(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2023年11月2日(02.11.2023)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2023/210732 A1

(51) 国際特許分類:
*C12N 7/01* (2006.01)　*A61P 31/04* (2006.01)
*A61K 35/76* (2015.01)　*C12N 7/00* (2006.01)
*A61P 11/00* (2006.01)　*C12N 15/33* (2006.01)

(21) 国際出願番号：　PCT/JP2023/016600

(22) 国際出願日：　2023年4月27日(27.04.2023)

(25) 国際出願の言語：　日本語

(26) 国際公開の言語：　日本語

(30) 優先権データ：
特願 2022-075078　2022年4月28日(28.04.2022)　JP

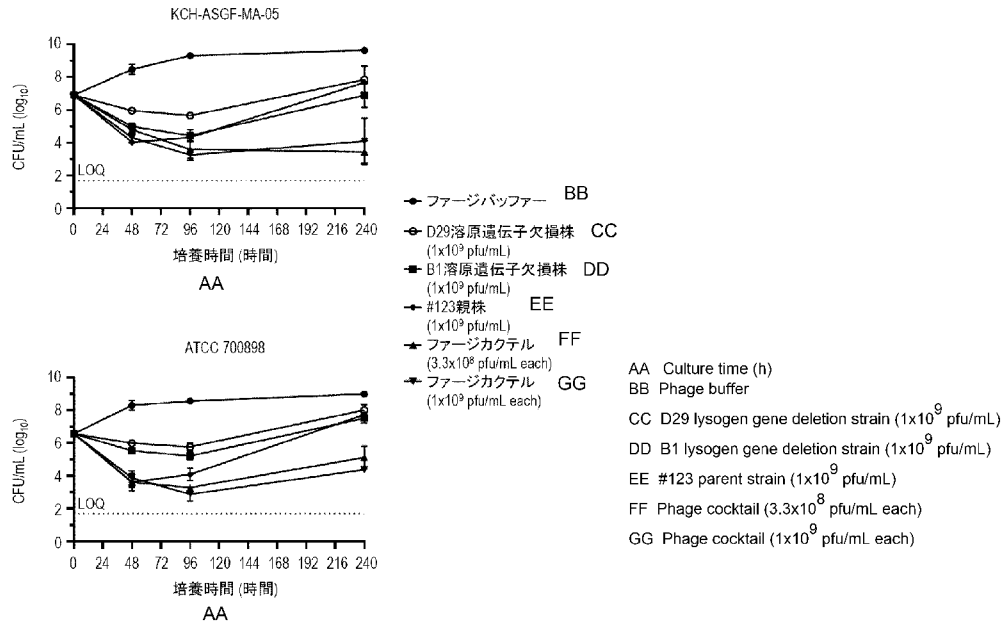
(71) 出願人:アステラス製薬株式会社(**ASTELLAS PHARMA INC.**) [JP/JP]; 〒1038411 東京都中央区日本橋本町二丁目５番１号 Tokyo (JP). 国立大学法人東海国立大学機構(**NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION TOKAI NATIONAL HIGHER EDUCATION AND RESEARCH SYSTEM**) [JP/JP]; 〒4648601 愛知県名古屋市千種区不老町１番 Aichi (JP).

(72) 発明者:安藤 弘樹(**ANDO Hiroki**); 〒1038411 東京都中央区日本橋本町二丁目５番１号 アステラス製薬株式会社内 Tokyo (JP). 松岡 秀明(**MATSUOKA Hideaki**); 〒1038411 東京都中央区日本橋本町二丁目５番１号 アステラス製薬株式会社内 Tokyo (JP). 松川 浩二(**MATSUKAWA Koji**); 〒1038411 東京都中央区日本橋本町二丁目５番１号 アステラス製薬株式会社内 Tokyo (JP). 小野 裕太郎(**ONO Yutaro**); 〒1038411 東京都中央区日本橋本町二丁目５番１号 アステラス製薬株式会社内

(54) **Title:** BACTERIOPHAGE

(54) 発明の名称： バクテリオファージ

[図2]




(57) **Abstract:** The present invention addresses the problem of providing a bacteriophage having bacteriolysis activity against Mycobacterium avium and/or Mycobacterium intracellulare. The present invention provides a bacteriophage having bacteriolysis activity against Mycobacterium avium and/or Mycobacterium intracellulare, the genome of said bacteriophage containing a nucleic acid sequence shown in the genome of a bacteriophage identified by one of deposition numbers NITE BP-03513 to 03521.

