(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-548581
(P2023-548581A)
(43)公表日　令和5年11月17日(2023.11.17)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）	
C12N	*7/01 (2006.01)*	C12N	7/01	ZNA	4B065
C12N	*15/78 (2006.01)*	C12N	15/78	Z	4C087
C12N	*15/55 (2006.01)*	C12N	15/55		
A61P	*31/04 (2006.01)*	A61P	31/04		
A61K	*35/76 (2015.01)*	A61K	35/76		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全197頁）

(21)出願番号　特願2023-527227(P2023-527227)
(86)(22)出願日　令和3年11月4日(2021.11.4)
(85)翻訳文提出日　令和5年7月7日(2023.7.7)
(86)国際出願番号　PCT/US2021/058123
(87)国際公開番号　WO2022/098916
(87)国際公開日　令和4年5月12日(2022.5.12)
(31)優先権主張番号　63/110,288
(32)優先日　令和2年11月5日(2020.11.5)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/184,728
(32)優先日　令和3年5月5日(2021.5.5)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA
最終頁に続く

(71)出願人　520429509
ローカス バイオサイエンシーズ，インク．
アメリカ合衆国 ２７５６０ ノースカロライナ州 モリスビル デイビス・ドライブ ５２３ スイート ３５０
(74)代理人　110003797
弁理士法人清原国際特許事務所
(72)発明者　ガロフォロ，ポール
アメリカ合衆国 ２７５６０ ノースカロライナ州 モリスビル デイビス・ドライブ ５２３ スイート ３５０
(72)発明者　オースターアウト，デビッド ジー．
アメリカ合衆国 ２７５６０ ノースカロライナ州 モリスビル デイビス・ドライ
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＣＲＩＳＰＲ－ＣＡＳ系を含むシュードモナスに対するファージ組成物およびその使用方法

(57)【要約】
本明細書には、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むシュードモナス種を標的とするファージ組成物、およびその使用方法が開示される。
【選択図】図１８Ｄ

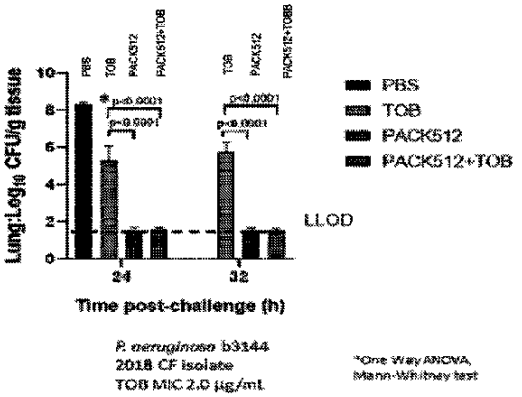


Fig. 18D

【特許請求の範囲】
【請求項１】
（ａ）シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むＣＲＩＳＰＲアレイと、
（ｂ）カスケードポリペプチドと、
（ｃ）Ｃａｓ３ポリペプチドと
を含むＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージ。
【請求項２】
前記ＣＲＩＳＰＲアレイが、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を有するプロモータ配列を含む、請求項１に記載のバクテリオファージ。
【請求項３】
前記ＣＲＩＳＰＲアレイが、配列番号８８～１１６または３１～７４のいずれか１つに対して少なくとも９０％の同一性を有するスペーサ配列を含む、請求項１または２に記載のバクテリオファージ。
【請求項４】
修飾されたｐ１１０６、ｐ１８３５、ｐ１７７２、またはｐ２１３１ファージである、請求項１または２に記載のバクテリオファージ。
【請求項５】
請求項１または２に記載のバクテリオファージを含むバクテリオファージ組成物であって、ｐ１６９５ｗｔバクテリオファージおよび／またはｐ４４３０ｗｔバクテリオファージをさらに含む、バクテリオファージ組成物。
【請求項６】
前記カスケードポリペプチドが、Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、またはＩ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系のカスケード複合体を形成する、請求項１または２に記載のバクテリオファージ。
【請求項７】
前記カスケード複合体が、
（ｉ）Ｃａｓ５ｄポリペプチド、Ｃａｓ８ｃポリペプチド、およびＣａｓ７ポリペプチド（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｉｉ）Ｃａｓ６ｂポリペプチド、Ｃａｓ８ｂポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、およびＣａｓ５ポリペプチド（Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｉｉｉ）Ｃａｓ３が、ヌクレアーゼ活性を有していないＣａｓ３’ポリペプチドおよびＣａｓ３”ポリペプチドを含む、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ８ａ１ポリペプチドもしくはＣａｓ８ａ２ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、Ｃｓａ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ａポリペプチド（Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｉｖ）Ｃａｓ１０ｄポリペプチド、Ｃｓｃ２ポリペプチド、Ｃｓｃ１ポリペプチド、Ｃａｓ６ｄポリペプチド（Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｖ）Ｃｓｅ１ポリペプチド、Ｃｓｅ２ポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ｅポリペプチド（Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、または
（ｖｉ）Ｃｓｙ１ポリペプチド、Ｃｓｙ２ポリペプチド、Ｃｓｙ３ポリペプチド、およびＣｓｙ４ポリペプチド（Ｉ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）
を含む、請求項１または２に記載のバクテリオファージ。
【請求項８】
前記カスケード複合体が、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７ポリペプチド（任意選択で配列番号８２）（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む、請求項１または２に記載のバクテリオファージ。

【請求項９】
前記Ｃａｓ３ポリペプチドが、配列番号７９に対して少なくとも約９０％同一である配列を含む、請求項１または２に記載のバクテリオファージ。
【請求項１０】
前記シュードモナス種の複数のバクテリア菌株を感染させる、請求項１または２に記載のバクテリオファージ。
【請求項１１】
ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス、Ｓａｍｕｎａウイルス、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス、Ａｂｉｄｊａｎウイルス、Ｂａｉｋａｌウイルス、Ｂｅｅｔｒｅウイルス、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス、Ｃｉｔｅｘウイルス、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス、Ｅｌウイルス、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス、Ｌｉｔｕｎａウイルス、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス、Ｎｉｐｕｎａウイルス、Ｐａｋｐｕｎａウイルス、Ｐａｍｅｘウイルス、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス、Ｐｈｉｔｒｅウイルス、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス、Ｙｕａウイルス、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルス、もしくはＰｂｕｎａウイルス、またはそれらの２つ以上の組合せを含む、請求項１または２に記載のバクテリオファージ。
【請求項１２】
シュードモナス種を死滅させる方法であって、標的となる細菌に対して、請求項１または２に記載のバクテリオファージからＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を導入する工程を含み、標的となるヌクレオチド配列は前記シュードモナス種に存在する、方法。
【請求項１３】
疾患または疾病の処置を必要とする対象の疾患または疾病を処置する方法であって、請求項１または２に記載のバクテリオファージを個体に投与する工程を含み、前記対象はシュードモナス種に感染している、方法。
【請求項１４】
疾患または疾病の処置を必要とする対象の疾患または疾病を処置する方法であって、個体にｐ１６９５ｗｔバクテリオファージおよび／またはｐ４４３０ｗｔバクテリオファージを投与する工程を含む方法。
【請求項１５】
前記対象がシュードモナス種に感染している、請求項１４に記載の方法。
【請求項１６】
前記疾患または疾病が細菌感染症である、請求項１３または１４に記載の方法。
【請求項１７】
前記細菌感染症が、嚢胞性線維症または非嚢胞性線維症性気管支拡張症に関連する、請求項１６に記載の方法。
【請求項１８】
前記シュードモナス種が、薬剤耐性のシュードモナス種である、請求項１２、１３、または１５に記載の方法。
【請求項１９】
前記薬剤耐性のシュードモナス種が、少なくとも１つの抗生物質に対し耐性を示す、請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
前記シュードモナス種が、多剤耐性のシュードモナス種である、請求項１２、１３、または１５に記載の方法。
【請求項２１】
前記多剤耐性のシュードモナス種が、少なくとも１つの抗生物質に対し耐性を示す、請求項１８に記載の方法。
【請求項２２】

前記抗生物質が、セファロスポリン、フルオロキノロン、カルバペネム、コリスチン、アミノグリコシド、バンコマイシン、ストレプトマイシン、またはメチシリンを含む、請求項１９または２１に記載の方法。
【請求項２３】
前記シュードモナス種が緑膿菌である、請求項１２、１３、または１５に記載の方法。
【請求項２４】
前記バクテリオファージが、偏性溶菌性バクテリオファージ、または溶菌性を与えられた溶原バクテリオファージである、請求項１２、１３、または１５に記載の方法。
【請求項２５】
前記シュードモナス種が、前記バクテリオファージの溶菌活性および／または前記ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性により死滅させられる、請求項２４に記載の方法。
【請求項２６】
前記バクテリオファージの溶菌活性および／または前記ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性が相乗的である、請求項２４または２５に記載の方法。
【請求項２７】
配列番号８３、または配列番号８３に対して少なくとも約８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％同一の配列を含む核酸。
【請求項２８】
配列番号２５、または配列番号２５に対して少なくとも約８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％同一の配列を含む核酸。
【請求項２９】
請求項２７または２８に記載の核酸を含むバクテリオファージ。
【請求項３０】
ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ２１３１ｅ００２、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性含むバクテリオファージであって、組換え型であるバクテリオファージ。
【請求項３１】
（ａ）ＣＲＩＳＰＲアレイと、
（ｂ）シュードモナス種中の１つまたは複数の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むカスケードポリペプチドと、
（ｃ）Ｃａｓ３ポリペプチドと
を含む、請求項２９または３０に記載のバクテリオファージ。
【請求項３２】
前記１つまたは複数のスペーサ配列が、配列番号１２、１６、および２０のうち少なくとも１つを含む、請求項３１に記載のバクテリオファージ。
【請求項３３】
（ａ）シュードモナス種中の１つまたは複数の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むＣＲＩＳＰＲアレイであって、前記１つまたは複数のスペーサ配列は配列番号１２、１６、および２０のうち少なくとも１つを含む、ＣＲＩＳＰＲアレイと、
（ｂ）カスケードポリペプチドと、
（ｃ）Ｃａｓ３ポリペプチドと
を含むＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージ。
【請求項３４】

前記ＣＲＩＳＰＲアレイが配列番号１２を含む、請求項３２または請求項３３に記載のバクテリオファージ。
【請求項３５】
前記ＣＲＩＳＰＲアレイが配列番号１６を含む、請求項３２または請求項３３に記載のバクテリオファージ。
【請求項３６】
前記ＣＲＩＳＰＲアレイが配列番号２０を含む、請求項３２または請求項３３に記載のバクテリオファージ。
【請求項３７】
配列番号１２、１６、および２０を含む、請求項３２または３３に記載のバクテリオファージ。
【請求項３８】
前記ＣＲＩＳＰＲアレイが、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を有するプロモータ配列を含む、請求項３１から３７のいずれか一項に記載のバクテリオファージ。
【請求項３９】
前記カスケードポリペプチドが、Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、またはＩ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系のカスケード複合体を形成する、請求項３１から３８のいずれか一項に記載のバクテリオファージ。
【請求項４０】
前記カスケード複合体が、
（ｉ）Ｃａｓ５ｄポリペプチド、Ｃａｓ８ｃポリペプチド、およびＣａｓ７ポリペプチド（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｉｉ）Ｃａｓ６ｂポリペプチド、Ｃａｓ８ｂポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、およびＣａｓ５ポリペプチド（Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｉｉｉ）Ｃａｓ３が、ヌクレアーゼ活性を有していないＣａｓ３’ポリペプチドおよびＣａｓ３”ポリペプチドを含む、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ８ａ１ポリペプチドもしくはＣａｓ８ａ２ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、Ｃｓａ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ａポリペプチド（Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｉｖ）Ｃａｓ１０ｄポリペプチド、Ｃｓｃ２ポリペプチド、Ｃｓｃ１ポリペプチド、Ｃａｓ６ｄポリペプチド（Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｖ）Ｃｓｅ１ポリペプチド、Ｃｓｅ２ポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ｅポリペプチド（Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、または
（ｖｉ）Ｃｓｙ１ポリペプチド、Ｃｓｙ２ポリペプチド、Ｃｓｙ３ポリペプチド、およびＣｓｙ４ポリペプチド（Ｉ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）
を含む、請求項３９に記載のバクテリオファージ。
【請求項４１】
前記カスケード複合体が、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７ポリペプチド（任意選択で配列番号８２）（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む、請求項４０に記載のバクテリオファージ。
【請求項４２】
配列番号８３、または配列番号８３に対して少なくとも約８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％同一の配列を含む、請求項２９から４１のいずれか一項に記載のバクテリオファージ。
【請求項４３】
配列番号２５、または配列番号２５に対して少なくとも約８０％、８１％、８２％、８

３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％同一の配列を含む、請求項２９から４２のいずれか一項に記載のバクテリオファージ。
【請求項４４】
ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ２１３１ｅ００２、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８５％または９０％の同一性を含む、請求項２９から４３のいずれか一項に記載のバクテリオファージ。
【請求項４５】
（ａ）ｐ１１０６ｅ００３に対して少なくとも８０％の配列同一性を含む第１のバクテリオファージと、
（ｂ）ｐ１８３５ｅ００２に対して少なくとも８０％の配列同一性を含む第２のバクテリオファージと、
（ｃ）ｐ１７７２ｅ００５に対して少なくとも８０％の配列同一性を含む第３のバクテリオファージと、
（ｄ）ｐ２１３１ｅ００２に対して少なくとも８０％の配列同一性を含む第４のバクテリオファージと
を含む、請求項２９から４４のいずれか一項に記載のバクテリオファージ。
【請求項４６】
ｐ１６９５に対して少なくとも８０％の配列同一性を含む第５のバクテリオファージをさらに含む、請求項４５に記載のバクテリオファージ。
【請求項４７】
ｐ４４３０に対して少なくとも８０％の配列同一性を含む第５のバクテリオファージをさらに含む、請求項４５に記載のバクテリオファージ。
【請求項４８】
ｐ１６９５に対して少なくとも８０％の配列同一性を含む第６のバクテリオファージをさらに含む、請求項４７に記載のバクテリオファージ。
【請求項４９】
シュードモナスの標的細菌を死滅させる方法であって、請求項２７もしくは２８に記載の核酸、または請求項２９から４８のいずれか一項に記載のバクテリオファージを、シュードモナスの標的細菌の死滅を必要とする対象に投与する工程を含む方法。
【請求項５０】
疾患または疾病の処置を必要とする対象の疾患または疾病を処置する方法であって、請求項２７もしくは２８に記載の核酸、または請求項２９から４８のいずれか一項に記載のバクテリオファージを前記対象に投与する工程を含む方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願への相互参照
本出願は、２０２０年１１月５日出願の米国仮特許出願第６３／１１０，２８８号および２０２１年５月５日出願の米国仮特許出願第６３／１８４，７２８号に基づく利益を主張するものであり、これら仮出願はともに、参照により本明細書に援用される。
【０００２】
配列表
本出願は、ＡＳＣＩＩフォーマットで電子的に提出され、参照により本明細書で援用される配列表を含んでいる。２０２１年１０月２７日に作製された上記のＡＳＣＩＩコピーは、５３２４０－７４３＿６０１＿ＳＬ．ｔｘｔと命名され、７１，７７４バイトのサイズである。
【発明の概要】
【０００３】
本明細書中の特定の実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むファージ組成物およ

びその使用方法が開示される。

【０００４】

本明細書中の特定の実施形態では、シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むＣＲＩＳＰＲアレイと、カスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとを含むＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージが開示される。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のスペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、少なくとも１つの反復配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１つの反復配列は、その５’末端または３’末端のいずれかにおいて１つまたは複数のスペーサ配列に操作可能に連結される。いくつかの実施形態では、反復配列は、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、図１Ａ～図１Ｅ、または配列番号８３～８７に記載される配列に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、コーディング配列を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、非コーディングまたは遺伝子間配列を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、プロモータ配列のすべてまたは一部を含む。いくつかの実施形態では、プロモータ配列は、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、必須遺伝子の転写された領域のコーディング鎖に位置するヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含む。いくつかの実施形態では、必須遺伝子は、Ｔｓｆ、ａｃｐＰ、ｇａｐＡ、ｉｎｆＡ、ｓｅｃＹ、ｃｓｒＡ、ｔｒｍＤ、ｆｔｓＡ、ｆｕｓＡ、ｇｌｙＱ、ｅｎｏ、ｎｕｓＧ、ｄｎａＡ、ｄｎａＳ、ｐｈｅＳ、ｒｐｌＢ、ｇｌｔＸ、ｈｉｓＳ、ｒｐｌＣ、ａｓｐＳ、ｇｙｒＢ、ｇｌｎＳ、ｄｎａＥ、ｒｐｏＡ、ｒｐｏＢ、ｐｈｅＴ、ｉｎｆＢ、ｒｐｓＣ、ｒｐｌＦ、ａｌａＳ、ｌｅｕＳ、ｓｅｒＳ、ｒｐｌＤ、ｇｙｒＡ、ｇｌｍＳ、ｆｕｓ、ａｄｋ、ｒｐｓＫ、ｒｐｌＲ、ｃｔｒＡ、ｐａｒＣ、ｔＲＮＡ－Ｓｅｒ、ｔＲＮＡ－Ａｓｎ、またはｍｅｔＫである。いくつかの実施形態では、カスケードポリペプチドは、Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、またはＩ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系のカスケード複合体を形成する。いくつかの実施形態では、カスケード複合体は、（ｉ）Ｃａｓ３が、ヌクレアーゼ活性を有していないＣａｓ３’ポリペプチドおよびＣａｓ３”ポリペプチドを含む、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ８ａ１ポリペプチドもしくはＣａｓ８ａ２ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、Ｃｓａ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ａポリペプチド（Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｉｉ）Ｃａｓ６ｂポリペプチド、Ｃａｓ８ｂポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、およびＣａｓ５ポリペプチド（Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｉｉｉ）Ｃａｓ５ｄポリペプチド、Ｃａｓ８ｃポリペプチド、およびＣａｓ７ポリペプチド（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｉｖ）Ｃａｓ１０ｄポリペプチド、Ｃｓｃ２ポリペプチド、Ｃｓｃ１ポリペプチド、Ｃａｓ６ｄポリペプチド（Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｖ）Ｃｓｅ１ポリペプチド、Ｃｓｅ２ポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ｅポリペプチド（Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｖｉ）Ｃｓｙ１ポリペプチド、Ｃｓｙ２ポリペプチド、Ｃｓｙ３ポリペプチド、およびＣｓｙ４ポリペプチド（Ｉ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む。いくつかの実施形態では、カスケード複合体は、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７ポリペプチド（任意選択で配列番号８２）（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む。いくつかの実施形態では、核酸配列は、プロモータ配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、バクテリオファージの溶菌活性だけで死滅させられる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性だけで死滅させられる。いくつかの実施形態

では、シュードモナス種は、バクテリオファージの溶菌活性とＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性との組合せにより死滅させられる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、バクテリオファージの溶菌活性とは無関係に、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性により死滅させられる。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性は、バクテリオファージの溶菌活性を補充するかまたは増強する。いくつかの実施形態では、バクテリオファージの溶菌活性、およびＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性は、相乗的である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージの溶菌活性、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性、またはその両方は、バクテリオファージの濃度により調節される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、複数のバクテリア菌株を感染させる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、偏性溶菌性（ｏｂｌｉｇａｔｅ　ｌｙｔｉｃ）バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、溶菌性を与えられた溶原バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、溶原バクテリオファージは、溶原性遺伝子の除去、交換、または不活性化により溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス（Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅｖｉｒｕｓ）、Ｓａｍｕｎａウイルス（Ｓａｍｕｎａｖｉｒｕｓ）、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス（Ｎａｎｋｏｋｕｖｉｒｕｓ）、Ａｂｉｄｊａｎウイルス（Ａｂｉｄｊａｎｖｉｒｕｓ）、Ｂａｉｋａｌウイルス（Ｂａｉｋａｌｖｉｒｕｓ）、Ｂｅｅｔｒｅウイルス（Ｂｅｅｔｒｅｖｉｒｕｓ）、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス（Ｃａｓａｄａｂａｎｖｉｒｕｓ）、Ｃｉｔｅｘウイルス（Ｃｉｔｅｘｖｉｒｕｓ）、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス（Ｄｅｔｒｅｖｉｒｕｓ）、Ｅｌウイルス（Ｅｌｖｉｒｕｓ）、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス（Ｈｏｌｌｏｗａｙｖｉｒｕｓ）、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス（Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕｖｉｒｕｓ）、Ｌｉｔｕｎａウイルス（Ｌｉｔｕｎａｖｉｒｕｓ）、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス（Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａｖｉｒｕｓ）、Ｎｉｐｕｎａウイルス（Ｎｉｐｕｎａｖｉｒｕｓ）、Ｐａｋｐｕｎａウイルス（Ｐａｋｐｕｎａｖｉｒｕｓ）、Ｐａｍｅｘウイルス（Ｐａｍｅｘｖｉｒｕｓ）、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス（Ｐａｕｎｄｅｃｉｍｖｉｒｕｓ）、Ｐｈｉｔｒｅウイルス（Ｐｈｉｔｒｅｖｉｒｕｓ）、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス（Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉｖｉｒｕｓ）、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス（Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅｖｉｒｕｓ）、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス（Ｓｔｕｂｂｕｒｖｉｒｕｓ）、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス（Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉｖｉｒｕｓ）、Ｙｕａウイルス（Ｙｕａｖｉｒｕｓ）、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルス（Ｚｉｃｏｔｒｉａｖｉｒｕｓ）、またはＰｂｕｎａウイルス（Ｐｂｕｎａｖｉｒｕｓ）のバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナスを感染させるバクテリオファージから操作される。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージには、表５Ａに列記される野生型Ｐｂｕｎａウイルスファージのサブタイプが挙げられ、このファージは、プラス記号（＋）で印付けられるように標的となるシュードモナスを感染させる（例えば、ファージｐ１１０６はｂ００２５４８を感染させる）。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージには、表５Ａに列記される操作されたＰｂｕｎａウイルスファージのサブタイプが挙げられ、このファージは、プラス記号（＋）で印付けられるように標的となるシュードモナスを感染させる（例えば、ｐ１１０６ｅ００３はｂ００２５４８を感染させる）。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージには、例えば表５Ｂに列記される、野生型Ｓａｍｕｎａウイルスのファージサブタイプ、操作されたＳａｍｕｎａウイルスのファージサブタイプ、野生型ＰｈｉＫＺウイルス、野生型ＰｈｉＫＭＶウイルス、または野生型Ｂｒｕｙｎｏｇｈｅウイルスが挙げられ、このファージは、プラス記号（＋）で印付けられるように標的となるシュードモナスを感染させる。表５Ａに列記されるように、野生型Ｐｂｕｎａウイルスのファージサブタイプは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、および／またはｐｂ１であり得、一方で操作されたＰｂｕｎａウイルスのファージサブタイプは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２３６３ｅ００３、および／またはｐ２４２１ｅ００２であり得る。表５Ｂに列記されるように

、野生型Ｓａｍｕｎａウイルスのファージサブタイプは、ｐ１７７２、ｐ２１３１、ｐ２１３２、および／またはｐ２９７３であり得、操作されたＳａｍｕｎａウイルスのファージサブタイプは、ｐｂ１ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３２ｅ００２、および／またはｐ２９７３ｅ００２であり得、野生型ＰｈｉＫＺウイルスのファージサブタイプは、ｐ１１９４および／またはｐ４４３０であり得、野生型ＰｈｉＫＭＶウイルスのファージサブタイプはｐ２１６７であり得、野生型Ｂｒｕｙｎｏｇｈｅウイルスのファージサブタイプはｐ１６９５およびｐ３２７８であり得る。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｎａｎｋｏｋｕウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、シュードモナスを死滅させる。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、黄色ブドウ球菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、黄色ブドウ球菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、黄色ブドウ球菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、黄色ブドウ球菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、肺炎桿菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、肺炎桿菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、肺炎桿菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、肺炎桿菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロコッカス・フェシウムを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロコッカス・フェシウムを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロコッカス・フェシウムを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、エンテロコッカス・フェシウムを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロバクター・クロアカを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロバクター・クロアカを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロバクター・クロアカを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、エンテロバクター・クロアカを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、アシネトバクター・バウマニを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、アシネトバクター・バウマニを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、アシネトバクター・バウマニを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、アシネトバクター・バウマニを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、表皮ブドウ球菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、表皮ブドウ球菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、表皮ブドウ球菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、表皮ブドウ球菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、バクテリオファージの組合せは、シュードモナスを感染させる。非限定的な例として、組合せは、表５Ａのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を感染させる。非限定的な例として、組合せは、表５Ｂのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を感染させる。非限定的な例として、組

合せは、表６Ｂのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を感染させる。いくつかの実施形態、バクテリオファージの組合せは、シュードモナスを死滅させる。非限定的な例として、組合せは、表５Ａのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を死滅させる。非限定的な例として、組合せは、表５Ｂのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を死滅させる。非限定的な例として、組合せは、表６Ｂのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を死滅させる。

【０００５】

いくつかの実施形態では、１つまたは複数のバクテリオファージを含むカクテル系が提供される。いくつかの実施形態では、カクテル系に含まれるバクテリオファージは、ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、もしくはＰＢ１のうちいずれか１つ、またはそれらの２つ以上のファージを含む。いくつかの実施形態では、本明細書中で使用されるバクテリオファージカクテル系は、ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、およびＰＢ１からなる群から選択される１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、またはそれより多くを含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、およびＰＢ１から選択されるバクテリオファージに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有するバクテリオファージである。いくつかの実施形態では、本明細書中で使用されるバクテリオファージカクテル系におけるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１１０６ｗｔ、ｐ１１９４ｗｔ、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１５８７ｗｔ、ｐ１６９５ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１８３５ｗｔ、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２０３７ｗｔ、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３１ｗｔ、ｐ２１３２ｅ００２、ｐ２１３２ｗｔ、ｐ２１６７ｗｔ、ｐ２３６３ｅ００３、ｐ２３６３ｗｔ、ｐ２４２１ｅ００２、ｐ２４２１ｗｔ、ｐ２９７３ｅ００２、ｐ２９７３ｗｔ、ｐ３２７８ｗｔ、ｐ４４３０ｗｔ、ＰＢ１ｅ００２、またはＰＢ１ｗｔのうちいずれか１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、またはそれより多くを含む。いくつかの実施形態では、本明細書中で使用されるバクテリオファージカクテル系におけるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１１０６ｗｔ、ｐ１１９４ｗｔ、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１５８７ｗｔ、ｐ１６９５ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１８３５ｗｔ、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２０３７ｗｔ、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３１ｗｔ、ｐ２１３２ｅ００２、ｐ２１３２ｗｔ、ｐ２１６７ｗｔ、ｐ２３６３ｅ００３、ｐ２３６３ｗｔ、ｐ２４２１ｅ００２、ｐ２４２１ｗｔ、ｐ２９７３ｅ００２、ｐ２９７３ｗｔ、ｐ３２７８ｗｔ、ｐ４４３０ｗｔ、ＰＢ１ｅ００２、もしくはＰＢ１ｗｔ、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有するバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態では、本明細書中で使用されるバクテリオファージカクテル系におけるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ

００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ１１９４、ｐ４４３０、およびｐ１６９５のうちいずれか１つまたは複数を含む。いくつかの実施形態では、核酸配列は、適所に、または非必須バクテリオファージ遺伝子に隣接して挿入される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、およびｐ２１３１ｅ００２からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、本明細書中で使用されるバクテリオファージカクテル系におけるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、およびｐ１１９４のうちいずれか１つまたは複数を含む。いくつかの実施形態では、本明細書中で使用されるバクテリオファージカクテル系におけるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、およびｐ４４３０のうちいずれか１つまたは複数を含む。いくつかの実施形態では、本明細書中で使用されるバクテリオファージカクテル系におけるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、およびｐ１６９５のうちいずれか１つまたは複数を含む。いくつかの実施形態では、本明細書中で使用されるバクテリオファージカクテル系におけるバクテリオファージは、ｅｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ１１９４、およびｐ１６９５のうちいずれか１つまたは複数を含む。いくつかの実施形態では、本明細書中で使用されるバクテリオファージカクテル系におけるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５のうちいずれか１つまたは複数を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージカクテル系は、ＣＫ０００５１２のバクテリオファージ（ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５）を含む。

【０００６】

本明細書中の特定の実施形態では、医薬組成物であって、（ａ）本明細書に記載のバクテリオファージと、（ｂ）薬学的に許容可能な賦形剤とを含む医薬組成物が開示される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス、Ｓａｍｕｎａウイルス、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス、Ａｂｉｄｊａｎウイルス、Ｂａｉｋａｌウイルス、Ｂｅｅｔｒｅウイルス、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス、Ｃｉｔｅｘウイルス、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス、Ｅｌウイルス、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス、Ｌｉｔｕｎａウイルス、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス、Ｎｉｐｕｎａウイルス、Ｐａｋｐｕｎａウイルス、Ｐａｍｅｘウイルス、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス、Ｐｈｉｔｒｅウイルス、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス、Ｙｕａウイルス、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルス、およびＰｂｕｎａウイルスの中から選択される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は少なくとも６つのバクテリオファージを含み、バクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ１１９４、およびｐ１６９５のファージの中から選択される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は少なくとも６つのバクテリオファージを含み、本明細書中で使用されるバクテリオファージカクテル系におけるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５のうちいずれか１つまたは複数を含む。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、錠剤、液体、シロップ、経口製剤、静脈内製剤、鼻腔内製剤、眼製剤、耳製剤、皮下製剤、吸入可能な呼吸器製剤、坐薬、凍結乾燥製剤、噴霧化可能な製剤、およびそれらのあらゆる組合せの形態にある。一実施形態では、医薬組成物は、肺送達用の噴霧化可能な製剤中に、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５を含む。

【０００７】

本明細書中の特定の態様では、シュードモナス種を死滅させる方法であって、バクテリ

オファージからＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を、標的細菌へと導入する工程を含んでおり、核酸は、シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むＣＲＩＳＰＲアレイと、カスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとを含んでいる、方法が開示される。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のスペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、少なくとも１つの反復配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１つの反復配列は、その５’末端または３’末端のいずれかにおいて１つまたは複数のスペーサ配列に操作可能に連結される。いくつかの実施形態では、反復配列は、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、図１Ａ～図１Ｅ、または配列番号８３～８７に記載される配列に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、コーディング配列を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、非コーディングまたは遺伝子間配列を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、プロモータ配列のすべてまたは一部を含む。いくつかの実施形態では、プロモータ配列は、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、必須遺伝子の転写された領域のコーディング鎖に位置するヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含む。いくつかの実施形態では、必須遺伝子は、Ｔｓｆ、ａｃｐＰ、ｇａｐＡ、ｉｎｆＡ、ｓｅｃＹ、ｃｓｒＡ、ｔｒｍＤ、ｆｔｓＡ、ｆｕｓＡ、ｇｌｙＱ、ｅｎｏ、ｎｕｓＧ、ｄｎａＡ、ｄｎａＳ、ｐｈｅＳ、ｒｐｌＢ、ｇｌｔＸ、ｈｉｓＳ、ｒｐｌＣ、ａｓｐＳ、ｇｙｒＢ、ｇｌｎＳ、ｄｎａＥ、ｒｐｏＡ、ｒｐｏＢ、ｐｈｅＴ、ｉｎｆＢ、ｒｐｓＣ、ｒｐｌＦ、ａｌａＳ、ｌｅｕＳ、ｓｅｒＳ、ｒｐｌＤ、ｇｙｒＡ、ｇｌｍＳ、ｆｕｓ、ａｄｋ、ｒｐｓＫ、ｒｐｌＲ、ｃｔｒＡ、ｐａｒＣ、ｔＲＮＡ－Ｓｅｒ、ｔＲＮＡ－Ａｓｎ、またはｍｅｔＫである。いくつかの実施形態では、カスケードポリペプチドは、Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、またはＩ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系のカスケード複合体を形成する。いくつかの実施形態では、カスケード複合体は、（ｉ）Ｃａｓ３が、ヌクレアーゼ活性を有していないＣａｓ３’ポリペプチドおよびＣａｓ３”ポリペプチドを含む、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ８ａ１ポリペプチドもしくはＣａｓ８ａ２ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、Ｃｓａ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ａポリペプチド（Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｉｉ）Ｃａｓ６ｂポリペプチド、Ｃａｓ８ｂポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、およびＣａｓ５ポリペプチド（Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｉｉｉ）Ｃａｓ５ｄポリペプチド、Ｃａｓ８ｃポリペプチド、およびＣａｓ７ポリペプチド（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｉｖ）Ｃａｓ１０ｄポリペプチド、Ｃｓｃ２ポリペプチド、Ｃｓｃ１ポリペプチド、Ｃａｓ６ｄポリペプチド（Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｖ）Ｃｓｅ１ポリペプチド、Ｃｓｅ２ポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ｅポリペプチド（Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｖｉ）Ｃｓｙ１ポリペプチド、Ｃｓｙ２ポリペプチド、Ｃｓｙ３ポリペプチド、およびＣｓｙ４ポリペプチド（Ｉ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む。いくつかの実施形態では、カスケード複合体は、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７ポリペプチド（任意選択で配列番号８２）（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む。いくつかの実施形態では、核酸配列は、プロモータ配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性だけで死滅させられる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、バクテリオファージの溶菌活性とＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性との組合せにより死滅させられる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、バクテリオファージの溶菌活性とは無関係に、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性により死

滅させられる。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性は、バクテリオファージの溶菌活性を補充するかまたは増強する。いくつかの実施形態では、バクテリオファージの溶菌活性、およびＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性は、相乗的である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージの溶菌活性、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性、またはその両方は、バクテリオファージの濃度により調節される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、複数のバクテリア菌株を感染させる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、偏性溶菌性バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、溶菌性を与えられた溶原バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、溶原バクテリオファージは、溶原性遺伝子の除去、交換、または不活性化により溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス、Ｓａｍｕｎａウイルス、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス、Ａｂｉｄｊａｎウイルス、Ｂａｉｋａｌウイルス、Ｂｅｅｔｒｅウイルス、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス、Ｃｉｔｅｘウイルス、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス、Ｅｌウイルス、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス、Ｌｉｔｕｎａウイルス、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス、Ｎｉｐｕｎａウイルス、Ｐａｋｐｕｎａウイルス、Ｐａｍｅｘウイルス、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス、Ｐｈｉｔｒｅウイルス、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス、Ｙｕａウイルス、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルス、またはＰｂｕｎａウイルスのバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、バクテリオファージカクテルの一部である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージまたはバクテリオファージカクテルは、ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、もしくはＰＢ１、またはそれらの２つ以上のファージを含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、およびＰＢ１から選択されるバクテリオファージに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有するバクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージまたはバクテリオファージカクテルは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１１０６ｗｔ、ｐ１１９４ｗｔ、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１５８７ｗｔ、ｐ１６９５ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１８３５ｗｔ、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２０３７ｗｔ、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３１ｗｔ、ｐ２１３２ｅ００２、ｐ２１３２ｗｔ、ｐ２１６７ｗｔ、ｐ２３６３ｅ００３、ｐ２３６３ｗｔ、ｐ２４２１ｅ００２、ｐ２４２１ｗｔ、ｐ２９７３ｅ００２、ｐ２９７３ｗｔ、ｐ３２７８ｗｔ、ｐ４４３０ｗｔ、ＰＢ１ｅ００２、もしくはＰＢ１ｗｔ、またはそれらの２つ以上のファージを含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージまたはバクテリオファージカクテルは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１１０６ｗｔ、ｐ１１９４ｗｔ、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１５８７ｗｔ、ｐ１６９５ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１８３５ｗｔ、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２０３７ｗｔ、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３１ｗｔ、ｐ２１３２ｅ００２、ｐ２１３２ｗｔ、ｐ２１６７ｗｔ、ｐ２３６３ｅ００３、ｐ２３６３ｗｔ、ｐ２４２１ｅ００２、ｐ２４２１ｗｔ、ｐ２９７３ｅ００２、ｐ２９７３ｗｔ、ｐ３２７８ｗｔ、ｐ４４３０ｗｔ、ＰＢ１ｅ００２、もしくはＰＢ１ｗｔ、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有するバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態では、核酸配列は、適所に、または非必須バクテリオファージ遺伝子に隣接して挿入される。いくつかの実施形態では、細菌細胞の混合集団は、シュードモナス種を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージカクテルは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ１１９４、およびｐ１６９５を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージ

カクテルは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５を含む。

【０００８】

本明細書中の特定の態様では、疾患または疾病の処置を必要とする個体の疾患または疾病を処置する方法であって、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージを個体に投与する工程を含んでおり、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、ＣＲＩＳＰＲアレイと、シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むカスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとを含んでいる、方法が開示される。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のスペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、少なくとも１つの反復配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１つの反復配列は、その５’末端または３’末端のいずれかにおいて１つまたは複数のスペーサ配列に操作可能に連結される。いくつかの実施形態では、反復配列は、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、図１Ａ～図１Ｅ、または配列番号８３～８７に記載される配列に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、コーディング配列を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、非コーディングまたは遺伝子間配列を含む。いくつかの実施形態では、標的核酸配列は、プロモータ配列のすべてまたは一部を含む。いくつかの実施形態では、プロモータ配列は、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、必須遺伝子の転写された領域のコーディング鎖に位置するヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含む。いくつかの実施形態では、必須遺伝子は、ＴｓｆＡ、ａｃｐＰ、ｇａｐＡ、ｉｎｆＡ、ｓｅｃＹ、ｃｓｒＡ、ｔｒｍＤ、ｆｔｓＡ、ｆｕｓＡ、ｇｌｙＱ、ｅｎｏ、ｎｕｓＧ、ｄｎａＡ、ｄｎａＳ、ｐｈｅＳ、ｒｐｌＢ、ｇｌｔＸ、ｈｉｓＳ、ｒｐｌＣ、ａｓｐＳ、ｇｙｒＢ、ｇｌｎＳ、ｄｎａＥ、ｒｐｏＡ、ｒｐｏＢ、ｐｈｅＴ、ｉｎｆＢ、ｒｐｓＣ、ｒｐｌＦ、ａｌａＳ、ｌｅｕＳ、ｓｅｒＳ、ｒｐｌＤ、ｇｙｒＡ、ｇｌｍＳ、ｆｕｓ、ａｄｋ、ｒｐｓＫ、ｒｐｌＲ、ｃｔｒＡ、ｐａｒＣ、ｔＲＮＡ－Ｓｅｒ、ｔＲＮＡ－Ａｓｎ、またはｍｅｔＫである。いくつかの実施形態では、カスケードポリペプチドは、Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、またはＩ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系のカスケード複合体を形成する。いくつかの実施形態では、カスケード複合体は、（ｉ）Ｃａｓ３が、ヌクレアーゼ活性を有していないＣａｓ３’ポリペプチドおよびＣａｓ３”ポリペプチドを含む、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ８ａ１ポリペプチドもしくはＣａｓ８ａ２ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、Ｃｓａ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ａポリペプチド（Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｉｉ）Ｃａｓ６ｂポリペプチド、Ｃａｓ８ｂポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、およびＣａｓ５ポリペプチド（Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｉｉｉ）Ｃａｓ５ｄポリペプチド、Ｃａｓ８ｃポリペプチド、およびＣａｓ７ポリペプチド（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｉｖ）Ｃａｓ１０ｄポリペプチド、Ｃｓｃ２ポリペプチド、Ｃｓｃ１ポリペプチド、Ｃａｓ６ｄポリペプチド（Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｖ）Ｃｓｅ１ポリペプチド、Ｃｓｅ２ポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ｅポリペプチド（Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｖｉ）Ｃｓｙ１ポリペプチド、Ｃｓｙ２ポリペプチド、Ｃｓｙ３ポリペプチド、およびＣｓｙ４ポリペプチド（Ｉ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む。いくつかの実施形態では、カスケード複合体は、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７ポリペプチド（任意選択で配列番号８２）（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む。いくつかの実施形態では、核酸配列は、プロモータ配列

をさらに含む。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性だけで死滅させられる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、バクテリオファージの溶菌活性とＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性との組合せにより死滅させられる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、バクテリオファージの溶菌活性とは無関係に、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性により死滅させられる。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性は、バクテリオファージの溶菌活性を補充するかまたは増強する。いくつかの実施形態では、バクテリオファージの溶菌活性、およびＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性は、相乗的である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージの溶菌活性、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性、またはその両方は、バクテリオファージの濃度により調節される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、複数のバクテリア菌株を感染させる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、偏性溶菌性バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、溶菌性を与えられた溶原バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、溶原バクテリオファージは、溶原性遺伝子の除去、交換、または不活性化により溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス、Ｓａｍｕｎａウイルス、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス、Ａｂｉｄｊａｎウイルス、Ｂａｉｋａｌウイルス、Ｂｅｅｔｒｅウイルス、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス、Ｃｉｔｅｘウイルス、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス、Ｅｌウイルス、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス、Ｌｉｔｕｎａウイルス、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス、Ｎｉｐｕｎａウイルス、Ｐａｋｐｕｎａウイルス、Ｐａｍｅｘウイルス、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス、Ｐｈｉｔｒｅウイルス、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス、Ｙｕａウイルス、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルス、またはＰｂｕｎａウイルスを含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、バクテリオファージカクテルの一部である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージまたはバクテリオファージカクテルは、ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、もしくはＰＢ１、またはそれらの２つ以上のファージを含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、およびＰＢ１から選択されるバクテリオファージに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有するバクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージまたはバクテリオファージカクテルは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１１０６ｗｔ、ｐ１１９４ｗｔ、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１５８７ｗｔ、ｐ１６９５ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１８３５ｗｔ、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２０３７ｗｔ、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３１ｗｔ、ｐ２１３２ｅ００２、ｐ２１３２ｗｔ、ｐ２１６７ｗｔ、ｐ２３６３ｅ００３、ｐ２３６３ｗｔ、ｐ２４２１ｅ００２、ｐ２４２１ｗｔ、ｐ２９７３ｅ００２、ｐ２９７３ｗｔ、ｐ３２７８ｗｔ、ｐ４４３０ｗｔ、ＰＢ１ｅ００２、もしくはＰＢ１ｗｔ、またはそれらの２つ以上のファージを含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージまたはバクテリオファージカクテルは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１１０６ｗｔ、ｐ１１９４ｗｔ、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１５８７ｗｔ、ｐ１６９５ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１８３５ｗｔ、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２０３７ｗｔ、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３１ｗｔ、ｐ２１３２ｅ００２、ｐ２１３２ｗｔ、ｐ２１６７ｗｔ、ｐ２３６３ｅ００３、ｐ２３６３ｗｔ、ｐ２４２１ｅ００２、ｐ２４２１ｗｔ、ｐ２９７３ｅ００２、ｐ２９７３ｗｔ、ｐ３２７８ｗｔ、ｐ４４３０ｗｔ、ＰＢ１ｅ００２、もしくはＰＢ１ｗｔ、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有するバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態

では、核酸配列は、適所に、または非必須バクテリオファージ遺伝子に隣接して挿入される。いくつかの実施形態では、上記方法は、少なくとも１つの追加のバクテリオファージ型を投与する工程をさらに含む。いくつかの実施形態では、上記方法は、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の異なるバクテリオファージを投与する工程をさらに含む。いくつかの実施形態では、上記方法は、少なくとも６個の異なるバクテリオファージを投与する工程をさらに含む。いくつかの実施形態では、上記方法は、少なくとも６個の異なるバクテリオファージを投与する工程をさらに含み、本明細書中で使用されるバクテリオファージカクテル系におけるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ１１９４、およびｐ１６９５のうちいずれか１つまたは複数を含む。いくつかの実施形態では、上記方法は、少なくとも６個の異なるバクテリオファージを投与する工程をさらに含み、バクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５を含む。いくつかの実施形態では、疾患は細菌感染症である。いくつかの実施形態では、細菌感染症はシュードモナス細菌感染症である。いくつかの実施形態では、細菌感染症は嚢胞性線維症に関連する。いくつかの実施形態では、細菌感染症は非嚢胞性線維症性気管支拡張症に関連する。いくつかの実施形態では、疾患または疾病は嚢胞性線維症である。いくつかの実施形態では、疾患または疾病は非嚢胞性線維症性気管支拡張症である。いくつかの実施形態では、細菌感染症は、嚢胞性線維症に関連するシュードモナス細菌感染症である。いくつかの実施形態では、細菌感染症は、非嚢胞性線維症性気管支拡張症に関連するシュードモナス細菌感染症である。いくつかの実施形態では、疾患または疾病は肺炎である。例えば肺炎は、院内肺炎、人工呼吸器関連肺炎、市中肺炎、または医療関連肺炎である。いくつかの実施形態では、疾患または疾病は、血液系感染症（ＢＳＩ）である。いくつかの実施形態では、疾患または疾病を生じさせるシュードモナス種は、薬剤耐性のシュードモナス種である。いくつかの実施形態では、薬剤耐性のシュードモナス種は、少なくとも１つの抗生物質に耐性を示す。いくつかの実施形態では、疾患または疾病を生じさせるシュードモナス種は、多剤耐性のシュードモナス種である。いくつかの実施形態では、多剤耐性のシュードモナス種は、少なくとも１つの抗生物質に耐性を示す。いくつかの実施形態では、抗生物質は、セファロスポリン、フルオロキノロン、カルバペネム、コリスチン、アミノグリコシド、バンコマイシン、ストレプトマイシン、またはメチシリンを含む。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は緑膿菌である。いくつかの実施形態では、投与は、動脈内、静脈内、尿道内、筋肉内、経口、皮下、吸入、局所、皮膚、経皮、口腔粘膜、植込み、舌下、頬側、直腸、膣、眼、耳、鼻の投与、またはそれらのあらゆる組合せである。いくつかの実施形態では、上記方法は、追加の治療を施す工程をさらに含む。いくつかの実施形態では、追加の治療はトブラマイシンを含む。いくつかの実施形態では、個体は哺乳動物である。いくつかの実施形態では、追加の治療は気道機能の改善用の薬物を含む。いくつかの実施形態では、追加の治療は、気道応答を低減させるための薬物を含む。いくつかの実施形態では、追加の治療は、気道炎症を低減させるための薬物を含む。いくつかの実施形態では、追加の治療は気管支拡張剤を含む。いくつかの実施形態では、追加の治療は、酸素利用率の改善のための薬物を含む。いくつかの実施形態では、追加の治療は、気道胚細胞分泌亢進を低減させるための薬物を含む。いくつかの実施形態では、追加の治療はＤＮＡｓｅを含む。いくつかの実施形態では、追加の治療は生理食塩水である。いくつかの実施形態では、追加の治療は、例えば嚢胞性線維症の処置に使用される、咳の習慣（ｃｏｕｇｈｉｎｇ　ｐｒａｃｔｉｃｅ）を含む治療法である。

【０００９】

本明細書中の特定の態様では、シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むＣＲＩＳＰＲアレイと、Ｃａｓ５、Ｃａｓ８ｃ、およびＣａｓ７を含むカスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとを含むＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージが開示される。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のスペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７

４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、少なくとも１つの反復配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１つの反復配列は、その５’末端または３’末端のいずれかにおいて１つまたは複数のスペーサ配列に操作可能に連結される。いくつかの実施形態では、反復配列は、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、図１Ａ～図１Ｅ、または配列番号８３～８７に記載される配列に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、コーディング配列を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、非コーディングまたは遺伝子間配列を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、プロモータ配列のすべてまたは一部を含む。いくつかの実施形態では、プロモータ配列は、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、必須遺伝子の転写された領域のコーディング鎖に位置するヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含む。いくつかの実施形態では、必須遺伝子は、Ｔｓｆ、ａｃｐＰ、ｇａｐＡ、ｉｎｆＡ、ｓｅｃＹ、ｃｓｒＡ、ｔｒｍＤ、ｆｔｓＡ、ｆｕｓＡ、ｇｌｙＱ、ｅｎｏ、ｎｕｓＧ、ｄｎａＡ、ｄｎａＳ、ｐｈｅＳ、ｒｐｌＢ、ｇｌｔＸ、ｈｉｓＳ、ｒｐｌＣ、ａｓｐＳ、ｇｙｒＢ、ｇｌｎＳ、ｄｎａＥ、ｒｐｏＡ、ｒｐｏＢ、ｐｈｅＴ、ｉｎｆＢ、ｒｐｓＣ、ｒｐｌＦ、ａｌａＳ、ｌｅｕＳ、ｓｅｒＳ、ｒｐｌＤ、ｇｙｒＡ、ｇｌｍＳ、ｆｕｓ、ａｄｋ、ｒｐｓＫ、ｒｐｌＲ、ｃｔｒＡ、ｐａｒＣ、ｔＲＮＡ－Ｓｅｒ、ｔＲＮＡ－Ａｓｎ、またはｍｅｔＫである。いくつかの実施形態では、核酸配列は、プロモータ配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、バクテリオファージの溶菌活性だけで死滅させられる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性だけで死滅させられる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、バクテリオファージの溶菌活性とＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性との組合せにより死滅させられる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、バクテリオファージの溶菌活性とは無関係に、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性により死滅させられる。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性は、バクテリオファージの溶菌活性を補充するかまたは増強する。いくつかの実施形態では、バクテリオファージの溶菌活性、およびＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性は、相乗的である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージの溶菌活性、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性、またはその両方は、バクテリオファージの濃度により調節される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、複数のバクテリア菌株を感染させる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、偏性溶菌性バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、溶菌性を与えられた溶原バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、溶原バクテリオファージは、溶原性遺伝子の除去、交換、または不活性化により溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス、Ｓａｍｕｎａウイルス、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス、Ａｂｉｄｊａｎウイルス、Ｂａｉｋａｌウイルス、Ｂｅｅｔｒｅウイルス、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス、Ｃｉｔｅｘウイルス、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス、Ｅｌウイルス、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス、Ｌｉｔｕｎａウイルス、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス、Ｎｉｐｕｎａウイルス、Ｐａｋｐｕｎａウイルス、Ｐａｍｅｘウイルス、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス、Ｐｈｉｔｒｅウイルス、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス、Ｙｕａウイルス、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルス、またはＰｂｕｎａウイルスのうち１つである。いくつかの実施形態では、本明細書中で使用されるバクテリオファージは、ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、もしくはＰＢ１のうちいずれか１つ、またはそれらの２つ以上のファージを含む。いくつかの実施

形態では、バクテリオファージは、ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、およびＰＢ１から選択されるバクテリオファージに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有するバクテリオファージである。いくつかの実施形態では、本明細書中で使用されるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１１０６ｗｔ、ｐ１１９４ｗｔ、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１５８７ｗｔ、ｐ１６９５ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１８３５ｗｔ、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２０３７ｗｔ、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３１ｗｔ、ｐ２１３２ｅ００２、ｐ２１３２ｗｔ、ｐ２１６７ｗｔ、ｐ２３６３ｅ００３、ｐ２３６３ｗｔ、ｐ２４２１ｅ００２、ｐ２４２１ｗｔ、ｐ２９７３ｅ００２、ｐ２９７３ｗｔ、ｐ３２７８ｗｔ、ｐ４４３０ｗｔ、ＰＢ１ｅ００２、もしくはＰＢ１ｗｔのうち１つまたは複数、あるいはそれらの２つ以上のファージを含む。いくつかの実施形態では、本明細書中で使用されるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１１０６ｗｔ、ｐ１１９４ｗｔ、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１５８７ｗｔ、ｐ１６９５ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１８３５ｗｔ、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２０３７ｗｔ、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３１ｗｔ、ｐ２１３２ｅ００２、ｐ２１３２ｗｔ、ｐ２１６７ｗｔ、ｐ２３６３ｅ００３、ｐ２３６３ｗｔ、ｐ２４２１ｅ００２、ｐ２４２１ｗｔ、ｐ２９７３ｅ００２、ｐ２９７３ｗｔ、ｐ３２７８ｗｔ、ｐ４４３０ｗｔ、ＰＢ１ｅ００２、もしくはＰＢ１ｗｔ、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有するバクテリオファージのうちいずれか１つまたは複数を含む。いくつかの実施形態では、本明細書中で使用されるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１１９４、およびｐ１６９５からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、本明細書中で使用されるバクテリオファージカクテル系におけるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５のうちいずれか１つまたは複数を含む。いくつかの実施形態では、核酸配列は、非必須バクテリオファージへと挿入される。本明細書中のいくつかの実施形態では、医薬組成物であって、（ａ）本明細書中に開示されるバクテリオファージと、（ｂ）薬学的に許容可能な賦形剤とを含む医薬組成物が開示される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、少なくとも２個の異なるバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個の異なるバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、少なくとも６個の異なるバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態では、医薬組成物は少なくとも６個の異なるバクテリオファージを含み、本明細書中で使用されるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ１１９４、およびｐ１６９５のうちいずれか１つまたは複数を含む。いくつかの実施形態では、医薬組成物は少なくとも６個の異なるバクテリオファージを含み、本明細書中で使用されるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５を含む。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、錠剤、カプセル、液体、シロップ、経口製剤、静脈内製剤、鼻腔内製剤、眼製剤、耳製剤、皮下製剤、局所製剤、経皮製剤、経粘膜製剤、吸入可能な呼吸器製剤、坐薬、凍結乾燥製剤、噴霧化可能な製剤、およびそれらのあらゆる組合せの形態にある。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、肺送達用の噴霧化可能な製剤中に、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５を含む。

【００１０】

本明細書中の特定の態様では、清潔を必要とする表面を清潔にする方法であって、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージを表面に投与す

る工程を含んでおり、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、ＣＲＩＳＰＲアレイと、シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むカスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとを含んでいる、方法が開示される。いくつかの実施形態では、表面は、院内表面、ビヒクル表面、装置表面、または工業表面である。

【００１１】

本明細書中の特定の態様では、食品製品または栄養補助物質の汚染を予防する方法であって、食品製品または栄養補助物質を、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージと接触させる工程を含んでおり、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、ＣＲＩＳＰＲアレイと、シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むカスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとを含んでいる、方法が開示される。いくつかの実施形態では、食品製品または栄養補助物質は、牛乳、ヨーグルト、カード、チーズ、発酵乳、牛乳を用いた発酵製品、アイスクリーム、発酵穀物を用いた製品、牛乳を用いた粉末、乳児用フォーミュラもしくはタブレット、液体懸濁液、乾燥した経口サプリメント、湿式の経口サプリメント、またはドライ・チューブ・フィーディング（ｄｒｙ－ｔｕｂｅ－ｆｅｅｄｉｎｇ）を含む。

【００１２】

本明細書中の特定の態様では、シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的なスペーサ配列を含むＣＲＩＳＰＲアレイであって、スペーサ配列が配列番号１２、１６、および２０を含んでいる、ＣＲＩＳＰＲアレイと、カスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとを含むＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージが開示される。

【００１３】

本明細書中の特定の態様では、ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１から選択されるファージに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を含むバクテリオファージが開示される。いくつかの実施形態では、本明細書中で使用されるバクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１１０６ｗｔ、ｐ１１９４ｗｔ、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１５８７ｗｔ、ｐ１６９５ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１８３５ｗｔ、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２０３７ｗｔ、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３１ｗｔ、ｐ２１３２ｅ００２、ｐ２１３２ｗｔ、ｐ２１６７ｗｔ、ｐ２３６３ｅ００３、ｐ２３６３ｗｔ、ｐ２４２１ｅ００２、ｐ２４２１ｗｔ、ｐ２９７３ｅ００２、ｐ２９７３ｗｔ、ｐ３２７８ｗｔ、ｐ４４３０ｗｔ、ＰＢ１ｅ００２、もしくはＰＢ１ｗｔ、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有するバクテリオファージのうちいずれか１つまたは複数を含む。いくつかの実施形態では、２つ以上のバクテリオファージを含むバクテリオファージカクテル系が提供される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージカクテル系は、ＣＫ０００５１２のバクテリオファージ（ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５）を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲアレイと、シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むカスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとをさらに含む。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のスペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、少なくとも１つの反復配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１つの反復配列は、その５’末端または３’末端のいずれかにおいて１つまたは複数のスペーサ配列に操作可能に連結される。いくつかの実施形態では、反復配列は、配列番号２

６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、図１Ａ～図１Ｅ、または配列番号８３～８７に記載される配列に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、コーディング配列を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、非コーディングまたは遺伝子間配列を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、プロモータ配列のすべてまたは一部を含む。いくつかの実施形態では、プロモータ配列は、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。

【００１４】

本明細書中の特定の態様では、少なくとも４個のバクテリオファージを含む組成物であって、ｐ１１０６ｅ００３を含むかまたはｐ１１０６ｅ００３に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する第１のバクテリオファージと、ｐ１８３５ｅ００２を含むかまたはｐ１８３５ｅ００２に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する第２のバクテリオファージと、ｐ１７７２ｅ００５を含むかまたはｐ１７７２ｅ００５に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する第３のバクテリオファージと、ｐ２１３１ｅ００２を含むかまたはｐ２１３１ｅ００２に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する第４のバクテリオファージとを含む組成物が開示される。いくつかの実施形態では、組成物は、ｐ１１９４を含むかまたはｐ１１９４に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する第５のバクテリオファージをさらに含む。いくつかの実施形態では、組成物は、ｐ１６９５を含むかまたはｐ１６９５に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する第５のバクテリオファージをさらに含む。いくつかの実施形態では、組成物は、ｐ４４３０を含むかまたはｐ４４３０に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する第５のバクテリオファージをさらに含む。いくつかの実施形態では、組成物は、ｐ１６９５を含むかまたはｐ１６９５に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する第６のバクテリオファージをさらに含む。いくつかの実施形態では、組成物は、ＣＫ０００５１２のバクテリオファージ（ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５）を含む。

【００１５】

本明細書中の方法の実施形態のうちいずれかでは、当該方法のバクテリオファージは、シュードモナスを感染させるバクテリオファージから操作される。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージには、表５Ａに列記される野生型Ｐｂｕｎａウイルスファージのサブタイプが挙げられ、このファージは、プラス記号（＋）で印付けられるように標的となるシュードモナスを感染させる（例えば、ファージｐ１１０６はｂ００２５４８を感染させる）。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージには、表５Ａに列記される操作されたＰｂｕｎａウイルスファージのサブタイプが挙げられ、このファージは、プラス記号（＋）で印付けられるように標的となるシュードモナスを感染させる（例えば、ｐ１１０６ｅ００３はｂ００２５４８を感染させる）。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージには、例えば表５Ｂに列記される、野生型Ｓａｍｕｎａウイルスのファージサブタイプ、操作されたＳａｍｕｎａウイルスのファージサブタイプ、野生型ＰｈｉＫＺウイルス、野生型ＰｈｉＫＭＶウイルス、または野生型Ｂｒｕｙｎｏｇｈｅウイルスが挙げられ、このファージは、プラス記号（＋）で印付けられるように標的となるシュードモナスを感染させる表５Ａに列記されるように、野生型Ｐｂｕｎａウイルスのファージサブタイプは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、および／またはｐｂ１であり得、一方で操作されたＰｂｕｎａウイルスのファージサブタイプは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２３６３ｅ００３、および／またはｐ２４２１ｅ００２であり得る。表５Ｂに列記されるように、野生型Ｓａｍｕｎａウイルスのファージサブタイプは、ｐ１７７２、ｐ２１３１、ｐ２１３２、および／またはｐ２９７３であり得、操作されたＳａｍｕｎａウイルスのファージサブタイプは、ｐｂ１ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２

、ｐ２１３２ｅ００２、および／またはｐ２９７３ｅ００２であり得、野生型ＰｈｉＫＺウイルスのファージサブタイプは、ｐ１１９４および／またはｐ４４３０であり得、野生型ＰｈｉＫＭＶウイルスのファージサブタイプはｐ２１６７であり得、野生型Ｂｒｕｙｎｏｇｈｅウイルスのファージサブタイプはｐ１６９５および／またはｐ３２７８であり得る。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス、ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス、Ｓａｍｕｎａウイルス、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス、Ａｂｉｄｊａｎウイルス、Ｂａｉｋａｌウイルス、Ｂｅｅｔｒｅウイルス、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス、Ｃｉｔｅｘウイルス、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス、Ｅｌウイルス、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス、Ｌｉｔｕｎａウイルス、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス、Ｎｉｐｕｎａウイルス、Ｐａｋｐｕｎａウイルス、Ｐａｍｅｘウイルス、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス、Ｐｈｉｔｒｅウイルス、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス、Ｙｕａウイルス、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルス、またはＰｂｕｎａウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、シュードモナスを死滅させる。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、黄色ブドウ球菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、黄色ブドウ球菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、黄色ブドウ球菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、黄色ブドウ球菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、肺炎桿菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、肺炎桿菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、肺炎桿菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、肺炎桿菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロコッカス・フェシウムを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロコッカス・フェシウムを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロコッカス・フェシウムを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、エンテロコッカス・フェシウムを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロバクター・クロアカを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロバクター・クロアカを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロバクター・クロアカを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、エンテロバクター・クロアカを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、アシネトバクター・バウマニを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、アシネトバクター・バウマニを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、アシネトバクター・バウマニを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、アシネトバクター・バウマニを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、表皮ブドウ球菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、表皮ブドウ球菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、表皮ブドウ球菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、表皮ブドウ球菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、バクテリオファージの組合せは、シュードモナスを感染させる。非限定的な例として、組合せは、表５Ａのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％

、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を感染させる。非限定的な例として、組合せは、表５Ｂのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を感染させる。非限定的な例として、組合せは、表６Ｂのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を感染させる。いくつかの実施形態、バクテリオファージの組合せは、シュードモナスを死滅させる。非限定的な例として、組合せは、表５Ａのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を死滅させる。非限定的な例として、組合せは、表５Ｂのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を死滅させる。非限定的な例として、組合せは、表６Ｂのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を死滅させる。

【図面の簡単な説明】

【００１６】

本開示の新規な特徴は、とりわけ添付の特許請求の範囲により説明される。本開示の特徴と利点は、本開示の原理が利用される例示的な実施形態および添付の図面を説明する、以下の詳細な説明を参照することによりさらに良く理解されるであろう。

【００１７】

【図１Ａ】ｃｒＡｒｒａｙ１（配列番号８３）の配列と構成を表す図である。

【図１Ｂ】ｃｒＡｒｒａｙ２（配列番号８４）の配列と構成を表す図である。

【図１Ｃ】ｃｒＡｒｒａｙ３（配列番号８５）の配列と構成を表す図である。

【図１Ｄ】ｃｒＡｒｒａｙ４（配列番号８６）の配列と構成を表す図である。

【図１Ｅ】ｃｒＡｒｒａｙ５（配列番号８７）の配列と構成を表す図である。

【図１Ｆ】ｃｒＡｒｒａｙ１およびＰａＩＣインサート（配列番号２５）の配置を表す図である。

【図１Ｇ】ｃｒＡｒｒａｙ１およびＰａＩＣインサート（配列番号２５）の配置を表す図である。

【図１Ｈ】ｃｒＡｒｒａｙ１およびＰａＩＣインサート（配列番号２５）の配置を表す図である。

【図１Ｉ】ｃｒＡｒｒａｙ１およびＰａＩＣインサート（配列番号２５）の配置を表す図である。

【図１Ｊ】ｃｒＡｒｒａｙ１およびＰａＩＣインサート（配列番号２５）の配置を表す図である。

【図１Ｋ】ｃｒＡｒｒａｙ１およびＰａＩＣインサート（配列番号２５）の配置を表す図である。

【図１Ｌ】ｃｒＡｒｒａｙ３およびＰａＩＣインサート（配列番号２４）の配置を表す図である。

【図１Ｍ】ｃｒＡｒｒａｙ３およびＰａＩＣインサート（配列番号２４）の配置を表す図である。

【図１Ｎ】ｃｒＡｒｒａｙ３およびＰａＩＣインサート（配列番号２４）の配置を表す図である。

【図１Ｏ】ｃｒＡｒｒａｙ３およびＰａＩＣインサート（配列番号２４）の配置を表す図である。
【図１Ｐ】ｃｒＡｒｒａｙ３およびＰａＩＣインサート（配列番号２４）の配置を表す図である。
【図１Ｑ】ｃｒＡｒｒａｙ３およびＰａＩＣインサート（配列番号２４）の配置を表す図である。
【図２Ａ】（上側のパネル）コロニー形成単位（ＣＦＵ）での形質転換体の数により測定したときに、内因性のＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ３系を用いて、ｃｒＲＮＡを含有するプラスミドで２つの緑膿菌株を形質転換させる効果を表す図である。下側のパネルは、３個のスペーサを含有するｃｒＲＮＡと外因性のＩ－Ｃ型Ｃａｓオペロンとの両方を含有しているプラスミドで緑膿菌を形質転換させる効果を示しており、結果として検出限界よりも形質転換体が少ない。
【図２Ｂ】緑膿菌株ｂ１１２１のＣａｓオペロンのヌル変異体への形質転換１ｍＬごとに得られる細菌性形質転換体の数を表す図である。アレイ１は細菌性ゲノムを標的とし、アレイ２は非標的対照である。様々なプラスミドが、モル濃度により空ベクターの対照プラスミドへと正規化された。
【図２Ｃ】ｒｐｏＢ、ｆｔｓＡ、または３－スペーサアレイであるアレイ３もしくはアレイ４を標的とする個々のスペーサを、内因性のＩ－Ｃ型Ｃａｓオペロンで（ｂ１１２１）、または当該オペロンなしで（ｂ１１２１　ｃａｓ　ＫＯ）、緑膿菌株へと形質転換させる効果を表す図である。
【図３Ａ】野生型ファージｐ１７７２およびその操作された変異体のゲノムの概略図を表す図である。ゲノム軸より下のバーは、除去かつ置換されたゲノムの領域を示す。ファージゲノムより下の図解は、欠失させられた領域中でＷＴファージ遺伝子を置換するのに使用されたＤＮＡを図示する。アレイ１、アレイ３、およびアレイ４は、細菌性ゲノムを標的とし、かつＩ－Ｃ型Ｃａｓオペロンの存在下で細菌を死滅させる。アレイ２のスペーサは標的とされていないが、アレイは構造上、３つの標的化アレイと同じである。
【図３Ｂ】３７℃で５回または１０回継代された後のｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）の配列を比較する図である。インサート中、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ３を発現する操作されたファージの安定性を示すヌクレオチドレベルで差異は観察されなかった。
【図４】ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ３で操作されたファージが構造変化を示さないことを例証する図である。ＴＥＭにより画像化を行うと、ｐ１７７２ｗｔ（野生型）とｐ１７７２ｅ００４（Ｃａｓ系のみ）とｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ＋Ｃａｓ系）との間に全体的な形態的差異は認められなかった。
【図５Ａ】様々なＣａｓ型の変異体における野生型の親ファージと同様に増幅し、かつ同様の宿主領域を保持する、完全な構築物であるファージを例証する図である。図５Ａは、Ｉ－Ｆ型Ｃａｓ系を含有する緑膿菌株に対する、ｐ１７７２ｗｔ（野生型）、ｐ１７７２ｅ００４（Ｃａｓ系）、およびｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）のｉｎ　ｖｉｔｒｏでの増幅力価を表している。ファージは、（ファージ存在下でのＡＵＣ）／（ファージ不在下でのＡＵＣ）が０．６５未満の場合に、所与の株を感染させると考慮される。
【図５Ｂ】様々なＣａｓ型の変異体における野生型の親ファージと同様に増幅し、かつ同様の宿主領域を保持する、完全な構築物であるファージを例証する図である。図５Ｂは、Ｉ－Ｃ型Ｃａｓ系を含有する緑膿菌株に対するｐ１７７２ｗｔおよびｐ１７７２ｅ００５のｉｎ　ｖｉｔｒｏでの増幅力価を表している。ファージは、（ファージ存在下でのＡＵＣ）／（ファージ不在下でのＡＵＣ）が０．６５未満の場合に、所与の株を感染させると考慮される。
【図５Ｃ】様々なＣａｓ型の変異体における野生型の親ファージと同様に増幅し、かつ同様の宿主領域を保持する、完全な構築物であるファージを例証する図である。図５Ｃは、緑膿菌の４４の菌株上のｐ１７７２ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００４、およびｐ１７７２ｅ００

５の宿主領域を表している。ファージは、（ファージ存在下でのＡＵＣ）／（ファージ不在下でのＡＵＣ）が０．６５未満の場合に、所与の株を感染させると考慮される。
【図６Ａ】外因性のＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ３系が効率的にファージゲノムから発現されることを例証する図である。図６Ａは、ｐ１７７２の操作された変異体へと挿入されるスペーサアレイおよびＣａｓオペロンの図解を表している。
【図６Ｂ】外因性のＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ３系が効率的にファージゲノムから発現されることを例証する図である。図６Ｂ～図６Ｄは、１６００分間にわたる、ｐ１７７２ｗｔ（野生型）またはｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）に感染した緑膿菌株ｂ１１２１におけるｃｒＡｒｒａｙ、Ｃａｓ３、およびＣａｓ８の発現を表している。
【図６Ｃ】外因性のＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ３系が効率的にファージゲノムから発現されることを例証する図である。図６Ｂ～図６Ｄは、１６００分間にわたる、ｐ１７７２ｗｔ（野生型）またはｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）に感染した緑膿菌株ｂ１１２１におけるｃｒＡｒｒａｙ、Ｃａｓ３、およびＣａｓ８の発現を表している。
【図６Ｄ】外因性のＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ３系が効率的にファージゲノムから発現されることを例証する図である。図６Ｂ～図６Ｄは、１６００分間にわたる、ｐ１７７２ｗｔ（野生型）またはｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）に感染した緑膿菌株ｂ１１２１におけるｃｒＡｒｒａｙ、Ｃａｓ３、およびＣａｓ８の発現を表している。
【図６Ｅ】外因性のＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ３系が効率的にファージゲノムから発現されることを例証する図である。図６Ｅは、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）、およびｐ２１３２ｅ００２（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）による感染後１時間と２４時間でのＣａｓ３の発現を表している。
【図７】ｐ１７７２ｗｔ（野生型）またはｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）を緑膿菌上に播種したことで生じるプラークを表す図である。
【図８Ａ】プレートベースの死滅アッセイの結果を例証する図である。ｐ１７７２ｗｔ（野生型）、ｐ１７７２ｅ００４（Ｃａｓ系のみ）、ｐ１７７２ｅ００６（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１のみ）、およびｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）は、１００～０．０００９５４の感染多重度（ＭＯＩ）で緑膿菌と混合された。
【図８Ｂ】図８Ａで設定されたプレートのさらに高倍率の部分を表す図である。
【図８Ｃ】１．５のＭＯＩで、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００８（非標的化ｃｒＡｒｒａｙ２＋Ｃａｓ系）、ｐ１７７２ｅ００６、およびｐ１７７２ｅ００５に感染した緑膿菌の相対蛍光単位の定量化を示す図である。
【図９Ａ】１のＭＯＩで接種したとき、２４時間にわたる緑膿菌株ｂ１１２１中でのｐ１７７２ｗｔ（野生型）、ｐ１７７２ｅ００４（Ｃａｓ系のみ）、ｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）、およびｐ１７７２ｅ００６（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１のみ）の成長を表す図である。
【図９Ｂ】１０のＭＯＩで接種したとき、２４時間にわたる緑膿菌株ｂ１１２１中でのｐ１７７２ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００４、ｐ１７７２ｅ００５、およびｐ１７７２ｅ００６の成長を表す図である。
【図９Ｃ】１００のＭＯＩで接種したとき、２４時間にわたる緑膿菌株ｂ１１２１中でのｐ１７７２ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００４、ｐ１７７２ｅ００５、およびｐ１７７２ｅ００６の成長を表す図である。
【図１０Ａ】１００～０．０００１のＭＯＩで、ｐ１７７２ｗｔ（野生型）、ｐ１７７２ｅ００８（非標的化ｃｒＡｒｒａｙ２＋Ｃａｓ系）、ｐ１７７２ｅ００６（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１のみ）、およびｐＡｒｒａｙ３（標的化ｃｒＡｒｒａｙ３＋Ｃａｓ系）と混合された緑膿菌培養物の、寒天平板上での成長を表す図である。
【図１０Ｂ】１００～０．０００１のＭＯＩで、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００８、ｐ１７７２ｅ００６、およびｐＡｒｒａｙ４（標的化ｃｒＡｒｒａｙ４＋Ｃａｓ系）と混

