물군의 안정성을 유도하는 방법에 사용하기 위한, 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함하는 조성물이 제공된다.

(52) CPC특허분류

*A61K 39/0208* (2013.01)

*A61P 1/00* (2018.01)

*A61P 11/06* (2018.01)

*A61P 19/02* (2018.01)

*A61P 29/00* (2018.01)

*A61P 3/04* (2018.01)

*A61P 3/10* (2018.01)

*A23V 2002/00* (2013.01)

*A23V 2200/332* (2013.01)

(72) 발명자

**오톨, 폴**

아일랜드 코크 웨스턴 로드 유니버시티 컬리지 코  
코크 푸드 사이언스 빌딩 룸 447 4디 파마 코크 리  
미티드 내

**스티븐슨, 알렉스**

영국 엘에스1 2제이제트 요크셔 리즈 본드 코트 9  
서드 플로어 4디 파마 피엘씨 내

---

**멀더, 임케**

영국 에이비25 2제트에스 애버딘 콘힐 로  
드 이노베이션 빌딩 라이프 사이언시즈 4디 파마  
리서치 리미티드 내

**사비그나, 헬렌**

영국 엘에스1 2제이제트 요크셔 리즈 본드 코트 9  
서드 플로어 4디 파마 피엘씨 내

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

대상체에서 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는 하기 방법에서 사용하기 위한 것인, 서열번호 5와 적어도 97% 동일한 16s rRNA 서열을 갖는 블라우티아 속(*genus Blautia*)의 박테리아 균주를 포함하는 조성물:

(a) 대상체의 미생물군(microbiota) 다양성 증가 방법으로서, 상기 질환 또는 장애가 건강한 대상체의 미생물군 다양성에 비해 감소된 미생물군 다양성 수준과 관련이 있고, 상기 치료 또는 예방이 대상체에서의 미생물군 다양성 증가를 포함하는 것인 방법; 또는

(b) 대상체의 미생물군 안정성 유도 방법으로서, 상기 질환 또는 장애가 건강한 대상체와 비교하여 감소된 미생물군 안정성과 관련이 있고, 상기 치료 또는 예방이 대상체에서의 미생물군 안정성 유도를 포함하는 것인 방법; 또는

(c) 대상체의 미생물군 다양성 증가 및 미생물군 안정성 유도 방법으로서, 상기 질환 또는 장애가 건강한 대상체의 미생물군 다양성에 비해 감소된 미생물군 다양성 수준 및 건강한 대상체와 비교하여 감소된 미생물군 안정성과 관련이 있고, 상기 조성물은 IBS의 치료 또는 예방 방법에서 사용하기 위한 것이며, 상기 치료 또는 예방이 대상체에서의 미생물군 다양성 증가 및 미생물군 안정성 유도를 포함하는 것인 방법.

#### 청구항 2

대상체에서 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는 하기 방법에서 사용하기 위한 것인, 블라우티아 속의 단일 박테리아 종을 포함하는 조성물:

(a) 대상체의 미생물군 다양성 증가 방법으로서, 상기 질환 또는 장애가 건강한 대상체의 미생물군 다양성에 비해 감소된 미생물군 다양성 수준과 관련이 있고, 상기 치료 또는 예방이 대상체에서의 미생물군 다양성 증가를 포함하는 것인 방법; 또는

(b) 대상체의 미생물군 안정성 유도 방법으로서, 상기 질환 또는 장애가 건강한 대상체와 비교하여 감소된 미생물군 안정성과 관련이 있고, 상기 치료 또는 예방이 대상체에서의 미생물군 안정성 유도를 포함하는 것인 방법; 또는

(c) 대상체의 미생물군 다양성 증가 및 미생물군 안정성 유도 방법으로서, 상기 질환 또는 장애가 건강한 대상체의 미생물군 다양성에 비해 감소된 미생물군 다양성 수준 및 건강한 대상체와 비교하여 감소된 미생물군 안정성과 관련이 있고, 상기 조성물은 IBS의 치료 또는 예방 방법에서 사용하기 위한 것이며, 상기 치료 또는 예방이 대상체에서의 미생물군 다양성 증가 및 미생물군 안정성 유도를 포함하는 것인 방법.

#### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 (a)에서 대상체가 건강한 대상체에 비해 감소된 미생물군 다양성을 갖고;

상기 (b)에서 대상체가 건강한 대상체와 비교하여 감소된 미생물군 안정성을 갖고;

상기 (c)에서 대상체가 건강한 대상체에 비해 감소된 미생물군 다양성 및 건강한 대상체와 비교하여 감소된 미생물군 안정성을 갖는 것인

조성물.

#### 청구항 4

제3항에 있어서, 대상체가 그의 미생물군에 99종 미만의 상이한 박테리아 종 또는 190종 미만의 상이한 박테리아 균주, 또는 99종 미만의 상이한 박테리아 종 및 190종 미만의 상이한 박테리아 균주를 갖는 것인 조성물.

#### 청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 미생물군 다양성의 증가 또는 미생물군 안정성의 유도, 또는 그 둘 모두가, 비-초

산생성 박테리아(non-acetogenic bacteria)에 대한 것이거나, 또는 초산생성 박테리아 및 비-초산생성 박테리아 모두에 대한 것인 조성물.

#### 청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 대상체가 노쇠한 고령 대상체 또는 제왕절개 수술에 의해서 태어난 유아인 조성물.

#### 청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 대상체의 창자에서 또는 대상체의 원위 장에서 미생물군 다양성이 증가되거나 미생물군 안정성이 유도되거나, 또는 미생물군 다양성이 증가되고 미생물군 안정성이 유도되는 것인 조성물.

#### 청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, IBS로 진단된 대상체에서 미생물군 다양성 증가 방법 또는 미생물군 안정성 유도 방법 또는 그 두 방법 모두에 사용하기 위한, 블라우티아 하이드로게노트로피카(*Blautia hydrogenotrophica*) 종의 박테리아 균주를 포함하는 조성물.

#### 청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서,

박테리아 균주가 블라우티아 하이드로게노트로피카 박테리아 균주의 16s rRNA 서열과 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 동일한 16s rRNA 서열을 갖거나;

박테리아 균주가 블라우티아 하이드로게노트로피카의 것이거나; 또는

박테리아 균주가 수탁 번호 DSM 14294 하에 기탁된 블라우티아 하이드로게노트로피카 박테리아인 조성물.

#### 청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, 하기 중 하나 이상을 특징으로 하는 조성물:

- (a) 경구 투여용; 또는
- (b) 1종 이상의 약제학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체를 포함하는 것; 또는
- (c) 장용 제형으로 제형화되는 것.

#### 청구항 11

제1항 또는 제2항에 있어서, 박테리아 균주가 동결건조되거나 생존가능하거나, 또는 동결건조되고 생존가능한 조성물.

#### 청구항 12

제1항 또는 제2항에 있어서, 박테리아 균주가 창자에서 부분적으로 또는 전체적으로 집락을 형성할 수 있는 것인 조성물.

#### 청구항 13

제1항 또는 제2항에 있어서,

- (a) 블라우티아의 단일 균주를 포함하거나;
- (b) 블라우티아를 포함하고, 임의의 다른 속의 박테리아는 포함하지 않거나, 또는 이러한 다른 박테리아를 최소량으로만 포함하거나;
- (c) 블라우티아 하이드로게노트로피카를 포함하고, 임의의 다른 종의 박테리아는 포함하지 않거나, 또는 이러한 다른 박테리아를 최소량으로만 포함하거나; 또는
- (d) 블라우티아를 미생물 컨소시엄의 일부로서 포함하는

조성물.

청구항 14

제1항 또는 제2항에 따라 사용하기 위한, 제1항 또는 제2항의 조성물을 포함하는 백신 조성물.

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 포유동물 소화관으로부터 단리된 박테리아 군주를 포함하는 조성물 분야 및 질환의 치료에서의 이러한 조성물의 용도에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 인간 창자는 자궁내에서 무균성이라고 생각되지만, 그것은 출생 직후에 광범위한 모계 및 환경 미생물에 노출된다. 그 후, 인자, 예컨대, 전달 모드, 환경, 식이 및 숙주 유전자형에 의해서 영향을 받는 미생물 집락형성 및 승계의 역동적인 기간이 발생하며, 이들 모두는 특히 초기 생애 동안 장내 미생물군(microbiota)의 조성에 영향을 준다. 결과적으로, 미생물군은 안정화되고, 성인 유사해진다[1]. 인간 장내 미생물군은 2종의 상이한 박테리아 분류(문)인 박테로이데테스(Bacteroidetes) 및 퍼미쿠테스(Firmicutes)에 의해서 풍부 수준에서 지배적인 1500종 초과의 상이한 계통형(phylotype)을 함유한다[2]. 인간 장의 박테리아 집락형성으로부터 발생한 성공적인 공생 관계는 광범위한 대사, 구조, 보호 및 다른 이로운 기능을 생성하였다. 집락화된 장의 향상된 대사 활

성도는 달리는 소화가 어려운 음식 구성성분이 부산물의 방출과 함께 분해되는 것을 보장하여 숙주를 위한 중요한 영양 공급원 및 추가적인 건강 이점을 제공한다. 유사하게, 장내 미생물군의 면역학적 중요성은 널리 인식되고, 공생 박테리아의 도입 이후에 기능적으로 재구성된 손상된 면역계를 갖는 무균 동물에서 예시된다[3 내지 5].

[0003] 미생물군 조성에서의 극적인 변화는 위장 장애, 예컨대, 염증성 장 질환(IBD)에서 나타난다. 예를 들어, 클로스 트리디움 클러스터(*Clostridium cluster*) XIVa 박테리아의 수준은 IBD 대상체에서 감소되는 반면, 이. 콜라이는 증가되는데, 이는 장 내에서 공생균(symbiont)과 유해균(pathobiont) 간의 균형 이동을 시사한다[6 내지 9, 18].

[0004] 특정 박테리아 균주가 동물 장에 대해서 가질 수 있는 잠재적인 긍정적인 효과를 인정하여, 다양한 균주가 다양한 질환의 치료에서 사용하기 위해서 제안되었다(예를 들어, [10 내지 13] 참고). 대부분의 락토바실루스 (*Lactobacillus*) 및 비피도박테리움(*Bifidobacterium*) 균주를 비롯한 다수의 균주가 다양한 장 장애를 치료하는데 사용하기 위해서 제안되었다(검토를 위해서 [14] 참고 및 [15] 참고). 참고 문헌 [16]은 소화 생태계의 미생물 균형을 조절하는 데 사용하기 위한 블라우티아 속(genus *Blautia*)의 균주의 사용을 제안한다. 참고 문헌 16의 문맥에서, 조절은 초산생성 박테리아군(acetogenic bacterial flora)의 활성도를 메탄생성 및 황 감소 박테리아의 손상으로 촉진시키는 것을 지칭한다. 따라서 이 문헌은 초산생성 박테리아의 증가 만을 교시한다. 다수의 분류군에 속하는 종의 다양성에 관련된 논의는 존재하지 않는다. 참고 문헌 [17]은 이식편대숙주 질환(GVDH)에 대해서 영향을 받는 환자의 생존을 개선시키기 위한 블라우티아의 용도를 논의한다. 그것은 증가된 박테리아 다양성이 감소된 GVDH-관련된 사망률과 연관되고, 블라우티아 속의 박테리아의 증가된 양은 감소된 GVDH와 연관되었다고 언급한다. 그러나, 환자에게 블라우티아를 투여하는 것이 미생물군 다양성의 증가에 영향을 주고/ 주거나 대상체에서 미생물군의 안정성을 유도한다는 어떠한 시사도 존재하지 않는다.

[0005] 상이한 박테리아 균주와 상이한 질환 간의 관계, 및 장에 대한 그리고 순환 수준에서 그리고 임의의 특정 유형의 질환에 대한 특정 박테리아 균주의 정확한 효과는 저조하게 특징규명되어 있고, 현재까지의 결과는 가변적이고, 해답을 제공하기보다는 더 많은 문제를 제기한다[18].

[0006] 미생물군 변경에 관련된 다수의 인간 질환의 특징은 미생물군 다양성의 손실이다. 건강한 대상체에서 전형적인 응집물 미생물군에 비해서 단순히 변경된 미생물군 조성인 소위 장내불균형과 별개의 것으로서, 미생물군 다양성의 손실은 서열-기반 박테리아 분류의 수 또는 16S rRNA 앰플리콘 서열결정 방법에 의해서 전형적으로 결정되는, 샘플에서의 조작 분류 단위(OTU)의 수의 측정 가능한 감소에 의해서 정량화될 수 있다. 다양성의 손실은 또한 샤논 다양성 지수(Shannon Diversity Index), 또는 샤오 지수(Chao index)에서의 감소에 의해서 측정된다. 감소된 미생물군 다양성은 비만, 염증성 장 질환(IBD), 과민성 장 증후군(IBS), 제2형 당뇨병 및 노쇠한 고령 인간의 최근 연구에서 보고된다[20]. 건강한 미생물군을 재확립하는 것은, 장 내의 박테리아가 집락형성에 내성이기 때문에 어려울 수 있다. 이는 미생물군의 다양성을 증가시킴으로써 건강하지 않은 대상체의 미생물군을 치료하려고 시도하는 경우 도전을 제시한다[19]. 미생물 대사 기능의 동반 손실은 이러한 병리생리학의 증상에 기여하는 인자인 것으로 추정된다. 미생물군이 안정적인 건강한 성인에 반해서, 건강하지 않은 대상체, 예컨대, IBD, IBS를 앓고 있는 대상체 및 노쇠한 고령 대상체의 미생물군은 불안정적이다[18, 20].

[0007] 장 박테리아의 잠재적인 효과에 대한 요건이 특징규명되어 장 박테리아를 사용하여 새로운 요법이 개발될 수 있다.

### 발명의 내용

[0008] 본 발명자들은 대상체에서 창자 미생물군 다양성을 증가 또는 유지시킴으로써 질환 및 장애를 치료 및 예방하기 위한 새로운 요법을 개발하였다. 특히, 본 발명자들은 블라우티아 속으로부터의 박테리아 균주가 대상체의 원위장에서 박테리아의 상이한 유형의 수 및/또는 균등성을 증가 또는 유지시키는 데 효과적일 수 있음을 식별하였다. 실시예에 기술된 바와 같이, 블라우티아 하이드로게노트로피카(*Blautia hydrogenotrophica*)를 포함하는 조성물의 경구 투여는 대변에서 미생물군 다양성을 증가시킨다. 이러한 다양성 증가는 건강한 대상체 및 IBS 대상체에서 인지되었다. 그러나, 위약이 제공된 IBS 대상체는 연구 기간 동안 마이크로바이옴(microbiome) 다양성의 통계학적으로 유의한 감소를 가졌다. 추가로, 실시예는 위약이 아닌 블라우티아 하이드로게노트로피카를 포함하는 조성물이 연구 기간 전체에서 IBS 대상체에서 미생물군의 안정성을 증가시켰다는 것을 나타낸다. 블라우티아 하이드로게노트로피카를 포함하는 조성물이 제공된 대상체에서의 미생물군의 안정성은 건강한 대조군 대상체의 것과 대등하였다.

- [0009] 따라서, 제1 실시형태에서, 본 발명은 미생물군 다양성을 증가 또는 유지시키는 방법에 사용하기 위한, 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함하는 조성물을 제공한다. 유사하게, 블라우티아 속의 박테리아 균주를 사용하는 것을 포함하는, 대상체에서 미생물군 다양성을 증가 또는 유지시키는 방법이 또한 제공된다.
- [0010] 용어 "미생물군 다양성을 증가 또는 유지시키는"은 대상체의 미생물군에서 상이한 유형의 박테리아의 수 및/또는 상이한 유형의 박테리아의 균등성을 증가 또는 유지시키는 것을 의미하기 위해서 본 명세서에서 사용된다. 일부 실시형태에서, 미생물군 다양성이 증가된다. 일부 실시형태에서, 미생물군에서 박테리아의 상이한 속의 수가 증가된다. 일부 실시형태에서, 미생물군에서 박테리아의 상이한 종의 수가 증가된다. 일부 실시형태에서, 미생물군에서 박테리아의 상이한 균주의 수가 증가된다. 일부 실시형태에서, 미생물군 다양성이 유지된다. 일부 실시형태에서, 미생물군에서 박테리아의 상이한 속의 수가 유지된다. 일부 실시형태에서, 미생물군에서 박테리아의 상이한 종의 수가 유지된다. 일부 실시형태에서, 미생물군에서 박테리아의 상이한 균주의 수가 유지된다. 일부 실시형태에서, 미생물군에서 속, 종 및 균주의 수가 증가 또는 유지된다.
- [0011] 미생물총(microbiota) 다양성의 증가는 비-초산생성 박테리아에 대한 것일 수 있다. 그것은 또한 초산생성 및 비-초산생성 박테리아에 대한 것일 수 있다. 이러한 박테리아는 관련 기술 분야에 널리 공지되어 있다. 간략하면, 초산생성 박테리아는 협기 호흡 또는 발효의 최종 산물로서 아세테이트를 생산한다.
- [0012] 일부 실시형태에서, 미생물군 다양성의 손실, 증가 또는 유지는 각각 서열-기반 박테리아 분류의 수 또는 16S rRNA 앰플리콘 서열결정 방법에 의해서 전형적으로 결정되는, 샘플에서의 조작 분류 단위(OTU)의 수의 측정 가능한 감소, 증가 또는 유지에 의해서 정량화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 다양성의 손실은 샤논 다양성 지수, 또는 샤오 지수의 감소에 의해서 측정될 수 있다. 이에 반해서, 일부 실시형태에서, 다양성의 증가는 샤논 다양성 지수, 또는 샤오 지수의 증가에 의해서 측정될 수 있다. 유사하게, 일부 실시형태에서, 다양성의 유지는 샤논 다양성 지수, 또는 샤오 지수의 동일한 결과에 의해서 측정될 수 있다.
- [0013] 일부 실시형태에서, 상이한 유형의 박테리아의 균등성이 증가된다. 일부 실시형태에서, 미생물군에서 상이한 유형의 박테리아의 상대적인 풍부도는 본 발명의 조성물로의 치료 또는 예방 후에 더 균등해진다.
- [0014] 본 발명자들은 또한 창자 미생물군의 안정성을 유도함으로써 질환 및 장애를 치료 및 예방하기 위한 새로운 요법을 개발하였다. 특히, 본 발명자들은 블라우티아 속으로부터의 박테리아 균주가 창자 미생물군의 안정성을 유도한다는 것을 식별하였다. "안정성을 유도한다"는 것은 미생물군 다양성이 안정적으로 유지되고, 또한 미생물군에서 상이한 속의 상대적인 수가 안정적으로 유지된다는 것을 의미한다. 이것은 IBS 및 IBD를 비롯한, 다수의 질환이 미생물군의 감소된 안정성을 특징으로 하기 때문에 중요하다. 실시예에 기술된 바와 같이, 블라우티아 하이드로게노트로피카를 포함하는 조성물의 경구 투여는 대변에서 미생물군 안정성을 유도한다. 따라서, 추가 실시형태에서, 본 발명은 대상체에서 미생물군의 안정성을 유도하는 방법에 사용하기 위한, 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함하는 조성물을 제공한다. 유사하게, 블라우티아 속의 박테리아 균주를 사용하는 것을 포함하는, 대상체에서 미생물군의 안정성을 유도하는 방법이 또한 제공된다.
- [0015] 일부 실시형태에서, 대상체의 미생물군에서 상이한 박테리아 종의 상대적인 수는 예를 들어, 미생물군의 다양성의 감소를 특징으로 하는 질환 또는 장애를 갖는 것으로 진단된 대상체에서, 본 발명의 조성물로의 치료 또는 예방 후에 보다 안정적이 된다. 일부 실시형태에서, 대상체의 미생물군에서 상이한 박테리아 속의 상대적인 수는 예를 들어, 미생물군의 다양성의 감소를 특징으로 하는 질환 또는 장애를 갖는 것으로 진단된 대상체에서, 본 발명의 조성물로의 치료 또는 예방 후에 보다 안정적이 된다. 대상체의 미생물군의 안정성은 두 상이한 시간 지점에서 대상체로부터의 마이크로바이옴을 비교함으로써 평가될 수 있다. 마이크로바이옴에서의 차이가 존재하면, 이것은 질환 또는 장애가 존재함을 나타낼 수 있다. 일부 실시형태에서, 두 상이한 시간 지점은 적어도 3일 이격되어 있다(예를 들어, 적어도 1주, 2주, 1개월, 3개월, 6개월, 1년, 2년 이격되어 있다). 일부 실시형태에서, 두 상이한 시간 지점은 3 내지 7일 이격되어 있거나, 1 내지 2주 이격되어 있거나, 2 내지 4주 이격되어 있거나, 4 내지 8주 이격되어 있거나, 8 내지 24주 이격되어 있거나, 24 내지 40주 이격되어 있거나, 40 내지 52주 이격되어 있거나 또는 52주 초과가 이격되어 있다. 일부 실시형태에서, 2개를 초과하는 상이한 시간 지점, 예를 들어, 3, 4, 5 또는 5개 초과의 시간 지점이 사용된다. 적합한 간격은 예를 들어, 상기에 제시된 바와 같은 다양한 시간 지점 사이에서 선택된다.
- [0016] 본 발명의 모든 양상의 바람직한 실시형태에서, 박테리아 균주는 블라우티아 하이드로게노트로피카이고, 바람직하게는 수탁 번호 DSM 10507/14294 하에 기탁된 박테리아이다.
- [0017] 일부 실시형태에서, 미생물군 다양성 및/또는 미생물군의 안정성은 대상체의 대변에서의 미생물군 다양성 및/또

는 안정성을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 미생물군 다양성 및/또는 미생물군의 안정성은 대상체로부터의 대변 샘플에서의 미생물군 다양성 및/또는 안정성을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 미생물군 다양성 및/또는 미생물군의 안정성은 대상체의 원위 장에서의 미생물군 다양성 및/또는 안정성을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 미생물군 다양성 및/또는 미생물군의 안정성은 대상체의 위장관에서의 미생물군 다양성 및/또는 안정성을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 미생물군 다양성 및/또는 미생물군의 안정성은 맹장에서의 미생물군 다양성 및/또는 안정성을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 미생물군 다양성 및/또는 미생물군의 안정성은 결장에서의 미생물군 다양성 및/또는 안정성을 지칭한다.

[0018]

일부 실시형태에서, 본 발명은 건강한 대상체의 미생물군 다양성에 비해서 감소된 미생물군 다양성의 수준과 연관된 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는 방법에서 사용하기 위한, 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물을 사용한 치료 또는 예방은 미생물군 다양성을 건강한 개체에서 존재하는 수준까지 증가시킨다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물을 사용한 치료 또는 예방은 미생물군 다양성을 일부 건강한 개체에서 존재하는 것보다 큰 수준까지 증가시킨다. 일부 실시형태에서, 건강한 개체는 그 대상체와 유사한/동일한 연령이고/하거나 대상체와 유사한/동일한 인종이다. 유사하게, 본 발명은 또한 건강한 대상체의 미생물군 다양성에 비해서 감소된 미생물군 다양성의 수준과 연관된 질환 또는 장애의 치료 또는 예방 방법을 제공하며, 여기서 방법은 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 미생물군 다양성의 감소된 수준과 연관된 질환 또는 장애의 예는 IBS, IBD[21], 비만[22], 제2형 당뇨병, 감염 질환, 알레르기성 질환, 자가면역 질환 및 대사성 질환/장애를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 이들 질환 및 장애의 치료 또는 예방이 본 발명에 포함된다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 IBS이다.

[0019]

일부 실시형태에서, 대상체는 각각 건강한 유아 또는 어린이에 비해서 감소된 미생물군 다양성을 갖는 유아 또는 어린이이다. 인생 후반기에 알레르기성 질환이 발달한 일부 어린이는 1주령 유아일 때 배설물 미생물군의 감소된 다양성을 갖는다[23]. 따라서, 일부 실시형태에서, 유아는 1주령 미만이거나, 2주령 미만이거나, 1개월령 미만이거나 2개월령 미만이거나 또는 4개월령 미만이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 질 분만을 통해서 태어나지 않은 유아이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 대상체는 제왕절개 수술에 의해서 태어난 유아이다. 감소된 미생물군 다양성은 또한 노쇠한 고령 대상체에서 보고된다. 일부 실시형태에서, 따라서, 대상체는 고령 대상체, 예를 들어, 노쇠한 고령 대상체이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 65세 이상의 연령(예를 들어, 70세 이상, 75세 이상, 80세 이상, 85세 이상 또는 90세 이상)이다[20].

[0020]

단일 인간 개체는 이의 미생물군에서 대략 101종의 상이한 박테리아 종 및 195종의 상이한 균주를 갖는다고 추정된다[24]. 따라서, 일부 실시형태에서, 조성물은 이의 미생물군에서 101종 미만의 상이한 박테리아 종(예를 들어, 100, 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 또는 70종 미만의 박테리아 종) 및/또는 195종 미만의 상이한 균주(예를 들어, 194, 193, 192, 191, 190, 189, 188, 187, 186, 185, 183, 180, 175, 170, 165, 160, 150, 140종 미만의 박테리아 균주)를 갖는 대상체를 치료하는 데 사용하기 위한 것이다. 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 미생물군 다양성을 80종 초과의 박테리아 종(예를 들어, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100종 초과의 박테리아 종) 또는 101종의 박테리아 종까지 증가시킨다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 미생물군 다양성을 90종 초과의 박테리아 종까지 증가시킨다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 미생물군 다양성을 95종 초과의 박테리아 종까지 증가시킨다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 미생물군 다양성을 97종 초과의 박테리아 종까지 증가시킨다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 미생물군 다양성을 99종 초과의 박테리아 종까지 증가시킨다. 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 미생물군 다양성을 160종 초과의 박테리아 균주(예를 들어, 165, 170, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193 또는 194종 초과의 박테리아 종) 또는 195종의 박테리아 균주까지 증가시킨다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 미생물군 다양성을 175종 초과의 박테리아 균주까지 증가시킨다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 미생물군 다양성을 185종 초과의 박테리아 균주까지 증가시킨다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 미생물군 다양성을 190종 초과의 박테리아 균주까지 증가시킨다.

[0021]

일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 미생물군 다양성을 적어도 1종의 박테리아 속(예를 들어, 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10종의 박테리아 속)만큼 증가시킨다. 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 미생물군 다양성을 적어도 1종의 박테리아 종(예를 들어, 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17 또는 20종의 박테리아 종)만큼 증가시킨다. 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 미생물군 다양성을 적어도 1종의 박테리아 균주(예를 들어, 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 20 또는 25종의 박테리아 균주)만큼 증가시킨다.

킨다.

[0022]

일부 실시형태에서, 본 발명은 건강한 대상체의 미생물군의 안정성에 비해서(또는 건강한 대상체의 집단에 비해서) 미생물군의 감소된 안정성과 연관된 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는 방법에서 사용하기 위한, 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함하는 조성물을 제공한다. "미생물군의 감소된 안정성"이라는 것은 미생물군 다양성이 안정적으로 유지되지 않고, 또한 미생물군에서 상이한 속의 상대적인 수가 건강한 대상체 또는 건강한 대상체의 집단에서 관찰된 안정성만큼 안정적으로 유지되지 않는다는 것을 의미한다. 일부 실시형태에서, 미생물군의 안정성을 유도하는 것은 안정성을 건강한 대상체, 또는 건강한 대상체의 집단에 존재하는 것과 유사한 수준으로 유도한다. 일부 실시형태에서, 미생물군의 안정성을 유도하는 것은 안정성을 건강한 대상체, 또는 건강한 대상체의 집단에 존재하는 것과 동일한 수준으로 유도한다. 유사하게, 본 발명은 미생물군의 감소된 안정성과 연관된 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는 방법을 제공하며, 여기서 방법은 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 일부 질환 또는 장애의 발병기전은 미생물군의 감소된 안정성을 특징으로 한다. 이러한 질환 및 장애의 예는 IBS, IBD, 당뇨병(예를 들어, 제2형 당뇨병), 알레르기성 질환, 자가면역 질환 및 대사성 질환/장애이다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명은 미생물군의 감소된 안정성과 연관된 질환 또는 장애의 치료 또는 예방 방법에서 사용하기 위한, 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함하는 조성물을 제공하며, 여기서 치료 또는 예방은 미생물군의 안정성을 유도하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 IBS, IBD, 당뇨병(예를 들어, 제2형 당뇨병), 알레르기성 질환, 자가면역 질환 및 대사성 질환/장애로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 IBS 또는 IBD이다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 IBS이다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명은 IBS 또는 IBD의 치료 또는 예방 방법에서 사용하기 위한, 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함하는 조성물을 제공하며, 여기서 치료 또는 예방은 미생물군의 안정성을 유도하는 것을 포함한다.

[0023]

일부 실시형태에서, 본 발명은 건강한 대상체의 미생물군 다양성에 비해서 감소된 미생물군 다양성의 수준과 연관된 질환 또는 장애의 치료 또는 예방 방법을 제공하며, 여기서 방법은 대상체를 미생물군 다양성의 감소된 수준을 갖는 것으로서 진단하는 단계, 이어서 다양성의 감소된 수준이 존재하는 것으로 발견되면, 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0024]

일부 실시형태에서, 본 발명은 건강한 대상체의 미생물군의 안정성에 비해서 감소된 미생물군의 안정성과 연관된 질환 또는 장애의 치료 또는 예방 방법을 제공하며, 여기서 방법은 대상체를 미생물군의 감소된 안정성을 갖는 것으로서 진단하는 단계, 이어서 감소된 안정성이 존재하는 것으로 발견되면, 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0025]

본 발명의 바람직한 실시형태에서, 조성물 중의 박테리아 균주는 블라우티아 하이드로게노트로피카를 갖는다. 밀접하게 관련된 균주, 예컨대, 블라우티아 하이드로게노트로피카의 박테리아 균주의 16s rRNA 서열과 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 동일한 16s rRNA 서열을 갖는 박테리아 균주가 또한 사용될 수 있다. 바람직하게는, 박테리아 균주는 서열번호 5와 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 동일한 16s rRNA 서열을 갖는다. 바람직하게는, 박테리아 균주는 서열번호 5의 16s rRNA 서열을 갖는다. 가장 바람직하게는, 조성물 중의 박테리아 균주는 수탁 번호 DSM 10507/14294 하에 기탁된 블라우티아 하이드로게노트로피카 균주이다.