WO 2023/210732 A1

［続葉有］

Tokyo (JP). 満仲 翔一(**MITSUNAKA Shoichi**); 〒5011193 岐阜県岐阜市柳戸１番１ 国立大学法人東海国立大学機構内 Gifu (JP).

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

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

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

添付公開書類：

— 国際調査報告（条約第21条(3)）

— 規則13の2に基づいて明細書とは別に提出された、寄託された生物材料に関する表示（規則13の2.4(d)(i)及び48.2(a)(viii)）

(57) 要約：本発明の課題は、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージを提供することにある。本発明は、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ ＢＰ－０３５１３～０３５２１のいずれかで特定されるバクテリオファージのゲノムに示される核酸配列を含むバクテリオファージを提供する。

# 明　細　書

## 発明の名称 ： バクテリオファージ

## 技術分野

[0001] 本発明は、バクテリオファージ及び該バクテリオファージの用途に関する。

## 背景技術

[0002] 非結核性抗酸菌（Ｎｏｎ－ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｕｓ ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉａ：ＮＴＭ）症は、結核菌、らい菌以外の抗酸菌による感染症である。ＮＴＭは、湖沼や土壌などに存在する環境常在菌であり、エアロゾル等の吸入により呼吸器症状を引き起こす。ＮＴＭの例としては、マイコバクテリウム・アビウム（Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ａｖｉｕｍ（Ｍ．ａｖｉｕｍ））、マイコバクテリウム・イントラセルラーレ（Ｍ．ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｅ）、マイコバクテリウム・フォーチュイタム（Ｍ．ｆｏｒｔｕｉｔｕｍ）、マイコバクテリウム・ケロネー（Ｍ．ｃｈｅｌｏｎａｅ）、マイコバクテリウム・ゴルドナエ（Ｍ．ｇｏｒｄｏｎａｅ）、マイコバクテリウム・ツラガイ（Ｍ．ｓｚｕｌｇａｉ）、マイコバクテリウム・カンサシ（Ｍ．ｋａｎｓａｓｉｉ）、マイコバクテリウム・ゲナベンス（Ｍ．ｇｅｎａｖｅｎｓｅ）等が挙げられる（Ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ．２００４；３２：２５７．）。中でも、マイコバクテリウム・アビウムとマイコバクテリウム・イントラセルラーレを含むマイコバクテリウム・アビウム・コンプレックス（Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ａｖｉｕｍ ｃｏｍｐｌｅｘ：ＭＡＣ）に起因する感染症はＭＡＣ症と呼ばれ、そのうち特に肺感染症は肺ＭＡＣ症と呼ばれている。

[0003] ＮＴＭ症を含む細菌感染症の治療方法は、一般的に、マクロライド系抗生物質を含む多剤併用療法であるが、近年、バクテリオファージ（以下、ファージとも称する）の溶菌活性を利用したファージ療法が知られている（Ｍｉｃｒｏｏｒｇａｎｉｓｍｓ．２０２１；９（３）：５９６．）。例えば、マ

イコバクテリウム・アビウムに対して溶菌活性を示すファージとして、Ｄ２９、ＴＭ４、ＺｏｅＪが報告されている（Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ　２００６；５５（１）：３７．、Ｍｉｃｒｏｏｒｇａｎｉｓｍｓ．２０２１；９（３）：５９６．、Ｍｉｃｒｏｂ．Ｄｒｕｇ　Ｒｅｓｉｓｔ．２００６；１２：１．）。