合された緑膿菌培養物の、寒天平板上での成長を表す図である。
【図１０Ｃ】図１０Ａのインサートの図であり、０．０２４４（上側の行）および０．００６１０（下側の行）のＭＯＩでｐＡｒｒａｙ３と比較したｐ１７７２ｅ００６の倍率を表している。
【図１０Ｄ】図１０Ａにおいて約１．５のＭＯＩでの、ファージによる感染後の細菌からの蛍光シグナルの定量化の図である。
【図１０Ｅ】図１０Ｂにおいて約１．５のＭＯＩでの、ファージによる感染後の細菌からの蛍光シグナルの定量化の図である。
【図１１Ａ】異なるプロモータを有するｐ１７７２変異体と混合された緑膿菌培養物の、寒天平板上での成長を表す図である。図１１Ａは、同じｃｒＡｒｒａｙ　１およびＣａｓ系を含有するｐ１７７２ｗｔ（野生型）および変異体と混合された緑膿菌培養物の寒天平板上での成長を示しており、Ｃａｓ系は、１００～０．００００１のＭＯＩで異なるプロモータにより誘導された。
【図１１Ｂ】異なるプロモータを有するｐ１７７２変異体と混合された緑膿菌培養物の、寒天平板上での成長を表す図である。図１１Ｂは、図１１ＡのＭＯＩ１．５での細胞の蛍光の定量化を示している。
【図１２Ａ】１．５のＭＯＩで、ｐ２１３２ｗｔ（野生型）およびｐ２１３２ｅ００２（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）と混合された緑膿菌培養物の寒天平板上での成長からの蛍光の定量化を表す図である。
【図１２Ｂ】１．５のＭＯＩで、ｐ２９７３ｗｔ（野生型）およびｐ２９７３ｅ００２（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）と混合された緑膿菌培養物の寒天平板上での成長からの蛍光の定量化を表す図である。
【図１３】様々なファージ変異体と混合された緑膿菌培養物の様々な株の寒天平板上での成長を表す図である。ｐ４２０９ｗｔ（野生型）およびｐ４２０９ｅ００２（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）は、緑膿菌のｂ２５５０（Ｉ－Ｅ型Ｃａｓ）株、ｂ２６３１（Ｉ－Ｆ型Ｃａｓ）、ｂ２８１６（Ｉ－Ｅ／Ｉ－Ｆ型Ｃａｓ）株、およびｂ２８２５（活性でないＩ型Ｃａｓ）株と混合されて、０時間、３時間、または２４時間のインキュベーション後に播種された。
【図１４】複数の緑膿菌株に対するｃｒＡｒｒａｙ／Ｃａｓインサートの有効性を表す図である。ｐ４２０９ｗｔ（野生型）、ｐ４２０９ｅ００１（Ｃａｓ系のみ）、およびｐ４２０９ｅ００２（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）は、緑膿菌のｂ２５５０（Ｉ－Ｅ型Ｃａｓ）株、ｂ２６３１（Ｉ－Ｆ型Ｃａｓ）株、ｂ２８１６（Ｉ－Ｅ／Ｉ－Ｆ型Ｃａｓ）株、およびｂ２８２５（活性でないＩ型Ｃａｓ）株上でプラークを形成した。
【図１５Ａ】ｐ１７７２ｗｔ（野生型）とｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）とを比較してｉｎ　ｖｉｖｏでの有効性を例証する図である。図１５Ａは、図１５Ｂ～図１５Ｄにおける実験設定を表す図解である。
【図１５Ｂ】ｐ１７７２ｗｔ（野生型）とｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）とを比較してｉｎ　ｖｉｖｏでの有効性を例証する図である。図１５Ｂは、マウス大腿筋に注射されたときのファージの有効性を表している。左側のパネルは、感染後６時間で回復したコロニー形成単位（ＣＦＵ）の数を表している。右側のパネルは、感染後６時間で回復したプラーク形成単位（ＰＦＵ）の数を表している。
【図１５Ｃ】ｐ１７７２ｗｔ（野生型）とｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）とを比較してｉｎ　ｖｉｖｏでの有効性を例証する図である。図１５Ｃは、マウス大腿筋に注射されたときのファージの有効性を表すとともに、感染後８時間および２４時間で回復したＣＦＵ（上側）およびＰＦＵ（下側）の数を表している。
【図１５Ｄ】ｐ１７７２ｗｔ（野生型）とｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）とを比較してｉｎ　ｖｉｖｏでの有効性を例証する図である。図１５Ｄは、静脈内投与されたときのファージの有効性を表すとともに、感染９、１２、１５、および２４時間で回復したＣＦＵ（上側）およびＰＦＵ（下側）の数を表している。
【図１５Ｅ】図１５Ｆにおける実験設定を表す図である。

【図１５Ｆ】ｐ１７７２ｗｔおよびｐ１７７２ｅ００５での処置に対する用量反応を表すとともに、感染後８時間と２４時間で回復したＣＦＵ（上側）およびＰＦＵ（下側）の量を表す図である。データを平均±ＳＥＭとして示す。＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１。複数の比較による一元配置分散分析、またはターキー検定による二元配置分散分析。
【図１６】ＰＢ１ｅ００２（ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）がｐ１７７２ｅ００５（ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）と協働して作用する、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ３で操作された参照ファージを例証する図である。
【図１７】様々なスペーサ配列を含有するインサートでシュードモナスをトランスフェクトした後に産生された形質転換体の数を表す図である。
【図１８Ａ】ＣＲＩＳＰＲで操作されたファージ単独、またはカクテル中での効率を試験するのに使用されるアッセイを表す図である。
【図１８Ｂ】緑膿菌ｂ２６３１に感染したマウスに対するカクテルによる処置の効果を表す図である。
【図１８Ｃ】緑膿菌ｂ１１２１に感染したマウスに対するカクテルによる処置の効果を表す図である。
【図１８Ｄ】緑膿菌ｂ３１４４に感染したマウスに対するカクテルによる処置の効果を表す図である。
【図１８Ｅ】ＣＲＩＳＰＲで操作されたファージによる処置の、野生型のファージと比較した効果を表す図である。
【図１８Ｆ】ファージ個別による処置と比較してカクテルの有効性を試験するのに使用されるアッセイのグラフ表示を表す図である。
【図１８Ｇ】緑膿菌ｂ２６３１に感染したマウスに対する個々のファージまたはファージカクテル（図に示されるようなもの）による処置の効果を表す図である。
【図１８Ｈ】緑膿菌ｂ３１４４に感染したマウスに対するカクテルまたはファージ個別による処置の効果を表す図である。
【図１８Ｉ】緑膿菌に感染したマウスに対するカクテルまたはファージ個別による処置の効果を表す図である。
【図１９Ａ】カクテルの有効性を試験するのに使用されるアッセイを表す図である。
【図１９Ｂ】緑膿菌ｂ２６３１に感染したマウスに対するファージカクテルＣＫ１２５による処置の効果を表す図である。
【図１９Ｃ】緑膿菌ｂ１１２１に感染したマウスに対するカクテルによる処置の効果を表す図である。
【図１９Ｄ】緑膿菌ｂ３１４４に感染したマウスに対するカクテルによる処置の効果を表す図である。ＴＯＢ＝トブラマイシン。
【図２０Ａ】最小バイオフィルム撲滅濃度（ＭＢＥＣ）アッセイを用いて、主要な緑膿菌株ｂ１１２１およびｂ２６３１から予め形成されたバイオフィルムに対してファージカクテルＣＫ１２５の抗バイオフィルム活性を試験するための実験設定のグラフ表示を示す図である。
【図２０Ｂ】左側は２４時間での阻害％、中央は４８時間での阻害％を表す。右側の表は、ファージカクテルまたはシプロフロキサシンでのＭＢＥＣ　ＩＣ５０を表す比較データを示している。
【図２１】（上側のパネル）最小バイオフィルム撲滅濃度（ＭＢＥＣ）方法を用いて、緑膿菌株ｂ１１２１、ｂ２６３１、およびｂ２６３１の呼吸器／臨床分離株からのバイオフィルムに対する、ファージカクテルＰＡＣＫ５１２の抗バイオフィルム活性を試験する実験設定と結果を示す図である。図２２（下側のパネル）は、左側に２４時間の阻害％、右側に４８時間の阻害％を示す。
【図２２Ａ】ヒトムチンの存在下でのカクテルの殺菌作用を試験するためのアッセイ設定を示す図である。
【図２２Ｂ】アッセイの結果、様々な処置における細菌負荷を示す図であり、左側は呼吸

器分離株からの緑膿菌株ｂ１１２１阻害に関する結果であり、右側は、ＣＦ分離株からの緑膿菌株ｂ２６３１阻害に関する結果である。
【図２３Ａ】ムチンの存在下でのカクテルの殺菌効果を試験するためのアッセイ設定、およびトブラマイシンとの比較を示す図である。
【図２３Ｂ】カクテルの存在下、またはトブラマイシン処置の存在下での、処置なしの対照と比較した細菌負荷を示す図である。
【図２４】緑膿菌の下部呼吸器感染症モデルにおける除菌後のファージレベル試験によるデータを示す図である。
【発明を実施するための形態】
【００１８】
本明細書中の特定の実施形態では、（ａ）ＣＲＩＳＰＲアレイ（「ｃｒＡｒｒａｙ」とも称する）と、（ｂ）カスケードポリペプチドと、（ｃ）Ｃａｓ３ポリペプチドとを含むＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージが開示される。本明細書中の特定の実施形態では、本明細書に開示されるバクテリオファージを含む医薬組成物も開示される。さらに本明細書中の特定の実施形態では、シュードモナス種を死滅させる方法であって、シュードモナス種に、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージを導入する工程を含んでおり、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、（ａ）ＣＲＩＳＰＲアレイと、（ｂ）カスケードポリペプチドと、（ｃ）Ｃａｓ３ポリペプチドとを含む、方法が開示される。さらに本明細書中の特定の実施形態では、疾患または疾病の処置を必要とする個体の疾患または疾病を処置する方法であって、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージを個体に投与する工程を含んでおり、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、（ａ）ＣＲＩＳＰＲアレイと、（ｂ）カスケードポリペプチドと、（ｃ）Ｃａｓ３ポリペプチドとを含む、方法が開示される。
【００１９】
特定の用語
別段の定めのない限り、本明細書中で使用される技術用語と科学用語はすべて、本開示が属する当該技術分野における当業者が共通して理解するものと同じ意味を有する。本明細書中の開示の記載に使用される用語は、特定の実施形態のみを記載することを目的としており、本開示を限定するようには意図されていない。
【００２０】
文脈上別段の定めのない限り、本明細書に記載される本開示の種々の特徴があらゆる組合せで使用可能であることが、具体的に意図される。さらに本開示は、いくつかの実施形態では本明細書中に明記されるいずれかの特徴またはその組合せが除外または省略されることも企図している。例示目的では、本明細書中で組成物が成分Ａ、Ｂ、およびＣを含むと述べられる場合、Ａ、Ｂ、もしくはＣのいずれか、またはそれらのあらゆる組合せは、単独で、またはあらゆる組合せで省略かつ排除されることが、具体的に意図される。
【００２１】
当業者は、文献中で一貫性が欠けていること、および種々のＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系とその構成要素を指定する用語を統一する試みが当該技術分野で進行中であることに起因して、このような用語の互換性を理解するであろう。
【００２２】
本明細書および添付の特許請求の範囲で使用されるとき、単数形「ａ」、「ａｎ」、および「ｔｈｅ」は、前後関係から明らかでない限り、同様に複数形を含むことが意図される。また、本明細書中で使用されるとき、「および／または」は、列挙された関連項目のうち１つまたは複数のいずれかおよびすべての考えられ得る組合せのほか、代替物（「または”）で解釈されるときの組合せの欠如を指し、かつ包含している。
【００２３】
「約」という用語は、本明細書中で使用されるとき、投与量や期間などの測定可能な値を指す場合、特定された量の±２０％、±１０％、±５％、±１％、＋０．５％、または

さらに±０．１％の変動を指す。本明細書中で使用されるとき、「ＸとＹの間」や「約ＸとＹの間」などの句は、ＸとＹを含むものと解釈されたい。本明細書中で使用されるとき、「約ＸとＹの間」などの句は「約Ｘと約Ｙの間」を意味し、「約Ｘ～Ｙの間」などの句は「約Ｘ～約Ｙの間」を意味する。

【００２４】

「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅ）」、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」、および「含むこと（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」、「含む（ｉｎｃｌｕｄｅｓ）」、「含むこと（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」、「有する（ｈａｖｅ）」、ならびに「有すること（ｈａｖｉｎｇ）」という用語は、本明細書中で使用されるとき、述べられた特徴、工程、操作、要素、および／または構成要素の存在を明記するが、１つもしくは複数の他の特徴、工程、操作、要素、および／または構成要素の存在も追加も排除するものではない。

【００２５】

本明細書中で使用されるとき、「～から本質的になる」という移行句は、請求項の範囲が、請求項中に列挙される特定の材料または工程を包含し、請求された開示の基本的かつ新規な特徴に実質的に影響を及ぼさないものと解釈されるべきであるということを意味する。ゆえに、「～から本質的になる」という用語は、本開示の請求項で使用されるとき、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」と等価であると解釈されることを意図されていない。

【００２６】

「～からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｓ　ｏｆ）」および「～からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｏｆ）」という用語は、本明細書中で使用されるとき、特別に直接述べられていないすべての特徴、工程、操作、要素、および／または構成要素を除外する。「～からなる」の使用は、その節で記述される特徴、工程、操作、要素、および／または構成要素のみに限定され、他の特徴、工程、操作、要素、および／または構成要素は全体として請求項から除外される。

【００２７】

「相補的な」または「相補性」という用語は、本明細書中で使用されるとき、許容される塩と温度条件の下での塩基対合によるポリヌクレオチドの自然な結合を指す。例えば、配列「Ａ－Ｇ－Ｔ」は、相補的配列「Ｔ－Ｃ－Ａ」に結合する。２つの一本鎖分子間の相補性は、ヌクレオチドの一部のみが結合される場合は「部分的（ｐａｒｔｉａｌ）」であり、または、すべての相補性が一本鎖分子間に存在する場合は完全である。核酸鎖の間の相補性の程度は、核酸鎖の間のハイブリダイゼーションの効率と強度に対して有意な効果を奏する。

【００２８】

「補体（ｃｏｍｐｌｅｍｅｎｔ）」は、本明細書中で使用されるとき、対照ヌクレオチド配列に対して１００％の相補性もしくは同一性を意味するか、または、１００％未満の相補性（例えば、約８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％などの相補性）を意味する。補体または補足可能物（ｃｏｍｐｌｅｍｅｎｔａｂｌｅ）は、突然変異に対する「補体」、または突然変異を「補足する」という観点でも使用される場合がある。

【００２９】

本明細書中で使用されるとき、「ＣＲＩＳＰＲファージ」、「ＣＲＩＳＰＲ増強ファージ」、および「ｃｒＰｈａｇｅ」という用語は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の少なくとも１つの成分をコードする少なくとも１つの異種ポリヌクレオチドを含むバクテリオファージＤＮＡを含んでいるバクテリオファージ粒子（例えば、ＣＲＩＳＰＲアレイ、ｃｒＲＮＡであり、例えば標的化ｃｒＲＮＡの挿入を含むＰ１バクテリオファージ）を指す。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の少なくとも１つの転写活性化因子をコードする。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の抗ＣＲＩＳＰＲポリペプチドの少なくとも１つの成分をコードする。

【００３０】

本明細書中で使用されるとき、２個の核酸分子、ヌクレオチド配列、もしくはタンパク質配列の観点で「実質的に同一の」または「実質的な同一性」という句は、最大の対応に対して比較かつアライメントされる場合、後述の配列比較アルゴリズムのうち１つを用いるかまたは目視検査により測定したときに、少なくとも約５０％、５１％、５２％、５３％、５４％、５５％、５６％、５７％、５８％、５９％、６０％、６１％、６２％、６３％、６４％、６５％、６６％、６７％、６８％、６９％、７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、および／または１００％のヌクレオチドまたはアミノ酸残基の同一性を指す。いくつかの実施形態では、実質的な同一性は、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５、９６、９６、９７、９８、または９９％の同一性を有する２個以上の配列またはサブ配列を指す。配列比較では一般的に、１個の配列が、試験配列に対する比較対象となる参照配列として機能する。配列比較アルゴリズムを使用する場合、試験配列と参照配列はコンピュータに入力され、必要に応じてサブ配列の配位が指定され、サブ配列アルゴリズムプログラムのパラメータが指定される。次いで、配列比較アルゴリズムは、指定されたプログラムのパラメータに基づき、参照配列に対する試験配列の配列同一性の割合を算出する。

【００３１】

比較ウィンドウをアライメントするための最適な配列アライメントは、ＳｍｉｔｈとＷａｔｅｒｍａｎの局所相同アルゴリズム、ＮｅｅｄｌｅｍａｎとＷｕｎｓｃｈの相同アライメントアルゴリズム、ＰｅａｒｓｏｎとＬｉｐｍａｎの類似度検索法などのツールにより実行され、かつ任意選択で、ＧＡＰ、ＢＥＳＴＦＩＴ、ＦＡＳＴＡ、ＴＦＡＳＴＡなど、ＧＣＧ（登録商標）Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｐａｃｋａｇｅ（登録商標）（Ａｃｃｅｌｒｙｓ Ｉｎｃ．，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）の一部として利用可能な上記アルゴリズムのコンピュータ実装により実施される。試験配列および参照配列のアライメントされたセグメントに対する「同一性部分（ｉｄｅｎｔｉｔｙ ｆｒａｃｔｉｏｎ）」とは、アライメントされた２個の配列により共有される同一の成分を、参照配列セグメントの成分、すなわち参照配列全体または参照配列のうち定義された小さな部分の総数で割った数である。配列同一性の割合は、同一性部分に１００を掛けて表される。１つまたは複数のポリヌクレオチド配列の比較は、完全長のポリヌクレオチド配列もしくはその部分、またはさらに長いポリヌクレオチド配列に対して行われる。いくつかの例では、「同一性の割合」は、翻訳されたヌクレオチド配列ではＢＬＡＳＴＸのバージョン２．０、およびポリヌクレオチド配列ではＢＬＡＳＴＮのバージョン２．０を用いて判定される。

【００３２】

本明細書で使用されるとき、「標的ヌクレオチド配列」は、ＣＲＩＳＰＲアレイ中でスペーサ配列に対して完全に相補的または実質的に相補的（例えば、少なくとも７０％相補的（例えば、７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％以上））である標的遺伝子の一部（すなわち、プロトスペーサ隣接モチーフ（ＰＡＭ）配列に隣接するゲノムまたは「プロトスペーサ配列」中の標的領域）を指す。

【００３３】

本明細書中で使用されるとき、「プロトスペーサ隣接モチーフ」または「ＰＡＭ」という用語は、スペーサ配列に一致するヌクレオチド配列に隣接している標的ＤＮＡ分子上に存在するＤＮＡ塩基配列を指す。このモチーフは、領域に相補的であることによりスペーサ配列が結合する領域の隣りにある標的遺伝子に見られ、スペーサヌクレオチド配列との塩基対合が開始する点を特定する。必要とされる正確なＰＡＭ配列は、それぞれ異なるＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系間で変動する。ＰＡＭの非限定的な例には、ＣＣＡ、ＣＣＴ、ＣＣＧ、ＴＴＣ、ＡＡＧ、ＡＧＧ、ＡＴＧ、ＧＡＧ、および／またはＣＣが挙げられる。いく

つかの例では、Ｉ型の系においてＰＡＭは、スペーサに一致する配列に対して５’の真隣りに位置するので、スペーサヌクレオチド配列と塩基対を形成する配列に対して３’であり、カスケードにより直接認識される。いくつかの例では、Ｂ．ｈａｌｏｄｕｒａｎｓのＩ－Ｃ型系では、ＰＡＭはＹＹＣであり、ＹはＴまたはＣのいずれかであり得る。いくつかの例では、緑膿菌のＩ－Ｃ型系では、ＰＡＭはＴＴＣである。一旦、同種のプロトスペーサおよびＰＡＭが認識されると、Ｃａｓ３が動員され、その後に標的ＤＮＡを切断し、分解させる。ＩＩ型の系では、ＰＡＭは、ゲノムを用いたそのガイドＲＮＡのワトソン－クリック対合を介して特異的なＤＮＡ配列を調べるためのＲループを形成するべく、Ｃａｓ９／ｓｇＲＮＡに必要とされる。ＰＡＭの特異性は、Ｃａｓ９タンパク質（例えば、Ｃａｓ９のＣ末端におけるモチーフ認識ドメインに隣接するプロトスペーサ）のＤＮＡ結合特異性に応じる。

【００３４】

本明細書で使用されるとき、「遺伝子」という用語は、ｍＲＮＡ、ｔＲＮＡ、ｒＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ、抗ｍｉｃｒｏＲＮＡ、制御性ＲＮＡなどを産生するのに使用可能な核酸分子を指す。遺伝子は、機能タンパク質または遺伝子産物を産生するのに使用可能な場合もあれば、そうでない場合もある。遺伝子は、コーディング領域と非コーディング領域（例えば、イントロン、制御要素、プロモータ、エンハンサ、終止配列、ならびに／または５’および３’の未翻訳領域）の両方を含む。遺伝子は、自然の状態にある核酸と関連して通常見出される構成成分から核酸が実質的または本質的に離れるという意味で、「単離される」。このような構成成分として、他の細胞材料、組換え型産生による培養培地、および／または核酸の化学合成に用いられる種々の化学物質が挙げられる。

【００３５】

「処置する（ｔｒｅａｔ）」「処置すること（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」、または「処置（ｔｒｅａｔｍｅｎｔ）」という用語は、対象の疾病の重症度が低下するかまたは少なくとも部分的に改善すること、および、少なくとも１つの臨床症状における一部の緩和、軽減、または低下が達成され、ならびに／あるいは疾患もしくは疾病の進行の遅れ、および／または疾患もしくは病気の発症の遅れが認められることを意図される。感染症、疾患、または疾病に対して、この用語は、感染症、疾患、または疾病の症状または他の徴候の低下を指す。いくつかの実施形態では、処置は、感染症、疾患、または疾病の症状または他の徴候を少なくとも約５％、例えば約１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、またはそれよりも多く低下させる。

【００３６】

「予防する（ｐｒｅｖｅｎｔ）」、「予防すること（ｐｒｅｖｅｎｔｉｎｇ）」、および「予防（ｐｒｅｖｅｎｔｉｏｎ）」（およびそれらの文法上の変形）という用語は、感染症、疾患、疾病、および／もしくは臨床症状の発症前に本開示の方法を実行しない場合に生じるものと比較して、対象における感染症、疾患、疾病、および／もしくは臨床症状の発症の予防および／もしくは遅延、ならびに／または、感染症、疾患、疾病、および／もしくは臨床症状の発症の重症度の低下を指す。このため、いくつかの実施形態では、感染症を予防するために、食品、表面、医療ツールおよびデバイスは、本明細書に開示される組成物および方法により処理される。

【００３７】

本明細書中で使用される「感染症」、「疾患」、または「疾病」に関する用語は、対象において標的となる細菌の存在が原因となる、対照におけるあらゆる悪い、負の、または有害な生理学的疾病を指す。これらの用語は互換的に使用される。

【００３８】

「個体」または「対象」という用語は、本明細書で使用されるとき、感染症、疾患、または疾病に関与する細菌を有しているか、またはそれに罹りやすいあらゆる動物を含む。このため、いくつかの実施形態では、対象は、哺乳動物、鳥類、爬虫類、両生類、魚類、甲殻類、または軟体動物である。哺乳動物対象として、ヒト、非ヒト霊長類（例えば、ゴリラ、サル、ヒヒ、チンパンジーなど）、イヌ、ネコ、ヤギ、ウマ、ブタ、ウシ、ヒツジ

など、および実験動物（例えば、ラット、モルモット、マウス、アレチネズミ、ハムスターなど）が挙げられるが、これらに限定されない。鳥類対象として、ニワトリ、アヒル、七面鳥、ガチョウ、ウズラ、キジ、およびペットとして飼われている鳥類（例えば、インコ、オウム、コンゴウインコ、ボタンインコ、カナリアなど）が挙げられるが、これらに限定されない。魚類対象には、水産養殖で使用される種（例えば、マグロ、サーモン、ティラピア、ナマズ、コイ、マス、タラ、バス、スズキ、フエダイなど）が挙げられるが、これらに限定されない。甲殻類対象には、水産養殖で使用される種（例えば、小エビ、クルマエビ、ロブスター、ザリガニ、カニなど）が挙げられるが、これらに限定されない。軟体動物対象には、水産養殖で使用される種（例えば、アワビ、ムラサキイガイ、カキ、ハマグリ、ホタテガイなど）が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、好適な対象には、胎児（例えば、子宮内または卵内）、乳児、幼児、青年、成人、および高齢者の対象を含め、あらゆる年齢の男性と女性の両対象が挙げられる。いくつかの実施形態では、対象はヒトである。

【００３９】

本明細書中で使用されるとき、核酸配列の文脈における「単離された」という用語は、その自然環境とは別に存在する核酸配列である。

【００４０】

本明細書中で使用されるとき、「発現カセット」とは、目的のヌクレオチド配列を含む組換え核酸分子（例えば、本明細書に開示される組換え核酸分子およびＣＲＩＳＰＲアレイ）を意味し、ヌクレオチド配列は少なくとも１つの対照配列（例えば、プロモータ）と操作可能に関連付けられる。

【００４１】

本明細書中で使用されるとき、「キメラ」とは、少なくとも２つの構成成分が様々な供給源（例えば、様々な生物、様々なコーディング領域）から由来する核酸分子またはポリペプチドを指す。

【００４２】

本明細書中で使用されるとき、「選択可能なマーカ」とは、発現時に、マーカを発現する宿主細胞に別個の表現型を与えることで、このように形質転換された細胞がマーカを有していない細胞と区別可能となるヌクレオチド配列を意味する。

【００４３】

本明細書中で使用されるとき、「ベクター」とは、核酸（または複数の核酸）を細胞に転写、送達、または導入するための組成物を指す。

【００４４】

本明細書中で使用されるとき、「薬学的に許容可能な」とは、生物学的またはその他の点で望ましくなくはない材料を意味し、すなわち、この材料は、毒性などのあらゆる望ましくない生体作用を生じさせることなく対象に投与される。

【００４５】

本明細書中で使用されるとき、「バイオフィルム」という用語は、多糖類のマトリックスに埋め込まれる微生物の蓄積物を意味する。バイオフィルムは固形の生体表面または非生体表面上に生じるとともに医学的に重要であり、身体での微生物感染の８０パーセントより多くを占めている。

【００４６】

本明細書中で使用されるとき、「ｉｎ　ｖｉｖｏ」という用語は、対象の身体に生じる事象を説明するために使用される。

【００４７】

本明細書で使用するとき、「ｉｎ　ｖｉｔｒｏ」という用語は、材料が得られる生物学的供給源から分離されるように、検査試薬を保持するための容器に包含された状態で事象を説明するために使用される。ｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイは、生存または死滅している細胞を利用する細胞系アッセイを包含することができる。ｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイはさらに、無傷の細胞を利用しない無細胞アッセイを包含することができる。

【００４８】
ＣＲＩＳＰＲ／ＣＡＳ系
ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、細菌および古細菌に見られる自然適応免疫系である。ＣＲＩＳＰＲ系は、獲得免疫の一形態をもたらすファージおよびプラスミドへの侵入に対する防御に関与するヌクレアーゼ系である。ｃａｓ遺伝子のセットおよびそれらの系統発生的関係に基づき、多様なＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系が存在する。少なくとも６つの異なる型（Ｉ～ＶＩ）が存在し、Ｉ型は細菌と古細菌の両方で特定されるすべての系の５０％より多くを表す。いくつかの実施形態では、Ｉ型、ＩＩ型、ＩＩＩ型、ＩＶ型、Ｖ型、またはＶＩ型のＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系が、本明細書中で使用される。
【００４９】
Ｉ型系は、Ｉ－Ａ型、Ｉ－Ｂ型、Ｉ－Ｃ型、Ｉ－Ｄ型、Ｉ－Ｅ型、Ｉ－Ｆ型、およびＩ－Ｕ型を含む７つのサブタイプに分けられる。Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、（抗ウイルス防御に関連する複合体では）カスケード、Ｃａｓ３（標的ＤＮＡの分解に寄与するヌクレアーゼ、ヘリカーゼ、およびエキソヌクレアーゼ活性を有するタンパク質）、およびｃｒＲＮＡをコードするＣＲＩＳＰＲアレイ（カスケードの複合体を安定させ、カスケードおよびＣａｓ３をＤＮＡ標的に向ける）と称される、多重サブユニット複合体を含む。カスケードはｃｒＲＮＡと複合体を形成し、タンパク質とＲＮＡの対は、そのゲノム標的を、ｃｒＲＮＡ配列の５’末端と所定のプロトスペーサとの間での相補的塩基対合により認識する。この複合体は、ｃｒＲＮＡ内でコードされた試薬、および病原体ゲノム内でプロトスペーサ隣接モチーフ（ＰＡＭ）を介して、病原体ＤＮＡの相同な座位に向けられる。塩基対合はｃｒＲＮＡと標的ＤＮＡ配列との間に生じ、配座転移が引き起こされる。Ｉ－Ｅ型の系では、ＰＡＭはカスケード内でＣａｓＡタンパク質により認識されるので、後に隣接するＤＮＡとの結合を解除されて、ｃｒＲＮＡの標的部分とスペーサ部分との間の塩基対合の程度が評価される。十分な認識により、カスケードは動員されてＣａｓ３を活性化させる。その後、Ｃａｓ３は非標的鎖にニッキングを行い、３’～５’の方向で鎖を分解し始める。
【００５０】
Ｉ－Ｃ型の系では、タンパク質Ｃａｓ５、Ｃａｓ８ｃ、およびＣａｓ７は、カスケードエフェクタ複合体を形成する。Ｃａｓ５はプレｃｒＲＮＡ（多重スペーサアレイの形態、または２つのリピート間で単一スペーサの形態を呈することができるもの）を処理して、残りの反復配列と線形配列から形成されるヘアピン構造で較正されるｃｒＲＮＡを個々に産生する。その後、エフェクタ複合体は、処理されたｃｒＲＮＡに結合してＤＮＡを走査し、ＰＡＭ部位を特定する。Ｉ－Ｃ型の系では、ＰＡＭはＣａｓ８ｃタンパク質により認識されるので、その後ＤＮＡ二本鎖の結合を解除するように作用する。ＰＡＭの配列３’が、エフェクタ複合体に結合されるｃｒＲＮＡスペーサに一致する場合、複合体中に配座転移が生じ、Ｃａｓ３がその部位に動員される。その後、Ｃａｓ３は非標的鎖にニッキングを行い、ＤＮＡを分解し始める。場合により、Ｃａｓ５は、Ｃａｓ５、Ｃａｓ５ｃ、Ｃａｓ５ｄ、および配列番号７６に対して少なくとも９０％同一の配列を含む。場合により、Ｃａｓ７は、Ｃａｓ７、Ｃａｓ７ｃ、および配列番号７８に対して少なくとも９０％同一の配列を含む。場合により、Ｃａｓ８は、Ｃａｓ８、Ｃａｓ８ｃ、および配列番号７７に対して少なくとも９０％同一の配列を含む。
【００５１】
いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、シュードモナス種に対し内因性である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、シュードモナス種に対し外因性である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系はＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系はＩ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系はＩ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系はＩ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、緑膿菌由来のＩ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系である。いくつかの実施形態では、Ｃ

ＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系はＩ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系はＩ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系はＩ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系はＩ－Ｕ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系はＩＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系はＩＩＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系である。

【００５２】

いくつかの実施形態では、本明細書中で開示されるＣＲＩＳＰＲアレイの処理には、以下のプロセス：１）プレｃｒＲＮＡをコードする核酸の転写、２）カスケードおよび／またはＣａｓ６などカスケードの特定の員の認識、ならびに３）カスケードおよび／またはＣａｓ６などカスケードの特定の員によるプレｃｒＲＮＡの成熟ｃｒＲＮＡｓへの処理が挙げられるがこれらに限定されない。いくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ系における作用の形態には、以下のプロセス：４）カスケードとの成熟ｃｒＲＮＡ複合体形成、５）複合体形成された成熟ｃｒＲＮＡ／カスケード複合体による標的認識、および６）ＤＮＡ分解を生じさせる標的におけるヌクレアーゼ活性が挙げられるがこれらに限定されない。

【００５３】

本明細書中のいくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の成分、およびＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系成分を含むバクテリオファージが提供される。一例として、本明細書には、配列番号８３～８７のうちいずれか１つに対して少なくとも約８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を含む核酸配列が提供される。場合により、核酸配列は、配列番号８３に対して少なくとも約８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を含む。場合により、核酸配列は、配列番号８４に対して少なくとも約８０％、８１％、８２％、８４％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を含む。場合により、核酸配列は、配列番号８５に対して少なくとも約８０％、８１％、８２％、８５％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を含む。場合により、核酸配列は、配列番号８６に対して少なくとも約８０％、８１％、８２％、８６％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を含む。場合により、核酸配列は、配列番号８７に対して少なくとも約８０％、８１％、８２％、８７％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を含む。場合により、核酸配列は、配列番号８３に対して少なくとも約９０％の同一性を含む。場合により、核酸配列は、配列番号８４に対して少なくとも約９０％の同一性を含む。場合により、核酸配列は、配列番号８５に対して少なくとも約９０％の同一性を含む。場合により、核酸配列は、配列番号８６に対して少なくとも約９０％の同一性を含む。場合により、核酸配列は、配列番号８７に対して少なくとも約９０％の同一性を含む。これらの実施形態のいずれかでは、核酸配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、または８８～１２０のうちいずれか１つに対して少なくとも９０％同一の配列を含む場合がある。非限定的な例では、核酸配列は、配列番号１２、配列番号１６、および配列番号２０のうち１つまたは複数を含む。

【００５４】

さらに本明細書には、配列番号２４に対して少なくとも約８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９

３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％同一の核酸配列を含むＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系成分が提供される。場合により、核酸配列は、配列番号２４に対して少なくとも約９０％の同一性を含む。これらの実施形態のいずれかでは、核酸配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、または８８～１２０のうちいずれか１つに対して少なくとも９０％同一の配列を含む場合がある。非限定的な例では、核酸配列は、配列番号１２、配列番号１６、および配列番号２０のうち１つまたは複数を含む。

【００５５】

本明細書には、配列番号２５に対して少なくとも約８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％の同一性を含むＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系成分が提供される。場合により、核酸配列は、配列番号２５に対して少なくとも約９０％の同一性を含む。これらの実施形態のいずれかでは、核酸配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、または８８～１２０のうちいずれか１つに対して少なくとも９０％同一の配列を含む場合がある。非限定的な例では、核酸配列は、配列番号１２、配列番号１６、および配列番号２０のうち１つまたは複数を含む。

【００５６】

ＣＲＩＳＰＲファージ

本明細書中の特定の実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むバクテリオファージ組成物およびその使用方法が開示される。

【００５７】

バクテリオファージ、または「ファージ」は、細菌ウイルスの一群を表しており、環境源から操作されるか、または供給される（ｓｏｕｒｃｅｄ）。個々のバクテリオファージ宿主の範囲は通常狭く、すなわち（ｍｅａｎｉｎｇ）、ファージは細菌種の１個の株または数個の株に対して高度に特異的であり、この特異性により、ファージはその抗菌作用において固有のものとなる。バクテリオファージは、複製を行う宿主の細胞の機構に依存する細菌ウイルスである。バクテリオファージは、一般的にその生活様式に応じて毒性ファージまたは溶原性ファージとして分類される。溶菌性バクテリオファージとしても知られる毒性ファージは、溶菌性複製のみを受ける可能性がある。溶菌性バクテリオファージは宿主細胞を感染させて、多数回の複製を受け細胞溶解を引きこすことで、新たに作られたバクテリオファージ粒子を放出する。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される溶菌性バクテリオファージは、その複製能を保持する。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される溶菌性バクテリオファージは、その細胞溶解誘発能を保持する。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される溶菌性バクテリオファージは、その複製能と細胞溶解誘発能の両方を保持する。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるバクテリオファージはＣＲＩＳＰＲアレイを含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、バクテリオファージが複製を行う、および／または細胞溶解を誘発する能力に影響を及ぼさない。溶原性または溶原（ｌｙｓｏｇｅｎｉｃ）バクテリオファージは溶原化を受ける場合があり、そこでファージは複製を止めて宿主細胞内に安定して存在し、細菌ゲノムに統合されるか、または染色体外プラスミドとして維持される。溶原性ファージはまた、その溶菌性バクテリオファージ相当物と同様の溶菌性複製を受けることができる。溶原性ファージが溶菌により複製するか、または感染後に溶原化を受けるかどうかは、細胞の成長条件や生理学的状態を含む種々の因子に依存する。溶原性ファージがそのゲノムに統合されている細菌細胞は、溶原細菌または溶原菌と称される。悪条件に曝露されると、溶原性ファージの再活性化、溶原性状態の終結、およびファージによる溶解性複製の再開が誘発される場合がある。このプロセスは誘導と呼ばれている。溶原性状態の終結をもたらす悪条件には、枯渇、ＵＶまたはイオン化放射能への曝露、および変異原性化学物質への曝露が挙げられる。これにより、ファージ遺伝子の発現、統合プロセスの逆転、および溶菌性増殖が生じる。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される溶原性ファージは、溶菌性を与えられている。「溶原化遺伝子」という用語は、その遺伝子産物が溶原性ファージの溶原化を促進させるいずれかの遺伝子を指す。溶原化遺伝子は、バクテリオファージ

の宿主ゲノムへの統合を容易にするインテグラーゼタンパク質の場合のように、直接促進を行うことができる。溶原化遺伝子はまた、溶菌性複製に必要な遺伝子の転写を妨げることで溶原化を維持するＣＩ転写制御因子の場合のように、間接的に溶原化を促進できる。

【００５８】

バクテリオファージは、３つの全体的なアプローチを使用して合成ＤＮＡを包装し、送達する。第１のアプローチでは、合成ＤＮＡは、標的とされた状態でバクテリオファージゲノムに再び組合せられるので、通常は選択可能なマーカに関与する。第２のアプローチでは、ファージ内の制限部位が、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで合成ＤＮＡを導入するために使用される。第３のアプローチでは、全体としてファージ包装部位および細胞溶解の複製起点をコードするプラスミドが、バクテリオファージ粒子の集合体の一部として包装される。得られたプラスミドは、鋳造された（ｃｏｉｎｅｄ）「ファージミド」であった。

【００５９】

ファージは、発達上の理由で所与の菌株に限定される。場合により、それらの遺伝子材料を互換性のない株へと注入することは、逆効果である。そのためファージは、バクテリア菌株の制限された断面を特異的に感染させるために発展した。しかし、一部のファージは、それらの遺伝子材料を広範囲の細菌へと注入することが分かっている。典型例はファージＰ１であり、グラム陰性菌の範囲でＤＮＡを注入すると示されている。

【００６０】

ファージカプシドの能力は制限されており、それらのゲノムサイズが適切に包装されるには厳格な範囲内に留められる必要があることを意味している。Ｃａｓオペロン＋ＣＲＩＳＰＲアレイをコードするＤＮＡの方が大きいため（合計約６０００ｂｐ）、他のＤＮＡは、Ｃａｓ系のために場所を空けるべくファージゲノムから取り除かれる必要がある。本明細書中で操作された例示的なファージは、ファージが生存率を保持するようにファージへと挿入されるＣａｓオペロンおよびＣＲＩＳＰＲアレイを含む。

【００６１】

本明細書中のいくつかの実施形態では、第１のスペーサ配列またはそこから転写されるｃｒＲＮＡをコードする第１の核酸配列を含むバクテリオファージであって、第１のスペーサ配列は、シュードモナス種における標的遺伝子からの標的ヌクレオチド配列に相補的である、バクテリオファージが開示される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、第１のスペーサ配列またはそこから転写されるｃｒＲＮＡをコードする第１の核酸配列を含み、第１のスペーサ配列は、シュードモナス種における標的遺伝子からの標的ヌクレオチド配列に相補的であるが、バクテリオファージが溶菌性を与えられていることを前提とする。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、溶原性バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、溶原遺伝子の除去、交換、または不活性化により溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子は、バクテリオファージ中の溶原サイクルの維持において役割を果たす。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子は、バクテリオファージ中の溶原サイクルの確立において役割を果たす。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子は、バクテリオファージ中の溶原サイクルの確立と溶原サイクルの維持の両方において役割を果たす。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子は抑制遺伝子である。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子はｃＩ抑制遺伝子である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、溶原性遺伝子の制御要素の除去により溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、溶原性遺伝子のプロモータの除去により溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、溶原性遺伝子の機能要素の除去により溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子はアクチベータ遺伝子である。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子はｃＩＩ遺伝子である。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子はｌｅｘＡ遺伝子である。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子はｉｎｔ（インテグラーゼ）遺伝子である。いくつかの実施形態では、２つ以上の溶原性遺伝子は、溶菌サイクルのバクテリオファージ溶原化サイクルおよび／または誘導の阻止を生じさせるために除去、置換、または不活性化される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、溶原遺伝子を対象とする第２のスペ

ーサを含む第２のＣＲＩＳＰＲアレイを介して溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、１つまたは複数の溶菌性遺伝子の挿入により溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、溶菌サイクルの誘導に寄与する１つまたは複数の遺伝子の挿入により溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、溶菌サイクルの誘導に寄与する１つまたは複数の遺伝子の発現を改質することにより溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、表現型上、溶原バクテリオファージから溶菌性バクテリオファージに変化する。いくつかの実施形態では、表現型の変化は、溶原化が不可能であることから、バクテリオファージに溶菌性を与えるために自己標的化ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を介して行われる。いくつかの実施形態では、自己標的化ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓは、プロファージゲノムからの自己標的化ｃｒＲＮＡを含み、溶原菌を死滅させる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、環境の改質により溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、環境の改質には、温度、ｐＨ、または栄養素の改質、抗生物質、過酸化水素、外来性ＤＮＡ、またはＤＮＡ損傷剤への曝露、有機炭素の存在、および重金属（例えば、クロム（ＶＩ）の形にあるもの）が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、溶菌性を与えられるバクテリオファージは、溶原状態に戻ることを防止される。いくつかの実施形態では、溶菌性を与えられるバクテリオファージは、追加のＣＲＩＰＳＲアレイの導入により溶原状態に戻ることを防止される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、バクテリオファージの溶菌活性および／またはＣＲＩＳＰＲアレイの活性による細胞死因を越えて、シュードモナス種上に新たな特性を付与しない。

【００６２】

さらに本明細書中のいくつかの実施形態では、第１のスペーサ配列またはそこから転写されるｃｒＲＮＡをコードする第１の核酸配列を含む溶原性バクテリオファージであって、第１のスペーサ配列は、シュードモナス種における標的遺伝子からの標的ヌクレオチド配列に相補的であるが、バクテリオファージが溶菌性を与えられていることを前提とする、溶原性バクテリオファージが開示される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、複数のバクテリア菌株を感染させる。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、標的遺伝子に対するプロモータ配列のすべてまたは一部を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、標的遺伝子の転写された領域のコーディング鎖に位置するヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、シュードモナス種の生存に必要とされる必須遺伝子の少なくとも一部を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、高度に保存された非コーディングまたは遺伝子間配列を含む。いくつかの実施形態では、標的配列は、必須遺伝子ｒｐｍＦと保存された仮想タンパク質との間にある遺伝子間配列である。いくつかの実施形態では、必須遺伝子は、Ｔｓｆ、ａｃｐＰ、ｇａｐＡ、ｉｎｆＡ、ｓｅｃＹ、ｃｓｒＡ、ｔｒｍＤ、ｆｔｓＡ、ｆｕｓＡ、ｇｌｙＱ、ｅｎｏ、ｎｕｓＧ、ｄｎａＡ、ｄｎａＳ、ｐｈｅＳ、ｒｐｌＢ、ｇｌｔＸ、ｈｉｓＳ、ｒｐｌＣ、ａｓｐＳ、ｇｙｒＢ、ｇｌｎＳ、ｄｎａＥ、ｒｐｏＡ、ｒｐｏＢ、ｐｈｅＴ、ｉｎｆＢ、ｒｐｓＣ、ｒｐｌＦ、ａｌａＳ、ｌｅｕＳ、ｓｅｒＳ、ｒｐｌＤ、ｇｙｒＡ、ｇｌｍＳ、ｆｕｓ、ａｄｋ、ｒｐｓＫ、ｒｐｌＲ、ｃｔｒＡ、ｐａｒＣ、ｔＲＮＡ－Ｓｅｒ、ｔＲＮＡ－Ａｓｎ、またはｍｅｔＫである。いくつかの実施形態では、必須遺伝子は、ｄｎａＡ、ｆｔｓＡ、ｇｙｒＢ、ｄｎａＮ、ｇｌｎＳ、またはｒｐｏＢである。いくつかの実施形態では、標的配列は、ＰＡ４３２５（仮想タンパク質）、ＰＡ１３１０（ｐｈｎＷ、ピルベートアミノトランスフェラーゼ）、またはＰＡ２９７０（ｒｐｍＦ、５０Ｓリボソームタンパク質Ｌ３２）とＰＡ２９７１（保存された仮想タンパク質）との間の境界である。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、非必須遺伝子にある。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、非コーディング配列である。いくつかの実施形態では、非コーディング配列は、遺伝子間配列である。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、シュードモナス種において高度に保存された配列の標的ヌクレオチド配列に相補的である。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、シュードモナス種における配列の標的ヌクレオチド配列に相補的である

。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、必須遺伝子のプロモータ配列のすべてまたは一部を含む標的ヌクレオチド配列に相補的である。いくつかの実施形態では、第１の核酸配列は、少なくとも１つの反復配列を含む第１のＣＲＩＳＰＲアレイを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１つの反復配列は、その５’末端または３’末端のいずれかにおいて第１のスペーサ配列に操作可能に連結される。

【００６３】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージＤＮＡは、溶原または溶原性バクテリオファージからのものである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージには、ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４２０９、ｐ４４３０、もしくはＰＢ１、またはそれらの２つ以上のファージが挙げられるが、これらに限定されない。

【００６４】

いくつかの実施形態では、目的のバクテリオファージは、環境供給源または市場調査供給業者から得られる。いくつかの実施形態では、得られたバクテリオファージは、溶菌活性のために細菌およびその関連する株のライブラリに対してスクリーニングされる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、スクリーニングされた細菌において一次抵抗を生成する能力について、細菌およびその関連する株のライブラリに対してスクリーニングされる。

【００６５】

いくつかの実施形態では、核酸はバクテリオファージゲノムへ挿入される。いくつかの実施形態では、核酸は、ｃｒＡｒｒａｙ、Ｃａｓ系、またはそれらの組合せを含む。いくつかの実施形態では、核酸は、目的のオペロンの末端における転写ターミネータ部位にてバクテリオファージゲノムへ挿入される。いくつかの実施形態では、核酸は、１つまたは複数の除去された非必須遺伝子の代わりとしてバクテリオファージゲノムへ挿入される。いくつかの実施形態では、核酸は、１つまたは複数の除去された溶原遺伝子の代わりとしてバクテリオファージゲノムへ挿入される。いくつかの実施形態では、非必須および／または溶原遺伝子の核酸での置換えにより、バクテリオファージの溶菌活性が増強する。いくつかの実施形態では、非必須および／または溶原遺伝子の核酸での置換えにより、溶原バクテリオファージに溶菌性が与えられる。

【００６６】

いくつかの実施形態では、核酸は第１の位置においてバクテリオファージゲノムへと導入される一方で、１つもしくは複数の非必須および／または溶原遺伝子は、別個の位置においてバクテリオファージゲノムから別々に除去され、および／または不活性化される。いくつかの実施形態では、１つもしくは複数の非必須および／または溶原遺伝子の除去は、溶原バクテリオファージを溶菌性バクテリオファージにする。同様に、いくつかの実施形態では、１つまたは複数の溶菌性遺伝子は、非溶菌性で溶原のバクテリオファージを溶菌性バクテリオファージにするようにバクテリオファージへと導入される。

【００６７】

いくつかの実施形態では、１つもしくは複数の非必須および／または溶原遺伝子の置換、切除、不活性化、またはそれらのあらゆる組合せは、化学的、生化学的、および／またはあらゆる好適な方法により達成される。いくつかの実施形態では、１つまたは複数の溶菌性遺伝子の挿入は、あらゆる好適な化学物質、生化学物質、および／または相同組換えによる物理的方法により達成される。

【００６８】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージから除去および／または置換されることとなる非必須遺伝子は、バクテリオファージの生存に必須ではない遺伝子である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージから除去および／または置換されることとなる非必須遺伝子は、溶菌サイクルの導入および／または維持に必須ではない遺伝子である。

【００６９】

本明細書中の特定の実施形態では、完全な外因性ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むバクテリオファージが開示される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、ＩＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、ＩＩＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、ＩＶ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｖ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、またはＶＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系である。本明細書中の特定の実施形態では、（ａ）ＣＲＩＳＰＲアレイと、（ｂ）カスケードポリペプチドと、（ｃ）Ｃａｓ３ポリペプチドとを含むＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージが開示される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、配列番号２４に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、配列番号２５に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。

【００７０】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ１１０６（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０２４）であり、バクテリオファージはＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ１５８７（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０２７）であり、バクテリオファージはＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ１７７２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３０）であり、バクテリオファージはＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ１８３５（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３２）であり、バクテリオファージはＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ２０３７（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３４）であり、バクテリオファージはＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ２１３１（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３６）であり、バクテリオファージはＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ２１３２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３８）であり、バクテリオファージはＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ２３６３（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４１）であり、バクテリオファージはＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ２４２１（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４３）であり、バクテリオファージはＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ２９７３（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４５）であり、バクテリオファージはＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはＰＢ１（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４９）であり、バクテリオファージはＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、表１Ａに列挙されるファージを含む。

【００７１】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２４に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ－系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２５に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ－系を含む。

【００７２】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ１１０６ｅ００３（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０２３）であるか、またはｐ１１０６ｅ００３に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％

同一である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ１５８７ｅ００２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０２６）であるか、またはｐ１５８７ｅ００２に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ１７７２ｅ００５（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０２９）であるか、またはｐ１７７２ｅ００５に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ１８３５ｅ００２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３１）であるか、またはｐ１８３５ｅ００２に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ２０３７ｅ００２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３３）であるか、またはｐ２０３７ｅ００２に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ２１３１ｅ００２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３５）であるか、またはｐ２１３１ｅ００２に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ２１３２ｅ００２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３７）であるか、またはｐ２１３２ｅ００２に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ２３６３ｅ００３（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４０）であるか、またはｐ２３６３ｅ００３に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ２４２１ｅ００２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４２）であるか、またはｐ２４２１ｅ００２に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはｐ２９７３ｅ００２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４４）であるか、またはｐ２９７３ｅ００２に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはＰＢ１ｅ００２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４８）であるか、またはＰＢ１ｅ００２に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、表１Ａに列挙されるファージを含む。いくつかの実施形態では、１つまたは複数の操作されたバクテリオファージおよび野生型ファージを含むバクテリオファージカクテル系が提供される。いくつかの実施形態では、野生型ファージは、表５Ａ、表５Ｂ、または表６Ａのファージである。いくつかの実施形態では、野生型ファージは、野生型Ｐｂｕｎａウイルスである。野生型Ｐｂｕｎａウイルスの非限定的な例には、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、およびｐｂ１が挙げられる。いくつかの実施形態では、野生型ファージは野生型Ｓａｍｕｎａウイルスである。野生型Ｓａｍｕｎａウイルスの非限定的な例には、ｐ１７７２、ｐ２１２１、ｐ２１３２、およびｐ２９７３が挙

げられる。いくつかの実施形態では、野生型ファージは野生型Ｎａｎｋｏｋｕウイルスである。いくつかの実施形態では、野生型ファージは野生型ＰｈｉＫＺウイルスである。野生型ＰｈｉＫＺウイルスの非限定的な例には、ｐ１１９４ｐ．ｂ００８およびｐ４４３０が挙げられる。いくつかの実施形態では、野生型ファージは野生型ＰｈｉＫＭＶウイルスである。野生型ＰｈｉＫＭＶウイルスの非限定的な例は、ｐ２１６７である。いくつかの実施形態では、野生型ファージは野生型Ｂｒｕｙｎｏｇｈｅウイルスである。野生型Ｂｒｕｙｎｏｇｈｅウイルスの非限定的な例には、ｐ１６９５およびｐ３２７８が挙げられる。いくつかの実施形態では、野生型ファージはｐ１１９４である。いくつかの実施形態では、野生型ファージはｐ４４３０である。いくつかの実施形態では、野生型ファージはｐ１６９５である。いくつかの実施形態では、野生型ファージは、ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス、Ｓａｍｕｎａウイルス、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス、Ａｂｉｄｊａｎウイルス、Ｂａｉｋａｌウイルス、Ｂｅｅｔｒｅウイルス、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス、Ｃｉｔｅｘウイルス、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス、Ｅｌウイルス、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス、Ｌｉｔｕｎａウイルス、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス、Ｎｉｐｕｎａウイルス、Ｐａｋｐｕｎａウイルス、Ｐａｍｅｘウイルス、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス、Ｐｈｉｔｒｅウイルス、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス、Ｙｕａウイルス、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルス、またはＰｂｕｎａウイルスである。

【００７３】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージカクテル系は、ＣＫ０００５１２（ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５）を含む。

【００７４】

いくつかの実施形態では、複数のバクテリオファージがまとめて使用される。いくつかの実施形態では、まとめて使用される複数のバクテリオファージは、試料または対象中の同じまたは異なる細菌を標的とする。いくつかの実施形態では、複数のバクテリオファージを含むカクテルが、まとめて使用される。いくつかの実施形態では、カクテルは、表１Ａから選択される少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、または２７個のファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、表１Ａから選択される２個のファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、表１Ａから選択される３個のファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、表１Ａから選択される３個のファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、表１Ａから選択される４個のファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、表１Ａから選択される５個のファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、表１Ａから選択される６個のファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、表６Ａから選択されるカクテルを含む。いくつかの実施形態では、カクテル中の少なくとも１つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲアレイを含む。いくつかの実施形態では、カクテルに存在する少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、または２７個のバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲアレイを含む。いくつかの実施形態では、カクテル中の少なくとも１つのバクテリオファージは、カスケードポリペプチドをコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、カクテルに存在する少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、または２７個のバクテリオファージは、カスケードポリペプチドをコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、カクテル中の少なくとも１つのバクテリオファージは、Ｃａｓ３ポリペプチドをコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、カクテルに存在する少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２

３、２４、２５、２６、または２７個のバクテリオファージは、Ｃａｓ３ポリペプチドをコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、およびｐ２１３１ｅ００２を含む。いくつかの実施形態では、カクテルはｐ１１９４をさらに含む。いくつかの実施形態では、カクテルはｐ１６９５をさらに含む。いくつかの実施形態では、カクテルはｐ４４３０をさらに含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ１１９４、およびｐ１６９５を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５を含む。

【００７５】

本明細書中のいくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むＰｈｉＫＺウイルスバクテリオファージが提供される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＺウイルスは、ｐ１１９４またはｐ４４３０である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、シュードモナス種における標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列と、カスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとを含む。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のスペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む少なくとも１つの反復配列を含む。いくつかの実施形態では、核酸配列は、例えば配列番号１～１１から選択されるプロモータ配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、図１Ａ～図１Ｅ、または配列番号８３～８７に記載される配列に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カスケード複合体は、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７ポリペプチド（任意選択で配列番号８２）（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２４に対して少なくとも９０％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２５に対して少なくとも９０％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ系を含む。

【００７６】

本明細書中のいくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むＰｈｉＫＭＶウイルスバクテリオファージが提供される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＭＶウイルスはｐ２１６７である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、シュードモナス種における標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列と、カスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとを含む。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のスペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む少なくとも１つの反復配列を含む。いくつかの実施形態では、核酸配列は、例えば配列番号１～１１から選択されるプロモータ配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、図１Ａ～図１Ｅ、または配列番号８３～８７に記載される配列に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カスケード複合体は、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７ポリペプチド（任意選択で配列番号８２）（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２４に対して少なくとも９０％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２５に対して少なくとも９０％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ系を含む。

【００７７】

本明細書中のいくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むＢｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスバクテリオファージが提供される。いくつかの実施形態では、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスは、ｐ１６９５またはｐ３２７８である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、シュードモナス種における標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列と、カスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとを含む。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のスペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む少なくとも１つの反復配列を含む。いくつかの実施形態では、核酸配列は、例えば配列番号１～１１から選択されるプロモータ配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、図１Ａ～図１Ｅ、または配列番号８３～８７に記載される配列に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カスケード複合体は、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７ポリペプチド（任意選択で配列番号８２）（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２４に対して少なくとも９０％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２５に対して少なくとも９０％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ系を含む。

【００７８】

本明細書中のいくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むＳａｍｕｎａウイルスバクテリオファージが提供される。いくつかの実施形態では、Ｓａｍｕｎａウイルスは、ｐ１７７２、ｐ２１３１、ｐ２１３２、またはｐ２９７３である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、シュードモナス種における標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列と、カスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとを含む。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のスペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む少なくとも１つの反復配列を含む。いくつかの実施形態では、核酸配列は、例えば配列番号１～１１から選択されるプロモータ配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、図１Ａ～図１Ｅ、または配列番号８３～８７に記載される配列に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カスケード複合体は、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７ポリペプチド（任意選択で配列番号８２）（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２４に対して少なくとも９０％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２５に対して少なくとも９０％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ系を含む。

【００７９】

本明細書中のいくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むＰｂｕｎａウイルスバクテリオファージが提供される。いくつかの実施形態では、Ｐｂｕｎａウイルスは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、またはｐｂ１である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、シュードモナス種における標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列と、カスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとを含む。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のスペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０の

いずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む少なくとも１つの反復配列を含む。いくつかの実施形態では、核酸配列は、例えば配列番号１～１１から選択されるプロモータ配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、図１Ａ～図１Ｅ、または配列番号８３～８７に記載される配列に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カスケード複合体は、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７ポリペプチド（任意選択で配列番号８２）（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２４に対して少なくとも９０％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２５に対して少なくとも９０％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ系を含む。

【００８０】

本明細書中のいくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むＮａｎｋｏｋｕウイルスバクテリオファージが提供される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、シュードモナス種における標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列と、カスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとを含む。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のスペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む少なくとも１つの反復配列を含む。いくつかの実施形態では、核酸配列は、例えば配列番号１～１１から選択されるプロモータ配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、図１Ａ～図１Ｅ、または配列番号８３～８７に記載される配列に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カスケード複合体は、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７ポリペプチド（任意選択で配列番号８２）（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２４に対して少なくとも９０％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２５に対して少なくとも９０％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ系を含む。

【００８１】

本明細書中のいくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む、Ａｂｉｄｊａｎウイルス、Ｂａｉｋａｌウイルス、Ｂｅｅｔｒｅウイルス、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス、Ｃｉｔｅｘウイルス、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス、Ｅｌウイルス、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス、Ｌｉｔｕｎａウイルス、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス、Ｎｉｐｕｎａウイルス、Ｐａｋｐｕｎａウイルス、Ｐａｍｅｘウイルス、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス、Ｐｈｉｔｒｅウイルス、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス、Ｙｕａウイルス、またはＺｉｃｏｔｒｉａウイルスのバクテリオファージが提供される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、シュードモナス種における標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列と、カスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとを含む。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のスペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む少なくとも１つの反復配列を含む。いくつかの実施形態では、核酸配列は、例えば配列番号１～１１から選択されるプロモータ配列をさらに含む。いくつかの実施

形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、図１Ａ～図１Ｅ、または配列番号８３～８７に記載される配列に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カスケード複合体は、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７ポリペプチド（任意選択で配列番号８２）（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２４に対して少なくとも９０％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、配列番号２５に対して少なくとも９０％の同一性を有するＣＲＩＳＰＲ系を含む。

【００８２】

ＣＲＩＳＰＲアレイ

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイ（ｃｒＡｒｒａｙ）は、スペーサ配列と少なくとも１つの反復配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、処理された成熟ｃｒＲＮＡをコードする。いくつかの実施形態では、成熟ｃｒＲＮＡは、ファージまたはシュードモナス種へと導入される。いくつかの実施形態では、内因性または外因性Ｃａｓ６は、ＣＲＩＳＰＲアレイを成熟ｃｒＲＮＡへと処理する。いくつかの実施形態では、外因性Ｃａｓ６はファージへと導入される。いくつかの実施形態では、ファージは外因性Ｃａｓ６を含む。いくつかの実施形態では、外因性Ｃａｓ６はシュードモナス種へと導入される。

【００８３】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイはスペーサ配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、少なくとも１つの反復配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１つの反復配列は、その５’末端または３’末端のいずれかにおいてスペーサ配列に操作可能に連結される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイはあらゆる長さにあり、かつ、１つまたは複数の必須遺伝子を標的とすることにより所望のレベルのシュードモナス種の死滅を達成するのに必要な反復ヌクレオチド配列と交互になっている任意数のスペーサヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、１～約１００個のスペーサヌクレオチド配列を含むか、当該配列から本質的になるか、または当該配列からなり、それぞれその５’末端および３’末端上で反復ヌクレオチド配列に連結される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、１００、またはそれより多くのスペーサヌクレオチド配列を含むか、当該配列から本質的になるか、または当該配列からなる。

【００８４】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号８３に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一の配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号８４に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一の配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号８５に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一の配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号８６に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３

％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一の配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号８７に対して少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一の配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、ＰｈｉＫＺウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＺウイルスは、ｐ１１９４またはｐ４４３０である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、ＰｈｉＫＭＶウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＭＶウイルスはｐ２１６７である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスは、ｐ１６９５またはｐ３２７８である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓａｍｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｓａｍｕｎａウイルスは、ｐ１７７２、ｐ２１３１、ｐ２１３２、またはｐ２９７３である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｂｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｐｂｕｎａウイルスは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、またはｐｂ１である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｎａｎｋｏｕウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ａｂｉｄｊａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂａｉｋａｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂｅｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃｉｔｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃｙｓｔｏウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｄｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｅｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｌｉｔｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｎｉｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｋｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｍｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｈｉｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｙｕａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルスへと操作される。

【００８５】

スペーサ配列

いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的である。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、緑膿菌中の標的ヌクレオチド配列に相補的である。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、非コーディング領域である。いくつかの実施形態では、コーディング領域は必須遺伝子である。いくつかの実施形態では、コーディング領域は非必須遺伝子である。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、非コーディング配列である。いくつかの実施形態では、非

コーディング配列は、遺伝子間配列である。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、シュードモナス種において高度に保存された配列の標的ヌクレオチド配列に相補的である。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、シュードモナス種における配列の標的ヌクレオチド配列に相補的である。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、必須遺伝子のプロモータ配列のすべてまたは一部を含む標的ヌクレオチド配列に相補的である。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、標的ヌクレオチド配列と比較して１、２、３、４、または５つのミスマッチを含む。いくつかの実施形態では、ミスマッチは連続している。いくつかの実施形態では、ミスマッチは連続していない。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、標的ヌクレオチド配列に対して７０％の相補性を有している。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、標的ヌクレオチド配列に対して８０％の相補性を有している。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、標的ヌクレオチド配列に対して８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％相補性である。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、標的ヌクレオチド配列に対して１００％の相補性を有している。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、長さが少なくとも約８のヌクレオチド～約１５０のヌクレオチドである標的ヌクレオチド配列の領域にわたり、完全な相補性または実質的な相補性を有している。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、長さが少なくとも約２０のヌクレオチド～約１００のヌクレオチドである標的ヌクレオチド配列の領域にわたり、完全な相補性または実質的な相補性を有している。いくつかの実施形態では、スペーサ配列の５’領域は標的ヌクレオチド配列に対し１００％相補的であり、一方でスペーサの３’領域は標的ヌクレオチド配列に対し実質的に相補的であるため、標的ヌクレオチド配列に対するスペーサ配列の全体的な相補性は、１００％未満である。例えば、いくつかの実施形態では、２０ヌクレオチドスペーサ配列（シード領域）の３’領域における最初の７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６のヌクレオチドは、標的ヌクレオチド配列に対し１００％相補的であり、一方でスペーサ配列の５’領域における残りのヌクレオチドは、標的ヌクレオチド配列に対し実質的に相補的である（例えば、少なくとも約７０％相補的である）。いくつかの実施形態では、スペーサ配列の３’末端における最初の７～１２のヌクレオチドは、標的ヌクレオチド配列に対し１００％相補的であり、一方でスペーサ配列の５’領域における残りのヌクレオチドは、標的ヌクレオチド配列に対し実質的に相補的である（例えば、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％以上相補的である）。いくつかの実施形態では、スペーサ配列の３’末端における最初の７～１０のヌクレオチドは、標的ヌクレオチド配列に対し７５％～９９％相補的であり、一方でスペーサ配列の５’領域における残りのヌクレオチドは、標的ヌクレオチド配列に対し少なくとも約５０％～約９９％相補的である。いくつかの実施形態では、スペーサ配列の３’末端における最初の７～１０のヌクレオチドは、標的ヌクレオチド配列に対し１００％相補的であり、一方でスペーサ配列の５’領域における残りのヌクレオチドは、標的ヌクレオチド配列に対し実質的に相補的である（例えば、少なくとも約７０％相補的である）。いくつかの実施形態では、スペーサ配列の（シード領域内の）最初の１０のヌクレオチドは標的ヌクレオチド配列に対し１００％相補的であり、一方でスペーサ配列の５’領域における残りのヌクレオチドは、標的ヌクレオチド配列に対し実質的に相補的である（例えば、少なくとも約７０％相補的である）。いくつかの実施形態では、スペーサ配列の５’領域（例えば、５’末端にある最初の８のヌクレオチド、５’末端にある最初の１０のヌクレオチド、５’末端にある最初の１５のヌクレオチド、５’末端にある最初の２０のヌクレオチド）は、標的ヌクレオチド配列に対して約７５％以上の相補性を有しており（７５％～約１００％の相補性）、一方でスペーサ配列の残りは、標的のヌクレオチド配列に対し約５０％以上の相補性を有している。いくつかの実施形態では、スペーサ配列の５’末端における最初の８のヌクレオチドは、標的ヌクレオチド配列に対し１００％の相補性を有しているか、または１つもしくは２つの変異を有しているので、それぞれ標

的ヌクレオチド配列に対して約８８％相補的または約７５％相補的であり、一方でスペーサヌクレオチド配列の残りは、標的ヌクレオチド配列に対し少なくとも約５０％以上相補的である。

【００８６】

いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、長さが約１５のヌクレオチド～約１５０のヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、スペーサヌクレオチド配列は、長さが約１５のヌクレオチド～約１００のヌクレオチド（例えば、約１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、１００以上のヌクレオチド）である。いくつかの実施形態では、スペーサヌクレオチド配列は、長さが約８～約１５０のヌクレオチド、約８～約１００のヌクレオチド、約８～約５０のヌクレオチド、約８～約４０のヌクレオチド、約８～約３０のヌクレオチド、約８～約２５のヌクレオチド、約８～約２０のヌクレオチド、約１０～約１５０のヌクレオチド、約１０～約１００のヌクレオチド、約１０～約８０のヌクレオチド、約１０～約５０のヌクレオチド、約１０～約４０のヌクレオチド、約１０～約３０のヌクレオチド、約１０～約２５のヌクレオチド、約１０～約２０のヌクレオチド、約１５～約１５０のヌクレオチド、約１５～約１００のヌクレオチド、約１５～約５０のヌクレオチド、約１５～約４０のヌクレオチド、約１５～約３０のヌクレオチド、約２０～約１００のヌクレオチド、約２０～約８０のヌクレオチド、約２０～約５０のヌクレオチド、約２０～約４０のヌクレオチド、約２０～約３０のヌクレオチド、約２０～約２５のヌクレオチド、少なくとも約８、少なくとも約１０、少なくとも約１５、少なくとも約２０、少なくとも約２５、少なくとも約３０、少なくとも約３２、少なくとも約３５、少なくとも約４０、少なくとも４４、少なくとも約５０、少なくとも約６０、少なくとも約７０、少なくとも約８０、少なくとも約９０、少なくとも約１００、少なくとも約１１０、少なくとも約１２０、少なくとも約１３０、少なくとも約１４０、少なくとも約１５０以上のヌクレオチド、およびその中のいずれかの値または範囲である。いくつかの実施形態では、緑膿菌Ｉ－Ｃ型Ｃａｓ系は、約３０～３９のヌクレオチド、約３１～約３８のヌクレオチド、約３２～約３７のヌクレオチド、約３３～約３６のヌクレオチド、約３４～約３５のヌクレオチド、または約３５のヌクレオチドのスペーサ長を有する。いくつかの実施形態では、緑膿菌Ｉ－Ｃ型Ｃａｓ系は、約３４のヌクレオチドのスペーサ長を有する。いくつかの実施形態では、緑膿菌Ｉ－Ｃ型Ｃａｓ系は、少なくとも約１０、少なくとも約１５、少なくとも約２０、少なくとも約２１、少なくとも約２２、少なくとも約２３、少なくとも約２４、少なくとも約２５、少なくとも約２６、少なくとも約２７、少なくとも約２９、少なくとも２９、少なくとも約３０、少なくとも約３１、少なくとも約３２、少なくとも約３３、少なくとも３４、少なくとも約３５、少なくとも約３６、少なくとも約３７、少なくとも約３８、少なくとも約３９、少なくとも約２０、少なくとも約４１、少なくとも約４２、少なくとも約４３、少なくとも約４４、少なくとも約４５、または約４５より大きなヌクレオチドのスペーサ長を有する。