[0026]

본 발명의 추가 실시형태에서, 조성물 중의 박테리아 균주는 블라우티아 스테르코리스(*Blautia stercoris*)를 갖는다. 밀접하게 관련된 균주, 예컨대, 블라우티아 스테르코리스의 박테리아 균주의 16s rRNA 서열과 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 동일한 16s rRNA 서열을 갖는 박테리아 균주가 또한 사용될 수 있다. 바람직하게는, 박테리아 균주는 서열번호 1 또는 3과 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 동일한 16s rRNA 서열을 갖는다. 바람직하게는, 서열 동일성은 서열번호 3에 대한 것이다. 바람직하게는, 본 발명에서 사용하기 위한 박테리아 균주는 서열번호 3으로 표현되는 16s rRNA 서열을 갖는다.

[0027]

본 발명의 추가 실시형태에서, 조성물 중의 박테리아 균주는 블라우티아 웨슬러래(*Blautia wexlerae*)를 갖는다. 밀접하게 관련된 균주, 예컨대, 블라우티아 웨슬러래의 박테리아 균주의 16s rRNA 서열과 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 동일한 16s rRNA 서열을 갖는 박테리아 균주가 또한 사용될 수 있다. 바람직하게는, 박테리아 균주는 서열번호 2 또는 4와 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 동일한 16s rRNA 서열을 갖는다. 바람직하게는, 서열 동일성은 서열번호 4에 대한 것이다. 바람직하게는, 본 발명에서 사용하기 위한 박테리아 균주는 서열번호 4로 표현되는 16s rRNA 서열을 갖는다.

[0028]

특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물을 경구 투여용이다. 본 발명의 균주의 경구 투여는 미생물군의 다양성을 증가시키고/거나 미생물군의 안정성을 유도하기에 효과적일 수 있다. 또한, 경구 투여는 대상체 및 의사에게 편

리하고, 창자로의 전달 및/또는 창자의 부분 또는 전체 집락형성을 허용한다.

[0029] 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 1종 이상의 약제학적으로 허용 가능한 부형제 또는 담체를 포함한다.

[0030] 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 동결건조된 박테리아 균주를 포함한다. 동결건조는 박테리아의 전달을 허용하는 안정적인 조성물을 제조하기 위한 효과적이고 편리한 기술이고, 실시예에서 효과적인 조성물을 제공하는 것을 나타낸다.

[0031] 특정 실시형태에서, 본 발명은 상기에 기술된 바와 같은 조성물을 포함하는 식품을 제공한다.

[0032] 특정 실시형태에서, 본 발명은 상기에 기술된 바와 같은 조성물을 포함하는 백신 조성물을 제공한다.

[0033] 추가로, 본 발명은 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 미생물군 다양성을 증가시키고/거나 미생물군의 안정성을 유도하고, 이에 의해서 감소된 미생물군 다양성 및/또는 미생물군의 감소된 안정성과 연관된 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다.

### 도면의 간단한 설명

[0034] 도 1: 건강한 환자 및 IBS 환자에서의 미생물군의 비교.

도 2: 블라우티스 또는 위약으로의 치료 후 건강한 환자 및 IBS 환자에 대한 16일과 1일 간의 미생물군 다양성의 비교.

도 3: a) 블라우티스 치료 후 1일, 16일 및 연구 마지막에 건강한 환자에서의 마이크로바이옴의 상호연결성, b) 블라우티스 치료 후 1일, 16일 및 연구 마지막에 IBS 환자에서의 마이크로바이옴의 상호연결성. 도 3a에 존재하는 건강한 개체에 대해서 1일, 16일 및 연구 마지막에 인지된 상호연결성 결과를 또한 각각 도 3aa, 3ab 및 3ac에 나타낸다. 도 3b에 존재하는 IBS 환자에 대해서 1일, 16일 및 연구 마지막에 인지된 상호연결성 결과를 또한 각각 도 3ba, 3bb 및 3bc에 나타낸다.

도 4: 블라우티스 또는 위약으로의 치료 후 a) 16일 및 1일, b) 연구 마지막 및 1일 및 c) 연구 마지막 및 16일에 건강한 환자 및 IBS 환자에서의 미생물군 프로파일의 불안정성의 비교.

도 5: 블라우티스 치료 후 건강한 환자 및 IBS 환자에 대한 상이한 시간 지점에서의 미생물군 다양성의 비교.

도 6: a) 블라우티스 치료 후 1일, 16일 및 연구 마지막에 건강한 환자에서의 상호 배제 네트워크, b) 블라우티스 치료 후 1일, 16일 및 연구 마지막에 IBS 환자에서의 상호 배제 네트워크. 도 6a에 존재하는 건강한 개체에 대해서 1일, 16일 및 연구 마지막에 인지된 상호 배제 결과를 또한 각각 도 6aa, 6ab 및 6ac에 나타낸다. 도 6b에 존재하는 IBS 개체에 대해서 1일, 16일 및 연구 마지막에 인지된 상호 배제 결과를 또한 각각 도 6ba, 6bb 및 6bc에 나타낸다.

도 7: 미생물군의 계층 클러스터링.

도 8: 브레이-큐티스 비유사성(Bray-Curtis dissimilarity)을 기반으로 한 블라우티스 치료 전(D14) 및 후(D32)의 미생물군 프로파일의 비교.

도 9: (a) 브레이-큐티스 비유사성을 기반으로 하는 PCoA를 사용한 D-14에서 상이한 군의 미생물군의 프로파일의 가시화. (b) 브레이-큐티스 비유사성을 기반으로 하는 PCoA를 사용한 D14에서 군의 미생물군의 프로파일의 가시화. (c) 블라우티스 군의 경우 미생물군 프로파일에서 유의한 차이( $p$ -값=0.002)가 시간지점에 걸쳐서 인지되었다.

도 10: 브레이-큐티스 비유사성을 기반으로 한 연구 시간지점(D-14, D-1, D34)에서 블라우티스 치료에 대한 미생물군 프로파일의 비교.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

#### 박테리아 균주

[0035] 본 발명의 조성물은 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함한다. 실시예는 이러한 속의 박테리아가 미생물군 다양성을 증가시키고/거나 미생물군의 안정성을 유도하기에 유용하다는 것을 입증한다. 바람직한 박테리아 균주는 블라우티아 하이드로게노트로피카종, 블라우티아 스테르코리스종 및 블라우티아 웨슬러래종을 갖는다. 가장 바

람직한 것은 블라우티아 하이드로게노트로피카, 특히 수탁 번호 DSM 10507/14294 하에 기탁된 박테리아이다.

[0037] 본 발명에서 사용하기 위한 블라우티아 균주의 예는 블라우티아 하이드로게노트로피카, 비. 스테르코리스, 비. 파에시스(*B. faecis*), 비. 코코이데스(*B. coccoides*), 비. 글루세라세아(*B. glucerasea*), 비. 한세니(*B. hansenii*), 비. 루티(*B. luti*), 비. 프로덕타(*B. producta*), 비. 신키이(*B. schinkii*) 및 비. 웨슬레라에를 포함한다. 블라우티아 좋은 구형 또는 타원형 중 어느 하나일 수 있고, 모두 글루코스 발효의 주요 최종 산물로서 아세트산을 생산하는 절대 혐기성미생물인 그램-반응-양성인 비-운동성 박테리아이다[25]. 블라우티아는 인간 장으로부터 단리될 수 있지만, 비. 프로덕타는 패혈증 샘플로부터 단리되었다.

[0038] 블라우티아 하이드로게노트로피카(루미노코쿠스 하이드로게노트로피쿠스(*Ruminococcus hydrogenotrophicus*)라 이미 공지됨)는 포유동물의 장으로부터 단리되었고, 엄격하게 혐기성이고, H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>를 아세테이트로 대사시키고, 이것은 인간 영양 및 건강에 중요할 수 있다. 블라우티아 하이드로게노트로피카의 기준 균주는 S5a33 = DSM 10507 = JCM 14656이다. 블라우티아 하이드로게노트로피카 균주 S5a36의 16S rRNA 유전자 서열에 대한 젠뱅크 수탁 번호는 X95624.1(본 명세서에서 서열번호 5로 개시됨). 이러한 예시적인 블라우티아 하이드로게노트로피카 균주는 [25] 및 [26]에 기술되어 있다. S5a33 균주 및 S5a36 균주는 건강한 대상체의 배설물 샘플로부터 단리된 초산생성 균주의 2종의 하위클론에 상응한다. 이들은 동일한 모풀로지, 생리학 및 대사를 나타내고, 동일한 16S rRNA 서열을 갖는다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명에서 사용하기 위한 블라우티아 하이드로게노트로피카는 서열번호 5의 16S rRNA 서열을 갖는다.

[0039] 수탁 번호 DSM 10507 하에 그리고 또한 수탁 번호 DSM 14294 하에 기탁된 블라우티아 하이드로게노트로피카 박테리아를 실시예에서 시험하였고, 또한 본 명세서에서 균주 BH라 칭한다. 균주 BH는 2001년 5월 10일에 수탁 번호 DSM 10507 및 또한 수탁 번호 DSM 14294 하에 "루미노코쿠스 하이드로게노트로피쿠스"로서 독일 미생물 컬렉션(the Deutsche Sammlung von Mikroorganismen [German Microorganism Collection](독일 38124 브라운슈바이크 마셔로더 베그 1b 소재))에 기탁되었다. 기탁자는 아이엔알에이 래보러토리 드 마이크로바이올로지 씨알(INRA Laboratoire de Microbiologie CR)(프랑스 클레르몽-페랑/티엑스 63122 세인트 가네스 세인트 제네스 양파넬레 소재)이었다. DSM 10507 및 DSM 14294 하에 기탁된 박테리아의 소유권은 포디 파마 피엘씨(4D Pharma Plc)로의 양도를 통해서 통과되었다.

[0040] 블라우티아 스테르코리스 균주 GAM6-1<sup>T</sup>의 16S rRNA 유전자 서열에 대한 젠뱅크 수탁 번호는 HM626177(본 명세서에서 서열번호 1로 개시됨)이다. 예시적인 블라우티아 스테르코리스 균주는 [27]에 기술되어 있다. 블라우티아 웨슬러래의 기준 균주는 WAL 14507 = ATCC BAA-1564 = DSM 19850이다[25]. 블라우티아 웨슬러래 균주 WAL 14507 T의 16S rRNA 유전자 서열에 대한 젠뱅크 수탁 번호는 EF036467(본 명세서에서 서열번호 2라 개시됨)이다. 이러한 예시적인 블라우티아 웨슬러래 균주는 [25]에 기술되어 있다.

[0041] 바람직한 블라우티아 스테르코리스 균주는 수탁 번호 NCIMB 42381 하에 기탁된 균주이며, 이것은 또한 본 명세서에서 균주 830이라 지칭된다. 830 균주에 대한 16S rRNA 서열은 서열번호 3에 제공된다. 균주 830은 지티 바이올로직스 엘티디.(GT Biologics Ltd.)(스코틀랜드 AB25 2ZS 아버딘 라이프 사이언시스 이노베이션 빌딩 소재)에 의해서 2015년 3월 12일에 "블라우티아 스테르코리스 830"으로서 국제 기관 엔씨아이엠비, 엘티디.(NCIMB, Ltd.)(스코틀랜드 AB21 9YA 아버딘 퍼거슨 빌딩 소재)에 기탁되었고, 수탁 번호 NCIMB 42381로서 배정되었다. 지티 바이올로직스 엘티디.는 이후 4디 파마 리서치 리미티드(4D Pharma Research Limited)로 명칭이 변경되었다.

[0042] 바람직한 블라우티아 웨슬러래 균주는 수탁 번호 NCIMB 42486 하에 기탁된 균주이고, 이것은 또한 본 명세서에서 균주 MRX008이라 지칭된다. MRX008 균주에 대한 16S rRNA 서열은 서열번호 4에 제공된다. 균주 MRX008은 4디 파마 리서치 엘티디.(스코틀랜드 AB25 2ZS 아버딘 라이프 사이언시스 이노베이션 빌딩 소재)에 의해서 2015년 11월 16일에 "블라우티아/루미노코쿠스"로서 국제 기관 엔씨아이엠비, 엘티디.(NCIMB, Ltd.)(스코틀랜드 AB21 9YA 아버딘 퍼거슨 빌딩 소재)에 기탁되었고, 수탁 번호 NCIMB 42486으로서 배정되었다.

[0043] 실시예에서 시험된 균주에 밀접하게 관련된 박테리아 균주는 또한 미생물군 다양성을 증가시키고/거나 미생물군의 안정성을 유도하기에 효과적이라고 예상된다. 특정 실시형태에서, 본 발명에서 사용하기 위한 박테리아 균주는 블라우티아 하이드로게노트로피카의 박테리아 균주의 16s rRNA 서열과 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 동일한 16s rRNA 서열을 갖는다. 바람직하게는, 본 발명에서 사용하기 위한 박테리아 균주는 서열번호 5와 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 동일한 16s rRNA 서열을 갖는다. 바람직하게는, 본 발명에서 사용하기 위한 박테리아 균주는 서열번호 5의 서열을 갖는 16s rRNA 서열을 갖는다.

- [0044] 특정 실시형태에서, 본 발명에서 사용하기 위한 박테리아 균주는 블라우티아 스테르코리스의 박테리아 균주의 16s rRNA 서열과 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 동일한 16s rRNA 서열을 갖는다. 바람직하게는, 본 발명에서 사용하기 위한 박테리아 균주는 서열번호 1 또는 서열번호 3과 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 동일한 16s rRNA 서열을 갖는다. 바람직하게는, 서열 동일성은 서열번호 3에 대한 것이다. 바람직하게는, 본 발명에서 사용하기 위한 박테리아 균주는 서열번호 3으로 표현되는 16s rRNA 서열을 갖는다. 특정 실시형태에서, 본 발명에서 사용하기 위한 박테리아 균주는 블라우티아 웨슬러래의 박테리아 균주의 16s rRNA 서열과 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 동일한 16s rRNA 서열을 갖는다. 바람직하게는, 본 발명에서 사용하기 위한 박테리아 균주는 서열번호 2 또는 서열번호 4와 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 동일한 16s rRNA 서열을 갖는다. 바람직하게는, 서열 동일성은 서열번호 4에 대한 것이다. 바람직하게는, 본 발명에서 사용하기 위한 박테리아 균주는 서열번호 4로 표현되는 16s rRNA 서열을 갖는다.
- [0045] 수탁 번호 DSM 10507/14294 하에 기탁된 박테리아의 생물형 또는 수탁 번호 NCIMB 42381 및 NCIMB 42486 하에 기탁된 박테리아의 생물형인 박테리아 균주는 또한 미생물군 다양성을 증가시키고/거나 미생물군의 안정성을 유도하기에 효과적이라고 예상된다. 생물형은 동일하거나 또는 매우 유사한 생리학적 및 생화학적 특징을 갖는 밀접하게 관련된 균주이다.
- [0046] 수탁 번호 DSM 10507/14294, NCIMB 42381 또는 NCIMB 42486 하에 기탁된 박테리아의 생물형이고, 본 발명에서 사용하기에 적합한 균주는 수탁 번호 DSM 10507/14294, NCIMB 42381 또는 NCIMB 42486 하에 기탁된 박테리아에 대해서 다른 뉴클레오타이드 서열을 서열결정함으로써 식별될 수 있다. 예를 들어, 실질적으로 전체 게놈이 서열결정될 수 있고, 본 발명에서 사용하기 위한 생물형 균주는 이의 전체 게놈의 적어도 80%에 걸쳐서(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95% 또는 99%에 걸쳐서, 또는 이의 전체 게놈에 걸쳐서) 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 서열 동일성을 가질 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 생물형 균주는 이의 게놈의 적어도 98%에 걸쳐서 적어도 98% 서열 동일성을 갖거나 또는 이의 게놈의 99%에 걸쳐서 적어도 99% 서열 동일성을 갖는다. 생물형 균주를 식별하는 데 사용하기 위한 다른 적합한 서열은 hsp60 또는 반복 서열, 예컨대, BOX, ERIC, (GTG)<sub>5</sub>, 또는 REP 또는 [28]을 포함할 수 있다. 생물형 균주는 수탁 번호 DSM 10507/14294, NCIMB 42381 또는 NCIMB 42486 하에 기탁된 박테리아의 상응하는 서열과 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 서열 동일성을 갖는 서열을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물형 균주는 수탁 번호 DSM 10507/14294 하에 기탁된 블라우티아 하이드로게노트로피카 균주의 상응하는 서열과 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖고, 서열번호 5와 적어도 99% 동일한(예를 들어, 적어도 99.5% 또는 적어도 99.9% 동일한) 16S rRNA 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 생물형 균주는 수탁 번호 DSM 10507/14294 하에 기탁된 블라우티아 하이드로게노트로피카 균주의 상응하는 서열과 적어도 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 99.9% 서열 동일성을 갖는 서열을 갖고, 서열번호 5의 16S rRNA 서열을 갖는다.
- [0047] 대안적으로, 수탁 번호 DSM 10507/14294, NCIMB 42381 또는 NCIMB 42486 하에 기탁되고, 본 발명에서 사용하기에 적합한 박테리아의 생물형인 균주는 수탁 번호 DSM 10507/14294 기탁, 수탁 번호 NCIMB 42381 기탁, 또는 수탁 번호 NCIMB 42486 기탁, 및 제한 단편 분석 및/또는 PCR 분석을 사용함으로써, 예를 들어 형광성 중폭 단편 길이 다형성(fluorescent amplified fragment length polymorphism: FAFLP) 및 반복적인 DNA 요소(rep)-PCR 평거프린팅, 또는 단백질 프로파일링, 또는 부분적인 16S 또는 23s rDNA 서열결정을 사용함으로써 식별될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 이러한 기술은 다른 블라우티아 하이드로게노트로피카, 블라우티아 스테르코리스 또는 블라우티아 웨슬러래 균주를 식별하는 데 사용될 수 있다.
- [0048] 특정 실시형태에서, 수탁 번호 DSM 10507/14294, NCIMB 42381 또는 NCIMB 42486 하에 기탁된 박테리아의 생물형이고, 본 발명에서 사용하기에 적합한 균주는 증폭된 리보솜 DNA 제한 분석(ARDRA)에 의해서 분석하는 경우, 예를 들어 Sau3AI 제한 효소를 사용하는 경우 수탁 번호 DSM 10507/14294, NCIMB 42381 또는 NCIMB 42486에 하에 기탁된 박테리아와 동일한 패턴을 제공하는 균주이다(예시적인 방법 및 지침에 대해서는 예를 들어, [29] 참고). 대안적으로, 생물형 균주는 수탁 번호 DSM 10507/14294, NCIMB 42381 또는 NCIMB 42486 하에 기탁된 박테리아와 동일한 탄수화물 발효 패턴을 갖는 균주로서 식별된다.
- [0049] 본 발명의 조성물 및 방법에서 유용한 다른 블라우티아 균주, 예컨대, 수탁 번호 DSM 10507/14294, NCIMB 42381 또는 NCIMB 42486 하에 기탁된 박테리아의 생물형은 실시예에 기술된 검정을 비롯한, 임의의 적절한 방법 또는 전략을 사용하여 식별될 수 있다. 예를 들어, 본 발명에서 사용하기 위한 균주는 박테리아를 배양하고, 래트에 게 투여하여 팽창 검정(distension assay)으로 시험함으로써 식별될 수 있다. 특히, 수탁 번호 DSM 10507/14294, NCIMB 42381 또는 NCIMB 42486 하에 기탁된 박테리아에 대한 유사한 성장 패턴, 대사 유형 및/또

는 표면 항원을 갖는 박테리아 균주가 본 발명에서 유용할 수 있다. 유용한 균주는 DSM 10507/14294, NCIMB 42381 또는 NCIMB 42486 균주와 대등한 미생물군 조절 활성도를 가질 것이다. 특히, 생물형 균주는 실시예에 나타낸 효과와 대등한 효과를 미생물군에 발휘할 것이고, 이것은 실시예에 기술된 배양 및 투여 프로토콜에 의해서 식별될 수 있다.

[0050] 본 발명의 특히 바람직한 균주는 수탁 번호 DSM 10507/14294 하에 기탁된 블라우티아 하이드로게노트로피카 균주이다. 이것은 실시예에서 시험되고, 미생물군 다양성을 증가시키고/거나 미생물군의 안정성을 유도하기에 효과적인 것으로 나타난 예시적인 BH 균주이다. 따라서, 본 발명은 요법, 특히 본 명세서에 기술된 질환 및 장애에서 사용하기 위한, 수탁 번호 DSM 10507/14294 하에 기탁된 블라우티아 하이드로게노트로피카 균주, 또는 이의 유도체의 세포, 예컨대, 단리된 세포를 제공한다.

[0051] 수탁 번호 DSM 10507/14294, NCIMB 42381 또는 NCIMB 42486 하에 기탁된 균주의 유도체는 딸 균주(자손) 또는 기원물로부터 배양된(서브클로닝된) 균주일 수 있다. 본 발명의 균주의 유도체는 생물학적 활성도를 제거하지 않으면서, 예를 들어, 유전자 수준에서 변형될 수 있다. 특히, 본 발명의 유도체 균주는 치료적으로 활성이다. 유도체 균주는 본래 DSM 10507/14294, NCIMB 42381 또는 NCIMB 42486 균주와 대등한 미생물군 조절 활성도를 가질 것이다. 특히, 유도체 균주는 실시예에 나타낸 효과와 대등한 효과를 미생물군에 발휘할 것이고, 이것은 실시예에 기술된 배양 및 투여 프로토콜에 의해서 식별될 수 있다. DSM 10507/14294 균주의 유도체는 일반적으로 DSM 10507/14294 균주의 생물형일 것이다. NCIMB 42381 균주의 유도체는 일반적으로 NCIMB 42381 균주의 생물형일 것이다. NCIMB 42486 균주의 유도체는 일반적으로 NCIMB 42486 균주의 생물형일 것이다.

[0052] 수탁 번호 DSM 10507/14294 하에 기탁된 블라우티아 하이드로게노트로피카 균주의 세포에 대한 언급은 수탁 번호 DSM 10507/14294 하에 기탁된 균주와 동일한 안전성 및 치료적 효능을 갖는 임의의 세포를 포함하고, 이러한 세포는 본 발명에 포함된다. 수탁 번호 NCIMB 42381 하에 기탁된 블라우티아 스테르코리스 균주의 세포에 대한 언급은 수탁 번호 NCIMB 42381 하에 기탁된 균주와 동일한 안전성 및 치료적 효능을 갖는 임의의 세포를 포함하고, 이러한 세포는 본 발명에 포함된다. 수탁 번호 NCIMB 42486 하에 기탁된 블라우티아 웨슬러래 균주의 세포에 대한 언급은 수탁 번호 NCIMB 42486 하에 기탁된 균주와 동일한 안전성 및 치료적 효능을 갖는 임의의 세포를 포함하고, 이러한 세포는 본 발명에 포함된다.

[0053] 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 조성물 중의 박테리아 균주는 생존 가능하고, 창자에 부분적으로 또는 전체적으로 집락을 형성할 수 있다.

#### 치료적 용도

[0055] 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 미생물군 다양성을 증가시키고/거나 미생물군의 안정성을 유도하는 데 사용하기 위한 것이다. 미생물군의 감소된 다양성 및/또는 미생물군의 감소된 안정성은 다수의 병리학적 질환 및 장애와 연관되고, 실시예는 본 발명의 조성물이 미생물군 다양성의 증가 및/또는 미생물군의 안정성의 유도에 효과적일 수 있음을 입증한다. 따라서, 본 발명의 조성물을 사용하여 치료 또는 예방될 질환 또는 장애는 바람직하게는 건강한 대상체의 미생물군 다양성에 비해서 감소된 미생물군 다양성의 수준과 연관된 질환 또는 장애 및/또는 미생물군의 감소된 안정성과 연관된 질환 또는 장애이다. 따라서, 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 건강한 대상체의 미생물군 다양성에 비해서 감소된 미생물군 다양성의 수준과 연관될 수 있고 또한 미생물군의 감소된 안정성과 연관될 수 있다.

[0056] 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 IBS, IBD, 비만, 제2형 당뇨병, 1종 이상의 감염 질환, 1종 이상의 알레르기성 질환, 1종 이상의 자가면역 질환 및 1종 이상의 대사성 질환/장애로부터 선택된 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는 데 사용하기 위한 것이다. 다른 질환 및 장애의 치료 또는 예방이 또한 예상된다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 IBS 또는 IBD를 치료 또는 예방하는데 사용하기 위한 것이다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 IBS를 치료 또는 예방하는데 사용하기 위한 것이다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 IBD를 치료 또는 예방하는데 사용하기 위한 것이다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 1종 이상의 알레르기성 질환을 치료 또는 예방하는데 사용하기 위한 것이다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 비만을 치료 또는 예방하는데 사용하기 위한 것이다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 1종 이상의 감염 질환을 치료 또는 예방하는데 사용하기 위한 것이다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 1종 이상의 자가면역 질환을 치료 또는 예방하는데 사용하기 위한 것이다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 1종 이상의 대사성 질환/장애를 치료 또는 예방하는데 사용하기 위한 것이다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 1종 이상의 대상체에서 미생물군 다양성의 증가 및/또는 미생물군의 안정성의 유도를 포함한다.

- [0057] 특정 실시형태에서, 1종 이상의 감염 질환은 바이러스, 박테리아 또는 진균 질환으로부터 선택된다. 특정 실시 형태에서, 1종 이상의 알레르기성 질환은 천식이다. 특정 실시형태에서, 1종 이상의 대사성 질환/장애는 당뇨병, 예를 들어, 제2형 당뇨병 및 비만으로부터 선택된다. 특정 실시형태에서, 1종 이상의 자가면역 질환은 다발성 경화증 및 류마티스 관절염으로부터 선택된다.
- [0058] 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 미생물군에서 미생물군 다양성을 증가시킴으로써 IBS, IBD, 비만, 제2형 당뇨병, 1종 이상의 감염 질환, 1종 이상의 알레르기성 질환, 1종 이상의 자가면역 질환 또는 1종 이상의 대사성 질환/장애를 치료 또는 예방하는 데 사용하기 위한 것이다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 미생물군의 안정성을 유도함으로써 IBS 또는 IBD를 치료 또는 예방하는 데 사용하기 위한 것이다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 미생물군의 안정성을 유도함으로써 IBS를 치료 또는 예방하는 데 사용하기 위한 것이다.
- [0059] 바람직한 실시형태에서, 본 발명은 IBD, IBS, 비만, 제2형 당뇨병, 1종 이상의 감염 질환, 1종 이상의 알레르기성 질환, 1종 이상의 자가면역 질환 또는 1종 이상의 대사성 질환/장애의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한, 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함하는 조성물을 제공하며, 여기서 치료 또는 예방은 대상체에서 미생물군 다양성의 증가 및/또는 미생물군의 안정성의 유도를 포함한다.
- [0060] 일부 실시형태에서, 본 발명은 IBS, IBD, 비만, 제2형 당뇨병, 1종 이상의 감염 질환, 1종 이상의 알레르기성 질환, 1종 이상의 자가면역 질환 및 1종 이상의 대사성 질환/장애로부터 선택된 질환 또는 장애의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 블라우티아 속의 박테리아 균주를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, IBS, IBD, 비만, 제2형 당뇨병, 1종 이상의 감염 질환, 1종 이상의 알레르기성 질환, 1종 이상의 자가면역 질환 및 1종 이상의 대사성 질환/장애로부터 선택된 질환 또는 장애의 치료 또는 예방 방법을 제공한다.
- [0061] 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 수탁 번호 DSM 10507/14294 하에 기탁된 박테리아를 포함하고, 이것은 IBD, IBS, 비만, 제2형 당뇨병, 1종 이상의 감염 질환, 1종 이상의 알레르기성 질환, 1종 이상의 자가면역 질환 또는 1종 이상의 대사성 질환/장애의 치료에서 대상체에서 미생물군 다양성을 증가시키고/거나 미생물군의 안정성을 유도하는 데 사용하기 위한 것이다. 추가로 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 수탁 번호 DSM 10507/14294 하에 기탁된 박테리아를 포함하고, 이것은 미생물군 다양성을 증가시키고/거나 미생물군의 안정성을 증가시킴으로써 IBD, IBS, 비만, 제2형 당뇨병, 1종 이상의 감염 질환, 1종 이상의 알레르기성 질환, 1종 이상의 자가면역 질환 또는 1종 이상의 대사성 질환/장애를 치료 또는 예방하는 데 사용하기 위한 것이다.
- [0062] 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애의 발병기전은 창자에 영향을 미친다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애의 발병기전은 창자에 영향을 미치지 않는다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애의 발병기전은 창자에 국한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 창자가 아닌 부위에서 일어난다. 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 창자에서 그리고 또한 창자가 아닌 부위에서 일어난다. 특정 실시형태에서, 질환 또는 장애는 전신성이다.
- [0063] 특정 실시형태에서, 조성물은 예를 들어, 건강한 대상체, 또는 건강한 대상체의 집단과 비교하는 경우 미생물군 다양성의 감소된 수준을 나타내거나 또는 나타낼 것으로 예상되는 대상체에서 사용하기 위한 것이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 조성물은 이의 미생물군에서 101종 미만의 상이한 박테리아 종(예를 들어, 100, 99, 98, 97, 96, 95, 93, 90, 85, 80, 75 또는 70종 미만의 박테리아 종) 및/또는 195종 미만의 상이한 균주(예를 들어, 193, 190, 187, 185, 183, 180, 175, 170, 165, 160, 150, 140종 미만의 박테리아 균주)를 갖는 대상체를 치료하는 데 사용하기 위한 것이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 조성물은 건강한 대상체에 비해서 또는 건강한 대상체의 집단에 비해서 이의 창자 미생물군에서 적어도 1종의 박테리아 속(예를 들어, 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10종의 박테리아 속)이 더 적은 대상체를 치료하는 데 사용하기 위한 것이다. 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 대상체를 미생물군 다양성의 감소된 수준을 갖는 것으로서 진단하고, 이어서 다양성의 감소된 수준이 존재하는 것으로 발견되면, 이어서 대상체를 본 발명에 따른 조성물로 치료하는 단계를 포함한다.
- [0064] 특정 실시형태에서, 조성물은 미생물군의 감소된 안정성을 나타내거나 또는 나타낼 것으로 예상되는 대상에서 사용하기 위한 것이다. 일부 실시형태에서, 조성물은 예를 들어, 건강한 대상체, 또는 건강한 대상체의 집단과 비교하는 경우 이의 미생물의 감소된 안정성을 나타내거나 또는 나타낼 것으로 예상되는 대상체에서 사용하기 위한 것이다. 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 대상체를 이의 미생물군의 감소된 안정성을 갖는 것으로서 진단하고, 이어서 감소된 안정성이 존재하는 것으로 발견되면, 이어서 대상체를 본 발명에 따른 조성물로 치료

하는 단계를 포함한다.