[0004] バクテリオファージは、細菌を宿主とするウイルスである。特定の細菌に感染したファージは、自身のゲノムを細菌内に注入し、宿主細菌の代謝機構を利用し子孫ファージを増殖させる。その後、ファージゲノムに搭載されている溶菌酵素により細菌の細胞壁が破壊され、子孫ファージが放出されるとともに、宿主細菌は死滅する。

[0005] ファージは、大きく非テンペレートファージ（溶菌性ファージ）とテンペレートファージ（溶原性ファージ）に分類することができる（Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃａ（Ｃａｉｒｏ）．２０１４;２０１４：５８１６３９.）。非テンペレートファージは、宿主細菌ＤＮＡに組み込まれることなく、複製する。細菌内で子孫ファージを増殖させ、細菌の溶解及び成熟ファージ粒子の放出を行う。一方で、テンペレートファージは、細菌に感染した後、宿主細菌ＤＮＡに組み込まれ、宿主細菌ＤＮＡと共に複製される。宿主細菌ＤＮＡに組み込まれただけでは宿主細菌に対しては無害であり、溶原化状態（ファージＤＮＡが宿主細菌ＤＮＡへ組み込まれ、宿主細菌ＤＮＡとともに複製される状態）を維持することが可能となる。しかし、テンペレートファージに紫外線等の外部刺激が加わると、テンペレートファージは非テンペレートファージのように溶菌酵素を放出し、宿主細菌の溶解及び成熟ファージ粒子の放出を行う。

[0006] 溶原化の要素に関与する遺伝子を欠損させたファージも報告されている。例えば、インテグラーゼ遺伝子を欠損させたファージ（Ｎａｔ　Ｍｅｄ．２０１９；２５（５）：７３０．）やインテグラーゼ遺伝子及びイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損させたファージ（ｍＢｉｏ．２０２１；１２（３）：ｅ００９７３．）が報告されている。

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明の課題は、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージを提供することである。本発明の別の課題は、肺ＭＡＣ症などの非結核性抗酸菌症を予防又は治療するための手段及び方法、特にバクテリオファージ及び医薬組成物を提供することにある。

### 課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは、バクテリオファージの作製において相当の創意検討を重ねた結果、新規のバクテリオファージ及びそれらの溶原遺伝子を欠損させた遺伝子欠損株を取得し（実施例１）、当該バクテリオファージがマイコバクテリウム・アビウム及びマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有すること（実施例２）を見出し、本発明を完成した。さらに、本発明者らは、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４、及び、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージを含む医薬組成物が個々のバクテリオファージと比較して優れた殺菌活性を有すること（実施例３）を見出した。

[0009] すなわち、本発明は、医学上又は産業上有用な物質又は方法として以下の発明を含んでもよい。

［１］下記（１）～（９）から選択される、バクテリオファージ：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該

バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（４）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（５）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（６）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（７）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イン

トラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（８）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ；並びに

（９）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ。

[0010] ［２］下記（１）～（９）から選択される、［１］に記載のバクテリオファージ：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該

バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（４）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（５）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（６）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（７）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（８）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；並びに

（９）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ。

[0011] ［３］下記（１）～（９）から選択される、［１］又は［２］に記載のバクテリオファージ：

（１）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（２）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（３）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（４）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（５）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（６）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（７）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（８）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；及び

（９）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ。

[0012] ［４］下記（１）～（９）から選択される、バクテリオファージ：

（１）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；

（２）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；

（３）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；

（４）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；

（５）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；

（６）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；

（７）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；

（８）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；及び

（９）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株。

[0013] ［５］［１］～［４］のいずれかに記載のバクテリオファージ及び薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物。

［６］［１］～［４］のいずれかに記載のバクテリオファージを少なくとも

２種含み、かつ、薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物。

［７］［１］～［４］のいずれかに記載のバクテリオファージを３種含み、かつ、薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

［８］非結核性抗酸菌症の予防又は治療用医薬組成物である、［５］～［７］のいずれかに記載の医薬組成物。

［９］非結核性抗酸菌症が肺ＭＡＣ症である、［８］に記載の医薬組成物。

[0014] ［１０］下記（１）～（３）のバクテリオファージ及び薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；並びに、