【００８７】

いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、または８８～１２０のいずれか１つに対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの例では、スペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、または８８～１２０のいずれか１つに対して少なくともまたは約９５％の配列同一性を含む。いくつかの例では、スペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、または８８～１２０のいずれか１つに対して少なくともまたは約９７％の配列同一

性を含む。いくつかの例では、スペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、または８８～１２０のいずれか１つに対して少なくともまたは約９９％の配列同一性を含む。いくつかの例では、スペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、８８～１２０のいずれか１つに対して１００％の配列同一性を含む。いくつかの例では、スペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、８８～１２０のいずれか１つの、少なくともまたは約３、４、５、６、７、８、９、１０、１２、１４、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、または３４より多くのヌクレオチドを有している少なくとも一部を含む。

【００８８】

「配列同一性」という用語は、２つのポリヌクレオチド配列が比較ウィンドウ上で（ヌクレオチドごとに）同一であることを意味する。「配列同一性の割合」という用語は、最適にアライメントされた２つの配列を比較ウィンドウ上で比較し、同一の核酸塩基（例えばＡ、Ｔ、Ｃ、Ｇ、Ｕ、またはＩ）が両配列に生じる位置の数を求めることで一致した位置の数を得て、この一致した位置の数を比較ウィンドウの位置の総数（すなわち、ウィンドウサイズ）で割り、その結果に１００を掛けることで配列同一性の割合を得ることによって、算出される。

【００８９】

２つのタンパク質間における「相同性」または「類似性」という用語は、アミノ酸配列およびその１つのタンパク質配列の保存されたアミノ酸置換を、別のタンパク質配列と比較することにより判定される。類似性は、当該技術分野で周知の手順、例えばＢＬＡＳＴプログラム（Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃｅｎｔｅｒ ｆｏｒ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ ＩｎｆｏｒｍａｔｉｏｎのＢａｓｉｃ Ｌｏｃａｌ Ａｌｉｇｎｍｅｎｔ Ｓｅａｒｃｈ Ｔｏｏｌ）により判定されてよい。

【００９０】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイの２つ以上のスペーサ配列の同一性は、同じである。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイの２つ以上のスペーサ配列の同一性は、異なっている。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイの２つ以上のスペーサ配列の同一性は異なっているが、１つまたは複数の標的ヌクレオチド配列に対し相補的である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイの２つ以上のスペーサ配列の同一性は異なっており、オーバーラップ配列である１つまたは複数の標的ヌクレオチド配列に対し相補的である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイの２つ以上のスペーサ配列の同一性は異なっており、オーバーラップ配列でない１つまたは複数の標的ヌクレオチド配列に対し相補的である。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、生物のゲノムにおいてＰＡＭ配列（標的領域の３’の真隣りに位置するＰＡＭ配列）の真隣りに位置する、長さが約１０～４０の連続ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、ＰＡＭ（プロトスペーサ隣接モチーフ）に隣接するか、またはその隣に位置する。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイの２つ以上の配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、または８８～１２０のうちいずれか１つに対し少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイの２つ以上の配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、または８８～１２０のうちいずれか１つに対し少なくともまたは約９５％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイの２つ以上の配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、または８８～１２０のうちいずれか１つに対し少なくともまたは約９７％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイの２つ以上の配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、または８８～１２０のうちいずれか１つに対し少なくともまたは約９９％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイの２つ以上の配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、または８８～１２０のうちいずれか１つに対し１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイの２つ以上の配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、または８

８～１２０のうちいずれか１つの、少なくともまたは約３、４、５、６、７、８、９、１０、１２、１４、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、または３４より大きなヌクレオチドを有している少なくとも一部を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、ＰｈｉＫＺウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＺウイルスは、ｐ１１９４またはｐ４４３０である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、ＰｈｉＫＭＶウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＭＶウイルスはｐ２１６７である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスは、ｐ１６９５またはｐ３２７８である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓａｍｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｓａｍｕｎａウイルスは、ｐ１７７２、ｐ２１３１、ｐ２１３２、またはｐ２９７３である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｂｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｐｂｕｎａウイルスは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、またはｐｂ１である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｎａｎｋｏｋｕウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ａｂｉｄｊａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂａｉｋａｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂｅｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃｉｔｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃｙｓｔｏウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｄｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｅｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｌｉｔｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｎｉｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｋｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｍｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｈｉｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｙｕａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルスへと操作される。

【００９１】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号１２～１５のいずれか１つに対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第１のスペーサ配列と、配列番号１６～１９のいずれか１つに対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第２のスペーサ配列と、配列番号２０～２３のいずれか１つに対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第３のスペーサ配列とを含み、当該第１のスペーサ

配列、第２のスペーサ配列、および第３のスペーサ配列は、０～８のヌクレオチド修飾を含む。いくつかの例では、第１のスペーサ配列は、配列番号１２～１５のいずれか１つに対して少なくともまたは約９７％の相同性を含み、第２のスペーサ配列は、配列番号１６～１９のいずれか１つに対して少なくともまたは約９７％の相同性を含み、第３のスペーサ配列は、配列番号２０～２３のいずれか１つに対して少なくともまたは約９７％の相同性を含む。いくつかの例では、第１のスペーサ配列は、配列番号１２～１５のいずれか１つに対して少なくともまたは約９９％の相同性を含み、第２のスペーサ配列は、配列番号１６～１９のいずれか１つに対して少なくともまたは約９９％の相同性を含み、第３のスペーサ配列は、配列番号２０～２３のいずれか１つに対して少なくともまたは約９９％の相同性を含む。いくつかの例では、第１のスペーサ配列は、配列番号１２～１５のいずれか１つに対して少なくともまたは約１００％の相同性を含み、第２のスペーサ配列は、配列番号１６～１９のいずれか１つに対して少なくともまたは約１００％の相同性を含み、第３のスペーサ配列は、配列番号２０～２３のいずれか１つに対して少なくともまたは約１００％の相同性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、ＰｈｉＫＺウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＺウイルスは、ｐ１１９４またはｐ４４３０である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、ＰｈｉＫＭＶウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＭＶウイルスはｐ２１６７である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスは、ｐ１６９５またはｐ３２７８である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓａｍｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｓａｍｕｎａウイルスは、ｐ１７７２、ｐ２１３１、ｐ２１３２、またはｐ２９７３である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｂｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｐｂｕｎａウイルスは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、またはｐｂ１である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｎａｎｋｏｋｕウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ａｂｉｄｊａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂａｉｋａｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂｅｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃｉｔｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃｙｓｔｏウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｄｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｅｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｌｉｔｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｎｉｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｋｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｍｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｈｉｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｙｕａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルスへと操作される。

【００９２】
いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号１２に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第１のスペーサ配列と、配列番号１６に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第２のスペーサ配列と、配列番号２０に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第３のスペーサ配列とを含み、当該第１のスペーサ配列、第２のスペーサ配列、および第３のスペーサ配列は、０～８のヌクレオチド修飾を含む。いくつかの例では、第１のスペーサ配列は、配列番号１２に対して少なくともまたは約９７％の相同性を含み、第２のスペーサ配列は、配列番号１６に対して少なくともまたは約９７％の相同性を含み、第３のスペーサ配列は、配列番号２０に対して少なくともまたは約９７％の相同性を含む。いくつかの例では、第１のスペーサ配列は、配列番号１２に対して少なくともまたは約９９％の相同性を含み、第２のスペーサ配列は、配列番号１６に対して少なくともまたは約９９％の相同性を含み、第３のスペーサ配列は、配列番号２０に対して少なくともまたは約９９％の相同性を含む。いくつかの例では、第１のスペーサ配列は、配列番号１２に対して少なくともまたは約１００％の相同性を含み、第２のスペーサ配列は、配列番号１６に対して少なくともまたは約１００％の相同性を含み、第３のスペーサ配列は、配列番号２０に対して少なくともまたは約１００％の相同性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、ＰｈｉＫＺウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＺウイルスは、ｐ１１９４またはｐ４４３０である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、ＰｈｉＫＭＶウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＭＶウイルスはｐ２１６７である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスは、ｐ１６９５またはｐ３２７８である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓａｍｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｓａｍｕｎａウイルスは、ｐ１７７２、ｐ２１３１、ｐ２１３２、またはｐ２９７３である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｂｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｐｂｕｎａウイルスは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、またはｐｂ１である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｎａｎｋｏｋｕウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ａｂｉｄｊａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂａｉｋａｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂｅｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃｉｔｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃｙｓｔｏウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｄｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｅｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｌｉｔｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｎｉｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｋｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｍｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｈｉｔｒｅウイルスへ

と操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｙｕａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルスへと操作される。

【００９３】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号１３に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第１のスペーサ配列と、配列番号１７に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第２のスペーサ配列と、配列番号２１に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第３のスペーサ配列とを含み、当該第１のスペーサ配列、第２のスペーサ配列、および第３のスペーサ配列は、０～８のヌクレオチド修飾を含む。いくつかの例では、第１のスペーサ配列は、配列番号１３に対して少なくともまたは約９７％の相同性を含み、第２のスペーサ配列は、配列番号１７に対して少なくともまたは約９７％の相同性を含み、第３のスペーサ配列は、配列番号２１に対して少なくともまたは約９７％の相同性を含む。いくつかの例では、第１のスペーサ配列は、配列番号１３に対して少なくともまたは約９９％の相同性を含み、第２のスペーサ配列は、配列番号１７に対して少なくともまたは約９９％の相同性を含み、第３のスペーサ配列は、配列番号２１に対して少なくともまたは約９９％の相同性を含む。いくつかの例では、第１のスペーサ配列は、配列番号１３に対して少なくともまたは約１００％の相同性を含み、第２のスペーサ配列は、配列番号１７に対して少なくともまたは約１００％の相同性を含み、第３のスペーサ配列は、配列番号２１に対して少なくともまたは約１００％の相同性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、ＰｈｉＫＺウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＺウイルスは、ｐ１１９４またはｐ４４３０である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、ＰｈｉＫＭＶウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＭＶウイルスはｐ２１６７である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスは、ｐ１６９５またはｐ３２７８である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓａｍｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｓａｍｕｎａウイルスは、ｐ１７７２、ｐ２１３１、ｐ２１３２、またはｐ２９７３である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｂｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｐｂｕｎａウイルスは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、またはｐｂ１である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｎａｎｋｏｋｕウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ａｂｉｄｊａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂａｉｋａｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂｅｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃｉｔｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃｙｓｔｏウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｄｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｅｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルスへと操作される。いくつかの実施

形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｌｉｔｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｎｉｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｋｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｍｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｈｉｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｙｕａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルスへと操作される。

【００９４】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号１４に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第１のスペーサ配列と、配列番号１８に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第２のスペーサ配列と、配列番号２２に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第３のスペーサ配列とを含み、当該第１のスペーサ配列、第２のスペーサ配列、および第３のスペーサ配列は、０～８のヌクレオチド修飾を含む。いくつかの例では、第１のスペーサ配列は、配列番号１４に対して少なくともまたは約９７％の相同性を含み、第２のスペーサ配列は、配列番号１８に対して少なくともまたは約９７％の相同性を含み、第３のスペーサ配列は、配列番号２２に対して少なくともまたは約９７％の相同性を含む。いくつかの例では、第１のスペーサ配列は、配列番号１４に対して少なくともまたは約９９％の相同性を含み、第２のスペーサ配列は、配列番号１８に対して少なくともまたは約９９％の相同性を含み、第３のスペーサ配列は、配列番号２２に対して少なくともまたは約９９％の相同性を含む。いくつかの例では、第１のスペーサ配列は、配列番号１４に対して少なくともまたは約１００％の相同性を含み、第２のスペーサ配列は、配列番号１８に対して少なくともまたは約１００％の相同性を含み、第３のスペーサ配列は、配列番号２２に対して少なくともまたは約１００％の相同性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、ＰｈｉＫＺウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＺウイルスは、ｐ１１９４またはｐ４４３０である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、ＰｈｉＫＭＶウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＭＶウイルスはｐ２１６７である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスは、ｐ１６９５またはｐ３２７８である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓａｍｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｓａｍｕｎａウイルスは、ｐ１７７２、ｐ２１３１、ｐ２１３２、またはｐ２９７３である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｂｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｐｂｕｎａウイルスは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、またはｐｂ１である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｎａｎｋｏｋｕウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ａｂｉｄｊａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂａｉｋａｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂｅｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰ

Ｒアレイは、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃｉｔｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃｙｓｔｏウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｄｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｅｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｌｉｔｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｎｉｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｋｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｍｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｈｉｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｙｕａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルスへと操作される。

【００９５】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、配列番号１５に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第１のスペーサ配列と、配列番号１９に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第２のスペーサ配列と、配列番号２３に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第３のスペーサ配列とを含み、当該第１のスペーサ配列、第２のスペーサ配列、および第３のスペーサ配列は、０～８のヌクレオチド修飾を含む。いくつかの例では、第１のスペーサ配列は、配列番号１５に対して少なくともまたは約９７％の相同性を含み、第２のスペーサ配列は、配列番号１９に対して少なくともまたは約９７％の相同性を含み、第３のスペーサ配列は、配列番号２３に対して少なくともまたは約９７％の相同性を含む。いくつかの例では、第１のスペーサ配列は、配列番号１５に対して少なくともまたは約９９％の相同性を含み、第２のスペーサ配列は、配列番号１９に対して少なくともまたは約９９％の相同性を含み、第３のスペーサ配列は、配列番号２３に対して少なくともまたは約９９％の相同性を含む。いくつかの例では、第１のスペーサ配列は、配列番号１５に対して少なくともまたは約１００％の相同性を含み、第２のスペーサ配列は、配列番号１９に対して少なくともまたは約１００％の相同性を含み、第３のスペーサ配列は、配列番号２３に対して少なくともまたは約１００％の相同性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、ＰｈｉＫＺウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＺウイルスは、ｐ１１９４またはｐ４４３０である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、ＰｈｉＫＭＶウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＭＶウイルスはｐ２１６７である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスは、ｐ１６９５またはｐ３２７８である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓａｍｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｓａｍｕｎａウイルスは、ｐ１７７２、ｐ２１３１、ｐ２１３２、またはｐ２９７３である。いくつかの実施形態では、

ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｂｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｐｂｕｎａウイルスは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、またはｐｂ１である。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｎａｎｋｏｋｕウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ａｂｉｄｊａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂａｉｋａｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂｅｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃｉｔｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃｙｓｔｏウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｄｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｅｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｌｉｔｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｎｉｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｋｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｍｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｈｉｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｙｕａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルスへと操作される。

【００９６】

いくつかの実施形態では、スペーサは、１つまたは複数のバクテリオファージ、例えば操作されたバクテリオファージ内で、クラスタとして複数組み合わせられる。バクテリオファージまたはバクテリオファージカクテルは、配列番号１２～１５のいずれか１つに対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第１のスペーサ配列と、配列番号１６～１９のいずれか１つに対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第２のスペーサ配列と、配列番号２０～２３のいずれか１つに対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第３のスペーサ配列とを含む、１つまたは複数のアレイを含む場合がある。いくつかの実施形態では、バクテリオファージカクテルは、配列番号１２に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第１のスペーサ配列と、配列番号２３に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第２または第３スペーサ配列とを含む、１つまたは複数のアレイを含む場合がある。いくつかの実施形態では、バクテリオファージカクテルは、配列番号１３に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第１のスペーサ配列と、配列番号２２に対して少なくともま

たは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第２または第３スペーサ配列とを含む、１つまたは複数のアレイを含む場合がある。いくつかの実施形態では、バクテリオファージカクテルは、配列番号１４に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第１のスペーサ配列と、配列番号２１に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第２または第３スペーサ配列とを含む、１つまたは複数のアレイを含む場合がある。いくつかの実施形態では、バクテリオファージカクテルは、配列番号１５に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第１のスペーサ配列と、配列番号２０に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第２または第３スペーサ配列とを含む、１つまたは複数のアレイを含む場合がある。いくつかの実施形態では、バクテリオファージカクテルは、配列番号１６に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第１のスペーサ配列と、配列番号１９に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第２または第３スペーサ配列とを含む、１つまたは複数のアレイを含む場合がある。いくつかの実施形態では、バクテリオファージカクテルは、配列番号１７に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第１のスペーサ配列と、配列番号１８に対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第２または第３スペーサ配列とを含む、１つまたは複数のアレイを含む場合がある。いくつかの実施形態では、複数のバクテリオファージがまとめて使用される。いくつかの実施形態では、まとめて使用される複数のバクテリオファージは、試料または対象中の同じまたは異なる細菌を標的とする。いくつかの実施形態では、複数のバクテリオファージを含むカクテルが、まとめて使用される。いくつかの実施形態では、カクテルは、表１Ａから選択される少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、または２７個のファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、表１Ａから選択される２個のファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＰｈｉＫＺウイルスを含む。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＺウイルスは、ｐ１１９４またはｐ４４３０である。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＰｈｉＫＭＶウイルスを含む。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＭＶウイルスはｐ２１６７である。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＢｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスを含む。いくつかの実施形態では、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスは、ｐ１６９５またはｐ３２７８である。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＳａｍｕｎａｖｉｒｕｓウイルスを含む。いくつかの実施形態では、Ｓａｍｕｎａウイルスは、ｐ１７７２、ｐ２１３１、ｐ２１３２、またはｐ２９７３である。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＰｂｕｎａウイルスを含む。いくつかの実施形態では、Ｐｂｕｎａウイルスは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、またはｐｂ１である。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＮａｎｋｏｋｕウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＡｂｉｄｊａｎウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＢａｉｋａｌウイルスを含む。いくつかの実施

形態では、カクテルは、野生型または操作されたＢｅｅｔｒｅウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＣａｓａｄａｂａｎウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＣｉｔｅｘウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたシストウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＤｅｔｒｅウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＥｌウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＨｏｌｌｏｗａｙウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＫｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＬｉｔｕｎａウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＬｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＮｉｐｕｎａウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＰａｋｐｕｎａウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＰａｍｅｘウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＰａｕｎｄｅｃｉｍウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＰｈｉｔｒｅウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＰｒｉｍｏｌｉｃｉウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＳｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＳｔｕｂｂｕｒウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＴｅｒｔｉｌｉｃｉウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＹｕａウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、野生型または操作されたＺｉｃｏｔｒｉａウイルスを含む。

【００９７】

いくつかの実施形態では、カクテルは、表６Ａから選択されるカクテルを含む。いくつかの実施形態では、カクテル中の少なくとも１つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲアレイを含む。いくつかの実施形態では、カクテルに存在する少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、または２７個のバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲアレイを含む。いくつかの実施形態では、カクテル中の少なくとも１つのバクテリオファージは、カスケードポリペプチドをコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、カクテルに存在する少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、または２７個のバクテリオファージは、カスケードポリペプチドをコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、カクテル中の少なくとも１つのバクテリオファージは、Ｃａｓ３ポリペプチドをコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、カクテルに存在する少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、または２７個のバクテリオファージは、Ｃａｓ３ポリペプチドをコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、およびｐ２１３１ｅ００２を含む。いくつかの実施形態では、カクテルはｐ１１９４をさらに含む。いくつかの実施形態では、カクテルはｐ１６９５をさらに含む。いくつかの実施形態では、カクテルはｐ４４３０をさらに含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ１１９４、およびｐ１６９５を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５を含む。

【００９８】

ＰＡＭ配列は、領域に相補的であることによりスペーサ配列が結合する領域の隣りにある標的遺伝子に見られ、スペーサヌクレオチド配列との塩基対合が開始する点を特定する

。必要とされる正確なＰＡＭ配列は、異なるＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系間で変動し、確立されたバイオインフォマティクスおよび実験手順を介して特定される。ＰＡＭの非限定的な例には、ＣＣＡ、ＣＣＴ、ＣＣＧ、ＴＴＣ、ＡＡＧ、ＡＧＧ、ＡＴＧ、ＧＡＧ、および／またはＣＣが挙げられる。Ｉ型の系において、ＰＡＭは、スペーサに一致する配列に対して５’の真隣りに位置するので、スペーサヌクレオチド配列と塩基対を形成する配列に対して３’であり、カスケードにより直接認識される。一旦、プロトスペーサが認識されると、カスケードは、全体としてエンドヌクレアーゼＣａｓ３を動員することで、標的ＤＮＡを切断して分解する。ＩＩ型の系では、ＰＡＭは、ゲノムを用いたそのガイドＲＮＡのワトソン－クリック対合を介して特異的なＤＮＡ配列を調べるためのＲループを形成するべく、Ｃａｓ９／ｓｇＲＮＡに必要とされる。ＰＡＭの特異性は、Ｃａｓ９タンパク質（例えば、Ｃａｓ９のＣ末端におけるモチーフ認識ドメインに隣接するプロトスペーサ）のＤＮＡ結合特異性に応じる。

【００９９】

いくつかの実施形態では、死滅させられる細菌中の標的ヌクレオチド配列は、目的の必須標的ヌクレオチド配列である。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、非必須配列である。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、必須遺伝子のプロモータもしくはその補体をコードするヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含むか、それらから本質的になるか、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、スペーサヌクレオチド配列は、必須遺伝子のプロモータまたはその一部に相補的である。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、必須遺伝子のコーディングまたは非コーディング鎖に位置するヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、必須遺伝子の転写された領域のコーディングに位置するヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含む。

【０１００】

いくつかの実施形態では、必須遺伝子は、その生存に重要である生物のあらゆる遺伝子である。しかし、必須であるということは、生物が生存している環境に大きく左右される。例えば、デンプンが唯一のエネルギー源である場合、デンプンの消化に必要な遺伝子のみが必須である。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、標的遺伝子に対するプロモータ配列のすべてまたは一部を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、標的遺伝子の転写された領域のコーディング鎖に位置するヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、シュードモナス種の生存に必要とされる必須遺伝子の少なくとも一部を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、高度に保存された非コーディングまたは遺伝子間配列を含む。いくつかの実施形態では、標的配列は、必須遺伝子ｒｐｍＦと保存された仮想タンパク質との間にある遺伝子間配列である。いくつかの実施形態では、必須遺伝子は、Ｔｓｆ、ａｃｐＰ、ｇａｐＡ、ｉｎｆＡ、ｓｅｃＹ、ｃｓｒＡ、ｔｒｍＤ、ｆｔｓＡ、ｆｕｓＡ、ｇｌｙＱ、ｅｎｏ、ｎｕｓＧ、ｄｎａＡ、ｄｎａＳ、ｐｈｅＳ、ｒｐｌＢ、ｇｌｔＸ、ｈｉｓＳ、ｒｐｌＣ、ａｓｐＳ、ｇｙｒＢ、ｇｌｎＳ、ｄｎａＥ、ｒｐｏＡ、ｒｐｏＢ、ｐｈｅＴ、ｉｎｆＢ、ｒｐｓＣ、ｒｐｌＦ、ａｌａＳ、ｌｅｕＳ、ｓｅｒＳ、ｒｐｌＤ、ｇｙｒＡ、ｇｌｍＳ、ｆｕｓ、ａｄｋ、ｒｐｓＫ、ｒｐｌＲ、ｃｔｒＡ、ｐａｒＣ、ｔＲＮＡ－Ｓｅｒ、ｔＲＮＡ－Ａｓｎ、またはｍｅｔＫである。いくつかの実施形態では、必須遺伝子は、ｄｎａＡ、ｆｔｓＡ、ｇｙｒＢ、ｄｎａＮ、ｇｌｎＳ、またはｒｐｏＢである。いくつかの実施形態では、標的配列は、ＰＡ４３２５（仮想タンパク質）、ＰＡ１３１０（ｐｈｎＷ、ピルベートアミノトランスフェラーゼ）、またはＰＡ２９７０（ｒｐｍＦ、５０Ｓリボソームタンパク質Ｌ３２）とＰＡ２９７１（保存された仮想タンパク質）との間の境界である。いくつかの実施形態では、非必須遺伝子は、その生存に重要でない生物のあらゆる遺伝子である。しかし、非必須であるということは、生物が生存している環境に大きく左右される。

【０１０１】

いくつかの実施形態では、目的の標的のヌクレオチド配列の非限定的な例には、転写制

御因子、翻訳調節因子、ポリメラーゼ遺伝子、代謝酵素、輸送体、ＲＮａｓｅ、プロテアーゼ、ＤＮＡ複製酵素、ＤＮＡ修飾もしくは分解酵素、制御性ＲＮＡ、転移ＲＮＡ、またはリボソームＲＮＡをコードする、標的ヌクレオチド配列が挙げられる。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、細胞分裂、細胞構造、代謝、運動性、病原性、毒性、または抗生物質耐性に関与する遺伝子からの配列である。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、その機能が依然として特徴解析されていない仮定的遺伝子からの配列である。このため、例えば、これら遺伝子は、あらゆる細菌由来のあらゆる遺伝子である。

【０１０２】

いくつかの実施形態では、完全構築物ファージに適切なスペーサ配列は、代表的なゲノムの検索セットの位置決め、関連パラメータを用いたゲノムの検索、およびＣＲＩＳＰＲで操作されたファージに使用するためのスペーサの質の判定により特定される。

【０１０３】

先ず、代表的なゲノムの好適な検索セットが位置決めされ、目的の生物／種／標的について獲得される。いくつかの実施形態では、代表的なゲノムのセットは、ＮＣＢＩ　ＧｅｎＢａｎｋまたはＰＡＴＲＩＣデータベースを含むがこれらに限定されない、種々のデータベースで見出される。ＮＣＢＩ　ＧｅｎＢａｎｋは利用可能な最大のデータベースの１つであり、現時点で配列決定されたほぼすべての生物に関する参照ゲノムおよび提出されたゲノムの混合物を伴っている。具体的に、病原性原核生物において、ＰＡＴＲＩＣ（Ｐａｔｈｏｓｙｓｔｅｍｓ　Ｒｅｓｏｕｒｃｅ　Ｉｎｔｅｇｒａｔｉｏｎ　Ｃｅｎｔｅｒ）のデータベースでは、ゲノムの付加的で包括的な資源が提供されており、薬物製品に関連する臨床的に関連性のある株およびゲノムに対し焦点が当てられている。上記のデータベースはともに、ＦＴＰ（Ｆｉｌｅ　Ｔｒａｎｓｆｅｒ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌ）サーバを介したゲノムの大規模（ｂｕｌｋ）なダウンロードを可能にして、迅速かつプログラム的なデータセットの獲得を可能にする。

【０１０４】

次に、関連パラメータを用いてゲノムを検索し、好適なスペーサ配列を位置決めする。いくつかの実施形態では、ゲノムは、正（ｆｏｒｗａｒｄ）と逆両方の相補配向において開始から終了まで読み取られて、ＰＡＭ（プロトスペーサ隣接モチーフ）部位を含有するＤＮＡの連続した伸張部を位置決めされる。スペーサ配列は、ＰＡＭ部位に隣接する長さＮのＤＮＡ配列３’または５’となり（ＣＲＩＳＰＲ系の種類に応じる）、Ｎは、目的のＣａｓ系に対し特異的であり、かつ全体として事前に把握される。ＰＡＭ配列およびスペーサ配列の特徴解析は、いくつかの実施形態では、Ｃａｓ系の発見および初期の研究中に実行される。いくつかの実施形態では、観察されたＰＡＭ隣接スペーサはすべて、ダウンストリームでの使用のためにファイルおよび／またはデータベースに保存される。必要とされる正確なＰＡＭ配列は、異なるＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系間で変動し、確立されたバイオインフォマティクスおよび実験手順を介して特定される。

【０１０５】

次に、ＣＲＩＳＰＲで操作されたファージに使用するためのスペーサの質が判定される。いくつかの実施形態では、観察されたスペーサはそれぞれ、どのくらい多くの評価されたゲノムにスペーサが存在しているのかを判定するために評価される。いくつかの実施形態では、観察されたスペーサは、それらが所与のゲノムそれぞれにどのくらいの頻度で生じ得るのかを確認するために評価される。いくつかの実施形態では、ゲノムごとに１より多くの位置に生じるスペーサは、突然変異が生じる場合にＣａｓ系が標的部位を認識できない場合があり、追加の「バックアップ」部位がそれぞれ、好適で変異のない標的位置が存在する可能性を増大させることから、有利である。いくつかの実施形態では、観察されたスペーサは、ゲノムの機能注釈された領域に生じるかどうかを判定するために評価される。このような情報が利用可能な場合、それらゲノム領域が生物の生存と機能に「不可欠」かどうかを判定するために、機能注釈がさらに評価されてもよい。目的の評価されたゲノムのすべて、またはほぼすべて（９９％以上）に生じるスペーサに焦点を置くことによ

り、スペーサの選択は、多くの標的とされたゲノムに広く適用できる場合がある。保存されたスペーサの大きな選択プールが存在する場合、既知の機能を有するゲノムの領域に生じるスペーサが優先される場合があり、それらゲノム領域が生存に「不可欠」であり、ゲノムごとに１回より多く生じる場合にはさらに優先される。

【０１０６】

いくつかの実施形態では、完全構築物ファージのスペーサ配列が検証される。いくつかの実施形態では、第１の工程は、目的の生物、種、または標的において反復するプラスミドを特定することを含む。いくつかの実施形態では、プラスミドは選択可能なマーカを有する。いくつかの実施形態では、選択可能なマーカは、抗生物質抵抗性遺伝子である。いくつかの実施形態では、発現カセットは、選択可能なマーカのヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、選択可能なマーカは、アデニンデアミナーゼ（ａｄａ）、ブラスチシジンＳデアミナーゼ（Ｂｓｒ、ＢＳＤ）、ブレオマイシン結合タンパク質（Ｂｌｅ）、ネオマイシンホスホトランスフェラーゼ（ｎｅｏ）、ヒスチジノールデヒドロゲナーゼ（ｈｉｓＤ）、グルタミンシンセターゼ（ＧＳ）、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（ｄｈｆｒ）、シトシンデアミナーゼ（ｃｏｄＡ）、ピューロマイシンＮ－アセチルトランスフェラーゼ（Ｐａｃ）、もしくはヒグロマイシンＢホスホトランスフェラーゼ（Ｈｐｈ）、アンピシリン、クロラムフェニコール、カナマイシン、テトラサイクリン、ポリミキシンＢ、エリスロマイシン、カルベニシリン、ストレプトマイシン、スペクチノマイシン、ピューロマイシンＮ－アセチルトランスフェラーゼ（Ｐａｃ）、またはゼオシン（Ｓｈ　ｂｌａ）である。いくつかの実施形態では、選択可能なマーカは、チミジル酸シンターゼ、チミジンキナーゼ、ジヒドロ葉酸レダクターゼ、またはグルタミンシンセターゼに関与する遺伝子である。いくつかの実施形態では、選択可能なマーカは、蛍光タンパク質をコードする遺伝子である。

【０１０７】

いくつかの実施形態では、第２の工程は、Ｃａｓ系をプラスミドへとコードして、目的の生物、種、または標的において発現されるようになる遺伝子を挿入することを含む。いくつかの実施形態では、プロモータはＣａｓ系の上流に提供される。いくつかの実施形態では、プロモータは、Ｃａｓ系の発現を誘導するために目的の生物、種、または標的により認識される。例示的なプロモータには、Ｌ－アラビノースの誘導可能（ａｒａＢＡＤ、ＰＢＡＤ）プロモータ、あらゆるｌａｃプロモータ、Ｌ－ラムノースの誘導可能（ｒｈａＰＢＡＤ）プロモータ、Ｔ７　ＲＮＡポリメラーゼプロモータ、ｔｒｃプロモータ、ｔａｃプロモータ、λファージプロモータ（ｐＬｐＬ－９Ｇ－５０）、アンヒドロテトラサイクリン－誘導可能（ｔｅｔＡ）プロモータ、ｔｒｐ、Ｉｐｐ、ｐｈｏＡ、ｒｅｃＡ、ｐｒｏＵ、ｃｓｔ－１、ｃａｄＡ、ｎａｒ、Ｉｐｐ－ｌａｃ、ｃｓｐＡ、１１－ｌａｃオペレータ、Ｔ３－ｌａｃオペレータ、Ｔ４遺伝子３２、Ｔ５－ｌａｃオペレータ、ｎｐｒＭ－ｌａｃオペレータ、Ｖｈｂ、プロテインＡ、コリネバクテリア大腸菌様プロモータ、ｔｈｒ、ｈｏｒｎ、ジフテリア毒素プロモータ、ｓｉｇ　Ａ、ｓｉｇ　Ｂ、ｎｕｓＧ、ＳｏｘＳ、ｋａｔｂ、α－アミラーゼ（Ｐａｍｙ）、Ｐｔｍｓ、Ｐ４３（２つの重複するＲＮＡポリメラーゼσ因子認識部位、σＡ、σＢで構成される）、Ｐｔｍｓ、Ｐ４３、ｒｐｌＫ－ｒｐｌＡ、フェレドキシンプロモータ、および／またはキシロースプロモータが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、プロモータは、ＢＢａ＿Ｊ２３１０２、ＢＢａ＿Ｊ２３１０４、またはＢＢａ＿Ｊ２３１０９である。いくつかの実施形態では、プロモータは、内因性ＣＲＩＳＰＲプロモータ、内因性Ｃａｓオペロンプロモータ、ｐ１６、ｐｌｐｐ、またはｐｔａｔなどの生物、種、または標的の細菌に由来する。いくつかの実施形態では、プロモータは、ｇｐ１０５またはｇｐ２４５のプロモータなどのファージプロモータである。いくつかの実施形態では、リボソーム結合部位（ＲＢＳ）は、プロモータとＣａｓ系との間に設けられる。いくつかの実施形態では、ＲＢＳは、目的の生物、種、または標的により認識される。

【０１０８】

いくつかの実施形態では、第３の工程は、ゲノム標的化スペーサをプラスミドへと提供

することを含む。いくつかの実施形態では、ゲノム標的化スペーサは、バイオインフォマティクスを使用して特定される。いくつかの実施形態では、ゲノム標的化スペーサは、リピート－スペーサ－リピートの上流に提供される。いくつかの実施形態では、プロモータが提供される。いくつかの実施形態では、プロモータは、ｃｒＲＮＡの発現を誘導するために目的の生物、種、または標的により認識される。いくつかの実施形態では、第３の工程におけるクローニングは、スペーサをクローン化することにより標的とされない生物または種を使用することを含む。

【０１０９】

いくつかの実施形態では、第４の工程は、Ｃａｓ系を発現するプラスミドへと非標的スペーサを提供することを含む。いくつかの実施形態では、非標的スペーサは、ランダムである配列を含む。いくつかの実施形態では、非標的スペーサは、目的の生物、種、または標的のゲノム中に標的化部位を含まない配列を含む。いくつかの実施形態では、非標的スペーサ配列は、バイオインフォマティクスを使用して、目的の生物、種、または標的のゲノム中に標的化部位を含まないと判定される。いくつかの実施形態では、非標的スペーサ配列は、リピート－スペーサ－リピートの上流に提供される。いくつかの実施形態では、プロモータが提供される。いくつかの実施形態では、プロモータは、ｃｒＲＮＡの発現を誘導するために目的の生物、種、または標的により認識される。

【０１１０】

いくつかの実施形態では、第５の工程は、生成されたスペーサそれぞれの有効性を判定することを含む。いくつかの実施形態では、死滅の有効性が判定される。いくつかの実施形態では、細菌ゲノムの標的化における各スペーサの有効性が、判定される。いくつかの実施形態では、スペーサを含むプラスミドは、非標的化スペーサを含むプラスミドと比較して、約０．５倍、約１倍、５倍、１０倍、２０倍、４０倍、６０倍、８０倍、または最大約１００倍の移動速度の低下を含む。

【０１１１】

反復ヌクレオチド配列

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイの反復ヌクレオチド配列は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系のあらゆる既知の反復ヌクレオチド配列のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、反復ヌクレオチド配列は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系からのネイティブリピート（ｎａｔｉｖｅ　ｒｅｐｅａｔ）（例えば、内部ヘアピン）の二次構造を含む合成配列の配列である。いくつかの実施形態では、反復ヌクレオチド配列は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の既知の反復ヌクレオチド配列に基づき互いに相違する。いくつかの実施形態では、反復ヌクレオチド配列は、それぞれＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系からのネイティブリピート（例えば、内部ヘアピン）の別個の二次構造で構成される。いくつかの実施形態では、反復ヌクレオチド配列は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系で動作可能な別個の反復ヌクレオチド配列の組合せである。

【０１１２】

いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、その５’末端において反復配列の３’末端に結合される。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、その５’末端において、反復配列の３’末端の約１～約８、約１～約１０、または約１～約１５のヌクレオチドに結合される。いくつかの実施形態では、反復配列の約１～約８、約１～約１０、約１～約１５のヌクレオチドは、反復配列の３’末端の一部である。いくつかの実施形態では、スペーサヌクレオチド配列は、その３’末端において反復配列の５’末端に結合される。いくつかの実施形態では、スペーサは、その３’末端において、反復配列の５’末端の約１～約８、約１～約１０、または約１～約１５のヌクレオチドに結合される。いくつかの実施形態では、反復配列の約１～約８、約１～約１０、約１～約１５のヌクレオチドは、反復配列の５’末端の一部である。

【０１１３】

いくつかの実施形態では、スペーサヌクレオチド配列は、その５’末端において第１の反復配列に結合され、かつその３’末端において第２の反復配列に結合されて、リピート

－スペーサ－リピートの配列を形成する。いくつかの実施形態では、スペーサ配列は、その５’末端において第１の反復配列の３’末端に結合され、かつその３’末端において第２の反復配列の５’末端に結合され、スペーサ配列と第２の反復配列は、繰り返されることで、ｎが１～１００のいずれかの整数となるようにリピート－（スペーサ－リピート）ｎの配列を形成する。いくつかの実施形態では、リピート－（スペーサ－リピート）ｎの配列は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、１００、またはそれより多くのスペーサヌクレオチド配列を含むか、当該配列から本質的になるか、または当該配列からなる。

【０１１４】

いくつかの実施形態では、反復配列は、野生型ＣＲＩＳＰＲ座位からの反復配列に対し同一であるか、または実質的に同一である。いくつかの実施形態では、反復配列は、表３に見られる反復配列である。いくつかの実施形態では、反復配列は、本明細書に記載の配列である。いくつかの実施形態では、反復配列は、野生型反復配列の一部（例えば、野生型反復配列の、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、またはそれより多くの隣接ヌクレオチド）を含む。いくつかの実施形態では、反復配列は、少なくとも１つのヌクレオチド（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００、もしくはそれより多くのヌクレオチド、またはその中のいずれかの範囲）を含むか、当該ヌクレオチドから本質的になるか、または当該ヌクレオチドからなる。いくつかの実施形態では、反復配列は、約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、または１００以下のヌクレオチドを含むか、当該ヌクレオチドから本質的になるか、または当該ヌクレオチドからなる。いくつかの実施形態では、反復配列は、約２０～４０、２１～４０、２２～４０、２３～４０、２４～４０、２５～４０、２６～４０、２７～４０、２８～４０、２９～４０、３０～３０、３１～４０、３２～４０、３３～４０、３４～４０、３５～４０、３６～４０、３７～４０、３８～４０、３９～４０、２０～３９、２０～３８、２０～３７、２０～３６、２０～３５、２０～３４、２０～３３、２０～３２、２０～３１、２０～３０、２０～２９、２０～２８、２０～２６、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、または２０～２１のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、反復配列は、約２０～３５、２１～３５、２２～３５、２３～３５、２４～３５、２５～３５、２６～３５、２７～３５、２８～３５、２９～３５、３０～３０、３１～３５、３２～３５、３３～３５、３４～３５、２５～４０、２５～３９、２５～３８、２５～３７、２５～３６、２５～３５、２５～３４、２５～３３、２５～３２、２５～３１、２５～３０、２５～２９、２５～２８、２５～２６のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、系は、緑膿菌のＩ－Ｃ型Ｃａｓ系である。いくつかの実施形態では、緑膿菌のＩ－Ｃ型Ｃａｓ系は、約２５～３８のヌクレオチドの反復長を有する。

【０１１５】

いくつかの実施形態では、反復配列は、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、

９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの例では、反復配列は、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくともまたは約９５％の相同性を含む。いくつかの例では、反復配列は、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくともまたは約９７％の相同性を含む。いくつかの例では、反復配列は、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくともまたは約９９％の相同性を含む。いくつかの例では、反復配列は、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して１００％の相同性を含む。いくつかの例では、反復配列は、配列番号２６～３０のいずれか１つの、少なくともまたは約３、４、５、６、７、８、９、１０、１２、１４、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、または３２より多くのヌクレオチドを有している少なくとも一部を含む。いくつかの実施形態では、リピートは、ＰｈｉＫＺウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＰｈｉＫＺウイルスは、ｐ１１９４またはｐ４４３０である。いくつかの実施形態では、リピートは、ＰｈｉＫＭＶウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、PhiKMVウイルスはｐ２１６７である。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスは、ｐ１６９５またはｐ３２７８である。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｓａｍｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｓａｍｕｎａウイルスは、ｐ１７７２、ｐ２１３１、ｐ２１３２、またはｐ２９７３である。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｐｂｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、Ｐｂｕｎａウイルスは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、またはｐｂ１である。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｎａｎｋｏｋｕウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ａｂｉｄｊａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｂａｉｋａｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｂｅｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｃｉｔｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｃｙｓｔｏウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｄｅｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｅｌウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｌｉｔｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｎｉｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｐａｋｐｕｎａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｐａｍｅｘウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｐｈｉｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｙｕａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルスへと操作される。いくつかの実施形態では、リピートは、バクテリオファージへと操作されるＣＲＩＳＰＲアレイの一部である。

【０１１６】

Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系

いくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、Ｉ－Ａ型の系、Ｉ－Ｂ型の系、Ｉ－Ｃ型の系、Ｉ－Ｄ型の系、Ｉ－Ｅ型の系、またはＩ－Ｆ型の系である。いくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、Ｉ－Ａ型の系である。いくつかの実施

形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、Ｉ－Ｂ型の系である。いくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、Ｉ－Ｃ型の系である。いくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、Ｉ－Ｄ型の系である。いくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、Ｉ－Ｅ型の系である。いくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、Ｉ－Ｆ型の系である。いくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、カスケードポリペプチドを含む。Ｉ型カスケードポリペプチドは、ＣＲＩＳＰＲアレイを処理して、後に処理済みのＲＮＡ中のスペーサに相補的な標的配列に複合体を結合させるために使用される、処理済のＲＮＡを産生する。いくつかの実施形態では、Ｉ型カスケード複合体は、Ｉ－Ａ型カスケードポリペプチド、Ｉ－Ｂ型カスケードポリペプチド、Ｉ－Ｃ型カスケードポリペプチド、Ｉ－Ｄ型カスケードポリペプチド、Ｉ－Ｅ型カスケードポリペプチド、Ｉ－Ｆ型カスケードポリペプチド、またはＩ－Ｕ型カスケードポリペプチドである。

【０１１７】

いくつかの実施形態では、Ｉ型カスケード複合体は、（ａ）Ｃａｓ７（Ｃｓａ２）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ８ａ１（Ｃｓｘ１３）ポリペプチドもしくはＣａｓ８ａ２（Ｃｓｘ９）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ５ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃｓａ５ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ６ａポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ３’ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、およびヌクレアーゼ活性を有していないＣａｓ３”をコードするヌクレオチド配列（Ｉ－Ａ型）、（ｂ）Ｃａｓ６ｂポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ８ｂ（Ｃｓｈ１）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ７（Ｃｓｈ２）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、およびＣａｓ５ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（Ｉ－Ｂ型）、（ｃ）Ｃａｓ５ｄポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ８ｃ（Ｃｓｄ１）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、およびＣａｓ７（Ｃｓｄ２）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（Ｉ－Ｃ型）、（ｄ）Ｃａｓｌ　Ｏｄ（Ｃｓｃ３）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃｓｃ２ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃｓｃ１ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、およびＣａｓ６ｄポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（Ｉ－Ｄ型）、（ｅ）Ｃｓｅ１（ＣａｓＡ）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃｓｅ２（ＣａｓＢ）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ７（ＣａｓＣ）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ５（ＣａｓＤ）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、およびＣａｓ６ｅ（ＣａｓＥ）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（Ｉ－Ｅ型）、ならびに／または（ｆ）Ｃｙｓ１ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃｙｓ２ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ７（Ｃｙｓ３）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、およびＣａｓ６ｆ）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（Ｉ－Ｆ型）を含む。

【０１１８】

いくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、標的細菌に対し外因性である。いくつかの実施形態では、外因性のＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、（ａ）Ｃａｓ７（Ｃｓａ２）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ８ａ１（Ｃｓｘ１３）ポリペプチドもしくはＣａｓ８ａ２（Ｃｓｘ９）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ５ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃｓａ５ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ６ａポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ３’ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、およびヌクレアーゼ活性を有していないＣａｓ３”をコードするヌクレオチド配列（Ｉ－Ａ型）、（ｂ）Ｃａｓ６ｂポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ８ｂ（Ｃｓｈ１）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ７（Ｃｓｈ２）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、およびＣａｓ５ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（Ｉ－Ｂ型）、（ｃ）Ｃａｓ５ｄポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ８ｃ（Ｃｓｄ１）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、およびＣａｓ７（Ｃｓｄ２）ポリペプチドをコードす

るヌクレオチド配列（Ｉ－Ｃ型）、（ｄ）Ｃａｓｌ　Ｏｄ（Ｃｓｃ３）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃｓｃ２ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃｓｃ１ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、およびＣａｓ６ｄポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（Ｉ－Ｄ型）、（ｅ）Ｃｓｅ１（ＣａｓＡ）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃｓｅ２（ＣａｓＢ）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ７（ＣａｓＣ）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ５（ＣａｓＤ）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、およびＣａｓ６ｅ（ＣａｓＥ）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（Ｉ－Ｅ型）、ならびに／または（ｆ）Ｃｙｓ１ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃｙｓ２ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ７（Ｃｙｓ３）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、およびＣａｓ６ｆ）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（Ｉ－Ｆ型）を含む。

【０１１９】

いくつかの実施形態では、標的細菌に対し外因性のＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、Ｃａｓ５ｄポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、Ｃａｓ８ｃ（Ｃｓｄ１）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、およびＣａｓ７（Ｃｓｄ２）ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（Ｉ－Ｃ型）を含む。

【０１２０】

バクテリオファージ

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、偏性溶菌性バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、溶原性遺伝子が保持された溶原性バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、いくつかの溶原性遺伝子が除去された溶原性バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、１つの溶原性遺伝子が除去されるか、置き換えられるか、または不活性化されることにより溶菌性を与える溶原性バクテリオファージである。

【０１２１】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、緑膿菌を標的とする。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、他の細菌種よりもシュードモナス種を特異的に標的とする。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系がない状態でシュードモナス種を標的とする。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはリポ多糖に結合する。いくつかの実施形態では、バクテリオファージはＩＶ型線毛に結合する。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは外膜ポーリンＯｐｒＭに結合する。いくつかの実施形態では、標的は、細菌を感染させるバクテリオファージを指す。いくつかの実施形態では、標的は、細菌を死滅させるバクテリオファージを指す。いくつかの実施形態では、具体的に標的は、第２の細菌種ではなく第１の細菌種を感染させるバクテリオファージを指す。いくつかの実施形態では、具体的に標的は、第２の細菌種ではなく第１の細菌種を死滅させるバクテリオファージを指す。

【０１２２】

いくつかの実施形態では、本明細書中のバクテリオファージは、シュードモナスを感染させるバクテリオファージであるか、または該バクテリオファージから操作される。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス、Ｓａｍｕｎａウイルス、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス、Ａｂｉｄｊａｎウイルス、Ｂａｉｋａｌウイルス、Ｂｅｅｔｒｅウイルス、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス、Ｃｉｔｅｘウイルス、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス、Ｅｌウイルス、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス、Ｌｉｔｕｎａウイルス、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス、Ｎｉｐｕｎａウイルス、Ｐａｋｐｕｎａウイルス、Ｐａｍｅｘウイルス、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス、Ｐｈｉｔｒｅウイルス、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス、Ｙｕａウイルス、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルス、またはＰｂｕｎａウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを

感染させるバクテリオファージには、表５Ａに列記される野生型Ｐｂｕｎａウイルスファージのサブタイプが挙げられ、このファージは、プラス記号（＋）で印付けられるように標的となるシュードモナスを感染させる（例えば、ファージｐ１１０６はｂ００２５４８を感染させる）。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージには、表５Ａに列記される操作されたＰｂｕｎａウイルスファージのサブタイプが挙げられ、このファージは、プラス記号（＋）で印付けられるように標的となるシュードモナスを感染させる（例えば、ｐ１１０６ｅ００３はｂ００２５４８を感染させる）。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージには、例えば表５Ｂに列記される、野生型Ｓａｍｕｎａウイルスのファージサブタイプ、操作されたＳａｍｕｎａウイルスのファージサブタイプ、野生型ＰｈｉＫＺウイルス、野生型ＰｈｉＫＭＶウイルス、または野生型Ｂｒｕｙｎｏｇｈｅウイルスが挙げられ、このファージは、プラス記号（＋）で印付けられるように標的となるシュードモナスを感染させる表５Ａに列記されるように、野生型Ｐｂｕｎａウイルスのファージサブタイプは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、および／またはｐｂ１であり得、一方で操作されたＰｂｕｎａウイルスのファージサブタイプは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２３６３ｅ００３、および／またはｐ２４２１ｅ００２であり得る。表５Ｂに列記されるように、野生型Ｓａｍｕｎａウイルスのファージサブタイプは、ｐ１７７２、ｐ２１３１、ｐ２１３２、および／またはｐ２９７３であり得、操作されたＳａｍｕｎａウイルスのファージサブタイプは、ｐｂ１ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３２ｅ００２、および／またはｐ２９７３ｅ００２であり得、野生型ＰｈｉＫＺウイルスのファージサブタイプは、ｐ１１９４および／またはｐ４４３０であり得、野生型ＰｈｉＫＭＶウイルスのファージサブタイプはｐ２１６７であり得、野生型Ｂｒｕｙｎｏｇｈｅウイルスのファージサブタイプはｐ１６９５およびｐ３２７８であり得る。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｎａｎｋｏｋｕウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ａｂｉｄｊａｎウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｂａｉｋａｌウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｂｅｅｔｒｅウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｃａｓａｄａｂａウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｃｉｔｅｘウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、シストウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｄｅｔｒｅウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｅｌウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｌｉｔｕｎａウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｎｉｐｕｎａウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｐａｋｐｕｎａウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｐａｍｅｘウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｐｈｉｔｒｅウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、

Ｓｔｕｂｂｕｒウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｙｕａウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルスである。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、シュードモナスを死滅させる。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、黄色ブドウ球菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、黄色ブドウ球菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、黄色ブドウ球菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、黄色ブドウ球菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、肺炎桿菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、肺炎桿菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、肺炎桿菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、肺炎桿菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロコッカス・フェシウムを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロコッカス・フェシウムを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロコッカス・フェシウムを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、エンテロコッカス・フェシウムを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロバクター・クロアカを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロバクター・クロアカを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、エンテロバクター・クロアカを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、エンテロバクター・クロアカを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、アシネトバクター・バウマニを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、アシネトバクター・バウマニを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、アシネトバクター・バウマニを感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、アシネトバクター・バウマニを死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、表皮ブドウ球菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを感染させるバクテリオファージは、表皮ブドウ球菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、表皮ブドウ球菌を感染させない。いくつかの実施形態では、シュードモナスを死滅させるバクテリオファージは、表皮ブドウ球菌を死滅させない。いくつかの実施形態では、バクテリオファージの組合せは、シュードモナスを感染させる。非限定的な例として、組合せは、表５Ａのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を感染させる。非限定的な例として、組合せは、表５Ｂのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を感染させる。非限定的な例として、組合せは、表６Ｂのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を感染させる。いくつかの実施形態、バクテリオファージの組合せは、

シュードモナスを死滅させる。非限定的な例として、組合せは、表５Ａのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を死滅させる。非限定的な例として、組合せは、表５Ｂのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を死滅させる。非限定的な例として、組合せは、表６Ｂのシュードモナスのうち少なくとも７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％を死滅させる。

【０１２３】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、他のバクテリオファージを含むカクテルに存在しており、バクテリオファージのそれぞれは、カクテル中の他のバクテリオファージの機能を妨害しない。

【０１２４】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス、Ｓａｍｕｎａウイルス、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス、Ａｂｉｄｊａｎウイルス、Ｂａｉｋａｌウイルス、Ｂｅｅｔｒｅウイルス、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス、Ｃｉｔｅｘウイルス、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス、Ｅｌウイルス、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス、Ｌｉｔｕｎａウイルス、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス、Ｎｉｐｕｎａウイルス、Ｐａｋｐｕｎａウイルス、Ｐａｍｅｘウイルス、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス、Ｐｈｉｔｒｅウイルス、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス、Ｙｕａウイルス、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルス、またはＰｂｕｎａウイルスである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＰｈｉＫＺウイルスである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＰｈｉＫＭＶウイルスである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルスである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、Ｓａｍｕｎａウイルスである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、Ｐｂｕｎａウイルスである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ３系を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１１０６（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０２４）、ｐ１１９４（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０２５）、ｐ１５８７（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０２７）、ｐ１６９５（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０２８）、ｐ１７７２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３０）、ｐ１８３５（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３２）、ｐ２０３７（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３４）、ｐ２１３１（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３６）、ｐ２１３２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３８）、ｐ２１６７（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３９）、ｐ２３６３（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４１）、ｐ２４２１（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４３）、ｐ２９７３（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４５）、ｐ３２７８（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４６）、ｐ４４３０（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４７）、またはＰＢ１（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４９）を含むがこれらに限定されず、これらはシュードモナス種を標的とする。

【０１２５】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するｐ１１０６、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１１０６の配列に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むｐ１１

０６バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０２３）である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３の配列に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。

【０１２６】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するｐ１１９４、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１１９４の配列に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むｐ１１９４バクテリオファージである。

【０１２７】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するｐ１５８７、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１５８７の配列に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むｐ１５８７バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１５８７ｅ００２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０２６）である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、０１５８７ｅ００２の配列に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。

【０１２８】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するｐ１６９５、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１６９５の配列に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むｐ１６９５バクテリオファージである。

【０１２９】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するｐ１７７２、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１７７２の配列に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むｐ１７７２バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１７７２ｅ００５（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０２９）である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１７７２ｅ００５の配列に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。

【０１３０】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するｐ１８３５、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１８３５に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むｐ１８３５バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１８３５ｅ００２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０２６）である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ１８３５ｅ００２に対して少なくとも７０％、７７５％、８０

％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。

【０１３１】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するｐ２０３７、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２０３７に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むｐ２０３７バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２０３７ｅ００２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３３）である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２０３７ｅ００２に対して少なくとも７０％、７７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。

【０１３２】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するｐ２１３１、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２１３１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むｐ２１３１バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２１３１（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３５）である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２１３１に対して少なくとも７０％、７７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。

【０１３３】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するｐ２１３２、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２１３２に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むｐ２１３２バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２１３２ｅ００２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０３７）である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２１３２ｅ００２に対して少なくとも７０％、７７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。

【０１３４】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するｐ２１６７、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２１６７に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むｐ２１６７バクテリオファージである。

【０１３５】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するｐ２１６３、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２１６３に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むｐ２１６３バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２１６３ｅ００３（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４０）である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２１６３ｅ００３に対して少なくとも７０％、７７５％、８０

％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。

【０１３６】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するｐ２４２１、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２４２１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むｐ２４２１バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２１４１ｅ０００２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４２）である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２１４１ｅ０００２に対して少なくとも７０％、７７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。

【０１３７】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するｐ２９７３、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２９７３に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むｐ２９７３バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２９７３ｅ００２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４４）である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ２９７３ｅ００２に対して少なくとも７０％、７７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。

【０１３８】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するｐ３２７８、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ３２７８に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むｐ３２７８バクテリオファージである。

【０１３９】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するｐ４４３０、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ｐ４４３０に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むｐ１１０６バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持するＰＢ１、またはその変異体である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含むＰＢ１バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＰＢ１ｅ００２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－１２７０４９）である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＰＢ１ｅ００２に対して少なくとも７０％、７７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。

【０１４０】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、シュードモナス種を標的とする能力を保持する表１Ａに列挙されるファージ、またはその変異体を含む。

【０１４１】
また本明細書には、２つ以上のバクテリオファージを含むカクテルが開示される。いくつかの実施形態では、２つ以上のバクテリオファージは、ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス、Ｓａｍｕｎａウイルス、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス、Ａｂｉｄｊａｎウイルス、Ｂａｉｋａｌウイルス、Ｂｅｅｔｒｅウイルス、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス、Ｃｉｔｅｘウイルス、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス、Ｅｌウイルス、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス、Ｌｉｔｕｎａウイルス、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス、Ｎｉｐｕｎａウイルス、Ｐａｋｐｕｎａウイルス、Ｐａｍｅｘウイルス、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス、Ｐｈｉｔｒｅウイルス、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス、Ｙｕａウイルス、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルス、またはＰｂｕｎａウイルスからなる系統から選択される。いくつかの実施形態では、カクテルは少なくとも６つのバクテリオファージを含み、このバクテリオファージは、ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス、Ｓａｍｕｎａウイルス、およびＰｂｕｎａウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、少なくとも１つのＰｂｕｎａウイルス、少なくとも１つのＳａｍｕｎａウイルス、少なくとも１つのＰｈｉＫＺウイルス、および少なくとも１つのＢｒｕｙｎｏｇｈｅウイルスを含む。いくつかの実施形態では、カクテルの少なくとも１つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、カクテルの少なくとも２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、カクテルの少なくとも３つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、カクテルの少なくとも４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、カクテルの少なくとも１つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。いくつかの実施形態では、カクテルの少なくとも２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１４２】
いくつかの実施形態では、カクテルは少なくとも２つのバクテリオファージを含み、このバクテリオファージは、ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、もしくはＰＢ１、またはそれらの２つ以上のファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、ｐ１１０６ｅ００３に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第１のバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、ｐ１８３５ｅ００２に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第２のバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、ｐ１７７２ｅ００５に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第３のバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、ｐ２１３１ｅ００２に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第４のバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、ｐ１１９４に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第５のバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、ｐ４４３０に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第５のバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、ｐ１６９５に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第５のバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、ｐ４４３０に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５

％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第６のバクテリオファージを含む。いくつかの実施形態では、カクテルは、ｐ１６９５に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む第６のバクテリオファージを含む。

【０１４３】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ｐ１１０６に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバクテリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファージを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１４４】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ｐ１１０６に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバクテリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファー

ジを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１４５】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ｐ１５８７に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバクテリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１１０６、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１１０６、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファージを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１１０６、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１１０６、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１１０６、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１４６】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ｐ１６９５に対して少なくと

も７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバクテリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１１０６、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１１０６、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファージを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１１０６、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１１０６、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１１０６、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１４７】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ｐ１７７２に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバクテリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１１０６、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１１０６、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファージを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１１０６、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１１０６、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２

１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１１０６、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１４８】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ｐ１８３５に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバクテリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１１０６、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１１０６、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファージを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１１０６、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１１０６、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１１０６、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１４９】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ｐ２０３７に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバクテリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ１１０６、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオ

ファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ１１０６、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファージを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ１１０６、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ１１０６、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ１１０６、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１５０】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ｐ２１３１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバクテリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ１１０６、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ１１０６、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファージを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ１１０６、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ１１０６、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ１１０６、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を

含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１５１】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ｐ２１３２に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバクテリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ１１０６、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ１１０６、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファージを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ１１０６、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ１１０６、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ１１０６、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１５２】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ｐ２１６７に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバクテリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ１１０６、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ１１０６、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファージを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ１１０６、ｐ２３６３、ｐ

２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ１１０６、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ１１０６、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１５３】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ｐ２３６３に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバクテリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ１１０６、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ１１０６、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファージを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ１１０６、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ１１０６、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ１１０６、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１５４】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ｐ２４２１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバク

テリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ１１０６、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ１１０６、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファージを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ１１０６、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ１１０６、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ１１０６、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１５５】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ｐ２９７３に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバクテリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ１１０６、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ１１０６、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファージを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ１１０６、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ１１０６、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１０

０％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ１１０６、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１５６】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ｐ３２７８に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバクテリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ１１０６、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ１１０６、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファージを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ１１０６、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ１１０６、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ１１０６、ｐ４４３０、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１５７】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ｐ４４３０に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバクテリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ１１０６、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６

３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ１１０６、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファージを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ１１０６、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ１１０６、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ１１０６、またはＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１５８】

いくつかの実施形態では、第１のバクテリオファージは、ＰＢ１に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第２のバクテリオファージを含み、第２のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはｐ１１０６に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第３のバクテリオファージを含み、第３のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはｐ１１０６に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第４のバクテリオファージを含み、第４のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはｐ１１０６に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第５のバクテリオファージを含み、第５のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはｐ１１０６に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、カクテルは第６のバクテリオファージを含み、第６のバクテリオファージは、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、またはｐ１１０６に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１、２、３、または４つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含む。いくつかの実施形態では、少な

くとも１または２つのバクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系を含まない。

【０１５９】

いくつかの実施形態では、目的のバクテリオファージは、環境供給源または市場調査供給業者から得られる。いくつかの実施形態では、得られたバクテリオファージは、溶菌活性のために細菌およびその関連する株のライブラリに対してスクリーニングされる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、スクリーニングされた細菌において一次抵抗を精製する能力について、細菌およびその関連する株のライブラリに対してスクリーニングされる。

【０１６０】

シュードモナス種

いくつかの実施形態では、細菌はシュードモナスである。いくつかの実施形態では、細菌は緑膿菌である。

【０１６１】

いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、感染症、疾患、または疾病を生じさせ、それに寄与し、および／またはそれらの合併症を生じさせ、本明細書に記載の組成物および方法は、感染症、疾患、または疾病を処置するために使用される。いくつかの実施形態では、感染症、疾患、または疾病は、急性または慢性である。いくつかの実施形態では、感染症、疾患、または疾病は、局所性または全身性である。いくつかの実施形態では、感染症、疾患、または疾病は、特発性である。いくつかの実施形態では、感染症、疾患、または疾病は、呼吸器吸入、摂取、皮膚および創傷感染症、血液循環感染症、中耳感染症、胃腸管感染症、腹膜感染症、尿路感染症、尿生殖器管感染症、口腔軟組織感染症、腹腔内感染、表皮もしくは粘膜吸収、眼感染症（コンタクトレンズ汚染を含む）、心内膜炎、嚢胞性線維症での感染症、内在医療機器、例えば人工関節、歯科インプラント、カテーテル、および心臓インプラントなどの感染、性的接触、ならびに／または院内感染および人工呼吸器関連の細菌性肺炎を含むが、これらに限定されない手段により獲得される。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、尿路感染症を生じさせる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、炎症性腸疾患を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、自己免疫疾患を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、乾癬を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、乾癬性関節炎（ＰＡ）を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、関節リウマチ（ＲＡ）を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、多発性硬化症（ＭＳ）を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、グレーブス病を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、橋本甲状腺炎を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、重症筋無力症を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、脈管炎を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、癌を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、癌進行を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、癌転移を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、癌治療への耐性を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、癌に対処するために使用される治療には、化学療法、免疫療法、ホルモン療法、標的とされた薬物治療、および／または放射線療法が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、癌は、肛門、膀胱、血液および血液成分、骨、骨髄、脳、乳房、子宮頸、結腸および直腸、食道、腎臓、喉頭、リンパ系、筋肉（すなわち軟組織）、口腔および咽頭、卵巣、膵臓、前立腺、皮膚、小腸、胃、睾丸、甲状腺、子宮、および／または外陰部を含むが、これ

らに限定されない器官で進行する。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、中枢神経系（ＣＮＳ）の障害を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、注意欠陥多動障害（ＡＤＨＤ）を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、脈管炎を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、双極性障害を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、大鬱病性障害を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、てんかんを生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、アルツハイマー病、ハンチントン病、および／またはパーキンソン病を含むがこれらに限定されない神経変性障害を生じさせ、かつ／または悪化させる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの、本明細書に開示される組成物は、疾患、疾病、または前述の疾患もしくは疾病に関連する症状のうちいずれか１つを処置するために使用される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの、本明細書に開示される組成物は、上述の疾患、疾病、または前述の疾患もしくは疾病に関連する症状を処置するために、疾患に関連する１つもしくは複数の疾病の処置または緩和のための１つまたは複数の他の薬物と組み合わせて使用される。

【０１６２】

嚢胞性線維症、および嚢胞性線維症に付随する気管支拡張症は、緑膿菌による感染症に関連する。例えば、Ｐ．Ｆａｒｒｅｌｌらによる「Ｒａｄｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．２５２，Ｎｏ．２」、５３４～５４３頁（２００９）を参照されたい。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のバクテリオファージが、嚢胞性線維症、または嚢胞性線維症に付随する気管支拡張症を有する患者に投与される。いくつかの実施形態では、２つ以上のバクテリオファージの組合せが、嚢胞性線維症、または嚢胞性線維症に付随する気管支拡張症を有する患者に投与される。いくつかの実施形態では、嚢胞性線維症、または嚢胞性線維症に付随する気管支拡張症を有する患者にバクテリオファージを投与することで、患者における細菌負荷が減少する。いくつかの実施形態では、細菌負荷が減少すると、嚢胞性線維症、または嚢胞性線維症に付随する気管支拡張症を有する患者に臨床的な改善が生じる。

【０１６３】

非嚢胞性線維症性気管支拡張症は、緑膿菌による感染症に関連する。例えば、Ｒ．Ｗｉｌｓｏｎらによる「Ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ，Ｖｏｌ．１１７」、１７９～１８９頁（２０１６）を参照されたい。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のバクテリオファージが、非嚢胞性線維症性気管支拡張症を有する患者に投与される。いくつかの実施形態では、２つ以上のバクテリオファージの組合せが、非嚢胞性線維症性気管支拡張症を有する患者に投与される。いくつかの実施形態では、非嚢胞性線維症性気管支拡張症を有する患者にバクテリオファージを投与することで、患者における細菌負荷が減少する。いくつかの実施形態では、細菌負荷が減少すると、非嚢胞性線維症性気管支拡張症を有する患者に臨床的な改善が生じる。

【０１６４】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの本明細書に開示される組成物は、緑膿菌による感染症、または緑膿菌により直接もしくは間接的に生じる疾患を有する対象に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの本明細書に開示される組成物は、緑膿菌による血流感染症を処置するために使用される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの本明細書に開示される組成物は、呼吸器吸入、摂取、緑膿菌による皮膚および創傷の感染症を処置するのに適している。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の１つもし

くは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの本明細書に開示される組成物は、緑膿菌による感染症に関連する、血液循環感染症、中耳感染症、胃腸管感染症、腹膜感染症、尿路感染症、尿生殖器管感染症、口腔軟組織感染症、腹腔内感染、表皮もしくは粘膜吸収、眼感染症（コンタクトレンズ汚染を含む）、尿路感染症、心内膜炎、嚢胞性線維症での感染症、内在医療機器、例えば人工関節、歯科インプラント、カテーテル、および心臓インプラントなどの感染、性的接触、ならびに／または院内感染および人工呼吸器関連の細菌性肺炎を処置するために使用される。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、炎症性疾患を生じさせる、かつ／またはそれを悪化させ、本明細書に記載の１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの本明細書に開示される組成物は、炎症性疾患を処置するために使用される。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、自己免疫疾患を生じさせる、かつ／またはそれを悪化させ、本明細書に記載の１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの本明細書に開示される組成物は、自己免疫疾患を処置するために使用される。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）を生じさせる、かつ／またはそれを悪化させ、本明細書に記載の１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの本明細書に開示される組成物は、ＩＢＤを処置するために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、表１Ａ、表５Ａ、および／または表５Ｂから選択される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの本明細書に開示される組成物は、疾患を処置して細菌負荷を減少させるために使用される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの本明細書に開示される組成物は、疾患を処置して炎症を減少させるために使用される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの本明細書に開示される組成物は、疾患を処置して、細菌感染症に関連する１つもしくは複数の症状、または細菌感染症の１つもしくは複数の後遺症を減少させるために使用される。

【０１６５】

いくつかの実施形態では、処置は、静脈内または筋肉内の薬物として投与される。いくつかの実施形態では、処置は、経口経路を介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、ネブライザを介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、患者により操作可能なネブライザを介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、定量式ネブライザを介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、１つもしくは複数の他の薬物または治療と組み合わせて投与される。

【０１６６】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの本明細書に開示される組成物は、癌を処置するために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、表１Ａ、表５Ａ、および／または表５Ｂから選択される。

【０１６７】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの本明細書に開示される組成物は、肺炎を処置するために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、表１Ａ、表５Ａ、および／または表５Ｂから選択される。

【０１６８】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの本明細書に開示される組成物は、嚢胞性線維症性気管支拡張症を処置するために使用される。いくつか

の実施形態では、嚢胞性線維症、または嚢胞性線維症に付随する気管支拡張症を有する患者にバクテリオファージを投与することで、患者における細菌負荷が減少する。いくつかの実施形態では、細菌負荷が減少すると、嚢胞性線維症性気管支拡張症を有する患者に臨床的な改善が生じる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、表１Ａ、表５Ａ、および／または表５Ｂから選択される。いくつかの実施形態では、処置は、静脈内または筋肉内の薬物として投与される。いくつかの実施形態では、処置は、経口経路を介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、ネブライザを介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、患者により操作可能なネブライザを介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、定量式ネブライザを介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、１つもしくは複数の他の薬物または治療と組み合わせて投与される。