[0065] 특정 실시형태에서, 대상체는 유아이다. 특정 실시형태에서, 대상체는 어린이이다. 특정 실시형태에서, 대상체는 성인이다.

[0066] 특정 실시형태에서, 대상체는 건강한 대상체이다. 예를 들어, 조성물이 질환 또는 장애를 예방하기 위해서 사용되는 일부 실시형태에서, 대상체는 건강한 대상체, 임의로 미생물군 다양성의 감소를 특징으로 하는 질환 또는 장애를 발달시킬 위험이 있는 것으로 식별된 대상체이다.

[0067] 특정 실시형태에서, 대상체는 항생제 치료가 이미 제공되었거나, 제공되고 있거나 또는 제공될 것이다. 따라서, 일부 실시형태에서, 치료 또는 예방은 항생제 치료 이후에, 항생제 치료와 함께 또는 항생제 치료 이전에 본 발명의 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 본 발명의 조성물 및 1종 이상의 항생제는 별개로, 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[0068] 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 건강한 대상체에 비해서 그의 숨(breath)에서 수소의 증가된 수준을 갖는 대상체에서 미생물군 다양성을 증가시키고/거나 미생물군의 안정성을 유도하는 방법에서 사용하기 위한 것이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 이의 미생물군의 다양성의 감소된 수준 및/또는 미생물군의 감소된 안정성을 나타내거나 또는 나타낸다고 예상되는 대상체의 숨에서 수소 수준을 감소시키는 데 사용하기 위한 것이다. 대상체는 바람직하게는 IBS, IBD, 비만, 제2형 당뇨병, 1종 이상의 감염 질환, 1종 이상의 알레르기성 질환, 1종 이상의 자가면역 질환 및/또는 1종 이상의 대사성 질환/장애를 갖는 것으로 진단된 대상체이다. 본 발명의 조성물로의 치료는 수소 숨 시험에서 검출된 수소의 수준을 감소시킨다. 따라서, 수소 수준은 바람직하게는 수소 숨 시험을 사용하여 평가된다. 수소 숨 시험은 관련 기술 분야에 널리 공지되어 있고, 따라서 통상의 기술자는 이러한 실험을 수행하는 방법을 알고 있을 것이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 시험을 위한 기질로서 락툴로스가 투여된다.

[0069] 수소 숨 시험은 또한 미생물군 다양성의 증가 및/또는 미생물군의 안정성의 유도 및 본 발명의 조성물을 사용한 치료 또는 예방의 효과 또는 효과 가능성을 모니터링하기 위한 유용한 틀이다. 예를 들어, 본 발명의 조성물로의 치료 이후에 대상체의 숨에서 검출된 수소 수준의 감소는, 치료가 증가, 안정화, 치료적 또는 예방적 효과를 갖는다는 것을 나타낼 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서 본 발명의 방법 및 사용은 본 발명의 조성물로의 치료 동안 및/또는 치료 이후에 대상체의 숨에서 수소 수준을 모니터링하고, 이에 의해서 증가, 안정화, 치료 또는 예방의 효과 또는 효과 가능성을 평가하는 것을 추가로 포함한다. 예를 들어, 수소 수준은 1회 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 4회 초과) 모니터링될 수 있고, 이것은 예를 들어, 바람직한 경우, 치료 전에, 치료 시작 시에, 치료 동안에, 치료 마지막에 그리고/또는 치료 이후를 포함한다. 일부 실시형태에서, 투여 기간(조성물이 대상체에 투여되는 동안) 마지막 및/또는 투여 기간 이후 대상체의 숨에서의 수소 수준을 투여 기간 시작 시 그리고 투여 기간 전의 수준과 비교하고, 그 수준의 감소는 증가, 안정화, 치료 또는 예방의 효과 또는 효과 가능성을 나타낸다. 예를 들어, 투여 기간이 16일인 실시형태에서, 1일 및 16일, 또는 예를 들어 1일, 2일, 15일 및 16일에 측정하는 것이 바람직할 수 있다. 일부 실시형태에서, 다회의 측정이 수행되고, 이들 측정치의 평균이 수득된다(예를 들어, 1일과 2일의 평균 및 15일과 16일의 평균). 일부 실시형태에서, 수소 수준 Cmax에서의 적어도 40ppm의 감소는, 증가, 안정화, 치료 또는 예방이 효과적이거나 효과적일 가능성이 있다는 것을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체의 숨에서의 수소 수준은 예를 들어, 치료 마지막 또는 치료 이후에 1회 측정되며, 그 수준이 미리 결정된 수준이거나 그 수준과 근접하다는 발견은 증가, 안정화, 치료 또는 예방이 효과적일 가능성이 있다는 것을 나타낸다. 수소 숨 시험은 표준 검정이며, 따라서 미리 결정된 수준은 관련 기술 분야에 공지되어 있다.

[0070] 치료 또는 예방은 예를 들어, 중상의 중증도의 완화 또는 악화 빈도의 감소 또는 대상체에게 문제가 되는 유발 범위의 감소를 지칭할 수 있다.

[0071] 미생물군에서 박테리아는 표준 기술, 예컨대, 실시예에서 사용된 qPCR 기술을 사용하여, 대상체로부터의 배설물에서 검출될 수 있다.

## 투여 모드

[0073] 바람직하게는, 본 발명의 조성물은 본 발명의 박테리아 군주로 창자로의 전달 및/또는 부분적 또는 전체 집락형성을 가능하게 하기 위해서 위장관에 투여될 것이다. 일반적으로, 본 발명의 조성물은 경구로 투여되지만, 그것은 직장으로, 비내로, 협측 또는 설하 경로를 통해서 투여될 수 있다.

- [0074] 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 발포체로서, 스프레이 또는 젤로서 투여될 수 있다.
- [0075] 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 테오브로마 오일(코코아 버터), 합성 경질 지방(예를 들어, 봉해제, 위텝솔), 글리세로-젤라틴, 폴리에틸렌 글리콜, 또는 비누 글리세린 조성물의 형태로 직장 좌약과 같은 좌약으로서 투여될 수 있다.
- [0076] 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 판, 예컨대, 비위판, 위판, 위선, 공막 절개판(J 판), 경피 내시경 위장판(PEG), 또는 포트, 예컨대, 위장, 공장 및 기타 적합한 접근 포트에 대한 접근을 제공하는 흉벽 포트를 통해서 위장판으로 투여된다.
- [0077] 본 발명의 조성물은 1회 투여될 수 있거나, 치료 요법의 일부로서 순차적으로 투여될 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 매일 투여될 수 있다. 실시예는 매일 투여가 성공적인 전달 및 임상 이익을 제공한다는 것을 입증한다.
- [0078] 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 연장된 시간 기간 동안, 예컨대, 적어도 1주, 2주, 1개월, 2개월, 6개월 또는 1년 동안 매일, 2일마다, 매주 규칙적으로 투여된다. 실시예는 비. 하이드로게노트로피카 투여가 창자의 영구적인 집락형성을 초래하지 않을 수 있어서, 연장된 시간 기간 동안의 규칙적인 투여가 더 큰 치료적 및/또는 예방적 이익을 제공할 수 있다는 것을 입증한다.
- [0079] 본 발명의 특정 실시형태에서, 본 발명에 따른 치료는 대상체의 장내 미생물군의 평가를 동반한다. 본 발명의 균주로의 전달 및/또는 부분적 또는 전체 집락형성이 달성되지 않아서 효능이 관찰되지 않는 경우 치료는 반복될 수 있거나 또는 전달 및/또는 부분적 또는 전체 집락형성이 성공적으로 이루어지고 효능이 관찰되는 경우 치료는 중단될 수 있다.
- [0080] 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 자궁내 및/또는 태어난 후에 어린이에서 발생하는 미생물군에서의 다양성의 감소된 수준 및/또는 미생물군의 감소된 안정성을 예방하기 위해서 임신 동물, 예를 들어 포유동물, 예컨대 인간에게 투여될 수 있다.
- [0081] 본 발명의 조성물은 건강한 대상체에 대해서 감소된 미생물군 다양성 및/또는 미생물군의 감소된 안정성 또는 건강한 대상체에 대해서 감소된 미생물군 다양성 및/또는 미생물군의 감소된 안정성과 연관된 질환 또는 장애를 갖는 것으로 진단되었거나, 또는 건강한 대상체에 대해서 감소된 미생물군 다양성 및/또는 미생물군의 감소된 안정성의 위험이 있는 것으로 식별된 대상체에게 투여될 수 있다. 조성물은 또한 건강한 대상체에서 건강한 대상체에 대해서 감소된 미생물군 다양성 및/또는 미생물군의 감소된 안정성의 발생을 예방하기 위한 예방적 조치로서 투여될 수 있다.
- [0082] 본 발명의 조성물은 비정상적인 장내 미생물군을 갖는 것으로 식별된 대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 대상체는 블라우티아, 및 특히 블라우티아 하이드로게노트로피카, 블라우티아 스테르코리스 또는 블라우티아 웨슬러래에 의한 감소된 또는 부재하는 집락형성을 가질 수 있다.
- [0083] 본 발명의 조성물은 식품, 예컨대 영양 보충제로서 투여될 수 있다.
- [0084] 일반적으로, 본 발명의 조성물은 인간의 치료를 위한 것이지만, 가금류, 돼지, 고양이, 개, 말 또는 토끼와 같은 단일위장(monogastric) 포유동물을 비롯한 동물을 치료하는 데 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물은 동물의 성장 및 성능을 향상시키는 데 유용할 수 있다. 동물에게 투여하면, 경구 위관 영양법을 사용할 수 있다.
- [0085] **조성물**
- [0086] 일반적으로, 본 발명의 조성물은 박테리아를 포함한다. 본 발명의 바람직한 실시형태에서, 조성물은 동결 건조된 형태로 제형화된다. 예를 들어, 본 발명의 조성물은 본 발명의 박테리아 균주를 포함하는 과립 또는 젤라틴 캡슐, 예를 들어 경질 젤라틴 캡슐을 포함할 수 있다.
- [0087] 바람직하게는, 본 발명의 조성물은 동결건조된 박테리아를 포함한다. 박테리아의 동결건조는 널리 확립된 절차이며, 관련 지침은 예를 들어, 참고 문헌[30-32]에서 입수 가능하다. 실시예는 동결건조물 조성물이 특히 효과적임을 입증한다.
- [0088] 대안적으로, 본 발명의 조성물은 살아있는 활성 박테리아 배양물을 포함할 수 있다.
- [0089] 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물 중의 박테리아 균주는 불활성화되지 않았고, 예를 들어, 열-불활성화되지 않았다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물 중의 박테리아 균주는 사멸되지 않았고, 예를 들어, 열-사멸되지

않았다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물 중의 박테리아 균주는 약화되지 않았고, 예를 들어, 열-약화되지 않았다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물 중의 박테리아 균주는 사멸, 불활성화 및/또는 약화되지 않았다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물 중의 박테리아 균주는 살아있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물 중의 박테리아 균주는 생존 가능하다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물 중의 박테리아 균주는 부분적으로 또는 전체적으로 집락을 형성할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물 중의 박테리아 균주는 살아있고, 부분적으로 또는 전체적으로 집락을 형성할 수 있다.

[0090] 일부 실시형태에서, 조성물은 살아있는 박테리아 균주와 사멸된 박테리아 균주의 혼합물을 포함한다.

[0091] 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 박테리아 균주를 장으로 전달하는 것을 가능하게 하기 위해서 캡슐화된다. 캡슐화는 예를 들어, 압력, 효소 활성도 또는 pH의 변화에 의해서 촉발될 수 있는 물리적 붕괴와 같은 화학적 또는 물리적 자극에 의한 파열을 통해서 표적 위치로 수송될 때까지 조성물이 분해되는 것을 보호한다. 임의의 적절한 캡슐화 방법이 사용될 수 있다. 예시적인 캡슐화 기술은 다공성 매트릭스 내의 포착, 고체 담체 표면 상의 부착 또는 흡착, 응집 또는 가교 결합제에 의한 자가 응집 및 미세다공성 막 또는 마이크로캡슐 후의 기계적 봉쇄를 포함한다. 본 발명의 조성물을 제조하는 데 유용한 캡슐화에 대한 지침은 예를 들어 참고 문헌 [33] 및 [34]에서 입수 가능하다.

[0092] 조성물은 경구로 투여될 수 있고, 정제, 캡슐 또는 분말의 형태일 수 있다. 블라우티아는 혐기성미생물이기 때문에 캡슐화된 제품이 바람직하다. 성분(예컨대, 비타민 C)은 생체내에서 전달 및/또는 부분적 또는 전체 집락 형성 및 생존을 개선시키기 위해서 산소 제거제 및 프리바이오틱 기질로서 포함될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 프로바이오틱 조성물은 식품 또는 영양 제품, 예컨대, 우유 또는 유청 기반의 발효 낙농 제품 또는 제약 제품으로서 경구 투여될 수 있다.

[0093] 조성물은 프로바이오틱으로서 제형화될 수 있다.

[0094] 본 발명의 조성물은 치료적 유효량의 본 발명의 박테리아 균주를 포함한다. 치료적 유효량의 박테리아 균주는 대상체에 대해서 이로운 효과를 발휘하기에 충분하다. 치료적 유효량의 박테리아 균주는 대상체의 창자로의 전달 및/또는 부분적 또는 전체 집락형성을 초래하기에 충분할 수 있다.

[0095] 예를 들어 성인 인간에 대한 박테리아의 적합한 1일 용량은 약  $1 \times 10^3$  내지 약  $1 \times 10^{11}$ 집락 형성 단위(CFU); 예를 들어, 약  $1 \times 10^7$  내지 약  $1 \times 10^{10}$ CFU; 또 다른 실시예에서 약  $1 \times 10^7$  내지 약  $1 \times 10^{11}$ CFU; 또 다른 실시예에서 약  $1 \times 10^8$  내지 약  $1 \times 10^{10}$ CFU; 또 다른 실시예에서 약  $1 \times 10^8$  내지 약  $1 \times 10^{11}$ CFU; 또 다른 실시예에서 약  $1 \times 10^6$  내지 약  $1 \times 10^{10}$ CFU일 수 있다.

[0096] 특정 실시형태에서, 박테리아의 용량은 적어도  $10^9$ 개 세포/일, 예컨대, 적어도  $10^{10}$ , 적어도  $10^{11}$ , 또는 적어도  $10^{12}$ 개 세포/일이다.

[0097] 특정 실시형태에서, 조성물은 조성물의 중량에 대해서 약  $1 \times 10^6$  내지 약  $1 \times 10^{11}$ CFU/g; 예를 들어, 약  $1 \times 10^8$  내지 약  $1 \times 10^{10}$ CFU/g의 양으로 박테리아 균주를 함유한다. 용량은 예를 들어, 1g, 3g, 5g 및 10g일 수 있다.

[0098] 전형적으로, 프로바이오틱, 예컨대, 본 발명의 조성물은 적어도 1종의 적합한 프리바이오틱 화합물과 임의로 조합된다. 프리바이오틱 화합물은 통상적으로 비-소화성 탄수화물, 예컨대 올리고당류 또는 다당류 또는 당 알코올이고, 이것은 상부 소화관에서 분해 또는 흡수되지 않는다. 공지된 프리바이오틱스는 상업 제품, 예컨대, 이눌린 및 트랜스갈락토-올리고당을 포함한다.

[0099] 특정 실시형태에서, 본 발명의 프로바이오틱 조성물은 조성물의 총 중량에 대해서 약 1 내지 약 30중량%(예를 들어, 5 내지 20중량%)의 양의 프리바이오틱 화합물을 포함한다. 탄수화물은 프룩토-올리고당(또는 FOS), 단쇄 프룩토-올리고당, 이눌린, 이소말토-올리고당, 페틴, 자일로-올리고당(또는 XOS), 키토산-올리고당(또는 COS), 베타-글루칸, 경질 겹 개질 및 저항성 전분, 폴리텍스트로스, D-타가토스, 아카시아 섬유, 캐롭, 귀리 및 감귤류 섬유로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 일 양상에서, 단쇄 프룩토스-올리고당(이하, 본 명세서에서 간단히 FOss-c.c로 나타냄)이고; 상기 FOss-c.c는 일반적으로 사탕무 당의 전환에 의해 얻어지고 3개의 글루코스

분자가 결합된 사카로스 분자를 포함하는 소화가 가능한 탄수화물은 아니다.

[0100] 본 발명의 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 부형제 또는 담체를 포함할 수 있다. 이러한 적합한 부형제의 예는 참고 문헌[35]에서 찾아볼 수 있다. 치료적 용도에 허용 가능한 담체 또는 희석제는 약제학적 분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어, 참고 문헌[36]에 기술되어 있다. 적합한 담체의 예는 락토스, 전분, 글루코스, 메틸 셀룰로스, 스테아르산마그네슘, 만니톨, 솔비톨 등을 포함한다. 적합한 희석제의 예는 에탄올, 글리세롤 및 물을 포함한다. 약제학적 담체, 부형제 또는 희석제의 선택은 의도된 투여 경로 및 표준 약제학적 실시와 관련하여 선택될 수 있다. 약제학적 조성물은 담체, 부형제 또는 희석제로서 또는 이들에 더하여 임의의 적합한 결합제(들), 윤활제(들), 혼탁제(들), 코팅제(들), 가용화제(들)를 포함할 수 있다. 적합한 결합제의 예는 전분, 젤라틴, 천연 당(천연 당), 예컨대, 글루코스, 무수 락토스, 자유-유동 락토스, 베타-락토스, 옥수수 감미료, 천연 및 합성 검, 예컨대, 아카시아, 트라가칸트 또는 알긴산나트륨, 카복시메틸 셀룰로스 및 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 적합한 윤활제의 예는 올레산나트륨, 스테아르산나트륨, 스테아르산마그네슘, 벤조산나트륨, 아세트산나트륨, 염화나트륨 등을 포함한다. 보존제, 안정화제, 염료 및 심지어는 항미제가 약제학적 조성물 중에 제공될 수 있다. 보존제의 예는 소듐 벤조에이트, 소르브산, 시스테인 및 p-하이드록시벤조산의 에스터를 포함한다. 항산화제 및 혼탁제가 또한 사용될 수 있다. 적합한 담체의 추가 예는 사카로스이다. 보존제의 추가 예는 시스테인이다.

[0101] 본 발명의 조성물은 식품으로서 제형화될 수 있다. 예를 들어, 식품은 영양 보충제와 같이 본 발명의 치료 효과에 더하여 영양적인 이익을 제공할 수 있다. 유사하게, 식품 조성물은 본 발명의 조성물의 맛을 증강시키거나 또는 약제학적 조성물보다는 일반적인 식품 품목에 보다 유사함으로써 조성물을 소비하기에 더 매력적이도록 제형화될 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 우유-기반 제품으로서 제형화된다. "우유-기반 제품"이란 용어는 다양한 지방 함량을 갖는 임의의 액체 또는 반고체 우유 또는 유청 기반 제품을 의미한다. 우유-기반 제품은 예를 들어, 암소 우유, 염소 우유, 양 우유, 탈지유, 전유, 분유로부터 재조합된 우유 및 임의의 비-가공 우유 또는 가공된 제품, 예를 들어 요구르트, 음유, 커드(curd), 산유(sour milk), 산전유, 버터 밀크 및 다른 산유 제품일 수 있다. 또 다른 중요한 군은 우유 음료, 예를 들어 유장 음료, 발효 우유, 응축 우유, 유아 또는 아기용 우유; 맛을 낸 우유, 아이스크림; 사탕과 같은 우유-함유 식품이 포함된다.

[0102] 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 단일 박테리아 균주 또는 종을 함유하고, 임의의 다른 박테리아 균주 또는 종을 함유하지 않는다. 이러한 조성물은 단지 최소 또는 생물학적으로 무관한 양의 다른 박테리아 균주 또는 종을 포함할 수 있다. 이러한 조성물은 다른 종의 유기체가 실질적으로 존재하지 않는 배양물 또는 동결건조물일 수 있다.

[0103] 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 블라우티아 속, 예를 들어, 블라우티아 하이드로게노트로피카의 1종 이상의 박테리아 균주를 포함하고, 임의의 다른 박테리아 속을 함유하지 않거나, 또는 이것은 단지 최소 또는 생물학적으로 무관한 양의 또 다른 속의 박테리아를 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 단일 종의 블라우티아, 예를 들어, 블라우티아 하이드로게노트로피카를 포함하고, 임의의 다른 박테리아 종을 함유하지 않거나, 또는 이것은 단지 최소 또는 생물학적으로 무관한 양의 또 다른 종의 박테리아를 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 블라우티아, 예를 들어, 블라우티아 하이드로게노트로피카의 단일 균주를 포함하고, 임의의 다른 박테리아 균주 또는 종을 함유하지 않거나, 또는 이것은 단지 최소 또는 생물학적으로 무관한 양의 또 다른 균주 또는 종의 박테리아를 포함한다.

[0104] 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 1종 초과의 박테리아 균주 또는 종을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 발명의 조성물은 동일한 종 내의 1종 초과의 균주(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 또는 45종 초과의 균주)를 포함하고, 임의로, 임의의 다른 종으로부터의 박테리아를 함유하지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 동일한 종 내의 50종 미만의 균주(예를 들어, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 또는 3종 미만의 균주)를 포함하고, 임의로, 임의의 다른 종으로부터의 박테리아를 함유하지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 동일한 종 내의 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지 19, 1 내지 18, 1 내지 15, 1 내지 10, 1 내지 9, 1 내지 8, 1 내지 7, 1 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3, 1 내지 2, 2 내지 50, 2 내지 40, 2 내지 30, 2 내지 20, 2 내지 15, 2 내지 10, 2 내지 5, 6 내지 30, 6 내지 15, 16 내지 25, 또는 31 내지 50종의 균주를 포함하고, 임의로, 임의의 다른 종으로부터의 박테리아를 함유하지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 동일한 속 내의 1종 초과의 종(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 20, 23, 25, 30, 35 또는 40종 초과의 종)을 포함하고, 임의로, 임의의 다른 속으로부터의 박테리아를 함유하지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 동일한 속 내의 50종 미만의 종(예를 들어, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 12, 10, 8, 7, 6, 5, 4 또

는 3종 미만의 종)을 포함하고, 임의로, 임의의 다른 속으로부터의 박테리아를 함유하지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 동일한 속 내의 1 내지 50, 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지 15, 1 내지 10, 1 내지 9, 1 내지 8, 1 내지 7, 1 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3, 1 내지 2, 2 내지 50, 2 내지 40, 2 내지 30, 2 내지 20, 2 내지 15, 2 내지 10, 2 내지 5, 6 내지 30, 6 내지 15, 16 내지 25, 또는 31 내지 50종의 종을 포함하고, 임의로, 임의의 다른 속으로부터의 박테리아를 함유하지 않는다. 본 발명은 상기의 임의의 조합을 포함한다.

[0105] 일부 실시형태에서, 조성물은 미생물 컨소시엄을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 조성물은 미생물 컨소시엄의 부분으로서 블라우티아 박테리아 균주, 예를 들어, 블라우티아 하이드로게노트로피카 박테리아 균주를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 블라우티아 박테리아 균주는 그것이 창자에서 생체내에서 공생적으로 살아갈 수 있는 다른 속으로부터의 1종 이상(예를 들어, 적어도 2, 3, 4, 5, 10, 15 또는 20종)의 다른 박테리아 균주와 조합하여 존재한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 조성물은 상이한 속으로부터의 박테리아 균주와 조합하여 블라우티아 하이드로게노트로피카의 박테리아 균주를 포함한다. 일부 실시형태에서, 미생물 컨소시엄은 단일 유기체, 예를 들어, 인간의 배설물 샘플로부터 얻은 2종 이상의 박테리아 균주를 포함한다. 일부 실시형태에서, 미생물 컨소시엄은 자연에서 함께 발견되지 않는다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 미생물 컨소시엄은 적어도 2종의 상이한 유기체의 배설물 샘플로부터 얻은 박테리아 균주를 포함한다. 일부 실시형태에서, 2종의 상이한 유기체는 동일한 종, 예를 들어 2명의 상이한 인간으로부터이다. 일부 실시형태에서, 2종의 상이한 유기체는 유아 인간 및 성인 인간이다. 일부 실시형태에서, 2종의 상이한 유기체는 인간 및 비-인간 포유동물이다.

[0106] 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 수탁 번호 DSM 10507/14294 하에 기탁된 블라우티아 하이드로게노트로피카 균주와 동일한 안전성 및 치료적 효능을 갖지만, 수탁 번호 DSM 10507/14294 하에 기탁된 블라우티아 하이드로게노트로피카 균주가 아니거나, 블라우티아 하이드로게노트로피카가 아니거나 또는 블라우티아가 아닌 박테리아 균주를 추가로 포함한다.

[0107] 본 발명의 조성물이 1종 초과의 박테리아 균주, 종 또는 속을 포함하는 일부 실시형태에서, 개체 박테리아 균주, 종 또는 속은 별개의, 동시에 또는 순차적인 투여를 위한 것일 수 있다. 예를 들어, 조성물은 1종 초과의 박테리아 균주, 종 또는 속 모두를 포함할 수 있거나, 또는 박테리아 균주, 종 또는 속은 별개로 저장될 수 있고, 별개로, 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 1종 초과의 박테리아 균주, 종 또는 속은 별개로 저장되지만, 사용 전에 함께 혼합된다.

[0108] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 사용하기 위한 박테리아 균주는 인간 성인 배설물로부터 얻어진다. 본 발명의 조성물이 1종 초과의 박테리아 균주를 포함하는 일부 실시형태에서, 박테리아 균주 모두는 인간 성인 배설물로부터 얻어지거나 다른 박테리아 균주가 존재하면 그것은 단지 최소량으로 존재한다. 일부 실시형태에서, 박테리아는 인간 성인 배설물로부터 얻어지고, 본 발명의 조성물에서 사용된 후에 배양될 수 있다.

[0109] 일부 실시형태에서, 1종 이상의 블라우티아 박테리아 균주는 본 발명의 조성물 중의 유일한 치료적 활성제(들)이다. 일부 실시형태에서, 조성물 중의 박테리아 균주(들)는 본 발명의 조성물 중의 유일한 치료적 활성제(들)이다.

[0110] 본 발명에 따라서 사용하기 위한 조성물은 판매 승인이 요구되거나 요구되지 않을 수 있다.

[0111] 특정 실시형태에서, 본 발명은 상기 약제학적 조성물을 제공하며, 여기서 상기 박테리아 균주는 동결건조된다. 특정 실시형태에서, 본 발명은 상기 약제학적 조성물을 제공하며, 여기서 상기 박테리아 균주는 분무 건조된다. 특정 실시형태에서, 본 발명은 상기 약제학적 조성물을 제공하며, 여기서 박테리아 균주는 동결건조 또는 분무 건조되고, 여기서 그것은 살아있다. 특정 실시형태에서, 본 발명은 상기 약제학적 조성물을 제공하며, 여기서 박테리아 균주는 동결건조 또는 분무 건조되고, 여기서 그것은 생존 가능하다. 특정 실시형태에서, 본 발명은 상기 약제학적 조성물을 제공하며, 여기서 박테리아 균주는 동결건조 또는 분무 건조되고, 여기서 그것은 창자에서 부분적으로 또는 전체적으로 집락을 형성할 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 발명은 상기 약제학적 조성물을 제공하며, 여기서 박테리아 균주는 동결건조 또는 분무 건조되고, 여기서 그것은 생존 가능하고, 창자에서 부분적으로 또는 전체적으로 집락을 형성할 수 있다.

[0112] 일부 경우에, 동결건조되거나 분무 건조된 박테리아 균주는 투여 전에 재구성된다. 일부 경우에, 재구성은 본 명세서에 기술된 희석제의 사용에 의해서이다.

[0113] 본 발명의 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 부형제, 희석제 또는 담체를 포함할 수 있다.