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ。

[0015] ［１１］下記（１）～（３）のバクテリオファージを含む、［１０］に記載の医薬組成物：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；並びに、

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ。

[0016] ［１２］下記（１）～（３）のバクテリオファージを含む、［１０］又は［１１］に記載の医薬組成物：

（１）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（２）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；及び、

（３）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ。

[0017] ［１３］下記（１）～（３）のバクテリオファージ及び薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物：

（１）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；

（２）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；及び、

（３）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株。

[0018] ［１４］非結核性抗酸菌症の予防又は治療用医薬組成物である、［１０］～［１３］のいずれかに記載の医薬組成物。

［１５］非結核性抗酸菌症が肺ＭＡＣ症である、［１４］に記載の医薬組成物。

## 発明の効果

[0019] 本発明のバクテリオファージ及び医薬組成物はマイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を示し、本発明のバクテリオファージ及び医薬組成物は肺ＭＡＣ症などの非結核性抗酸菌症の予防又は治療に使用できると期待される。

## 図面の簡単な説明

[0020] [図1]溶菌斑の具体例を示す。目視により、透明でほとんど又は全く濁りがなく輪郭が鮮明な溶菌斑を示すものを＋＋＋、濁りがあり輪郭が鮮明な溶菌斑を示すものを＋＋、濁りがあり輪郭が不鮮明な溶菌斑を示すものを＋と判定した。

[図2]バクテリオファージの経時的な溶菌活性の結果を示すグラフである。縦軸は、コロニー形成単位濃度（ＣＦＵ／ｍＬ）を示し、横軸は、培養開始後の時間を示す。ＬＯＱは定量下限の値を表す。

[図3]マウス感染モデルにおけるバクテリオファージの殺菌活性の結果を示すグラフである。縦軸は、肺中のコロニー形成単位（ＣＦＵ／肺）を示す。ＬＯＱは定量下限の値を表す。

## 発明を実施するための形態

[0021] 以下に、本発明について詳述する。以下の実施の形態は、本発明を説明す

るための例示であり、本発明をこの実施の形態のみに限定する趣旨ではない。本発明は、その要旨を逸脱しない限り、様々な形態で実施をすることができる。

[0022] ＜１．本発明のバクテリオファージ＞

一つの実施形態において、本発明は、新規なバクテリオファージを提供する。本発明に係るバクテリオファージは、非結核性抗酸菌（ＮＴＭ）、特に肺ＭＡＣ症の原因となるマイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージである（以下、「本発明のバクテリオファージ」と称することがある）。

[0023] 本発明のバクテリオファージの一例であるＤ２９溶原遺伝子欠損株Ｄ２９Δは、本出願人により、特許微生物の寄託のためのブダペスト条約の規定に基づく国際寄託当局である独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター（〒２９２－０８１８　日本国千葉県木更津市かずさ鎌足２－５－８　１２２号室）に２０２１年８月２６日付で国際寄託されている（受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３）。

[0024] 本発明のバクテリオファージの一例であるＢ１溶原遺伝子欠損株Ｂ１Δは、本出願人により、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター（〒２９２－０８１８　日本国千葉県木更津市かずさ鎌足２－５－８　１２２号室）に２０２１年８月２６日付で国際寄託されている（受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４）。

[0025] 本発明のバクテリオファージの一例であるＹ２溶原遺伝子欠損株Ｙ２Δは、本出願人により、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター（〒２９２－０８１８　日本国千葉県木更津市かずさ鎌足２－５－８　１２２号室）に２０２１年８月２６日付で国際寄託されている（受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５）。

[0026] 本発明のバクテリオファージの一例である＃３３溶原遺伝子欠損株＃３３Δは、本出願人により、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託

センター（〒２９２－０８１８　日本国千葉県木更津市かずさ鎌足２－５－８　１２２号室）に２０２１年８月２６日付で国際寄託されている（受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６）。