【０１６９】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの本明細書に開示される組成物は、非嚢胞性線維症性気管支拡張症を処置するために使用される。いくつかの実施形態では、非嚢胞性線維症性気管支拡張症、または線維症に付随する気管支拡張症を有する患者にバクテリオファージを投与することで、患者における細菌負荷が減少する。いくつかの実施形態では、細菌負荷が減少すると、非嚢胞性線維症性気管支拡張症、線維症に付随する気管支拡張症を有する患者に臨床的な改善が生じる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、表１Ａ、表５Ａ、および／または表５Ｂから選択される。いくつかの実施形態では、処置は、静脈内または筋肉内の薬物として投与される。いくつかの実施形態では、処置は、経口経路を介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、ネブライザを介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、患者により操作可能なネブライザを介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、定量式ネブライザを介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、１つもしくは複数の他の薬物または治療と組み合わせて投与される。

【０１７０】

いくつかの実施形態では、処置は、組成物、例えば、１つまたは複数のバクテリオファージ、例えばバクテリオファージカクテルを含む医薬組成物を含み、組成物中のバクテリオファージ、例えばバクテリオファージカクテルは、ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス、Ｓａｍｕｎａウイルス、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス、Ａｂｉｄｊａｎウイルス、Ｂａｉｋａｌウイルス、Ｂｅｅｔｒｅウイルス、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス、Ｃｉｔｅｘウイルス、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス、Ｅｌウイルス、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス、Ｌｉｔｕｎａウイルス、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス、Ｎｉｐｕｎａウイルス、Ｐａｋｐｕｎａウイルス、Ｐａｍｅｘウイルス、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス、Ｐｈｉｔｒｅウイルス、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス、Ｙｕａウイルス、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルス、またはＰｂｕｎａウイルスからなる系統由来である。いくつかの実施形態では、組成物は、バクテリオファージカクテル５１１を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、バクテリオファージカクテルＰＡＣＫ５１２を含む。本明細書中のいくつかの実施形態では、少なくとも６つのバクテリオファージを含む医薬組成物であって、バクテリオファージが、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５からなる群に由来する、医薬組成物が提供される。

【０１７１】

挿入部位

いくつかの実施形態では、バクテリオファージへの核酸配列の挿入は、バクテリオファージの溶菌活性を保つ。いくつかの実施形態では、核酸配列は、バクテリオファージゲノムへ挿入される。いくつかの実施形態では、核酸配列は、目的のオペロンの末端における転写ターミネータ部位にてバクテリオファージゲノムへ挿入される。いくつかの実施形態では、核酸配列は、１つまたは複数の除去された非必須遺伝子の代わりとしてバクテリオ

ファージゲノムへ挿入される。いくつかの実施形態では、核酸配列は、１つまたは複数の除去された溶原遺伝子の代わりとしてバクテリオファージゲノムへ挿入される。いくつかの実施形態では、非必須および／または溶原遺伝子の核酸配列での置換えにより、バクテリオファージの溶菌活性に影響は及ばない。いくつかの実施形態では、非必須および／または溶原遺伝子の核酸配列での置換えにより、バクテリオファージの溶菌活性が保たれる。いくつかの実施形態では、非必須および／または溶原遺伝子の核酸配列での置換えにより、バクテリオファージの溶菌活性が増強する。いくつかの実施形態では、非必須および／または溶原遺伝子の核酸配列での置換えにより、溶原バクテリオファージに溶菌性が与えられる。

【０１７２】

いくつかの実施形態では、核酸配列は第１の位置においてバクテリオファージゲノムへと導入される一方で、１つもしくは複数の非必須および／または溶原遺伝子は、別個の位置においてバクテリオファージゲノムから別々に除去され、および／または不活性化される。いくつかの実施形態では、核酸配列は第１の位置においてバクテリオファージへと導入される一方で、１つもしくは複数の非必須および／または溶原遺伝子は、複数の別個の位置においてバクテリオファージゲノムから別々に除去され、および／または不活性化される。いくつかの実施形態では、１つもしくは複数の非必須および／または溶原遺伝子の除去ならびに／あるいは不活性化により、バクテリオファージの溶菌活性に影響は及ばない。いくつかの実施形態では、１つもしくは複数の非必須および／または溶原遺伝子の除去ならびに／あるいは不活性化により、バクテリオファージの溶菌活性が保たれる。いくつかの実施形態では、１つもしくは複数の非必須および／または溶原遺伝子の除去は、溶原バクテリオファージを溶菌性バクテリオファージにする。

【０１７３】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、前述の手段のうちいずれかにより溶菌性を与えられた溶原性バクテリオファージである。いくつかの実施形態では、溶原性バクテリオファージは、１つまたは複数の遺伝子の除去、交換、または不活性化により溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージの溶菌活性は、少なくとも１つの溶原遺伝子の除去、交換、または不活性化に起因する。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子は、バクテリオファージ中の溶原サイクルの維持において役割を果たす。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子は、バクテリオファージ中の溶原サイクルの確立において役割を果たす。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子は、バクテリオファージ中の溶原サイクルの確立と溶原サイクルの維持の両方において役割を果たす。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子は抑制遺伝子である。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子はｃＩ抑制遺伝子である。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子はアクチベータ遺伝子である。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子はｃＩＩ遺伝子である。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子はｌｅｘＡ遺伝子である。いくつかの実施形態では、溶原遺伝子はｉｎｔ（インテグラーゼ）遺伝子である。いくつかの実施形態では、２つ以上の溶原性遺伝子は、溶菌サイクルのバクテリオファージ溶原化サイクルおよび／または誘導の阻止を生じさせるために除去、置換、または不活性化される。いくつかの実施形態では、溶原性バクテリオファージは、１つまたは複数の溶菌性遺伝子の挿入により溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、溶原性バクテリオファージは、溶菌サイクルの誘導に寄与する１つまたは複数の遺伝子の挿入により溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、溶原性バクテリオファージは、溶菌サイクルの誘導に寄与する１つまたは複数の遺伝子の発現を改質することにより溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、溶原性バクテリオファージは、表現型上、溶原バクテリオファージから溶菌性バクテリオファージに変化する。いくつかの実施形態では、溶原性バクテリオファージは、環境の改質により溶菌性を与えられる。いくつかの実施形態では、環境の改質には、温度、ｐＨ、または栄養素の改質、抗生物質、過酸化水素、外来性ＤＮＡ、またはＤＮＡ損傷剤への曝露、有機炭素の存在、および重金属（例えば、クロム（ＶＩ）の形にあるもの）が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、溶菌性を与えられる溶原性バクテリオファージは、溶原

状態に戻ることを防止される。いくつかの実施形態では、溶菌性を与えられる溶原性バクテリオファージは、最初に導入されたＣＲＩＳＰＲアレイの自己標的化活性により溶原状態に戻ることを防止される。いくつかの実施形態では、溶菌性を与えられる溶原性バクテリオファージは、追加のＣＲＩＳＰＲアレイの導入により溶原状態に戻ることを防止される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、バクテリオファージの溶菌活性および／または第１もしくは第２のＣＲＩＳＰＲアレイの活性による細胞死因を越えて、シュードモナス種上に新たな特性を付与しない。

【０１７４】

いくつかの実施形態では、１つもしくは複数の非必須および／または溶原遺伝子の置換、切除、不活性化、またはそれらのあらゆる組合せは、化学的、生化学的、および／またはあらゆる好適な方法により達成される。いくつかの実施形態では、１つまたは複数の溶菌性遺伝子の挿入は、あらゆる好適な化学物質、生化学物質、および／または相同組換えによる物理的方法により達成される。

【０１７５】

非必須遺伝子

いくつかの実施形態では、バクテリオファージから除去および／または置換されることとなる非必須遺伝子は、バクテリオファージの生存に必須ではない遺伝子である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージから除去および／または置換されることとなる非必須遺伝子は、溶菌サイクルの導入および／または維持に必須ではない遺伝子である。

【０１７６】

転写活性化因子

いくつかの実施形態では、核酸配列は、転写活性化因子をさらに含む。いくつかの実施形態では、コードされた転写活性化因子は、シュードモナス種内での目的の遺伝子の発現を調節する。いくつかの実施形態では、転写活性化因子は、外因性か内因性かにかかわらず、シュードモナス種内での目的の遺伝子の発現を活性化する。いくつかの実施形態では、転写活性化因子は、標的細菌内で１つまたは複数の阻害要素の活性を妨害することにより、標的細菌内での目的の発現遺伝子を活性化する。いくつかの実施形態では、阻害要素は、転写リプレッサを含む。いくつかの実施形態では、阻害要素は、大域的な転写リプレッサを含む。いくつかの実施形態では、阻害要素は、ヒストン様核様体構造（Ｈ－ＮＳ）タンパク質またはその同族体もしくは機能性フラグメントである。いくつかの実施形態では、阻害要素は、ロイシン応答調節タンパク質（ＬＲＰ）である。いくつかの実施形態では、阻害要素は、ＣｏｄＹタンパク質である。

【０１７７】

一部の細菌では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、発現が少なく、大半の環境条件下で活動しないと考慮される。これらの細菌では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の調節は、転写制御因子、例えば、宿主ゲノムの転写調節に広く関与するヒストン様核様体構造（Ｈ－ＮＳ）タンパク質）の活性の結果である。Ｈ－ＮＳは、ＤＮＡの湾曲をもたらすＡＴリッチ部位に沿った多量体化により、宿主の転写調節の制御を行う。一部の細菌では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ３オペロンの調節は、Ｈ－ＮＳにより調節される。

【０１７８】

同様に、一部の細菌では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の抑制は、阻害要素、例えばロイシン応答調節タンパク質（ＬＲＰ）により制御される。ＬＲＰは、転写開始部位の上流および下流の領域への結合に関係している。顕著には、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の発現の調節におけるＬＲＰの活性は、細菌間で変動する。広範な種間での抑制活性を有するＨ－ＮＳとは異なり、ＬＲＰは、宿主ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の発現を差動的に調節すると示されている。そのため、いくつかの例では、ＬＲＰは、異なる細菌でのＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系発現を調節する宿主特異的な手段を反映する。

【０１７９】

いくつかの例では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の抑制は、阻害要素ＣｏｄＹによっても制御される。ＣｏｄＹは、ＤＮＡ結合を介して作用するＧＴＰ感知転写リプレッサである。

ＧＴＰの細胞内濃度は、環境上の栄養状態における指標として作用する。正常な培養条件下、ＧＴＰは豊富であり、転写活性を抑制するためにＣｏｄＹと結合する。しかし、ＧＴＰ濃度が低下すると、ＣｏｄＹはＤＮＡの結合における活性が低くなり、それにより以前は抑制された遺伝子の転写が可能となる。そのため、ＣｏｄＹは、厳格で大域的な転写リプレッサとして作用する。

【０１８０】

いくつかの実施形態では、転写活性化因子は、ＬｅｕＯをアップレギュレートする、ＬｅｕＯポリペプチド、そのあらゆる同族体もしくは機能性フラグメント、ｌｅｕＯコード配列、または薬剤である。いくつかの実施形態では、転写活性化因子は、ＬｅｕＯのあらゆるオルソログまたは機能上の等価物を含む。一部の細菌では、ＬｅｕＯは、細菌の環境上の栄養状態に応答する大域的な転写制御因子として作用することにより、Ｈ－ＮＳとは反対に作用する。正常な条件下で、ＬｅｕＯの発現は少ない。しかし、アミノ酸飢餓、および／または細菌のライフサイクルにおける静止期の到達の下で、ＬｅｕＯはアップレギュレートされる。ＬｅｕＯの発現増加により、重複するプロモータ領域にてＨ－ＮＳがアンタゴナイズされて、遺伝子発現が達成される。ＬｅｕＯの過剰発現は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の発現をアップレギュレートする。

【０１８１】

いくつかの実施形態では、ＬｅｕＯの発現により、阻害要素の破壊が生じる。いくつかの実施形態では、ＬｅｕＯの発現を原因とする阻害要素の破壊は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の転写抑制を除去する。いくつかの実施形態では、ＬｅｕＯの発現は、Ｈ－ＮＳの活性を原因とするＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の転写抑制を除去する。いくつかの実施形態では、ＬｅｕＯの発現を原因とする阻害要素の破壊は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の発現増加をもたらす。いくつかの実施形態では、ＬｅｕＯの発現による阻害要素の破壊を原因とするＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の発現増加は、ＣＲＩＳＰＲアレイを含む核酸配列のＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ処理の増加をもたらす。いくつかの実施形態では、ＬｅｕＯの発現による阻害要素の破壊を原因とするＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の発現増加は、ＣＲＩＳＰＲアレイを含む核酸配列のＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ処理の増加をもたらすことで、細菌に対するＣＲＩＳＰＲアレイの致死レベルを上昇させる。いくつかの実施形態では、転写活性化因子は、バクテリオファージおよび／またはＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性増加をもたらす。

【０１８２】

調節要素

いくつかの実施形態では、核酸配列は、様々な生物または細胞における発現の種々のプロモータ、ターミネータ、および他の調節要素と操作可能に関連する。いくつかの実施形態では、核酸配列は、リーダ配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、核酸配列は、プロモータ配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１つのプロモータおよび／またはターミネータは、ＣＲＩＳＰＲアレイに操作可能に連結される。本開示に有用なあらゆるプロモータが使用され、例えば、目的の生物に対し機能的なプロモータのほか、本明細書中に開示される連続的、誘導可能、発達的な調節された組織特異的／好ましいプロモータなどが挙げられる。本明細書中で使用される調節要素は、内因性または異種性である。いくつかの実施形態では、対象生物に由来する内因性の調節要素は、それが自然に生じない遺伝学的状況（例えば、自然に見出されるものとは異なるゲノム位置）へと挿入されることにより、組換え型または非天然の核酸を産生する。

【０１８３】

いくつかの実施形態では、核酸配列の発現は、連続的であるか、誘導可能であるか、一時的に調節されるか、発達的に調節されるか、または化学的に調節される。いくつかの実施形態では、核酸配列の発現は、核酸配列を目的の生物中の機能的プロモータに操作可能に連結させることにより、連続的にされるか、誘導可能にされるか、一時的に調節されるか、発達的に調節されるか、または化学的に調節される。いくつかの実施形態では、抑制は、核酸配列を目的の生物中の機能的である誘導可能なプロモータに操作可能に連結させることにより、可逆的にされる。本明細書中に開示されるプロモータの選択は、発現にお

ける量的、時間的、および空間的な要件のほか、形質転換されることとなる宿主細胞によっても変動する。

【０１８４】

本明細書中に開示される方法、バクテリオファージ、および組成物との使用における例示的なプロモータは、細菌中で機能的であるプロモータを含む。例えば、Ｌ－アラビノースの誘導可能（ａｒａＢＡＤ、ＰＢＡＤ）プロモータ、あらゆるｌａｃプロモータ、Ｌ－ラムノースの誘導可能（ｒｈａＰＢＡＤ）プロモータ、Ｔ７　ＲＮＡポリメラーゼプロモータ、ｔｒｃプロモータ、ｔａｃプロモータ、λファージプロモータ（ｐＬｐＬ－９Ｇ－５０）、アンヒドロテトラサイクリン－誘導可能（ｔｅｔＡ）プロモータ、ｔｒｐ、Ｉｐｐ、ｐｈｏＡ、ｒｅｃＡ、ｐｒｏＵ、ｃｓｔ－１、ｃａｄＡ、ｎａｒ、Ｉｐｐ－ｌａｃ、ｃｓｐＡ、１１－ｌａｃオペレータ、Ｔ３－ｌａｃオペレータ、Ｔ４遺伝子３２、Ｔ５－ｌａｃオペレータ、ｎｐｒＭ－ｌａｃオペレータ、Ｖｈｂ、プロテインＡ、コリネバクテリア大腸菌様プロモータ、ｔｈｒ、ｈｏｒｎ、ジフテリア毒素プロモータ、ｓｉｇ　Ａ、ｓｉｇ　Ｂ、ｎｕｓＧ、ＳｏｘＳ、ｋａｔｂ、α－アミラーゼ（Ｐａｍｙ）、Ｐｔｍｓ、Ｐ４３（２つの重複するＲＮＡポリメラーゼσ因子認識部位、σＡ、σＢで構成される）、Ｐｔｍｓ、Ｐ４３、ｒｐｌＫ－ｒｐｌＡ、フェレドキシンプロモータ、および／またはキシロースプロモータ。いくつかの実施形態では、プロモータは、ＢＢａ＿Ｊ２３１０２プロモータである。いくつかの実施形態では、プロモータは、ＢＢａ＿Ｊ２３１０４やＢＢａ＿Ｊ２３１０９などの広範な細菌中で作動する。いくつかの実施形態では、プロモータは、内因性ＣＲＩＳＰＲプロモータ、内因性Ｃａｓオペロンプロモータ、ｐ１６、ｐｌｐｐ、またはｐｔａｔなどの標的細菌に由来する。いくつかの実施形態では、プロモータは、ｇｐ１０５またはｇｐ２４５のプロモータなどのファージプロモータである。

【０１８５】

いくつかの実施形態では、プロモータは、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくともまたは約７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を含む。いくつかの例では、プロモータは、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくともまたは約９５％の相同性を含む。いくつかの例では、プロモータは、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくともまたは約９７％の相同性を含む。いくつかの例では、プロモータは、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくともまたは約９９％の相同性を含む。いくつかの例では、プロモータは、配列番号１～１のいずれか１つに対して１００％の相同性を含む。いくつかの例では、プロモータは、配列番号１～１１のいずれか１つの、少なくともまたは約３、４、５、６、７、８、９、１０、１２、１４、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、または５０より多くのヌクレオチドを有する少なくとも一部を含む。いくつかの例では、プロモータは、配列番号１～１１のいずれか１つの、少なくともまたは約５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００、１０５、１１０、１１５、１２０、１２５、１３０、１３５、１４０、１４５、１５０、１５５、１６０、１６５、１７０、１７５、１８０、１８５、１９０、１９５、２００、２０５、２１０、２１５、または２１５より多くのヌクレオチドを有する少なくとも一部を含む。

【０１８６】

いくつかの実施形態では、誘導可能なポリマーが使用される。いくつかの実施形態では、外因性の化学調節因子の適用を介して生物中の遺伝子発現を調節するために、化学物質により調節されたプロモータが使用される。化学的に調節されたプロモータの使用により、核酸配列によってコードされるＲＮＡおよび／またはポリペプチドは、例えば、誘導を行う化学物質により生物が処置されたときにのみ合成されることが可能になる。化学物質により誘導可能なプロモータが使用されるいくつかの実施形態では、化学物質の適用により遺伝子発現が誘導される。化学物質により抑制可能なプロモータが使用されるいくつか

の実施形態では、化学物質の適用により遺伝子発現が抑制される。いくつかの実施形態では、プロモータは光により誘導可能なプロモータであるため、特定波長の光の適用により遺伝子発現が誘導される。いくつかの実施形態では、プロモータは光により抑制可能なプロモータであるため、特定波長の光の適用により遺伝子発現が抑制される。

【０１８７】

発現カセット

いくつかの実施形態では、核酸配列は、発現カセットであるか、または発現カセット中にある。いくつかの実施形態では、発現カセットは、本明細書中に開示される核酸配列を発現するように設計されている。いくつかの実施形態では、核酸配列は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の構成成分をコードする発現カセットである。いくつかの実施形態では、核酸配列は、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の構成成分をコードする発現カセットである。いくつかの実施形態では、核酸配列は、操作可能なＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする発現カセットである。いくつかの実施形態では、核酸配列は、カスケードおよびＣａｓ３を含む、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の操作可能な構成成分をコードする発現カセットである。いくつかの実施形態では、核酸配列は、ｃｒＲＮＡ、カスケード、およびＣａｓ３を含む、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の操作可能な構成成分をコードする発現カセットである。

【０１８８】

いくつかの実施形態では、目的の核酸配列を含む発現カセットはキメラであり、このことは、その構成成分の少なくとも１つが、他の構成成分の少なくとも１つに対して異種であることを意味している。いくつかの実施形態では、発現カセットは自然に生じるが、異種発現に有用な組換え形態で得られている。

【０１８９】

いくつかの実施形態では、発現カセットは、選択された宿主細胞中で機能的である転写および／または翻訳の終止領域（すなわち、終止領域）を含む。いくつかの実施形態では、終止領域は、目的の異種核酸配列を超える転写の終点、および正確なｍＲＮＡポリアデニル化に寄与する。いくつかの実施形態では、終止領域は、転写開始領域に固有であるか、操作可能に連結された目的の核酸配列に固有であるか、宿主細胞に固有であるか、または、別の供給源（すなわち、外部のもの、または、プロモータ、目的の核酸配列、宿主、もしくはそれらのあらゆる組合せに対して異種のもの）から得られる。いくつかの実施形態では、ターミネータは、本明細書中に開示される核酸配列に操作可能に結合される。

【０１９０】

いくつかの実施形態では、発現カセットは、選択可能なマーカのヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、ヌクレオチド配列は、選択的な薬剤（例えば、抗生物質）を使用するなど化学的手段により選択された形質をマーカが与えるかどうかに応じて、または、そのマーカが単に、スクリーニング（例えば、蛍光）などによる観察もしくは検査を介して特定される形質であるかどうかに応じて、選択可能かスクリーニング可能なマーカのいずれかをコードする。

【０１９１】

ベクター

発現カセットに加えて、本明細書中に開示される核酸配列（例えば、ＣＲＩＳＰＲアレイを含む核酸配列）は、ベクターとともに使用される。ベクターは、転写、送達、または導入されることとなるヌクレオチド配列を含む核酸分子を含む。ベクターの一般的な分類の非限定的な例には、自己伝達可能であるかそうでない場合のある二本鎖または一本鎖である線形または円形の形態にある、ウイルスベクター、プラスミドベクター、ファージベクター、ファージミドベクター、コスミドベクター、フォスミドベクター、バクテリオファージ、人工染色体、またはアグロバクテリウムバイナリベクターが挙げられるが、これらに限定されない。ベクターは、細胞ゲノムへの統合、または染色体外での存在（例えば、複製起点を有する自己複製を行うプラスミド）のいずれかにより、原核生物または真核生物の宿主を形質転換させる。加えて、２つの異なる宿主生物中での複製を自然に、または設計により可能とするＤＮＡビヒクルを意味するシャトルベクターが含まれる。いくつ

かの実施形態では、シャトルベクターは、放線菌ならびに細菌および／または真核生物において複製する。いくつかの実施形態では、ベクター中の核酸は、宿主細胞中の転写に適切なプロモータまたは他の調節要素の制御下にあり、それらに操作可能に連結される。いくつかの実施形態では、ベクターは、複数の宿主中で機能する二機能性の発現ベクターである。

【０１９２】

コドン最適化

いくつかの実施形態では、核酸配列は、目的のあらゆる種における発現のために最適化されたコドンである。コドン最適化は、種特異的なコドン利用テーブルを使用して、コドン利用のバイアスに対するヌクレオチド配列の修飾に関与する。コドン利用テーブルは、目的の種において最も高度に発現された遺伝子の配列分析に基づき生成される。ヌクレオチド配列が核中で発現される場合、コドン利用テーブルは、目的の種において高度に発現された核内遺伝子の配列分析に基づき生成される。ヌクレオチド配列の修飾は、種特異的なコドン利用テーブルを天然のポリヌクレオチド配列に存在するコドンと比較することにより判定される。ヌクレオチド配列のコドン最適化により、天然のヌクレオチド配列に対して１００％未満の同一性（例えば、５０％、６０％、７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％など）を有するヌクレオチド配列が得られるが、依然として、本来のヌクレオチド配列によりコードされるものと同じ機能を有するポリペプチドがコードされている。いくつかの実施形態では、本開示の核酸配列は、目的の生物／種における発現のために最適化されたコドンである。

【０１９３】

形質転換

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示される核酸配列、および／または発現カセットは、一時的に発現され、および／または安定して宿主生物のゲノムへと組み込まれる。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示される核酸配列および／または発現カセットは、当業者に高知のいずれかの方法により細胞へと導入される。形質転換の例示的な方法には、コンピテント細胞のエレクトロポレーションを介した形質転換、コンピテント細胞による受動的な取込み、コンピテント細胞の化学的形質転換のほか、細胞への核酸の導入を生じさせる他のあらゆる電気的、化学的、物理的（機械的）、および／または生物学的な機構によるものが挙げられ、それらのあらゆる組合せも挙げられる。いくつかの実施形態では、細胞の形質転換は、核形質転換を含む。いくつかの実施形態では、細胞の形質転換は、プラスミド形質転換およびコンジュゲーションを含む。

【０１９４】

いくつかの実施形態では、１より多くの核酸配列が導入される場合、ヌクレオチド配列は、単一の核酸構築物の一部として、または別個の核酸構築物として組み立てられて、同じまたは異なる核酸上に位置付けられる。いくつかの実施形態では、ヌクレオチド配列は、単一の形質転換事象、または別個の形質転換事象において目的の細胞へと導入される。

【０１９５】

抗微生物薬およびペプチド

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、抗菌ペプチド、抗菌ペプチドの機能性フラグメント、または溶菌性遺伝子を発現するようにさらに遺伝子的に修飾される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、本明細書中に開示される少なくとも１つの抗微生物薬またはペプチドを発現する。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、核酸配列のタンパク質生成物がファージ耐性菌を標的とするエンザイバイオティック（ｅｎｚｙｂｉｏｔｉｃ）をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、バイオフィルムマトリクスの破壊または分解を補助する酵素をコードする核酸を含む。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、ディスパー

シンＤアミノペプチダーゼ、アミラーゼ、カルボヒドラーゼ、カルボキシペプチダーゼ、カタラーゼ、セルラーゼ、キチナーゼ、クチナーゼ、シクロデキストリングリコシルトランスフェラーゼ、デオキシリボヌクレアーゼ、エステラーゼ、αガラクトシダーゼ、βガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、αグルコシダーゼ、βグルコシダーゼ、ハロペルオキシダーゼ、インベルターゼ、ラッカーゼ、リパーゼ、マンノシダーゼ、オキシダーゼ、ペクチン分解酵素、ペプチドグルタミナーゼ、ペルオキシダーゼ、フィターゼ、ポリフェノールオキシダーゼ、タンパク質分解酵素、リボヌクレアーゼ、トランスグルタミナーゼ、キシラナーゼ、またはリアーゼをコードする核酸を含む。いくつかの実施形態では、酵素は、セルラーゼＡとも呼ばれる酵素のグリコシルヒドロキシラーゼ５ファミリーなどのセルラーゼのグリコシルヒドロキシラーゼファミリーといったセルラーゼ、ポリグルコサミン（ＰＧＡ）デポリメラーゼ、および１，４－Ｌ－フコダイズ（ｆｕｃｏｄｉｓｅ）ヒドロラーゼ、コラン酸、脱重合アルギナーゼ、ＤＮａｓｅ　Ｉ、またはそれらの組合せなどのコロン酸デポリメラーゼからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されたバクテリオファージは、本明細書中に開示される酵素を分泌する。

【０１９６】

いくつかの実施形態では、抗微生物薬またはペプチドは、本明細書中に開示されるバクテリオファージにより発現および／または分泌される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、アンピシリン、ペニシリン、ペニシリン誘導体、セファロスポリン、モノバクタム、カルバペネム、オフロキサシン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、ガチフロキサシン、ノルフロキサシン、ロメフロキサシン、トロバフロキサシン、モキシフロキサシン、スパルフロキサシン、ゲミフロキサシン、パズフロキサシン、または本明細書中に開示されるあらゆる抗生物質などの抗生物質を分泌し、かつ発現する。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、抗菌ペプチドをコードする核酸配列を含むか、抗菌ペプチドを発現するか、またはシュードモナス種の死滅を補助もしくは増強するペプチドを分泌する。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、ペプチドをコードする核酸配列、抗菌ペプチドをコードする核酸配列を含むか、抗菌ペプチドを発現するか、または第１および／もしくは第２のＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性を補助もしくは増強するペプチドを分泌する。

【０１９７】

使用方法

本明細書中の特定の実施形態では、シュードモナス種を死滅させる方法であって、本明細書中に開示されるバクテリオファージのうちいずれかをシュードモナス種へと導入する工程を含む方法が開示される。

【０１９８】

さらに本明細書中の特定の実施形態では、必須遺伝子中に標的ヌクレオチド配列を含む第１の細菌種と、必須遺伝子中に標的ヌクレオチド配列を含まない第２の細菌種とを有する細菌細胞の混合集団を修飾する方法であって、本明細書中に開示されるバクテリオファージのうちいずれかを、細菌細胞の混合集団に導入する工程を含む方法が開示される。

【０１９９】

また本明細書中の特定の実施形態では、疾患または疾病の処置を必要とする個体の疾患または疾病を処置する方法であって、本明細書中に開示されるバクテリオファージのうちいずれかを個体に投与する工程を含む方法が開示される。

【０２００】

いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、バクテリオファージの溶菌活性だけで死滅させられる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性だけで死滅させられる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、細菌の標的遺伝子中の標的ヌクレオチド配列においてＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓに基づくエンドヌクレアーゼの活性および／または切断を対象とすることが可能な処理済みのｃｒＲＮＡを産生するために、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系によるＣＲＩＳＰＲアレイの処理によって死滅さ

せられる。
【０２０１】
いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、バクテリオファージの溶菌活性とＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性との組合せにより死滅させられる。いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、バクテリオファージの溶菌活性とは無関係に、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性により死滅させられる。いくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性は、バクテリオファージの溶菌活性を補充するかまたは増強する。いくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性、およびバクテリオファージの溶菌活性は、相加的である。
【０２０２】
いくつかの実施形態では、バクテリオファージの溶菌活性、およびＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性は、相乗的である。いくつかの実施形態では、相乗的な活性は、バクテリオファージの溶菌活性とＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系との相加的な組合せよりも高レベルでファージの死滅をもたらす活性として定められる。いくつかの実施形態では、バクテリオファージの溶菌活性は、バクテリオファージの濃度により調節される。いくつかの実施形態では、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性は、バクテリオファージの濃度により調節される。
【０２０３】
いくつかの実施形態では、細菌の相乗的な死滅は、細菌に投与されるバクテリオファージの濃度を上昇させることにより、第１のＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性よりも、バクテリオファージの溶菌活性による死滅を支持するように調節される。いくつかの実施形態では、細菌の相乗的な死滅は、細菌に投与されるバクテリオファージの濃度を低下させることにより、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性よりも、バクテリオファージの溶菌活性による死滅を支持しないように調節される。いくつかの実施形態では、溶菌性の複製は、低濃度で標的細菌の増幅および死滅を可能にする。いくつかの実施形態では、ファージの増幅は、高濃度では必要とされない。いくつかの実施形態では、細菌の相乗的な死滅は、ＣＲＩＳＰＲアレイの致死性を増加させるようにスペーサの数、長さ、組成、同一性、またはそれらの組合せを改質することにより、バクテリオファージの溶菌活性よりも、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性による死滅を支持するように調節される。いくつかの実施形態では、細菌の相乗的な死滅は、ＣＲＩＳＰＲアレイの致死性を低下させるようにスペーサの数、長さ、組成、同一性、またはそれらの組合せを改質することにより、バクテリオファージの溶菌活性よりも、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性による死滅を支持しないように調節される。
【０２０４】
本明細書中の一態様では、対象のシュードモナス感染症を処置する方法であって、対象にバクテリオファージを含む組成物を投与する工程を含んでおり、バクテリオファージは、シュードモナス細菌ゲノムを標的とし分解することにより細胞死を引き起こすＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含む、方法が提供される。いくつかの実施形態では、シュードモナス細菌を標的とするＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、シュードモナス種における標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列と、カスケードポリペプチドと、Ｃａｓ３ポリペプチドとを含むＣＲＩＳＰＲアレイを含んでいる。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のスペーサ配列は、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、少なくとも１つの反復配列をさらに含む。いくつかの実施形態では、少なくとも１つの反復配列は、その５’末端または３’末端のいずれかにおいて１つまたは複数のスペーサ配列に操作可能に連結される。いくつかの実施形態では、反復配列は、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲアレイは、図１Ａ～図１Ｅ、または配列番号８３～８７に記載される配列に対して少なくとも約９０％の配列

同一性を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、コーディング配列を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、非コーディングまたは遺伝子間配列を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、プロモータ配列のすべてまたは一部を含む。いくつかの実施形態では、プロモータ配列は、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列は、必須遺伝子の転写された領域のコーディング鎖に位置するヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含む。

【０２０５】

一実施形態では、必須遺伝子は、ＴｓｆＺ、ａｃｐＰ、ｇａｐＡ、ｉｎｆＡ、ｓｅｃＹ、ｃｓｒＡ、ｔｒｍＤ、ｆｔｓＡ、ｆｕｓＡ、ｇｌｙＱ、ｅｎｏ、ｎｕｓＧ、ｄｎａＡ、ｄｎａＳ、ｐｈｅＳ、ｒｐｌＢ、ｇｌｔＸ、ｈｉｓＳ、ｒｐｌＣ、ａｓｐＳ、ｇｙｒＢ、ｇｌｎＳ、ｄｎａＥ、ｒｐｏＡ、ｒｐｏＢ、ｐｈｅＴ、ｉｎｆＢ、ｒｐｓＣ、ｒｐｌＦ、ａｌａＳ、ｌｅｕＳ、ｓｅｒＳ、ｒｐｌＤ、ｇｙｒＡ、またはｍｅｔＫである。いくつかの実施形態では、カスケードポリペプチドは、Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、またはＩ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系のカスケード複合体を形成する。いくつかの実施形態では、カスケード複合体は、（ｉ）Ｃａｓ３が、ヌクレアーゼ活性を有していないＣａｓ３’ポリペプチドおよびＣａｓ３”ポリペプチドを含む、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ８ａ１ポリペプチドもしくはＣａｓ８ａ２ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、Ｃｓａ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ａポリペプチド（Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｉｉ）Ｃａｓ６ｂポリペプチド、Ｃａｓ８ｂポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、およびＣａｓ５ポリペプチド（Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｉｉｉ）Ｃａｓ５ｄポリペプチド、Ｃａｓ８ｃポリペプチド、およびＣａｓ７ポリペプチド（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｉｖ）Ｃａｓ１０ｄポリペプチド、Ｃｓｃ２ポリペプチド、Ｃｓｃ１ポリペプチド、Ｃａｓ６ｄポリペプチド（Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｖ）Ｃｓｅ１ポリペプチド、Ｃｓｅ２ポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ｅポリペプチド（Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、（ｖｉ）Ｃｓｙ１ポリペプチド、Ｃｓｙ２ポリペプチド、Ｃｓｙ３ポリペプチド、およびＣｓｙ４ポリペプチド（Ｉ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む。いくつかの実施形態では、カスケード複合体は、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７ポリペプチド（任意選択で配列番号８２）（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む。いくつかの実施形態では、核酸配列は、プロモータ配列をさらに含む。

【０２０６】

本明細書中の一実施形態では、シュードモナス感染症を患う対象の選択群を処置するための方法が提供される。一実施形態では、対象は、１つまたは複数の共通して実施される治療、例えば、１つまたは複数の抗生物質化合物を含む治療に耐性がある。

【０２０７】

一実施形態では、対象の選択群は、シュードモナス種のＭＤＲ株に感染した対象であると特定される。一実施形態では、対象の選択群は、免疫不全状態の対象であると特定される。いくつかの実施形態では、感染症は院内感染症である。いくつかの実施形態では、感染症は、持続性または再発性感染症である。いくつかの実施形態では、対象は症候性である。いくつかの実施形態では、対象は、シュードモナス誘導型の慢性感染症および疾患を患う。一実施形態では、組成物は、対象に単回量として１回投与される。

【０２０８】

本明細書中のいくつかの実施形態では、組成物、例えば、１つまたは複数のバクテリオファージ、例えばバクテリオファージカクテルを含む医薬組成物を投与することにより、シュードモナス感染症を患う対象を処置する方法であって、組成物中のバクテリオファージ、例えばバクテリオファージカクテルは、ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス、Ｓａｍｕｎａウイルス、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス、Ａｂ

ｉｄｊａｎウイルス、Ｂａｉｋａｌウイルス、Ｂｅｅｔｒｅウイルス、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス、Ｃｉｔｅｘウイルス、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス、Ｅｌウイルス、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス、Ｌｉｔｕｎａウイルス、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス、Ｎｉｐｕｎａウイルス、Ｐａｋｐｕｎａウイルス、Ｐａｍｅｘウイルス、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス、Ｐｈｉｔｒｅウイルス、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス、Ｙｕａウイルス、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルス、またはＰｂｕｎａウイルスからなる系統由来である、方法が提供される。いくつかの実施形態では、組成物は、バクテリオファージカクテル５１１を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、バクテリオファージカクテルＰＡＣＫ５１２を含む。本明細書中のいくつかの実施形態では、少なくとも６つのバクテリオファージを含む医薬組成物であって、バクテリオファージが、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５からなる群に由来する、医薬組成物が提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の１つもしくは複数のバクテリオファージ、操作されたバクテリオファージ、またはバクテリオファージカクテルなどの本明細書に開示される組成物は、癌を処置するために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、表１Ａ、表５Ａ、および／または表５Ｂから選択される。

【０２０９】

いくつかの実施形態では、処置は、静脈内または筋肉内の薬物として投与される。いくつかの実施形態では、処置は、経口経路を介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、ネブライザを介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、患者により操作可能なネブライザを介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、定量式ネブライザを介して投与される。

【０２１０】

いくつかの実施形態では、処置は、１つもしくは複数の他の薬物または治療、例えば、トブラマイシンなどの抗生物質と組み合わせて施される。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のバクテリオファージを含む組成物と同時投与される例示的な治療薬はまた、アンピシリン、ペニシリン、ペニシリン誘導体、セファロスポリン、モノバクタム、カルバペネム、オフロキサシン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、ガチフロキサシン、ノルフロキサシン、ロメフロキサシン、トロバフロキサシン、モキシフロキサシン、スパルフロキサシン、ゲミフロキサシン、パズフロキサシン、または本明細書中に開示されるあらゆる抗生物質などの抗生物質であり得る。いくつかの実施形態では、追加の治療は気道機能の改善用の薬物を含む。いくつかの実施形態では、追加の治療は、気道応答を低減させるための薬物を含む。いくつかの実施形態では、追加の治療は、気道炎症を低減させるための薬物を含む。いくつかの実施形態では、追加の治療は気管支拡張剤を含む。いくつかの実施形態では、追加の治療は、酸素利用率の改善のための薬物を含む。いくつかの実施形態では、追加の治療は、気道胚細胞分泌亢進を低減させるための薬物を含む。いくつかの実施形態では、追加の治療はＤＮＡｓｅを含む。いくつかの実施形態では、追加の治療は生理食塩水である。いくつかの実施形態では、追加の治療は、例えば嚢胞性線維症の処置に使用される、咳の習慣を含む治療法である。

【０２１１】

一実施形態では、組成物は、対象に１回より多く、例えば複数回用量で投与される。一実施形態では、組成物は、対象に２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、またはそれより多くの回数の用量で投与される。一実施形態では、組成物は、対象に１日１回、２日に１回、３日に１回、４日に１回、５日に１回、６日に１回、または週１回投与される。一実施形態では、組成物は、対象に１０日に１回投与される。一実施形態では、組成物は、対象に１２日に１回投与される。一実施形態では、組成物は、対象に２週間に１回投与される。一実施形態では、組成物は、対象に３週間に１回投与される。一実施形態では、組成物は、対象に１か月に１回投与される。

【０２１２】
一実施形態では、第１の組成物は、１か月、２か月、３か月、４か月、５か月、６か月、７か月、８か月、９か月、１０か月、１１か月、１２か月、１３か月、１４か月、１５か月、１６か月、１７か月、１８か月、１９か月、２０か月、２１か月、２２か月、２３か月、２４か月、またはそれよりも長い期間にわたり、対象に複数回用量で投与される。
【０２１３】
本明細書中の一態様では、対象のシュードモナス感染症を処置する方法であって、本方法は、対象にバクテリオファージを含む第１の組成物を投与する工程であって、バクテリオファージが、シュードモナス細菌を標的とするＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含む、工程と、対象に第２の治療薬を投与する工程とを含む方法が提供される。いくつかの実施形態では、第２の治療薬は、抗生物質または抗菌組成物である。一実施形態では、第１の組成物と第２の治療薬は、同じ日に投与される。一実施形態では、第１の組成物と第２の治療薬は、別の日に投与される。
【０２１４】
投与経路および投与量
本明細書中に開示される組成物の投与量と投与期間は、対象の年齢、対象の体重、およびファージの忍容性を含む種々の因子に左右されることとなる。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、対象に動脈内、静脈内、尿道内、筋肉内、経口、皮下、吸入、またはそれらのあらゆる組合せで投与される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、経口投与により対象に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、局所、皮膚、経皮、口腔粘膜、植込み、舌下、頬側、直腸、経膣、経眼、経耳、または経鼻での投与により患者に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、前述の投与経路のあらゆる組合せにより対象に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、吸入により対象に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、ネブライザを用いた吸入により対象に投与される。
【０２１５】
いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の組成物と方法は、肺の感染症または疾患を処置するためのものである。いくつかの実施形態では、肺の感染症または疾病は、嚢胞性線維症である。いくつかの実施形態では、嚢胞性線維症、または嚢胞性線維症に付随する気管支拡張症を有する患者への、バクテリオファージを含む組成物の投与は、ネブライザを介して行われる。いくつかの実施形態では、処置は、患者により操作可能なネブライザを介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、定量式ネブライザを介して投与される。いくつかの実施形態では、処置は、１つもしくは複数の他の薬物または治療、例えば、抗生物質または気管支拡張剤と組み合わせて施される。いくつかの実施形態では、処置は、本明細書中に記載されるバクテリオファージ、バクテリオファージ組成物、および／またはバクテリオファージカクテルである。例えば、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５を含む組成物である。この組成物は、肺送達のために噴霧化可能な製剤中にあってもよい。
【０２１６】
いくつかの実施形態では、10^{3}～10^{20}ＰＦＵの間のファージの用量が、対象に投与される。いくつかの実施形態では、10^{3}～10^{10}ＰＦＵの間のファージの用量が、対象に投与される。いくつかの実施形態では、10^{6}～10^{20}ＰＦＵの間のファージの用量が、対象に投与される。いくつかの実施形態では、10^{6}～10^{10}ＰＦＵの間のファージの用量が、対象に投与される。例えば、いくつかの実施形態では、10^{3}～10^{11}ＰＦＵの間の量のバクテリオファージを含む組成物が、対象に投与される。いくつかの実施形態では、約10^{3}、10^{4}、10^{5}、10^{6}、10^{7}、10^{8}、10^{9}、10^{10}、10^{11}、10^{12}、10^{13}、10^{14}、10^{15}、10^{16}、10^{17}、10^{18}、１０

10^{19}、10^{20}、10^{21}、10^{22}、10^{23}、10^{24}ＰＦＵ以上の量のバクテリオファージを含む組成物が、対象に投与される。いくつかの実施形態では、10^{1}ＰＦＵ未満の量のバクテリオファージを含む組成物が、対象に投与される。いくつかの実施形態では、10^{1}～10^{8}、10^{4}～10^{9}、10^{5}～10^{10}、または10^{7}～10^{11}ＰＦＵの間の量のバクテリオファージを含む組成物が、対象に投与される。いくつかの実施形態では、２つ以上のバクテリオファージを含む組成物が対象に投与され、各バクテリオファージは、約10^{3}、10^{4}、10^{5}、10^{6}、10^{7}、10^{8}、10^{9}、10^{10}、10^{11}、10^{12}、10^{13}、10^{14}、10^{15}、10^{16}、10^{17}、10^{18}、10^{19}、10^{20}、10^{21}、10^{22}、10^{23}、10^{24}ＰＦＵ以上の量で投与される。いくつかの実施形態では、２つ以上のバクテリオファージを含む組成物が対象に投与され、各バクテリオファージは、10^{1}ＰＦＵ未満の量で投与される。いくつかの実施形態では、２つ以上のバクテリオファージを含む組成物が対象に投与され、各バクテリオファージは、10^{1}～10^{8}、10^{4}～10^{9}、10^{5}～10^{10}、または10^{7}～10^{11}ＰＦＵの間の量で投与される。

【０２１７】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージまたは混合物は、それを必要とする対象に、１日に１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、または２４回投与される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージまたは混合物は、それを必要とする対象に、１週間に少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、または２１回投与される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージまたは混合物は、それを必要とする対象に、１か月に少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、または９０回投与される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージまたは混合物は、それを必要とする対象に、２、４、６、８、１０、１２、１４、１８、２０、２２、または２４時間ごとに投与される。

【０２１８】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示される組成物（バクテリオファージ）は、疾患または疾病の発生の前、最中、または後に投与される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージを含有する組成物を投与するタイミングは、様々である。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、予防薬として使用され、かつ、疾患または疾病の発生を防止するために疾患または疾病に罹りやすい対象に継続して投与される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、症状の発症中、または発症後可能な限り早急に対象に投与される。いくつかの実施形態では、組成物の投与は、症状発症の最初の４８時間以内に、症状発症の最初の２４時間以内に、症状発症の最初の６時間以内に、または症状発症の３時間以内に開始される。いくつかの実施形態では、組成物の初回投与は、本明細書中に開示されるあらゆる製剤を用いた本明細書中に記載のあらゆる経路など、あらゆる実用的な経路を介して行われる。いくつかの実施形態では、組成物は、疾患または疾病の発症が検出されるか疑われた後に実用可能となると早急に、あるいは、例えば約１か月～約３か月など疾患の処置に必要な期間にわたり、投与される。いくつかの実施形態では、処置の長さは、対象ごとに変動することになる。

【０２１９】

細菌感染症

本明細書中の特定の実施形態では、細菌感染症を処置する方法が開示される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、ヒトまたは動物の対象

における、本明細書に記載される細菌により媒介されるか引き起こされる疾患もしくは疾病を処置または予防する。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、ヒトまたは動物の対象における、本明細書に記載される細菌により引き起こされるか悪化させられる疾患もしくは疾病を処置または予防する。このような細菌は、典型的に腸、口腔、肺、腋窩、眼、膣、肛門、耳、鼻、または咽喉の組織を含む対象の組織と接触している。いくつかの実施形態では、細菌感染症は、細菌の活性を調節すること、および／または細菌を直接死滅させることにより処置される。

【０２２０】

いくつかの実施形態では、標的細菌はシュードモナスである。いくつかの実施形態では、細菌は緑膿菌である。

【０２２１】

いくつかの実施形態では、細菌集団に存在する１つまたは複数の標的細菌は、病原性である。いくつかの実施形態では、病原性細菌は、尿路病原性である。いくつかの実施形態では、病原性細菌は、肺病原性である。いくつかの実施形態では、病原性細菌は、血流病原性である。

【０２２２】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、対象の肺の系における感染症、疾患、または疾病を処置するために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、対象の肺のマイクロバイオーム内の標的細菌を調節かつ／または死滅させるために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、対象の肺のマイクロバイオーム内の複数の細菌のうち１つもしくは複数の標的細菌を選択的に調節かつ／または死滅させるために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、対象の肺のマイクロバイオーム内の複数の細菌のうち１つもしくは複数の標的病原性細菌を選択的に調節かつ／または死滅させるために使用される。

【０２２３】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、対象の尿路における感染症、疾患、または疾病を処置するために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、対象の尿路フローラ内の標的細菌を調節かつ／または死滅させるために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、対象の尿路フローラ内の複数の細菌のうち１つもしくは複数の標的病原性細菌を選択的に調節かつ／または死滅させるために使用される。

【０２２４】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、対象の皮膚上の感染症、疾患、または疾病を処置するために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、対象の皮膚上の標的細菌を調節かつ／または死滅させるために使用される。

【０２２５】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、対象の粘膜上の感染症、疾患、または疾病を処置するために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、対象の粘膜上の標的細菌を調節かつ／または死滅させるために使用される。

【０２２６】

いくつかの実施形態では、病原性細菌は、耐抗生物質性である。

【０２２７】

いくつかの実施形態では、細菌集団に存在する１つまたは複数の標的細菌は、バイオフィルムを形成する。いくつかの実施形態では、バイオフィルムは、病原性細菌を含む。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、バイオフィルムを処理するために使用される。

【０２２８】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ざ瘡、および他の関連する皮膚感染

症を処置する。
【０２２９】
いくつかの実施形態では、シュードモナス種は、多剤耐性（ＭＤＲ）細菌株である。ＭＤＲ株は、少なくとも１つの抗生物質に耐性を示す細菌株である。いくつかの実施形態では、細菌株は、セファロスポリン、フルオロキノロン、カルバペネム、コリスチン、アミノグリコシド、バンコマイシン、ストレプトマイシン、およびメチシリンなどの抗生物質クラスに耐性を示す。いくつかの実施形態では、細菌株は、セフトビプロール、セフタロリン、クリンダマイシン、ダルババンシン、ダプトマイシン、リネゾリド、ムピロシン、オリタバンシン、テジゾリド、テラバンシン、チゲサイクリン、バンコマイシン、アミノグリコシド、カルバペネム、セフタジジム、セフェピム、セフトビプロール、フルオロキノロン、ピペラシリン、チカルシリン、リネゾリド、ストレプトグラミン、チゲサイクリン、ダプトマイシン、またはそれらのあらゆる組合せなどの抗生物質に耐性を示す。いくつかの実施形態では、ＭＤＲ株は、緑膿菌である。
【０２３０】
いくつかの実施形態では、細菌はシュードモナス種である。いくつかの実施形態では、細菌は緑膿菌である。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示される方法と組成物は、獣医学および医療用途のほか、研究用途にも使用される。
【０２３１】
いくつかの実施形態では、細菌感染症は、嚢胞性線維症を有する対象に存在する。いくつかの実施形態では、細菌感染症は、非嚢胞性線維症性気管支拡張症を有する対象に存在する。いくつかの実施形態では、細菌感染症は、肺炎を有する対象に存在する。いくつかの実施形態では、細菌感染症は、肺炎の原因となる。非限定的な例として、肺炎は、院内肺炎、人工呼吸器関連肺炎、市中肺炎、または医療関連肺炎である。いくつかの実施形態では、細菌感染症は、血液系感染症（ＢＳＩ）である。
【０２３２】
いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の方法は、追加の治療を施す工程を含む。いくつかの実施形態では、追加の治療は、抗生物質である。いくつかの実施形態では、抗生物質はトブラマイシンを含む。
【０２３３】
マイクロバイオーム
「マイクロバイオーム」、「微生物相」、および「微生物生息環境」は、以下で互換的に使用されるとともに、対象の体表面、体腔、および流体の上、または中に生息する微生物の共同体を指す。マイクロバイオームの生息環境の非限定的な例には、腸、結腸、皮膚、皮膚表面、皮膚の孔、鞘状腔、臍部、結膜領域、腸領域、胃、鼻腔（ｎａｓａｌ ｃａｖｉｔｉｅｓ ａｎｄ ｐａｓｓａｇｅｓ）、胃腸管、尿路、唾液、粘液、および糞便が挙げられる。いくつかの実施形態では、マイクロバイオームは、細菌、古細菌、原生生物、真菌、およびウイルスを含むがこれらに限定されない微生物材料を含む。いくつかの実施形態では、微生物材料は、グラム陰性細菌を含む。いくつかの実施形態では、微生物材料は、グラム陽性細菌を含む。いくつかの実施形態では、微生物材料は、プロテオバクテリア、アクチノバクテリア、バクテロイデス、またはファーミキューテスを含む。
【０２３４】
いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、対象のマイクロバイオーム内の標的細菌を調節または死滅させるために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、溶菌活性、またはそれらの組合せによりマイクロバイオーム内の標的細菌を調節かつ／または死滅させるために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、対象のマイクロバイオーム内の標的細菌を調節かつ／または死滅させるために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、対象のマイクロバイオーム内の複数の細菌のうち１つもしくは複数の標的細菌を選択的に調節かつ／または死滅させるために使用される。
【０２３５】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、対象の肺のマイクロバイオーム内の１つの標的細菌もしくは複数の細菌を調節または死滅させるために使用される。肺のマイクロバイオームの修飾（例えば、ディスバイオシス）は、糖尿病、精神障害、潰瘍性大腸炎、大腸癌、自己免疫異常、肥満症、糖尿病、中枢神経系の疾患、および炎症性腸疾患などの健康状態のリスクを上昇させる。

【０２３６】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、健康なマイクロバイオームを増進させるために対象に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、健康を増進させるマイクロバイオーム組成物に対し対象のマイクロバイオームを回復させるために、対象に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージを含む組成物は、プレバイオティクスまたは第３の薬剤を含む。いくつかの実施形態では、マイクロバイオームに関連する疾患または障害は、本明細書中に開示されるバクテリオファージにより処置される。

【０２３７】

環境療法

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、食品および農業衛生（肉、果物、および野菜の衛生を含む）、院内衛生、家庭衛生、ビヒクルおよび装置の衛生、産業衛生などのためにさらに使用される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、耐抗生物質性、または、医療、獣医学、畜産、もしくは、細菌がヒトまたは動物を感染させるあらゆる追加の環境からの、他の望ましくない病原体の除去のために使用される。

【０２３８】

医療機関におけるファージの環境用途は、殺菌が困難または不可能である病原体による院内感染源となり得る、内視鏡などの装置、およびＩＣＵなどの環境向けである。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるファージは、よく用いられる消毒薬に耐性を示すようになる細菌属が生息する装置または環境を処理するために使用される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるファージ組成物は、無生物物体を殺菌するために使用される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示される環境は、ファージ力価を有する水溶液とともに噴霧されるか、塗布されるか、または注がれる。いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の溶液は、１０１～１０２０の間のプラーク形成単位（ＰＦＵ）／ｍｌを含む。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、バクテリオファージの環境への分布を促進させるために、乾燥分散剤を含む薬剤をエアロゾルとすることにより、適用される。いくつかの実施形態では、物体は、本明細書中に開示されるバクテリオファージを含有する溶液に浸される。

【０２３９】

衛生

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、様々な分野で衛生薬剤として使用される。「ファージ」または「バクテリオファージ」という用語が使用されてもよいが、適切な場合、この用語は、単一のバクテリオファージ、複数のバクテリオファージ、例えば、バクテリオファージ混合物や、バクテリオファージと消毒薬、洗浄剤、界面活性剤、水などとの混合物を含むと広く解釈されるべきである。

【０２４０】

いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、手術室、病室、待合室、研究室、または他の様々な病院用器具を含む院内施設を清潔にするために使用される。いくつかの実施形態では、この装置には、心電計、人工呼吸器、心血管補助デバイス、動脈内バルーンポンプ、輸液用器具、他の患者介護デバイス、テレビ、モニタ、リモコン、電話、ベッドなどが挙げられる。場合により、バクテリオファージは、エアロゾルキャニスタを介して適用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、輸送ビヒクルで物体上のファージを拭うことにより適用される。

【０２４１】

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載のバクテリオファージは、患者介護デバイスと合わせて使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、患者間の内外面を清潔にするために、従来のベンチレータまたは呼吸療法デバイスと合わせて使用される。ベンチレータの例には、手術中の通気を支援するデバイス、無能力状態患者の換気を支援するデバイス、および類似の装置が挙げられる。いくつかの実施形態では、既存の治療には、自動もしくは電動デバイス、または、救急処置室や救急車によく見られるものなどの手動バッグ型デバイスが挙げられる。いくつかの実施形態では、呼吸療法には、慢性閉塞性肺疾患または喘息に対しよく使用される気管支拡張剤などの薬剤を導入する吸入器、または持続気道陽圧デバイスなどの気道開通を維持するデバイスが挙げられる。

【０２４２】

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載のバクテリオファージは、表面を清潔にし、かつ、脳膜炎や腸管感染症などの高度に伝染性の細菌性疾患が存在する領域に集まる人々（ｃｏｌｏｎｉｚｅｄ　ｐｅｏｐｌｅ）を処置するために使用される。

【０２４３】

いくつかの実施形態では、水道が、本明細書中に開示される組成物により処理される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、汚染水や、水槽、井戸、貯水庫、汚水槽、水道管、水路、および同様の水分配デバイス中に見られる水を処理するために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、水、油、冷却液、および他の液体が収集プールに溜まる産業用貯蔵タンクに適用される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、細菌増殖を低下させるために産業用貯蔵タンクに定期的に導入される。

【０２４４】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、家、アパート、コンドミニアム、寄宿寮、またはあらゆる生活領域などの生活領域を衛生的にするために使用される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、劇場、コンサートホール、博物館、列車駅、空港、ペット用ベッドなどのペット領域、または汚物入れなどの公共区域を衛生的にするために使用される。この性能において、バクテリオファージは、ポンプスプレー、エアロゾル容器、噴出ボトル、ウェットタオル（ｐｒｅ－ｍｏｉｓｔｅｎｅｄ　ｔｏｗｅｌｅｔｔｅｓ）などを含む従来のデバイスから分配されて、衛生的にされる区域に直接適用（例えば、その上に噴霧）されるか、またはタオルやスポンジなどの運搬媒体を介して区域に運ばれる。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるファージは、キッチン、寝室、トイレ、ガレージ、地下室などを含む、家の様々な部屋に適用される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるファージは、従来のクリーナーと同様の形にある。いくつかの実施形態では、ファージは、従来のクリーナーは適切なバクテリオファージの生物活性を保存するように製剤化されることを前提に、従来のクリーナーと合わせて（その前に、その後に、またはそれと同時に）適用される。

【０２４５】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、紙製品の処理中または処理の完了後のいずれかで、紙製品の構成成分に添加される。本明細書中に開示されるバクテリオファージが添加される紙製品には、ペーパータオル、トイレットペーパー、ウェットティッシュ（ｍｏｉｓｔ　ｐａｐｅｒ　ｗｉｐｅｓ）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２４６】

食品安全性

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載のバクテリオファージは、汚染予防のためにあらゆる食品製品または栄養補助食品に使用される。食品または医薬品の例は、牛乳、ヨーグルト、凝乳、チーズ、発酵乳、牛乳を用いた発酵製品、アイスクリーム、発酵穀物を用いた製品、牛乳を用いた粉末、乳児用調製乳もしくはタブレット、液体懸濁液、乾燥経口栄養補助食品、湿式経口栄養補助食品、または乾燥経管栄養食品である。

【０２４７】

バクテリオファージ衛生の広範な概念は、他の農業用途および生物に適用可能である。果物および植物、乳製品、ならびに他の農産物を含む製品が挙げられる。例えば、フレッシュカット食品は、病原性細菌で汚染された加工工場に到達することが多い。これにより、農産物に起因する食品由来疾病の発生が生じている。いくつかの実施形態では、農産物へのバクテリオファージ調製物の適用により、食品由来疾病に関連する細菌種に対する特性を有する単一のファージまたはファージ混合物の適用を介して、食品由来疾病の可能性が大幅に低下または排除される。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、種々の生産および処理の段階で適用されることで、その時点で細菌汚染を減少させるか、またはその後の時点での汚染を防ぐ。

【０２４８】

いくつかの実施形態では、特異的なバクテリオファージが、レストラン、食料雑貨店、農産物流通センターの農産物に適用される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、サラダバーの果物および野菜の内容物に定期的または継続的に適用される。いくつかの実施形態では、サラダバーに対する、または食品の外部を衛生的にするためのバクテリオファージの適用は、ミスト化もしくはスプレーのプロセス、または洗浄プロセスである。

【０２４９】

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載のバクテリオファージは、肉、農産物、カットフルーツおよび野菜、ならびに他の食料品を含有する包装を伴うマトリックスまたは支持媒体に使用される。いくつかの実施形態では、包装に適したポリマーは、バクテリオファージ調製物を染み込ませられる。

【０２５０】

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載のバクテリオファージは、農家および畜産飼料に使用される。いくつかの実施形態では、家畜を飼育する飼育場で、家畜は、バクテリオファージを飲料水、食品、またはその両方に入れて提供される。いくつかの実施形態では、本明細書中に記載のバクテリオファージは、死骸へと噴霧され、かつ畜殺区域を殺菌するために使用される。

【０２５１】

農産物に対する生物防除剤としての特定のバクテリオファージの使用は、多くの利点をもたらす。例えば、バクテリオファージは、よく用いられる化学消毒剤が行うように天然のマイクロフローラの生態的均衡を妨害しないが標的とされた食品由来病原体を特異的に溶菌する、天然の非毒性生成物である。バクテリオファージは、化学消毒剤とは異なりそれらの宿主菌とともに発達する天然生成物であるので、活性薬剤である新たなファージが近年では出現し、必要時に耐性菌が速やかに特定されている一方で、新たな有効な消毒剤の特定は、さらに長期のプロセスであり、数年を要する。

【０２５２】

医薬組成物

本明細書中の特定の実施形態では、（ａ）本明細書中に開示される核酸配列と、（ｂ）薬学的に許容可能な賦形剤とを含む医薬組成物が開示される。また本明細書中の特定の実施形態では、（ａ）本明細書に開示されるバクテリオファージと、（ｂ）薬学的に許容可能な賦形剤とを含む医薬組成物も開示される。さらに本明細書中の特定の実施形態では、（ａ）本明細書に開示される組成物と、（ｂ）薬学的に許容可能な賦形剤とを含む医薬組成物が開示される。いくつかの実施形態では、薬学的に許容可能な賦形剤は、界面活性剤である。いくつかの実施形態では、薬学的に許容可能な賦形剤は、緩衝液である。

【０２５３】

いくつかの実施形態では、本開示は、細菌や古細菌の感染症を処置、または区域を殺菌するための医薬組成物、およびそれを投与する方法を提供する。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、薬学的に許容可能な担体中に上記で論じられた試薬のいずれかを含む。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示される医薬組成物または方法は、シュードモナス細菌感染症を処置する。いくつかの実施形態では、細菌感染症は、緑膿菌による血流

感染症である。いくつかの実施形態では、細菌感染症は、緑膿菌による呼吸器感染症である。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示される方法の医薬組成物は、嚢胞性線維症に付随する気管支拡張症を処置する。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示される医薬組成物または方法は、非嚢胞性線維症に付随する気管支拡張症を処置する。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示される方法の医薬組成物は、悪性外耳道炎、眼内炎、心内膜炎、脳膜炎、肺炎、または敗血症を処置する。

【０２５４】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示される組成物は、薬剤、医薬品、担体、アジュバント、分散剤、希釈剤などを含む。

【０２５５】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、好適な方法に従って医薬品担体に入れて投与するために製剤化される。いくつかの実施形態では、本開示による医薬組成物の製造で、バクテリオファージは、とりわけ許容可能な担体と混合される。いくつかの実施形態では、この担体は、固体（粉体を含む）もしくは液体、またはその両方であり、好ましくは単位投与組成物として製剤化される。いくつかの実施形態では、１つまたは複数のバクテリオファージが、本明細書中に開示される組成物に組み込まれて、あらゆる好適な薬局方法により調製される。

【０２５６】

いくつかの実施形態では、対象のｉｎ　ｖｉｖｏを処置する方法は、本明細書中に開示されるバクテリオファージを薬学的に許容可能な単体に入れて含む医薬組成物を対象に投与する工程を含み、医薬組成物は治療有効量で投与される。いくつかの実施形態では、投与を必要とするヒト対象または動物へのバクテリオファージの投与は、当該技術分野で公知のあらゆる手段により行われる。

【０２５７】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージを物体または対象の表面に投与するのに適した方法および組成物は、水溶液を含む。いくつかの実施形態では、このような水溶液は、物体または対象の表面に噴霧される。いくつかの実施形態では、水溶液は、対象の物理的創傷に注がれて、それを細菌を含む異物から守るために使用される。

【０２５８】

いくつかの実施形態では、経鼻投与またはその他の手段で対象の肺に投与するのに適した方法および組成物は、あらゆる好適な手段を含み、例えば、バクテリオファージ組成物を含む吸入可能粒子のエアロゾル懸濁液により投与されることで、対象が吸入を行う。いくつかの実施形態では、吸入可能粒子は、液体または固体である。本明細書中で使用されるとき、「エアロゾル」は、あらゆる気体由来の懸濁相を含むので、細気管支または鼻腔への吸入が可能である。いくつかの実施形態では、液体粒子のエアロゾルは、圧力式エアロゾルネブライザ、超音波ネブライザ、またはメッシュネブライザなどを用いるいずれかの好適な手段により産生される。いくつかの実施形態では、組成物を含む固形粒子のエアロゾルは、医薬品分野で公知の技法によりいずれかの固体粒子薬剤煙霧発生器を用いて産生される。

【０２５９】

ネブライザは、通常は水性基剤組成物である大量の液体を、さらに下の気道への吸入が可能である５ミクロン未満の空気動力学的中央粒子径（ＭＭＡＤ）の直径を有する液滴のミストまたは雲へと変換する、液体煙霧発生器である。大量の液体は、治療薬の粒子または治療薬の溶液と、あらゆる必要な賦形剤を含有する。エアロゾルが吸入されると、液滴により治療薬が鼻、上気道、または肺の深部へと運ばれる。

【０２６０】

空気式（噴出）ネブライザは、液体噴霧化のための推進力として加圧ガス供給を使用する。ノズルまたはジェットを介して圧縮ガスが送達されることで、周囲の大量の液体を同調させてそれを薄いフィルムまたはフィラメントへと剪断する低圧力場が作り出される。

フィルムまたはフィラメントは不安定であり、吸息への圧縮ガス流により運ばれる小さな液滴に分裂する。液滴プルーム（ｄｒｏｐｌｅｔ　ｐｌｕｍｅ）へと挿入される整流装置は、より大きな液滴をスクリーニングして、それらを大量の液体のリザーバに戻す。例として、ＰＡＲＩ　ＬＣ（登録商標）Ｐｌｕｓ（登録商標）、またはＳｐｒｉｎｔ（登録商標）ネブライザ、Ｄｅｖｉｌｂｉｓｓ　ＰｕｌｍｏＡｉｄｅ（登録商標）ネブライザ、およびＢｏｅｈｒｉｎｇｅｒ　ＩｎｇｅｌｈｅｉｍのＲｅｓｐｉｍａｔ（登録商標）吸入器が挙げられる。

【０２６１】

電気機械式ネブライザは、液体を霧状にするために電気により生成された機械力を使用する。電気機械の推進力は、大量の液体を超音波周波数で振動させることにより、または大量の液体を薄いフィルム中の小さな穴に送り込むことにより適用される。この力により、小さな液滴に分裂して、呼吸器流に流入可能である低速で移動するエアロゾル気流を形成する、薄い液体フィルムまたはフィラメントの気流が生成される。

【０２６２】

電気機械のネブライザの１つの形態は超音波ネブライザであり、超音波領域にある周波数で振動するバイブレータに大量の液体が結合されている。この結合は、液体を保持カップ中のプレートやリングなどのバイブレータに直接接触させること、または、大きな液滴を固形振動プロジェクタ上に配することにより達成される。振動により、縁部にて液滴へと分裂し液体を霧状にする円形自立フィルムが生成される。例として、ＤｕｒｏＭｉｓｔ（登録商標）ネブライザ、Ｄｒｉｖｅ　ＭｅｄｉｃａｌのＮｅｂ（登録商標）ネブライザ、Ｏｃｔｉｖｅ　ＴｅｃｈのＤｅｎｓｙｌｏｇｉｃ（登録商標）ネブライザ、およびＪｏｈｎ　Ｂｕｎｎ　Ｎａｎｏ－Ｓｏｎｉｃ（登録商標）ネブライザが挙げられる。電気機械式ネブライザの他の形態はメッシュネブライザであり、大量の液体が、直径２～８ミクロンの小さな穴を有するメッシュまたは膜に通されることで、小さな液滴へと速やかに分裂する薄いフィラメントが生成される。いくつかの設計では、液体は、ソレノイド・ピストン・ドライバ（ＡＥＲｘ（登録商標））で圧力をかけることにより、または、圧電的に振動したプレートとメッシュの間で液体を挟持することによりメッシュに送り込まれて、振動ポンプ作用（ＥＦｌｏｗ（登録商標）、ＡｅｒｏｖｅｃｔＲｘ、ＴｏｕｃｈＳｐｒａｙ（商標））をもたらす。別の設計の種類では、メッシュは液体の自立カラムを通って前後に振動することで、液体を穴に通す。例として、ＡｅｒｏＮｅｂ（登録商標）、ＡｅｒｏＮｅｂ　Ｇｏ（登録商標）、Ｐｒｏ（登録商標）、ＰＡＲＩ　ＥＦｌｏｗ（登録商標）、Ｏｍｒｏｎ　２２ＵＥ（登録商標）、およびＡｒａｄｉｇｍ　ＡＥＲｘ（登録商標）が挙げられる。

【０２６３】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、経口投与用である。いくつかの実施形態では、バクテリオファージは、カプセル、錠剤、および粉末などの固形投与形態、またはエリキシル、シロップ、および懸濁液などの液体投与形態で投与される。いくつかの実施形態では、頬側（舌下）投与に適した組成物および方法は、風味をつけた基剤、通常はスクロースおよびアカシアまたはトラガカント中にバクテリオファージを含むロゼンジ、ならびに、ゼラチンおよびグリセリン、またはスクロースおよびアカシアなどの不活性基剤中にバクテリオファージを含む香錠とを含む。

【０２６４】

いくつかの実施形態では、本開示の方法および組成物は、バクテリオファージの注射用滅菌水溶液および非水溶液を含む非経口投与に適している。いくつかの実施形態では、これらの調製物は、意図したレシピエントの血液に対し等張である。いくつかの実施形態では、これらの調製物は、組成物を意図したレシピエントの血液と等張にする抗酸化剤、緩衝液、静菌剤（ｂａｃｔｅｒｉｏｓｔａｌｓ）、および溶質を含む。いくつかの実施形態では、水性および非水性の滅菌懸濁液は、懸濁化剤および増粘剤を含む。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示される組成物は、単回投与用また複数回投与用の容器、例えば密封したアンプルやバイアルに入れて提供されるとともに、使用の直前に、滅菌液体担

体、例えば注射用の生理食塩水または水の添加のみを必要とする冷凍乾燥（凍結乾燥）条件で保存される。

【０２６５】

いくつかの実施形態では、直腸投与に適した方法および組成物は、単位投与坐薬として提供される。いくつかの実施形態では、これらは、バクテリオファージを１つまたは複数の従来の固形担体、例えばカカオバターと混合し、次いで得られた混合物を成形することにより調製される。いくつかの実施形態では、皮膚への局所塗布に適した方法および組成物は、軟膏、クリーム、ローション剤、ペースト、ゲル、スプレー、エアロゾル、またはオイルの形態にある。いくつかの実施形態では、使用される担体には、ワセリン、ラノリン、ポリエチレングリコール類、アルコール類、経皮浸透促進剤、およびそれら２つ以上の組合せが挙げられる。