- [0114] 특정 실시형태에서, 본 발명은 본 발명에서 사용되는 바와 같은 박테리아 균주; 및 약제학적으로 허용 가능한 부형제, 담체 또는 희석제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공하며; 여기서 박테리아 균주는 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 경우 대상체에서 미생물군 다양성을 증가시키고/거나 미생물군의 안정성을 유도하고/거나 감소된 미생물군 다양성 및/또는 미생물군의 감소된 안정성, 미생물군 다양성과 연관된 장애, 예를 들어, 질환 또는 장애, 예컨대, IBS, IBD, 비만, 제2형 당뇨병, 1종 이상의 감염 질환, 1종 이상의 알레르기성 질환, 1종 이상의 자가면역 질환 또는 1종 이상의 대사성 질환/장애를 치료하기에 충분한 양으로 존재한다.
- [0115] 특정 실시형태에서, 본 발명은 상기 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서 박테리아 균주의 양은 조성물의 중량에 대해서 그램당 약  $1 \times 10^3$  내지 약  $1 \times 10^{11}$ 집락 형성 단위이다.
- [0116] 특정 실시형태에서, 본 발명은 상기 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서 조성물은 1g, 3g, 5g 또는 10g의 용량으로 투여된다.
- [0117] 특정 실시형태에서, 본 발명은 상기 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서 조성물은 경구, 결장, 피하, 비내, 협측 및 설하로 이루어진 군으로부터 선택된 방법에 의해서 투여된다.
- [0118] 특정 실시형태에서, 본 발명은 락토스, 전분, 글루코스, 메틸 셀룰로스, 스테아르산마그네슘, 만니톨 및 솔비톨로 이루어진 군으로부터 선택된 담체를 포함하는 상기 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0119] 특정 실시형태에서, 본 발명은 에탄올, 글리세롤 및 물로 이루어진 군으로부터 선택된 희석제를 포함하는 상기 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0120] 특정 실시형태에서, 본 발명은 전분, 젤라틴, 글루코스, 무수 락토스, 자유-유동 락토스, 베타-락토스, 옥수수감미료, 아카시아, 트라가칸트, 알긴산나트륨, 카복시메틸 셀룰로스, 폴리에틸렌 글리콜, 올레산나트륨, 스테아르산나트륨, 스테아르산마그네슘, 벤조산나트륨, 아세트산나트륨 및 염화나트륨으로 이루어진 군으로부터 선택된 부형제를 포함하는 상기 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0121] 특정 실시형태에서, 본 발명은 보존제, 항산화제 및 안정화제 중 적어도 1종을 더 포함하는, 상기 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0122] 특정 실시형태에서, 본 발명은 소듐 벤조에이트, 소르브산 및 p-하이드록시벤조산의 에스터로 이루어진 군으로부터 선택된 보존제를 포함하는 상기 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0123] 특정 실시형태에서, 본 발명은 상기 약제학적 조성물을 제공하며, 여기서 상기 박테리아 균주는 동결건조된다.
- [0124] 특정 실시형태에서, 본 발명은 상기 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서 조성물이 약 4°C 또는 약 25°C에서 밀봉된 용기 내에 저장되고, 용기가 50%의 상대 습도를 갖는 분위기에 배치되는 경우, 박테리아 균주 중 적어도 80%는 집락 형성 단위로서 측정되는 경우 적어도 약 1개월, 3개월, 6개월, 1년, 1.5년, 2년, 2.5년 또는 3년의 기간 후에 유지된다.
- [0125] 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 본 명세서에 기술된 바와 같은 조성물을 포함하는 밀봉된 용기 내에 제공된다. 일부 실시형태에서, 밀봉된 용기는 사세(sachet) 또는 병이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 본 명세서에 기술된 바와 같은 조성물을 포함하는 주사기 내에 제공된다.
- [0126] 본 발명의 조성물은 일부 실시형태에서, 약제학적 제형으로서 제공될 수 있다. 예를 들어, 조성물은 정제 또는 캡슐로서 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 캡슐은 젤라틴 캡슐("젤-캡")이다.
- [0127] 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 경구로 투여된다. 경구 투여는 화합물이 위장관으로 들어가도록 삼키는 것을 포함할 수 있고/있거나 화합물이 구강으로부터 직접 혈류로 들어가는 협측, 설, 또는 설하 투여를 포함할 수 있다.
- [0128] 경구 투여에 적합한 약제학적 제형은 고체 플러그, 고체 마이크로미립자, 반고체 및 액체(다중상 또는 분산제 포함), 예컨대, 정제; 다중- 또는 나노-미립자를 함유하는 연질 또는 경질 캡슐, 액체(예를 들어, 수성 용액), 에멀션 또는 분말; 로젠지(액체-충전물 포함); 쥬즈(chews); 젤; 신속 분산 투여형; 필름; 질좌제(ovule); 스프레이; 및 협측/점막접착 패치를 포함한다.
- [0129] 일부 실시형태에서 약제학적 제형은 경구 투여에 의해서 본 발명의 조성물을 창자로 전달하기에 적합한 장용 제형, 즉 위-저항성 제형(예를 들어, 위 pH 저항성)이다. 장용 제형은 박테리아 또는 조성물의 또 다른 구성성분이 산-민감성이거나, 예를 들어, 위 조건 하에서 분해되기 쉬운 경우 특히 유용할 수 있다.

[0130] 일부 실시형태에서, 장용 제형은 장용 코팅을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제형은 장용-코팅된 투여형이다. 예를 들어, 제형은 장용-코팅된 정제 또는 장용-코팅된 캡슐 등을 수 있다. 장용 코팅은 종래의 장용 코팅, 예를 들어, 경구 전달을 위한 정제, 캡슐 등을 위한 종래의 코팅일 수 있다. 제형은 필름 코팅, 예를 들어, 장용 중합체, 예를 들어, 산-불용성 중합체의 박막층을 포함할 수 있다.

[0131] 일부 실시형태에서, 장용 제형은 본질적으로 장용이고, 예를 들어, 장용 코팅에 대한 필요성이 없는 위-저항성이다. 따라서, 일부 실시형태에서, 제형은 장용 코팅을 포함하지 않는 장용 제형이다. 일부 실시형태에서, 제형은 열젤화 재료로부터 제조된 캡슐이다. 일부 실시형태에서, 열젤화 재료는 셀룰로스 재료, 예컨대, 메틸셀룰로스, 하이드록시메틸셀룰로스 또는 하이드록시프로필메틸셀룰로스(HPMC)이다. 일부 실시형태에서, 캡슐은 임의의 필름 형성 중합체를 함유하지 않는 셀을 포함한다. 일부 실시형태에서, 캡슐은 셀을 포함하고, 셀은 하이드록시프로필메틸셀룰로스를 포함하고, 임의의 필름 형성 중합체를 포함하지 않는다(예를 들어, [37] 참고). 일부 실시형태에서, 제형은 본질적으로 장용 캡슐(예를 들어, 캡수젤(Capsugel)로부터의 브이캡스(Vcaps)(등록상표))이다.

[0132] 일부 실시형태에서, 제형은 연질 캡슐이다. 연질 캡슐은 연화제, 예를 들어, 셀 중에 존재하는 글리세롤, 솔비톨, 말티톨 및 폴리에틸렌 글리콜 등의 첨가로 인해서, 특정 탄력성 및 연성을 가질 수 있는 캡슐이다. 연질 캡슐은 예를 들어, 젤라틴 또는 전분을 기반으로 생산될 수 있다. 젤라틴-기반 연질 캡슐은 다양한 공급원으로부터 상업적으로 입수 가능하다. 투여 방법, 예를 들어, 경구 또는 직장 등에 따라서, 연질 캡슐은 다양한 형상을 가질 수 있고, 그것은 예를 들어, 원형, 타원형, 직사각형 또는 어뢰형일 수 있다. 연질 캡슐은 종래의 공정, 예를 들어, 쇠러(Scherer) 공정, 아코젤 공정 또는 소적 또는 블로잉 공정에 의해서 생산될 수 있다.

### **배양 방법**

[0134] 본 발명에서 사용하기 위한 박테리아 균주는 예를 들어, 참고 문헌[38-40]에 상술된 바와 같은 표준 미생물 기술을 사용하여 배양될 수 있다.

[0135] 배양에 사용되는 고체 또는 액체 배지는 YCFA 아가 또는 YCFA 배지일 수 있다. YCFA 배지는 하기를 포함할 수 있다(100ml 당, 근사치): 카시톤(Casitone)(1.0g), 효모 추출물(0.25g), NaHCO<sub>3</sub>(0.4g), 시스테인(0.1g), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(0.045g), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(0.045g), NaCl(0.09g), (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(0.09g), MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O(0.009g), CaCl<sub>2</sub>(0.009g), 레자주린(resazurin)(0.1mg), 해민(1mg), 바이오틴(1μg), 코발라민(1μg), p-아미노벤조산(3μg), 엽산(5μg), 및 피리독사민(15μg).

### **백신 조성물에서 사용하기 위한 박테리아 균주**

[0136] 본 발명자들은 본 발명의 박테리아 균주가 건강한 대상체의 미생물군 다양성에 비해서(또는 건강한 대상체의 집단의 미생물군 다양성에 비해서) 감소된 미생물군 다양성의 수준과 연관된 질환 또는 장애 및/또는 건강한 대상체에 비해서(또는 건강한 대상체의 집단에 비해서) 미생물군의 감소된 안정성과 연관된 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하기에 유용하다는 것을 식별하였다. 이것은 본 발명의 박테리아 균주가 숙주 면역계에 대해서 갖는 효과의 결과일 것이다. 따라서, 본 발명의 조성물은 백신 조성물로부터 투여되는 경우 이러한 질환 또는 장애를 예방하기에 또한 유용할 수 있다. 특정 이러한 실시형태에서, 본 발명의 박테리아 균주는 생존 가능하다. 특정 이러한 실시형태에서, 본 발명의 박테리아 균주는 창자에서 부분적으로 또는 전체적으로 집락을 형성할 수 있다. 특정 이러한 실시형태에서, 본 발명의 박테리아 균주는 생존 가능하고, 창자에서 부분적으로 또는 전체적으로 집락을 형성할 수 있다. 다른 특정 이러한 실시형태에서, 본 발명의 박테리아 균주는 사멸되거나, 불활성화되거나 또는 감쇠될 수 있다. 특정 이러한 실시형태에서, 조성물은 백신 아주반트를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 조성물은 주사, 예컨대 피하 주사를 통해서 투여되기 위한 것이다.

### **일반**

[0138] 본 발명의 실시는 달리 지시되지 않는 한, 관련 기술 분야 내의 화학, 생화학, 문자 생물학, 면역학 및 약리학의 종래의 방법을 사용할 것이다 이러한 기술은 문헌에 충분히 설명되어 있다. 예를 들어, 참고 문헌[41] 및 [42-48] 등을 참고하기 바란다.

[0139] 용어 "포함하는"은 "포함하는"뿐만 아니라 "이루어진"을 포함하고, 예를 들어, X를 "포함하는" 조성물은 X만으로 이루어질 수 있거나, 예를 들어, 부가적인 것, 예를 들어 X + Y를 포함할 수 있다.

[0140] 수치값 x와 관련하여 용어 "약"은 임의적이며, 예를 들어, x±10%를 의미한다.

- [0142] 단어 "실질적으로"는 "완전히"를 제외하지 않고, 예를 들어, Y를 "실질적으로 함유하지 않는" 조성물은 완전히 Y를 함유하지 않을 수 있다. 필요한 경우, 단어 "실질적으로"는 본 발명의 정의로부터 생략될 수 있다.
- [0143] 2개의 뉴클레오타이드 서열 사이의 백분율 서열 동일성에 대한 언급은, 정렬하는 경우, 뉴클레오타이드의 백분율이 2개의 서열을 비교할 때 동일하다는 것을 의미한다. 이러한 정렬 및 퍼센트 상동성 또는 서열 동일성은 관련 기술 분야에 공지된 소프트웨어 프로그램, 예를 들어, 참고 문헌[49]의 섹션 7.7.18에 기술된 소프트웨어 프로그램을 사용하여 결정할 수 있다. 바람직한 정렬은 12의 캡 오픈 페널티 및 2의 캡 연장 페널티, 62의 BLOSUM 매트릭스를 갖는 아핀 캡 탐색을 사용하는 스미쓰-워터맨(Smith-Waterman) 상동성 탐색 알고리즘에 의해 결정된다. 스미쓰-워터맨 상동성 탐색 알고리즘은 참고 문헌[50]에 기술되어 있다.
- [0144] 구체적으로 언급되지 않는 한, 다수의 단계를 포함하는 공정 또는 방법은 상기 방법의 시작 또는 말미에서 추가적인 단계를 포함하거나, 또는 추가적인 개별 단계를 포함할 수 있다. 또한, 적절한 경우, 단계는 조합되거나 생략되거나 대체 순서로 수행될 수 있다.
- [0145] 본 발명의 다양한 실시형태가 본 명세서에 기술된다. 각각의 실시형태에서 명시된 특정부는 추가의 실시형태를 제공하기 위해서 다른 명시된 특정부와 조합될 수 있음을 이해할 것이다. 특히, 본 명세서에서 적합한, 전형적인 또는 바람직한 것으로 강조되는 실시형태는(상호 배타적일 때를 제외하고) 서로 조합될 수 있다.
- [0146] **본 발명을 수행하기 위한 모드**
- [0147] **실시예 1 - 블라우티아 하이드로게노트로피카 치료 후 환자 미생물군에서의 변화**
- [0148] **요약**
- [0149] 환자 미생물군의 다양성 및 안정성에 대한 블라우티아 하이드로게노트로피카의 효과를 건강한 환자 및 IBS 환자에서 시험하였다.
- [0150] **방법론**
- [0151] **연구 설계**
- [0152] 블라우티아 하이드로게노트로피카("블라우틱스", 수탁 번호 DSM 10507 및 또한 수탁 번호 DSM 14294 하에 기탁된 균주)를 IBS 갖는 인간 환자 또는 건강한 인간 환자에게 투여하여 1상 임상 시험을 수행하였다. 환자에게 투여 기간(1 내지 16일) 동안 블라우틱스를 투여하였고, 약효세척 기간은 19 내지 23일이었다. 위약 또는 블라우틱스로 치료된 IBS 대상체 및 건강한 대상체로부터 배설물 샘플을 기준선, 치료 전 1일(D1); 치료 마지막 16일(D-16); 및 치료 후 2 내지 4주(약효세척)인 연구 마지막(EOS)에 수집하였다.
- [0153] **16S 엠플리콘 서열결정**
- [0154] 큐아젠 디엔이지 블러드 앤드 티슈 키트(Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit)를 제조사의 지시서에 따라서 사용하여 위약 또는 블라우틱스로 치료된 IBS 대상체 및 건강한 대상체로부터의 0.2g의 동결된 배설물 샘플로부터 기준선, 치료 전 1일(D1); 치료 마지막 16일(D-16); 및 치료 후 2 내지 4주(약효세척)인 연구 마지막(EOS)에 미생물 DNA를 추출하였다.
- [0155] 16S rRNA 유전자 엠플리콘의 제조 및 서열결정을 일루미나(Illumina)(미국 캘리포니아주 샌디에고 소재)에 의해서 개발된 16S 시퀀싱 라이브러리 프리페레이션 넥스테라 프로토콜(16S Sequencing Library Preparation Nextera protocol)을 사용하여 수행하였다. 50ng의 DNA 배설물 추출물 각각을 PCR 및 16S rRNA 유전자의 V3/V4 가변 영역을 표적으로 하는 프라이머를 사용하여 증폭시켰다. 생성물을 정제하고, 포워드 및 리버스 바코드를 제2 라운드의 어댑터 PCR에 의해서 부착하였다. 생성된 PCR 산물을 정제, 정량화하고, 이어서, 동일물량의 각각의 엠플리콘을 풀링시키고, 그 다음 MiSeq(2×250bp 화학물질) 또는 HiSeq(2 x 300bp 화학물질) 플랫폼 중 어느 하나 상에서의 서열결정을 위해서 상업적인 공급원 지에이티씨 게엠베하.(GATC GmbH.)로 발송하였다.
- [0156] **데이터 분석(서열결정 후)**
- [0157] 원 서열 데이터를 플래시 방법론을 사용하여 병합하였다. 이것은 저품질 판독치를 거른다. USEARCH 파이프라인 방법론(버전 8.1.1861\_i86\_리눅스(linux)64)을 사용하여 싱글톤을 식별하고, 그것을 OTU(조작 분류 단위) 생성 단계로부터 숨겼다. UPARSE 알고리즘을 사용하여 서열을 OTU로 클러스터링하였다. 증폭 단계에서 생성된 키메라 서열을 키메라스레이어 참조 데이터베이스(다운로드: 2016년 9월 9일)와 함께 UCHIME 키메라 제거 알고리즘을 사용하여 제거하였다. 이어서, USEARCH 글로벌 정렬 알고리즘을 사용하여 잔류하는 OTU 서열 상의 싱글톤을 비

롯한 모든 판독치를 맵핑하였다. 이어서, 인-하우스 스크립트를 사용하여 USEARCH 글로벌 정렬 알고리즘에 의해 서 분류된 바와 같이 서열을 OTU로 그룹핑하였다. 개체 서열을 OTU로 그룹핑하여 마이크로바이옴 조성 정보(종부함 및 다양성)를 제공하였다.

#### [0158] 고-수준 데이터 분석

[0159] 브레이-큐티스 비유사성 매트릭스를 R 3.3.1의 베건 라이브러리(Vegan library)를 사용하여 각각의 샘플 쌍에 대해서 생성하였다. 데이터세트를 브레이-큐티스 비유사성 매트릭스를 사용하여 주좌표 분석(Principal Coordinate analysis)을 사용하여 가시화하였다.

[0160] 인-하우스 히트플롯 R 함수를 사용하여 브레이-큐티스 비유사성 및 워드 연결법(ward linkage)을 기반으로 계층 클러스터링을 사용하여 히트맵 가시화를 생성하였다.

[0161] 샤논 및 심슨(Simpson) 다양성 지수를 R의 필로세크 라이브러리(phyloseq library)를 사용하여 생성하였다.

[0162] DESeq2 방법론을 사용하여 선택된 비교를 위해서 중요한 분류 변수를 식별하였다.

[0163] R의 아도니스 함수(Adonis function)를 사용하여 순열 MANOVA를 비유사성 매트릭스 상에서 수행하였다.

#### [0164] 결과

[0165] 모든 시간 지점으로부터의 샘플을 두 군(71명의 IBS 환자 및 67명의 건강한 대조군(블라우티스 치료된 군 및 위약군 포함)) 모두에 대해서 폴링시켰다. 전체 마이크로바이옴 데이터세트에 대해서 생성된 거리 측정치를 사용하여 분석을 수행하였다. 도 1은 IBS 대상체의 미생물군이 건강한 대상체의 것과 상당히 상이한 것을 보고한다.

[0166] 예측된 분류군의 관찰된 수(OTU), 샤논 다양성 지수 및 심슨 다양성 지수를 사용하여 다양성 분석을 수행하였다. 두 치료군 모두는, 16일 시간지점에서 다양성 증가를 나타내었고, 이것은 관찰된 OTU에 대해서 유의하였고, 심슨에 대해서 경향성을 나타내었다(원 P-값: < 0.1)(도 2). 이러한 다양성의 증가는 위약으로 치료된 환자에서는 관찰되지 않았다. 미생물군 다양성에서의 상당한 감소가 연구 마지막과 1일 사이에서 미치료 IBS 위약군에서 관찰되었다.

[0167] 도 3은 블라우티스 치료가 특정 건강-연관된 분류군의 미생물군 네트워크 연결성을 증가시켰음을 보고한다. 건강한 환자에서 미생물간 연결성은 1일 내지 16일(블라우티스 치료 후)에 관찰되며, 이는 협력 및 미생물군 구조의 증가를 시사한다(도 3a). 연결성은 다양성 및 안정성과 상관관계가 있다. 세척 기간 후, 네트워크 구조는 1일에 관찰된 것과 유사한 네트워크로 복귀되었다. 따라서, 블라우티스 치료는 건강한 환자에서 상호연결성을 증가시킬 수 있었지만, 그 효과는 약효세척 후에 손실되었다. IBS 환자에서 그 네트워크는 1일 내지 16일 사이에서 연결성과 관련하여 유사하게 유지되었지만, 연구의 마지막까지 연결성의 증가가 관찰되었는데, 이는 블라우티스-치료된 IBS 환자에서 약효세척 기간 후 증가된 미생물군 구조를 시사한다(도 3b). 따라서, 마이크로바이옴 연결성에 대한 블라우티스의 효과는 건강한 환자에 비해서 IBS 환자에서 지연되었다.

[0168] 미생물군 프로파일에서의 불안정성/변화는 동일한 대상체의 시간 지점들 간의 브레이 큐티스 거리에 의해서 표현되었다. 브레이-큐티스는, 0 내지 1(0 = 동일함; 1 = 어떠한 종도 공유하지 않음) 사이에서 제한된 종 풍부도 프로파일들 간의 비유사성을 나타낸다. IBS 환자의 블라우티스로의 치료는 치료 동안(도 4a) 및 치료 후(도 4b 내지 4c)에 미생물군 변화의 규모를 감소시켰다. 이는, 블라우티스가 IBS 환자에서 미생물군의 안정성을 증가시켰고, 그 변화는 개체 후에 계속됨을 나타낸다. 이러한 증가된 안정성은 IBS 환자에게 위약을 투여한 경우에는 관찰되지 않았다(도 4a 내지 c).

[0169] 도 5는 1일에 비해서 16일에 블라우티스로 치료된 IBS 환자에 대한 속 수준에서의 미생물군 다양성의 상당한 증가가 존재하였음을 보고한다. 속 수준에 적용된 샤논 다양성 지수를 사용하여 다양성 분석을 수행하였다(원 p-값: 0.04, 1일 대 16일).

[0170] 도 6a 및 도 6b는 블라우티스 치료 후 건강한 환자 및 IBS 환자에서 상호 배제 네트워크의 변화를 나타낸다. 건강한 개체에서 상호 배제 네트워크는 16일에 더 조밀해지고, 상호연관되는데, 이는 증가된 경쟁 및 저해를 시사한다. 그러나, 이러한 효과는 연구 마지막에 손실되었는데, 그 이유는 네트워크 구조가 약효세척 기간 동안 초기 시간 지점으로 다시 복귀되었기 때문이었다(도 6a). IBS 환자에서 상호 배제 연결성에 대한 블라우티스의 효과는 치료 기간 및 약효세척 기간에 걸쳐서 네트워크 직경을 증가시킨다는 것이었다. 이는 네트워크가 더 조밀해지는 건강한 개체에서 인지된 결과와 상반되었다. IBS 환자의 경우 약효세척 기간 동안, 이전에 인지되지 않은 다수의 독립적인 상호작용이 관찰되었다. 다수의 독립적인 상호작용은 네트워크의 나머지에 독립적인 방식으

로 상호작용하는 분류군의 쌍을 나타내고, 즉, 그것은 네트워크의 나머지에 대해서 어떠한 상호작용도 갖지 않는다.

[0171] 미생물군의 가시화는, 블라우티스 치료 후에 특정 건강-연관된 분류군에 대해서 증가된 네트워크 연결성이 존재하였음을 나타낸다(도 7). 건강 연관된 분류군은 클로스트리디움 클러스터 IV, 비피도박테리움 및 프레보텔라를 포함한다. 오실리박터는 또한 잠재적으로 건강 연관된 속이다. 이들 건강-연관된 분류군은 치료에 대한 반응에 연루된다.

#### **실시예 2 - 신경발달 장애의 모델에서의 보호 효과**

##### **BTBR 마우스 모델**

[0174] BTBR 마우스 모델은 강한 자폐증-유사 표현형을 나타내는 근친교배된, 유전자 변형된 마우스를 사용한다. 사회적 행동에서의 결손, 증가된 반복적인 행동 및 증가된 불안-관련 행동이 이러한 규주에서 보고되었다[51]. 이러한 강한 행동 표현형으로 인해서, BTBR 마우스는 자폐증-관련 행동의 치료를 위한 신규 치료제의 효능을 평가하기 위한 이상적인 동물 모델이다. 살아있는 생물의약품(biotherapeutic)에 의한 이러한 증상의 완화는 또한 다른 정신의학적 또는 신경학적 질환의 치료에서 생물의약품의 효능을 나타낼 수 있다.

##### **마우스**

[0176] 수컷 BTBR 마우스를 실험실 내에서 사육하였다. 동물을 12시간 밤 사이클(7:00 내지 19:00시에 조명을 킁)의 온도 및 습도 제어 공간에 가두었다. 모든 실험을 유럽 지침(European Directive) 2010/63/EEC, 2012의 S.I. No 543의 요건에 따라서 수행하고, 코크 대학교의 동물 실험 윤리 위원회(Animal Experimentation Ethics Committee of University College Cork)에 의해서 승인받았다.

##### **균주**

[0178] 수탁 번호 DSM 10507 하에 그리고 또한 수탁 번호 DSM 14294 하에 기탁된 블라우티아 하이드로게노트로피카 박테리아.

[0179] 생물의약품을 글리세롤 스톡으로 제공하였다. 살아있는 생물의약품을 협기성 조건에서 시설에서 성장시켰다.

##### **살아있는 생물의약품 투여**

[0181] 블라우티아 하이드로게노트로피카의 투여는 마우스가 8주령이었을 때 시작하였다. 이러한 마우스를 3주 동안 경구 위관 영양법을 통해서 1일 1회 치료하였다.

##### **투여 스케줄**

[0183] 경구 투여용 비히클은 PBS이다. 매일 경구 투여는 경구 위관 영양법을 통해서 진행된다.

##### **배설물 수집**

[0185] 새로운 배설물 샘플을 개체 마우스로부터 블라우티아 하이드로게노트로피카의 투여 전 및 후에 수집하였다. 적어도 20mg의 새로운 배설물을 마이크로원심분리 튜브에 넣고, 얼음 상에 즉시 놓고, 이어서 -80°C에서 저장하였다.

##### **결과**

[0187] 시간지점(D14, D32) 사이에서의 미생물군에 대한 블라우티스 치료의 효과를 도 8에 나타낸다. 미생물군 프로파일에서 상당한 시간 제약적 변동이 치료 전(D14) 및 치료 후(D32) 연구 시간지점 사이에서 관찰되었다( $p$ -값 = 0.001).

[0188] DESeq2를 사용한 시차 분석은 D14와 D32 자폐증 연구 시간지점 사이에서 블라우티스 치료에 대해서 25종의 유의한(조정된  $p$ -값 < 0.05) 차별적으로 풍부한 분류군을 생성하였다. 분류군을 하기 표 1에 열거한다.

### 표 1

자폐증 연구에서 D14 시간 지점과 D32 시간 지점 간의 유의한 차별적으로 풍부한  
분류군. 양성 배수 변화는 D14에 비해서 D32에서 증가되는 것으로 해석된다.

OTU_ID	회전 수준	분류	log2		
			배수 변화	표준 오차	조정된 p-값
2440650	속	클로스트리디움 XIVa	19.706	3.008	6.9E-10
		박테로이데스			
		애시디파시엔스(Bacteroides			
307526	종	acidifaciens)	11.275	0.912	5.0E-33
39008	종	박테로이데스 애시디파시엔스	10.501	1.345	1.0E-13
		알리스티페스 과인골디(Alistipes			
277773	종	finegoldii)	9.954	0.906	2.8E-26
1105465	속	바네시엘라(Barnesiella)	9.255	0.923	2.8E-22
943687	과	풀피로모나데세(Porphyromonadaceae)	9.200	0.850	1.1E-25
		바네시엘라			
		인베스티니호미니스(Barnesiella			
47662	종	intestinikhominis)	8.844	0.988	7.0E-18
181003	속	알리스티페스	8.370	2.069	4.2E-04
1282905	종	바네시엘라 인베스티니호미니스	7.373	1.004	2.8E-12
1370810	종	바네시엘라 인베스티니호미니스	6.633	1.986	0.006
1203483	종	박테로이데스 애시디파시엔스	6.599	1.584	2.7E-04
74179	종	알리스티페스 마실리엔시스	6.318	1.899	0.006
1640334	종	바네시엘라 인베스티니호미니스	6.258	2.066	0.013
76239	과	락노스파라세(Lachnospiraceae)	6.202	1.229	4.6E-06
308030	종	바네시엘라 인베스티니호미니스	6.196	1.451	1.8E-04
1156020	과	에리시펠로트라이카세	5.827	1.607	0.002
712755	종	바네시엘라 인베스티니호미니스	5.614	1.749	0.008
11297	과	풀피로모나데세	5.450	1.021	1.0E-06
2218722	속	클로스트리디움 IV	3.983	1.017	0.001
594012	종	클로스트리디움 락타티퍼렌탄스	2.900	0.952	0.013
453043	종	유박테리엄 벤트리오섬	-3.675	1.260	0.018
451019	종	바네시엘라 인베스티니호미니스	-4.055	1.540	0.041
466087	종	아커만시아 뮤시니필라	-6.727	0.876	2.5E-13
2153421	속	블라우티아 XIVa	-8.051	2.577	0.010
866478	종	바네시엘라 인베스티니호미니스	-8.961	0.846	9.3E-25

[0189]

요약

[0190] 동물에게 블라우티스가 투여된 자폐증의 마우스 모델에서, 박테리아 다양성에서의 상당한 순 증가를 비롯하여, 이의 마이크로바이옴에 대한 상당한 변화가 관찰되었다.