[0027] 本発明のバクテリオファージの一例である＃６３溶原遺伝子欠損株＃６３Δは、本出願人により、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター（〒２９２－０８１８　日本国千葉県木更津市かずさ鎌足２－５－８　１２２号室）に２０２１年８月２６日付で国際寄託されている（受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７）。

[0028] 本発明のバクテリオファージの一例である＃１０５親株は、本出願人により、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター（〒２９２－０８１８　日本国千葉県木更津市かずさ鎌足２－５－８　１２２号室）に２０２１年８月２６日付で国際寄託されている（受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８）。

[0029] 本発明のバクテリオファージの一例である＃１２３親株は、本出願人により、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター（〒２９２－０８１８　日本国千葉県木更津市かずさ鎌足２－５－８　１２２号室）に２０２１年８月２６日付で国際寄託されている（受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９）。

[0030] 本発明のバクテリオファージの一例である＃３３親株は、本出願人により、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター（〒２９２－０８１８　日本国千葉県木更津市かずさ鎌足２－５－８　１２２号室）に２０２１年８月２６日付で国際寄託されている（受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０）。

[0031] 本発明のバクテリオファージの一例である＃６３親株は、本出願人により、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター（〒２９２－０８１８　日本国千葉県木更津市かずさ鎌足２－５－８　１２２号室）に２０２１年８月２６日付で国際寄託されている（受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１）。

[0032] １つの実施形態において、本発明のバクテリオファージには、以下の（１）～（９）からなる群より選択されるバクテリオファージが含まれる：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）溶原遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）溶原遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）溶原遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（４）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）溶原遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（５）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該

バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）溶原遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（６）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（７）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（８）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ；並びに

（９）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ。

[0033]　本明細書における「同一性」とは、ＮＥＥＤＬＥ　ｐｒｏｇｒａｍ（Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、１９７０、Ｖｏｌ．４８、ｐ．４４３．）検索によりデフォルトで用意されているパラメータを用いて得られた値Ｉｄｅｎｔｉｔｙを意味する。前記のパラメータは以下のとおりである。

Ｇａｐ　ｐｅｎａｌｔｙ＝１０

Ｅｘｔｅｎｄ　ｐｅｎａｌｔｙ＝０．５

Ｍａｔｒｉｘ＝ＥＢＬＯＳＵＭ６２

[0034] 本明細書における「溶原遺伝子」とは、溶原化状態の誘導及び／又は維持に関与する遺伝子を意味する。「溶原遺伝子」の例として、インテグラーゼ遺伝子やイミュニティリプレッサー遺伝子、Ｃｒｏ遺伝子等があげられ、具体的な溶原遺伝子及びその配列情報も公知である（Ｎａｔ　Ｍｅｄ．２０１９；２５（５）：７３０．、ｍＢｉｏ．２０２１；１２（３）：ｅ００９７３．、Ｃｅｌｌ．２０１８；１７２（６）：１２６０．）。

[0035] 本明細書において、「溶原遺伝子を欠損している」とは、１）バクテリオファージのゲノム配列から少なくとも１つの溶原遺伝子の全長が欠失していること、又は、２－１）バクテリオファージのゲノム配列から少なくとも１つの溶原遺伝子領域の一部を欠失、置換、挿入、付加若しくはそれらの組み合わせにより改変させることで、該バクテリオファージが溶菌性バクテリオファージになっていること、若しくは、２－２）該溶原遺伝子の機能が欠損していることを意味する。溶原遺伝子の欠損は、欠損させる溶原遺伝子の種類に応じて当技術分野で公知の方法により行うことができる（例えば、Ｎａｔ　Ｍｅｄ．２０１９；２５（５）：７３０．、ｍＢｉｏ．２０２１；１２（３）：ｅ００９７３．、ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ．２００８；３（１２）：ｅ３９５７．）。