【０２６６】

いくつかの実施形態では、経皮投与に適した方法および組成物は、長期間にわたりレシピエントの表皮との密接に接触して留まるのに適した別個の貼付剤として提供される。

【０２６７】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示されるバクテリオファージは、治療有効量で対象に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示される少なくとも１つのバクテリオファージ組成物は、医薬製剤として製剤化される。いくつかの実施形態では、医薬製剤は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、またはそれより多くの本明細書中に開示されるバクテリオファージを含む。いくつかの例では、医薬製剤は、本明細書中に記載のバクテリオファージ、および賦形剤、希釈剤、または担体のうち少なくとも１つを含む。

【０２６８】

いくつかの実施形態では、医薬製剤は賦形剤を含む。賦形剤は、「ｔｈｅ　Ｈａｎｄｂｏｏｋ　ｏｆ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｅｘｃｉｐｉｅｎｔｓ，Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ（１９８６）」に記載されており、溶媒、分散媒、希釈剤、または他の液体ビヒクル、分散または懸濁液補助物質、界面活性剤、等張剤、増粘安定剤または乳化剤、防腐剤、固形結合剤、および潤滑剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２６９】

好適な賦形剤の非限定的な例には、緩衝化剤、防腐剤、安定剤、結合剤、圧縮剤、潤滑剤、キレート化剤、分散促進剤、崩壊剤、香料、甘味料、着色料が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２７０】

いくつかの実施形態では、賦形剤は緩衝化剤である。好適な緩衝化剤の非限定的な例には、クエン酸ナトリウム、炭酸マグネシウム、重炭酸マグネシウム、炭酸カルシウム、および炭酸水素カルシウムが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、医薬製剤は、列記されたいずれか１つまたは複数の緩衝化剤を含む：重炭酸ナトリウム、重炭酸カリウム、水酸化マグネシウム、乳酸マグネシウム、グルコン酸マグネシウム（ｍａｇｎｅｓｉｕｍ　ｇｌｕｃｏｍａｔｅ）、水酸化アルミニウム、クエン酸ナトリウム、酒石酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、ポリリン酸ナトリウム、ポリリン酸カリウム、ピロリン酸ナトリウム、ピロリン酸カリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素二カリウム、リン酸三ナトリウム、リン酸三カリウム、メタリン酸カリウム、酸化マグネシウム、水酸化マグネシウム、炭酸マグネシウム、ケイ酸マグネシウム、酢酸カルシウム、グリセロリン酸カルシウム、塩化カリウム、水酸化カルシウム、および他のカルシウム塩。

【０２７１】

いくつかの実施形態では、賦形剤は防腐剤である。好適な防腐剤の非限定的な例には、αトコフェロールおよびアスコルベート、ならびにパラベン、クロロブタノール、およびフェノールなどの抗菌剤が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態で

は、抗酸化剤には、エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）、クエン酸、アスコルビン酸、ブチルヒドロキシトルエン（ＢＨＴ）、ブチルヒドロキシアニソール（ＢＨＡ）、亜硫酸ナトリウム、ｐ－アミノ安息香酸、グルタチオン、没食子酸プロピル、システイン、メチオニン、エタノール、およびＮ－アセチルシステインが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、防腐剤には、バリダマイシンＡ、ＴＬ－３、オルトバナジン酸ナトリウム、フッ化ナトリウム、Ｎ－ａ－トシル－Ｐｈｅ－クロロメチルケトン、Ｎ－ａ－トシル－Ｌｙｓ－クロロメチルケトン、アプロチニン、フッ化フェニルメチルスルホニル、ジイソプロピルフルオロホスフェート、プロテアーゼ阻害剤、還元剤、アルキル化剤、抗微生物薬、オキシダーゼ阻害剤、または他の阻害剤が挙げられる。

【０２７２】

いくつかの実施形態では、医薬製剤は賦形剤として結合剤を含む。好適な結合剤の非限定的な例には、デンプン、α化デンプン、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、セルロース、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、ポリアクリルアミド、ポリビニルオキソアゾリドン、ポリビニルアルコール、Ｃ$_{12}$－Ｃ$_{18}$脂肪酸アルコール、ポリエチレングリコール、ポリオール、サッカライド、オリゴサッカライド、およびそれらの組合せが挙げられる。

【０２７３】

いくつかの実施形態では、医薬製剤に使用される結合剤は、ジャガイモデンプン、トウモロコシデンプン、コムギデンプンなどのデンプン；スクロース、グルコース、デキストロース、ラクトース、およびマルトデキストリンなどの糖類；天然および合成のガム；ゼラチン；微結晶性セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロースなどのセルロース誘導体；ポリビニルピロリドン（ポビドン）；ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）；ワックス；炭酸カルシウム；リン酸カルシウム；ソルビトール、キシリトール、マンニトール、および水などのアルコール類、またはそれらの組合せから選択され得る。

【０２７４】

いくつかの実施形態では、医薬製剤は、賦形剤として潤滑剤を含む。好適な潤滑剤の非限定的な例は、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸亜鉛、水添植物油、ｓｔｅｒｏｔｅｘ、ポリオキシエチレンモノステアレート、タルク、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウム、および軽ミネラルオイルが挙げられる。いくつかの実施形態では、医薬製剤中の潤滑剤は、ステアリン酸金属塩（ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸アルミニウムなど）、脂肪酸エステル（フマル酸ステアリルナトリウムなど）、脂肪酸（ステアリン酸など）、脂肪族アルコール、ベヘン酸グリセリル、ミネラルオイル、パラフィン、水添植物油、ロイシン、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ラウリル硫酸金属塩（ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウムなど）、塩化ナトリウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、およびタルク、またはそれらの組合せから選択される。

【０２７５】

いくつかの実施形態では、賦形剤は香料を含む。いくつかの実施形態では、香料には、天然オイル；植物、葉、花、および果物からの抽出物；およびそれらの組合せが挙げられる。

【０２７６】

いくつかの実施形態では、賦形剤は甘味料を含む。好適な甘味料の非限定的な例には、（担体として使用されないとき）グルコース（コーンシロップ）、デキストロース、転化糖、フルクトース、およびそれらの混合物；サッカリンおよびその種々の塩、例えばナトリウム塩；アスパルテームなどのジペプチド甘味料；ジヒドロカルコン化合物、グリチルリチン；Ｓｔｅｖｉａ　Ｒｅｂａｕｄｉａｎａ（ステビオシド）；スクラロースなどのスクロースのクロロ誘導体；ならびにソルビトール、マンニトール、キシリトール（ｓｙｌ

ｉｔｏｌ）などの糖アルコール類が挙げられる。

【０２７７】

いくつかの例では、医薬製剤は着色料を含む。好適な着色料の非限定的な例には、食物・薬物・化粧品着色料（ＦＤ＆Ｃ）、薬物・化粧品着色料（Ｄ＆Ｃ）、および外用薬・化粧品着色料（Ｅｘｔ．Ｄ＆Ｃ）が挙げられる。

【０２７８】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示される医薬製剤は、キレート化剤を含む。いくつかの実施形態では、キレート化剤には、エチレンジアミン－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－４酢酸（ＥＤＴＡ）；ＥＤＴＡのニナトリウム、三ナトリウム、四ナトリウム、ニカリウム、三カリウム、ニリチウム、およびニアンモニウム塩；ＥＤＴＡのバリウム、カルシウム、コバルト、銅、ジスプロシウム、ユウロピウム、鉄、インジウム、ランタン、マグネシウム、マンガン、ニッケル、サマリウム、ストロンチウム、または亜鉛キレートが挙げられる。

【０２７９】

いくつかの例では、医薬製剤は希釈剤を含む。希釈剤の非限定的な例には、水、グリセロール、メタノール、エタノール、および他の同様の生体適合性希釈剤が挙げられる。いくつかの実施形態では、希釈剤は、酢酸、クエン酸、マレイン酸、塩酸、リン酸、硝酸、硫酸、または同様のものなどの水性の酸である。

【０２８０】

いくつかの実施形態では、医薬製剤は界面活性剤を含む。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、限定されないが、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル（ポリソルベート）、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリルフマル酸ナトリウム、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ソルビタン脂肪酸エステル、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ポリオキシエチレンヒマシ油誘導体、ドクセートナトリウム、第四級アンモニウム化合物、Ｌ－ロイシンなどのアミノ酸、脂肪酸の糖エステル、脂肪酸のグリセリド、またはそれらの組合せから選択される。

【０２８１】

いくつかの例では、医薬製剤は、追加の薬剤を含む。いくつかの実施形態では、追加の薬剤は、抗生物質製剤である。いくつかの実施形態では、抗生物質製剤は、アミノグリコシド、アンサマイシン、カルバセフェム、カルバペネム、セファロスポリン（第１、第２、第３、第４、および第５世代のセファロスポリンを含む）、リンコサミド、マクロライド、モノバクタム、ニトロフラン、キノロン、ペニシリン、スルホンアミド、ポリペプチド、またはテトラサイクリンからなる群のものである。

【０２８２】

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の抗生物質製剤は、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネオマイシン、ネチルマイシン、トブラマイシン、またはパロモマイシンなどのアミノグリコシドである。いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の抗生物質製剤は、ゲルダナマイシンまたはハービマイシンなどのアンサマイシンである。

【０２８３】

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の抗生物質製剤は、ロラカルベフなどのカルバセフェムである。いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の抗生物質製剤は、エルタペネム、ドリペネム、イミペネム／クリアスタチン、またはメロペネムなどのカルバペネムである。

【０２８４】

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の抗生物質製剤は、セファドロキシル、セファゾリン、セファレキシン、セファロチンもしくはセファロチンなどのセファロスポリン（第１世代）、または代替的に、セファクロル、セファマンドール、セフォキシチン、セフプロジル、もしくはセフロキシムなどのセファロスポリン（第２世代）である。いくつかの実施形態では、抗生物質製剤は、セフィキシム、セフジニル、セフジトレン、セフォペラゾン、セフォタキシム、セフポドキシム、セフチブテン、セフチゾキシム、および

セフトリアキソンなどのセファロスポリン（第３世代）、またはセフェピムもしくはセフトビプロールなどのセファロスポリン（第４世代）である。

【０２８５】

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の抗生物質製剤は、クリンダマイシンおよびアジスロマイシンなどのリンコサミド、または、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、ロキシスロマイシン、トロレアンドマイシン、テリスロマイシン、およびスペクチノマイシンなどのマクロライドである。

【０２８６】

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の抗生物質製剤は、アズトレオナムなどのモノバクタム、またはフラゾリドンもしくはニトロフラントインなどのニトロフランである。

【０２８７】

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の抗生物質製剤は、アモキシシリン、アンピシリン、アズロシリン、カルベニシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、フルクロキサシリン、メズロシリン、ナフシリン、オキサシリン、ペニシリンＧもしくはＶ、ピペラシリン、テモシリン、およびチカルシリンなどのペニシリンである。

【０２８８】

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の抗生物質製剤は、マフェナイド、スルホンアミドクリソイジン、スルファセタミド、スルファダイアジン、スルファダイアジン銀、スルファメチゾール、スルファメトキサゾール、スルファニリミド、スルファサラジン、スルフイソキサゾール、トリメトプリム、またはトリメトプリム－スルファメトキサゾール（Ｃｏ－トリモキサゾール）（ＴＭＰ－ＳＭＸ）などのスルホンアミドである。

【０２８９】

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の抗生物質製剤は、シプロフロキサシン、エノキサシン、ガチフロキサシン、レボフロキサシン、レメフロキサシン、モキシフロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、オフロキサシン、トロバフロキサシン、グレパフロキサシン、スパルフロキサシン、およびテマフロキサシンなどのキノロンである。

【０２９０】

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の抗生物質製剤は、バシトラシン、コリスチン、またはポリミキシンＢなどのポリペプチドである。

【０２９１】

いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の抗生物質製剤は、デメクロサイクリン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、またはオキシテトラサイクリンなどのテトラサイクリンである。

【０２９２】

列挙型の実施形態：

１．（ａ）シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むＣＲＩＳＰＲアレイと、

（ｂ）カスケードポリペプチドと、

（ｃ）Ｃａｓ３ポリペプチドと

を含むＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージ。

２．　１つまたは複数のスペーサ配列が、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む、実施形態１に記載のバクテリオファージ。

３．　ＣＲＩＳＰＲアレイが少なくとも１つの反復配列をさらに含む、実施形態１から２のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。

４．　少なくとも１つの反復配列が、その５’末端または３’末端のいずれかにおいて１つまたは複数のスペーサ配列に操作可能に連結される、実施形態３に記載のバクテリオファージ。

５．　反復配列が、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む、実施形態３から４のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
６．　ＣＲＩＳＰＲアレイが、図１Ａ～図１Ｅに明記される配列、または配列番号８３～８７に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む、実施形態１から５のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
７．　標的ヌクレオチド配列がコーディング配列を含む、実施形態１から６のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
８．　標的ヌクレオチド配列が非コーディング配列または遺伝子間配列を含む、実施形態１から６のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
９．　標的ヌクレオチド配列は、プロモータ配列のすべてまたは一部を含む、実施形態１から６のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１０．　プロモータ配列が、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む、実施形態９に記載のバクテリオファージ。
１１．　標的ヌクレオチド配列が、必須遺伝子の転写された領域のコーディング鎖に位置するヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含む、実施形態１に記載のバクテリオファージ。
１２．　必須遺伝子が、Ｔｓｆ、ａｃｐＰ、ｇａｐＡ、ｉｎｆＡ、ｓｅｃＹ、ｃｓｒＡ、ｔｒｍＤ、ｆｔｓＡ、ｆｕｓＡ、ｇｌｙＱ、ｅｎｏ、ｎｕｓＧ、ｄｎａＡ、ｄｎａＳ、ｐｈｅＳ、ｒｐｌＢ、ｇｌｔＸ、ｈｉｓＳ、ｒｐｌＣ、ａｓｐＳ、ｇｙｒＢ、ｇｌｎＳ、ｄｎａＥ、ｒｐｏＡ、ｒｐｏＢ、ｐｈｅＴ、ｉｎｆＢ、ｒｐｓＣ、ｒｐｌＦ、ａｌａＳ、ｌｅｕＳ、ｓｅｒＳ、ｒｐｌＤ、ｇｙｒＡ、ｇｌｍＳ、ｆｕｓ、ａｄｋ、ｒｐｓＫ、ｒｐｌＲ、ｃｔｒＡ、ｐａｒＣ、ｔＲＮＡ－Ｓｅｒ、ｔＲＮＡ－Ａｓｎ、またはｍｅｔＫである、実施形態１１に記載のバクテリオファージ。
１３．　カスケードポリペプチドが、Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、またはＩ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系のカスケード複合体を形成する、実施形態１から１２のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１４．　カスケード複合体が、
（ｉ）Ｃａｓ５ｄポリペプチド、Ｃａｓ８ｃポリペプチド、およびＣａｓ７ポリペプチド（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｉｉ）Ｃａｓ６ｂポリペプチド、Ｃａｓ８ｂポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、およびＣａｓ５ポリペプチド（Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｉｉｉ）Ｃａｓ３が、ヌクレアーゼ活性を有していないＣａｓ３’ポリペプチドおよびＣａｓ３”ポリペプチドを含む、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ８ａ１ポリペプチドもしくはＣａｓ８ａ２ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、Ｃｓａ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ａポリペプチド（Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｉｖ）Ｃａｓ１０ｄポリペプチド、Ｃｓｃ２ポリペプチド、Ｃｓｃ１ポリペプチド、Ｃａｓ６ｄポリペプチド（Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｖ）Ｃｓｅ１ポリペプチド、Ｃｓｅ２ポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ｅポリペプチド（Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、または
（ｖｉ）Ｃｓｙ１ポリペプチド、Ｃｓｙ２ポリペプチド、Ｃｓｙ３ポリペプチド、およびＣｓｙ４ポリペプチド（Ｉ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）
を含む、実施形態１３に記載のバクテリオファージ。
１５．　カスケード複合体が、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７（任意選択で配列番号８２）ポリペプチド（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む、実施形態１３に記載のバクテリオファージ。
１６．　核酸配列がプロモータ配列をさらに含む、実施形態１から１５のいずれか１つ

に記載のバクテリオファージ。
１７．バクテリオファージが偏性溶菌性バクテリオファージである、実施形態１から１６のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１８．溶菌性を与えられた溶原性バクテリオファージである、実施形態１から１６のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１９．溶原性バクテリオファージは、溶原性遺伝子の除去、交換、または不活性化により溶菌性を与えられる、実施形態１８に記載のバクテリオファージ。
２０．シュードモナス種が、バクテリオファージの溶菌作用によってのみ死滅させられる、実施形態１７から１９のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
２１．シュードモナス種が、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性によってのみ死滅させられる、実施形態１から１８のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
２２．シュードモナス種が、バクテリオファージの溶菌活性とＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性との組合せにより死滅させられる、実施形態１７から１９のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
２３．シュードモナス種が、バクテリオファージの溶菌活性とは無関係に、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性により死滅させられる、実施形態２２に記載のバクテリオファージ。
２４．ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性が、バクテリオファージの溶菌活性を補充するかまたは増強する、実施形態２２に記載のバクテリオファージ。
２５．バクテリオファージの溶菌活性および／またはＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性が相乗的である、実施形態２２に記載のバクテリオファージ。
２６．バクテリオファージの溶菌活性、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性、またはその両方が、バクテリオファージの濃度により調節される、実施形態１７から２５のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
２７．シュードモナス種の複数のバクテリア菌株を感染させる、実施形態１から２６のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
２８．ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス、Ｓａｍｕｎａウイルス、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス、Ａｂｉｄｊａｎウイルス、Ｂａｉｋａｌウイルス、Ｂｅｅｔｒｅウイルス、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス、Ｃｉｔｅｘウイルス、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス、Ｅｌウイルス、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス、Ｌｉｔｕｎａウイルス、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス、Ｎｉｐｕｎａウイルス、Ｐａｋｐｕｎａウイルス、Ｐａｍｅｘウイルス、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス、Ｐｈｉｔｒｅウイルス、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス、Ｙｕａウイルス、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルス、またはＰｂｕｎａウイルスを含む、実施形態１から２７のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
２９．ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、もしくはＰＢ１から選択されるファージ、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８０％の配列同一性を含む、実施形態２８に記載のバクテリオファージ。
３０．ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１１０６ｗｔ、ｐ１１９４ｗｔ、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１５８７ｗｔ、ｐ１６９５ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１８３５ｗｔ、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２０３７ｗｔ、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３１ｗｔ、ｐ２１３２ｅ００２、ｐ２１３２ｗｔ、ｐ２１６７ｗｔ、ｐ２３６３ｅ００３、ｐ２３６３ｗｔ、ｐ２４２１ｅ００２、ｐ２４２１ｗｔ、ｐ２９７３ｅ００２、ｐ２９７３ｗｔ、ｐ３２７８ｗｔ、ｐ４４３０ｗｔ、ＰＢ１ｅ００２、もしくはＰＢ１ｗｔ、またはそれらの２つ以上のファージを含む、実施形態２９に記載のバクテリオファージ。
３１．核酸配列が、非必須バクテリオファージ遺伝子へと挿入される、実施形態１か

ら３０のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
３２．（ａ）実施形態１から３１のいずれか１つに記載のバクテリオファージと、
（ｂ）薬学的に許容可能な賦形剤と
を含む医薬組成物。
３３．少なくとも２つのバクテリオファージを含む、実施形態３２に記載の医薬組成物。
３４．バクテリオファージが、ＰｈｉＫＺウイルス、ＰｈｉＫＭＶウイルス、Ｂｒｕｎｙｏｇｈｅウイルス、Ｓａｍｕｎａウイルス、Ｎａｎｋｏｋｕウイルス、Ａｂｉｄｊａｎウイルス、Ｂａｉｋａｌウイルス、Ｂｅｅｔｒｅウイルス、Ｃａｓａｄａｂａｎウイルス、Ｃｉｔｅｘウイルス、シストウイルス、Ｄｅｔｒｅウイルス、Ｅｌウイルス、Ｈｏｌｌｏｗａｙウイルス、Ｋｏｃｈｉｔａｋａｓｕウイルス、Ｌｉｔｕｎａウイルス、Ｌｕｚｓｅｐｔｉｍａウイルス、Ｎｉｐｕｎａウイルス、Ｐａｋｐｕｎａウイルス、Ｐａｍｅｘウイルス、Ｐａｕｎｄｅｃｉｍウイルス、Ｐｈｉｔｒｅウイルス、Ｐｒｉｍｏｌｉｃｉウイルス、Ｓｅｐｔｉｍａｔｒｅウイルス、Ｓｔｕｂｂｕｒウイルス、Ｔｅｒｔｉｌｉｃｉウイルス、Ｙｕａウイルス、Ｚｉｃｏｔｒｉａウイルス、およびＰｂｕｎａウイルスからなる系統由来のものである、実施形態３３に記載の医薬組成物。
３５．少なくとも６つのバクテリオファージを含んでおり、当該バクテリオファージが、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５を含む、実施形態３３に記載の医薬組成物。
３６．錠剤、カプセル、液体、シロップ、経口製剤、静脈内製剤、鼻腔内製剤、眼製剤、耳製剤、皮下製剤、局所製剤、経皮製剤、経粘膜製剤、吸入可能な呼吸器製剤、坐薬、凍結乾燥製剤、噴霧化可能な製剤、およびそれらのあらゆる組合せの形態にある、実施形態３２から３５のいずれか１つに記載の医薬組成物。
３７．シュードモナス種を死滅させる方法であって、バクテリオファージからＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を、標的細菌へと導入する工程を含んでおり、核酸配列は、
（ａ）シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むＣＲＩＳＰＲアレイと、
（ｂ）カスケードポリペプチドと、
（ｃ）Ｃａｓ３ポリペプチドと
を含む、方法。
３８．１つまたは複数のスペーサ配列が、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む、実施形態３７に記載の方法。
３９．ＣＲＩＳＰＲアレイが少なくとも１つの反復配列をさらに含む、実施形態３７から３８のいずれか１つに記載の方法。
４０．少なくとも１つの反復配列が、その５’末端または３’末端のいずれかにおいて１つまたは複数のスペーサ配列に操作可能に連結される、実施形態３９に記載の方法。
４１．反復配列が、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む、実施形態３９から４０のいずれか１つに記載の方法。
４２．ＣＲＩＳＰＲアレイが、図１Ａ～図１Ｅに明記される配列、または配列番号８３～８７に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む、実施形態３７から４１のいずれか１つに記載の方法。
４３．標的ヌクレオチド配列がコーディング配列を含む、実施形態３７から４２のいずれか１つに記載の方法。
４４．標的ヌクレオチド配列が非コーディング配列または遺伝子間配列を含む、実施形態３７から４２のいずれか１つに記載の方法。
４５．標的ヌクレオチド配列が、プロモータ配列のすべてまたは一部を含む、実施形態３７から４２のいずれか１つに記載の方法。

４６．　プロモータ配列が、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む、実施形態４５に記載の方法。

４７．　標的ヌクレオチド配列が、必須遺伝子の転写された領域のコーディング鎖に位置するヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含む、実施形態３７から４３のいずれか１つに記載の方法。

４８．　必須遺伝子が、ＴｓｆＩ、ａｃｐＰ、ｇａｐＡ、ｉｎｆＡ、ｓｅｃＹ、ｃｓｒＡ、ｔｒｍＤ、ｆｔｓＡ、ｆｕｓＡ、ｇｌｙＱ、ｅｎｏ、ｎｕｓＧ、ｄｎａＡ、ｄｎａＳ、ｐｈｅＳ、ｒｐｌＢ、ｇｌｔＸ、ｈｉｓＳ、ｒｐｌＣ、ａｓｐＳ、ｇｙｒＢ、ｇｌｎＳ、ｄｎａＥ、ｒｐｏＡ、ｒｐｏＢ、ｐｈｅＴ、ｉｎｆＢ、ｒｐｓＣ、ｒｐｌＦ、ａｌａＳ、ｌｅｕＳ、ｓｅｒＳ、ｒｐｌＤ、ｇｙｒＡ、ｇｌｍＳ、ｆｕｓ、ａｄｋ、ｒｐｓＫ、ｒｐｌＲ、ｃｔｒＡ、ｐａｒＣ、ｔＲＮＡ－Ｓｅｒ、ｔＲＮＡ－Ａｓｎ、またはｍｅｔＫである、実施形態４７に記載の方法。

４９．　カスケードポリペプチドが、Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、またはＩ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系のカスケード複合体を形成する、実施形態３７から４８のいずれか１つに記載の方法。

５０．　カスケード複合体が、

（ｉ）Ｃａｓ３が、ヌクレアーゼ活性を有していないＣａｓ３’ポリペプチドおよびＣａｓ３”ポリペプチドを含む、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ８ａ１ポリペプチドもしくはＣａｓ８ａ２ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、Ｃｓａ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ａポリペプチド（Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、

（ｉｉ）Ｃａｓ６ｂポリペプチド、Ｃａｓ８ｂポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、およびＣａｓ５ポリペプチド（Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、

（ｉｉｉ）Ｃａｓ５ｄポリペプチド、Ｃａｓ８ｃポリペプチド、およびＣａｓ７ポリペプチド（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、

（ｉｖ）Ｃａｓ１０ｄポリペプチド、Ｃｓｃ２ポリペプチド、Ｃｓｃ１ポリペプチド、Ｃａｓ６ｄポリペプチド（Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、

（ｖ）Ｃｓｅ１ポリペプチド、Ｃｓｅ２ポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ｅポリペプチド（Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、または

（ｖｉ）Ｃｓｙ１ポリペプチド、Ｃｓｙ２ポリペプチド、Ｃｓｙ３ポリペプチド、およびＣｓｙ４ポリペプチド（Ｉ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）

を含む、実施形態４９に記載の方法。

５１．　カスケード複合体が、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７ポリペプチド（任意選択で配列番号８２）（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む、実施形態４９に記載の方法。

５２．　核酸配列がプロモータ配列をさらに含む、実施形態３７から５１のいずれか１つに記載の方法。

５３．　バクテリオファージが偏性溶菌性バクテリオファージである、実施形態３７から５２のいずれか１つに記載の方法。

５４．　バクテリオファージが溶菌性を与えられる、実施形態３７から５２のいずれか１つに記載の方法。

５５．　溶原性バクテリオファージが、溶原性遺伝子の除去、交換、または不活性化により溶菌性を与えられる、実施形態５４に記載の方法。

５６．　シュードモナス種が、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性によってのみ死滅させられる、実施形態３７から５５のいずれか１つに記載の方法。

５７．　シュードモナス種が、バクテリオファージの溶菌活性とＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性との組合せにより死滅させられる、実施形態５３から５５のいずれか１つに記載の方法。

５８．　シュードモナス種が、バクテリオファージの溶菌活性とは無関係に、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性により死滅させられる、実施形態５７に記載の方法。
５９．　ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性が、バクテリオファージの溶菌活性を補充するかまたは増強する、実施形態５７に記載の方法。
６０．　バクテリオファージの溶菌活性および／またはＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性が相乗的である、実施形態５７に記載の方法。
６１．　バクテリオファージの溶菌活性、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性、またはその両方が、バクテリオファージの濃度により調節される、実施形態５３から６０のいずれか１つに記載の方法。
６２．　バクテリオファージが、シュードモナス種の複数のバクテリア菌株を感染させる、実施形態３７から６１のいずれか１つに記載の方法。
６３．　バクテリオファージが、ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、もしくはＰＢ１、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８０％の同一性を含む、実施形態３７から６２のいずれか１つに記載の方法。
６４．　バクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１１０６ｗｔ、ｐ１１９４ｗｔ、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１５８７ｗｔ、ｐ１６９５ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１８３５ｗｔ、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２０３７ｗｔ、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３１ｗｔ、ｐ２１３２ｅ００２、ｐ２１３２ｗｔ、ｐ２１６７ｗｔ、ｐ２３６３ｅ００３、ｐ２３６３ｗｔ、ｐ２４２１ｅ００２、ｐ２４２１ｗｔ、ｐ２９７３ｅ００２、ｐ２９７３ｗｔ、ｐ３２７８ｗｔ、ｐ４４３０ｗｔ、ＰＢ１ｅ００２、もしくはＰＢ１ｗｔ、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８０％の同一性を含む、実施形態６３に記載の方法。
６５．　核酸配列が、非必須バクテリオファージ遺伝子の代わりに、またはそれに隣接して挿入される、実施形態３７から６４のいずれか１つに記載の方法。
６６．　細菌細胞の混合集団がシュードモナス種を含む、実施形態３７から６５のいずれか１つに記載の方法。
６７．　少なくとも１つの追加のバクテリオファージを投与する工程をさらに含む、実施形態３７から６６のいずれか１つに記載の方法。
６８．　少なくとも６つのバクテリオファージを投与する工程を含み、当該バクテリオファージが、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５を含む、実施形態６７に記載の方法。
６９．　疾患または疾病の処置を必要とする個体の疾患または疾病を処置する方法であって、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージを個体に投与する工程を含んでおり、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、
（ａ）ＣＲＩＳＰＲアレイと、
（ｂ）シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むカスケードポリペプチドと、
（ｃ）Ｃａｓ３ポリペプチドと
を含んでいる、方法。
７０．　１つまたは複数のスペーサ配列が、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む、実施形態６９に記載の方法。
７１．　ＣＲＩＳＰＲアレイが少なくとも１つの反復配列をさらに含む、実施形態６９から７０のいずれか１つに記載の方法。
７２．　少なくとも１つの反復配列が、その５’末端または３’末端のいずれかにおいて１つまたは複数のスペーサ配列に操作可能に連結される、実施形態７１に記載の方法。
７３．　反復配列が、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％

の配列同一性を含む、実施形態７１から７２のいずれか１つに記載の方法。
７４．ＣＲＩＳＰＲアレイが、図１Ａ～図１Ｅに明記される配列、または配列番号８３～８７に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む、実施形態６９から７３のいずれか１つに記載の方法。
７５．標的ヌクレオチド配列がコーディング配列を含む、実施形態６９から７４のいずれか１つに記載の方法。
７６．標的ヌクレオチド配列が非コーディング配列または遺伝子間配列を含む、実施形態６９から７４のいずれか１つに記載の方法。
７７．標的核酸配列が、プロモータ配列のすべてまたは一部を含む、実施形態６９から７４のいずれか１つに記載の方法。
７８．プロモータ配列が、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む、実施形態７７に記載の方法。
７９．標的ヌクレオチド配列が、必須遺伝子の転写された領域のコーディング鎖に位置するヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含む、実施形態６９から７４のいずれか１つに記載の方法。
８０．必須遺伝子が、Ｔｓｆ、ａｃｐＰ、ｇａｐＡ、ｉｎｆＡ、ｓｅｃＹ、ｃｓｒＡ、ｔｒｍＤ、ｆｔｓＡ、ｆｕｓＡ、ｇｌｙＱ、ｅｎｏ、ｎｕｓＧ、ｄｎａＡ、ｄｎａＳ、ｐｈｅＳ、ｒｐｌＢ、ｇｌｔＸ、ｈｉｓＳ、ｒｐｌＣ、ａｓｐＳ、ｇｙｒＢ、ｇｌｎＳ、ｄｎａＥ、ｒｐｏＡ、ｒｐｏＢ、ｐｈｅＴ、ｉｎｆＢ、ｒｐｓＣ、ｒｐｌＦ、ａｌａＳ、ｌｅｕＳ、ｓｅｒＳ、ｒｐｌＤ、ｇｙｒＡ、ｇｌｍＳ、ｆｕｓ、ａｄｋ、ｒｐｓＫ、ｒｐｌＲ、ｃｔｒＡ、ｐａｒＣ、ｔＲＮＡ－Ｓｅｒ、ｔＲＮＡ－Ａｓｎ、またはｍｅｔＫである、実施形態７９に記載の方法。
８１．カスケードポリペプチドが、Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系、またはＩ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系のカスケード複合体を形成する、実施形態６９から８０のいずれか１つに記載の方法。
８２．カスケード複合体が、
（ｉ）Ｃａｓ５ｄポリペプチド、Ｃａｓ８ｃポリペプチド、およびＣａｓ７ポリペプチド（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｉｉ）Ｃａｓ６ｂポリペプチド、Ｃａｓ８ｂポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、およびＣａｓ５ポリペプチド（Ｉ－Ｂ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｉｉｉ）Ｃａｓ３が、ヌクレアーゼ活性を有していないＣａｓ３’ポリペプチドおよびＣａｓ３”ポリペプチドを含む、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ８ａ１ポリペプチドもしくはＣａｓ８ａ２ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、Ｃｓａ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ａポリペプチド（Ｉ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｉｖ）Ｃａｓ１０ｄポリペプチド、Ｃｓｃ２ポリペプチド、Ｃｓｃ１ポリペプチド、Ｃａｓ６ｄポリペプチド（Ｉ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、
（ｖ）Ｃｓｅ１ポリペプチド、Ｃｓｅ２ポリペプチド、Ｃａｓ７ポリペプチド、Ｃａｓ５ポリペプチド、およびＣａｓ６ｅポリペプチド（Ｉ－Ｅ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）、または
（ｖｉ）Ｃｓｙ１ポリペプチド、Ｃｓｙ２ポリペプチド、Ｃｓｙ３ポリペプチド、およびＣｓｙ４ポリペプチド（Ｉ－Ｆ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）
を含む、実施形態８１に記載の方法。
８３．カスケード複合体が、Ｃａｓ５ｄポリペプチド（任意選択で配列番号８０）、Ｃａｓ８ｃポリペプチド（任意選択で配列番号８１）、およびＣａｓ７ポリペプチド（任意選択で配列番号８２）（Ｉ－Ｃ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系）を含む、実施形態８２に記載の方法。
８４．核酸配列がプロモータ配列をさらに含む、実施形態６９から８３のいずれか１つに記載の方法。
８５．バクテリオファージが偏性溶菌性バクテリオファージである、実施形態６９か

ら８４のいずれか１つに記載の方法。
８６．　バクテリオファージが溶菌性を与えられる、実施形態６９から８４のいずれか１つに記載の方法。
８７．　溶原性バクテリオファージが、溶原性遺伝子の除去、交換、または不活性化により溶菌性を与えられる、実施形態８６に記載の方法。
８８．　シュードモナス種が、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性によってのみ死滅させられる、実施形態６９から８７のいずれか１つに記載の方法。
８９．　シュードモナス種が、バクテリオファージの溶菌活性とＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性との組合せにより死滅させられる、実施形態８５から８７のいずれか１つに記載の方法。
９０．　シュードモナス種が、バクテリオファージの溶菌活性とは無関係に、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性により死滅させられる、実施形態８９に記載の方法。
９１．　ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性が、バクテリオファージの溶菌活性を補充するかまたは増強する、実施形態８９に記載の方法。
９２．　バクテリオファージの溶菌活性および／またはＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性が相乗的である、実施形態８９に記載の方法。
９３．　バクテリオファージの溶菌活性、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性、またはその両方が、バクテリオファージの濃度により調節される、実施形態８５から９２のいずれか１つに記載の方法。
９４．　バクテリオファージが複数のバクテリア菌株を感染させる、実施形態６９から９３のいずれか１つに記載の方法。
９５．　バクテリオファージが、ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、もしくはＰＢ１、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８０％の同一性を含む、実施形態６９から８７のいずれか１つに記載の方法。
９６．　バクテリオファージは、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１１０６ｗｔ、ｐ１１９４ｗｔ、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１５８７ｗｔ、ｐ１６９５ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１８３５ｗｔ、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２０３７ｗｔ、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３１ｗｔ、ｐ２１３２ｅ００２、ｐ２１３２ｗｔ、ｐ２１６７ｗｔ、ｐ２３６３ｅ００３、ｐ２３６３ｗｔ、ｐ２４２１ｅ００２、ｐ２４２１ｗｔ、ｐ２９７３ｅ００２、ｐ２９７３ｗｔ、ｐ３２７８ｗｔ、ｐ４４３０ｗｔ、ＰＢ１ｅ００２、もしくはＰＢ１ｗｔ、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８０％の同一性を含む、実施形態９５に記載の方法。
９７．　核酸配列が、非必須バクテリオファージ遺伝子の代わりに、またはそれに隣接して挿入される、実施形態６９から９６のいずれか１つに記載の方法。
９８．　少なくとも１つの追加のバクテリオファージを投与する工程をさらに含む、実施形態６９から９７のいずれか１つに記載の方法。
９９．　少なくとも６つのバクテリオファージを投与する工程を含み、当該バクテリオファージが、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５を含む、実施形態９８に記載の方法。
１００．　疾患または疾病が、細菌感染症、嚢胞性線維症、非嚢胞性線維症性気管支拡張症、または肺炎である、実施形態６９から９９のいずれか１つに記載の方法。
１０１．　細菌感染症が嚢胞性線維症もしくは非嚢胞性線維症性気管支拡張症に関連するか、または細菌感染症が血液循環感染症である、実施形態１００に記載の方法。
１０２．　疾患または疾病を生じさせるシュードモナス種が、薬剤耐性のシュードモナス種である、実施形態６９から１０１のいずれか１つに記載の方法。
１０３．　薬剤耐性のシュードモナス種が、少なくとも１つの抗生物質に対し耐性を示す、実施形態１０２に記載の方法。
１０４．　疾患または疾病を生じさせるシュードモナス種が、多剤耐性のシュードモナ

ス種である、実施形態６９から１０３のいずれか１つに記載の方法。
１０５．多剤耐性のシュードモナス種が、少なくとも１つの抗生物質に対し耐性を示す、実施形態１０４に記載の方法。
１０６．抗生物質が、セファロスポリン、フルオロキノロン、カルバペネム、コリスチン、アミノグリコシド、バンコマイシン、ストレプトマイシン、またはメチシリンを含む、実施形態１０３または１０５のいずれか１つに記載の方法。
１０７．シュードモナス種が緑膿菌である、実施形態６９から１０６のいずれか１つに記載の方法。
１０８．投与は、動脈内、静脈内、尿道内、筋肉内、経口、皮下、吸入、局所、皮膚、経皮、口腔粘膜、植込み、舌下、頬側、直腸、膣、眼、耳、鼻の投与、またはそれらのあらゆる組合せである、実施形態６９から１０７のいずれか１つに記載の方法。
１０９．追加の治療を施す工程をさらに含む、実施形態６９から１０８のいずれか１つに記載の方法。
１１０．追加の治療がトブラマイシンを含む、実施形態１０９に記載の方法。
１１１．個体が哺乳動物である、実施形態６９から１１０のいずれか１つに記載の方法。
１１２．（ａ）シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むＣＲＩＳＰＲアレイと、
（ｂ）Ｃａｓ５、Ｃａｓ８ｃ、およびＣａｓ７を含むカスケードポリペプチドと、
（ｃ）Ｃａｓ３ポリペプチドと
を含むＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージ。
１１３．１つまたは複数のスペーサ配列が、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む、実施形態１１２に記載のバクテリオファージ。
１１４．ＣＲＩＳＰＲアレイが少なくとも１つの反復配列をさらに含む、実施形態１１２から１１３のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１１５．少なくとも１つの反復配列が、その５’末端または３’末端のいずれかにおいて１つまたは複数のスペーサ配列に操作可能に連結される、実施形態１１４に記載のバクテリオファージ。
１１６．反復配列が、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む、実施形態１１２から１１５のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１１７．ＣＲＩＳＰＲアレイが、図１Ａ～図１Ｅに明記される配列、または配列番号８３～８７に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む、実施形態１１２から１１６のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１１８．標的ヌクレオチド配列がコーディング配列を含む、実施形態１１２から１１７のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１１９．標的ヌクレオチド配列が非コーディング配列または遺伝子間配列を含む、実施形態１１２から１１７のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１２０．標的ヌクレオチド配列が、プロモータ配列のすべてまたは一部を含む、実施形態１１２から１１７のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１２１．プロモータ配列が、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む、実施形態１２０に記載のバクテリオファージ。
１２２．標的ヌクレオチド配列が、必須遺伝子の転写された領域のコーディング鎖に位置するヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含む、実施形態１１２から１２１のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１２３．必須遺伝子が、Ｔｓｆ、ａｃｐＰ、ｇａｐＡ、ｉｎｆＡ、ｓｅｃＹ、ｃｓｒＡ、ｔｒｍＤ、ｆｔｓＡ、ｆｕｓＡ、ｇｌｙＱ、ｅｎｏ、ｎｕｓＧ、ｄｎａＡ、ｄｎａＳ

、ｐｈｅＳ、ｒｐｌＢ、ｇｌｔＸ、ｈｉｓＳ、ｒｐｌＣ、ａｓｐＳ、ｇｙｒＢ、ｇｌｎＳ、ｄｎａＥ、ｒｐｏＡ、ｒｐｏＢ、ｐｈｅＴ、ｉｎｆＢ、ｒｐｓＣ、ｒｐｌＦ、ａｌａＳ、ｌｅｕＳ、ｓｅｒＳ、ｒｐｌＤ、ｇｙｒＡ、ｇｌｍＳ、ｆｕｓ、ａｄｋ、ｒｐｓＫ、ｒｐｌＲ、ｃｔｒＡ、ｐａｒＣ、ｔＲＮＡ－Ｓｅｒ、ｔＲＮＡ－Ａｓｎ、またはｍｅｔＫである、実施形態１２２に記載のバクテリオファージ。

１２４．　核酸配列がプロモータ配列をさらに含む、実施形態１１２から１２３のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。

１２５．　偏性溶菌性バクテリオファージである、実施形態１１２から１２４のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。

１２６．　溶菌性を与えられた溶原性バクテリオファージである、実施形態１１２から１２４のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。

１２７．　溶原性バクテリオファージが、溶原性遺伝子の除去、交換、または不活性化により溶菌性を与えられる、実施形態１２６に記載のバクテリオファージ。

１２８．　シュードモナス種が、バクテリオファージの溶菌作用によってのみ死滅させられる、実施形態１２５から１２７のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。

１２９．　シュードモナス種が、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性によってのみ死滅させられる、実施形態１２５から１２７のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。

１３０．　シュードモナス種が、バクテリオファージの溶菌活性とＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性との組合せにより死滅させられる、実施形態１２５から１２７のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。

１３１．　シュードモナス種が、バクテリオファージの溶菌活性とは無関係に、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性により死滅させられる、実施形態１３０に記載のバクテリオファージ。

１３２．　ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性が、バクテリオファージの溶菌活性を補充するかまたは増強する、実施形態１３０に記載のバクテリオファージ。

１３３．　バクテリオファージの溶菌活性および／またはＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性が相乗的である、実施形態１３０に記載のバクテリオファージ。

１３４．　バクテリオファージの溶菌活性、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の活性、またはその両方が、バクテリオファージの濃度により調節される、実施形態１２５から１３３のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。

１３５．　複数のバクテリア菌株を感染させる、実施形態１１２から１３４のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。

１３６．　ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、もしくはＰＢ１、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８０％の同一性を含む、実施形態１１２から１３５のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。

１３７．　ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１１０６ｗｔ、ｐ１１９４ｗｔ、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１５８７ｗｔ、ｐ１６９５ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１８３５ｗｔ、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２０３７ｗｔ、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３１ｗｔ、ｐ２１３２ｅ００２、ｐ２１３２ｗｔ、ｐ２１６７ｗｔ、ｐ２３６３ｅ００３、ｐ２３６３ｗｔ、ｐ２４２１ｅ００２、ｐ２４２１ｗｔ、ｐ２９７３ｅ００２、ｐ２９７３ｗｔ、ｐ３２７８ｗｔ、ｐ４４３０ｗｔ、ＰＢ１ｅ００２、もしくはＰＢ１ｗｔ、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８０％の同一性を含む、実施形態１３６に記載のバクテリオファージ。

１３８．　核酸配列が、非必須バクテリオファージ遺伝子へと挿入される、実施形態１１２から１３７のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。

１３９．（ａ）実施形態１１２から１３８のいずれか１つに記載のバクテリオファージと、

（ｂ）薬学的に許容可能な賦形剤と

を含む医薬組成物。

１４０．　少なくとも２つのバクテリオファージを含む、実施形態１３９に記載の医薬組成物。

１４１．　少なくとも６つのバクテリオファージを含んでおり、当該バクテリオファージが、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５を含む、実施形態１４０に記載の医薬組成物。

１４２．　錠剤、カプセル、液体、シロップ、経口製剤、静脈内製剤、鼻腔内製剤、眼製剤、耳製剤、皮下製剤、局所製剤、経皮製剤、経粘膜製剤、吸入可能な呼吸器製剤、坐薬、凍結乾燥製剤、噴霧化可能な製剤、およびそれらのあらゆる組合せの形態にある、実施形態１３９から１４１のいずれか１つに記載の医薬組成物。

１４３．　清潔を必要とする表面を清潔にする方法であって、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージを表面に投与する工程を含んでおり、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、

（ａ）ＣＲＩＳＰＲアレイと、

（ｂ）シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むカスケードポリペプチドと、

（ｃ）Ｃａｓ３ポリペプチドと

を含んでいる、方法。

１４４．　表面は、院内表面、ビヒクル表面、装置表面、または工業表面である、実施形態１４３に記載の方法。

１４５．　食品製品または栄養補助物質の汚染を予防する方法であって、食品製品または栄養補助物質に、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージを投与する工程を含んでおり、Ｉ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、

（ａ）ＣＲＩＳＰＲアレイと、

（ｂ）シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むカスケードポリペプチドと、

（ｃ）Ｃａｓ３ポリペプチドと

を含んでいる、方法。

１４６．　食品製品または栄養補助物質は、牛乳、ヨーグルト、カード、チーズ、発酵乳、牛乳を用いた発酵製品、アイスクリーム、発酵穀物を用いた製品、牛乳を用いた粉末、乳児用フォーミュラもしくはタブレット、液体懸濁液、乾燥した経口サプリメント、湿式の経口サプリメント、またはドライ・チューブ・フィーディングを含む、実施形態１４５に記載の方法。

１４７．（ａ）シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的なスペーサ配列を含むＣＲＩＳＰＲアレイであって、スペーサ配列が配列番号１２、１６、および２０を含んでいる、ＣＲＩＳＰＲアレイと、

（ｂ）カスケードポリペプチドと、

（ｃ）Ｃａｓ３ポリペプチドと

を含むＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系をコードする核酸配列を含むバクテリオファージ。

１４８．　ｐ１１０６、ｐ１１９４、ｐ１５８７、ｐ１６９５、ｐ１７７２、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２１３１、ｐ２１３２、ｐ２１６７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、ｐ２９７３、ｐ３２７８、ｐ４４３０、もしくはＰＢ１から選択される、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８０％の配列同一性を含むバクテリオファージ。

１４９．　ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１１０６ｗｔ、ｐ１１９４ｗｔ、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１５８７ｗｔ、ｐ１６９５ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１８３５ｗｔ、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２０３７ｗｔ、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３１ｗｔ、ｐ２１３２ｅ００２、ｐ２１３２ｗｔ、ｐ２１６７ｗｔ、ｐ２３６３ｅ００３、ｐ２３６３ｗｔ、ｐ２４２１ｅ００２、ｐ２４２１ｗｔ、ｐ２９７３ｅ００２、ｐ２９７３ｗｔ、ｐ３２７８ｗｔ、ｐ４４３０ｗｔ、ＰＢ１ｅ００２、もしくはＰＢ１ｗｔ、またはそれらの２つ以上のファージに対して少なくとも８０％の同一性を含む、

実施形態１４８に記載のバクテリオファージ。
１５０．（ａ）ＣＲＩＳＰＲアレイと、
（ｂ）シュードモナス種中の標的ヌクレオチド配列に相補的な１つまたは複数のスペーサ配列を含むカスケードポリペプチドと、
（ｃ）Ｃａｓ３ポリペプチドと
をさらに含む、実施形態１４８に記載のバクテリオファージ。
１５１．１つまたは複数のスペーサ配列が、配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のうち少なくとも１つ、または配列番号１２～２３、３１～７４、もしくは８８～１２０のいずれか１つに対して少なくとも９０％の配列同一性を含む、実施形態１５０に記載のバクテリオファージ。
１５２．ＣＲＩＳＰＲアレイが少なくとも１つの反復配列をさらに含む、実施形態１５０から１５１のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１５３．少なくとも１つの反復配列が、その５’末端または３’末端のいずれかにおいて１つまたは複数のスペーサ配列に操作可能に連結される、実施形態１５１に記載のバクテリオファージ。
１５４．反復配列が、配列番号２６～３０のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む、実施形態１５１から１５３のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１５５．ＣＲＩＳＰＲアレイが、図１Ａ～図１Ｅに明記される配列、または配列番号８３～８７に対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む、実施形態１５１から１５４のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１５６．標的ヌクレオチド配列がコーディング配列を含む、実施形態１５１から１５５のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１５７．標的ヌクレオチド配列が非コーディング配列または遺伝子間配列を含む、実施形態１５１から１５６のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１５８．標的ヌクレオチド配列が、プロモータ配列のすべてまたは一部を含む、実施形態１５１から１５７のいずれか１つに記載のバクテリオファージ。
１５９．プロモータ配列が、配列番号１～１１のいずれか１つに対して少なくとも約９０％の配列同一性を含む、実施形態１５８に記載のバクテリオファージ。
１６０．少なくとも４つのバクテリオファージとして、
（ａ）ｐ１１０６ｅ００３に対して少なくとも８０％の配列同一性を含む第１のバクテリオファージと、
（ｂ）ｐ１８３５ｅ００２に対して少なくとも８０％の配列同一性を含む第２のバクテリオファージと、
（ｃ）ｐ１７７２ｅ００５に対して少なくとも８０％の配列同一性を含む第３のバクテリオファージと、
（ｄ）ｐ２１３１ｅ００２に対して少なくとも８０％の配列同一性を含む第４のバクテリオファージと
を含む組成物。
１６１．ｐ１１９４に対して少なくとも８０％の配列同一性を含む第５のバクテリオファージをさらに含む、実施形態１６０に記載の組成物。
１６２．ｐ１６９５に対して少なくとも８０％の配列同一性を含む第５のバクテリオファージをさらに含む、実施形態１６０に記載の組成物。
１６３．ｐ４４３０に対して少なくとも８０％の配列同一性を含む第５のバクテリオファージをさらに含む、実施形態１６０に記載の組成物。
１６４．ｐ１６９５に対して少なくとも８０％の配列同一性を含む第６のバクテリオファージをさらに含む、実施形態１６１または１６３に記載の組成物。
【実施例】
【０２９３】
実施例１：本出願で使用される操作されたファージ

バクテリオファージを、ｃｒＡｒｒａｙおよびＣａｓ構築物を含有するように操作した。表１Ａは、以下の出願に使用されるファージの成分を表す。表１Ｂは、ｃｒＡｒｒａｙとＣａｓプロモータの両方の発現を誘導するのに使用されるプロモータの配列を表す。表１Ｃは、特異的な部位を標的とするのに使用されるｃｒＡｒｒａｙ中のスペーサ配列の配列を表す。さらに、図１Ａ～図１Ｅは、以下の実施例に使用されるｃｒＡｒｒａｙ１～ｃｒＡｒｒａｙ５の配列およびアライメントを表す。組み合わされたｃｒＡｒｒａｙ１およびシュードモナスＩ　Ｃ型ＣＲＩＳＰＲインサートの完全配列を、図１Ｆ～図１Ｋと表１Ｄに示す。組み合わされたｃｒＡｒｒａｙ３およびシュードモナスＩ　Ｃ型ＣＲＩＳＰＲインサートの完全配列を、図１Ｌ～図１Ｑと表１Ｄに示す。

【０２９４】

【表１－１】

表 1A: ファージの成分

ファージ名	寄託番号	crArray プロモータ	crArray ID	Cas プロモータ	CasID
p1106e003	PTA-127023	ACR	crArray 1（図1A、配列番号 83)	BBa_J23109	PaIC
p1106wt	PTA-127024	N/A	N/A	N/A	N/A
p1194wt	PTA-127025	N/A	N/A	N/A	N/A
p1587e002	PTA-127026	ACR	crArray 1（図1A、配列番号 83)	BBa_J23109	PaIC
p1587wt	PTA-127027	N/A	N/A	N/A	N/A
p1695wt	PTA-127028	N/A	N/A	N/A	N/A
p1772e005	PTA-127029	ACR	crArray 1（図1A、配列番号 83)	BBa_J23109	PaIC
p1772wt	PTA-127030	N/A	N/A	N/A	N/A
p1772e004	N/A	N/A	N/A	BBa_J23109	PaIC
p1772e006	N/A	ACR	crArray 1（図1A、配列番号 83)	N/A	N/A
p1772e008	N/A	ACR	crArray 2（図1B、配列番号 84)	BBa_J23109	PaIC
p1772e016	N/A	ACR	crArray 1（図1A、配列番号 83)	BBa_J23109	PaIC
p1772e017	N/A	ACR	crArray 1（図1A、配列番号 83)	BBa_J23106	PaIC
p1772e018	N/A	ACR	crArray 1（図1A、配列番号 83)	P16	PaIC

【０２９５】

【表１－２】

p1772e019	N/A	ACR	crArray 1（図1A、配列番号83）	Gp105	PaIC
p1772e020	N/A	ACR	crArray 1（図1A、配列番号83）	Gp245	PaIC
p1772e021	N/A	ACR	crArray 1（図1A、配列番号83）	PAMP	PaIC
p1772e022	N/A	ACR	crArray 1（図1A、配列番号83）	Plpp	PaIC
p1772e023	N/A	ACR	crArray 1（図1A、配列番号83）	pTat	PaIC
p1835e002	PTA-127031	ACR	crArray 1（図1A、配列番号83）	BBa_J23109	PaIC
p1835wt	PTA-127032	N/A	N/A	N/A	N/A
p2037e002	PTA-127033	ACR	crArray 1（図1A、配列番号83）	BBa_J23109	PaIC
p2037wt	PTA-127034	N/A	N/A	N/A	N/A
p2131e002	PTA-127035	ACR	crArray 1（図1A、配列番号83）	BBa_J23109	PaIC
p2131wt	PTA-127036	N/A	N/A	N/A	N/A
p2132e002	PTA-127037	ACR	crArray 1（図1A、配列番号83）	BBa_J23109	PaIC
p2132wt	PTA-127038	N/A	N/A	N/A	N/A
p2167wt	PTA-127039	N/A	N/A	N/A	N/A
p2363e003	PTA-127040	ACR	crArray 1（図1A、配列番号83）	BBa_J23109	PaIC
p2363wt	PTA-127041	N/A	N/A	N/A	N/A

【０２９６】

【表１－３】

p2421e002	PTA-127042	ACR	crArray 1（図1A、配列番号83）	BBa_J23109	PaIC
p2421wt	PTA-127043	N/A	N/A	N/A	N/A
p2973e002	PTA-127044	ACR	crArray 1（図1A、配列番号83）	BBa_J23109	PaIC
p2973wt	PTA-127045	N/A	N/A	N/A	N/A
p3278wt	PTA-127046	N/A	N/A	N/A	N/A
p4430wt	PTA-127047	N/A	N/A	N/A	N/A
PB1e002	PTA-127048	ACR	crArray 1（図1A、配列番号83）	BBa_J23109	PaIC
PB1wt	PTA-127049	N/A	N/A	N/A	N/A
p4209	N/A	ACR	crArray 1（図1A、配列番号83）	BBa_J23109	PaIC
p4209e001	N/A	N/A	N/A	N/A	PaIC
p4209e002	N/A	ACR	crArray 1（図1A、配列番号83）	BBa_J23109	PaIC
pArray3	N/A	ACR	crArray 3（図1C、配列番号85）	BBa_J23109	PaIC
PArray4	N/A	ACR	crArray 4（図1D、配列番号86）	BBa_J23109	PaIC

【０２９７】

【表２－１】

表 1B: プロモータ配列

配列番号	プロモータ	供給源	配列
1	ACR	ファージゲノム	ACAAGCGGCACATTGTGCCTATTGCGAATTAGG CACAATGTGCCTAATCTAACGTCATGCCAGCCA CAACGGCGAGGCGCCAAGAAGGATAGAAGCC
2	BBa_J23109	BioBrick	TTTACAGCTAGCTCAGTCCTAGGGACTGTGCTA GC
3	内因性（プロモータ＋RBS)	緑膿菌ゲノム	GATTTTTTTCGGGTGAGGTTGCGGGCTGTTCG GTAGGTTTATAAACACTGCTATCCAAAGCTATG GACACGCTCGGCTACGAGAACAGTTGGCGTGA TGGCCTCTAGCAATTAGATTGTTATGCGACATC CGCAGACTTGGCAGGGAGCGCACCT
4	BBa_J23106	BioBrick	TTTACGGCTAGCTCAGTCCTAGGTATAGTGCTA GC
5	P16（プロモータ＋RBS)	緑膿菌ゲノム	ATCCGAGGGATACGGGCCTTGTCAGCACGGTG TTGCTAATGAGAGCCTTTGCCCGGGCAATAGTA CGGGCAGTGTGTAGCGGATTGAAAGACGCTGA ATCACTGACAGGCATGAAGACTATCGATAGAGT CTGATAGTGTCGCCGCCGCACAGCGGATAGAG TCCACAGTCATTGAAGTGTTAATCCGCGATCAA GCTC
6	gp105（プロモータ＋RBS)	ファージゲノム	GACCTAGCTTTTATAGCGGGTTTCGTGGTTTAT AGCCCATTGAAAAAAATCTCACATCTATATCAC AGGTGTGCACTCGTTCCCGAAAGGTTCTGAGT CTACTTGATCAAGTATTGAAATACCATCGTAAA GGAAAAAGACATGTCTATTCGTGATAGCGAAAA CAACAACGGCCAACAGCAGCAGACCGCGCAAA CTGCCGCCCCCGCCCCGCAA
7	gp245（プロモータ＋RBS)	ファージゲノム	TTCAATTTAAGTAGTAACGAGGTCAGCCCGGAA TCTTTGGGTATTCTTAAGGTATTTCTGACTCAG TGTGGTTGGGACAGCTTCACTGTACATTGCACT GGATTTGTTAATTTCTTATACCGGGGCACCATG GGCAGCAAATCGTGTTACGAATTCCGTCTAACC AATAAGCGAGCTAAATA
8	Pamp	プラスミド	CGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATAC ATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACC CTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAA GAGT
9	Plpp（プロモータ＋RBS)	緑膿菌ゲノム	CTTCAAGAATTCGTATTGACCCCATAGACAGCT TCGTCGACGCCCGTCCCGGCCCCCTTGGGCTT GCCGGACGGCTTATGTCATGATGGCGCCACCCT CGCAGGTTCAAGGCCGGCTTTCTTCCTCTATGA ACAAATCCCTTGCGCTGACTACGTAATCAC

【０２９８】

【表２－２】

10	Ptat（プロモータ＋RBS）	緑膿菌ゲノム	CTTCAAGAATTCGGGGTATTCCTGATCCTGCGC CGCTAGCGCCGCGCACGGCCACTAGGCCCGCG CCGATAGCCAGTCGCGCTCCCGGCTGGCACAC TACTCCCATTTCCGCCGGAAACGCGCGCAACGT ACCGGCAACGAACGTGGAAAGACCATGAAAGA CTGGCTGGATGAGATTCACTGGAACGCCGTGA CCTACGTATGCAC
11	rrnB P1	大腸菌	GAAAATTATTTTAAATTTCCTCTAGTCAGGCCG GAATAACTCCCTATAATGCGACACCA

【０２９９】

【表３－１】

表 1C: シュードモナス種を標的とするためのスペーサ配列

アレイ ID	スペーサ標的	配列番号	配列
スペーサ 1			
crArray 1	仮想タンパク質 / 遺伝子間領域	12	AGAAGGGTCAGGGCCATGCGGTTTTTCCTCTGTG
crArray 2	非標的化対象	13	GCTCGACTGGTCGGTAACCACTTGTGTGTGGTGA
crArray 3	ftsA	14	GGTGCTGACCGAGGACGAGAAGGAACTGGGCGTG
crArray 4	glnS	15	GATGACACCAACCCGGCCAAGGAAGACCAGGAGT
スペーサ 2			
crArray 1	phnW (ピルビン酸アミノトランスフェラーゼ)	16	GAGACCGAAGAGAACGTGCCGACCACCGCCGCTG
crArray 2	非標的化対象	17	CAGTGCATGGCAGCGAACGCCGAGAGCCGACACC
crArray 3	dnaA	18	TCCGCGATGAGCTGCCGTCCCAACAATTCAACAC
crArray 4	dnaN	19	AACGCGAAGCCCTGTTGAAACCGCTGCAACTGGT
スペーサ 3			
crArray 1	rpmF / 遺伝子間領域 / 仮想タンパク質	20	TGCTGAACAGCCATGATTGATTAACTCCTAAACG
crArray 2	非標的化対象	21	CGTAAACCTAATGGGCCTGATCTACAGTAATCTA
crArray 3	gyrB	22	ACCACCGAGACGCCCACACCGTGCAAGCCGCCGG
crArray 4	rpoB	23	CTATCGCGAATTCCTGCAGGCTGGCGCAACCAAG
追加のスペーサ配列			
	GyraseB	31	CGCCAGATGCCCGAGCTGATCGAGCGTGGCTACA
	非コーディング配列	32	GAACCAACGCATGGCAGGATCAAAACCTGCTGCC
	ホスホリボシルトランスフェラーゼ	33	GCCGCCGGAGGTCTCGTTGCGGTAACGGGTCGCA

【０３００】

【表３－２】

	tsf	34	CGGGTTGCCGCCTTTCAGGTTGACCACGACACCG
	acpP	35	CAGAGCCATCACCAGCTCGACGGTGTCAAGGGAG
	gapA	36	ACCAGCCGCGACAAAGCCGCTGCCCACCTGCAGG
	infA	37	CGTGTGGAGTTGGAAAATGGGCACGTCGTCACCG
	secY	38	AGCGGCTGCCCCGGAGCGATCGCTTGCGCGACGT
	csrA	39	CCTTTGACACCCAGTACCGTCACGGTGACGTCGT
	trmD	40	TTCATCGACGTGCTCTTCGATGAAGCGCTCGTCG
crArray 3	ftsA	41	GGTGCTGACCGAGGACGAGAAGGAACTGGGCGTG
	fusA	42	AACATCATCGACACCCCCGGCCACGTCGACTTCA
	glyQ	43	TGGTGGAACACGTCGCCATAGGTGACCTTGCCGA
	eno	44	CAGCCGGCCCAGTCGGACTCGTCCATGCCGTCCT
	nusG	45	GGCTTGGGCTTGTCGCCGCTATCGGCCACGCGAC
crArray 3	dnaA	46	TCCGCGATGAGCTGCCGTCCCAACAATTCAACAC
	pheS	47	CACCTGGTGGAACATCGGCGAGTGGGTCAGGTCG
	rplB	48	AGCTCGATACCATGAACAGTGCTACCCACCGGGA
	gltX	49	TCGCGCTCGTCCGGCATCGACCAGCCCATCCGCC
	hisS	50	CACGCCCATGGCGAAACCGACACCCGGGGTCGGC
	rplC	51	CAGCGCTTGATGGTGCCCGCGAAGCCCTTACCCT
	aspS	52	GCCGCTACCTGGACGACAACGGCTTCCTCGACGT
	gyrB	53	CGCCAGATGCCCGAGCTGATCGAGCGTGGCTACA

【０３０１】

【表３－３】

crArray 3	gyrB	54	ACCACCGAGACGCCCACACCGTGCAAGCC GCCGG
crArray 4	glnS	55	GATGACACCAACCCGGCCAAGGAAGACCA GGAGT
	dnaE	56	CTGGTACAGGATGATGCCGTAGGTGGGCT TGAGC
	rpoA	57	GGGATCCAGAGTGCCGTTGGTTTCCAGGT CCAGG
	pheT	58	CCCGTCGGCTACCACCGTTAGTTCCAGGG CTTGC
	infB	59	CTTGATCGGCTTGCCGTTCTCGTCGAGCA TGGCG
	rpsC	60	GTAGGTGGCATAGTCGATATCGGCGCGCA GGGTG
	rplF	61	GTAATCAACCGGATGGGAGAAGCCGAGG GACAGG
	alaS	62	TGGGCGATGGGCGATACCGGACCCTGCG GTCCCT
	leuS	63	GACGCCATCGGCGCCGACCTCGAGGCCA AGGGCC
	serS	64	CAGCGCTTCGTAGGAGGTGGCCGGATCG ACGATC
	rplD	65	AGACCCAGGGTGTCCAGCTTGGCAACCAG GCCCT
	gyrA	66	CTGGTATTCGGAGAGCAGCTTCTCGTGCT CCAGG
	glmS	67	CGGGCCGGCCTGGGTCAGCAGGGTCAGG TCGGAT
	adk	68	GGCGGGTTGTGCTCGGTGTGGTACACGC GGCCGG
	rpsK	69	AGAGCGCGAACGGCGGACTCGCGGCCCG GGCCCG
	rplR	70	TTGGCTGCATCGATGTTGCCGGTGGCACC TTCGC
	parC	71	GAAGCTGGCCCCCGGCGGCGGCGTCAGC CGGCCG
	tRNA-Ser	72	GAACCCCCGACACCCTTTTGAGGTGTACT CCCTT
	tRNA-Asn	73	CGCGATAGCTCAGTCGGTAGAGCAAATGA CTGTT

【０３０２】

【表３－４】

	metK	74	CGGGTTGTGCTGGGTGGACAGCACCACC GCATCG
	シュードモナス	88	AGAAGGGTCAXGGXCATGCGGTTTTTCCT CTXTG、このとき X は、それぞれ独立して A、T、C、またはGから選択される。
	シュードモナス	89	AGAAGGXTCAGGGXCATGCGGTTTTTCCT CTXTG、このとき X は、それぞれ独立して A、T、C、またはGから選択される。
	シュードモナス	90	AGAAGGXTCAXGGCCATGCGGTTTTTCCT CTXTG、このとき X は、それぞれ独立して A、T、C、またはGから選択される。
	シュードモナス	91	AGAAGGXTCAXGGXCATGCGGTTTTTCCT CTGTG、このとき X は、それぞれ独立して A、T、C、またはGから選択される。
	シュードモナス	92	AGAAGGXTCAXGGXCATGCGGTTTTTCCT CTXTG、このとき X は、それぞれ独立して A、T、C、またはGから選択される。
	シュードモナス	93	AGAAGGGTCAGGGXCATGCGGTTTTTCCT CTGTG、このときXはA、T、C、またはGである。
	シュードモナス	94	AGAAGGGTCAGGGTCATGCGGTTTTTCCT CTGTG
	シュードモナス	95	AGAAGGGTCAGGGCCATGCGGTTTTTCCT CTXTG、このときXはA、T、C、またはGである。
	シュードモナス	96	AGAAGGGTCAGGGCCATGCGGTTTTTCCT CTATG
	シュードモナス	97	AGAAGGXTCAGGGCCATGCGGTTTTTCCT CTGTG、このときXはA、T、C、またはGである。
	シュードモナス	98	AGAAGGATCAGGGCCATGCGGTTTTTCCT CTGTG
	シュードモナス	99	AGAAGGXTCAXGGCCATGCGGTTTTTCCT CTGTG、このとき X は、それぞれ独立して A、T、C、またはGから選択される。
	シュードモナス	100	AGAAGGATCAAGGCCATGCGGTTTTTCCT CTGTG
	シュードモナス	101	AGAAGGGTCAGGGCCATGCGGTTTTTCCT CTXTG、このときXはA、T、C、またはGである。

【０３０３】

【表３－５】

	シュードモナス	102	AGAAGGGTCAGGGCCATGCGGTTTTTCCTCTATG
	シュードモナス	103	GAGACCGAAGAGXAXGTGCCGACCACXGCCGCTG、このとき X は、それぞれ独立して A、T、C、または G から選択される。
	シュードモナス	104	GAGACCGAAGAGAAXGTGCCGACCACCGCCGCTG、このとき X は A、T、C、または G である。
	シュードモナス	105	GAGACCGAAGAGAATGTGCCGACCACCGCCGCTG
	シュードモナス	106	GAGACCGAAGAGAACGTGCCGACCACXGCCGCTG、このとき X は A、T、C、または G である。
	シュードモナス	107	GAGACCGAAGAGAACGTGCCGACCACTGCCGCTG
	シュードモナス	108	GAGACCGAAGAGXACGTGCCGACCACCGCCGC、このとき X は A、T、C、または G である。
	シュードモナス	109	GAGACCGAAGAGGACGTGCCGACCACCGCCGC
	シュードモナス	110	TGCTGAACAGCCATXAXXXATTAACTCCTAAACG、このとき X は、それぞれ独立して A、T、C、または G から選択される。
	シュードモナス	111	TGCTGAACAGCCATXATTGATTAACTCCTAAACG、このとき X は A、T、C、または G である。
	シュードモナス	112	TGCTGAACAGCCATAATTGATTAACTCCTAAACG
	シュードモナス	113	TGCTGAACAGCCATXATTXATTAACTCCTAAACG、このとき X は、それぞれ独立して A、T、C、または G から選択される。
	シュードモナス	114	TGCTGAACAGCCATAATTAATTAACTCCTAAACG
	シュードモナス	115	TGCTGAACAGCCATXAXTGATTAACTCCTAAACG、このとき X は、それぞれ独立して A、T、C、または G から選択される。
	シュードモナス	116	TGCTGAACAGCCATAACTGATTAACTCCTAAACG
	シュードモナス	117	TGCTGAACAGCCATXATXXATTAACTCCTAAACG、このとき X は、それぞれ独立して A、T、C、または G から選択される。

【０３０４】

【表３－６】

	シュードモナス	118	TGCTGAACAGCCATAATCAATTAACTCCT AAACG
	シュードモナス	119	TGCTGAACAGCCATXAXTXATTAACTCCT AAACG、このとき X は、それぞれ独立して A、T、C、またはGから選択される。
	シュードモナス	120	TGCTGAACAGCCATAACTCATTAACTCCT AAACG