**실시예 3 - 뇌경색의 모델에서의 효과**요약

[0191] 블라우티아 하이드로게노트로피카의 보호 효과를 뇌경색의 마우스 모델에서 시험하였다. 이를 위해서 5 대지 17 마리 마우스의 3개의 군을 시험하였다. 정상적으로 행동하는 동물 만을 연구에 포함시켰다. 제1 투여일은 -14일 이었다. 하나의 군에게 동결 건조된 박테리아를 제1 투여일로부터 종결시까지 매일 제공하였다. 대조군에게 비

히클 또는 리오버퍼(lyobuffer) 중 어느 하나를 제공하였다.

[0195] 1일에, 모든 마우스를 마취시켰다. 중앙선 절개부를 목의 복부 측면에 생성시켜 우측 및 좌측 총 경동맥을 노출시켰다. 이어서, 뇌경색-재관류 I/R 모델을 15분 동안 맥관 클립을 사용하여 양쪽 총경동맥 폐색(BCCAO)에 의해서 유도하였다. 각각의 폐색 마지막에, 클립을 제거하였다.

#### 군주

[0197] 수탁 번호 DSM 10507 하에 그리고 또한 수탁 번호 DSM 14294 하에 기탁된 블라우티아 하이드로게노트로피카 박테리아.

#### 투여 스케줄

동물 번호	치료	투여 수준(mg/kg)	투여 부피 (ml/kg 또는 ml/동물)
12	PBS (음성 대조군)	해당없음	10
17	동결 건조된 분말	100 $\mu$ l 중의 7.8mg	100 $\mu$ l/동물
13	동결 건조된 박테리아	100 $\mu$ l 중의 15.6mg(박테리아 용량 = $2 \times 10^5$ )	100 $\mu$ l/동물

[0199]

#### 연구 설계

[0201] -14 내지 14일: PBS 대조군(리오버퍼), 동결 건조된 분말 대조군(비히클) 또는 동결 건조된 박테리아(블라우티스)의 1일 용량.

[0202] 1일: 수술에 의해서 유도된 뇌경색-재관류 I/R 모델.

[0203] 14일: 각각의 군에서 마우스의 절반을 종결시켰다.

[0204] 14 내지 28일: 각각의 군에서 남아있는 마우스에 대한, PBS 대조군(리오버퍼), 동결 건조된 분말 대조군(비히클) 또는 동결 건조된 박테리아(블라우티스)의 1일 용량.

[0205] 28일: 남아있는 마우스의 종결.

[0206] 배설물 펠릿을 3개의 시간 지점에서 수집하였다: -14일, 14일 및 28일. 각각의 작업을 멸균 환경(완전 무균성 = 동물 사이에서 세정)에서 수행하였고, 모든 마우스를 케이지에서 꺼내고, 개별 펠릿 수거를 위해서 새로운 멸균 상자에 별개로 넣었다. 마우스당 최소 80mg, 바람직하게는 100mg의 재료에 도달하기 위해서 가능한 많은 펠릿을 수집하였다.

#### 결과

[0208] 블라우티스 투여 전 D-14에는 블라우티스 치료군, 비히클군 및 리오버퍼군 간에는 미생물군 프로파일에서 어떠한 유의한 차이도 검출되지 않았다( $p\text{-값} = 0.177$ )(도 9a 참고). 그러나, 14일에 상이한 치료군 사이에서 미생물군 프로파일에서 상당한 차이가 관찰되었고(도 9b 참고), 0.011의  $p\text{-값}$ 이 관찰되었다. 본 발명자들은 블라우티스 치료군의 미생물군에서 시간 제약적 변동을 추가로 평가하였고, 상당한 차이(도 9c 참고)를 발견하였고, 0.002의  $p\text{-값}$ 이 관찰되었다.

[0209] DESeq2를 사용한 시차 분석은 표 2에 나타낸 바와 같이, 뇌출종 연구에서 시간지점 사이에서 비히클, 리오버퍼 및 블라우티스 치료에 대해서 유의한(조정된  $p\text{-값} < 0.05$ ) 차별적으로 풍부한 분류군을 생성하였는데, 이는 블라우티스에 의해서 부여된 박테리아 다양성에 대한 더 긴 기간 영향을 입증한다. 블라우티스 치료에 대한 분류군을 표 3, 표 4 및 표 5에 열거한다.

표 2

뇌졸중 연구에서 시간 지점 간의 유의한 차별적으로 풍부한 분류군.

	D-14->D14	D14->D28	D-14->D28
비히클	4	0	2
리오버찌	17	2	0
블라우티스	7	14	12

[0210]

표 3

뇌졸중 연구에서 블라우티스 치료에 대한 D-14 와 D14 시간지점 간의 유의한 차별적으로 풍부한 분류군. 양성 배수 변화는 D-14 에 비해서 D14 에서 증가되는 것으로 해석된다.

OTU_ID	회거 수준	분류	log2		
			배수 변화	표준 오차	조정된 p-값
321825	과	루미노코카세	1.647	0.470	0.027
74771	종	알리스티페스 마실리엔시스	1.530	0.442	0.027
567799	속	알리스티페스	-1.215	0.308	0.008
77091	속	클로스트리디움	-1.634	0.489	0.036
472737	과	라크노스피라세(Lachnospiraceae)	-2.585	0.667	0.008
615246	과	라크노스피라세	-3.003	0.711	0.007
166882	과	라크노스피라세	-5.547	1.406	0.008

[0211]

## 표 4

뇌졸중 연구에서 블라우티스 치료에 대한 D14 와 D28 시간지점 간의 유의한 차별적으로 풍부한 분류군. 양성 배수 변화는 D14 에 비해서 D28 에서 증가되는 것으로 해석된다.

OTU_ID	회적 수준	분류	log2		
			배수 변화	표준 오차	조정된 p-값
1101936	목	클로스트리알리스	3.275	0.709	0.001
218505	종	로제부리아 파에시스( <i>Roseburia faecis</i> )	2.568	0.630	0.002
948888	속	바네시엘라	2.499	0.575	0.001
612631	속	클로스트리디움 XIVa	2.473	0.723	0.011
201398	류	박테로이데스	2.045	0.605	0.011
1370810	종	바네시엘라 인테스티니호미니스	1.878	0.579	0.016
		알리스티페스	주트레디니스(Alistipes putredinis)		
770554	종	프레보렐라	1.868	0.626	0.033
558330	속	풀피로도나데세	1.795	0.453	0.002
943687	과	바네시엘라 인테스티니호미니스	1.586	0.546	0.039
308030	종	박테로이데스	1.324	0.361	0.005
176124	류	오실로스파라 구일리어몬디( <i>Oscillospira guilliermondii</i> )	1.163	0.294	0.002
		플라보나프랙터	<i>플라우티</i> ( <i>Flavonifractor plautii</i> )		
565518	종	무시스파릴룸	스캐들레리( <i>Mucispirillum schaedleri</i> )		
544582	종		-1.571	0.488	0.016
25678	종		-1.599	0.569	0.050
			-2.751	0.640	0.001

[0212]

### 표 5

뇌졸중 연구에서 블라우티스 치료에 대한 D-14 와 D28 시간지점 간의 유의한 차별적으로 풍부한 분류군. 양성 배수 변화는 D-14 에 대해서 D28 에서 증가되는 것으로 해석된다.

OTU_ID	학명	분류	log2		
			배수 변화	표준 오차	조정된 p-값
688867	속	클로스트리디움 XIVa	8.296	1.136	3.8E-11
612631	속	클로스트리디움 XIVa	7.814	1.348	3.1E-07
560658	과	라크노스파라세	5.241	1.243	0.001
929749	종	유박테리엄 투미난티움	3.190	0.829	0.003
		데설포비브리오			
		페어필덴시스( <i>Desulfovibrio fairfieldensis</i> )			
518034	종	페어필덴시스( <i>Desulfovibrio fairfieldensis</i> )	3.098	0.982	0.024
74771	종	알리스티페스 마실리엔시스	2.548	0.714	0.007
		오도리박터			
		라네우스( <i>Odoribacter laneus</i> )			
23310	종	라네우스( <i>Odoribacter laneus</i> )	1.621	0.475	0.011
117624	목	클로스트리알리스	-1.748	0.612	0.049
411272	속	클로스트리디움 XIVa	-2.923	1.019	0.049
		박테로이네스			
39008	종	애시디파시엔스	-2.953	0.816	0.007
331352	속	클로스트리디움 XIVa	-3.969	0.626	1.6E-08
77091	속	클로스트리디움	-4.247	1.426	0.039

[0213]

[0214] DESeq2를 사용한 시차 분석은 표 6에 나타낸 바와 같이, 뇌졸중 연구 시간지점에 대해서 블라우티스 치료 대 비히클뿐만 아니라 블라우티스 치료 대 리오버퍼에 대해서 유의한(조정된 p-값 <0.05) 차별적으로 풍부한 분류군을 생성하였다. 분류군을 표 7, 표 8 및 표 9에 열거한다.

### 표 6

뇌졸중 연구에서 블라우티스 치료에 대한 유의한 차별적으로 풍부한 분류군.

	D-14	D14	D28
블라우티스 대 비히클	0	10	0
블라우티스 대 리오버퍼	2	13	0

[0215]

표 7

뇌졸증 연구에서 D14 에서 블라우티스 치료 대 비히클에 대한 유의한 차별적으로 풍부한 분류군.

OTU_ID	회자 수준	분류	log2		
			배수 변화	표준 오차	조정된 p-값
25678	종	무시스파렐룸 스캐들레이	2.604	0.688	0.014
3119687	과	라크노스파라세	2.445	0.642	0.014
321825	과	루미노코카세	2.174	0.564	0.014
627	속	클로스트리디움 XIVa	1.915	0.601	0.043
		바네시엘라			
308030	종	인페스티니호미니스	-1.324	0.419	0.043
		바네시엘라			
1370810	종	인페스티니호미니스	-1.540	0.425	0.019
		루미노코쿠스			
187271	종	플라베파시엔스	-3.475	1.065	0.042
277773	종	알리스티페스 과인글디	-3.751	1.178	0.043
		스타필로코쿠스			
		렌투스(Staphylococcus			
940566	종	Ientus)	-5.228	1.519	0.026
930972	속	스타필로코쿠스	-5.418	1.536	0.023

[0216]

표 8

뇌졸증 연구에서 D-14 에서 블라우티스 치료 대 리오버찌에 대한 유의한 차별적으로 풍부한 분류군.

OTU_ID	회자 수준	분류	log2		
			배수 변화	표준 오차	조정된 p-값
1161472	과	라크노스파라세	6.511	1.403	0.001
392940	계	박테리아	-5.169	1.346	0.022

[0217]

**표 9**

뇌졸증 연구에서 D14에서 블라우티스 치료 대 리오버퍼에 대한 유의한 차별적으로 풍부한 분류군.

OTU_ID	회원 수준	분류	log2 배수 변화	표준 오차	조정된 p-값
25678	종	무시스파릴룸 스캐들레리	2.704	0.753	0.012
1379349	속	클로스트리디움 XIVa	2.517	0.771	0.027
742656	종	오실리박터 발레리시제네스(Oscillibacter valericigenes)	1.738	0.459	0.009
558330	속	프레보렐라	-1.634	0.406	0.006
1370810	종	바네시엘라 인테스티니호미니스	-1.780	0.390	0.001
712755	종	바네시엘라 인테스티니호미니스	-1.827	0.464	0.006
47662	종	바네시엘라 인테스티니호미니스	-2.109	0.606	0.014
1640334	종	바네시엘라 인테스티니호미니스	-2.260	0.693	0.027
1105465	속	바네시엘라	-2.306	0.627	0.010
161658	과	라크노스파라세	-2.565	0.816	0.037
277773	종	알리스티페스 파인풀디	-3.619	1.034	0.014
187271	종	루미노코쿠스 플라비파시엔스	-3.924	1.057	0.010
459041	종	락토바실루스 존소니(Lactobacillus johnsonii)	-4.029	0.981	0.006

[0218]

요약

[0220]

블라우티스는 리오버퍼 또는 비히를 대조군과 비교할 때 뇌졸중의 마우스 모델에서 연구 기간 전체에서 미생물 군 다양성에서 상당한 증가를 초래한다.

[0221]

**실시예 4 - 신경염증성 병태의 모델에서의 보호 효과**

[0222]

실험적 자가면역 뇌수막염(EAE)은 인간 질환 MS의 다수의 양상을 반영하는 CNS 염증의 마우스 모델이며, EAE는 인간 MS에 대해서 가장 일반적으로 사용되는 실험 모델이다. EAE는 또한 CNS-특이적 자가면역 장애[52] 및 급성 횡단성 뇌수막염을 비롯한 다른 구체적인 병태에 대한 모델로서 보다 일반적으로 사용된다. EAE는 미엘린 웨타이드 및 아주반트로의 면역화를 사용하여 유도되어 CNS, 및 특히 MS의 다수의 자가면역 및 염증성 장애의 근본적인 기전에 밀접하게 상응하는 면역 및 염증성 반응을 발휘한다. EAE에서 효능을 나타내는 다수의 요법이 또한 인간 환자에서 MS의 치료에서 효능을 나타내었다[52]. 가장 중요하게는, EAE는 염증, 탈수초(demyelination), 신경돌기 손실 및 신경아교증을 비롯한 MS의 주요 특징을 재생산한다. 탈수초의 효과는 EAE에서 척수에 주로 제한되며, 뇌줄기 및 소뇌에 약간의 변형을 유발한다. EAE에서 CD4+ T 세포는 CNS에서 발견되는 우세한 세포 집단이다.

[0223]

방법론

[0224]

블라우티아 하이드로케노트로피카("블라우티스", 수탁 번호 DSM 10507 하에 그리고 또한 수탁 번호 DSM 14294 하에 기탁된 군주)를 동결 건조된 분말로서 사용하였고, 필요한 경우 재구성하였다.

[0225]

12명의 성체 암컷 C57BL/6J 마우스를 사용하였다.

[0226]

0일 및 7일에, 동물에게 MOG35-55 및 마이코박테리움 투버콜로시스(Mycobacterium Tuberculosis) H37Ra가 보충

된 완전 프로인트 아주반트(CFA)를 함유하는 에멀션을 가스(아이소플루란) 마취 하에서 피하 주사에 의해서 투여하였다. 0일에, 옆구리에 2회의 피하 주사를 수행하였는데; 등의 하부 사분면 각각에 1회씩 주사하였다. 7일에, 옆구리에 2회의 피하 주사를 수행하였는데; 등의 상부 사분면 각각에 1회씩 주사하였다.

[0227] 0일 및 2일에, 동물에게 복강내 주사에 의해서 인산염 완충 염수(PSB) 중의 백일해 독소(PTx)를 투여하였다. 0일에, MOG 주사 후에 PTx 투여를 수행하였다.

블라우티스를 갖는 치료제 또는 대조군을 하기 스케줄에 따라서 -14일로부터 투여하였다:

[0229] 0일: MOG/CFA, 1회, SC

[0230] 0일: PTx, 1회, IP

[0231] 2일, PTx, 1회, IP

[0232] 7일: MOG/CFA, 1회, SC

[0233] 치료제를 이들의 제조 후 15분 내에 투여하였다. 블라우티스를  $2 \times 10^8$ ;  $100\mu\ell$ /마우스의 용량으로 투여하였다.

[0234] 0일부터 실험 마지막까지, 동물을 꼬리 및/또는 사지의 부전마비 및 마비를 비롯한, EAE의 임상적 징후에 대해서 매일 점수 매겼다.

[0235] -14일, -1일 및 34일에, 배설물 펠릿을 각각의 동물로부터 수집하고, 즉시 스냅-동결시키고,  $-80^{\circ}\text{C}$ 에서 저장하였다.

#### 결과

[0237] MS 모델에 대한 시간지점(D-14, D-1, D34) 간의 미생물군에 대한 블라우티스 치료의 효과를 도 10에 나타낸다. 미생물군 프로파일에서 상당한 시간 제약적 변동이 연구 시간지점에 대해서 관찰되었다( $p$ -값 = 0.001).

[0238] DESeq2를 사용한 시차 분석은 표 10에 나타낸 바와 같이, 연구 시간지점 사이에서 블라우티스 치료에 대해서 유의한(조정된  $p$ -값 < 0.05) 차별적으로 풍부한 분류군을 생성하였다. 분류군을 표 11, 표 12 및 표 13에 열거한다.

#### 표 10

MS 연구에서 시간 지점 간의 유의한 차별적으로 풍부한 분류군.

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

[0239]

## 표 11

MS 연구에서 D-14 내지 D-1 시간 지점 간의 유의한 차별적으로 풍부한 분류군. 양성 배수 변화는 D-14에 비해서 D-1에서 증가되는 것으로 해석된다.

OTU_ID	회자 수준	분류	log2 배수 변화	표준 오차	조정된 p-값
1105465	속	바네시엘라	8.076	0.702	2.2E-28
48633	속	클로스트리디움 XIVa 투리시박тер	7.304	0.825	7.0E-17
		산구이니스( <i>Turicibacter</i>			
490405	종	sanguinis)	6.824	0.778	1.0E-16
491106	종	플라보니프랙터 플라우티	5.116	0.923	4.3E-07
43241	속	클로스트리디움 XIVa	5.041	0.739	2.2E-10
948888	속	바네시엘라	4.649	0.605	4.3E-13
47662	종	바네시엘라 인테스티니호미니스	4.276	0.501	5.1E-16
1288839	과	라크노스파라세	4.117	1.170	0.003
11297	과	플라모도나데세	4.081	0.600	2.2E-10
198591	과	라크노스파라세	3.757	0.788	2.3E-05
49543	과	라크노스파라세	3.275	0.897	0.002
1009304	종	오실로스파라 구일리어몬디	3.140	1.043	0.015
		인솔리티스파릴룸			
930464	종	페레그리눔( <i>Insolitospirillum peregrinum</i> )	2.804	1.033	0.029
1793164	속	파타수테렐라	2.720	0.576	2.6E-05
1260915	계	박테리아	2.678	0.804	0.006
36112	종	클로스트리디움 렘톰	2.584	0.887	0.018
181003	속	알리스티페스	2.581	0.555	3.3E-05
149837	과	라크노스파라세	2.434	0.678	0.002
1056232	속	클로스트리디움 XIVa	2.308	0.856	0.030
770554	종	알리스티페스 푸트레디니스	2.223	0.556	0.001
1176501	과	라크노스파라세	2.079	0.758	0.028
		아세타티펙토			
33530	종	무리스( <i>Acetatifactor muris</i> )	1.965	0.569	0.004
43033	속	알리스티페스	1.788	0.379	2.6E-05
576748	과	부미노코카세	1.740	0.603	0.019
50759	종	오실로스파라 구일리어몬디	1.570	0.409	0.001
		슈도플라보니프랙터			
592877	종	카필로수스( <i>Pseudoflavonifractor capillosus</i> )	1.512	0.418	0.002
712755	종	바네시엘라 인테스티니호미니스	1.509	0.502	0.015
375558	종	바네시엘라 인테스티니호미니스	1.505	0.554	0.029
307526	종	박테로이데스 애시디파시엔스	1.499	0.492	0.014
74641	종	박테로이데스 애시디파시엔스	1.418	0.532	0.032
943687	과	플라모도나데세	1.162	0.397	0.018
791734	속	클로스트리디움 XIVa	-1.064	0.377	0.023
		아내트로트문루스			
		콜리호미니스( <i>Anaerotruncus colihominis</i> )			
19031	종	-1.391	0.516	0.030	
74179	종	알리스티페스 마실리엔시스	-1.810	0.305	4.7E-08
211238	종	아네로플라즈마 아박토글라스티콤	-2.662	0.859	0.012
76239	과	라크노스파라세	-2.721	0.668	4.2E-04
743544	속	클로스트리디움 XIVa	-3.014	0.672	7.0E-05
993522	속	클로스트리디움 XIVa	-3.394	0.708	2.2E-05
76325	속	락토바실루스	-3.621	0.575	5.2E-09
209309	과	라크노스파라세	-3.857	1.295	0.016
567799	속	알리스티페스	-5.435	0.634	4.3E-16
77091	속	클로스트리디움	-6.877	1.048	1.0E-09

## 표 12

MS 연구에서 D-1 시간 지점과 D34 시간 지점 간의 유의한 차별적으로 풍부한 분류군. 양성 배수 변화는 D-1에 비해서 D34에서 증가되는 것으로 해석된다.

OTU ID	회원 수준	분류	log2		
			배수 변화	표준 오차	조정된 p-값
1370810	종	바네시엘라 인테스티니호미니스 파라수테렐라 엑스크레멘티호미니스(Parasutterella excrementiphominis)	4.794	1.196	0.001
1684470	종	유박테리엄 플렉시카우다툼(Eubacterium plexicaudatum)	4.434	1.167	0.002
1070245	종	데설포비브리오 페어필덴시스	3.870	0.961	0.001
518034	종	클로스트리디움 디스포리쿰(Clostridium disporicum)	3.867	0.962	0.001
1482481	종	알리스티페스	3.228	1.112	0.029
567799	속	박테로이데스 애시디파시엔스	3.218	0.864	0.002
1404432	종	박테로이데스 애시디파시엔스	2.978	0.835	0.004
1067514	속	바네시엘라	2.967	0.921	0.011
76325	속	락토바실루스	2.893	0.683	0.001
307526	종	박테로이데스 애시디파시엔스	2.218	0.351	1.8E-08
1288839	과	라크노스파라세	2.084	0.746	0.035
866478	종	바네시엘라 인테스티니호미니스	1.936	0.647	0.022
23133	과	투미노코카세	1.840	0.544	0.007
472737	과	라크노스파라세	1.697	0.524	0.011
842401	목	클로스트리알리스	1.601	0.535	0.022
39008	종	박테로이데스 애시디파시엔스	1.494	0.390	0.002
74179	종	알리스티페스 마실리엔시스	1.426	0.328	3.9E-04
277773	종	알리스티페스 과인플디	1.323	0.461	0.029
76234	과	라크노스파라세	-1.183	0.333	0.004
948888	속	바네시엘라	-1.453	0.520	0.035
150155	과	라크노스파라세	-1.609	0.421	0.002
783115	과	데설포비브리오나세(Desulfobivirionaceae)	-2.262	0.608	0.002
773427	종	아내로트룬쿠스 콜리호미니스	-2.443	0.661	0.003
201157	과	라크노스파라세	-2.587	0.754	0.006
596894	속	클로스트리디움 XIVa	-2.616	0.909	0.029
43033	속	알리스티페스	-3.236	0.718	2.2E-04
1793164	속	파라수테렐라	-3.758	0.632	1.4E-07
49543	과	라크노스파라세	-4.849	0.920	5.5E-06
490405	종	투리시박터 산구이니스	-5.152	0.704	2.5E-11
48282	과	라크노스파라세	-5.460	0.666	4.7E-14

[0241]

## 표 13

MS 연구에서 D-14 시간 지점과 D34 시간 지점 간의 유의한 차별적으로 풍부한 분류군. 양성 배수 변화는 D-14에 비해서 D34에서 증가되는 것으로 해석된다.

OTU_ID	회저 수준	분류	log2 배수 변화	표준 오차	조정된 p-값
1105465	속	바네시엘라	7.221	0.754	2.1E-19
48633	속	클로스트리디움 XIVA	6.734	0.959	8.7E-11
1288839	과	라크노스파라세	5.820	0.811	3.5E-11
518034	종	네설포비브리오 페어필덴시스 파라수데엘라	5.459	0.999	8.3E-07
1684470	종	엑스크레멘티호미니스	5.289	1.408	0.001
1482481	종	클로스트리디움 디스포리콤 바네시엘라	4.947	1.295	0.001
1370810	종	인테스티니호미니스	4.734	1.263	0.001
1070245	종	유박테리엄 플렉시카우다툼	4.620	0.794	1.3E-07
1067514	속	바네시엘라	4.544	1.103	2.8E-04
1575843	종	클로스트리디움 루미난티움	4.393	1.743	0.040
43241	속	클로스트리디움 XIVA 바네시엘라	4.284	0.817	2.4E-06
47662	종	인테스티니호미니스 라크노스파라세 인서태 세디스(Lachnospiraceae)	4.273	0.478	3.8E-17
1728285	속	incertae sedis)	4.204	1.221	0.003
11297	과	풀파모나레세	3.921	0.577	3.4E-10
307526	종	박테로이데스 애시디파시엔스	3.539	0.534	9.9E-10
198591	과	라크노스파라세	3.273	0.762	1.4E-04
236126	종	오실로스파라 구일리언돈디	3.175	1.086	0.015
930464	종	인솔리티스파릴룸 페레그리눔	3.152	0.848	0.001
948888	속	바네시엘라	3.040	0.629	1.6E-05
491106	종	플라보니프랙터 플라우터	3.039	1.170	0.034
563211	과	라크노스파라세	2.564	0.965	0.030
149837	과	라크노스파라세	2.562	0.890	0.016
770554	종	알리스티페스 푸트레디니스	2.520	0.455	6.2E-07
1260915	계	박테리아	2.505	0.677	0.001
36112	종	클로스트리디움 웹툼	2.483	0.916	0.026
1056232	속	클로스트리디움 XIVA	2.319	0.664	0.002
39008	종	박테로이데스 애시디파시엔스	2.107	0.274	9.9E-13
23133	과	루미노코카세	2.049	0.614	0.004
74641	종	박테로이데스 애시디파시엔스 바네시엘라	2.002	0.457	1.0E-04
712755	종	인테스티니호미니스	1.977	0.470	2.0E-04
277773	종	알리스티페스 파인글디	1.881	0.388	1.6E-05
1404432	종	박테로이데스 애시디파시엔스	1.805	0.563	0.006
1176501	과	라크노스파라세	1.654	0.630	0.032
544582	종	플라보니프랙터 플라우터	1.418	0.540	0.032
76234	과	라크노스파라세	-0.991	0.389	0.038

[0242]

80190	과	라크노스피라세	-1.113	0.348	<b>0.006</b>
182471	목	클로스트리알리스 클로스트리디움 오로티쿰( <i>Clostridium oroticum</i> )	-1.315	0.472	<b>0.021</b>
2367602	목	클로스트리알리스	-1.518	0.472	<b>0.006</b>
74771	종	알리스티페스 마실리엔시스	-1.617	0.408	<b>0.001</b>
172154	속	클로스트리디움 XIVa	-1.628	0.442	<b>0.001</b>
993522	속	클로스트리디움 XIVa	-1.799	0.594	0.011
791734	속	클로스트리디움 XIVa	-1.842	0.387	<b>2.2E-05</b>
150155	과	라크노스피라세	-1.859	0.532	<b>0.002</b>
743544	속	클로스트리디움 XIVa	-2.196	0.558	<b>0.001</b>
567799	속	알리스티페스	-2.378	0.513	<b>3.9E-05</b>
96345	속	클로스트리디움 XIVa	-2.528	0.667	<b>0.001</b>
19031	종	아내로트룬쿠스 콜리호미니스	-2.575	0.610	<b>1.9E-04</b>
201157	과	라크노스피라세	-2.615	0.866	<b>0.011</b>
578360	과	라크노스피라세	-2.870	0.586	<b>1.4E-05</b>
76239	과	라크노스피라세	-3.325	0.631	<b>2.3E-06</b>
1165458	과	라크노스피라세	-3.346	0.754	<b>8.1E-05</b>
773427	종	아내로트룬쿠스 콜리호미니스	-3.475	0.776	<b>7.0E-05</b>
209309	과	라크노스피라세	-3.639	1.042	<b>0.002</b>
320120	속	클로스트리디움 XIVa 발리탈레아 구아이마센시스( <i>Vallitalea guaymasensis</i> )	-3.670	0.811	<b>5.9E-05</b>
1628488	종	<i>guaymasensis</i> )	-4.144	1.538	0.027
48282	과	라크노스피라세	-4.653	1.012	<b>4.5E-05</b>
77091	속	클로스트리디움	-7.493	1.192	<b>7.9E-09</b>

[0243]

요약

[0244]

블라우티스는 미생물군 다양성의 상당한 증가를 유발하고, 다발성 경화증에 대한 동물 모델에서 치료 동안 상당한 시간 제약적 변동을 초래한다.

[0245]

본 발명은 단지 예의 방식에 의해서 상기에 기술되었고, 청구범위의 범주 내에 포함되는 추가 변형이 행해질 수 있다는 것이 이해될 것이다.