[0036] 本明細書において、「マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有する」とは、マイコバクテリウム・アビウム又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに属する菌の少なくとも１種の株に対して溶菌斑を示すことを意味する。これらの菌に対する溶菌活性の確認は、当技術分野で公知の方法及び手段を使用して行うことができる。例えば、本明細書の実施例２に記載の方法を用いて１０$^{9}$ｐｆｕ／ｍＬのバクテリオファージがマイコバクテリウム・アビウム又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌斑を示すか否かを確

認することにより、バクテリオファージが溶菌活性を有するか否かを確認することができる。

[0037] １つの実施形態において、本発明のバクテリオファージには、以下の（１）～（９）からなる群より選択されるバクテリオファージが含まれる：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（４）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（５）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（６）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（７）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（８）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ；並びに

（９）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ。

[0038] 「インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している」とは、１）バクテリオファージのゲノム配列からインテグラー

ゼ遺伝子及び／若しくはイミュニティリプレッサー遺伝子の全長が欠失していること、又は、２－１）バクテリオファージのゲノム配列からインテグラーゼ遺伝子及び／若しくはイミュニティリプレッサー遺伝子の一部を欠失、置換、挿入、付加若しくはそれらの組み合わせにより改変させることで、該バクテリオファージが溶菌性バクテリオファージになっていること、若しくは、２－２）インテグラーゼ遺伝子及び／若しくはイミュニティリプレッサー遺伝子の機能が欠損していることを意味する。上述したように、インテグラーゼ遺伝子及びイミュニティリプレッサー遺伝子などの溶原遺伝子の欠損は、欠損させる溶原遺伝子の種類に応じて当技術分野で公知の方法により行うことができる（例えば、Ｎａｔ　Ｍｅｄ．２０１９；２５（５）：７３０．、ｍＢｉｏ．２０２１；１２（３）：ｅ００９７３．、ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ．２００８；３（１２）：ｅ３９５７．）。

[0039] １つの実施形態において、本発明のバクテリオファージには、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージが含まれる。

[0040] １つの実施形態において、本発明のバクテリオファージには、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージが含まれる。

[0041] １つの実施形態において、本発明のバクテリオファージには、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージが含まれる。

[0042] １つの実施形態において、本発明のバクテリオファージには、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージが含まれる。

[0043] １つの実施形態において、本発明のバクテリオファージには、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージが含まれる。

[0044] １つの実施形態において、本発明のバクテリオファージには、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオ

ファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージが含まれる。

[0045] １つの実施形態において、本発明のバクテリオファージには、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージが含まれる。

[0046] １つの実施形態において、本発明のバクテリオファージには、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージが含まれる。

[0047] １つの実施形態において、本発明のバクテリオファージには、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージが含まれる。

[0048] 本発明のバクテリオファージには、以下の（１）～（９）から選択されるバクテリオファージが含まれる：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該

バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（４）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（５）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（６）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（７）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（８）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；並びに

（９）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ。

[0049]　本発明のバクテリオファージには、以下の（１）～（９）から選択されるバクテリオファージが含まれる：

（１）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（２）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（３）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（４）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオ

ファージ；

（５）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（６）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（７）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（８）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；及び

（９）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ。

[0050]　本発明のバクテリオファージには、下記（１）～（９）から選択される、バクテリオファージも含まれる：

（１）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージ；

（２）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージ；

（３）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージ；

（４）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージ；

（５）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージ；

（６）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージ；

（７）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージ；

（８）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０で特定されるバクテリオファージ；及び

（９）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１で特定されるバクテリオファージ。

[0051]　本発明のバクテリオファージには、以下の（１）～（９）から選択されるバクテリオファージも含まれる：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列において１～５０００個（例えば、１～１０００個、１～５００個、又は１～１００個）の塩基が欠失、置換、挿入若しくは付加され、又はそれらの組み合わせにより改変された核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列において１～５０００個（例えば、１～１０００個、１～５００個、又は１～１００個）の塩基が欠失、置換、挿入若しくは付加され、又はそれらの組み合わせにより改変された核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該

バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列において１～５０００個（例えば、１～１０００個、１～５００個、又は１～１００個）の塩基が欠失、置換、挿入若しくは付加され、又はそれらの組み合わせにより改変された核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（４）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列において１～５０００個（例えば、１～１０００個、１～５００個、又は１～１００個）の塩基が欠失、置換、挿入若しくは付加され、又はそれらの組み合わせにより改変された核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（５）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列において１～５０００個（例えば、１～１０００個、１～５００個、又は１～１００個）の塩基が欠失、置換、挿入若しくは付加され、又はそれらの組み合わせにより改変された核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（６）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列において１～５０００個（例えば、１～１０００個、１～５００個、又は１～１００個）の塩基が欠失、置換、挿入若しくは付加され、又はそれらの組み合わせにより改変された核

酸配列を含む、バクテリオファージ；

（７）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列において１～５０００個（例えば、１～１０００個、１～５００個、又は１～１００個）の塩基が欠失、置換、挿入若しくは付加され、又はそれらの組み合わせにより改変された核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（８）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列において１～５０００個（例えば、１～１０００個、１～５００個、又は１～１００個）の塩基が欠失、置換、挿入若しくは付加され、又はそれらの組み合わせにより改変された核酸配列を含む、バクテリオファージ；並びに

（９）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列において１～５０００個（例えば、１～１０００個、１～５００個、又は１～１００個）の塩基が欠失、置換、挿入若しくは付加され、又はそれらの組み合わせにより改変された核酸配列を含む、バクテリオファージ。

[0052] 上記の塩基の欠失、置換、挿入又は付加などの改変について、複数の改変が連続していてもよいし、又は複数の改変が異なる位置に存在してもよい。

[0053] バクテリオファージの継代培養、生産及び／又は複製の過程でバクテリオファージに含まれるゲノムの核酸配列が一部欠失、置換、挿入及び／又は付加されたバクテリオファージ変異体が生じる可能性がある。そのような変異体も、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イン

トラセルラーレに対する溶菌活性を有する限り、本発明のバクテリオファージに含まれる。

[0054] 本発明のバクテリオファージには、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有する限り、上記受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３～０３５２１のいずれかで特定されるバクテリオファージの継代株も含まれる。

[0055] 本明細書において、「継代株」とは、分譲されたバクテリオファージを継代培養することで得られたバクテリオファージを意味する。

[0056] 本発明には、本発明のバクテリオファージに含まれるゲノムからなるポリヌクレオチドも含まれる（以下、「本発明のゲノム」と称することがある）。したがって、本発明は、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３～０３５１７で特定されるいずれか１つのバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつインテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージゲノムのポリヌクレオチド、及び、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８～０３５２１で特定されるいずれか１つのバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージゲノムのポリヌクレオチドを提供する。１つの実施形態において、該ポリヌクレオチドは、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージをコードするポリヌクレオチドである。

[0057] １つの実施形態において、本発明のゲノムには、（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損しているゲノムが含まれる。

[0058] １つの実施形態において、本発明のゲノムには、（ａ）受託番号ＮＩＴＥ

ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損しているゲノムが含まれる。

[0059] １つの実施形態において、本発明のゲノムには、（ａ）受託番号ＮＩＴＥ ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損しているゲノムが含まれる。

[0060] １つの実施形態において、本発明のゲノムには、（ａ）受託番号ＮＩＴＥ ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損しているゲノムが含まれる。

[0061] １つの実施形態において、本発明のゲノムには、（ａ）受託番号ＮＩＴＥ ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損しているゲノムが含まれる。

[0062] １つの実施形態において、本発明のゲノムには、受託番号ＮＩＴＥ ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含むゲノムが含まれる。

[0063] １つの実施形態において、本発明のゲノムには、受託番号ＮＩＴＥ ＢＰ

－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含むゲノムが含まれる。

[0064] １つの実施形態において、本発明のゲノムには、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含むゲノムが含まれる。

[0065] １つの実施形態において、本発明のゲノムには、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上、９５％以上、９６％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する核酸配列を含むゲノムが含まれる。