【０３０５】

【表４－１】

表 1D: PaIC インサート配列

アレイ	配列番号	配列
crArray 1 (図 1A)	83	ACAAGCGGCACATTGTGCCTATTGCGAATTAGGCACAATGTGCCTAATCTAAC GTCATGCCAGCCACAACGGCGAGGCGCCAAGAAGGATAGAAGCCGTCGCGCC CCGCACGGGCGCGTGGATTGAAACAGAAGGGTCAGGGCCATGCGGTTTTTCC TCTGTGGTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGATTGAAACGAGACCGAAGAGAA CGTGCCGACCACCGCCGCTGGTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGATTGAAAC TGCTGAACAGCCATGATTGATTAACTCCTAAACGGTCGCGCCCCGCACGGGCG CGTGGATTGAAACCATGCAAGCTTGGCGTAGCTTCGTCCCTATCAAAGCTTGG AG
crArray 2 (図 1B)	84	ACAAGCGGCACATTGTGCCTATTGCGAATTAGGCACAATGTGCCTAATCTAAC GTCATGCCAGCCACAACGGCGAGGCGCCAAGAAGGATAGAAGCCGTCGCGCC CCGCACGGGCGCGTGGATTGAAACGCTCGACTGGTCGGTAACCACTTGTGTG TGGTGAGTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGATTGAAACCAGTGCATGGCAGC GAACGCCGAGAGCCGACACCGTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGATTGAAAC CGTAAACCTAATGGGCCTGATCTACAGTAATCTAGTCGCGCCCCGCACGGGCG CGTGGATTGAAACCATGCAAGCTTGGCGTAGGCCGCTTCGTCCCTATCAAAGC TTGGAG
crArray 3 (図 1C)	85	ACAAGCGGCACATTGTGCCTATTGCGAATTAGGCACAATGTGCCTAATCTAAC GTCATGCCAGCCACAACGGCGAGGCGCCAAGAAGGATAGAAGCCGTCGCGCC CCGCACGGGCGCGTGGATTGAAACGGTGCTGACCGAGGACGAGAAGGAACTG GGCGTGGTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGATTGAAACTCCGCGATGAGCTG CCGTCCCAACAATTCAACACGTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGATTGAAAC ACCACCGAGACGCCCACACCGTGCAAGCCGCCGGGTCGCGCCCCGCACGGGC GCGTGGATTGAAACCATGCAAGCTTGGCGTAGCTTCGTCCCTATCAAAGCTTG GAG
crArray 4 （図 1D)	86	ACAAGCGGCACATTGTGCCTATTGCGAATTAGGCACAATGTGCCTAATCTAAC GTCATGCCAGCCACAACGGCGAGGCGCCAAGAAGGATAGAAGCCGTCGCGCC CCGCACGGGCGCGTGGATTGAAACGATGACACCAACCCGGCCAAGGAAGACC AGGAGTGTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGATTGAAACAACGCGAAGCCCTG TTGAAACCGCTGCAACTGGTGTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGATTGAAAC CTATCGCGAATTCCTGCAGGCTGGCGCAACCAAGGTCGCGCCCCGCACGGGC GCGTGGATTGAAACCATGCAAGCTTGGCGTAGCTTCGTCCCTATCAAAGCTTG GAG
crArray 5 (図 1E)	87	GAAAATTATTTTAAATTTCCTCTAGTCAGGCCGGAATAACTCCCTATAATGCGA CACCAGTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGATTGAAACATTTATCACAAAAGG ATTGTTCGATGTCCAACAAGTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGATTGAAACG CACTCCCGTTCTGGATAAT

【０３０６】

【表４－２】

crArray 3-PAIC	24	ACAAGCGGCACATTGTGCCTATTGCGAATTAGGCACAATGTGCCTAATCTAAC GTCATGCCAGCCACAACGGCGAGGCGCCAAGAAGGATAGAAGCCGTCGCGCC CCGCACGGGCGCGTGGATTGAAACGGTGCTGACCGAGGACGAGAAGGAACTG GGCGTGGTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGATTGAAACTCCGCGATGAGCTG CCGTCCCAACAATTCAACACGTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGATTGAAAC ACCACCGAGACGCCCACACCGTGCAAGCCGCCGGGTCGCGCCCCGCACGGGC GCGTGGATTGAAACCATGCAAGCTTGGCGTAGGCCGCTTCGTCCCTATCAAAG CTTGGAGTTTACAGCTAGCTCAGTCCTAGGGACTGTGCTAGCATTAAAGAGGA GAAAATGGACGCGGAGGCTAGCGATACTCACTTTTTTGCTCACTCCACCTTAA AGGCAGATCGCAGCGATTGGCAGCCTCTGGTCGAGCATCTACAGGCTGTTGC CCGTTTGGCAGGAGAGAAGGCTGCCTTCTTCGGCGGCGGTGAATTAGCTGCT CTTGCTGGTCTGTTGCATGACTTGGGTAAATACACTGACGAGTTTCAGCGGCG TATTGCGGGTGATGCCATCCGTGTCGATCACTCTACTCGCGGGGCCATACTGG CGGTAGAACGCTATGGCGCGCTAGGTCAATTGCTAGCCTACGGCATCGCTGG CCACCATGCCGGGTTGGCCAATGGCCGCGAGGCTGGTGAGCGAACTGCCTTG GTCGACCGCCTGAAAGGGGTTGGGCTGCCACGGTTATTGGAGGGGTGGTGCG TGGAAATCGTGCTACCCGAGCGCCTTCAACCACCGCCACTAAAAGCGCGCCTG GAAAGAGGTTTCTTTCAGTTGGCCTTTCTTGGCCGGATGCTCTTTTCCTGCTT GGTTGATGCGGATTATCTAGATACCGAAGCCTTCTACCACCGCGTCGAAGGAC GGCGCTCCCTTCGCGAGCAAGCGCGGCCGACCTTGGCCGAGTTACGCGCAGC CCTTGATCGGCATCTGACTGAGTTCAAGGGAGATACGCCGGTCAACCGCGTTC GCGGGGAGATATTGGCCGGCGTGCGCGGCAAGGCGAGCGAACTTCCCGGGCT GTTTTCTCTCACAGTGCCCACAGGAGGCGGCAAGACCCTGGCCTCTCTGGCTT TCGCCCTGGATCACGCTCTAGCTCATGGGCTGCGCCGGGTGATCTACGTGATT CCCTTCACTAGCATCGTCGAGCAGAACGCTGCGGTATTCCGTCGTGCACTCGG GGCCTTAGGCGAAGAGGCGGTGCTGGAGCATCACAGCGCCTTCGTTGATGAC CGCCGGCAGAGCCTGGAGGCCAAGAAGAAACTGAACCTAGCGATGGAGAACT GGGACGCGCCTATCGTGGTGACCACTGCAGTGCAGTTCTTCGAAAGCCTGTTT GCCGACCGTCCAGCCCAGTGCCGCAAGCTACACAACATCGCCGGCAGCGTGG TGATTCTTGACGAGGCACAGACCCTACCGCTCAAGCTGTTGCGGCCCTGCGTT GCCGCCCTTGATGAACTGGCGCTCAACTACCGTTGTAGCCCAGTTCTCTGTAC TGCCACGCAGCCAGCGCTTCAATCGCCGGATTTCATCGGTGGGCTGCAGGAC GTACGTGAGCTGGCGCCCGAGCCGCAGCGGCTGTTCCGGGAGTTGGTGCGGG TACGAATACGGACATTGGGCCCGCTCGAAGATGCGGCCTTGACTGAGCAGAT CGCCAGGCGTGAACAAGTGCTGTGCATCGTCAACAATCGACGCCAGGCCCGT GCGCTCTATGAGTCGCTTGCCGAGTTGCCCGGTGCCCGCCATCTCACCACCCT GATGTGCGCCAAGCACCGTAGCAGCGTGCTGGCCGAGGTGCGCCAGATGCTC AAAAAGGGGGAGCCCTGTCGCCTGGTGGCCACCTCGCTGATCGAGGCCGGTG TGGATGTGGATTTTCCCGTGGTACTGCGTGCCGAGGCTGGATTGGATTCCATC GCCCAGGCCGCGGGACGCTGCAATCGCGAAGGCAAGCGGCCGCTGGCCGAAA GCGAGGTGCTGGTGTTCGCCGCGGCCAATTCTGACTGGGCGCCACCCGAGGA ACTCAAGCAGTTCGCCCAGGCCGCCCGCGAAGTGATGCGCCTGCACCCGGAT GATTGCCTGTCCATGGCGGCCATCGAGCGGTATTTTCGCATACTGTACTGGCA GAAGGGCGCGGAGGAGTTGGATGCGGGTAACCTGCTCGGCCTGATTGAGAGA GGCCGGCTCGATGGCCTGCCCTACGAGACTTTGGCCACCAAGTTCCGCATGAT CGACAGCCTTCAACTGCCGGTGATCATCCCATTTGATGACGAGGCCAGAGCAG CCCTGCGCGAGCTGGAGTTCGCCGACGGCTGCGCCGCCATCGCCCGTCGCCT GCAGCCATATCTGGTGCAGATGCCACGCAAGGGTTATCAGGCATTGCGGGAA GCCGGTGCGATCCAGGCGGCGGCAGGTACGCGTTATGGTGAGCAGTTTATGG CGTTGGTCAACCCTGATCTGTATCACCACCAATTCGGGTTGCACTGGGATAAT CCGGCCTTTGTCAGCAGCGAGCGGCTATGTTGGTAGTCGGGACGCGCAACAG CGGCCTGGCCTGGATGATGTGAAAGGGAGGGCCGATGGCCTACGGAATTCGC TTAATGGTCTGGGGCGAGCGTGCCTGCTTCACCCGCCCGGAAATGAAGGTGG AACGCGTCTCTTACGATGCGATCACGCCGTCCGCCGCGCGCGGCATTCTCGA GGCTATCCACTGGAAGCCGGCGATTCGCTGGGTGGTGGATCGCATTCAAGTG CTTAAGCCGATCCGCTTCGAATCCATCCGGCGCAACGAGGTCGGCGGCAAGC TGTCCGCTGTCAGCGTCGGTAAGGCAATGAAGGCCGGGCGTACTAATGGTCT

【０３０７】

【表４－３】

		GGTGAATCTGGTCGAGGAGGATCGCCAGCAGCGCGCGACTACTCTGCTGCGC GATGTCTCCTATGTCATCGAGGCGCATTTCGAGATGACTGACAGGGCTGGCGC CGACGATACGGTGGGCAAGCATCTGGATATCTTCAACCGTCGCGCACGGAAG GGGCAGTGCTTCCATACACCCTGCCTAGGCGTGCGCGAGTTTCCGGCCAGTTT TCGGTTGCTGGAAGAGGGCAGTGCCGAGCCTGAAGTCGATGCCTTTCTGCGC GGCGAGCGTGATCTGGGCTGGATGCTGCATGACATTGACTTCGCCGATGGCA TGACCCCGCACTTCTTCCGTGCCCTGATGCGCGATGGGCTGATCGAGGTGCC GGCCTTCAGGGCGGCAGAGGACAAGGCATGATCCTTTCGGCCCTCAATGACT ATTATCAGCGACTGCTGGAGCGGGGTGAAGCGAATATCTCACCCTTCGGCTAC AGCCAAGAAAAGATCAGTTACGCCCTGCTGCTGTCCGCACAAGGAGAGTTGCT GGACGTGCAGGACATTCGCTTGCTCTCTGGCAAGAAGCCTCAACCCAGGCTTA TGAGTGTGCCGCAGCCGGAGAAGCGCACCTCGGGCATCAAGTCCAACGTACT GTGGGACAAGACCAGCTATGTGCTGGGTGTTAGTGCCAAGGGCGGAGAGCGT ACTCAGCAGGAGCACGAGTCCTTCAAGACGCTGCACCGGCAGATCTTGGTTG GGGAAGGCGACCCCGGTCTGCAGGCCTTGCTCCAGTTCCTCGACTGTTGGCA GCCGGAGCAGTTCAAGCCCCCGCTGTTCAGCGAAGCAATGCTCGACAGCAAC TTAGTGTTCCGCCTAGACGGCCAACAACGCTATCTGCACGAGACTCCGGCGGC CCTGGCGTTGCGTACCCGGCTGTTGGCCGACGGCGACAGCCGCGAGGGGCTG TGCCTAGTCTGCGGCCAACGTCAGCCGTTGGCGCGCCTGCATCCAGCGGTCA AGGGCGTCAATGGTGCCCAGAGTTCGGGGGCTTCCATCGTCTCCTTCAACCTC GACGCTTTTTCCTCCTACGGCAAGAGCCAGGGGGAAAATGCTCCGGTCTCCGA ACAGGCCGCCTTTGCCTACACCACGGTGCTCAACCATTTGTTGCGTCGCGACG AGCACAACCGCCAGCGCCTGCAGATTGGCGACGCGAGTGTGGTGTTCTGGGC GCAGGCGGATACTCCTGCTCAGGTGGCCGCCGCCGAGTCGACCTTCTGGAAC CTGCTGGAGCCACCCGCAGATGATGGTCAGGAAGCGGAAAAGCTGCGCGGCG TGCTGGATGCTGTGGCCACGGGGCGGCCCTTGCATGAGCTCGACTCGCTAAT GGAGGAAGGTACCCGCATTTTTGTGTTAGGGCTGGCGCCCAATACCTCGCGA CTGTCCATTCGGTTCTGGGCAGTCGATAGCCTTGCGGTATTCACCCAGCATCT GGCCGAGCATTTCCGGGATATGCACCTTGAGCCTCTGCCCTGGAAGACGGAG CCGGCCATCTGGCGCTTGCTCTATGCTACCGCGCCCAGTCGTGACGGCAGAG CCAAGACCGAAGACGTACTCCCACAACTGGCCGGTGAAATGACCCGCGCCAT CCTGACCGGCAGCCGCTATCCGCGCAGTTTGCTAGCCAACCTGATCATGCGCA TGCGTGCCGACGGCGACGTCTCTGGCATACGCGTCGCGCTGTGCAAGGCCGT GCTCGCTCGCGAGGCACGCCTGAGCGGCAAAATTCACCAAGAGGAGCTACCT ATGAGTCTCGACAAGGACGCCAGCAACCCCGGCTATCGCTTGGGGAGGCTGT TCGCCGTGTTGGAAGGCGCCCAGCGCGCAGCCCTGGGCGACAGGGTCAATGC CACTATCCGTGACCGCTACTACGGTGCCGCGTCCAGCACGCCAGCCACGGTTT TCCCGATACTGCTGCGCAACACACAAAACCACTTGGCCAAGCTGCGCAAGGA GAAGCCCGGACTAGCAGTGAACCTAGAGCGCGATATAGGCGAAATCATTGAC GGTATGCAGAGCCAATTCCCGCGTTGCCTGCGCCTGGAGGACCAGGGACGCT TTGCTATTGGTTACTACCAACAGGCCCAGGCCCGTTTCAACCGTGGCCCCGAT TCCGTCGAGTAAGGAGCAGAAGAATGACCGCCATCTCCAACCGCTACGAGTTC GTTTACCTCTTTGATGTCAGCAATGGCAATCCCAATGGCGACCCGGATGCTGG CAACATGCCGCGTCTCGATCCGGAAACCAACCAGGGGTTGGTCACTGACGTTT GCCTCAAGCGCAAGATCCGCAACTACGTCAGCCTGGAGCAGGAAAGTGCCCC CGGCTATGCCATCTATATGCAGGAAAAATCCGTGCTGAATAACCAGCACAAAC AGGCCTACGAGGCGCTCGGTATCGAGTCAGAGGCAAAGAAACTGCCCAAGGA CGAAGCCAAGGCGCGCGAACTGACCTCTTGGATGTGCAAGAACTTCTTCGATG TGCGTGCTTTCGGGGCGGTGATGACCACCGAGATTAATGCCGGCCAGGTGCG TGGACCGATCCAACTGGCATTCGCCACGTCTATCGACCCGGTATTGCCTATGG AGGTATCCATCACCCGCATGGCGGTGACTAACGAAAAGGATTTGGAGAAGGA ACGCACCATGGGACGCAAGCACATCGTGCCTTACGGCTTGTACCGCGCCCAT GGTTTCATCTCTGCCAAGTTGGCCGAGCGAACCGGCTTTTCCGACGACGACTT GGAACTGCTATGGCGCGCTTTGGCCAATATGTTCGAACACGACCGCTCGGCG GCACGTGGCGAGATGGCAGCGCGCAAGTTGATCGTCTTCAAGCATGAGCATG CCATGGGCAATGCACCCGCCCATGTGCTGTTCGGCAGCGTTAAGGTCGAGCG AGTCGAGGGGGACGCAGTTACACCAGCACGCGGTTTCCAGGATTACCGTGTC

【０３０８】

【表４－４】

		AGCATCGATGCGGAAGCTCTGCCTCAGGGCGTGAGCGTGCGCGAGTACCTCT AG

【０３０９】

【表４－５】

crArray 1	25	ACAAGCGGCACATTGTGCCTATTGCGAATTAGGCACAATGTGCCTAATCTAAC GTCATGCCAGCCACAACGGCGAGGCGCCAAGAAGGATAGAAGCCGTCGCGCC CCGCACGGGCGCGTGGATTGAAACAGAAGGGTCAGGGCCATGCGGTTTTTCC TCTGTGGTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGATTGAAACGAGACCGAAGAGAA CGTGCCGACCACCGCCGCTGGTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGATTGAAAC TGCTGAACAGCCATGATTGATTAACTCCTAAACGGTCGCGCCCCGCACGGGCG CGTGGATTGAAACCATGCAAGCTTGGCGTAGGCCGCTTCGTCCCTATCAAAGC TTGGAGTTTACAGCTAGCTCAGTCCTAGGGACTGTGCTAGCATTAAAGAGGAG AAAATGGACGCGGAGGCTAGCGATACTCACTTTTTTGCTCACTCCACCTTAAA GGCAGATCGCAGCGATTGGCAGCCTCTGGTCGAGCATCTACAGGCTGTTGCC CGTTTGGCAGGAGAGAAGGCTGCCTTCTTCGGCGGCGGTGAATTAGCTGCTC TTGCTGGTCTGTTGCATGACTTGGGTAAATACACTGACGAGTTTCAGCGGCGT ATTGCGGGTGATGCCATCCGTGTCGATCACTCTACTCGCGGGGCCATACTGGC GGTAGAACGCTATGGCGCGCTAGGTCAATTGCTAGCCTACGGCATCGCTGGC CACCATGCCGGGTTGGCCAATGGCCGCGAGGCTGGTGAGCGAACTGCCTTGG TCGACCGCCTGAAAGGGGTTGGGCTGCCACGGTTATTGGAGGGGTGGTGCGT GGAAATCGTGCTACCCGAGCGCCTTCAACCACCGCCACTAAAAGCGCGCCTG GAAAGAGGTTTCTTTCAGTTGGCCTTTCTTGGCCGGATGCTCTTTTCCTGCTT GGTTGATGCGGATTATCTAGATACCGAAGCCTTCTACCACCGCGTCGAAGGAC GGCGCTCCCTTCGCGAGCAAGCGCGGCCGACCTTGGCCGAGTTACGCGCAGC CCTTGATCGGCATCTGACTGAGTTCAAGGGAGATACGCCGGTCAACCGCGTTC GCGGGGAGATATTGGCCGGCGTGCGCGGCAAGGCGAGCGAACTTCCCGGGCT GTTTTCTCTCACAGTGCCCACAGGAGGCGGCAAGACCCTGGCCTCTCTGGCTT TCGCCCTGGATCACGCTCTAGCTCATGGGCTGCGCCGGGTGATCTACGTGATT CCCTTCACTAGCATCGTCGAGCAGAACGCTGCGGTATTCCGTCGTGCACTCGG GGCCTTAGGCGAAGAGGCGGTGCTGGAGCATCACAGCGCCTTCGTTGATGAC CGCCGGCAGAGCCTGGAGGCCAAGAAGAAACTGAACCTAGCGATGGAGAACT GGGACGCGCCTATCGTGGTGACCACTGCAGTGCAGTTCTTCGAAAGCCTGTTT GCCGACCGTCCAGCCCAGTGCCGCAAGCTACACAACATCGCCGGCAGCGTGG TGATTCTTGACGAGGCACAGACCCTACCGCTCAAGCTGTTGCGGCCCTGCGTT GCCGCCCTTGATGAACTGGCGCTCAACTACCGTTGTAGCCCAGTTCTCTGTAC TGCCACGCAGCCAGCGCTTCAATCGCCGGATTTCATCGGTGGGCTGCAGGAC GTACGTGAGCTGGCGCCCGAGCCGCAGCGGCTGTTCCGGGAGTTGGTGCGGG TACGAATACGGACATTGGGCCCGCTCGAAGATGCGGCCTTGACTGAGCAGAT CGCCAGGCGTGAACAAGTGCTGTGCATCGTCAACAATCGACGCCAGGCCCGT GCGCTCTATGAGTCGCTTGCCGAGTTGCCCGGTGCCCGCCATCTCACCACCCT GATGTGCGCCAAGCACCGTAGCAGCGTGCTGGCCGAGGTGCGCCAGATGCTC AAAAAGGGGGAGCCCTGTCGCCTGGTGGCCACCTCGCTGATCGAGGCCGGTG TGGATGTGGATTTTCCCGTGGTACTGCGTGCCGAGGCTGGATTGGATTCCATC GCCCAGGCCGCGGGACGCTGCAATCGCGAAGGCAAGCGGCCGCTGGCCGAAA GCGAGGTGCTGGTGTTCGCCGCGGCCAATTCTGACTGGGCGCCACCCGAGGA ACTCAAGCAGTTCGCCCAGGCCGCCCGCGAAGTGATGCGCCTGCACCCGGAT GATTGCCTGTCCATGGCGGCCATCGAGCGGTATTTTCGCATACTGTACTGGCA GAAGGGCGCGGAGGAGTTGGATGCGGGTAACCTGCTCGGCCTGATTGAGAGA GGCCGGCTCGATGGCCTGCCCTACGAGACTTTGGCCACCAAGTTCCGCATGAT CGACAGCCTTCAACTGCCGGTGATCATCCCATTTGATGACGAGGCCAGAGCAG CCCTGCGCGAGCTGGAGTTCGCCGACGGCTGCGCCGCCATCGCCCGTCGCCT GCAGCCATATCTGGTGCAGATGCCACGCAAGGGTTATCAGGCATTGCGGGAA GCCGGTGCGATCCAGGCGGCGGCAGGTACGCGTTATGGTGAGCAGTTTATGG CGTTGGTCAACCCTGATCTGTATCACCACCAATTCGGGTTGCACTGGGATAAT CCGGCCTTTGTCAGCAGCGAGCGGCTATGTTGGTAGTCGGGACGCGCAACAG CGGCCTGGCCTGGATGATGTGAAAGGGAGGGCCGATGGCCTACGGAATTCGC TTAATGGTCTGGGGCGAGCGTGCCTGCTTCACCCGCCCGGAAATGAAGGTGG AACGCGTCTCTTACGATGCGATCACGCCGTCCGCCGCGCGGCATTCTCGA GGCTATCCACTGGAAGCCGGCGATTCGCTGGGTGGTGGATCGCATTCAAGTG CTTAAGCCGATCCGCTTCGAATCCATCCGGCGCAACGAGGTCGGCGGCAAGC TGTCCGCTGTCAGCGTCGGTAAGGCAATGAAGGCCGGGCGTACTAATGGTCT

【０３１０】

【表４－６】

		GGTGAATCTGGTCGAGGAGGATCGCCAGCAGCGCGCGACTACTCTGCTGCGC
		GATGTCTCCTATGTCATCGAGGCGCATTTCGAGATGACTGACAGGGCTGGCGC
		CGACGATACGGTGGGCAAGCATCTGGATATCTTCAACCGTCGCGCACGGAAG
		GGGCAGTGCTTCCATACACCCTGCCTAGGCGTGCGCGAGTTTCCGGCCAGTTT
		TCGGTTGCTGGAAGAGGGCAGTGCCGAGCCTGAAGTCGATGCCTTTCTGCGC
		GGCGAGCGTGATCTGGGCTGGATGCTGCATGACATTGACTTCGCCGATGGCA
		TGACCCCGCACTTCTTCCGTGCCCTGATGCGCGATGGGCTGATCGAGGTGCC
		GGCCTTCAGGGCGGCAGAGGACAAGGCATGATCCTTTCGGCCCTCAATGACT
		ATTATCAGCGACTGCTGGAGCGGGGTGAAGCGAATATCTCACCCTTCGGCTAC
		AGCCAAGAAAAGATCAGTTACGCCCTGCTGCTGTCCGCACAAGGAGAGTTGCT
		GGACGTGCAGGACATTCGCTTGCTCTCTGGCAAGAAGCCTCAACCCAGGCTTA
		TGAGTGTGCCGCAGCCGGAGAAGCGCACCTCGGGCATCAAGTCCAACGTACT
		GTGGGACAAGACCAGCTATGTGCTGGGTGTTAGTGCCAAGGGCGGAGAGCGT
		ACTCAGCAGGAGCACGAGTCCTTCAAGACGCTGCACCGGCAGATCTTGGTTG
		GGGAAGGCGACCCCGGTCTGCAGGCCTTGCTCCAGTTCCTCGACTGTTGGCA
		GCCGGAGCAGTTCAAGCCCCCGCTGTTCAGCGAAGCAATGCTCGACAGCAAC
		TTAGTGTTCCGCCTAGACGGCCAACAACGCTATCTGCACGAGACTCCGGCGGC
		CCTGGCGTTGCGTACCCGGCTGTTGGCCGACGGCGACAGCCGCGAGGGGCTG
		TGCCTAGTCTGCGGCCAACGTCAGCCGTTGGCGCGCCTGCATCCAGCGGTCA
		AGGGCGTCAATGGTGCCCAGAGTTCGGGGGCTTCCATCGTCTCCTTCAACCTC
		GACGCTTTTTCCTCCTACGGCAAGAGCCAGGGGGAAAATGCTCCGGTCTCCGA
		ACAGGCCGCCTTTGCCTACACCACGGTGCTCAACCATTTGTTGCGTCGCGACG
		AGCACAACCGCCAGCGCCTGCAGATTGGCGACGCGAGTGTGGTGTTCTGGGC
		GCAGGCGGATACTCCTGCTCAGGTGGCCGCCGCCGAGTCGACCTTCTGGAAC
		CTGCTGGAGCCACCCGCAGATGATGGTCAGGAAGCGGAAAAGCTGCGCGGCG
		TGCTGGATGCTGTGGCCACGGGGCGGCCCTTGCATGAGCTCGACTCGCTAAT
		GGAGGAAGGTACCCGCATTTTTGTGTTAGGGCTGGCGCCCAATACCTCGCGA
		CTGTCCATTCGGTTCTGGGCAGTCGATAGCCTTGCGGTATTCACCCAGCATCT
		GGCCGAGCATTTCCGGGATATGCACCTTGAGCCTCTGCCCTGGAAGACGGAG
		CCGGCCATCTGGCGCTTGCTCTATGCTACCGCGCCCAGTCGTGACGGCAGAG
		CCAAGACCGAAGACGTACTCCCACAACTGGCCGGTGAAATGACCCGCGCCAT
		CCTGACCGGCAGCCGCTATCCGCGCAGTTTGCTAGCCAACCTGATCATGCGCA
		TGCGTGCCGACGGCGACGTCTCTGGCATACGCGTCGCGCTGTGCAAGGCCGT
		GCTCGCTCGCGAGGCACGCCTGAGCGGCAAAATTCACCAAGAGGAGCTACCT
		ATGAGTCTCGACAAGGACGCCAGCAACCCCGGCTATCGCTTGGGGAGGCTGT
		TCGCCGTGTTGGAAGGCGCCCAGCGCGCAGCCCTGGGCGACAGGGTCAATGC
		CACTATCCGTGACCGCTACTACGGTGCCGCGTCCAGCACGCCAGCCACGGTTT
		TCCCGATACTGCTGCGCAACACACAAAACCACTTGGCCAAGCTGCGCAAGGA
		GAAGCCCGGACTAGCAGTGAACCTAGAGCGCGATATAGGCGAAATCATTGAC
		GGTATGCAGAGCCAATTCCCGCGTTGCCTGCGCCTGGAGGACCAGGGACGCT
		TTGCTATTGGTTACTACCAACAGGCCCAGGCCCGTTTCAACCGTGGCCCCGAT
		TCCGTCGAGTAAGGAGCAGAAGAATGACCGCCATCTCCAACCGCTACGAGTTC
		GTTTACCTCTTTGATGTCAGCAATGGCAATCCCAATGGCGACCCGGATGCTGG
		CAACATGCCGCGTCTCGATCCGGAAACCAACCAGGGGTTGGTCACTGACGTTT
		GCCTCAAGCGCAAGATCCGCAACTACGTCAGCCTGGAGCAGGAAAGTGCCCC
		CGGCTATGCCATCTATATGCAGGAAAAATCCGTGCTGAATAACCAGCACAAAC
		AGGCCTACGAGGCGCTCGGTATCGAGTCAGAGGCAAAGAAACTGCCCAAGGA
		CGAAGCCAAGGCGCGCGAACTGACCTCTTGGATGTGCAAGAACTTCTTCGATG
		TGCGTGCTTTCGGGGCGGTGATGACCACCGAGATTAATGCCGGCCAGGTGCG
		TGGACCGATCCAACTGGCATTCGCCACGTCTATCGACCCGGTATTGCCTATGG
		AGGTATCCATCACCCGCATGGCGGTGACTAACGAAAAGGATTTGGAGAAGGA
		ACGCACCATGGGACGCAAGCACATCGTGCCTTACGGCTTGTACCGCGCCCAT
		GGTTTCATCTCTGCCAAGTTGGCCGAGCGAACCGGCTTTTCCGACGACGACTT
		GGAACTGCTATGGCGCGCTTTGGCCAATATGTTCGAACACGACCGCTCGGCG
		GCACGTGGCGAGATGGCAGCGCGCAAGTTGATCGTCTTCAAGCATGAGCATG
		CCATGGGCAATGCACCCGCCCATGTGCTGTTCGGCAGCGTTAAGGTCGAGCG
		AGTCGAGGGGGACGCAGTTACACCAGCACGCGGTTTCCAGGATTACCGTGTC

【０３１１】

【表４－７】

		AGCATCGATGCGGAAGCTCTGCCTCAGGGCGTGAGCGTGCGCGAGTACCTCT AG

【０３１２】

実施例２：外因性ＣａｓオペロンとｃｒＲＮＡスペーサは細菌を死滅させた

機能的Ｉ－Ｃ型Ｃａｓオペロンを有する緑膿菌株を、Ｃａｓのみ、またはｃｒＲＮＡ含有プラスミドにより形質転換させた。外因性Ｉ－Ｃ型Ｃａｓ系の存在下、ｃｒＲＮＡの発現によって細菌が自己標的化を行い、自身のＤＮＡを分解した。形質転換体の総数を、プラスミドに特異的な抗生物質選択を用いて寒天プレート上で背長するコロニー数を計数することによって判定した。コロニーを形成可能な細菌のみが、プラスミドを獲得するとともに生存して自己標的化を行う細菌である。これらのデータが示すところでは、図２Ａに見られるように、外因性Ｃａｓ発現によって、外因性の系よりも、および外因性の系が存在しない場合の機能よりも自己標的化が改善した。上部２つのパネルは、Ｃａｓのみのプラスミド、単一の標的化スペーサを含有するプラスミド、または３－スペーサ標的化アレイを含有するプラスミドを、外因性Ｉ－Ｃ型Ｃａｓ系を含有する菌株へと形質転換させた結果を示した。本実験環境では、個々のスペーサまたはアレイは外因性Ｃａｓ系とともに作用し、大半の形質転換体を死滅させるのに十分であった。下部のパネルが示すところでは、外因性Ｉ－Ｃ型ＣａｓオペロンをｃｒＲＮＡプラスミドに添加すると形質転換後の死滅がさらに増強され、細菌の存在量は検出量未満であった。

【０３１３】

プラスミドを、機能的Ｉ－Ｃ型Ｃａｓオペロンを含有しなかった緑膿菌株へと形質転換させた。形質転換されたプラスミドは、スペーサアレイのみ、またはスペーサアレイとＩ－Ｃ型Ｃａｓオペロンを発現した。図２Ｂは、緑膿菌株ｂ１１２１におけるＣａｓオペロンのヌル変異体への形質転換１ｍＬごとに得られた細菌形質転換体の数を示す。アレイ１は細菌を標的とし、アレイ２は非標的化対照である。様々なプラスミドを、モル濃度により空ベクターの対照プラスミドへと正規化した。細胞をＣａｓと標的化アレイ１の両方により形質転換すると、検出された形質転換体数の減少を認めた。標的化アレイ１のみで、または非標的化アレイ２で形質転換された細胞は、空ベクターとともに受け取られた形質転換体の数と比較すると、形質転換体数の減少を示さなかった。

【０３１４】

個々のスペーサまたは固有のアレイを含有するプラスミドを、外因性Ｉ－Ｃ型Ｃａｓ系を有する緑膿菌株ｂ１１２１、または同じ菌株のＣａｓオペロンのヌル変異体へと形質転換させた。ｂ１１２１形質転換細胞に細胞死を観察したが、Ｃａｓオペロンのヌル変異体では観察されなかった。図２Ｃに表すこれらのデータが示すところでは、ｒｐｏＢおよびｆｔｓＡのほか、アレイ３およびアレイ４を標的とする個々のスペーサは、外因性Ｉ－Ｃ型Ｃａｓ系とともに作用して細胞を死滅させることが可能であった。

【０３１５】

実施例３：ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ完全構築物により操作されたファージの安定性

図３Ａは、野生型ファージｐ１７７２とその操作された多様体のゲノムの模式図を表す。ゲノム軸より下にあるバーは、除去され交換されたゲノムの領域を示す。ファージゲノムより下にある模式図は、検出された領域中のＷＴファージゲノムを交換するのに使用したＤＮＡを図示する。ＣＲＩＳＰＲアレイであるｃｒＡｒｒａｙ１、ｃｒＡｒｒａｙ３、およびｃｒＡｒｒａｙ４は、細菌を標的とし、かつ、活動的なＩ－Ｃ型Ｃａｓ系の存在下で細菌を死滅されると予想される。ｃｒＡｒｒａｙ２は、非標的化スペーサから作製されるが、構造上は３つの標的化アレイと同じであり、Ｉ型Ｃａｓに特異的な自己標的化活性を実証するための対照として機能する。

【０３１６】

ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ３構築物を保因するファージを連続的に継代して、ファージゲノムに含まれるリピートの安定性を評価した。ｐ１７７２ｅ００５を緑膿菌株ｂ１１２６（Ｉ－Ｆ型菌株）上で連続的に増幅させた。増幅１から８までを一工程の増幅として実施し、細菌を一晩培養したもの５０ｕＬを１５ｍＬファルコンチューブ中、５ｍＬのＬＢに添加した後、直ちに先の溶解物１μＬを添加した。混合物を振盪インキュベータ中、３７℃で１０～１６時間かけて成長させた。インキュベーションに続き、ファージと細菌の混合物を５，０００ｒｃｆで１０分間遠心分離し、上清を０．４５μｍシリンジフィルタに通して濾過し、－４℃で保管した。増幅９では、増幅８の連続１０倍希釈物を、菌株ｂ１１２１またはｂ１１２６のソフト寒天オーバーレイの上に点在させた（ｓｐｏｔｔｅｄ）。各プレートから１つのプラークをピペットで取り上げ２００μＬのＰＢＳに移すことで、増幅９を得た。１０μＬの増幅９を５０μＬのｂ１１２１またはｂ１１２６に一晩かけて添加し、次いで５ｍＬのＬＢを約１６時間成長させた後、遠心分離と濾過を行った。サンガーシーケンシングでは、ファージＤＮＡを、操作部位に隣接するプライマーを用いてＰＣＲにより溶解物から増幅させた。サンガーシーケンシングとＮＧＳシーケンシングにより、ファージゲノム上に充填されたときのＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ３構築物に安定性と完全性を認めた（図３Ｂに示す）。

【０３１７】

実施例４．　ＣＲＩＳＰＲ構築物を有するバクテリオファージの形態学

粗製の溶解物１．５ｍＬを４℃、２４，０００ｘｇで１時間遠心分離した。上清の画分（約１．４ｍＬ）を慎重に破棄し、酢酸アンモニウム１ｍＬ（０．１Ｍ、ｐＨ７．５）を残りの溶解物に添加した後、遠心分離した。この工程を２回行った。洗浄したファージ試料をネガティブ染色透過型電子顕微鏡（ｎｅｇａｔｉｖｅ－ｓｔａｉｎ　ｔｒａｎｓｍｉｓｓｉｏｎ　ｅｌｅｃｔｒｏｎ　ｍｉｃｒｏｓｃｏｐｙ）により可視化した。グロー放電

されたホルムバール／炭素を被覆させた４００メッシュの銅線（Ｔｅｄ　Ｐｅｌｌａ，Ｉｎｃ．，Ｒｅｄｄｉｎｇ，ＣＡ）を、試料懸濁液の２５μＬ小滴上に５分間フロートさせ（ｆｌｏａｔｅｄ）、速やかに脱イオン水２滴に移し、続いて２％酢酸ウラシル水溶液の小滴で３０秒間染色した。銅線をフィルタ紙で拭き取り風乾させた。８０ｋＶで作動するＪＥＯＬ　ＪＥＭ－１２３０透過型電子顕微鏡を用いて試料を観察し、Ｇａｔａｎ　Ｍｉｃｒｏｓｃｏｐｙ　Ｓｕｉｔｅ　３．０ソフトウェアを備えたＧａｔａｎ　Ｏｒｉｕｓ　ＳＣ１０００　ＣＣＤカメラを用いて画像を取得した。結果を図４に例証する。修飾後のファージの形態には、観察可能な明らかな変化は認められなかった。

【０３１８】

実施例５．　ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ完全構築物で操作されたファージの増幅

ｐ１７７２ｗｔ（野生型）、操作された多様体ｐ１７７２ｅ００４（Ｃａｓ系のみ）、およびｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）を、１の感染多重度（ＭＯＩ）でｂ１１２６の指数関数的に成長する培養物と混合した。感染後０分、１５分、３０分、１時間、２時間、４時間、７時間１０分、および７４時間で、プラーク形成単位（ＰＦＵ）の数え上げのために試料を採取し（図５Ａ～図５Ｂ）、ＲＮＡ単離と定量化を行った。ＰＦＵの数え上げにおいて、各時点で採取した試料を０．４５μｍフィルタに通して濾過し、宿主細菌からファージを分離した。スライド３において記載したようにソフト寒天オーバーレイを調製した。ファージ試料の１０倍連続希釈物をオーバーレイに点在させ、３７℃でインキュベートした。翌日、プラークを計数し、初期の試料中のＰＦＵ／ｍＬの算出に使用した。これらのデータより、ファージの成長パターンに有意差は観察されず、各ファージは同様の最大力価に達した。

【０３１９】

ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００４、およびｐ１７７２ｅ００５を１ｅ６の粒子数に希釈し、個々のファージをそれぞれ用いて３４個の異なる細菌のパネルを０．０１のＭＯＩで感染させた。６００ｎｍ波長での光学濃度（ＯＤ）読取りを２０時間にわたり１時間ごとに捕捉した。得られたＯＤの読み取りを用いて、３つのファージの存在下、細菌の成長曲線を生成した。積分を用いて、成長曲線ごとの曲線下面積（ＡＵＣ）を算出し、ファージ追加後により少ないＡＵＣは細菌負荷の減少を示す。培養物のＯＤ６００（濁度）を経時的にモニタリングすることにより宿主範囲を判定し、グラフの下部に示される出発量の導入されたファージ（１ミリリットルごとのプラーク形成単位におけるインプットファージ力価）を伴う細菌成長曲線を得た。所与の菌株のＡＵＣを、ファージの存在下と不在下で比較した。図５ＣはＡＵＣ比を例証しており、このときファージの存在下での菌株成長のＡＵＣ算出は、ファージの不在下での菌株成長のＡＵＣで割られる。各列は、固有の細菌株を表す。ヒートマップ中の値が暗くなるほど、細菌負荷の減少が強くなる。このファージは、（ファージの存在下でのＡＵＣ）／（ファージの不在下でのＡＵＣ）が０．６５未満の場合に所与の菌株を感染させると考慮された。ＡＵＣ比のヒートマップが実証するところでは、操作されたファージ多様体は本アッセイにおいて野生型の親に匹敵する宿主範囲を有していた。ｐ１７７２ｗｔ、ｐ１７７２ｅ００４、およびｐ１７７２ｅ００５の宿主範囲は互いに同様であり、本アッセイのエラー内であった。プラーキング（ｐｌａｑｕｉｎｇ）によりＡＵＣヒットの宿主範囲を確認すると、ＷＴとＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ３の間に差は認められなかった。

【０３２０】

表２は、２個の固有の完全構築物を含有する操作されたファージｐＡｒｒａｙ３（標的化ｃｒＡｒｒａｙ３＋Ｃａｓ系）とｐＡｒｒａｙ４（標的化ｃｒＡｒｒａｙ４＋Ｃａｓ系）に対する代表的な成長実験から得たデータを示す。本アッセイでは、ＬＢ成長培地に単一の細菌コロニーを接種させ、「インプットＰＦＵ／ｍＬ」の行に示すようにファージを追加することにより、増幅を実施した。増幅を一晩インキュベートした。インキュベーション後、細菌を濾過により除去し、溶解物中のファージ力価をソフト寒天オーバーレイ方法により定量化した。溶解物の力価を「アウトプットＰＦＵ／ｍＬ」の行に示す。これらのデータが示すところでは、操作されたファージは効率的に複製を行った。これらのデー

タはまた、滴定アッセイの相対精度も実証する。

【０３２１】

【表５】

表 2: pArray3 と pArray4 の成長

ファージ名	複製物	インプット PFU/ml	アウトプット PFU/ml	倍率増加
pArray3	1	3.00e+6	2.25e+9	750
pArray3	2	1.90e+6	4.00e+9	2105
pArray4	1	1.00e+5	8.00e+9	80000
pArray4	2	5.00e+5	2.50e+9	5000

【０３２２】

実施例６．　操作されたファージにおけるＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の発現

本実施例では、Ｃａｓ系とｃｒＡｒｒａｙがファージゲノムから成功裏に発現されたことを示す。図６Ａは、ｐ１７７２および本明細書中に記載の他のファージへと操作されるスペーサアレイ（ｃｒＡｒｒａｙ）とＣａｓオペロンの配置を表す。矢印は、遺伝子発現の量的逆転写ＰＣＲ（ｑＲＴ－ＰＣＲ）分析に使用したプライマー対の結合位置を表す。

【０３２３】

ｐ１７７２ｗｔ（野生型）はＣａｓオペロンを含有しておらず、対照として使用された。ＲＮＡ単離では、各時点で採取した試料をＲＮＡ保護物に直接添加した。試料を室温で５分間インキュベートし、５，０００ｘｇで１０分間遠心分離し、上清を破棄した。ペレットを－８０℃で保管した。次いで、Ｑｉａｇｅｎ　ＲＮｅａｓｙ　Ｍｉｎｉ　Ｋｉｔを用いてＲＮＡを単離した。ＢｉｏＲａｄ　ｉＳｃｒｉｐｔ　ｃＤＮＡ合成キットを用いてｃＤＮＡを合成した。ＢｉｏＲａｄ　ＳｓｏＡｄｖａｎｃｅｄ　Ｕｎｉｖｅｒｓａｌ　ＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎ　Ｓｕｐｅｒｍｉｘ　を用いてｑＲＴ－ＰＣＲを実施した。すべてのデータは、２個の生体複製の平均であった。倍率変化は$2^{-\Delta\Delta Ct}$であり、緑膿菌遺伝子ｒｐｓＨをハウスキーピング遺伝子として使用し、各データポイントを同じ時点で対照のみの細胞と比較した。

【０３２４】

図６Ｂ～図６Ｄは、ファージｐ１７７２の様々な変異体による緑膿菌株の感染後、示されたＲＮＡの相対的発現レベルを示す。これらグラフ中のデータを、ファージが存在しないビヒクル対照と比較したときの発現における倍率変化として提示した。各時点を、その時点で未感染の対照へと正規化した。細菌濃度の変化を、細菌ハウスキーピング遺伝子ｒｐｓＨを用いて試料を正規化することにより説明した（ａｃｃｏｕｎｔｅｄ　ｆｏｒ）。これらのデータが示すところでは、ファージはｃｒＡｒｒａｙ、Ｃａｓ３、およびＣａｓ８ｃ転写物を産出する一方、緑膿菌を感染させる。パネルＢ～Ｄに使用される細菌宿主は外因性Ｃａｓオペロンを含有していたため、ｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）とｐ１７７２ｗｔとの間の差は、外因性発現を上回るファージ媒介型の発現増加を表す。

【０３２５】

図６Ｅは、様々な操作されたファージゲノムからのｃａｓ３　ｍＲＮＡの相対的発現を示す。これらのデータが示すところでは、感染後１時間で、ｐ１７７２ｅ００５からのｃａｓ３発現は、その他２個の操作されたファージ、ｐ２１３１ｅ００２（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）とｐ２１３２ｅ００２（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）から

の発現よりも多かった。しかし、感染後２４時間で、発現されたファージは同じ量のｃａｓ３に近づいた。ｃａｓ３　ＲＮＡ発現をファージｇＤＮＡの量と比較し、感染後１時間でｐ１７７２ｅ００５に対し正規化することにより、これらのデータを算出した。これらのアッセイに使用した細菌株はＣａｓヌルであったため、外因性ｃａｓ３発現による寄与は認められなかった。

【０３２６】

実施例７．　ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ完全構築物により操作されたときのファージの溶菌活性

ｐ１７７２インキュベータ菌株ｂ１１２１を一晩飽和させた培養物１００μＬと０．３７５％寒天６ｍＬを、１０ｍＭ　ＭｇＣｌ$_2$と１０ｍＭ　ＣａＣｌ$_2$を含有するＬＢ中で混合することにより、トップ寒天オーバーレイ（Ｔｏｐ　ａｇａｒ　ｏｖｅｒｌａｙｓ）を調製した。トップ寒天を固形化した後、ｐ１７７２ｗｔ（野生型）、ｐ１７７２ｅ００４（Ｃａｓ系のみ）、およびｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）の連続１０倍希釈物の２μＬ滴を、トップ寒天の表面上に点在させた。プレートを３７℃で約１８時間インキュベートした後、Ｋｅｙｅｎｃｅ　ＢＺ－Ｘ８００マイクロスコープを用いて４倍および１０倍の倍率で画像化した。図７は、ｐ１７７２ファージのプラーク形態の改善を図示する。野生型ファージの形態は、濁りのあるプラークを産出することが観察されたが、操作された多様体ｐ１７７２ｅ００５は、濁りのあるハロ（ｈａｚｙ　ｈａｌｏ）を有するが中心は透明である、より小さなサイズのプラークを産出した。このデータが示唆するところでは、ｐ１７７２ｅ００５はｐ１７７２ｗｔよりも完全に細菌を死滅させた。

【０３２７】

実施例８：ｃｒＡｒｒａｙとＣａｓオペロンを含有するファージは、細菌の死滅においてｃｒＡｒｒａｙしか含有していないファージよりも有効であった

ｐ１７７２野生型、および操作されたファージを、対数関数的成長下で細菌と混合させ、直ちにＬＢ寒天上の２ｕｌスポットに播種した。連続希釈によりファージと細菌との比を変更することで、細菌の量を各希釈において一定に留めたが、ファージの量は１～４の希釈であった。最大の希釈では、感染多重度（ＭＯＩ）は１００であり、このことは細菌ごとに約１００個のファージが存在することを意味している。図８Ａでは、それらのスポット中で成長した細菌コロニーがほとんどまたは全く存在していない一方、野生型ファージは細菌コロニー形成を調節しなかったということによって示されるように、ｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）とｐ１７７２ｅ００６（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１のみ）の両方は、一晩の感染後にＩ－Ｃ型菌株に存在する細菌の大多数を一貫して死滅させた。このため、野生型およびｐ１７７２ｅ００４（Ｃａｓ系のみ）は、１００のＭＯＩであっても細菌複製を制御することができなかった。図８Ｂが示すところでは、ｐ１７７２ｅ００６は、細菌中の外因性Ｃａｓ系に起因してこの細菌株中の野生型よりも効率的に細菌を死滅させたが、外因性Ｃａｓ系（ｐ１７７２ｅ００５）も含有するファージほど有効とは考えられなかった。この理由は、長時間のインキュベーションで、ｐ１７７２ｅ００５よりもｐ１７７２ｅ００６に曝露されたスポットにおいて多くの細菌がコロニーを形成するからであった。

【０３２８】

図８Ｃは、図８Ａ～図８Ｂで実施された同じ種類のアッセイから得た単一のＭＯＩの定量化である。図８ＡＢ～８Ｂとは対照的に、パネルＣ中の細菌株は外因性Ｃａｓ系を有していなかったが、ｍＣｈｅｒｒｙ遺伝子のゲノム組込みを行ったコピーを有していた。このプレートを画像化し、各スポットの蛍光を定量化した。１．５のＭＯＩについての結果を示すが、０．４を超えるＭＯＩはすべて、１．５のＭＯＩと一貫した結果であった。外因性Ｃａｓ系が欠如していることが原因で、ｃｒＡｒｒａｙのみのファージ（ｐ１７７２ｅ００６）は野生型ファージと同様の挙動を呈した。非標的化ｃｒＡｒｒａｙを含有する完全に操作されたファージ（ｐ１７７２ｅ００８）も野生型と比べて改善されなかった。しかし、標的化ｃｒＡｒｒａｙを含有する完全に操作されたファージ（ｐ１７７２ｅ００５）は、他のあらゆるファージ多様体よりも相当大きな程度にまで細胞成長を阻害した。

このデータが示すところでは、完全に操作された多様体は外因性Ｃａｓ系を必要としなくても有効であった。

【０３２９】

活動的な外因性Ｉ－Ｃ型Ｃａｓ系を有する緑膿菌株（ｂ１１２１）を中等度対数的段階（ｍｉｄ－ｌｏｇａｒｉｔｈｍｉｃ　ｐｈａｓｅ）に成長させ、液体培養物中、指定の感染多重度（ＭＯＩ）でファージを感染させた。すべての場合に、図９Ａ～図９Ｃに表すように、ファージは、未感染の対照と比較して、回復されたコロニー形成単位（ＣＦＵ）／ｍＬの低下により示される細菌を死滅させることに成功した。ｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）とｐ１７７２ｅ００６（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１のみ）はともに、野生型ファージよりも効率的に細菌を死滅させた。ｐ１７７２ｅ００４（Ｃａｓ系のみ）はｐ１７７２ｗｔ（野生型）または自己標的化多様体と比較して活性が改善されなかったため、自己標的化ｃｒＲＮＡとＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ成分がともにファージの有効性の改善に必要であったことが実証された。顕著なことに、ｐ１７７２ｅ００６とｐ１７７２ｅ００５は同等のレベルで死滅させたため、操作されたファージ多様体は、適合性があり活動的なＣａｓ系の存在下で、ファージからの細菌標的化Ｃａｓ系の発現により死滅させることができると実証された。これら図面中の点線は、本アッセイでの検出限界（ＬＯＤ）を表す。コロニーが得られなかった試料をＬＯＤで示す。

【０３３０】

実施例９：多数の異なる緑膿菌標的化スペーサはファージの有効性を改善した

ｐ１７７２野生型および操作されたファージ多様体を、対数関数的成長下でｍＣｈｅｒｒｙ発現細菌と混合し、速やかにＬＢ寒天上に播種した。ファージの連続希釈を実施することによりファージと細菌との比を変更することで、細菌の量は各スポットで一定に維持されたが、ファージの量は変化した。最高の感染多重度（ＭＯＩ）は１００であり、このことは細菌ごとに約１００個のファージが存在することを意味している。一晩のインキュベーション後、明視野とｍＣｈｅｒｒｙ蛍光によりプレートを画像化することにより、細菌成長を記録した。これらの画像に基づき試料に対し定量化を行った。

【０３３１】

５個の異なるファージ多様体を使用して、外因性Ｉ－Ｃ型Ｃａｓ系（ｐ１７７２ｅ００８）を有する非標的化ｃｒＲＮＡ、外因性ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系（ｐ１７７２ｅ００６）を有していない自己標的化ｃｒＲＮＡ単独、外因性Ｉ－Ｃ型Ｃａｓ系（ｐＡｒｒａｙ３およびｐＡｒｒａｙ４）とともに送達される２個の異なる自己標的化ｃｒＡｒｒａｙ、および親の野生型ファージ（ｐ１７７２ｗｔ）を送達する溶菌性ファージの効果を判定した。これらのアッセイでは、あらゆる外因性Ｃａｓ系を欠く緑膿菌株、および指定のファージを指定の比で組み合わせ、速やかにＬＢプレート上に播種した。これらのアッセイに使用した宿主細菌株はＣａｓヌルであり、相対的蛍光の測定により細菌の観察と定量化を容易にするために染色体に組み込まれたｍＣｈｅｒｒｙを有していた。この結果を図１０Ａ～図１０Ｂに表す。スポットの色が暗くなるほど、細菌成長は高くなる。各画像の右側にある数は感染多重度（ＭＯＩ）を表す。最高のＭＯＩでは、細菌１つごとに約１００個のファージが存在した。これらのプレート画像が示すところでは、より高いＭＯＩでは、ファージｐＡｒｒａｙ３とｐＡｒｒａｙ４（ともに活動的なＩ－Ｃ型Ｃａｓ系をコードするｐ１７７２ファージであり、それぞれ３つの異なる自己スペーサで構成される固有のｃｒＡｒｒａｙを有する）は、ｐ１７７２ｗｔ、Ｃａｓオペロンおよび非標的化スペーサを有するファージ（ｐ１７７２ｅ００８）、またはｃｒＡｒｒａｙを含有するが外因性Ｃａｓ系を含有していないｐ１７７２（ｐ１７７２ｅ００６）よりも効率的に緑膿菌を死滅させた。予想されるように、ｃｒＲＮＡのみのファージ（ｐ１７７２ｅ００６）は、細菌が外因性Ｃａｓ系を有していないためファージの有効性を改善しなかった。

【０３３２】

図１０Ｃは、図１０Ａ中のボックスのより高解像度の図であり、完全に操作されたファージ（ｐＡｒｒａｙ３）と、ｃｒＡｒｒａｙのみを有しＣａｓオペロンを有していないファージ（ｐ１７７２ｅ００６）との間の差を強調している。下部の列（ＭＯＩ　０．００

６１０）では、ｐＡｒｒａｙ３は、ｐ１７７２ｅ００６が形成したよりも透明なプラークを形成した（すなわち、ｐＡｒｒａｙ３試料中の明るいスポットがさらに明るくなった）。上部の列（ＭＯＩ　０．０２４４）では、ｐＡｒｒａｙ３はｐ１７７２ｅ００６よりも良好に細菌成長を阻害した（暗いスポット）。

【０３３３】

図１０Ｄ～１０Ｅは、存在する蛍光細菌の相対量を定量化する、図１０Ａと図１０Ｂに示す同じプラークの対応する蛍光画像の下側から４番目の列（ＭＯＩ約１．５）の定量化を示す。明視野画像と一貫して、約１．５のＭＯＩでは、ｐＡｒｒａｙ３とｐＡｒｒａｙ４で処理した試料は、野生型ファージまたは非標的化（ｐ１７７２ｅ００８）およびｃｒＡｒｒａｙのみ（ｐ１７７２ｅ００６）の操作されたファージで処理した試料よりも蛍光シグナルが有意に少なかった（生存可能な細菌細胞の損失を示す）。

【０３３４】

実施例１０：Ｃａｓオペロンの発現を誘導する様々なプロモータによるｃｒＡｒｒａｙ／Ｃａｓインサートの有効性

ｐ１７７２野生型および操作されたファージ多様体を、対数関数的成長下でｍＣｈｅｒｒｙ発現細菌と混合し、速やかにＬＢ寒天上に播種した。ファージの連続希釈を実施することによりファージと細菌との比を変更することで、細菌の量は各スポットで一定に維持されたが、ファージの量は変化した。最高の感染多重度（ＭＯＩ）は１００であり、このことは細菌ごとに約１００個のファージが存在することを意味している。一晩のインキュベーション後、明視野とｍＣｈｅｒｒｙ蛍光によりプレートを画像化することにより、細菌成長を記録した。これらの画像に基づき試料に対し定量化を行った。図１１Ａは、ｐ１７７２野生型、ならびにＣａｓ系と異なるプロモータにより発現されたｃｒＡｒｒａｙとを含有するファージの多数の操作された多様体による細菌の死滅を示す。操作されたファージ多様体のすべてがｐ１７７２ｅ００５と同じ構造を有していたが（図３Ａを参照）、Ｃａｓオペロンの発現を誘導するプロモータの同一性のみ異なっている。ｐ１７７２ｅ０１６では、緑膿菌中で外因性Ｉ－Ｃ型Ｃａｓ系を誘導するプロモータを使用した。ｐ１７７２ｅ００５、ｐ１７７２ｅ０１７、ｐ１７７２ｅ０２１ではすべて、大腸菌プロモータ、または大腸菌細菌プロモータの誘導体を使用した。ｐ１７７２ｅ０１８、ｐ１７７２ｅ０２２、およびｐ１７７２ｅ０２３ではすべて、緑膿菌細菌プロモータを使用した。ｐ１７７２ｅ０１９とｐ１７７２ｅ０２０では、緑膿菌ファージプロモータを使用した。両プレートは同じアッセイから得たものであり、対照（ｐ１７７２ｗｔとｐ１７７２ｅ００５）はスポットを播種する前に同じファージ細菌混合物から得たものである。使用した細菌宿主は、染色体からｍＣｈｅｒｒｙを発現したＣａｓヌル緑膿菌株であった。４倍の対物照射および明視野照射により個々の画像を獲得した後、まとめてステッチする（ｓｔｉｔｃｈｅｄ）ことで本明細書中に示す画像を得た。図１１Ｂは、図１１Ａに示す同じプレートの対応する蛍光画像の下側４番目の列（ＭＯＩ約１．５）の定量化を示す。使用した様々なプロモータにわたって、有効性全体に差を観察し、ｐ１７７２ｗｔと比較して著しく少ない蛍光シグナルにより示される（視認可能な細菌細胞の損失を示す）。

【０３３５】

実施例１１：多数の異なるファージが対数減少に対する有効性を改善した

野生型および操作されたファージ多様体を、対数関数的成長下でｍＣｈｅｒｒｙ発現細菌と混合し、速やかにＬＢ寒天上に播種した。示される結果は１．５の感染多重度（ＭＯＩ）から得たものであり、このことは細菌１つごとに約１．５のファージが存在することを意味する。一晩のインキュベーション後、ｍＣｈｅｒｒｙ蛍光においてプレートを画像化することにより細菌成長を記録した。これらの画像に基づき試料に対し定量化を図１２Ａ～図１２Ｂに表すように行った。２個の固有の野生型ファージ（ｐ２１３１とｐ２９７３）、およびそれらのＣａｓ系とｃｒＡｒｒａｙ１を含有する操作された対応物（ｐ２１３２ｅ００２とｐ２９７３ｅ００２）を試験した。１．５のＭＯＩでは、操作されたファージは野生型ファージよりも視認可能な細菌がはるかに少なかった。これらの結果が示すところでは、ファージにより送達されたＣａｓ系は複数の固有のファージにおいて作用す

る。

【０３３６】

実施例１２：代替的なファージおよびシュードモナス菌株におけるスペーサアレイ／Ｃａｓインサートの有効性

シュードモナス菌株のパネルに対してｐ４２０９ｗｔ（野生型）とｐ４２０９ｅ００２（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）を用いてアッセイを実施した。簡潔に説明すると、初期の対数段階の細菌培養物をファージと混合することで、図に列記する最終の力価をえた。試料を速やかに（ｔ＝０ｈ）、およびインキュベーションの３時間後と２４時間後に３７℃で播種した。プレートを画像化し、野生型多様体と完全構築物多様体との差を作表した。ｐ４２０９野生型、および操作されたファージ多様体を、対数関数的成長下でｍＣｈｅｒｒｙ発現細菌と混合し、速やかにＬＢ寒天上に播種するか、または播種の前に指定の時間量にわたり液体中でインキュベートした。ファージの連続希釈を実施することによりファージと細菌との比を変更することで、細菌の量は各スポットで一定に留まるが、ファージの量は変化した。細菌は複製を行ってファージに屈するため、ファージと細菌との相対比は実験期間にわたり推移した。一晩のインキュベーション後、プレートを画像化することにより細菌成長を記録した。画像の各セットの上部にあるラベルは、その画像に示される細菌株のＣａｓ型を表す。図１３Ａは本アッセイの結果を示す。すべての時点での菌株ｂ２５５０では、ｐ４２０９ｅ００２は、1×10^{9}ＰＦＵ／ｍＬの力価で、同じ力価でのｐ４２０９ｗｔと比較して完全に細胞成長を阻害した。ｔ＝０ｈでの菌株ｂ２６３１では、1×10^{5}ＰＦＵ／ｍＬの力価でｐ４２０９ｅ００２に成長は観察されなかったが、同じ力価でもｐ４２０９ｗｔでは成長が目に見えて大きかった。ｔ＝３ｈでの同じ菌株では、いずれの力価でもｐ４２０９ｅ００２に成長は観察されなかったが、ｐ４２０９ｗｔではすべての力価で目に見える成長を認めた。ｔ＝０ｈでの菌株ｂ２８１６では、1×10^{9}ＰＦＵ／ｍＬの力価でｐ４２０９ｅ００２に観察された成長は、同じ力価でのｐ４２０９ｗｔよりも僅かに少なかった。ｔ＝３ｈでの同じ菌株では、1×10^{9}ＰＦＵ／ｍＬの力価でｐ４２０９ｅ００２に観察された成長は非常に少なかったが、ｐ４２０９ｗｔでは同じ力価で顕著な成長を認めた。ｔ＝０ｈでの菌株ｂ２８２５では、1×10^{7}ＰＦＵ／ｍＬの力価でｐ４２０９ｅ００２に成長は観察されなかったが、同じ力価でｐ４２０９ｗｔには顕著な成長が観察された。ｔ＝３ｈでの同じ菌株では、1×10^{9}ＰＦＵ／ｍＬと1×10^{7}ＰＦＵ／ｍＬの力価でｐ４２０９ｅ００２にいくらか成長が観察されたが、同じ力価でもｐ４２０９ｗｔの方が目に見えて成長が大きかった。まとめると、これらのデータが示すところでは、固有のファージｐ４２０９ｅ００２は、関連していない様々な緑膿菌株に対するＣａｓおよびｃｒＲＮＡスペーサ活性を改善した。

【０３３７】

ｐ４２０９ｗｔ、ｐ４２０９ｅ００１（Ｃａｓ系のみ）、およびｐ４２０９ｅ００２（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）を多数の細菌株に対してプラーク化することで、プラーキングの効率を調べた。緑膿菌株ｂ１１２１はすべての多様体を等しく支持したため、力価基準として提供される。緑膿菌株ｂ２６３１では、野生型多様体は有意に減少したレベルでプラーク化し、Ｃａｓのみの多様体はすべてのレベルでプラーク化せず、完全に操作された多様体はｂ１１２１と比較して効率が損失することなくプラーク化した。緑膿菌株ｂ２８１６では、野生型多様体もＣａｓのみの多様体も活性の証拠を示さなかったが、完全に操作された多様体は透明（ｃｌｅａｒｉｎｇ）の領域を産出した。緑膿菌株ｂ２８２５では、野生型多様体とＣａｓのみの多様体はプラーキングの効率が顕著に低下したが、完全に操作された多様体はｂ１１２１に匹敵する効率を維持した。ｂ２６３１とｂ２８２５はともに、有害作用、すなわちプラーキング効率（ｂ２６３１）またはプラーク透明度（ｂ２８２５）の低下を有する操作イベント（Ｃａｓ系の挿入）を示す。両方の場合で、標的化ｃｒＡｒｒａｙ（Ｃａｓ系の活性を可能にするもの）の添加は低下した活性をレスキューするだけでなく、野生型の親に見られるものよりも活性を改善した。プレート画像の下部にあるラベルは、その画像に示される細菌株、およびその細菌株が含有する外因性Ｃａｓ系の種類を表す。これらの結果はさらに、Ｃａｓ系と標的化ｃｒＡｒｒａｙが

、ファージによる種々の細菌株の複製と死滅の能力を改善したことをさらに支持している。

【０３３８】

実施例１３．　Ｉｎ　ｖｉｖｏ有効性試験

図１５Ａは、ｐ１７７２ｗｔ（野生型）およびｐ１７７２ｅ００５（標的化ｃｒＡｒｒａｙ１＋Ｃａｓ系）を用いたｉｎ　ｖｉｖｏでの有効性モデリングに利用される材料と方法を概説する図である。ＥｎｖｉｇｏのメスＩＣＲマウスに、－４日目と－１日目に２回のシクロホスファミド腹腔内注射（それぞれ１５０ｍｇ／ｋｇと１００ｍｇ／ｋｇ）を行い、好中球減少を生じさせた。好中球減少の導入後、マウスに単回筋肉内注射を行うことで緑膿菌に感染させた。以前のモデルの発達では、約５ｅ６ＣＦＵがこの特定の菌株の理想とする接種材料であったことを認めた。感染後（ｐ．ｉ）３時間で、マウスの罹患大腿部にビヒクル（１×ＴＢＳ＋１０ｍＭの塩）、ｐ１７７２ｗｔ、またはｐ１７７２ｅ００５のいずれかを単回筋肉内注射した。左下の表に、実験ごとの各罹患大腿部に送達された合計のＰＦＵを詳述する。マウスを　　殺し、接種後の指定の時点で大腿筋を採取した。ビーズビーターシステム（ｂｅａｄ　ｂｅａｔｅｒ　ｓｙｓｔｅｍ）を用いて大腿部を均質化した。ホモジネートを連続希釈し、ＣＦＵ定量化のために播種した。さらにホモジネートを０．４５ｕｍフィルタに通して濾過した。濾液を連続希釈し、ｂ１１２１オーバーレイプレートうえでのＰＦＵ定量化のために播種した。ＣＦＵとＰＦＵすべての測定値をｇ組織に正規化した。

【０３３９】

細菌コロニー形成単位（ＣＦＵ）とファージプラーク形成単位（ＰＦＵ）の両方を実験ごとに示す。図１５Ｂ～図１５Ｃは、ファージが筋肉内投与されたマウスにおけるファージの有効性を示す図である。大腿組織を指定の時点で採取した。両複製物より、完全に操作されたファージによって野生型ファージよりも大きな程度にまでコロニー化が減少することが示される。図１５Ｄは、ファージが静脈内投与されたマウスにおけるファージの有効性を示す図である。大腿筋組織を指定の時点で採取した。完全に操作されたファージは、野生型ファージよりも大きな程度にまで細菌を破壊する。まとめると、図１５Ｂ～図１５Ｄのデータより、様々な経路によって送達されるファージは大腿に侵入して細菌を死滅させることが示される。どの時点でも、完全に操作されたファージで処置されたマウスの大腿組織のＣＦＵ／ｇは、野生型ファージで処置したマウスよりも低い。図１５Ｅは、マウス感染モデルにおけるファージ処置の用量応答を確立させるモデルに関する実験デザインを示す概略図である。この実験は、図１５Ａに示すものと同様に実施されたが、追加で現行の処置群を表すために抗生物質処置を行った群も含めた。ファージ用量をさらに様々な群間で滴定する。

【０３４０】

図１５Ｆは、マウスに対する様々な用量のファージまたは抗生物質による処置の結果を示す図である。全体として、これらのデータより、操作されたｐ１７７２ｅ００５はｐ１７７２ｗｔよりもマウス感染モデルに対して有効であったことが示される。さらに、操作されたファージのパフォーマンスは、抗生物質投与よりも良好であった。パネルＢ～Ｄ、およびＦでは、データは平均±ＳＥＭとして示される。＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１。複数の比較を伴う一元配置ＡＮＯＶＡ、またはテューキー検定を伴う二元配置ＡＮＯＶＡを用いて、統計的有意差を求める。

【０３４１】

実施例１４．　Ｉｎ　ｖｉｖｏ有効性試験

ｂ１１２１の培養物を一晩成長させ、ＬＢ＋１０ｍＭ　ＭｇＣｌ$_2$＋１０ｍＭ　ＣａＣｌ$_2$に希釈し戻し、０．４５のＯＤ６００に成長させた。培養物を分割し、ＬＢ／塩（細胞のみの対照）、ｐ１７７２ｅ００５（ＭＯＩ＝０．１）、ＰＢ１ｅ００２（ＭＯＩ＝０．１）、またはｐ１７７２ｅ００５＋ＰＢ１ｅ００２のカクテル（ＭＯＩ＝ファージごとに０．１）のいずれかを用いて処置した。すべての試料をマイクロピペッタプレート中３

７℃で、２４時間振盪させながらインキュベートし、６３０ｎｍのＯＤを１０分ごとに測定した。データは１２個の複製物の平均として表す。このデータより、２つの完全構築物ファージのカクテルは、いずれかのファージ単独よりも大きな程度にまで培養物の再結合を抑えることが示される。図１６は、ｐ１７７２ｅ００５とＰＢ１ｅ００２との協働性を示す図である。

【０３４２】

実施例１５：様々な反復配列の活性

緑膿菌培養物を、様々な反復配列を含むベクターにより形質転換させた。このベクターは、ベクターｐＵＣＰ１９（空ベクター）であるか、またはシュードモナスのＩＣ型Ｃａｓ系、および表３に列記される反復配列に隣接するｇｙｒＢ遺伝子を標的とするスペーサを含むｐＵＣＰ１９ベクターを包含していた。各試験条件のアリコートを採取し、希釈し、列挙された細菌ＣＦＵにスポット付けした。

【０３４３】

【表６】

表 3: 反復配列

配 列番号	リピート	配列
26	リピート１	GTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGATTGAAAC
27	リピート２	GTCGCGCCCCGCACGGGCGCGTGGAGTGAAAG
28	リピート３	GTCGCGCCCCGCACGGGTGCGTGGATTGAAAC
29	リピート４	GTCGCGCCCCGCATGGGCGCGTGGATTGAACA
30	リピート５	GTCGCGCCCTACGCGGGCGCGTGGAGTGAAAG

【０３４４】

本アッセイの結果を図１７に表す。特定の配列は、様々な数の形質転換をもたらした。リピート１とリピート３はともに、リピート２、４、もしくは５で形質転換された空ベクターまたは細菌よりも形質転換の数が少なかった。これにより、反復配列の配列はシュードモナス培養物を標的とするファージの有効性を達成することが示される。

【０３４５】

実施例１６：標的細菌を標的とするためのスペーサ配列のデザインと検証

試験デザイン

次のプロトコルを用いてスペーサ配列をデザインする。先ず、目的の生物／種／標的を表すゲノムの好適な検索セットを獲得する。好適なデータベースの例として、ＮＣＢＩ ｇｅｎｂａｎｋおよびＰＡＴＲＩＣ（Ｐａｔｈｏｓｙｓｔｅｍｓ Ｒｅｓｏｕｒｃｅ Ｉｎｔｅｇｒａｔｉｏｎ Ｃｅｎｔｅｒ）のデータベースが挙げられる。ＦＴＰ（Ｆｉｌｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ Ｐｒｏｔｏｃｏｌ）サーバを介してゲノムを大量にダウンロードし、迅速かつプログラム的なデータセットの獲得を可能にする。