[0247]

서열

서열번호 1 (블라우티아 스테르코리스 균주 GAM6-1 16S 리보솜 RNA 유전자, 부분 서열 - HM626177)

1 tgcaagtgcg gcaaggcgct tacgacagaaa cttcgaaaa aagatgtaa ggactggc  
61 gcggacgggt gagaacgcg tggtaacct gcctataca ggggataac agtggaaac  
121 ggctgtaat accgcataag cgacggtat cgcatgatac agtggaaaa actccgtgg  
181 tatgagatgg accgcgtct gattagctg ttggagggg aacggccac caaggcgcac  
241 atcagtagcc ggcctgagag ggtgaacgc cacattggg ctgagacacg gcccagactc  
301 ctacgggagg cagcagtggg gaatattgca caatggggg aaccctgtg cagcgcac  
361 gcgtgaagga agaagtatct cggatgtaa acttctatca gcagggaga aaatgacgg  
421 acctgactaa gaagccccgg ctaactacgt gccagcagcc gggtaatac gttaggggg  
481 agcgttatcc ggatttaactg ggtgtaaagg gagcgtagac ggaagagcaa gtctgatgtg  
541 aaaggctggg gcttaacccc aggactgcat tggaaactgt ttttcttgag tgccggagag  
601 gtaagcgaa ttccatgtgt agcggtaaaa tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc  
661 gaaggcggt tactggacgg taactgacgt tgaggctcgaa aagcgtgggg agcaaacagg  
721 attagataacc ctggtagtcc acggcgtaaa cgatgaatac tagtgtttgg ggagcaaagg  
781 ttccgggtgc cgccggaaac gcaataagta ttccacctgg ggagtagcgtt cggaaatgt  
841 aaactcaaaag gaattgacgg ggacccgcac aagcgggtgg gcatgtgggt taattcgaag  
901 caacgcgaag aaccttacca agtcttgaca tgcgtatcgac cggttcgtaa tggAACCTT  
961 cttccgggac agagaagaca ggtgggtcat ggttgcgtc agtcgtgtc gtgagatgtt  
1021 gggtaagtc ccgcacacgag cggaaacccct atcctcagta gccagcaggt gaagctggc  
1081 actctgtgga gactggcagg gataacctgg aggaaggcg ggacgcgtc aaatcatcat  
1141 gccccttatg atttgggcta cacacgtgtc acaatggcgt aaacaaaggg aagcggcccc  
1201 gcgagggggg gcaaatccca aaaataacgt cccagtcgg actgcaggtc gcaactcgac  
1261 tgcacgaage tggaaatcgct agtaatcgcg aatcagaatg tgcgggtgaa tacgttcccg  
1321 ggtttgtac acaccggcccg tcacaccatg ggagtcagta acggccgaag tc

[0248]

서열번호 2 (블라우티아 웨슬리래 균주 WAL 14507 16S 리보솜 RNA 유전자, 부분 서열 - EF036467)

[0249]

## 서열번호 3 (블라우티아 스테르코리스 균주 830에 대한 컨센서스 16S rRNA 서열)

TTTGTCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGCGTCTAACACATGCAAGTCGAGCGAAGCGCTACGACAGAACCTT  
 CGGGGGAAAGATGTAAGGGACTGAGCGCCGACGGGTGAGTAACCGTGGTAACCTGCCTCATACAGGGGATAACA  
 GTTGGAAACGGCTGCTAACCGCATAAGCGCACAGTATCGATGATACAGTGTGAAAAACTCCGGTGGTATGAGAT  
 GGACCCCGCTGATTAGCTAGTTGGAGGGTAACGGCCCACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGGCTGAGAGGGTGA  
 ACGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGACAATGGGGAAA  
 CCTGATGCAGCGACGCCGGTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATGAAACTTCTATCAGCAGGGAAAGAAAATGACGG  
 TACCTGACTAAAGAAGCCCCGCTAACACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGGGCAAGCGTTATCCGGATTT  
 ACTGGGTGTAAGGGAGCGTAGCGGAAGAGCAAGTCTGATGTGAAAGGCTGGGCTAACCCAGGACTGCATTGG  
 AAACGTGTTTCTTGAGTGCAGGAGGGTAAGCGGAATTCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAA  
 CACCAAGTGGCGAAGGGCGCTACTGGACGGTAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGAT  
 ACCTGGTAGTCCACGCCGAAACGATGAAACTAGGTGTTGGGAGCAAAGCTTCTCGGTGCCAGCAAACGCAA  
 TAAGTATTCCACCTGGGAGTACGTTCGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCCGCACAGCGTGGAG  
 CATGTTGGTTATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGTCTGACATCGATCTGACCGGTTCGTAATGGAACCTT  
 TCCTCGGGACAGAGAAGACAGGTGGTGCATGGTGTGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAA  
 CGAGCGCAACCCCTATCGTCACTAGCCAGCGAGTAAAGCTGGGACTCTGAGGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGG  
 AAGCGGGGAGCACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTGGCTACACACGTCTACAATGGCGTAAACAAAGGG  
 AAGCGAGCCCGCGAGGGGGAGCAAATCCAAAAATAACGTCCAGTTCGACTGCAGTCTGCAACTCGACTGCACGA  
 AGCTGGAATCGTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAAATACGTTCCGGGTTGTACACACCGCCGTCAC  
 ACCATGGGAGTCAGTAACGCCGAAGTCAGTGACCCACCTAGGGAGGGAGCTGCCGAAGGGGATTGATAACTG  
 GGGTGAAGTCTAGGGGT

## [0250] 서열번호 4 (블라우티아 웨슬러래 균주 MRX008에 대한 컨센서스 16S rRNA 서열)

TTCATTGAGACTTCGGTGGATTAGATTCTATTCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACCGTGGTAACCTGCCTTAT  
 ACAGGGGGATAACAGTCAGAAATGGCTGCTAACACGCCATAAGCGCACAGAGCTGCATGGCTCAGTGTGAAAAACTC  
 CGGTGGTATAAGATGGACCCCGTTGGATTAGCTTGTGGGGTAACGGCCCACCAAGGCGACGATCCATAGCCG  
 GCCTGAGAGGGTGAACGCCACATTGGGACTGAGACACGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTG  
 CACAATGGGGAAACCCCTGATGCGACGCCGCGTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATGAAACTTCTATCAGCAGG  
 GAAGATAGTGCAGGTACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGGGCAAG  
 CGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAGGGAGCGTAGACGGTGTGGCAAGTCTGATGTGAAAGGATGGCTCAACCT  
 GTGGACTGCATTGAAACTGTCATACTTGAGTGCAGGAGGGTAAGCGGAATTCTAGTGTAGCGGTGAAATCGTA  
 GATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGGCGCTACTGGACGGTAACGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGAGC  
 AAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGAAACGATGAATACTAGGTGTCNGGGAGCATGGCTTCTCGGT  
 CCGTCGCAAACGCAAGTATTCCACCTGGGAGTACGTTCGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCC  
 GCACAAGCGTGGAGCATGGTTAATCGAAGCAACGCGAAGAACCTACCAAGTCTGACATCCGCTGACCGA  
 TCCTTAACCGGATCTTCCTCGGGACAGCGAGACAGGTGGTGCATGGTGTGTCAGCTCGTGTGAGATGTT  
 GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGAACCCCTATCCTCAGTAGCCAGCATTAAGGTGGGACTCTGGGAGACTGCCA  
 GGGATAACCTGGAGGAAGGGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTGGGCTACACACGTGCTACAAT  
 GCGTAAACAAAGGAAGCGAGATCGTGAGATGGAGCAAATCCAAAAATAACGTCCAGTCCGACTGTAGTCTGC  
 AACCCGACTACACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCGGTGAATACGTTCCGGGTTGT  
 CACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTCAGTAACGCCGAAGTCAGTGACCTAATGCAAAGAAGGAGCTGCCGAA

[0251]

서열번호 5 (블라우티아 하이드로게노트로피카 균주 S5a36 16S 리보솜 RNA 유전자, 부분  
서열 - X95624.1)

```

1 gatgaacgct ggccggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac gaagcgataag agaacggaga
61 ttccggttga agttttctat tgactgagtg gccgacgggt gatgtacgcg tggtaacct
121 gcccataaca gggggataac agtttagaaat gactgctaatt accgcataag cgccacagctt
181 cgcataaaggc ggtgtaaaa actgaggtgg tataggatgg acccgcttg gattagctg
241 ttggtgaggt aacggccac caaggcgacg atccatagcc ggcctgagag ggtgaacggc
301 cacattggga ctgagacacg gcccaaactc ctacgggagg cagcagtggg gaatattgca
361 caatggggaa aaccctgtatc cagcgacgcg ggtgtaaagg agaagtatctt cggtatgtaa
421 acttctatca gcagggaaaga aagtgcgtt acctgactaa gaagccccgg ctaattacgt
481 gccagcagcc gggtaataac gtaaggggca agcgttatecc ggatttactg ggtgtaaagg
541 gagcgttagac ggtttggcaa gtctgtatgtt aaaggcatgg gctcaacctg tggactgcat
601 tggaaactgt cagactttagt tgccggagag gcaagcggaa ttccctgtt acgcgtgaaa
661 tgcgttagata ttaggagaa caccagtggc gaagggggcc tgctggacgg taactgacgt
721 tgaggctcgaa aagcgtgggg agcaaaacagg attagatacc ctggtagtcc acgctgtaaa
781 cgatgaatac taggtgtcg gttggaaagc catcggtgc cgccggaaac gcaataagta
841 ttcccacctg gggagtagt tgcgttagt gaaactcaaa ggaattgacg gggaccggca
901 caagcgtgg agcatgtgtt ttaatcgaa gcaacgcgaa gAACCTTACCAaatcttgc
961 atccctctga ccggaaagta atgttccctt ttcttcggaa cagaggagac aggtgggtca
1021 tgggtgtcgat cagctcgatc cgtgagatgt tgggttaagt cccgcacacg ggcacaccct
1081 tattcttagt agccagcagg tagagctggg cactcttaggg agactgccag ggataacctg
1141 gaggaagggtg gggatgacgt caaatcatca tggcccttat gatttggctt acacacgtgc
1201 tacaatggcg taaacaaagg gaagcgaagg ggtgacctgg agcaaatctc aaaaataacg
1261 tctcgttgcg gattgttagtc tgcgttagtgc ctacatgaaat ctggaaatcg tagtaatcg
1321 gaatcagaat gtcgcgttga atacgttccc gggcttgcgta cacaccggcc gtcacaccat
1381 gggagtcgtt aacggccgaa gtcgttgcgca accnnaag gagggagctg ccgaagggtgg
1441 gactgataac tgggtgtca

```

[0252]

## 참고 문헌

- [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* 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.

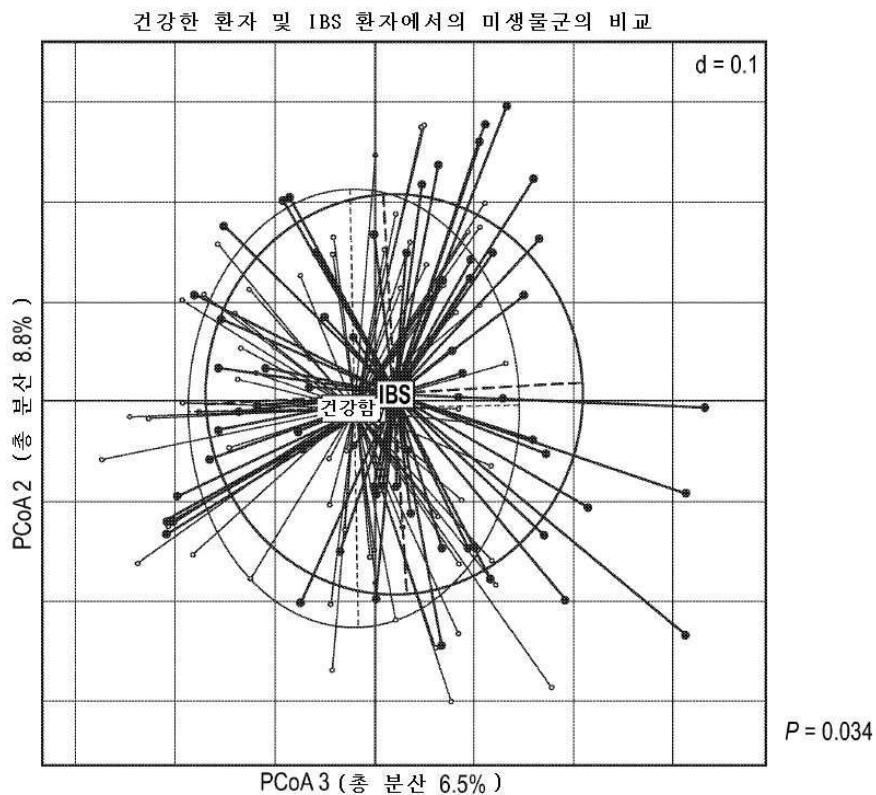
[0254]

- [29] Srutková *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

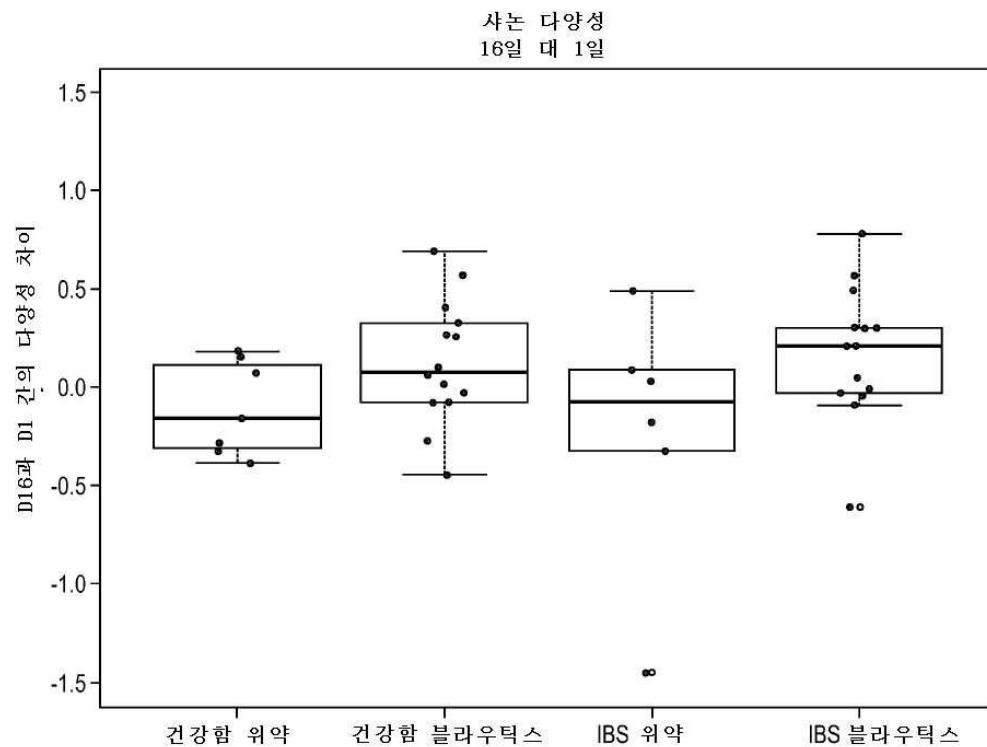
[0255]