【０３４６】

関連パラメータを用いてゲノムを検索し、好適なスペーサ配列を位置決めする。ゲノムを正と逆両方の相補配向において開始から終了まで読み取ることで、ＰＡＭ（プロトスペーサ隣接モチーフ）部位を含有するＤＮＡの連続した伸張部を位置決めすることができる。スペーサ配列は、ＰＡＭ部位に隣接する長さＮのＤＮＡ配列３’または５’となり、Ｎは、目的のＣａｓ系に対し特異的であり、かつ全体として事前に把握される。ＰＡＭ配列お

よびスペーサ配列の特徴解析は、Ｃａｓ系の発見および初期の研究中に実行される。観察されたＰＡＭ隣接スペーサはすべて、ダウンストリームでの使用のためにファイルおよび／またはデータベースに保存される。

【０３４７】

次に、ＣＲＩＳＰＲで操作されたファージに使用するためのスペーサの質を判定する。先ず、観察されたスペーサそれぞれを評価することで、評価されたゲノムのどのくらい多くが中に存在しているのかを判定することができる。観察されたスペーサをさらに評価することで、それらが所与のゲノムそれぞれにどのくらいの頻度で生じ得るのかを確認することができる。ゲノムごとに１より多くの位置に生じるスペーサは、突然変異が生じる場合にＣａｓ系が標的部位を認識できない場合があり、追加の「バックアップ」部位がそれぞれ、好適で変異のない標的位置が存在する可能性を増大させることから、有利である。観察されたスペーサを評価することで、それらがゲノムの機能注釈された領域に生じるかどうかを判定することができる。このような情報が利用可能な場合、機能注釈をさらに評価することで、それらゲノム領域が生物の生存と機能に「不可欠」かどうかを判定することができる。目的の評価されたゲノムのすべて、またはほぼすべて（９９％以上）に生じるスペーサに焦点を置くことにより、スペーサの選択を正当化するために広く適用可能とすることが確実になる。保存されたスペーサの大きな選択プールが存在する場合、既知の機能を有するゲノムの領域に生じるスペーサが優先される場合があり、それらゲノム領域が生存に「不可欠」であり、ゲノムごとに１回より多く生じる場合にはさらに優先される。

【０３４８】

スペーサの検証

次いで、特定されたスペーサ配列は、次の手順を完了することにより検証できる。先ず、目的の生物において反復するとともに選択可能なマーカ（例えば、抗生物質抵抗性遺伝子）を有するプラスミドが、特定される。Ｃａｓ系をコードする遺伝子をプラスミドに挿入することで、目的の生物に発現されるようになる。Ｃａｓ系の上流には、Ｃａｓ系の発現を誘導する目的の生物により認識されるプロモータが含まれる。プロモータとＣａｓ系との間には、目的の生物により認識されるリボソーム結合部位（ＲＢＳ）が含まれる。

【０３４９】

次に、バイオインフォマティクスにより特定されたゲノム標的化スペーサを、Ｃａｓ系を発現するプラスミドに挿入する。リピート－スペーサ－リピートの上流には、ｃｒＲＮＡの発現を誘導する目的の生物により認識されるプロモータが含まれる。このようなプロモータの例を表１Ｂに列記する。このクローニングは、スペーサをクローニングすることにより標的とされない生物または菌株において実施する必要がある。

【０３５０】

次に、非標的化スペーサを、Ｃａｓ系を発現するプラスミドに挿入する。このスペーサの配列は無作為に生成した後、目的の生物のゲノムに標的部位を有していないとバイオインフォマティクスにより確認することができる。リピート－スペーサ－リピートの上流には、ｃｒＲＮＡの発現を誘導する目的の生物により認識されるプロモータが含まれる。

【０３５１】

次に、試験済みのスペーサそれぞれの死滅有効性を判定する。表４に列記したプラスミドを、同じモル濃度に正規化する。各プラスミドを形質転換、コンジュゲーション、またはその他細胞にプラスミドを導入するあらゆる方法により目的の生物に移す。形質転換された細胞を適切な選択培地（例えば、抗生物質含有寒天）上に播種する。細胞がコロニーへと成長した後、異なるプラスミドの移動それぞれから生じたコロニーを列挙する。非標的化スペーサを含有する対照よりも有意に低い移動率の標的化スペーサを含有するプラスミドは、細菌ゲノムにおける標的化に成功したとみなす。

【０３５２】

【表７】

表 4: 使用されるプラスミドと対照

プラスミド	機能
空のバックボーンベクター	プラスミド移動効率に対する対照
Cas 系を含有するベクター	Cas 系の毒性に対する対照
Cas 系と非標的化スペーサを含有するベクター	オフターゲット効果に対する対照
Cas 系と標的化スペーサを含有するベクター	試験試料

【０３５３】

実施例１７：精製された緑膿菌ファージの宿主範囲のアッセイ

精製された緑膿菌ファージのデータを獲得し、液体とプラーキング宿主範囲のアッセイの組合せによる最良の結果を報告した。最終結果は、所与のファージと菌株との組合せにおける液体ならびにプラーキング宿主範囲両方におけるバイナリヒットの中央値であった。液体宿主範囲は、凍結されＯＤ制御された培養物材料５ｕＬ、公知の力価ファージ材料５ｕＬ、および成長培地４０ｕＬを、適切な培養物、ファージ、および培地のみの対照とともに３６４－ウェルプレートのウェルに添加することに関与した。プレートを振盪させながら３７℃で２０分間インキュベートし、１時間毎に液体ハンドラによりＯＤ６００を読み取った。ファージを追加した試料およびそのそれぞれの対照における曲線下面積（ＡＵＣ）間の比を求めることにより結果を算出した。ＡＵＣ比０．６５未満の試料を陽性（＋）ヒットとみなし、ＡＵＣ比０．６５以上を陰性（－）ヒットとみなした。プラーキング宿主範囲のアッセイでは、目的の細菌株を培養し、プロファージをスクリーニングした。目的のバクテリオファージを１Ｘ　ＰＢＳ中、５０－３の未希釈からマイクロタイタープレート全体で５０倍に連続希釈した。力価（ｔｉｔｒｅ）宿主として使用した菌株における寒天の重複を注ぎ、一晩静置させた。翌日、目的の細菌株の溶解物をスポット付けした。１５～２０分後、Ｈａｍｉｌｔｏｎ－ＳＴＡＲ－Ｃ０６２を用いてプレートを画像化し、手で計数するか、または、形質転換、バックグラウンド控除、および計数のために内部で開発した画像解析パイプラインに通した。プラーク形成単位が陽性（＋）数の試料をヒットとみなした。緑膿菌、野生型Ｐｂｕｎａウイルスファージの亜型、および操作されたＰｂｕｎａウイルスファージの亜型に関与する本アッセイの結果を、表５Ａに列記する。緑膿菌、野生型Ｓａｍｕｎａウイルスファージの亜型、操作されたＳａｍｕｎａウイルスファージの亜型、野生型ＰｈｉＫＺウイルス、野生型ＰｈｉＫＭＶウイルス、および野生型Ｂｒｕｙｎｏｇｈｅウイルスに関与する本アッセイの結果を、表５Ｂに列記した。表５Ａに列記されるように、野生型Ｐｂｕｎａウイルスファージの亜型は、ｐ１１０６、ｐ１５８７、ｐ１８３５、ｐ２０３７、ｐ２３６３、ｐ２４２１、およびｐｂ１であり、一方操作されたＰｂｕｎａウイルスファージの亜型は、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１５８７ｅ００２、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ２０３７ｅ００２、ｐ２３６３ｅ００３、およびｐ２４２１ｅ００２であった。表５Ｂに列記されるように、野生型Ｓａｍｕｎａウイルスファージの亜型は、ｐ１７７２、ｐ２１３１、ｐ２１３２、およびｐ２９７３であり、操作されたＳａｍｕｎａウイルスファージの亜型は、ｐｂ１ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ２１３２ｅ００２、およびｐ２９７３ｅ００２であり、野生型ＰｈｉＫＺウイルスファージの亜型は、ｐ１１９４およびｐ４４３０であり、野生型ＰｈｉＫＭＶウイルスファージの亜型はｐ２１６７であり、野生型Ｂｒｕｙｎｏｇｈｅウイルスファージの亜型は、ｐ１６９５およびｐ３２７８であった。

【０３５４】
【表８－１】

表 5A: 緑膿菌ファージの宿主範囲

標的	野生型 Pbuna ウイルス							操作された Pbuna ウイルス						
	p1106	p1587	p1835	p2037	p2363	p2421	pb1	p1106e003	p1587e002	p1835e002	p2037e002	p2363e003	p2421e002	pb1e002
b002548	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b002550	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b002553	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b002554	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
b002557	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+
b002563	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b002567	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
b002571	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
b002575	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b002580	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+
b002583	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b002586	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
b002588	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
b002590	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
b002593	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
b002599	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b002600	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-
b002601	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
b002609	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
b002614	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
b002617	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
b002624	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b002630	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-
b002631	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
b002637	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
b002638	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b002658	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-
b002660	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b002775	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
b002776	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b002780	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
b002781	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
b002782	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+
b002785	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
b002790	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-

【０３５５】

【表８－２】

b002797	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b002807	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b002809	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
b002811	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b002816	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
b002819	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
b002820	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-
b002825	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
b002827	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
b002831	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b002832	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
b002835	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-
b002836	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
b002839	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
b002840	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
b002844	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
b002847	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
b002856	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b002857	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-
b002861	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
b002866	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
b002873	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
b002875	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
b002876	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
b002877	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
b002885	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b002887	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b002890	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b002893	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+
b002898	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-
b002906	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
b003049	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
b003052	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b003053	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b003056	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-
b003064	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
b003065	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b003068	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-
b003075	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
b003076	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b003080	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b003082	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
b003137	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b003144	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

【０３５６】

【表８－３】

b003149	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-
b003152	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
b003153	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
b003159	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b003168	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
b003172	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
b003177	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-
b003190	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
b003194	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

【０３５７】

【表９－１】

表 5B: 緑膿菌ファージの宿主範囲

標的	野生型 Samuna ウイルス				操作された Samuna ウイルス				野生型 PhiKZ-ウイルス		野生型 PhiKMV-ウイルス	野生型 Bruynoghe ウイルス	
	p1772	p2131	p2132	p2973	p1772e005	p2131e002	p2132e002	p2973e002	p1194p.b008	p4430	p2167	p1695	p3278
b002548	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b002550	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
b002553	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b002554	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b002557	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
b002563	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b002567	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
b002571	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
b002575	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
b002580	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b002583	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
b002586	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
b002588	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-
b002590	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
b002593	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
b002599	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

【０３５８】

【表９－２】

b002600	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b002601	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-
b002609	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
b002614	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
b002617	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-
b002624	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
b002630	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
b002631	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
b002637	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b002638	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+
b002658	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
b002660	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
b002775	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-
b002776	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-
b002780	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
b002781	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
b002782	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
b002785	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
b002790	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-
b002797	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
b002807	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b002809	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
b002811	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+

【０３５９】

【表９－３】

b00281 6	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
b00281 9	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
b00282 0	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
b00282 5	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
b00282 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
b00283 1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
b00283 2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
b00283 5	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
b00283 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
b00283 9	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
b00284 0	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+
b00284 4	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-
b00284 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
b00285 6	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+
b00285 7	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
b00286 1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
b00286 6	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
b00287 3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
b00287 5	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-
b00287 6	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
b00287 7	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
b00288 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b00288 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

【０３６０】

【表９－４】

b002890	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
b002893	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
b002898	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+
b002906	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-
b003049	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
b003052	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
b003053	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
b003056	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
b003064	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
b003065	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
b003068	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
b003075	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
b003076	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b003080	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
b003082	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
b003137	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
b003144	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
b003149	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
b003152	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+
b003153	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
b003159	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
b003168	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
b003172	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

【０３６１】

【表９－５】

b003177	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
b003190	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
b003194	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-

【０３６２】

実施例１８：緑膿菌カクテルのファージの宿主範囲のアッセイ

緑膿菌カクテルのファージのデータを獲得し、液体とプラーキング宿主範囲のアッセイの組合せによる最良の結果を報告した。最終結果は、所与のファージと菌株との組合せにおける液体とプラーキング宿主範囲両方におけるバイナリヒットの中央値であった。液体宿主範囲は、凍結されＯＤ制御された培養物材料５ｕＬ、公知の力価ファージ材料５ｕＬ、および成長培地４０ｕＬを、適切な培養物、ファージ、および培地のみの対照とともに３６４－ウェルプレートのウェルに添加することに関与した。プレートを振盪させながら３７℃で２０分間インキュベートし、１時間毎に液体ハンドラによりＯＤ６００を読み取った。ファージを追加した試料およびそのそれぞれの対照における曲線下面積（ＡＵＣ）間の比を求めることにより結果を算出した。ＡＵＣ比０．６５未満の試料を陽性（＋）ヒットとみなし、ＡＵＣ比０．６５以上を陰性（－）ヒットとみなした。プラーキング宿主範囲のアッセイでは、目的の細菌株を培養し、プロファージをスクリーニングした。目的のバクテリオファージを１Ｘ　ＰＢＳ中、５０－３の未希釈からマイクロタイタープレート全体で５０倍に連続希釈した。力価宿主として使用した菌株における寒天の重複を注ぎ、一晩静置させた。翌日、目的の細菌株の溶解物をスポット付けした。１５～２０分後、Ｈａｍｉｌｔｏｎ－ＳＴＡＲ－Ｃ０６２を用いてプレートを画像化し、手で計数するか、または、形質転換、バックグラウンド控除、および計数のために内部で開発した画像解析パイプラインに通した。プラーク形成単位が陽性（＋）数の試料をヒットとみなした。ファージカクテルｃｋ０００１２５、ｃｋ０００２３９、ｃｋ０００２４０、ｃｋ０００２４１、ｃｋ０００５１１、およびｃｋ０００５１２（ＰＡＣＫ５１２、カクテル５１２、ｃｋ００５１２、ＣＫ５１２とも称される）の詳細な組成を、表６Ａに列記した。表６Ｂに列記されるように、ファージカクテルｃｋ０００１２５は、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、およびｐ２１３１ｅ００２を含む。表６Ｂに列記されるように、ファージカクテルｃｋ０００２３９は、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、およびｐ１１９４を含む。表６Ｂに列記されるように、ファージカクテルｃｋ０００２４０は、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、およびｐ４４３０を含む。表６Ｂに列記されるように、ファージカクテルｃｋ０００２４１は、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、およびｐ１６９５を含む。表６Ｂに列記されるように、ファージカクテルｃｋ０００５１１は、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ１１９４、およびｐ１６９５を含む。表６Ｂに列記されるように、ファージカクテルｃｋ０００５１２は、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１８３５ｅ００２、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ４４３０、およびｐ１６９５を含む。

【０３６３】

【表１０】

表 6A: ファージのカクテル組成の宿主範囲

			カクテル					
	個々のファージ		4-ファージ	5-ファージカクテル			6-ファージカクテル	
			CK000125	CK000239	CK000240	CK000241	CK000511	CK000512 (PACK512)
操作されたファージ	PB1	p1106e003	x	x	x	x	x	x
		p1835e002	x	x	x	x	x	x
	SM1	p1772e005	x	x	x	x	x	x
		p2131e002	x	x	x	x	x	x
野生型ファージ	phiKZ	p1194		x			x	
		p4430			x			x
	Bruynoghe	p1695				x	x	x

【０３６４】

緑膿菌、ならびにファージカクテルｃｋ０００１２５、ｃｋ０００２３９、ｃｋ０００２４０、ｃｋ０００２４１、ｃｋ０００５１１、およびｃｋ０００５１２に関与する本アッセイの結果を、表６Ａに列記する。全体として、宿主範囲は、表５Ａおよび表５Ｂに列記された個々のアッセイと比較すると、表６Ｂに列記した陽性（＋）ヒットの増加が示すように、ファージカクテルアッセイにおいて増加した。表６Ｂに列記されるように、カクテルｃｋ０００５１２緑膿菌の宿主範囲のデータは一貫して上昇した。

【０３６５】

表６Ｃに示されるように、カクテルＣＫ０００１２５とＣＫ００５１２の宿主範囲を、２８４個の異なるシュードモナス細菌の単離物に対して試験した。１１１個の単離物を嚢胞性線維症（ＣＦ）から得て、８５個の単離物を非嚢胞性線維症性気管支拡張症（ＮＣＦＢ）から得た。２８４個のシュードモナス単離物中、９５個が多剤耐性を示し、そのうち４９個がＣＦ由来、９個がＮＣＦＢ由来であった。両カクテルの宿主範囲は８５％超であり、カクテルＣＫ００５１２はすべてのＭＤＦ単離物において宿主範囲が１００％であった。

【０３６６】
【表１１－１】

表 6B: 緑膿菌カクテルのファージ宿主の範囲

標的	カクテル					
	ck000125	ck000239	ck000240	ck000241	ck000511	ck000512 (PACK512)
b002548	+	+	+	+	+	+
b002550	+	+	+	+	+	+
b002553	-	-	-	-	-	-
b002554	-	-	-	-	-	-
b002557	-	-	-	-	-	-
b002563	+	+	+	+	+	+
b002567	+	+	+	+	+	+
b002571	+	+	+	+	+	+
b002575	+	+	+	+	+	+
b002580	+	+	+	+	+	+
b002583	+	+	+	+	+	+
b002586	+	+	+	+	+	+
b002588	+	+	+	+	+	+
b002590	-	+	+	+	+	+
b002593	+	+	+	+	+	+
b002599	+	+	+	+	+	+
b002600	+	+	+	+	+	+
b002601	+	+	+	+	+	+
b002609	+	+	+	+	+	+
b002614	+	+	+	+	+	+
b002617	+	+	+	+	+	+
b002624	+	+	+	+	+	+
b002630	+	+	+	+	+	+
b002631	+	+	+	+	+	+
b002637	+	+	+	+	+	+
b002638	+	+	+	+	+	+
b002658	+	+	+	+	+	+
b002660	+	+	+	+	+	+
b002775	+	+	+	+	+	+
b002776	+	+	+	+	+	+
b002780	+	+	+	+	+	+
b002781	+	+	+	+	+	+
b002782	+	+	+	+	+	+
b002785	+	+	+	+	+	+
b002790	+	+	+	+	+	+
b002797	+	+	+	+	+	+
b002807	+	+	+	+	+	+
b002809	+	+	+	+	+	+
b002811	+	+	+	+	+	+
b002816	+	+	+	+	+	+

【０３６７】

【表１１－２】

b002819	+	+	+	+	+	+
b002820	+	+	+	+	+	+
b002825	+	+	+	+	+	+
b002827	+	+	+	+	+	+
b002831	-	+	+	-	+	+
b002832	+	+	+	+	+	+
b002835	+	+	+	+	+	+
b002836	+	+	+	+	+	+
b002839	+	+	+	+	+	+
b002840	+	+	+	+	+	+
b002844	+	+	+	+	+	+
b002847	+	+	+	+	+	+
b002856	+	+	+	+	+	+
b002857	+	+	+	+	+	+
b002861	+	+	+	+	+	+
b002866	+	+	+	+	+	+
b002873	+	+	+	+	+	+
b002875	+	+	+	+	+	+
b002876	+	+	+	+	+	+
b002877	+	+	+	+	+	+
b002885	+	+	+	+	+	+
b002887	+	+	+	+	+	+
b002890	+	+	+	+	+	+
b002893	+	+	-	+	+	+
b002898	+	+	+	+	+	+
b002906	+	+	+	+	+	+
b003049	-	-	+	-	-	+
b003052	+	+	+	+	+	+
b003053	-	+	+	+	+	+
b003056	+	+	+	+	+	+
b003064	+	+	+	+	+	+
b003065	+	+	+	+	+	+
b003068	+	+	+	+	+	+
b003075	+	+	+	+	+	+
b003076	-	+	+	+	+	+
b003080	+	+	+	+	+	+
b003082	+	+	+	+	+	+
b003137	-	+	+	+	+	+
b003144	+	+	+	+	+	+
b003149	+	+	+	+	+	+
b003152	+	+	+	+	+	+
b003153	+	+	+	+	+	+
b003159	+	+	-	+	+	+
b003168	+	+	+	+	+	+

【０３６８】

【表１１－３】

b003172	+	+	+	+	+	+
b003177	+	+	+	+	+	+
b003190	+	+	+	+	+	+
b003194	-	+	+	+	+	+

【０３６９】

【表１２】

表 6C: カクテル宿主範囲

		CK000125	CK000512
宿主範囲 % MDR (n=95; n=284 の部分集合)	CF n=49	95.9	100
	NCFB n=9	100	100
	PIHP n=37	91.9	100
	Total HR n=95	94.7	100
合計の宿主範囲% (n=284)	CF n=111	87.4	92.8
	NCFB n=85	92.9	94.1
	PIHP n=88	95.5	100
	Total HR n=284	91.5	95.4

【０３７０】

実施例１９：オフターゲットプラーキングの緑膿菌カクテルのファージのアッセイ

表７に示されるように、緑膿菌はオフターゲットプラーキングを示さなかった。すべてのファージがこの細菌株を感染させなかったので、緑膿菌カクテルのファージを、ｂ１２３３／ＰＡＯ１を加えたｂ２６３１またはｂ１１２１上でプラーキングした。緑膿菌カクテルＣＫ０００５１１およびＣＫ０００５１２（ＰＡＣＫ５１２）、構成ファージｐ１８３５ｅ００２、ｐ１１０６ｅ００３、ｐ１７７２ｅ００５、ｐ２１３１ｅ００２、ｐ１１９４、ｐ１６９５、およびｐ４４３０、ならびに陽性対照ファージを、オフターゲットＥＳＫＡＰＥ種上でプラーキングした。（－）が示すように、試験を行ったファージのいずれにおいてもオフターゲットプラーキングは観察されなかった。表７に詳述されるように、獲得したデータより、陽性対照ファージのみが緑膿菌にヒット（＋）したことが示される。

【０３７１】

【表１３】

表 7: オフターゲットのプラーキングファージアッセイ

		細菌株						
		黄色ブドウ球菌	*クレブシエラ・ニューモニエ*	*緑膿菌*	*エンテロコッカス・フェシウム*	*エンテロバクター・クロアカ*	*アシネトバクター・バウマニ*	*表皮ブドウ球菌*
		b3321 ATCC 12600	b3432 ATCC 13883	b2631/b1121 b1233 (PAO1)	b3434 ATCC 19434	b3433 ATCC 13047	b1212 ATCC 19606	b3431 ATCC 19606
ファージ	カクテル 511	-	-	+(b2631) +(b1233)	-	-	-	-
	カクテル 512 (PACK512)	-	-	+(b2631) +(b1233)	-	-	-	-
	p1835e002	-	-	+(b2631) +(b1233)	-	-	-	-
	p1106e003	-	-	+(b2631) +(b1233)	-	-	-	-
	p1772e005	-	-	+(b2631)	-	-	-	-
	p2131e002	-	-	+(b2631)	-	-	-	-
	p1194	-	-	+(b2631) +(b1233)	-	-	-	-
	p1695	-	-	+(b1121) +(b1233)	-	-	-	-
	p4430	-	-	+(b2631) +(b1233)	-	-	-	-
	陽性対照のファージ	+ p5570	+ p5179	+(b1233) p5724	+ p5722	+ p5723	N/A	+ PhageK

【０３７２】

実施例２０：緑膿菌カクテルは、緑膿菌感染呼吸器／嚢胞性線維症単離物に対して有効である

ＣＲＩＳＰＲ－ファージと野生型ファージとの比較。

【０３７３】

負荷接種物（ｃｈａｌｌｅｎｇｅ　ｉｎｏｃｕｌｕｍ）の調製

細菌単離物、トブラマイシンＭＩＣ、および負荷接種物を、表８に記載する。緑膿菌単離物ｂ１１２１を本試験に使用した。輪状（ｌｏｏｐｆｕｌ）の細菌ストックを培養物の凍結バイアルから擦り取り、種々のＴＳＡプレート上で単離のために線を付けた（ｓｔｒｅａｋｅｄ）。３７℃で１６時間成長させた後、接種物をプレートから取り除き、ｐＨ７．２のＰＢＳ（Ｇｉｂｃｏ　２００１２０２７）に入れて懸濁させ、ＯＤ６５０ｎｍを１．０±０．３に調整した。２つの動物コホートを、独立に調製された接種物を用いる同じ試験において負荷させた（ｃｈａｌｌｅｎｇｅｄ）。

【０３７４】

【表１４】

表 8: 細菌株

単離物	供給源	TOB MIC (μg/mL)	負荷接種（Challenge inoculum） (0.05 mL につき $\log_{10}$ CFU)
b1121	呼吸器	0.5	8.14/8.20
b2631	CF 単離物	0.5	7.21/7.27
b3144	CF 単離物	2.0	8.04/7.96

CF、嚢胞性線維症；CFU、コロニー形成単位；MIC、最小発育阻止濃度；TOB、トブラマイシン

【０３７５】

急性下気道感染症モデル（ＬＲＴＩ）におけるマウスの処置

トブラマイシン（７５ｍｇ／ｋｇ／日、ＨＥＤ　６ｍｇ／ｋｇ／日）を比較対照として試験した。硫酸トブラマイシン（Ｘｇｅｎ，Ｌｏｔ　ｎｏ．ＡＺ１２４０Ｂ）をdH_2O中で調製し、０．２ｍＬを皮下投与した。感染後１時間で処置を開始し、１２時間毎に１日２回（ＢＩＤ）、計４回の投与を継続した。トブラマイシンを毎日新しく調製し、投与間に４℃で保管した。個々のバクテリオファージをｐＨ７．４のＰＢＳ中、４．２５Ｅ＋０９ＰＦＵ／ｍＬに希釈することで、個々のファージそれぞれの最終濃度を１０．７Ｌｏｇ１０ＰＦＵ／用量とした。負荷の２時間後、ファージを麻酔下で鼻から送達した。負荷後８、２４、および３２時間に追加の用量を投与した。処置の時点で動物を無作為化し、２つの処置群に分けた。両コホートにおいて、動物をｐ１７７２ＷＴまたはｐ１７７２ＦＣで処置した。トブラマイシンとＰＢＳを、両群の対照として含めた。

【０３７６】

マウス肺炎モデル

特定の病原体を持たない７～８週齢のメスのＣ５７ＢＬ／６Ｊマウス（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ、Ｂａｒ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｍａｉｎｅ）に３％イソフルランで麻酔をかけ、酸素を３リットル／分で維持してから、両鼻孔に０．０５０ｍＬの緑膿菌懸濁液ｂ１１２１を接種させた。マウスを仰向けにしてケージに入れ、麻酔から回復させた。負荷後２４時間と４８時間で、動物をCO_2窒息により　殺し、肺を無菌で取り除き、均質化チューブに入れた。瀕死状態の動物を人為的に　殺し、死亡数を計数した。高用量群をＭＦＤ（投与可能な最大用量；最高の菌株で10^{10-11}ＰＦＵ／ｍＬを標的とする）により判定した。総合的観察のための剖検および組織病理学の標準パネル；ＰＤ（ＰＣＲ）に対して２つの肺葉を使用できる。

【０３７７】

組織におけるＣＦＵ判定

肺を採取し、１．４ｍｍセラミックビーズ（ＶＷＲ１０１５８－６１０）およびｐＨ７．４の１ｍＬ　ＰＢＳ（Ｇｉｂｃｏ　１００１００２３）を含有する軟組織均質化チューブに入れた。組織を２０秒間均質化し、続いて１０秒間静置させ、さらに２０秒間の均質化を行った。ホモジネートを０．９％滅菌食塩水（ＢＢＬ、２２１８１９）に入れて１：１００に連続希釈し、プレート回転法（ｓｐｉｒａｌ　ｐｌａｔｅ　ｍｅｔｈｏｄｏｌｏｇｙ）を用いてＣＦＵを列挙するためにトリプチケースソイ寒天培地（ＴＳＡ）上で播種した。３７℃で２０～２２時間のインキュベーション後にＣＦＵを判定した。細菌数を組織１グラムあたりのLog_{10}　ＣＦＵとして表し、両試験からのデータを分析のために

組み合わせる。
【０３７８】
図１８Ｅは、野生型ファージと比較したときのＣＲＩＳＰＲファージｐ１７７２ＦＣ（ｐ１７７２ｅ００５）の有効性を示す図である。
【０３７９】
ファージカクテルとファージ個別との比較
緑膿菌単離物ｂ１１２１、ｂ２６３１、またはｂ３１４４をこれらの試験に使用した。緑膿菌浮遊単離物を負荷のために調製した。緑膿菌ｂ３１４４をｐＨ７．２のＰＢＳ中で１：３に希釈し、緑膿菌ｂ２６３１をＰＢＳ中で１：１０に希釈した。単離物ｂ１１２１は、ＯＤ６５０ｎｍ＝１．０に標準化した後に希釈されなかった。
【０３８０】
トブラマイシン処置を調製し、図１８Ａに記載するように投与した。動物には１２時間毎に１日２回、計３回の投与を行った。処置対照には、トブラマイシン、トブラマイシン＋ＰＡＣＫ５１２、およびＰＢＳが含まれていた。ＰＡＣＫ５１２とも称されるカクテル５１２（表６Ａに記載）を、ファージの力価とＥＵ／ｍＬに基づき利用可能な最大濃度に希釈し、負荷後２時間で麻酔下において鼻から送達した。負荷後８時間と２４時間で追加の用量を投与した。処置の時点で動物を無作為化し、２つの処置群に分けた。コホート１では、動物をカクテルおよびファージ個別で処置した。コホート２では、動物をＰＡＣＫ５１２で処置した。トブラマイシン、トブラマイシン＋ＰＡＣＫ５１２、およびＰＢＳを両コホートに含め、両試験のデータを分析のために組み合わせた。
【０３８１】
特定の病原体を持たない７～８週齢のメスのＣ５７ＢＬ／６Ｊマウス（Ｊａｃｋｓｏｎ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ、Ｂａｒ Ｈａｒｂｏｒ Ｍａｉｎｅ）に３％イソフルランで麻酔をかけ、酸素を３リットル／分で維持してから、両鼻孔に０．０５０ｍＬの緑膿菌懸濁液を接種させた。マウスを仰向けにしてケージに入れ、麻酔から回復させた。回復中、動物が完全に目覚めて歩行可能となるまで、ケージを１０５°Ｆで加温パッドに置いた。
【０３８２】
緑膿菌懸濁液を負荷後２４時間と４８時間で、その後の連続希釈を除いて肺を上述のように採取し、プレート回転法を用いてＣＦＵを列挙するために、ホモジネートをシュードモナス阻害寒天（ＰＩＡ）プレート上で播種した。３７℃で１６～２２時間のインキュベーション後に動物ごとにＣＦＵを判定した。細菌数を組織１グラムあたりのＬｏｇ１０ ＣＦＵとして表し、ｔ－検定、マン・ホイットニー検定、分散分析（ＡＮＯＶＡ）、またはログ・ランク検定を用いてデータを分析した。ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍのバージョン８．０を用いてすべての統計解析を実施した。０．０５未満のＰ値を統計的に有意とみなした。
【０３８３】
カクテル、およびカクテルとトブラマイシンとの組合せによる処置により、図１８Ｂ～図１８Ｄに表すように、緑膿菌のレベルは、試験を行った３つの菌株すべてにおける検出レベルよりも低かった。さらに、カクテルでの処置により、検出されたＣＦＵはトブラマイシン単独での処置と比較して大幅に低下した。
【０３８４】
上述と同様のアッセイにおいて、ファージカクテルｃｋ００１２５も試験した。図１９Ａは、急性ＬＲＴＩモデルにおけるｃｋ００１２５（ＣＫ１２５）のｉｎ ｖｉｖｏでの有効性を試験するためのアッセイのデザインを例示する図である。図１９Ｂ～１９Ｄは、負荷後２４時間で可能な限り早急に、試験を行った緑膿菌の３つの菌株すべてにおいてＣＫ１２５単独を細菌負荷した場合の統計的に有意な減少を示す図である。トブラマイシンと組み合わせると、細菌レベルは検出レベル未満であった。そのため、このカクテルでは、ｃｋ００５１２（ＰＡＣＫ５１２）カクテルで観察されたものと同様に、ほぼ完全な細菌除去を確認した。
【０３８５】

実施例２１：カクテルとファージ個別との有効性の比較
材料と方法：
【０３８６】
負荷接種物の調製
緑膿菌単離物ｂ１１２１、ｂ２６３１、またはｂ３１４４をこれらの試験に使用した。単離物は、次の変更を伴った上述のように負荷のために調製した。緑膿菌ｂ３１４４をｐＨ７．２のＰＢＳ中で１：３に希釈し、緑膿菌ｂ２６３１をＰＢＳ中で１：１０に希釈した。単離物ｂ１１２１は、ＯＤ６５０ｎｍ＝１．０に標準化した後に希釈されなかった。
【０３８７】
処置
トブラマイシンを調製し、動物に１２時間毎に１日２回、計３回の投与を行うことを除き上述のように投与した。個々のバクテリオファージおよびカクテル５１２（ＰＡＣＫ５１２）を、ファージの力価とＥＵ／ｍＬに基づき利用可能な最大濃度に希釈した（表２）。個別およびカクテル両方におけるファージ濃度は同じであった。ファージを負荷後２時間で麻酔下において鼻から送達した。負荷後８時間と２４時間で追加の用量を投与した。処置の時点で動物を無作為化し、２つの処置群に分けた。コホート１では、動物をカクテルおよびファージ個別で処置した。コホート２では、動物をＰＡＣＫ５１２で処置した。トブラマイシン、トブラマイシン＋ＰＡＣＫ５１２、およびＰＢＳを両コホートに含め、両試験のデータを分析のために組み合わせた。
【０３８８】
マウス肺炎モデル
特定の病原体を持たない７～８週齢のメスのＣ５７ＢＬ／６Ｊマウス（Ｊａｃｋｓｏｎ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ、Ｂａｒ Ｈａｒｂｏｒ Ｍａｉｎｅ）に３％イソフルランで麻酔をかけ、酸素を３リットル／分で維持してから、両鼻孔に０．０５０ｍＬの緑膿菌懸濁液ｂ１１２１を接種させた。マウスを仰向けにしてケージに入れ、麻酔から回復させた。回復中、動物が完全に目覚めて歩行可能となるまで、ケージを１０５°Ｆで加温パッドに置いた。
【０３８９】
個々に操作されたファージに対するカクテルＰＡＣＫ５１２（ｃｋ００５１２とも称される）の相対的利益を把握する際に、ファージｐ１１０６ＦＣ、ｐ１７７２ＦＣ、Ｐ１８３５ＦＣ、ｐ２１３１ＦＣ、ｐ１６８５ＷＴ、ｐ４４３０ＷＴ、およびカクテル５１２（ＰＡＣＫ５１２）の間での比較を、トブラマイシンを用いる場合または用いない場合で行った。実験の設定を図１８Ｆに示す。緑膿菌ｂ２６３１、ｂ３１４４、およびｐ１１２１についてそれぞれ図１８Ｇ、図１８Ｈ、および図１８Ｉに示す結果より、トブラマイシン処置を用いる場合と用いない場合の両方で、ＰＡＣＫ１５２は、急性ＬＲＴＩモデルにおける個々のファージに比べて優れた有効性を呈することが認められた。
【０３９０】
組織に対するＣＦＵ判定
スパイラルプレート方法（ｓｐｉｒａｌ ｐｌａｔｅ ｍｅｔｈｏｄｏｌｏｇｙ）を用いてＣＦＵの列挙を行うために、連続希釈後にホモジネートをシュードモナス阻害寒天（ＰＩＡ）プレートに蒔いた以外は、上述のように肺を採取した。３７℃で１６～２２時間のインキュベーション後に各動物のＣＦＵを反対した。細菌数は、組織１グラムあたりLog_{10} ＣＦＵとして表す。
【０３９１】
統計解析
ｔ－検定、マン・ホイットニー検定、分散分析（ＡＮＯＶＡ）、またはログ・ランク検定を用いて解析したデータは適切であった。すべての統計解析を、ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍのバージョン８．０を用いて実施した。０．０５未満のＰ値を統計的に有意と認めた。
【０３９２】

実施例２１：緑膿菌バイオフィルムに対するカクテルの効果

本実施例では、シュードモナスバイオフィルムに対するファージカクテルの効果を試験した。本アッセイの設定を図２０Ａに表す。図２０Ｂに示すように、カクテルＣＫ１２５は、低ＭＯＩで、カクテルによるバイオフィルム処置の２４時間と４８時間におうて細菌阻害のレベルが高いことにより示されるように、事前に形成されたバイオフィルムに対し抗バイオフィルム活性を呈し、シュードモナスの多数の菌株に対して有効であった。ＰＡＣＫ５１２カクテルも、３つの主要な菌株（ｂ１１２１、ｂ２６３１、ｂ３１４４）すべてから事前に形成されたもの（図２２）、新たに生じるバイオフィルム（ＭＢＩＣ）、およびプランクトン細菌（ＭＩＣ）に対して阻害活性を呈した。

【０３９３】

実施例２２：ムチンの存在下でのカクテルの殺菌活性

ムチンは、健康なヒト対象のほか、罹患したヒト対象にも豊富に存在する糖タンパク質である。嚢胞性線維症は、気道および肺上皮がムチンを過剰産生して、主に治療薬の細胞へのアクセスに対する障壁を形成することを特徴とする。本実験では、健康なヒトから得た気道上皮組織を１か月間培養し、ムチンを測定してから、培養物を細菌感染に３０分間曝露させ、次いでファージカクテルで追跡を行った。１９．５時間のインキュベーション後、試料を採取し、細菌とファージの負荷を判定した。図２２と図２３に示すように、ファージカクテルｃｋ１２５およびＰＡＣＫ５１２は、（それぞれ）呼吸器単離物からの緑膿菌ｂ１１２１（左）およびＣＦ患者単離物からのｂ２６３１（右）に感染させた細胞培養物中、細菌負荷が成功裏に減少した。細菌添加の時点でのムチンレベルは、Ａｌｃｉａｎ　Ｂｌｕｅアッセイで検出されるように、１．３±０．０９ｍｇ／ｍＬ（ｎ＝３のＧＥＯＭＥＡＮ「Ｔ＝０個の採取」トランスウェル、およびｎ＝トランスウェルにつき２つの試料希釈物）であった。

【０３９４】

実施例２３．ｉｎ　ｖｉｖｏでのファージの持続性

ｉｎ　ｖｉｖｏでのファージの持続性の時間経過を把握する試みにおいて、ＬＲＴＩマウスモデルのファージレベルを経時的に判定した。細菌が排除されたにもかかわらず、各ファージのレベルは高いことを観察した。例示的な結果を図２４に示し、処置後３２時間での個々のファージコピー数に対するプラークアッセイおよびｑＰＣＲ判定の両方により、ファージの存在を定量的に実証した。これにより、ファージは系から容易に排除されないことが示される。

【０３９５】

投与ごとのファージゲノムコピー（ＧＣ）レベルをｑＰＣＲにより判定し、行った投与の回数を乗じて、各処置群内の肺重量のＧＥＯＭＥＡＮで割った。

【０３９６】

投与ごとのＰＦＵを、ＮＭＥファージストックのＰＦＵ／ｍＬ力価に基づき推計し、その後、製剤化されたカクテル中で予想されたＰＦＵ／用量を各処置群内の肺重量のＧＥＯＭＥＡＮで割った。

【０３９７】

【表１５－１】

配列表

遺伝子	配列番号	配列 (5'-3')
Cas3	75	ATGGACGCGGAGGCTAGCGATACTCACTTTTTTGCTCACTCCACCTT AAAGGCAGATCGCAGCGATTGGCAGCCTCTGGTCGAGCATCTACAG GCTGTTGCCCGTTTGGCAGGAGAGAAGGCTGCCTTCTTCGGCGGCG GTGAATTAGCTGCTCTTGCTGGTCTGTTGCATGACTTGGGTAAATAC ACTGACGAGTTTCAGCGGCGTATTGCGGGTGATGCCATCCGTGTCG ATCACTCTACTCGCGGGGCCATACTGGCGGTAGAACGCTATGGCGC GCTAGGTCAATTGCTAGCCTACGGCATCGCTGGCCACCATGCCGGG TTGGCCAATGGCCGCGAGGCTGGTGAGCGAACTGCCTTGGTCGACC GCCTGAAAGGGGTTGGGCTGCCACGGTTATTGGAGGGGTGGTGCG TGGAAATCGTGCTACCCGAGCGCCTTCAACCACCGCCACTAAAAGC GCGCCTGGAAAGAGGTTTCTTTCAGTTGGCCTTTCTTGGCCGGATG CTCTTTTCCTGCTTGGTTGATGCGGATTATCTAGATACCGAAGCCTT CTACCACCGCGTCGAAGGACGGCGCTCCCTTCGCGAGCAAGCGCGG CCGACCTTGGCCGAGTTACGCGCAGCCCTTGATCGGCATCTGACTG AGTTCAAGGGAGATACGCCGGTCAACCGCGTTCGCGGGGAGATATT GGCCGGCGTGCGCGGCAAGGCGAGCGAACTTCCCGGGCTGTTTTCT CTCACAGTGCCCACAGGAGGCGGCAAGACCCTGGCCTCTCTGGCTT TCGCCCTGGATCACGCTCTAGCTCATGGGCTGCGCCGGGTGATCTA CGTGATTCCCTTCACTAGCATCGTCGAGCAGAACGCTGCGGTATTC CGTCGTGCACTCGGGGCCTTAGGCGAAGAGGCGGTGCTGGAGCAT CACAGCGCCTTCGTTGATGACCGCCGGCAGAGCCTGGAGGCCAAGA AGAAACTGAACCTAGCGATGGAGAACTGGGACGCGCCTATCGTGGT GACCACTGCAGTGCAGTTCTTCGAAAGCCTGTTTGCCGACCGTCCA GCCCAGTGCCGCAAGCTACACAACATCGCCGGCAGCGTGGTGATTC TTGACGAGGCACAGACCCTACCGCTCAAGCTGTTGCGGCCCTGCGT TGCCGCCCTTGATGAACTGGCGCTCAACTACCGTTGTAGCCCAGTT CTCTGTACTGCCACGCAGCCAGCGCTTCAATCGCCGGATTTCATCG GTGGGCTGCAGGACGTACGTGAGCTGGCGCCCGAGCCGCAGCGGC TGTTCCGGGAGTTGGTGCGGGTACGAATACGGACATTGGGCCCGCT CGAAGATGCGGCCTTGACTGAGCAGATCGCCAGGCGTGAACAAGTG CTGTGCATCGTCAACAATCGACGCCAGGCCCGTGCGCTCTATGAGT CGCTTGCCGAGTTGCCCGGTGCCCGCCATCTCACCACCCTGATGTG CGCCAAGCACCGTAGCAGCGTGCTGGCCGAGGTGCGCCAGATGCTC AAAAAGGGGGAGCCCTGTCGCCTGGTGGCCACCTCGCTGATCGAGG CCGGTGTGGATGTGGATTTTCCCGTGGTACTGCGTGCCGAGGCTGG ATTGGATTCCATCGCCCAGGCCGCGGGACGCTGCAATCGCGAAGGC AAGCGGCCGCTGGCCGAAAGCGAGGTGCTGGTGTTCGCCGCGGCC AATTCTGACTGGGCGCCACCCGAGGAACTCAAGCAGTTCGCCCAGG CCGCCCGCGAAGTGATGCGCCTGCACCCGGATGATTGCCTGTCCAT GGCGGCCATCGAGCGGTATTTTCGCATACTGTACTGGCAGAAGGGC GCGGAGGAGTTGGATGCGGGTAACCTGCTCGGCCTGATTGAGAGA GGCCGGCTCGATGGCCTGCCCTACGAGACTTTGGCCACCAAGTTCC GCATGATCGACAGCCTTCAACTGCCGGTGATCATCCCATTTGATGA CGAGGCCAGAGCAGCCCTGCGCGAGCTGGAGTTCGCCGACGGCTG CGCCGCCATCGCCCGTCGCCTGCAGCCATATCTGGTGCAGATGCCA CGCAAGGGTTATCAGGCATTGCGGGAAGCCGGTGCGATCCAGGCG GCGGCAGGTACGCGTTATGGTGAGCAGTTTATGGCGTTGGTCAACC

【０３９８】

【表１５－２】

		CTGATCTGTATCACCACCAATTCGGGTTGCACTGGGATAATCCGGC CTTTGTCAGCAGCGAGCGGCTATGTTGGTAG
Cas5c	76	ATGGCCTACGGAATTCGCTTAATGGTCTGGGGCGAGCGTGCCTGCT TCACCCGCCCGGAAATGAAGGTGGAACGCGTCTCTTACGATGCGAT CACGCCGTCCGCCGCGCGCGGCATTCTCGAGGCTATCCACTGGAAG CCGGCGATTCGCTGGGTGGTGGATCGCATTCAAGTGCTTAAGCCGA TCCGCTTCGAATCCATCCGGCGCAACGAGGTCGGCGGCAAGCTGTC CGCTGTCAGCGTCGGTAAGGCAATGAAGGCCGGGCGTACTAATGGT CTGGTGAATCTGGTCGAGGAGGATCGCCAGCAGCGCGCGACTACTC TGCTGCGCGATGTCTCCTATGTCATCGAGGCGCATTTCGAGATGAC TGACAGGGCTGGCGCCGACGATACGGTGGGCAAGCATCTGGATATC TTCAACCGTCGCGCACGGAAGGGGCAGTGCTTCCATACACCCTGCC TAGGCGTGCGCGAGTTTCCGGCCAGTTTTCGGTTGCTGGAAGAGGG CAGTGCCGAGCCTGAAGTCGATGCCTTTCTGCGCGGCGAGCGTGAT CTGGGCTGGATGCTGCATGACATTGACTTCGCCGATGGCATGACCC CGCACTTCTTCCGTGCCCTGATGCGCGATGGGCTGATCGAGGTGCC GGCCTTCAGGGCGGCAGAGGACAAGGCATGA
Cas8c	77	ATGATCCTTTCGGCCCTCAATGACTATTATCAGCGACTGCTGGAGC GGGGTGAAGCGAATATCTCACCCTTCGGCTACAGCCAAGAAAAGAT CAGTTACGCCCTGCTGCTGTCCGCACAAGGAGAGTTGCTGGACGTG CAGGACATTCGCTTGCTCTCTGGCAAGAAGCCTCAACCCAGGCTTA TGAGTGTGCCGCAGCCGGAGAAGCGCACCTCGGGCATCAAGTCCAA CGTACTGTGGGACAAGACCAGCTATGTGCTGGGTGTTAGTGCCAAG GGCGGAGAGCGTACTCAGCAGGAGCACGAGTCCTTCAAGACGCTGC ACCGGCAGATCTTGGTTGGGGAAGGCGACCCCGGTCTGCAGGCCTT GCTCCAGTTCCTCGACTGTTGGCAGCCGGAGCAGTTCAAGCCCCCG CTGTTCAGCGAAGCAATGCTCGACAGCAACTTAGTGTTCCGCCTAG ACGGCCAACAACGCTATCTGCACGAGACTCCGGCGGCCCTGGCGTT GCGTACCCGGCTGTTGGCCGACGGCGACAGCCGCGAGGGGCTGTG CCTAGTCTGCGGCCAACGTCAGCCGTTGGCGCGCCTGCATCCAGCG GTCAAGGGCGTCAATGGTGCCCAGAGTTCGGGGGCTTCCATCGTCT CCTTCAACCTCGACGCTTTTTCCTCCTACGGCAAGAGCCAGGGGGA AAATGCTCCGGTCTCCGAACAGGCCGCCTTTGCCTACACCACGGTG CTCAACCATTTGTTGCGTCGCGACGAGCACAACCGCCAGCGCCTGC AGATTGGCGACGCGAGTGTGGTGTTCTGGGCGCAGGCGGATACTCC TGCTCAGGTGGCCGCCGCCGAGTCGACCTTCTGGAACCTGCTGGAG CCACCCGCAGATGATGGTCAGGAAGCGGAAAAGCTGCGCGGCGTG CTGGATGCTGTGGCCACGGGGCGGCCCTTGCATGAGCTCGACTCGC TAATGGAGGAAGGTACCCGCATTTTTGTGTTAGGGCTGGCGCCCAA TACCTCGCGACTGTCCATTCGGTTCTGGGCAGTCGATAGCCTTGCG GTATTCACCCAGCATCTGGCCGAGCATTTCCGGGATATGCACCTTG AGCCTCTGCCCTGGAAGACGGAGCCGGCCATCTGGCGCTTGCTCTA TGCTACCGCGCCCAGTCGTGACGGCAGAGCCAAGACCGAAGACGTA CTCCCACAACTGGCCGGTGAAATGACCCGCGCCATCCTGACCGGCA GCCGCTATCCGCGCAGTTTGCTAGCCAACCTGATCATGCGCATGCG TGCCGACGGCGACGTCTCTGGCATACGCGTCGCGCTGTGCAAGGCC GTGCTCGCTCGCGAGGCACGCCTGAGCGGCAAAATTCACCAAGAGG AGCTACCTATGAGTCTCGACAAGGACGCCAGCAACCCCGGCTATCG CTTGGGGAGGCTGTTCGCCGTGTTGGAAGGCGCCCAGCGCGCAGC CCTGGGCGACAGGGTCAATGCCACTATCCGTGACCGCTACTACGGT GCCGCGTCCAGCACGCCAGCCACGGTTTTCCCGATACTGCTGCGCA ACACACAAAACCACTTGGCCAAGCTGCGCAAGGAGAAGCCCGGACT

【０３９９】

【表１５－３】

		AGCAGTGAACCTAGAGCGCGATATAGGCGAAATCATTGACGGTATG CAGAGCCAATTCCCGCGTTGCCTGCGCCTGGAGGACCAGGGACGCT TTGCTATTGGTTACTACCAACAGGCCCAGGCCCGTTTCAACCGTGG CCCCGATTCCGTCGAGTAA
Cas7c	78	ATGACCGCCATCTCCAACCGCTACGAGTTCGTTTACCTCTTTGATGT CAGCAATGGCAATCCCAATGGCGACCCGGATGCTGGCAACATGCCG CGTCTCGATCCGGAAACCAACCAGGGGTTGGTCACTGACGTTTGCC TCAAGCGCAAGATCCGCAACTACGTCAGCCTGGAGCAGGAAAGTGC CCCCGGCTATGCCATCTATATGCAGGAAAAATCCGTGCTGAATAAC CAGCACAAACAGGCCTACGAGGCGCTCGGTATCGAGTCAGAGGCAA AGAAACTGCCCAAGGACGAAGCCAAGGCGCGCGAACTGACCTCTTG GATGTGCAAGAACTTCTTCGATGTGCGTGCTTTCGGGGCGGTGATG ACCACCGAGATTAATGCCGGCCAGGTGCGTGGACCGATCCAACTGG CATTCGCCACGTCTATCGACCCGGTATTGCCTATGGAGGTATCCATC ACCCGCATGGCGGTGACTAACGAAAAGGATTTGGAGAAGGAACGCA CCATGGGACGCAAGCACATCGTGCCTTACGGCTTGTACCGCGCCCA TGGTTTCATCTCTGCCAAGTTGGCCGAGCGAACCGGCTTTTCCGAC GACGACTTGGAACTGCTATGGCGCGCTTTGGCCAATATGTTCGAAC ACGACCGCTCGGCGGCACGTGGCGAGATGGCAGCGCGCAAGTTGA TCGTCTTCAAGCATGAGCATGCCATGGGCAATGCACCCGCCCATGT GCTGTTCGGCAGCGTTAAGGTCGAGCGAGTCGAGGGGGACGCAGT TACACCAGCACGCGGTTTCCAGGATTACCGTGTCAGCATCGATGCG GAAGCTCTGCCTCAGGGCGTGAGCGTGCGCGAGTACCTCTAG

タンパク質	配列番号	配列
Cas3	79	MDAEASDTHFFAHSTLKADRSDWQPLVEHLQAVARLAGEKAAFFGG GELAALAGLLHDLGKYTDEFQRRIAGDAIRVDHSTRGAILAVERYGAL GQLLAYGIAGHHAGLANGREAGERTALVDRLKGVGLPRLLEGWCVEI VLPERLQPPPLKARLERGFFQLAFLGRMLFSCLVDADYLDTEAFYHRV EGRRSLREQARPTLAELRAALDRHLTEFKGDTPVNRVRGEILAGVRGK ASELPGLFSLTVPTGGGKTLASLAFALDHALAHGLRRVIYVIPFTSIVEQ NAAVFRRALGALGEEAVLEHHSAFVDDRRQSLEAKKKLNLAMENWD APIVVTTAVQFFESLFADRPAQCRKLHNIAGSVVILDEAQTLPLKLLRP CVAALDELALNYRCSPVLCTATQPALQSPDFIGGLQDVRELAPEPQRL FRELVRVRIRTLGPLEDAALTEQIARREQVLCIVNNRRQARALYESLAE LPGARHLTTLMCAKHRSSVLAEVRQMLKKGEPCRLVATSLIEAGVDV DFPVVLRAEAGLDSIAQAAGRCNREGKRPLAESEVLVFAAANSDWAPP EELKQFAQAAREVMRLHPDDCLSMAAIERYFRILYWQKGAEELDAGN LLGLIERGRLDGLPYETLATKFRMIDSLQLPVIIPFDDEARAALRELEF ADGCAAIARRLQPYLVQMPRKGYQALREAGAIQAAAGTRYGEQFMAL VNPDLYHHQFGLHWDNPAFVSSERLCW*
Cas5c	80	MAYGIRLMVWGERACFTRPEMKVERVSYDAITPSAARGILEAIHWKPA IRWVVDRIQVLKPIRFESIRRNEVGGKLSAVSVGKAMKAGRTNGLVNL VEEDRQQRATTLLRDVSYVIEAHFEMTDRAGADDTVGKHLDIFNRRA RKGQCFHTPCLGVREFPASFRLLEEGSAEPEVDAFLRGERDLGWMLH DIDFADGMTPHFFRALMRDGLIEVPAFRAAEDKA*
Cas8c	81	MILSALNDYYQRLLERGEANISPFGYSQEKISYALLLSAQGELLDVQDI RLLSGKKPQPRLMSVPQPEKRTSGIKSNVLWDKTSYVLGVSAKGGER TQQEHESFKTLHRQILVGEGDPGLQALLQFLDCWQPEQFKPPLFSEA MLDSNLVFRLDGQQRYLHETPAALALRTRLLADGDSREGLCLVCGQR

【０４００】

【表１５－４】

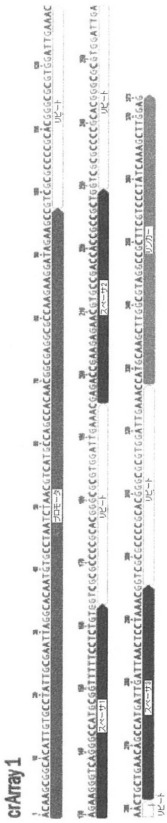
		QPLARLHPAVKGVNGAQSSGASIVSFNLDAFSSYGKSQGENAPVSEQA AFAYTTVLNHLLRRDEHNRQRLQIGDASVVFWAQADTPAQVAAAEST FWNLLEPPADDGQEAEKLRGVLDAVATGRPLHELDSLMEEGTRIFVL GLAPNTSRLSIRFWAVDSLAVFTQHLAEHFRDMHLEPLPWKTEPAIW RLLYATAPSRDGRAKTEDVLPQLAGEMTRAILTGSRYPRSLLANLIMR MRADGDVSGIRVALCKAVLAREARLSGKIHQEELPMSLDKDASNPGY RLGRLFAVLEGAQRAALGDRVNATIRDRYYGAASSTPATVFPILLRNTQ NHLAKLRKEKPGLAVNLERDIGEIIDGMQSQFPRCLRLEDQGRFAIGY YQQAQARFNRGPDSVE*
Cas7c	82	MTAISNRYEFVYLFDVSNGNPNGDPDAGNMPRLDPETNQGLVTDVCL KRKIRNYVSLEQESAPGYAIYMQEKSVLNNQHKQAYEALGIESEAKKL PKDEAKARELTSWMCKNFFDVRAFGAVMTTEINAGQVRGPIQLAFAT SIDPVLPMEVSITRMAVTNEKDLEKERTMGRKHIVPYGLYRAHGFISA KLAERTGFSDDDLELLWRALANMFEHDRSAARGEMAARKLIVFKHE HAMGNAPAHVLFGSVKVERVEGDAVTPARGFQDYRVSIDAEALPQGV SVREYL*

【０４０１】

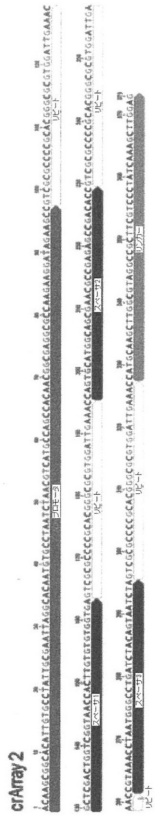
本開示の好ましい実施形態が本明細書中で示され、かつ記載されてきたが、当業者であれば、かかる実施形態がほんの一例として提供されていることは明白であろう。本開示から逸脱することなく多数の変形、変更、および置換えが当業者に想到されるであろう。本開示の実施形態に対する種々の代案が本開示の実施に利用され得ることを理解されたい。以下の特許請求の範囲は本開示の範囲を定めており、これら特許請求の範囲内の方法および構造、ならびにそれらの等価物は、本開示に包含されることが意図される。

【図面】

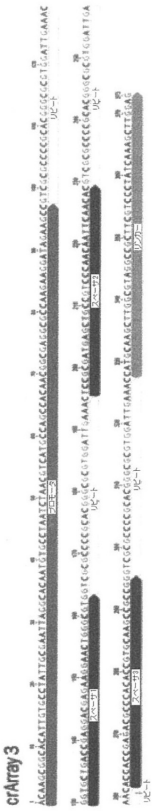
【図１Ａ】



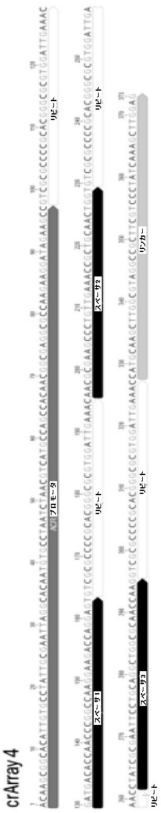
【図１Ｂ】



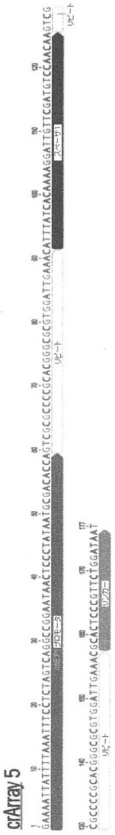
【図１Ｃ】



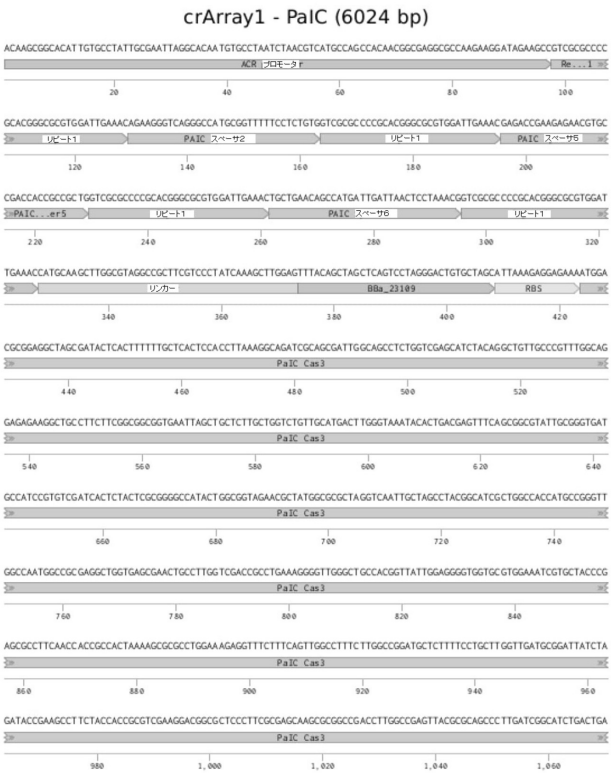
【図１Ｄ】



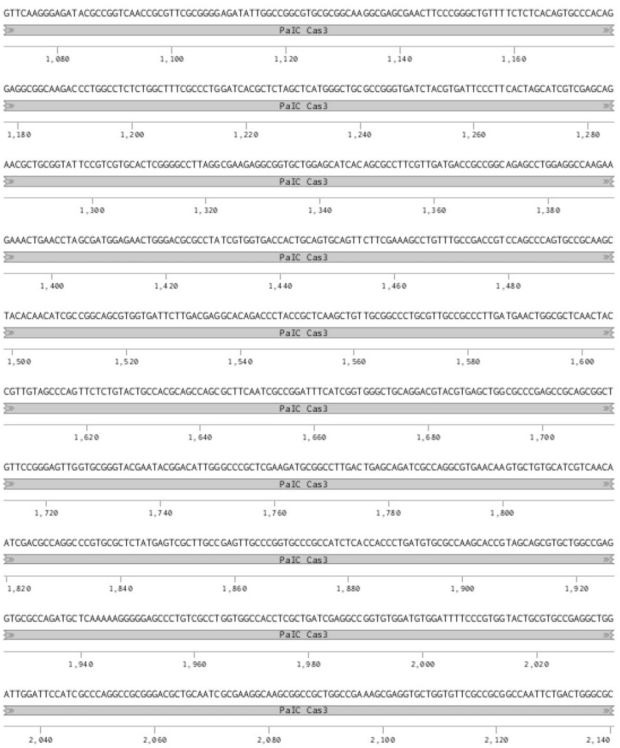
【図１Ｅ】



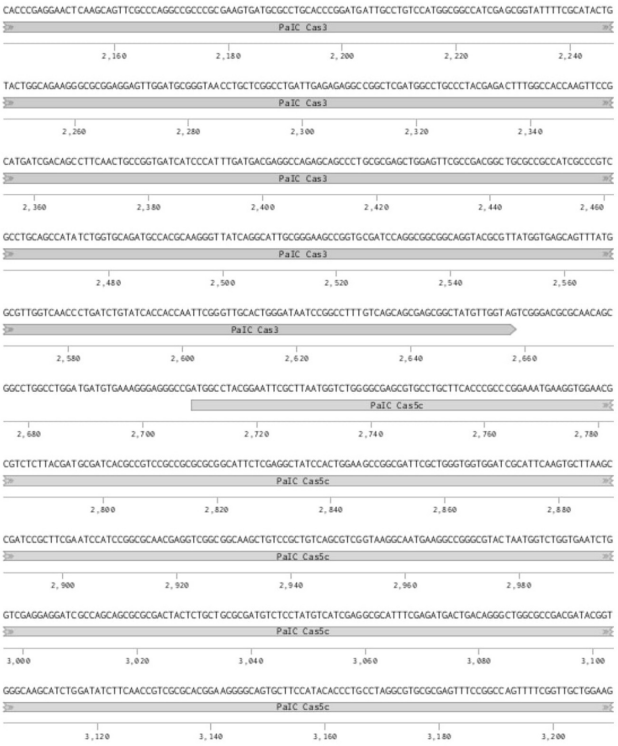
【図１Ｆ】



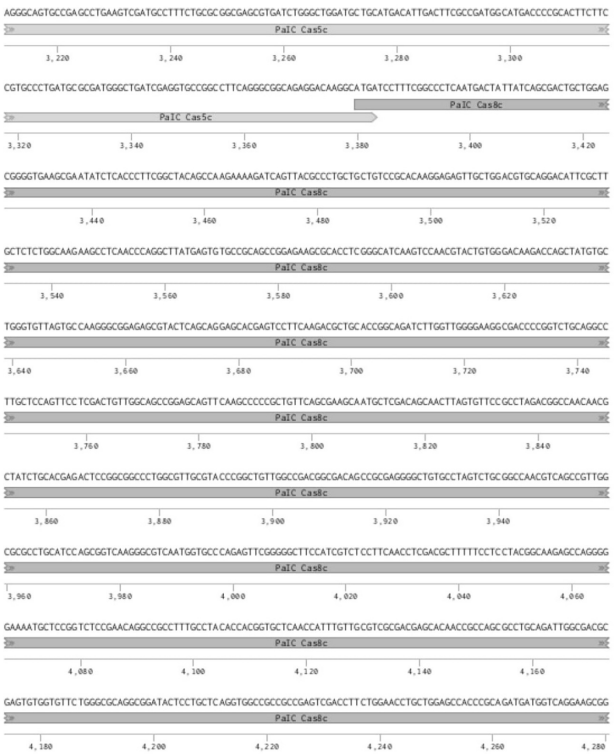
【図１Ｇ】



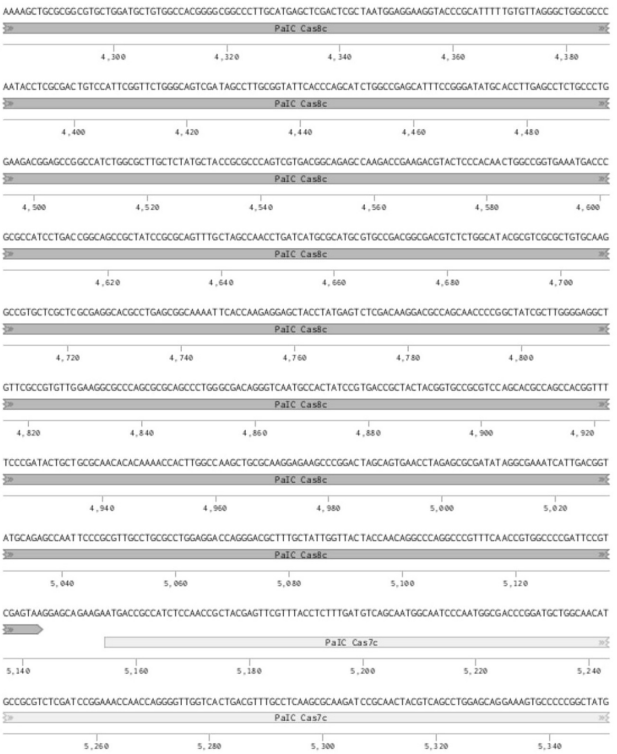
【図１Ｈ】



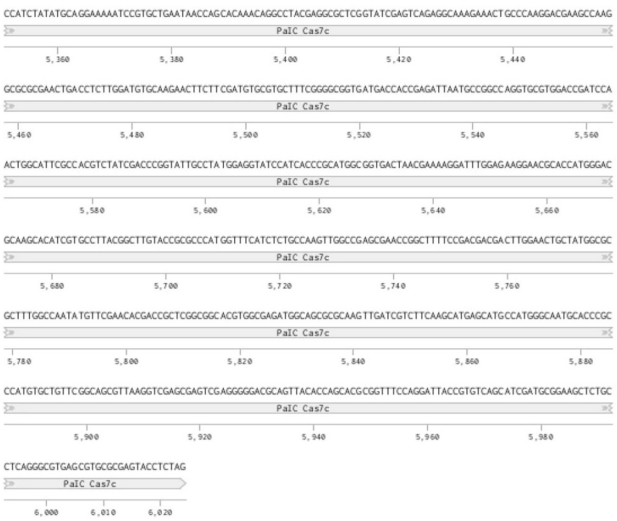
【図１Ｉ】



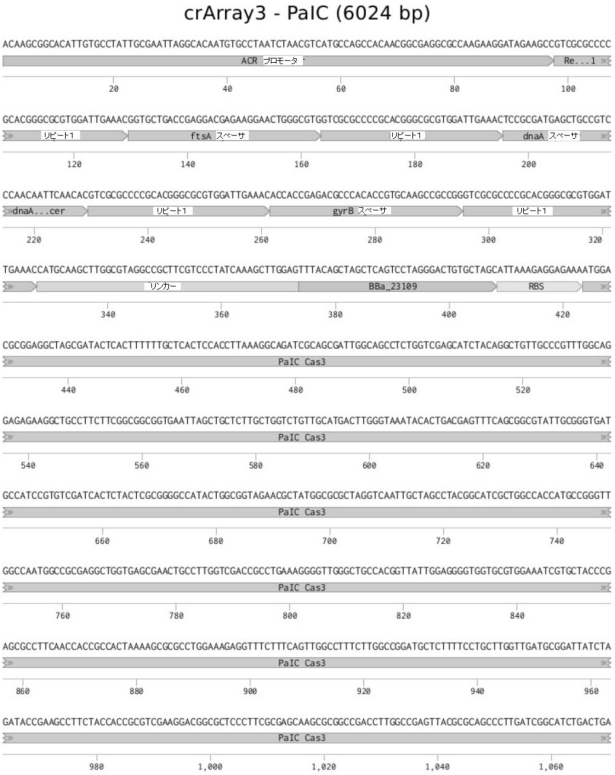
【図１Ｊ】



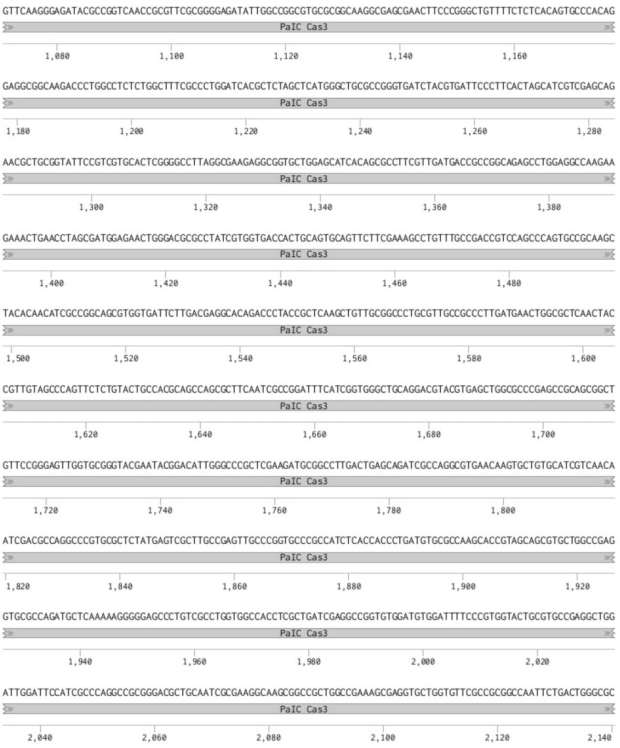
【図１Ｋ】



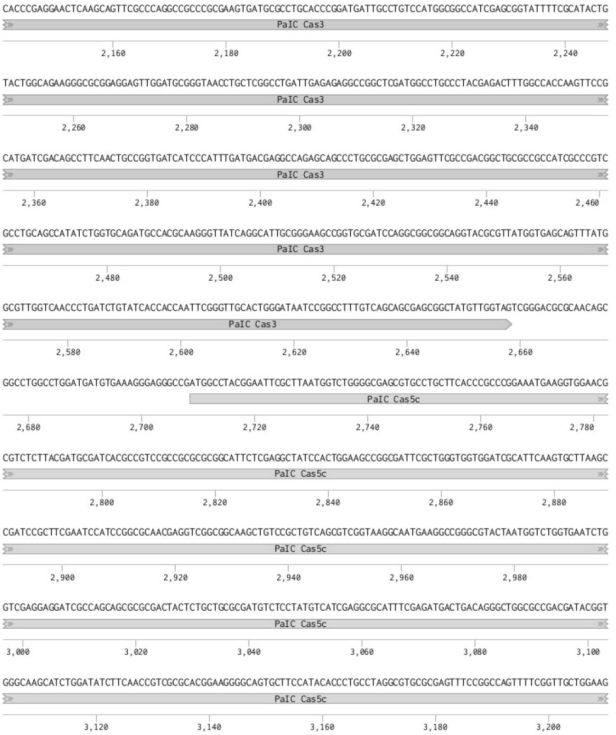
【図１Ｌ】



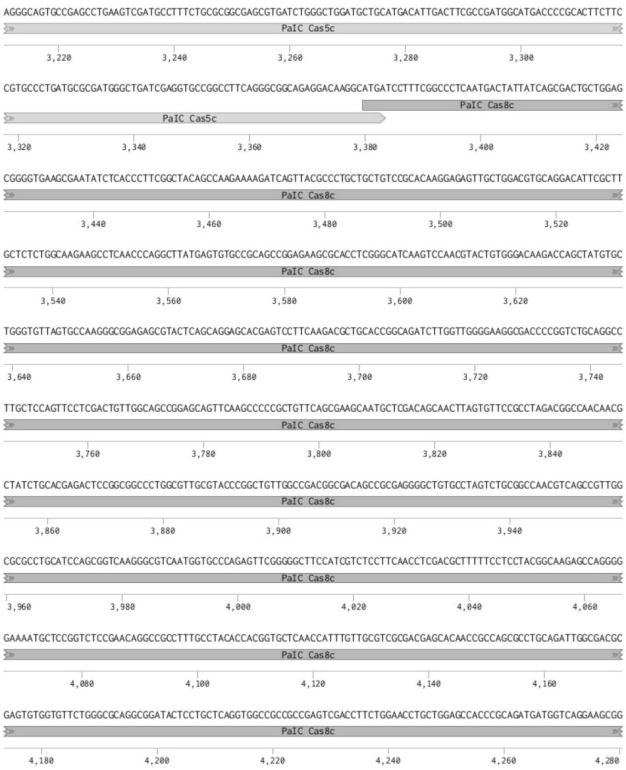
【図１Ｍ】



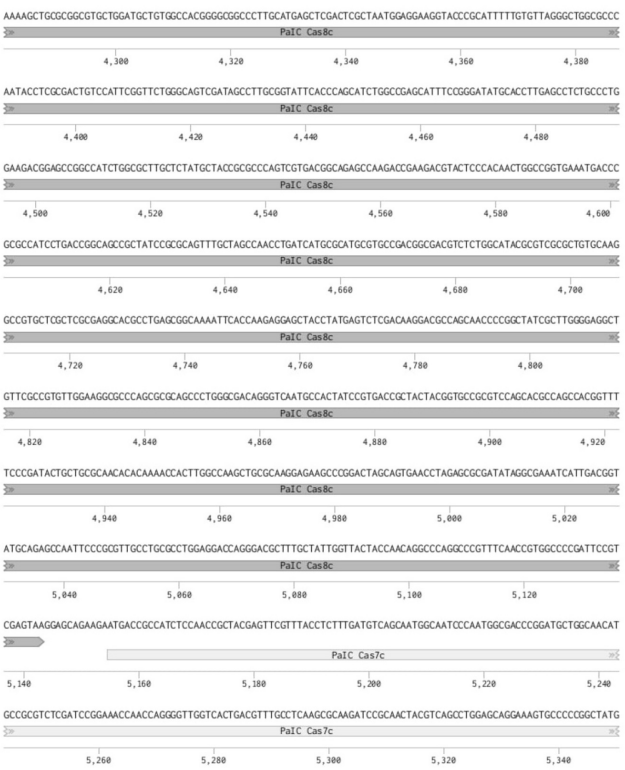
【図１Ｎ】



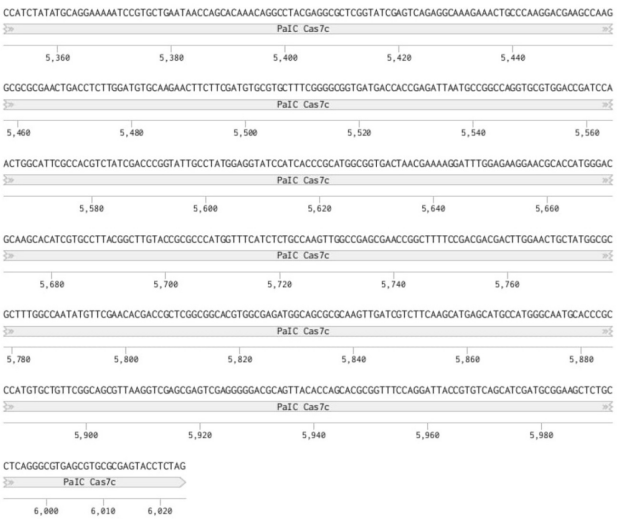
【図１Ｏ】



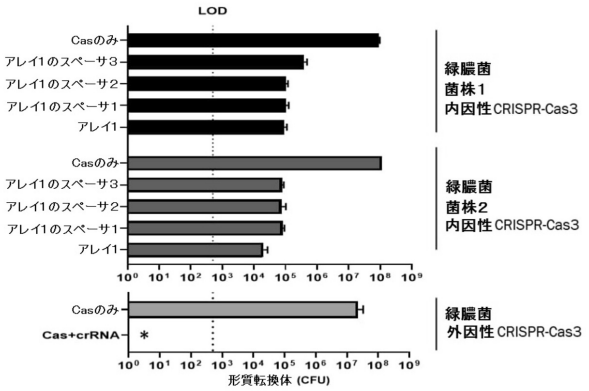
【図１Ｐ】



【図１Ｑ】

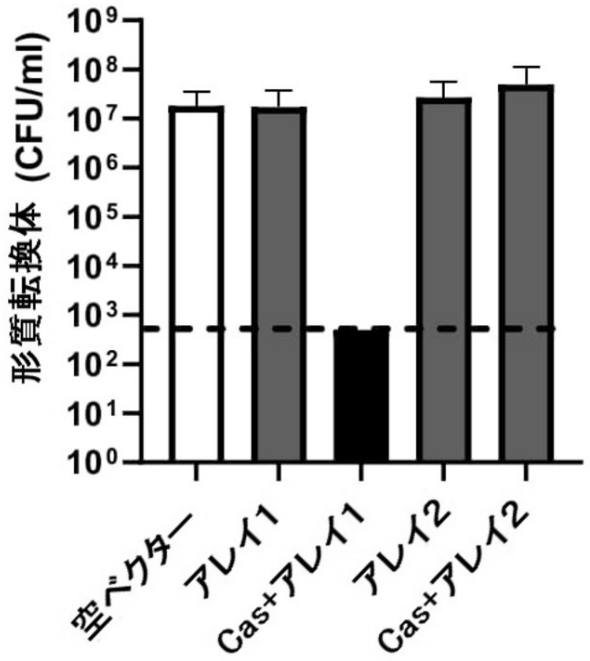


【図２Ａ】

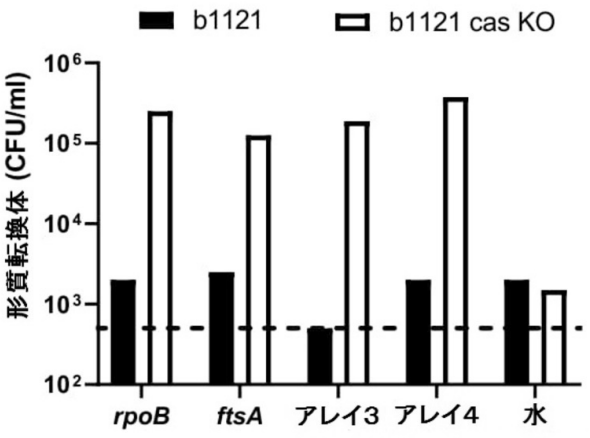


*: LOD未満

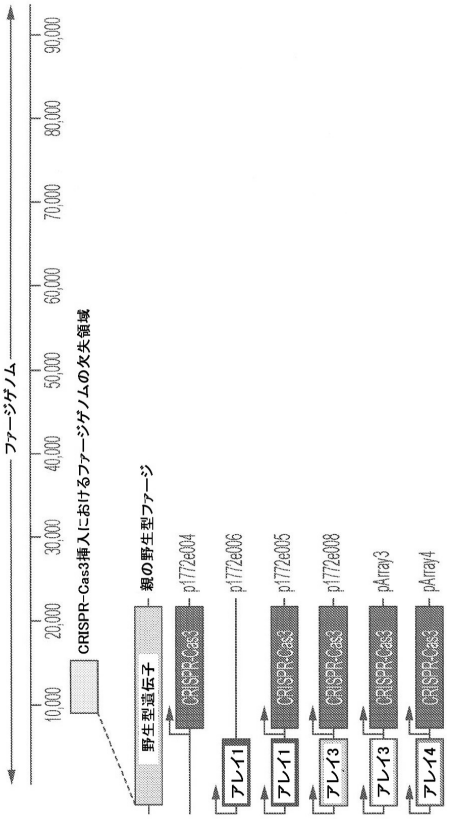
【図２Ｂ】



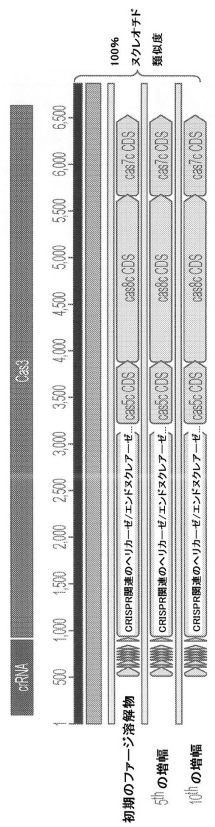
【図２Ｃ】



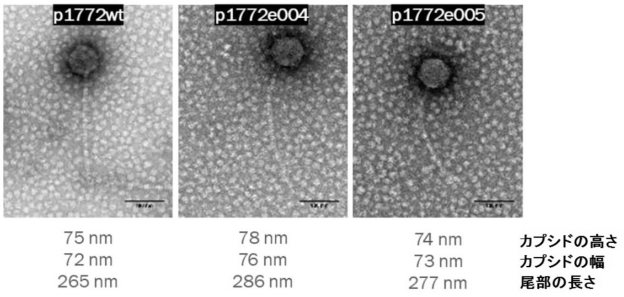
【図３Ａ】



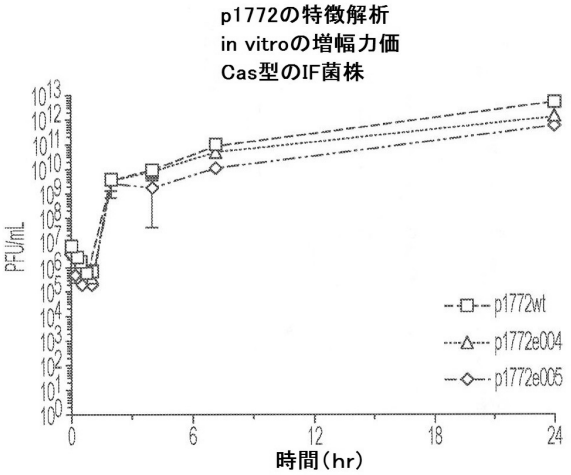
【図３Ｂ】



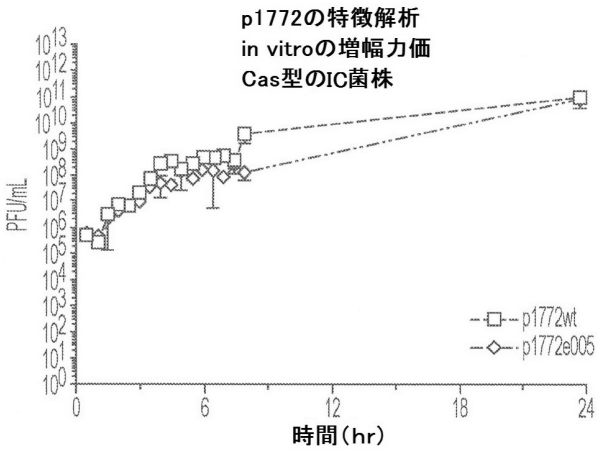
【図４】



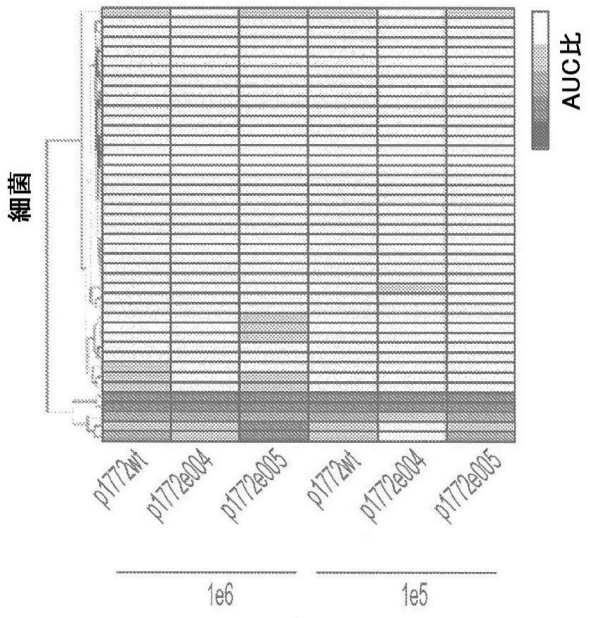
【図５Ａ】



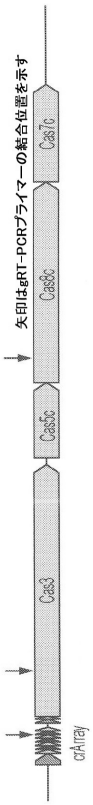
【図５Ｂ】



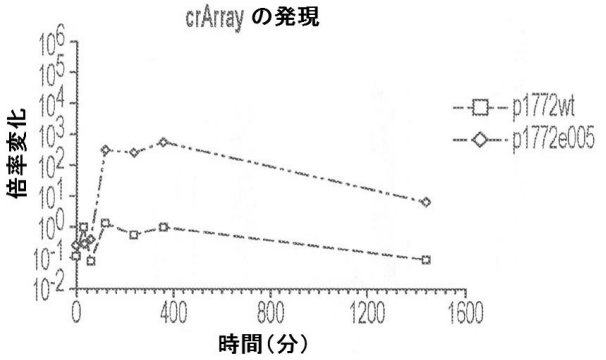
【図５Ｃ】



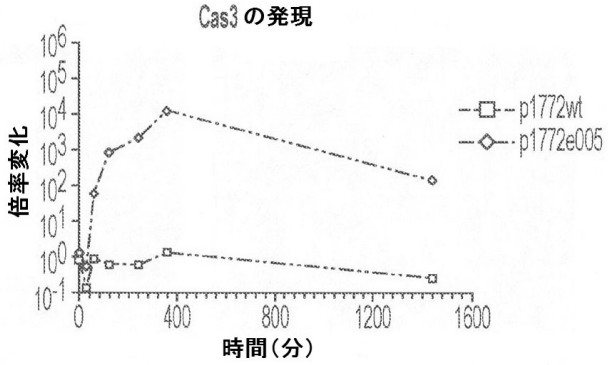
【図６Ａ】



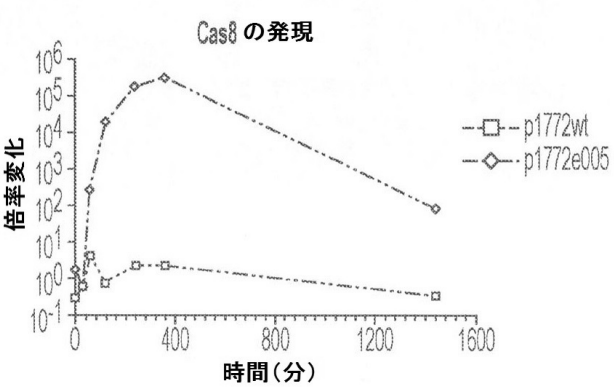
【図６Ｂ】



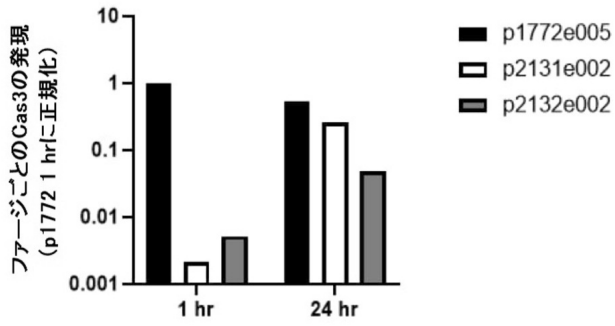
【図６Ｃ】



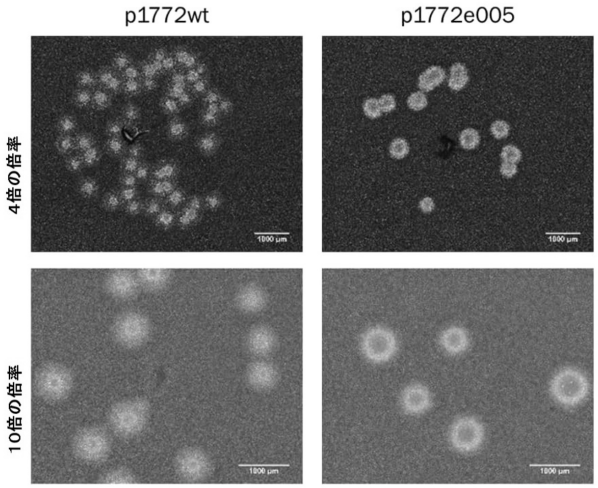
【図６Ｄ】



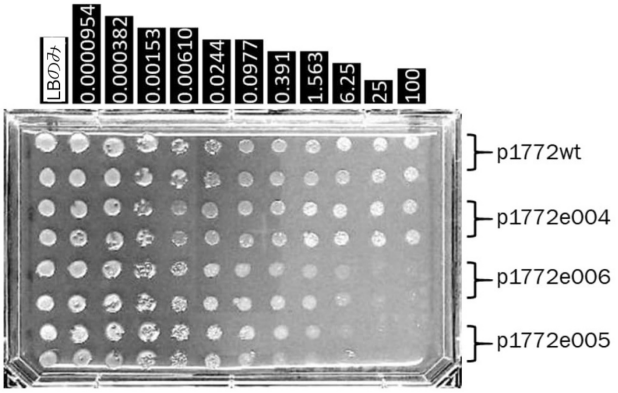
【図６Ｅ】



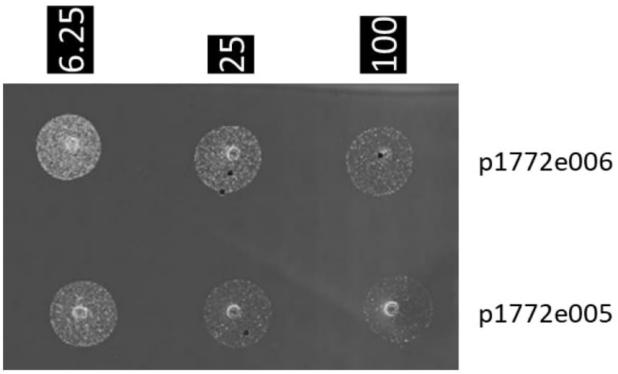
【図７】



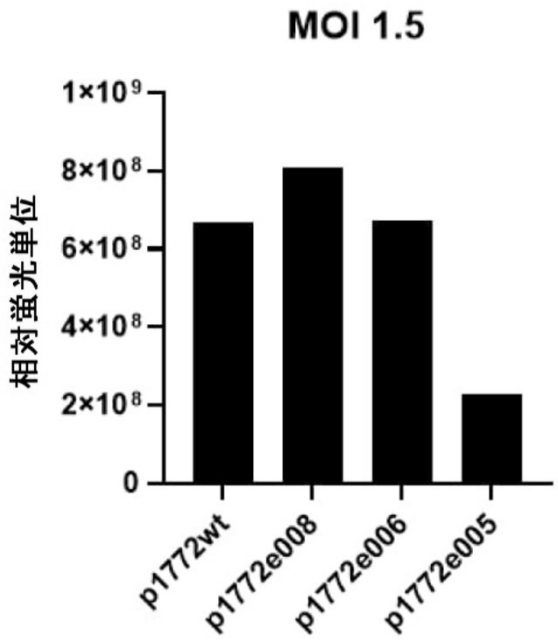
【図８Ａ】



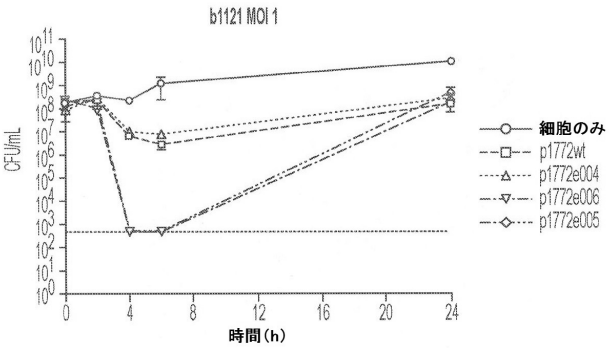
【図８Ｂ】



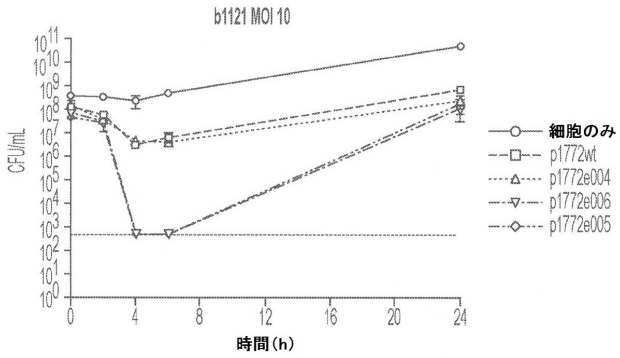
【図８Ｃ】



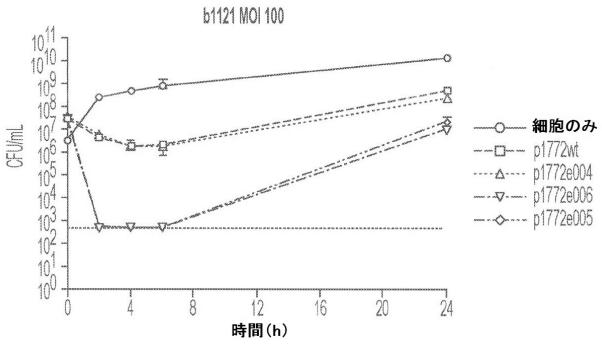
【図９Ａ】



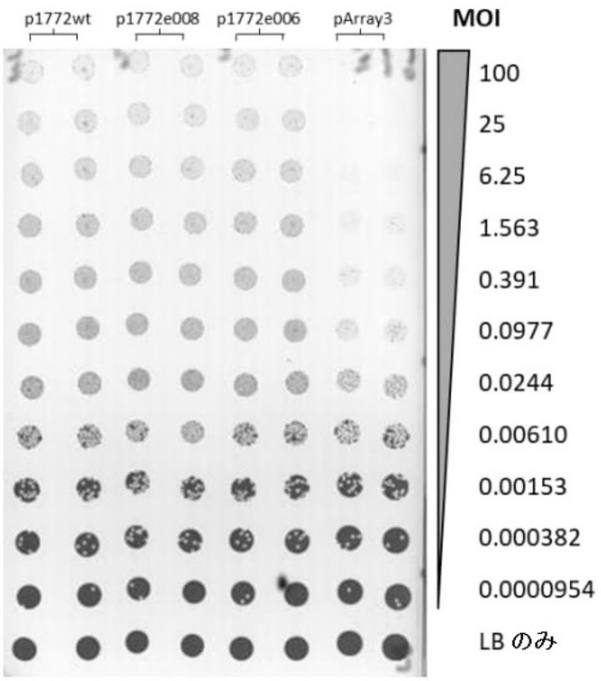
【図９Ｂ】



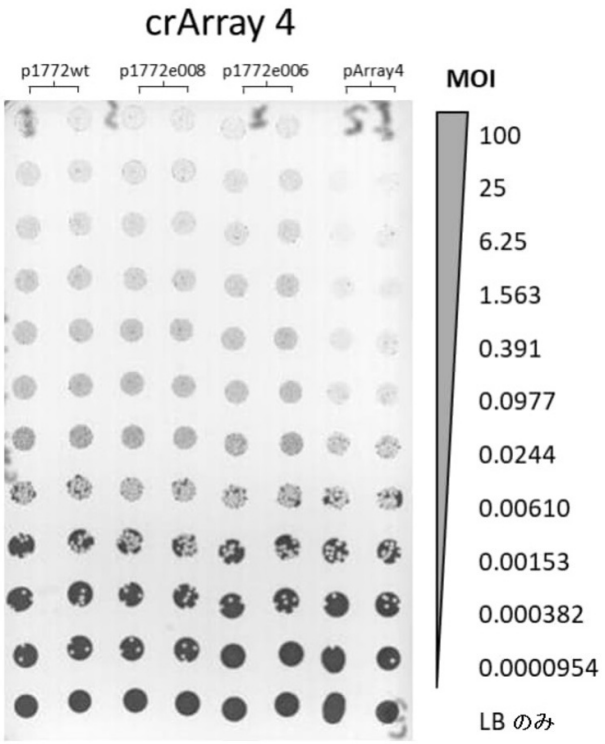
【図９Ｃ】



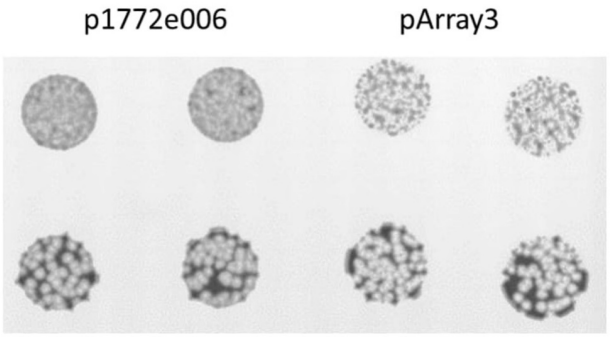
【図１０Ａ】



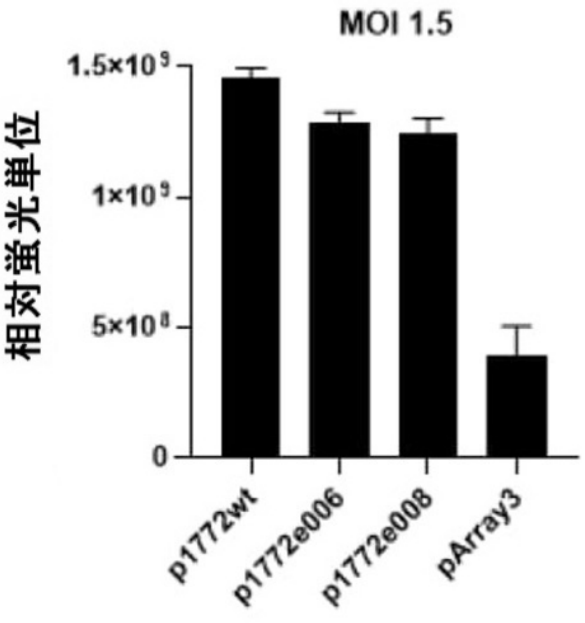
【図１０Ｂ】



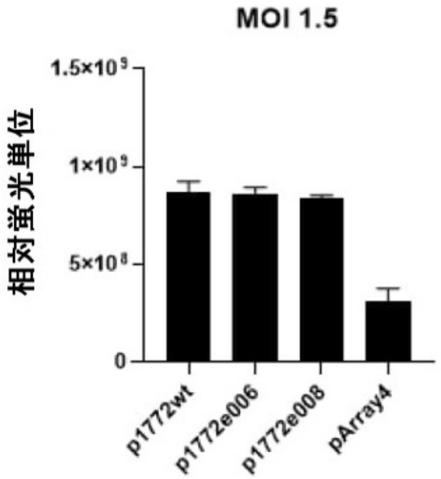
【図１０Ｃ】



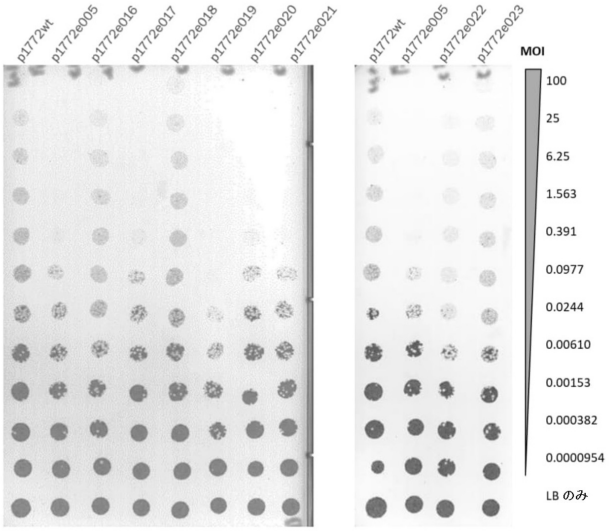
【図１０Ｄ】



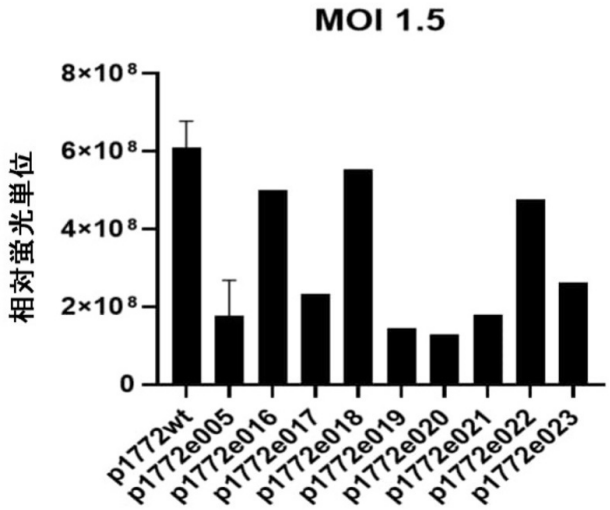
【図１０Ｅ】



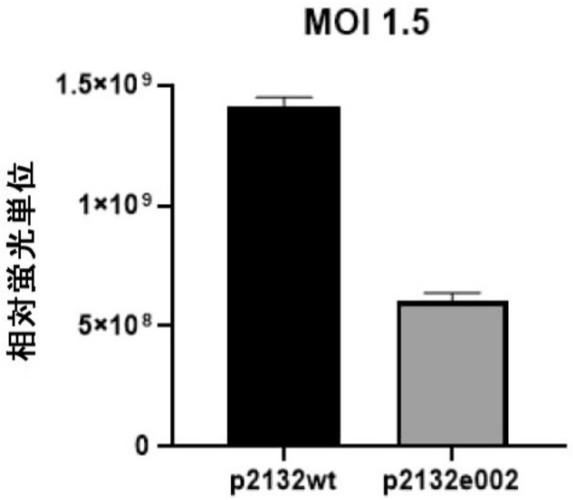
【図１１Ａ】



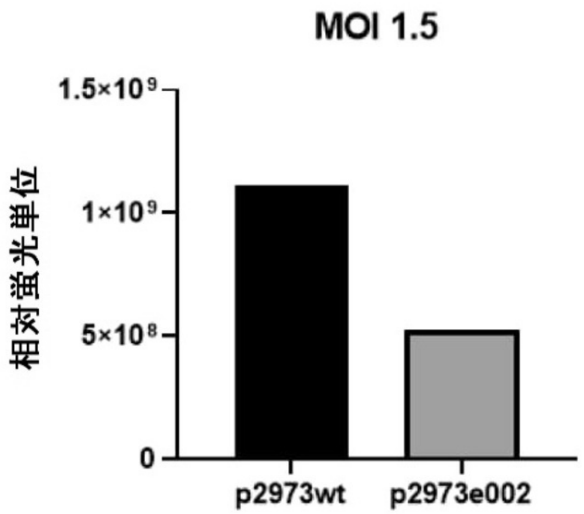
【図１１Ｂ】



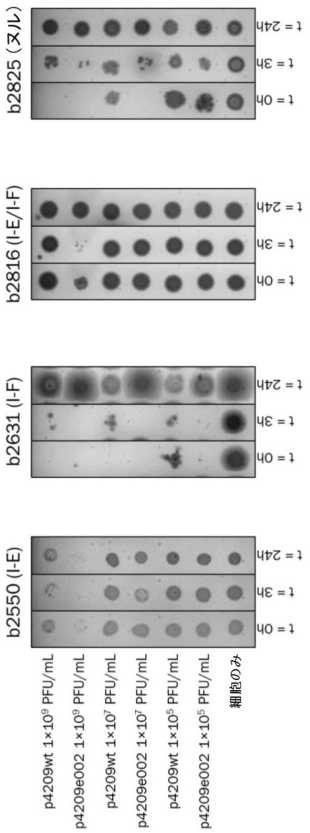
【図１２Ａ】



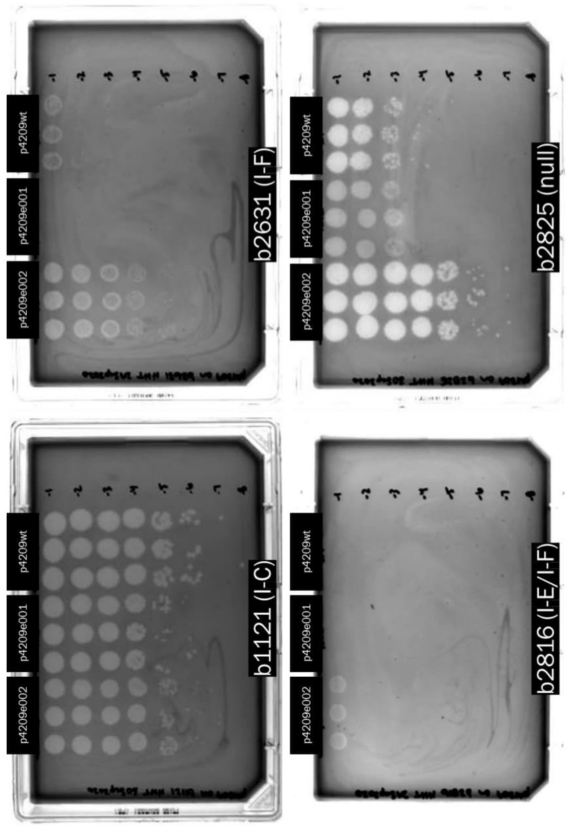
【図１２Ｂ】



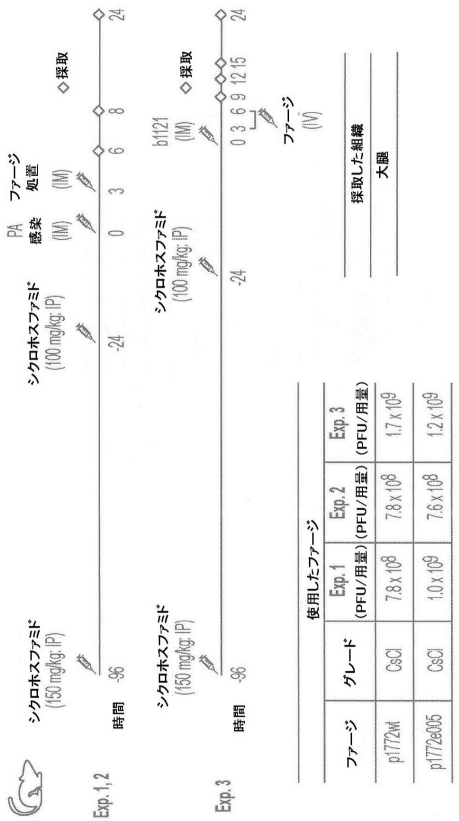
【図１３】



【図１４】

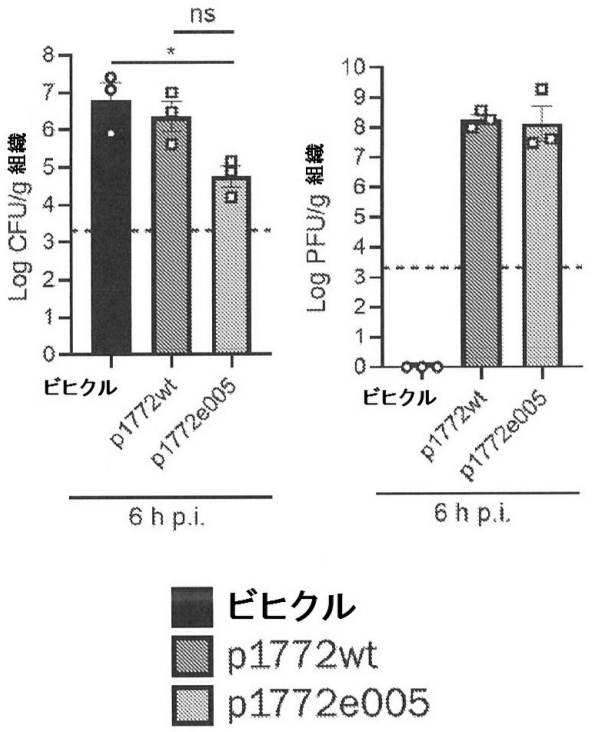


【図１５Ａ】

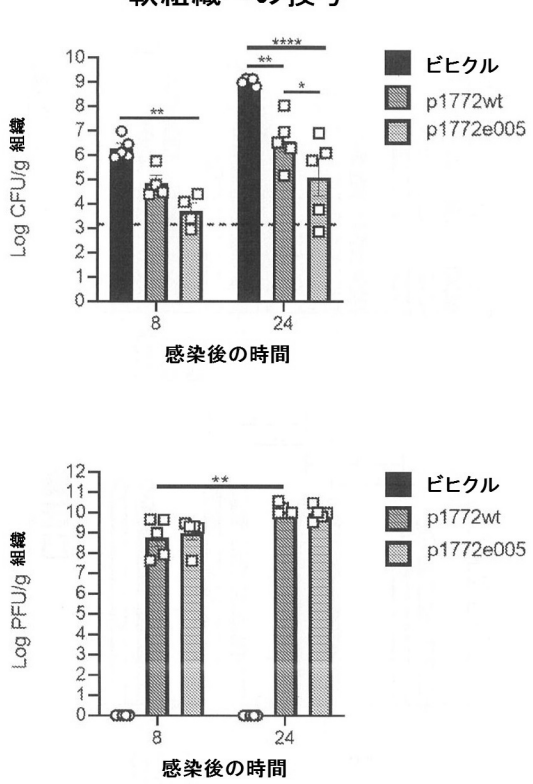


ファージ	グレード	Exp. 1 (PFU/用量)	Exp. 2 (PFU/用量)	Exp. 3 (PFU/用量)
p1772wt	CsCl	7.8 x 10⁸	7.8 x 10⁸	1.7 x 10⁹
p1772e005	CsCl	1.0 x 10⁹	7.6 x 10⁸	1.2 x 10⁹

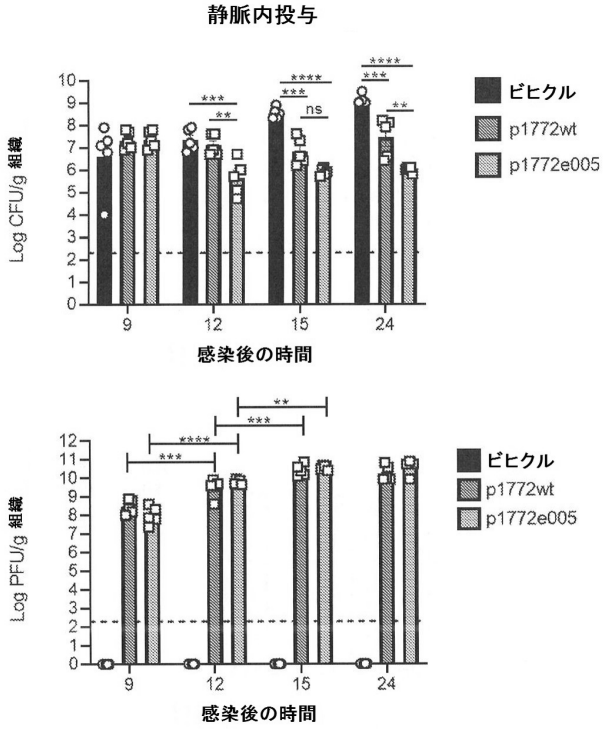
【図１５Ｂ】



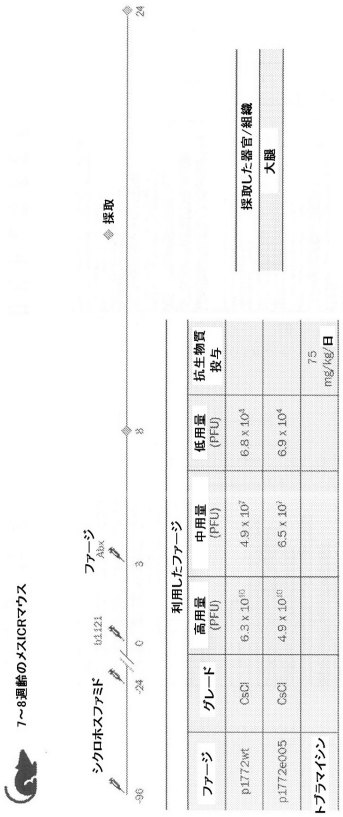
【図１５Ｃ】



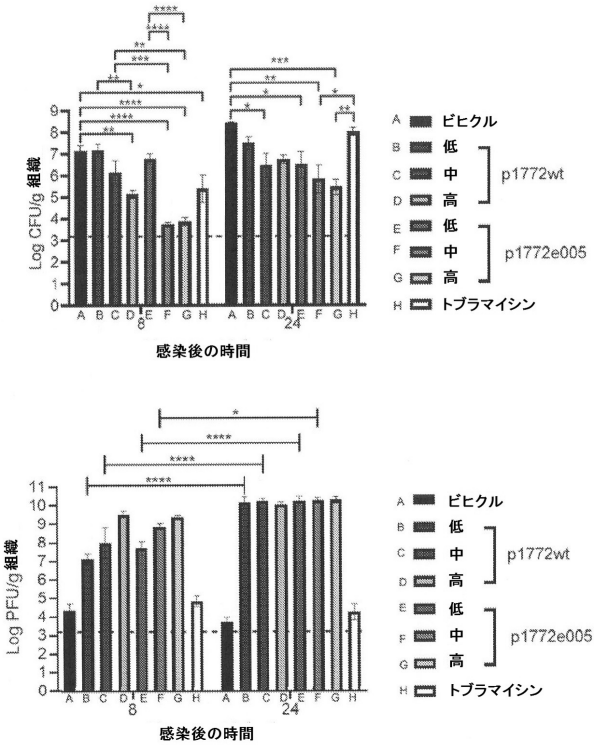
【図１５Ｄ】



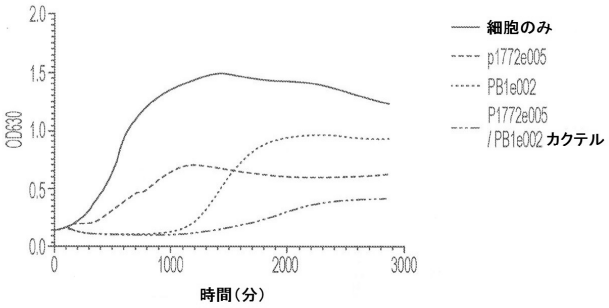
【図１５Ｅ】



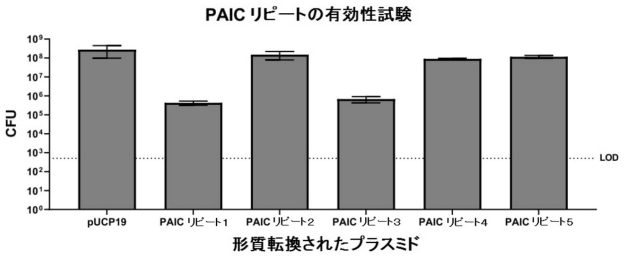
【図１５Ｆ】



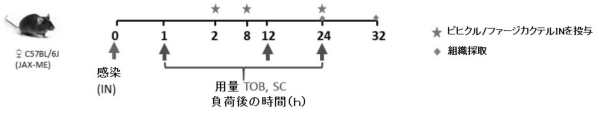
【図１６】



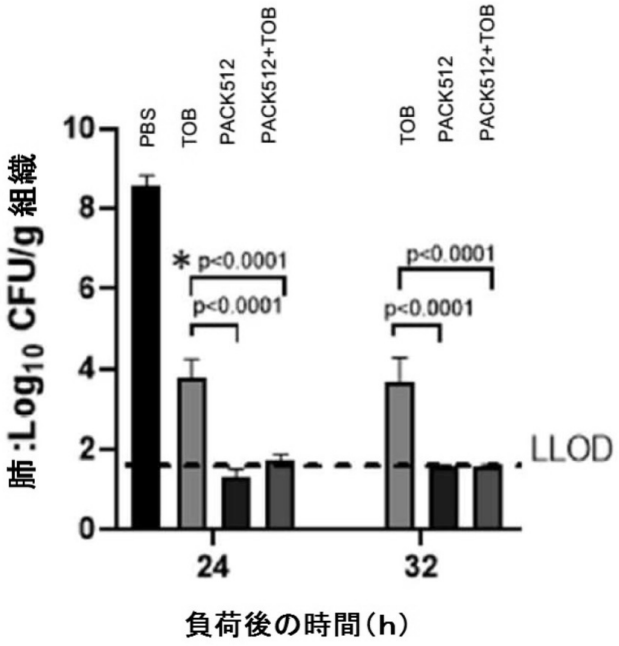
【図１７】



【図１８Ａ】

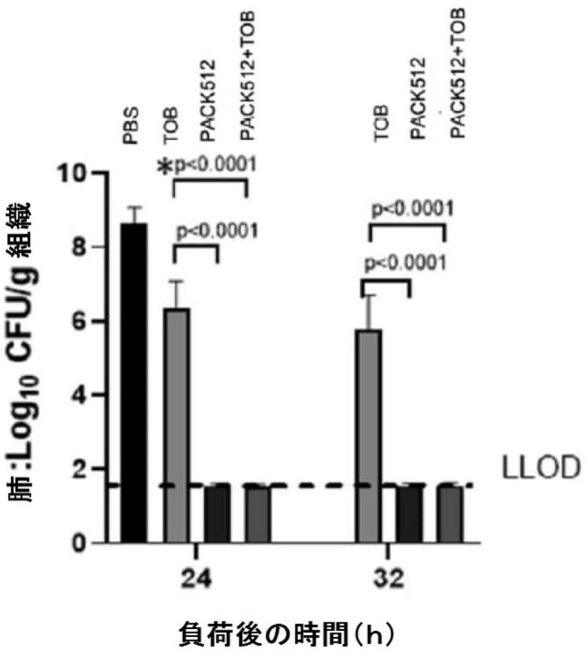


【図１８Ｂ】



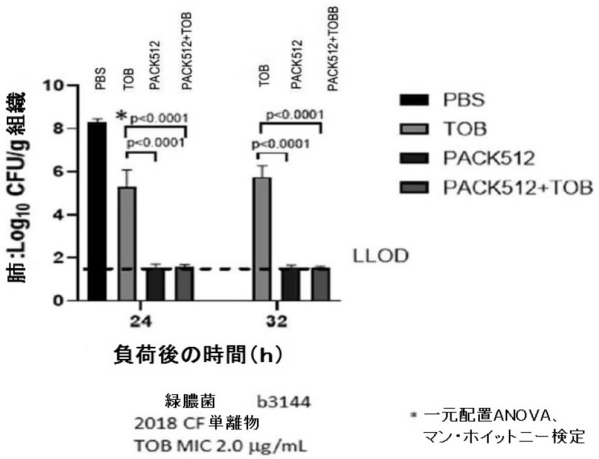
緑膿菌　b2631
2018 CF 単離物
TOB MIC 0.5 μg/mL

【図１８Ｃ】



緑膿菌　b1121
呼吸器単離物
TOB MIC 0.5 μg/mL

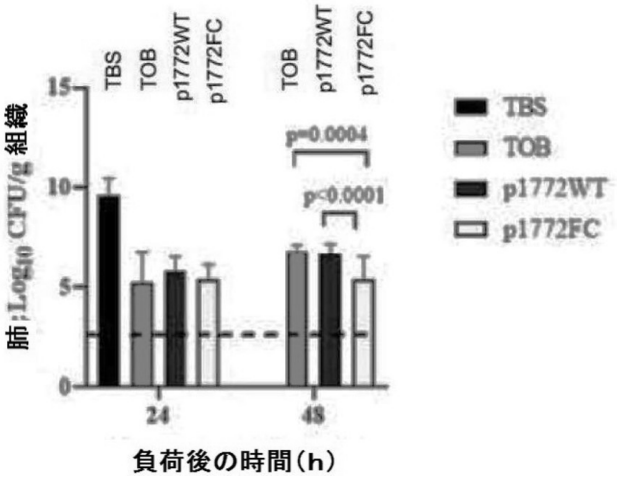
【図１８Ｄ】



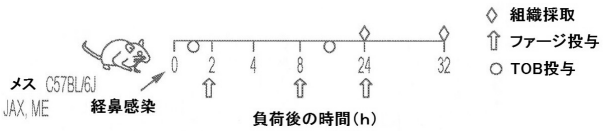
緑膿菌　b3144
2018 CF 単離物
TOB MIC 2.0 μg/mL

* 一元配置ANOVA、
マン・ホイットニー検定

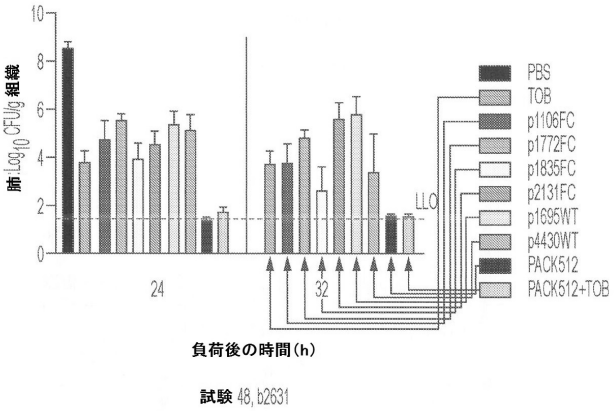
【図１８Ｅ】



【図１８Ｆ】

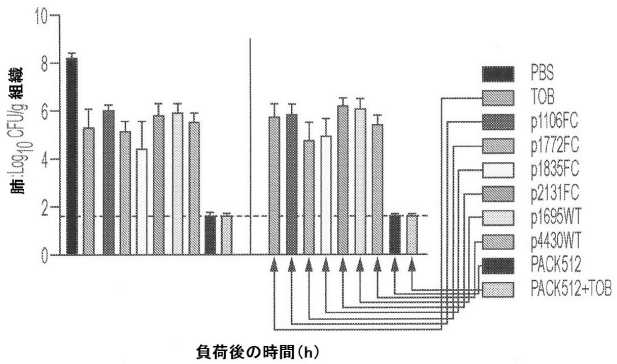


【図１８Ｇ】



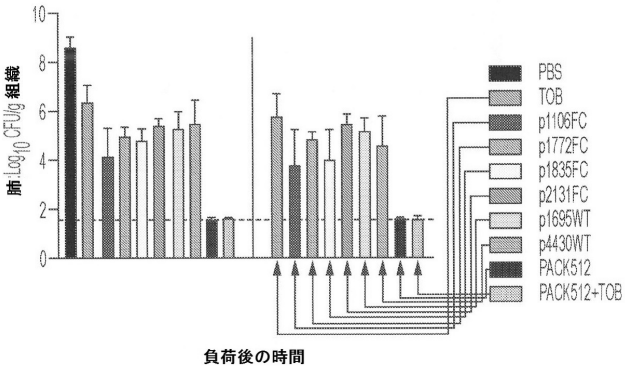
試験 48, b2631

【図１８Ｈ】



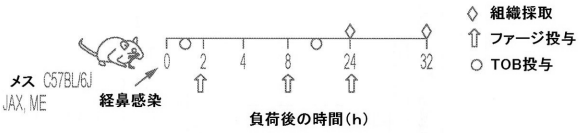
試験 49, b3144

【図１８Ｉ】

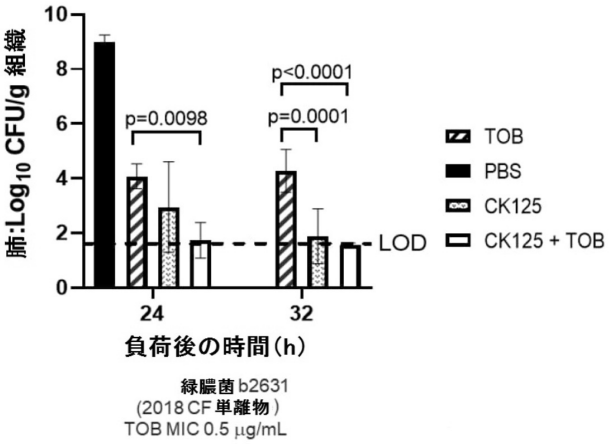


試験 50, b1121

【図１９Ａ】

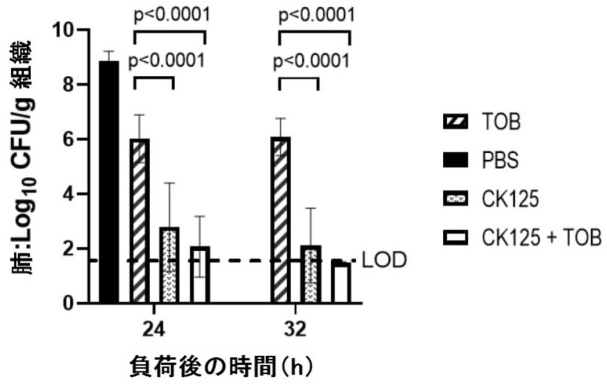


【図１９Ｂ】



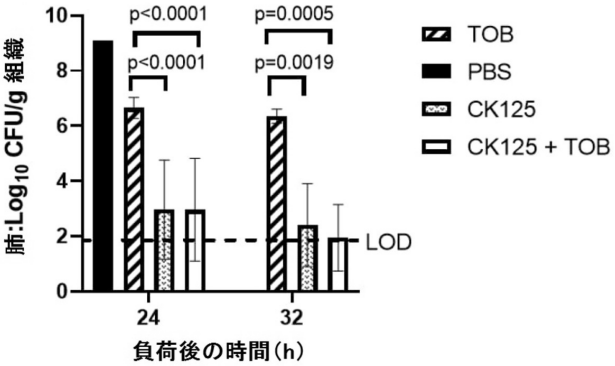
緑膿菌b2631
(2018 CF単離物)
TOB MIC 0.5 μg/mL

【図１９Ｃ】



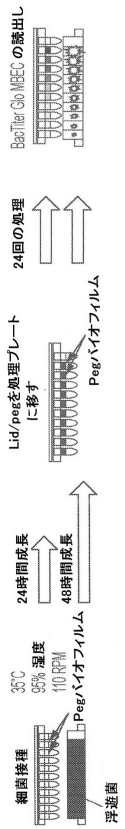
緑膿菌b1121
(呼吸器単離物)
TOB MIC 0.5 μg/mL

【図１９Ｄ】



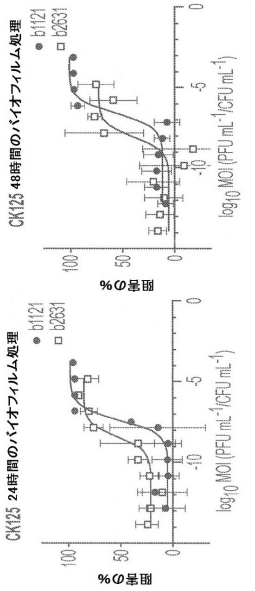
緑膿菌b3144
(2018 CF単離物)
TOB MIC 2.0 μg/mL

【図２０Ａ】

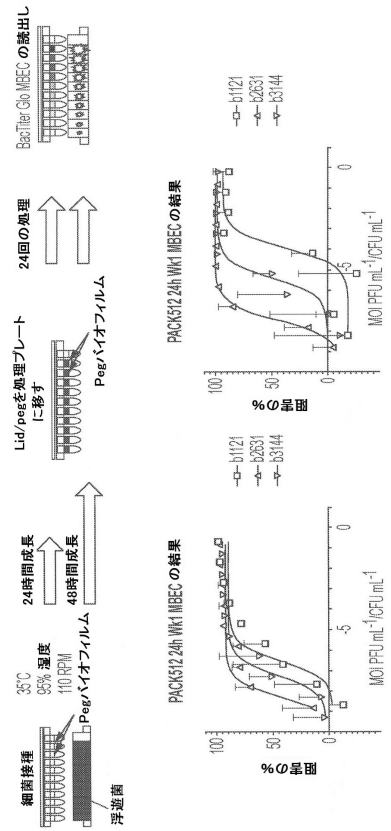


【図２０Ｂ】

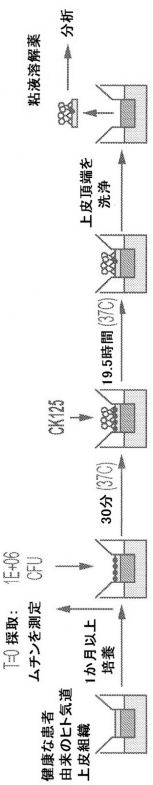
被験物質	細菌株	24hr MBEC IC_{50}	48hr MBEC IC_{50}
CK125 (MOI)	b1121	4.151e-08	2.355e-07
	b2631	3.907e-09	8.313e-09
シプロフロキサシン (mg/ml)	b1121	0.01196	0.01030
	b2631	0.00019	0.00287



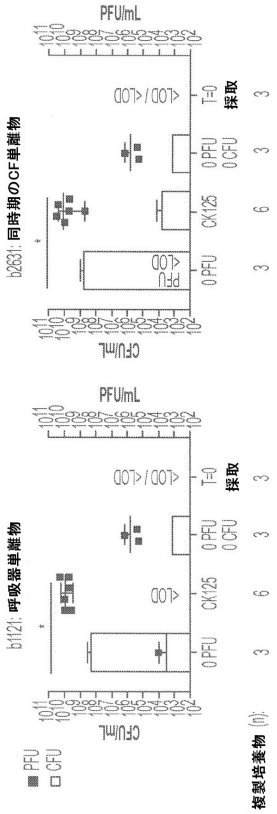
【図２１】



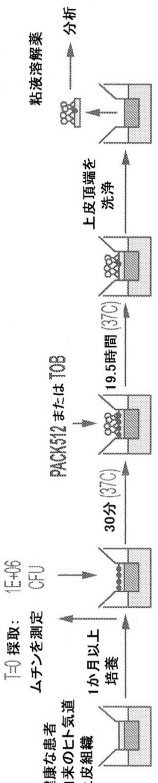
【図２２Ａ】



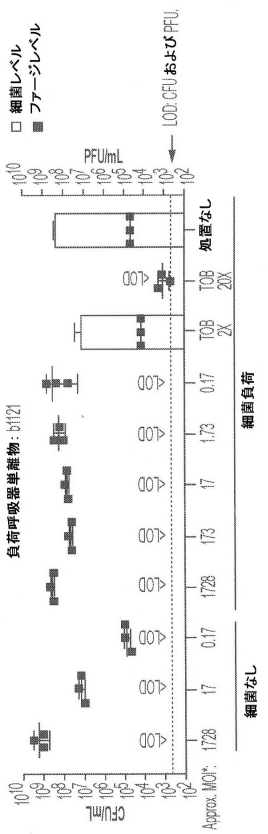
【図２２Ｂ】



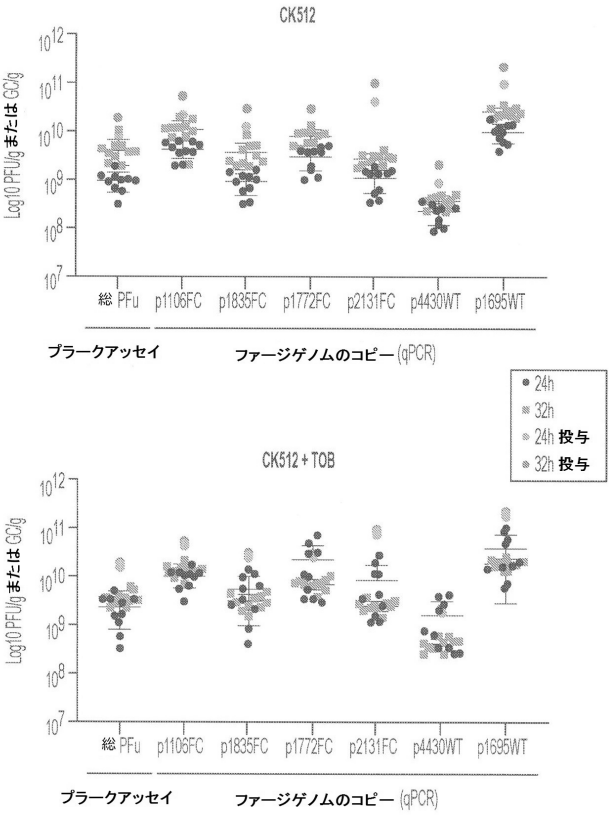
【図２３Ａ】



【図２３Ｂ】



【図２４】



【配列表】
2023548581000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/58123

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - A01N 63/40, C12N 7/00, C12N 15/11, C12N 15/73, C12N 15/74, C12N 15/86 (2022.01)
CPC - A01N 63/40, C12N 7/00, C12N 15/11, C12N 15/73, C12N 15/74, C12N 15/86, C12N 2310/20, C12N 2795/10143

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2018/0155729 A1 (NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY) 7 June 2018 (07.06.2018) Abstract; para [0150]; para [0159]; claim 17; claim 25; claim 32	1, (6-8,10)/1
Y		2-5, (6-8)/2, 9, 10/2, 11, 29/28
X	GenBank Accession No. MT074671, Pseudomonas aeruginosa strain PAGI-104 pathogenicity island crpP genomic sequence. 11 April 2020 [online]. [Retrieved on 17 February 2022]. Retrieved from the Internet <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MT074671> Entire document	28
Y		29/28
Y	GenBank Accession No. DQ631426, Pseudomonas phage DMS3, complete genome. 18 December 2008 [online] [Retrieved on 17 February 2022]. Retrieved from the Internet <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/110294443?sat=50&satkey=70699365> Entire document	2, (3-11)/2
Y	GenBank Accession No. MG872332, Pseudomonas aeruginosa strain PA17, sequence. 10 April 2018 [online] [Retrieved on 17 February 2022]. Retrieved from the Internet <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MG872332> Entire document	3
Y	WO 2019/227080 A1 (LOCUS BIOSCIENCES, INC.) 28 November 2019 (28.11.2019) Abstract; para [0025]	4, 11
A		27, 29/27, 30
Y	MESYANZHINOV et al., The genome of bacteriophage phiKZ of Pseudomonas aeruginosa. J Mol Biol, 15 March 2002, Vol. 317, No.1, pp 1-19 especially, Abstract	5

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
17 February 2022	APR 08 2022
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Kari Rodriquez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/58123

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	UniProtKB Accession No. A0A2V4GCL5, CRISPR-associated helicase Cas3 domain-containing protein. 12 September 2018 [online]. [Retrieved on 17 February 2022]. Retrieved from the Internet <URL: https://www.uniprot.org/uniprot/A0A2V4GCL5.txt?version=1> Entire document	9
A	US 2017/0233756 A1 (BENSON HILL BIOSYSTEMS INC) 17 August 2017 (17.08.2017) para [0270]; SEQ ID NO: 238	27, 29/27, 30

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/58123

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☒ forming part of the international application as filed:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/58123

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 16-26, 31-32, 34-50
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

----------continued on supplemental sheet----------

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-11, 27-30, limited to wherein the CRISPR array comprises a promoter with SEQ ID NO: 1, a spacer sequence with SEQ ID NO: 88, the bacteriophage is a modified p1106, and Cascade polypeptide is a Type I-C

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/58123

--continued from Box III: Observations where unity of invention is lacking--

Group I+: 1-11, 27-30, 33 directed to a bacteriophage comprising a nucleic acid sequence encoding a Type I CRISPR-Cas system. The bacteriophage will be searched to the extent wherein the CRISPR array comprises a promoter sequence having sequence identity to SEQ ID NO: 1, wherein the CRISPR array comprises a spacer sequence having identity to SEQ ID NO: 88, wherein the bacteriophage is a modified p1106, and wherein the Cascade polypeptide forms a Cascade complex of a Type I-C CRISPR-Cas system. It is believed that claims 1-11, 27-30 encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that bacteriophage comprising a nucleic acid sequence encoding a Type I CRISPR-Cas system, wherein the CRISPR array comprises a promoter sequence having sequence identity to SEQ ID NO: 1, wherein the CRISPR array comprises a spacer sequence having identity to SEQ ID NO: 88, wherein the bacteriophage is a modified p1106, and wherein the Cascade polypeptide forms a Cascade complex of a Type I-C CRISPR-Cas system. Additional bacteriophage will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected bacteriophage. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be a bacteriophage comprising a nucleic acid sequence encoding a Type I CRISPR-Cas system, wherein the CRISPR array comprises a promoter sequence having sequence identity to SEQ ID NO: 2, wherein the CRISPR array comprises a spacer sequence having identity to SEQ ID NO: 89, wherein the bacteriophage is a modified p1835, and wherein the Cascade polypeptide forms a Cascade complex of a a Type I-B CRISPR-Cas system (claims 1-11, 27-30).

Group II: Claims 12-15 directed to a method of treating a disease.

The inventions listed as Groups I+ and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features

Group I+ requires a bacteriophage comprising a nucleic acid sequence encoding a Type I CRISPR-Cas system, not required by Group II.

Group II requires a method of treating a disease, not required by Group I+.

Common Technical Features

The features shared by the inventions listed as Group I+ and II are a bacteriophage comprising a nucleic acid sequence encoding a Type I CRISPR-Cas system.

However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art, because the shared technical features are taught by US 2018/0155729 A1 to North Carolina State University (hereinafter 'NCSU').

NCSU teaches a bacteriophage comprising a nucleic acid sequence encoding a Type I CRISPR-Cas system (Abstract- "methods for selective killing of bacteria using lysogenic bacteriophages comprising bacteriophage DNA or phagemid DNA comprising components of an engineered CRISPR-Cas system").

The features shared by the inventions listed as Group I+ are a bacteriophage comprising a nucleic acid sequence encoding a Type I CRISPR-Cas system.

NCSU discloses (instant claim 1) a bacteriophage comprising a nucleic acid sequence encoding a Type I CRISPR-Cas system (Abstract - "methods for selective killing of bacteria using lysogenic bacteriophages comprising bacteriophage DNA or phagemid DNA comprising components of an engineered CRISPR-Cas system"; claim 25- "the bacteriophage DNA or phagemid DNA comprises a recombinant Type I CRISPR-Cas system") comprising:
(a) a CRISPR array comprising one or more spacer sequences complementary to a target nucleotide sequence in a Pseudomonas species (claim 25- " a polynucleotide encoding a CRISPR array"; para [0159]- "phagemid DNA comprising only a Type I CRISPR array or a Type II CRISPR array, the target bacterial host can be any bacterial species or strain that has an active endogenous CRISPR-Cas Type I or Type II system. Exemplary bacterial species or strain...Pseudomonas aeruginosa (Type I-F)");
(b) a Cascade polypeptide (claim 17- "heterologous nucleic acid of interest further comprises at least one polynucleotide encoding a Cas3... and one or more polynucleotides encoding Type I Cascade polypeptides"; para [0185]- "he bacteriophage is designed to encode a complete CRISPR-Cas system (e.g. the Type I-E Cascade genes and cas3 and a Type I-E CRISPR array)"); and
(c) a Cas3 polypeptide (claim 17- "heterologous nucleic acid of interest further comprises at least one polynucleotide encoding a Cas3..., and one or more polynucleotides encoding Type I Cascade polypeptides").

NCSU discloses (instant claim 2) the bacteriophage of claim 1, and further teaches wherein the CRISPR array comprises a promoter sequence (claim 34- "at least one polynucleotide encoding one or more Type I CRISPR polypeptides is operably linked to a promoter").

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Groups I+ and II therefore lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Item 4 (continued)
Claims 16-26, 31-32 and 34-50 are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

フロントページの続き

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

ブ ５２３ スイート ３５０

(72)発明者 セル，カート
アメリカ合衆国 ２７５６０ ノースカロライナ州 モリスビル デイビス・ドライブ ５２３ スイート ３５０

(72)発明者 テュソン，ハンナ，ヒューイット
アメリカ合衆国 ２７５６０ ノースカロライナ州 モリスビル デイビス・ドライブ ５２３ スイート ３５０

(72)発明者 マクミラン，ラナ
アメリカ合衆国 ２７５６０ ノースカロライナ州 モリスビル デイビス・ドライブ ５２３ スイート ３５０

(72)発明者 マッキー，ロバート
アメリカ合衆国 ２７５６０ ノースカロライナ州 モリスビル デイビス・ドライブ ５２３ スイート ３５０

(72)発明者 ペンケ，テイラー
アメリカ合衆国 ２７５６０ ノースカロライナ州 モリスビル デイビス・ドライブ ５２３ スイート ３５０

(72)発明者 スティール，ショーン
アメリカ合衆国 ２７５６０ ノースカロライナ州 モリスビル デイビス・ドライブ ５２３ スイート ３５０

(72)発明者 ラドナー，クリストファー
アメリカ合衆国 ２７５６０ ノースカロライナ州 モリスビル デイビス・ドライブ ５２３ スイート ３５０

(72)発明者 アル－ジャリス，ガブリエル
アメリカ合衆国 ０８８６９ ニュージャージー州 ラリタン ユーエス・ルート・２０２ ９２０ ピー．オー． ボックス ３００

Ｆターム（参考） 4B065 AA41X AA98X AB01 BA02 CA44
4C087 AA01 AA02 BC83 CA12 NA14 ZB35