## 도면

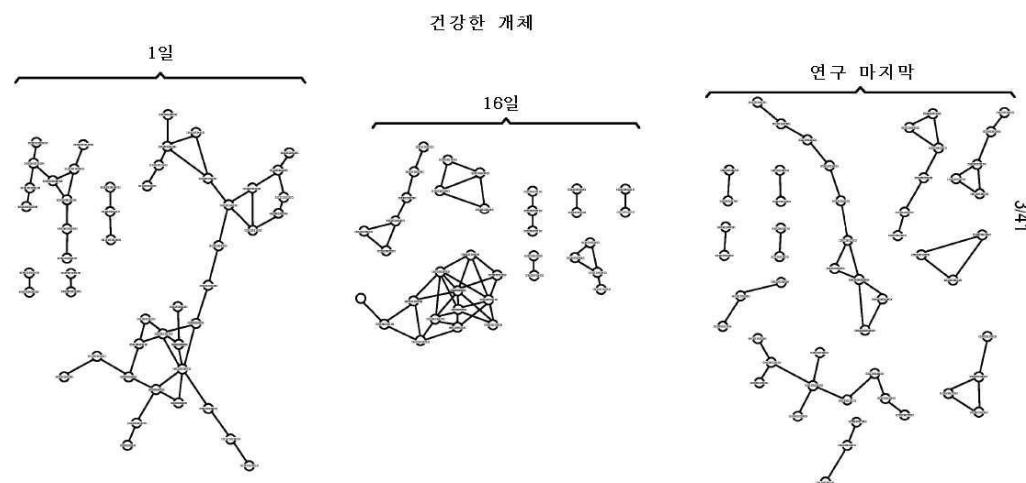
### 도면1



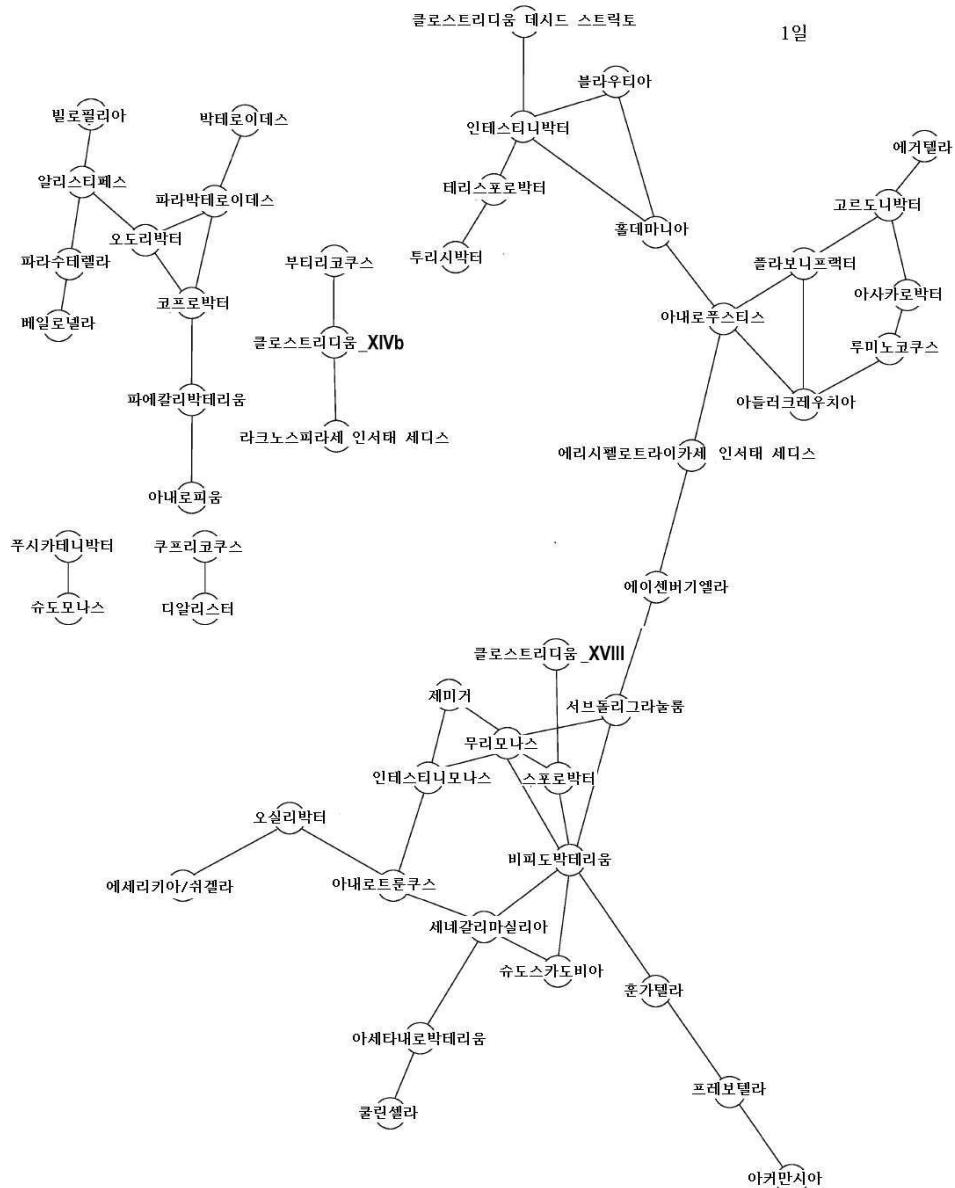
## 도면2



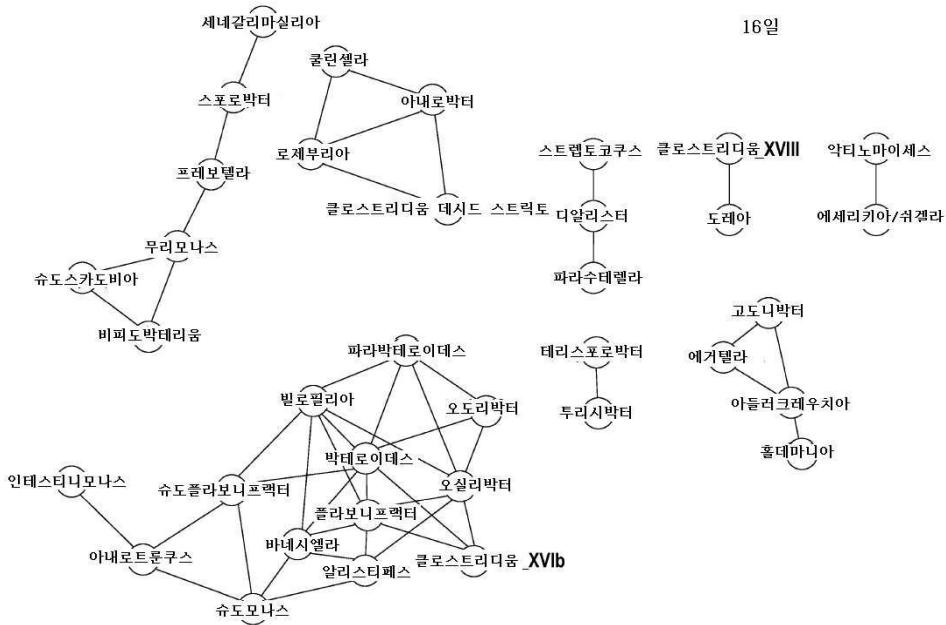
## 도면3a



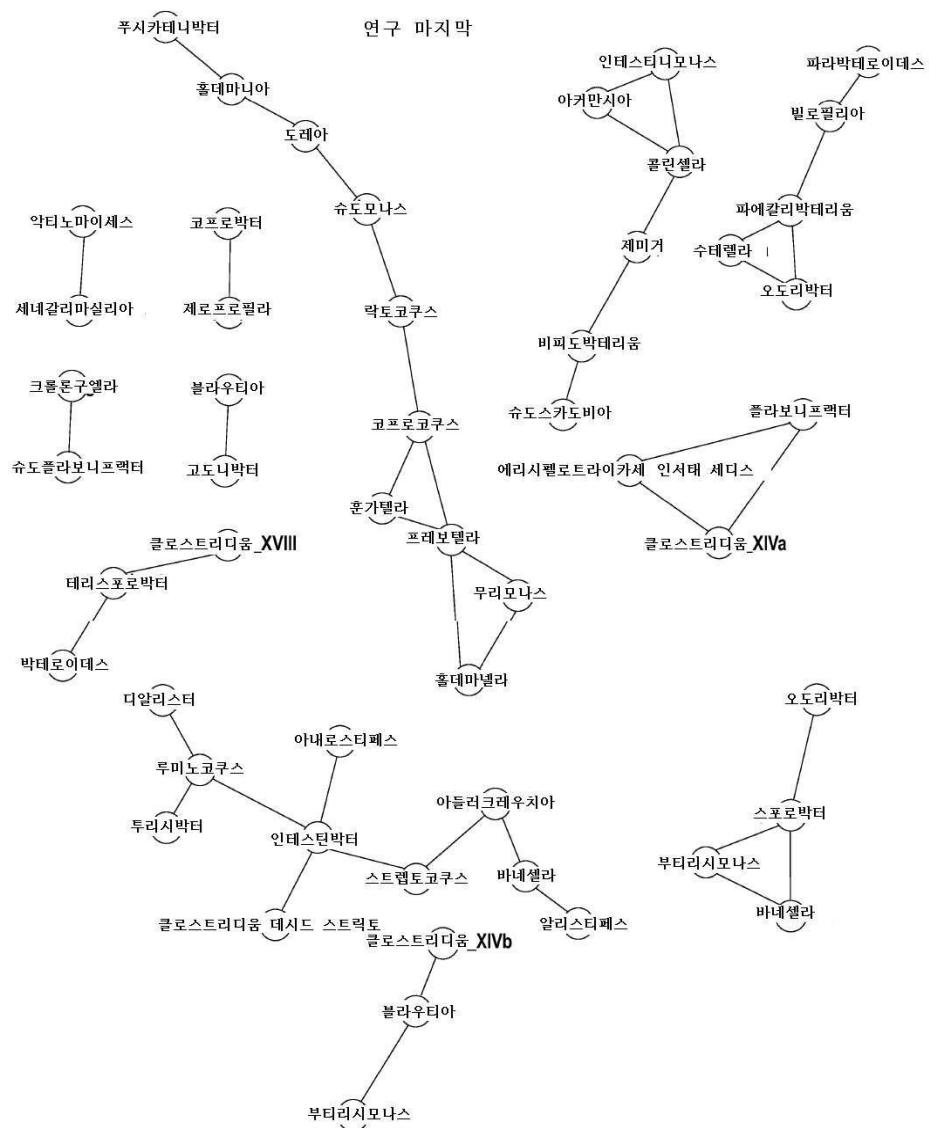
## 도면3aa



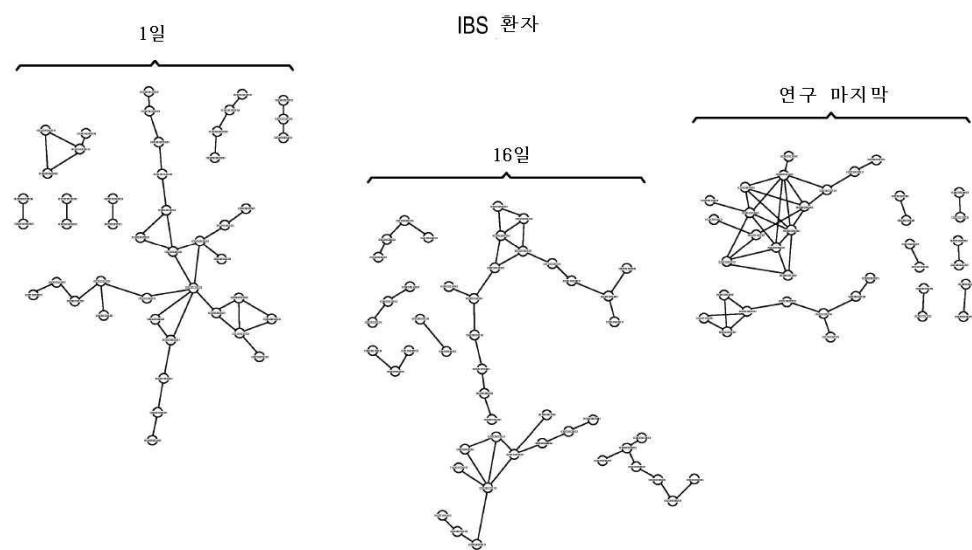
## 도면3ab



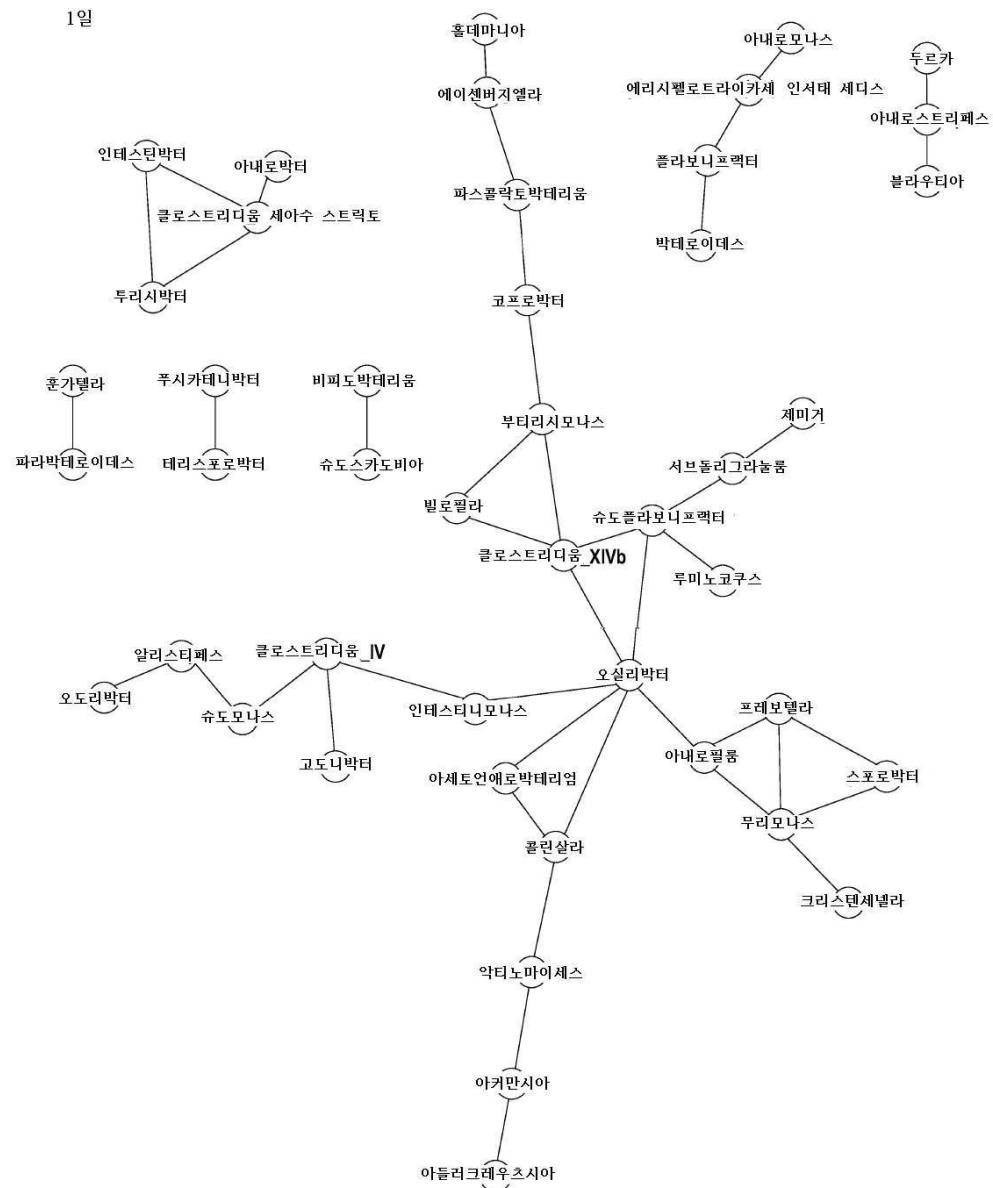
## 도면3ac



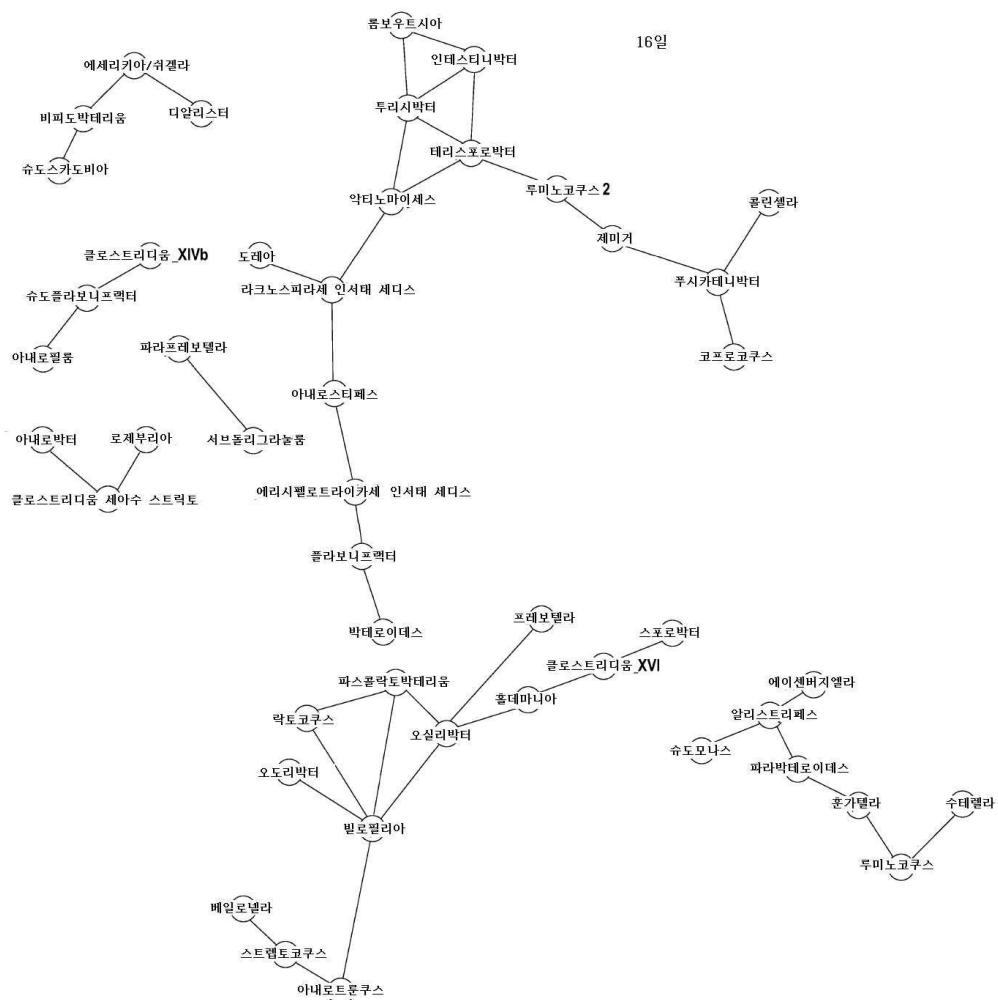
## 도면3b



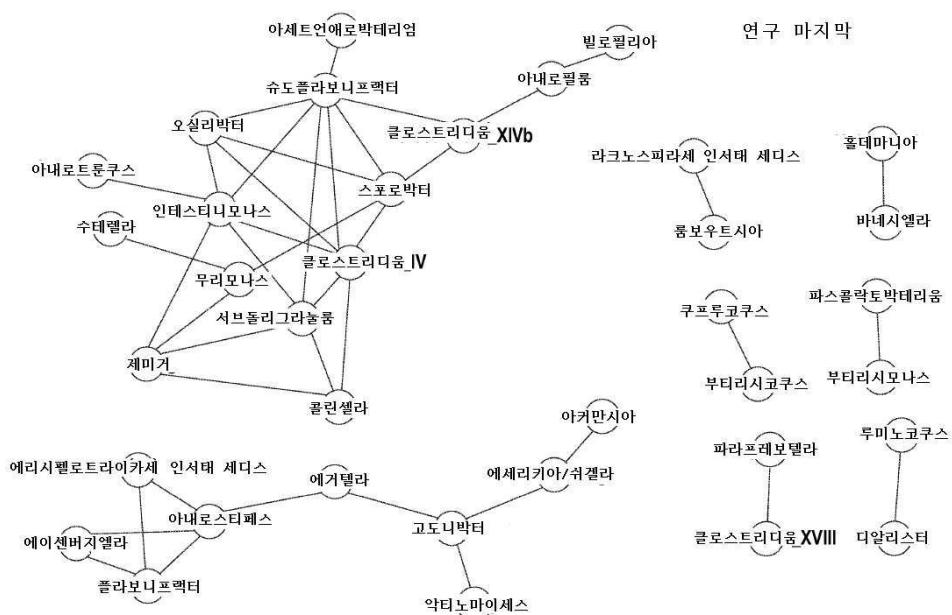
도면3ba



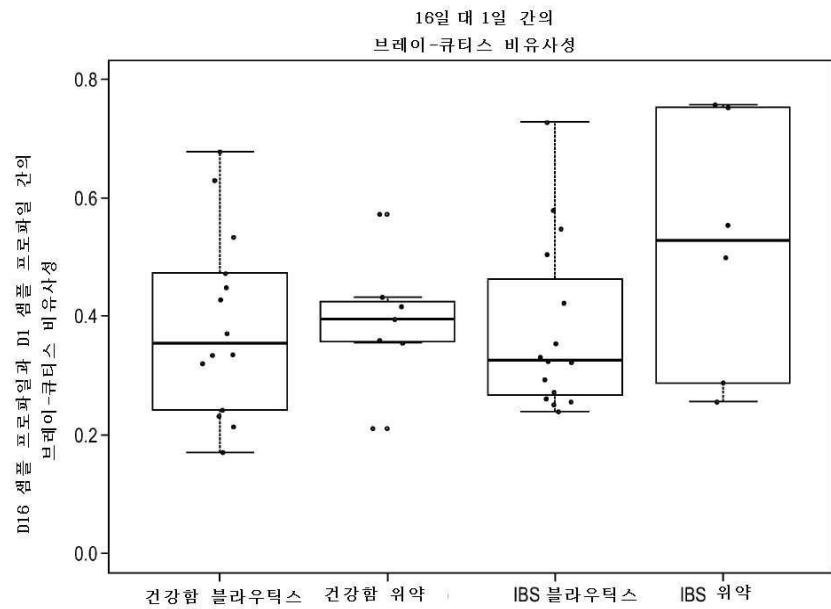
## 도면3bb



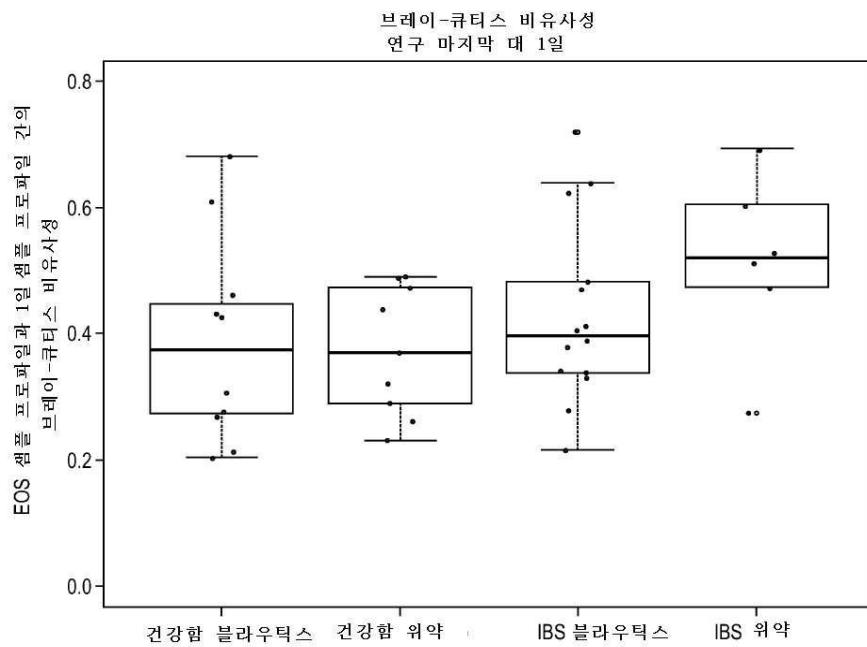
## 도면3bc



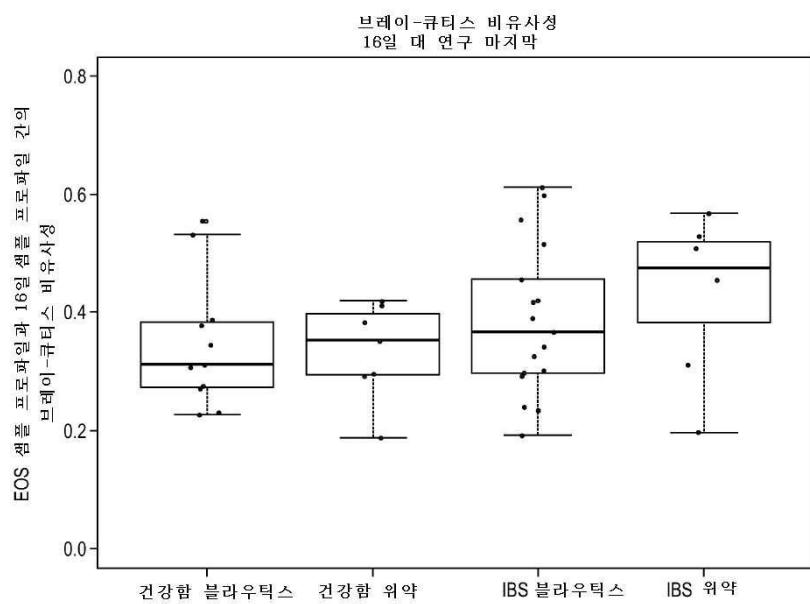
도면4a



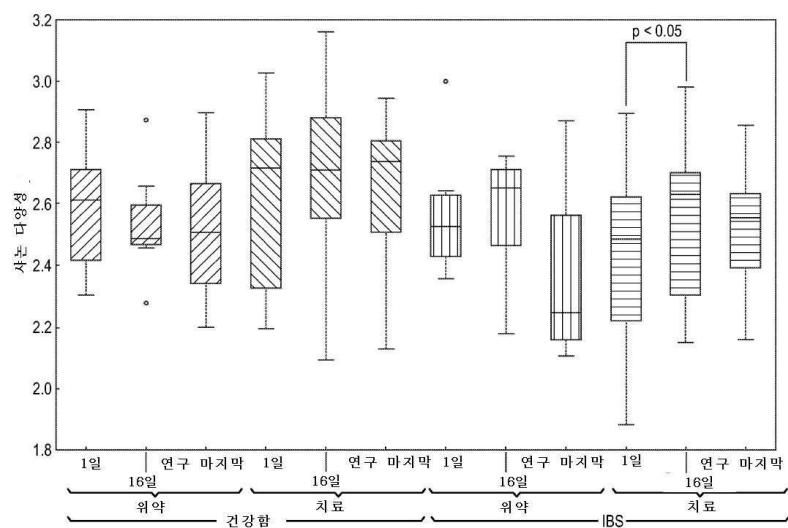
도면4b



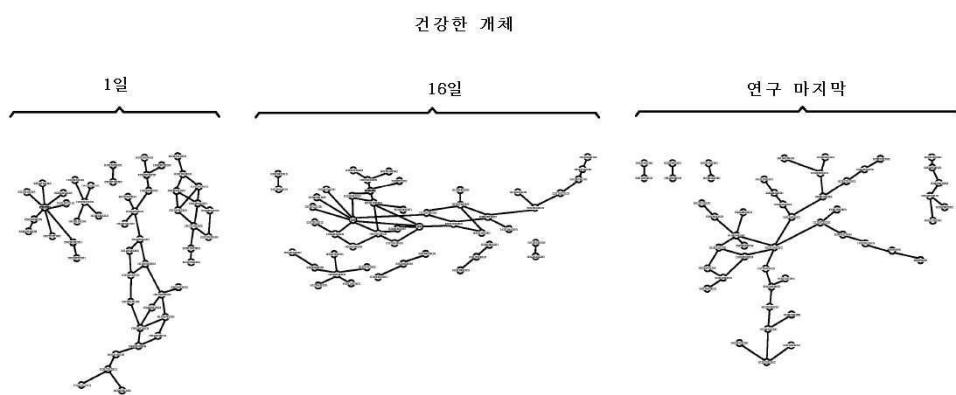
## 도면4c



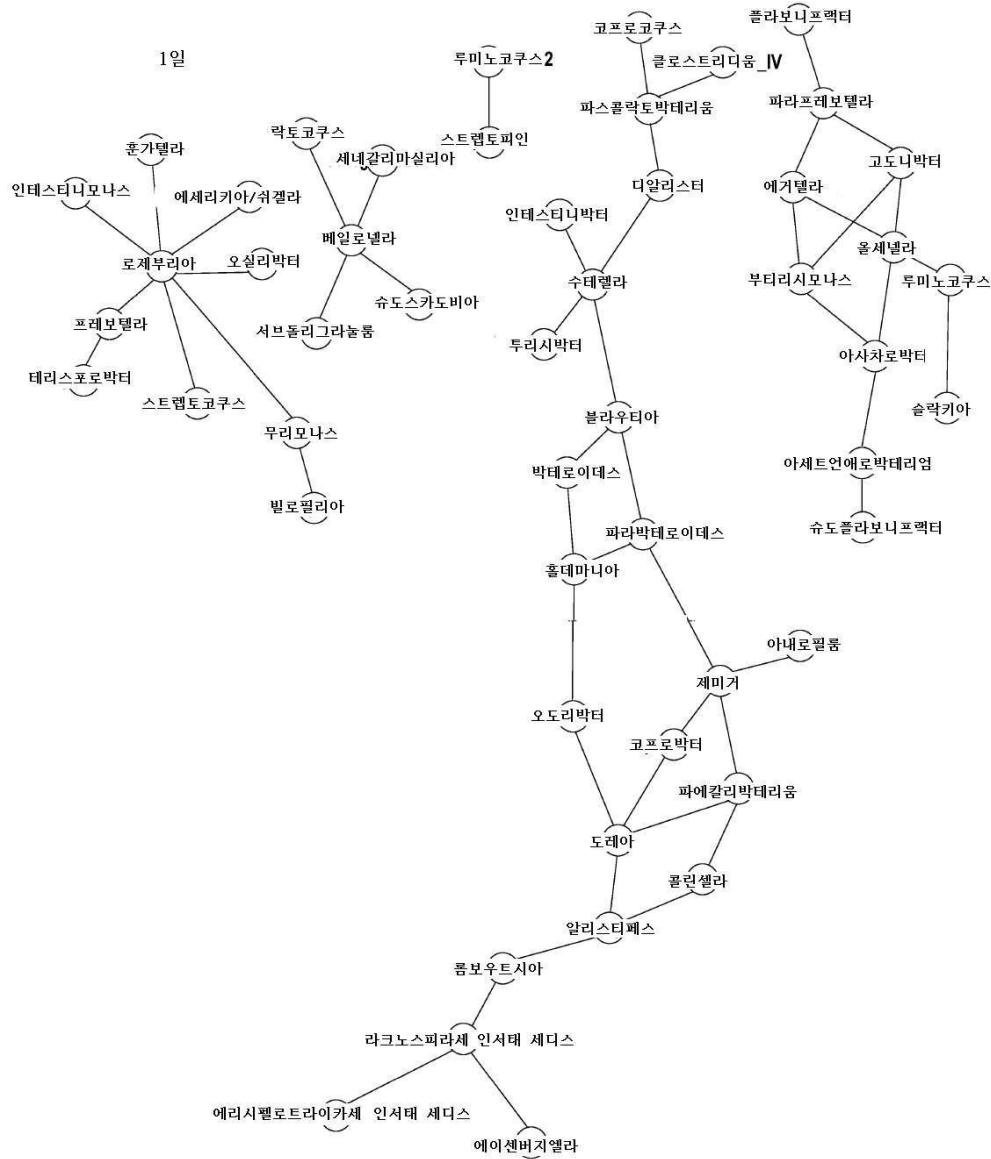
## 도면5



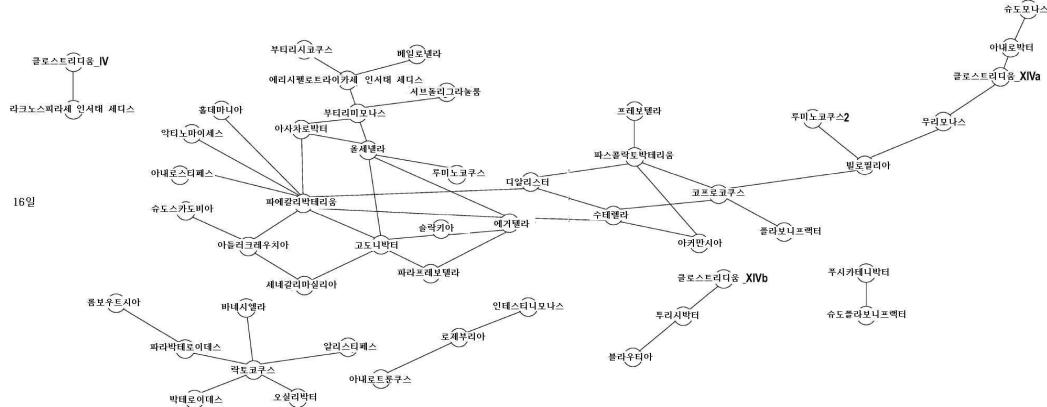
## 도면6a



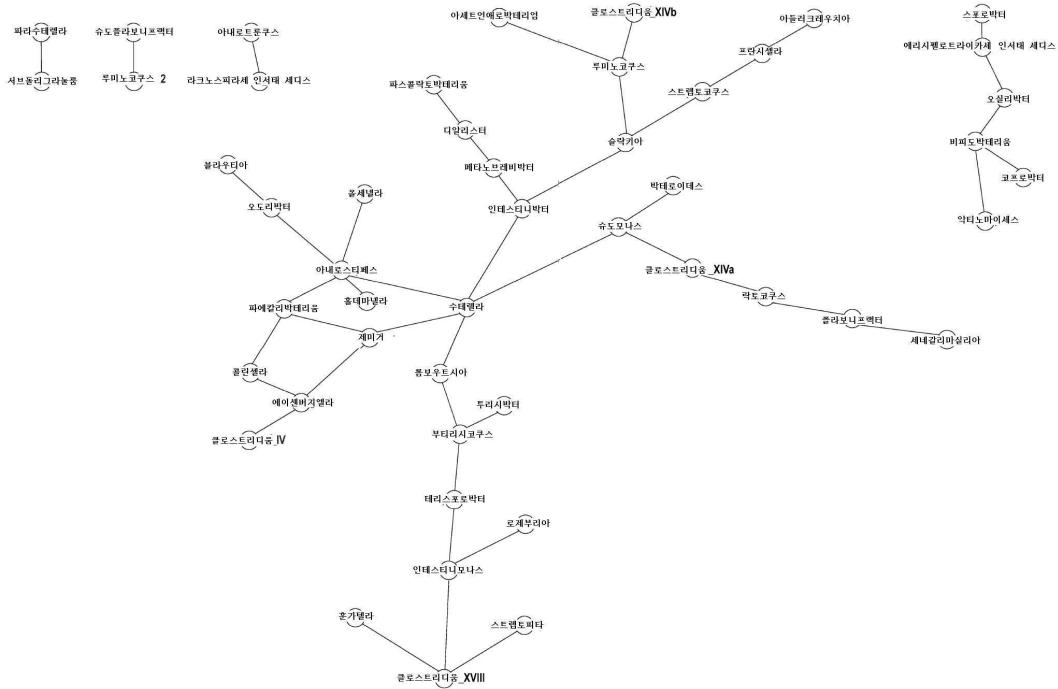
## 도면6aa



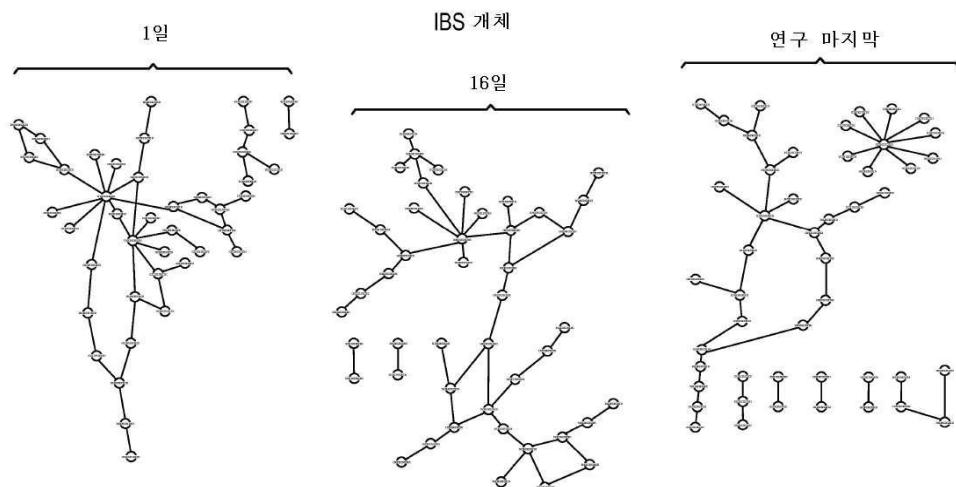
## 도면6ab



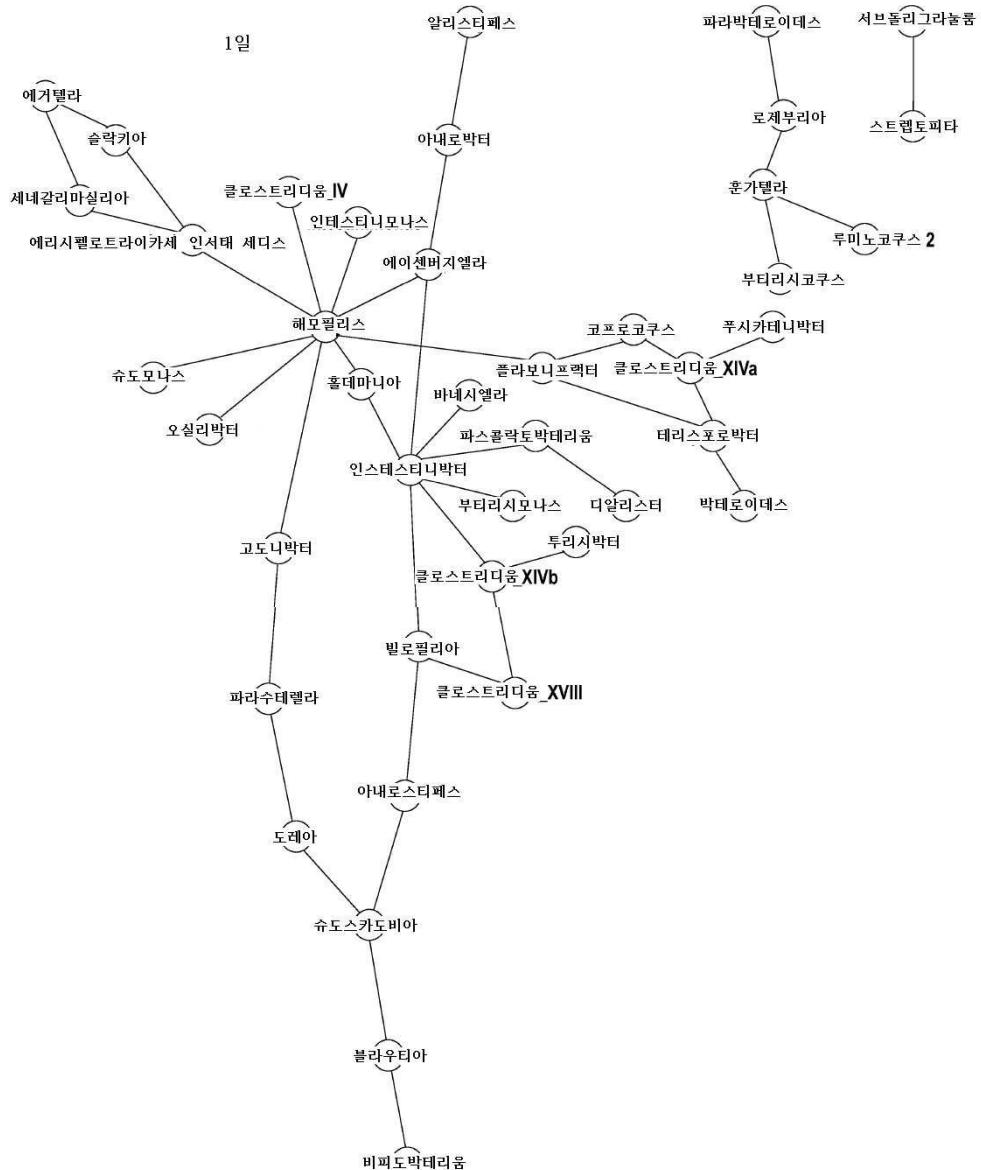
### 도면6ac



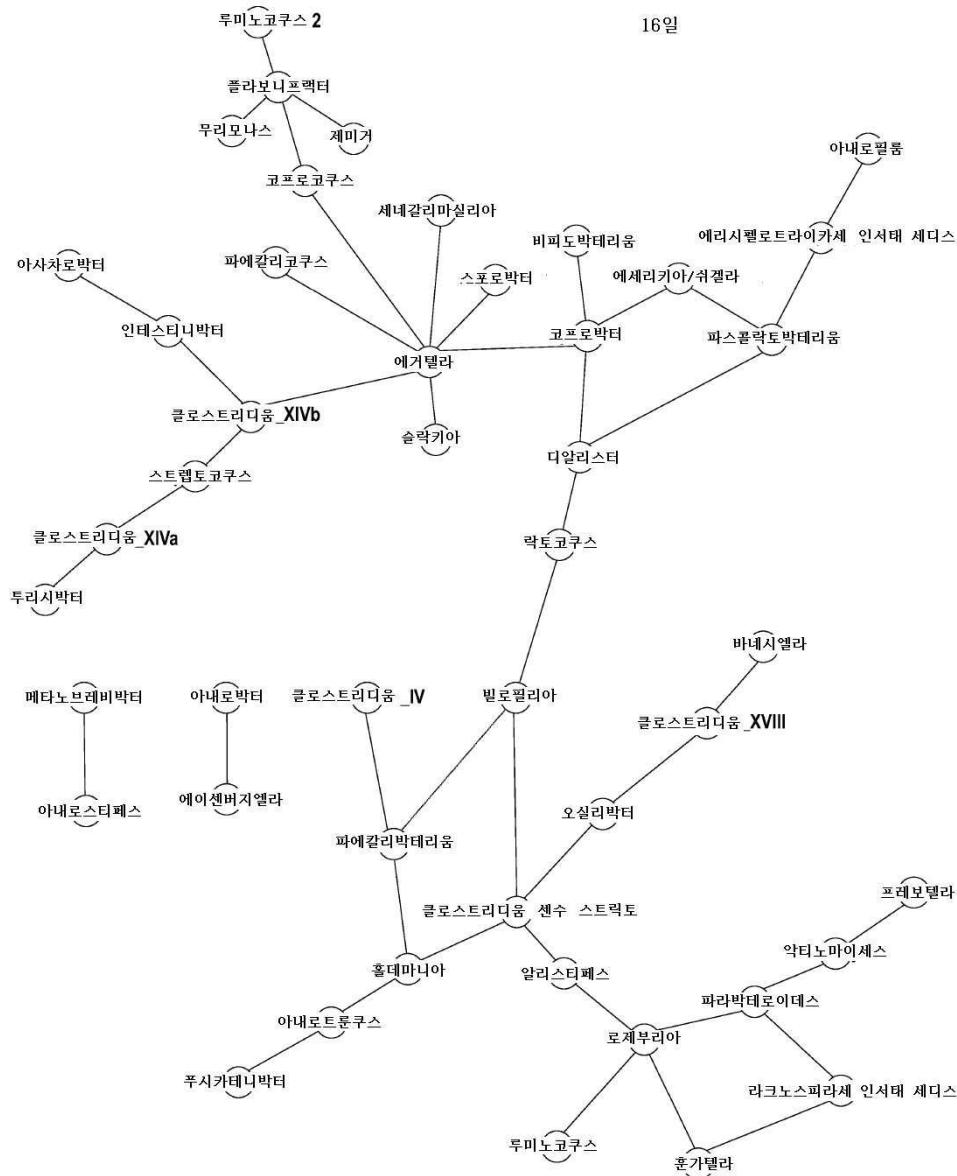
### 도면6b



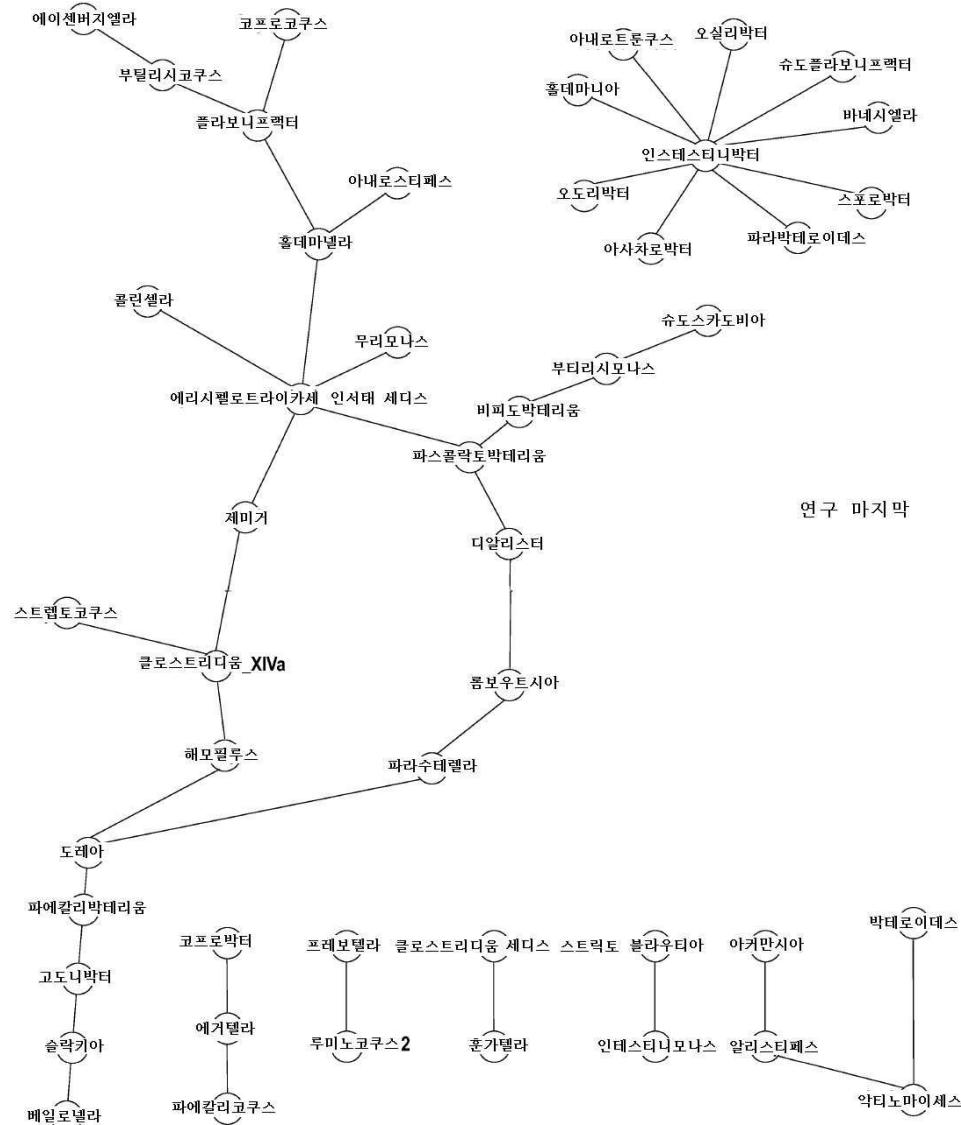
## 도면6ba



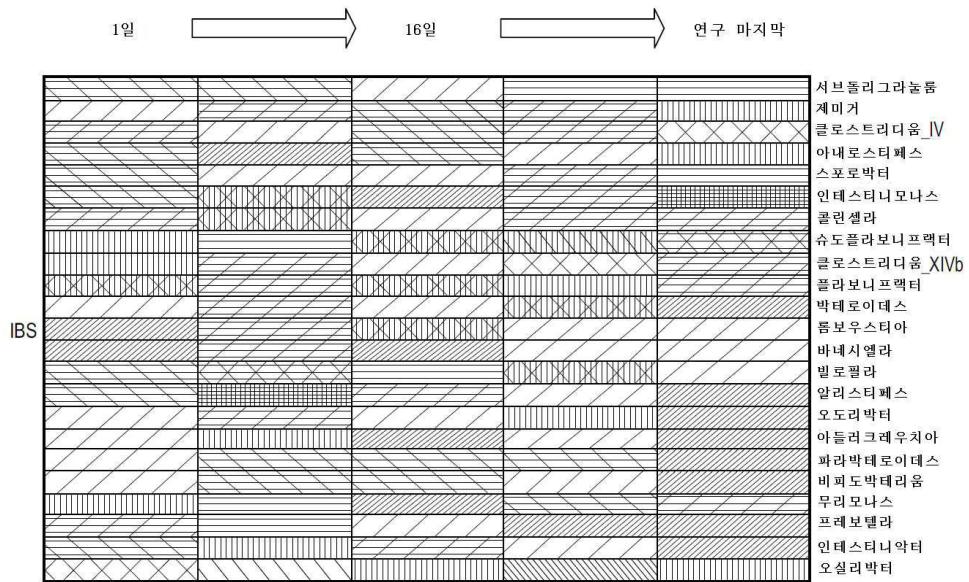
## 도면6bb



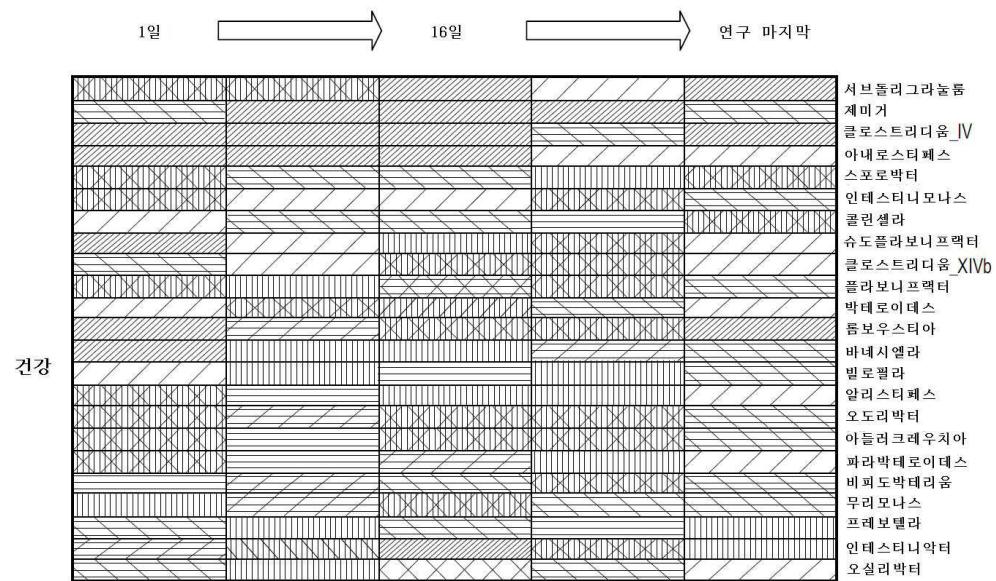
## 도면6bc



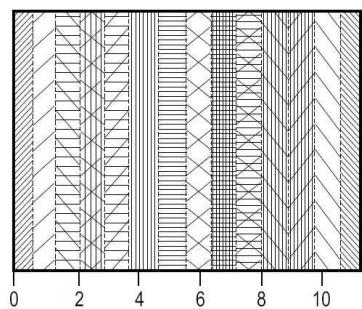
### 도면7a



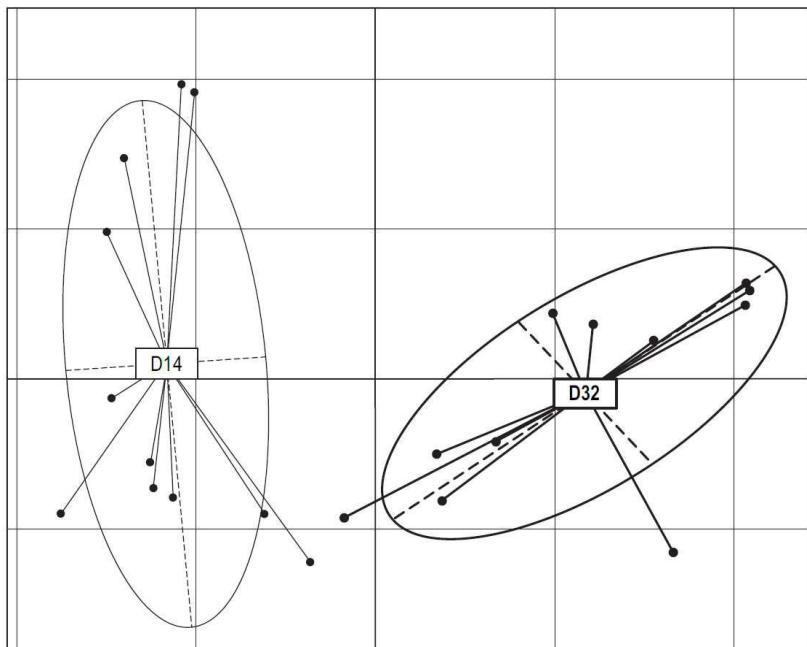
### 도면7b



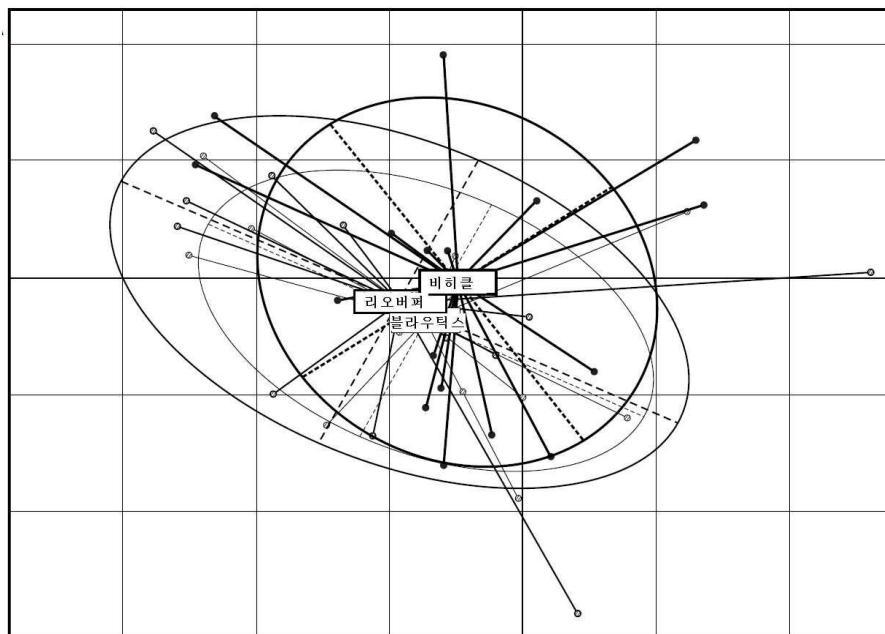
도면7c



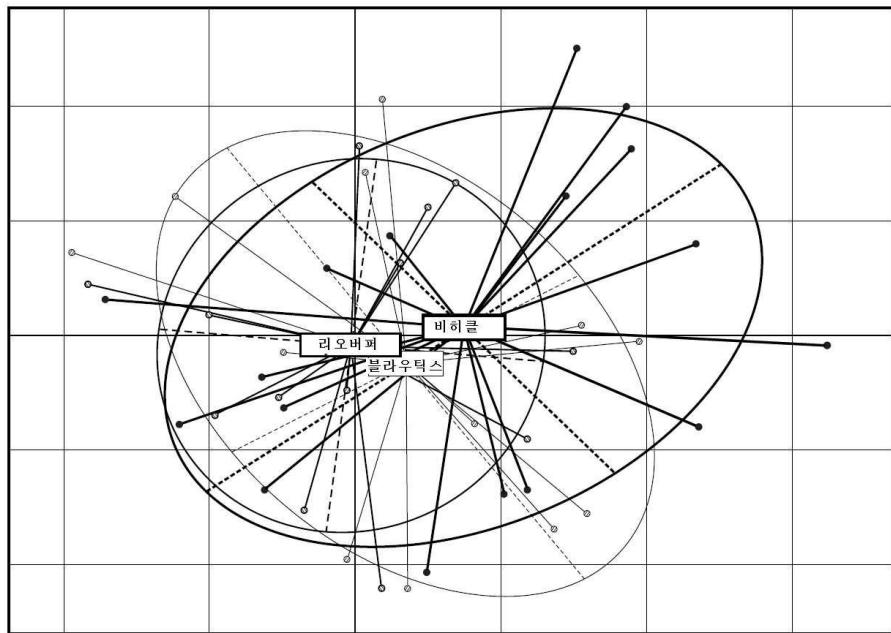
도면8



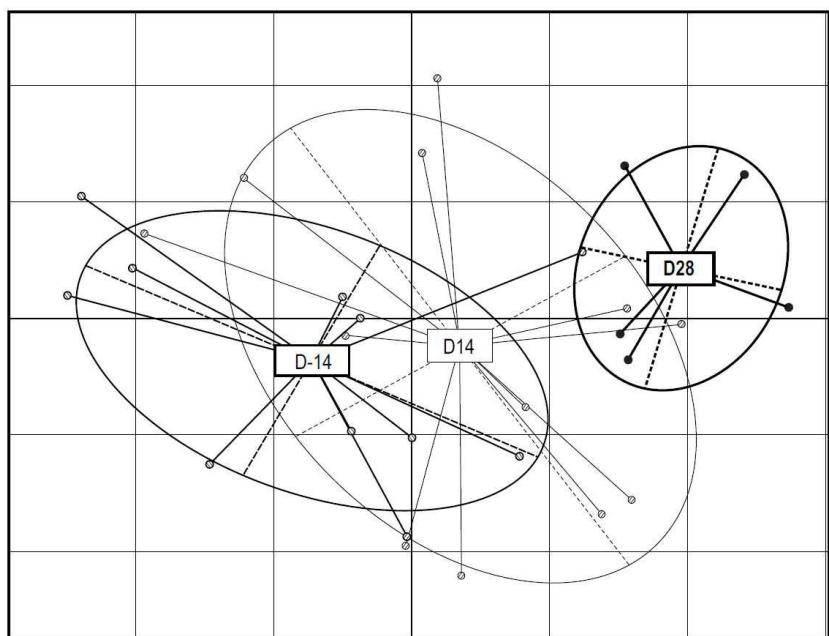
도면9a



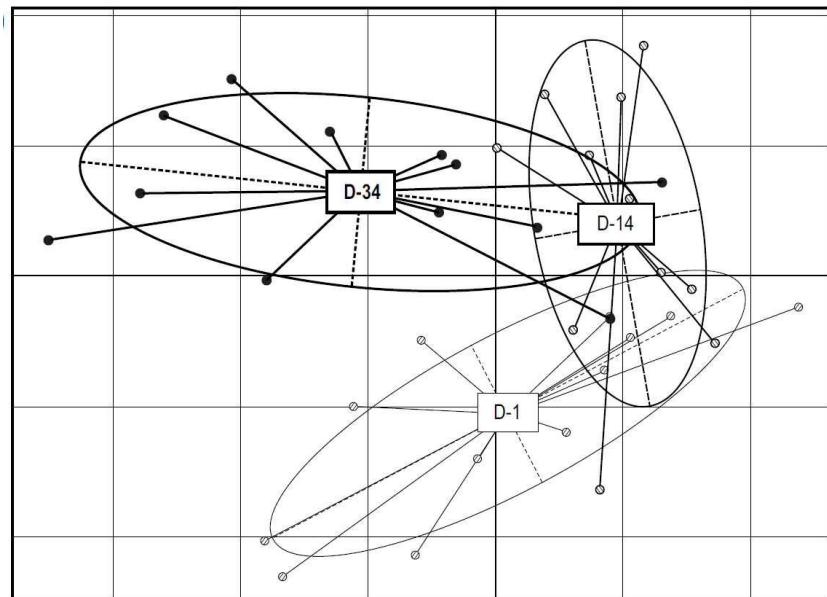
도면9b



도면9c



## 도면10



## 서 열 목 록

## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; 4D Pharma PLC

&lt;120&gt; COMPOSITIONS COMPRISING BACTERIAL STRAINS

&lt;130&gt; P069516WO

&lt;141&gt; 2017-12-12

&lt;150&gt; GB1621123.7

&lt;151&gt; 2016-12-12

&lt;160&gt; 5

&lt;170&gt; SeqWin2010, version 1.0

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 1372

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Blautia stercoris

&lt;400&gt; 1

tgcaagt cga gcgaagcgct tacgacagaa cttcgggg aagatgttaa ggactgagcg 60

gcggacgggt gagtaacgcg tggtaacct gcctataca ggggataac agttggaaac 120

ggctgtaat accgcataag cgcacggat cgcatac acgtgtaaaa actccgtgg 180

tatgagatgg acccgctt gattagctt ttggagggt aacggccac caaggcgacg 240

atcagttagcc ggcctgagag ggtgaacggc cacattggta ctgagacacg gcccagactc 300

ctacgggagg cagcagtggg gaatattgca caatggggaa aaccctgtt cagcgacgcc 360

gcgtgaagga agaagtatct cggtatgtaa acttctatca gcaggagaaga aaatgacggt 420  
 acctgactaa gaagccccgg ctaactacgt gccagcagcc gcgtaatac gtagggggca 480  
 agcgttatcc ggatttactg ggtgtaaagg gagcgtagac ggaagagcaa gtctgtatg 540  
 aaaggctggg gcttaacccc aggactgcat tggaaactgt tttcttgag tgccggagag 600  
 gtaagcggaa ttccctgtgt agcggtgaaa tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc 660

gaaggcggct tactggacgg taactgacgt tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg 720  
 attagataacc ctggtagtcc acgcccgtaaa cgatgaatac tagtgttgg ggagcaaaagc 780  
 tcttcggtgc cgtagcaaac gcaataagta ttccacctgg ggagtacgtt cgcaagaatg 840  
 aaactcaaaag gaattgacgg ggacccgcac aagcgttgg gcatgtggtt taattcgaag 900  
 caacgcgaag aacccatcca agtcttgaca tcgatctgac cggttctgaa tggaacctt 960  
 ccttcggac agagaagaca ggtggtgeat ggttgcgtc agtcgtgtc gtgagatgtt 1020  
 gggtaagtc ccgcaacgag cgcaacccct atcctcagta gccagcaggt gaagctggc 1080

actctgtgga gactgccagg gataaacctgg aggaaggcgg ggacgacgtc aaatcatcat 1140  
 gccccttatg atttggcta cacacgtgt acaatggcgt aaacaaagg aagcgagccc 1200  
 gcgagggggga gcaaatccca aaaataacgt cccagttcggt actgcagtct gcaactcgac 1260  
 tgcacgaagc tggaatcgct agtaatcgcg aatcagaatg tcgcggtgaa tacgttcccg 1320  
 ggtttgtac acaccggcccg tcacaccatg ggagtcatgta acgcccgaag tc 1372

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 1438

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Blautia wexlerae

&lt;220&gt;&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; 19

&lt;223&gt; 'n' is a, c, g or t

&lt;220&gt;

&gt;&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; 19

&lt;223&gt; 'n' is a, c, g or t

&lt;400&gt; 2

caagtcaac gggattttt ttattgaaac ttccgtcgat ttaattttat tctagtggcg 60  
 gacgggtgag taacgcgtgg gtaacctgcc ttatacagg ggataacagt cagaaatggc 120  
 tgctataacc gcataagcgc acagagctgc atggctcagt gtgaaaaact ccgggtgtat 180  
 aagatggacc cgcgttggat tagcttggt gttgggttaac ggcccaccaa ggcgacgatc 240

catagccgc ctgagagggt gaacggccac attggactg agacacggcc cagactccta 300  
 cgggaggcag cagtgggaa tattgcacaa tggggaaac cctgatgcag cgacgcccg 360

tgaaggaaga agtatctcg tatgtaaact tctatcagca gggaaatag tgacggtacc 420  
 tgactaagaa gccccggcta actacgtgcc agcagccg gtaatacgt aggggcaagc 480  
 gttatccgga ttactgggt gtaaaggag cgtacggt gtggcaagtc ttagtggaaa 540  
 ggcatggct caacctgtgg actgcattgg aaactgtcat acttgagtgc cggagggta 600  
 agcggaaattc ctatgttagc ggtgaaatgc gtagatatta ggaggaacac cagtggcga 660  
 ggcggcttac tggacgtaa ctgacgttga ggctgaaag cgtggggagc aaacaggatt 720  
 agataccctg gtatccacg ccgtaaacga tgaataacta ggtgtcggt ggcaaagcca 780  
 ttctgtgcgc tcgaaacgc agtaagtatt ccacctggg agtacgttcg caagaatgaa 840

actcaaagga attgacggg acccgacaa gcggggagc atgtggttt attcgaagca 900  
 acgcgaagaa ctttaccaag tcttgacatc cgcctgaccg atccttaacc ggatcttcc 960  
 ttcgggacag gcggacagg tggatgttgc tttgtgtcag ctgtgtcgt gagatgttgg 1020  
 gttaagtccc gcaacgagcg caacccctat cctcagtagc cagcattaa ggtggcact 1080  
 ctggggagac tgccaggat aacctggagg aaggcgggaa tgacgtcaaa tcatcatgcc 1140  
 ccttatgatt tggctacac acgtgtaca atggctaaa caaggaaag cgagattgtg 1200  
 agatggagca aatccaaaa ataacgtccc agttcggact gtatctgca acccgactac 1260

acgaagctgg aatcgctagt aatcgccgt cagaatgccg cggtaatac gttccgggt 1320  
 cttgtacaca ccggccgtca caccatggg gtcagtaacg cccgaagtca gtgacctaac 1380  
 tgcaaagaag gagctgccga aggccggacc gatgactgg gtgaagtctgt aacaagg 1438  
 <210> 3

<211> 1481

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> consensus 16s for Blautia stercoris

<400> 3

tttkgtctgg cttagatga acgctggcg cgtgttaac acatgcaagt cgagcgaagc 60  
 gcttacgaca gaaccttcgg gggaaatgt aaggactga gcccggacg ggtgagtaac 120  
 gcgtggtaa cctgcctcat acagggggat aacagtggg aacggctgt aataccgcat 180

aagcgcacag tatcgcatga tacagtgtga aaaactccgg tggatgaga tggaccccg 240  
 tctgattagc tagtggagg ggtaacggcc caccaaggcg acgtcgttga gccggctga 300

gagggtaaac gcccacattt ggactgagac acggccaga ctctacggg aggcagcgt 360  
 gggaaatatt gcacaatggg gaaaccctg atgcagcgac gccgcgtgaa ggaagaagta 420  
 tctcggtatg taaaacttcta tcagcaggaa agaaaatgac ggtacctgac taagaagccc 480  
 cggctaacta cgigccagca gccgcggtaa tacgtagggg gcaagcgtta tccggattta 540  
 ctgggtgtaa agggagcgta gacggaagag caagtctgat gtgaaaggct gggcttaac 600  
 cccaggactg cattggaaac tttttttt gagtgcggaa gaggttaagcg gaattcctag 660

tgtacggtg aaatgcgtat atattaggag gaacaccagt ggcgaaggcg cttaactgga 720  
 cggttaactga cgtttaggct cggaaagcgtg gggagcaac aggattagat accctggtag 780  
 tccacgcgt aaacgatgaa tactagggtg tggggagcaa agtcttcgg tgccgcagca 840  
 aacgcaataa gtattccacc tggggagttac gttcgcaaga atgaaactca aaggaattga 900  
 cggggacccg cacaaggcggt ggagcatgtg gtttattcga agcaacgcga agaaccttac 960  
 caagtcttga catcgatctg accggttcgt aatggAACCT ttccctcggg acagagaaga 1020  
 caggtgggtgc atggttgtcg tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag tcccgcaacg 1080

agcgcAACCC ctatcgtag tagccagcag gtAAAGCTGG gcactctgag gagactgcca 1140  
 gggataacct ggaggaaggc ggggacgcgc tcaaatcatc atgcccctta tgattggc 1200  
 tacacacgtg ctacaatggc gtAAACAAAG ggaagcgagc ccgcgagggg gagcaaattcc 1260  
 caaaaataac gtcccgatcc ggactgcagt ctgcaactcg actgcacgaa gctgaaatcg 1320  
 cttagtaatcg cgaatcagaa tgtcggtg aatacgttcc cgggtttgtt acacaccgcc 1380  
 cgtcacacca tgggagtcag taacgcccga agtcagtgac ccaaccttag ggagggagct 1440  
 ggcgaaggcggc ggattgtataa ctgggtgaa gtctaggggg t 1481

<210> 4

<211> 1384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> consensus 16s for Blautia wexlerae

<220><221> misc\_feature

<222> 749

<223> 'n' is a, c, g or t

<220><221> misc\_feature

<222> 749

<223> 'n' is a, c, g or t

<400> 4

ttcattgaga ctccgggta tttagattct atttctatgt gcggacgggt gagtaacgcg 60  
 tggtaacct gccttataca ggggataac agtcagaaat ggctgctaaccgcataag 120  
 cgcacagagc tgcatggctc agtgtaaaa actccggtgg tataagatgg acccgcttg 180  
 gattagctt tgggggt aacggccac caaggcgacg atccatagcc ggcctgagag 240

ggtaacggc cacattggga ctgagacacg gcccagactc ctacgggagg cagcagtggg 300  
 gaatattgca caatggggaa aaccctgatc cagcgcaccc gcgtgaagga agaagtatct 360  
 cggtatgtaa acttctatca gcagggaaaga tagtgcgtt acctgactaa gaagccccgg 420  
 ctaactacgt gccagcagcc gcggtaatac gttagggca agcgatatcc ggatttactg 480  
 ggtgtaaagg gaggtagac ggtgtggca gtcgtatgt aaaggcatgg gctcaacctg 540  
 tggactgcat tggaaactgt catactttag tgccggaggg gtaagcgaa ttccatgtt 600  
 agcgtgaaa tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc gaaggcgct tactggacgg 660  
 taactgacgt tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc 720

acgccgtaaa cgtatgaatac taggtgtcng gggagcatgg ctcttcggc ccgtcgaaa 780  
 cgcagtaagt attccacctg gggagtagt tcgcaagaat gaaactcaaa ggaatttgcg 840  
 gggacccgca caagcggtgg agcatgtggg ttaattcgaa gcaacgcgaa gaaccttacc 900  
 aagtcttgac atccgcctga ccgatcctt accggatctt tccttcggg cagggcgac 960  
 aggtggtgca tgggtgtcgt cagctgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga 1020  
 gcgcaacccc tatcctcagt agccagcatt taaggtggc actctgggaa gactgccagg 1080  
 gataaacctgg aggaaggcg ggatgacgtc aaatcatcat gccccttatg atttggctta 1140

cacacgtgct acaatggcgt aaacaaagg aagcgagatc gtgagatgg gcaaattcca 1200  
 aaaataacgt cccagttcgg actgtatct gcaacccgac tacacgaagc tgaaatcgct 1260  
 agtaatcgcg gatcagaatg ccgcggtaaa tacgttcccg ggtttgtac acaccggcc 1320  
 tcacaccatg ggagttagta acgcccgaag tcagtgcact aactgcaaag aaggagctgc 1380  
 cgaa 1384

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 1458

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Blautia hydrogenotrophica

&lt;220&gt;&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; 1416

&lt;223&gt; 'n' is a, c, g or t

&lt;220&gt;&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; 1416

&lt;223&gt; 'n' is a, c, g or t

&lt;400&gt; 5

gatgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcaac gaagcgatag agaacggaga 60  
 tttcggttga agtttctat tgactgagtg gcggacgggt gagtaacgcg tggtaacct 120  
 gccctataca ggggataac agttagaaat gactgtaat accgcataag cgcacagctt 180  
 cgcataaggc ggtgtaaaa actgaggtgg tataggatgg acccgcttg gattagctag 240  
 ttggtaggt aacggccac caaggcgacg atccatagcc ggcctgagag ggtgaacggc 300  
 cacatigggc ctgagacacg gcccaaactc ctacgggagg cagcagtggg gaatattgca 360

caatggggga aaccctgatg cagcgacgcc gcgtgaagga agaagtatct cggtatgtaa 420  
 acttctatca gcagggaaaga aagtgacggt acctgactaa gaagccccgg ctaattacgt 480  
 gcccagcagcc gcggtaatac gtaagggca agcggttatcc ggatttactg ggttaaagg 540  
 gagcgttagac gtttggcaa gtctgatgtg aaaggcatgg gctcaacctg tggactgcat 600  
 tggaaactgt cagacttgag tgccggagag gcaagcgaa ttcttagtgtt acgggtgaaa 660  
 tgcgttagata ttaggaggaa caccagtggc gaaggcgcc tgctggacgg taactgacgt 720  
 tgaggctcga aagcgtggg agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc acgctgtaaa 780  
 cgatgaatac taggtgtcgg gtggcaaagc cattcggtgc cgccagcaac gcaataagta 840

ttcccacctg gggagtacgt tcgcaagaat gaaactcaa ggaattgacg gggacccgca 900  
 caagcggtgg agcatgtggt ttaattcgaa gcaacgcgaa gaaccttacc aaatcttgc 960  
 atccctctga ccggaaagta atgttccctt ttcttcggaa cagaggagac aggtggtgca 1020  
 tggttgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga ggcacaccct 1080  
 tattcttagt agccagcagg tagagctggg cactctaggg agactgccag ggataacctg 1140  
 gaggaaggtg gggatgacgt caaatcatca tgccccttat gattggct acacacgtgc 1200  
 tacaatggcg taaacaaagg gaagcgaaagg ggtgacctgg agcaaatctc aaaaataacg 1260

tctcagttcg gattgttagtc tgcaactcga ctacatgaag ctggaatcgc tagtaatcgc 1320  
 gaatcagaat gtcgcgtga atacgttccc gggcttgcata cacaccgccc gtcacaccat 1380  
 gggagtcgt aacgcccggaa gtcagtgacc caaccnaaag gagggagctg ccgaagggtgg 1440  
 gactgataac tgggtga 1458