[0066] 本発明のゲノムには、以下の（１）～（９）から選択されるゲノムが含まれる：

（１）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、ゲノム；

（２）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、ゲノム；

（３）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、ゲノム；

（４）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、ゲノム；

（５）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、ゲノム；

（６）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、ゲノム；

（７）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、ゲノム；

（８）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０で特定されるバクテリオファー

ジのゲノムの核酸配列を含む、ゲノム；及び

（９）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、ゲノム。

[0067] 本発明のゲノムには、以下の（１）～（９）から選択されるゲノムが含まれる：

（１）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、ゲノム；

（２）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、ゲノム；

（３）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、ゲノム；

（４）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、ゲノム；

（５）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、ゲノム；

（６）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、ゲノム；

（７）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、ゲノム；

（８）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、ゲノム；及び

（９）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、ゲノム。

[0068] 本発明のゲノムは、当該技術分野において公知の一般的な技術、例えば、組換えＤＮＡ技術（例えばポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）増幅、クローニング）、酵素的若しくは化学的合成、又はその組合せを使用して作製することができる。例えば、本発明のゲノムの部分塩基配列を含む複数のポリヌクレオチドを遺伝子工学的手法により連結することで、本発明のゲノムを作製

することができる。１つの実施形態において、本発明のゲノムは、その全長又は部分配列が当技術分野において公知のベクターに含まれていてもよい。

[0069] 本発明のバクテリオファージは、上記寄託センターに分譲請求を行うことにより、入手することができる。

[0070] また、本発明のバクテリオファージは、当該技術分野において公知の一般的な技術により、分譲したバクテリオファージのゲノムの核酸配列を読解し、当該配列情報に基づいて、作製することができる。例えば、上記方法で作製された本発明のゲノムをエレクトロポレーション法により宿主細菌（例えば、マイコバクテリウム属に対して溶菌活性を示すバクテリオファージを取得するためであれば、マイコバクテリウム属を宿主細菌として使用する）に導入する。そして、軟寒天を重層したプレートにゲノムが導入された細菌を添加し、培養する。その後、プラークアッセイにより、単一溶菌斑を取得する。単一溶菌斑を宿主細菌培養液に加えて培養し、静置又は遠心分離により得られた培養上清をフィルター処理することで、本発明のバクテリオファージを作製することができる。また、本発明のバクテリオファージを作製するために、Ｂａｃｔｅｒｉｏｐｈａｇｅ Ｒｅｃｏｍｂｉｎｅｅｒｉｎｇ ｏｆ Ｅｌｅｃｔｒｏｐｏｒａｔｅｄ ＤＮＡ（ＢＲＥＤ）（ＰＬｏＳ Ｏｎｅ．２００８；３（１２）：ｅ３９５７．）を用いてファージゲノムから溶原遺伝子を欠損させることができる。

[0071] 本発明のバクテリオファージは、当該技術分野において公知の一般的な培養、単離及び精製方法により調製することができる。例えば、宿主細菌（マイコバクテリウム・スメグマティス、マイコバクテリウム・アビウム又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレなど）を事前に培養し、本発明のバクテリオファージを該宿主細菌に感染させ、３７℃で培養する。培養後、静置又は遠心分離により得られた培養上清をフィルター処理することで、精製したバクテリオファージを取得することができる。培地は使用する細菌に応じて適宜選択することができ、例えば、マイコバクテリウム・スメグマティスを培養する場合は、７Ｈ９培地を使用することができる。複数のバクテリ

オファージを調製する場合、別の宿主細菌において増殖させてもよいし、同じ宿主細菌で増殖させてもよい。

[0072] さらに、本発明のバクテリオファージは、当該技術分野において公知の適切な方法を行うことにより、種々の形態（液体、凍結乾燥等）で保存することができる。

[0073] 当業者であれば、本発明に基づいて、本発明のバクテリオファージとペプチド、蛋白質や修飾剤との融合体を作製することも可能であり、これらのバクテリオファージ融合体も本発明のバクテリオファージに含まれる。融合に用いられるペプチド、蛋白質や修飾剤は、当該バクテリオファージ融合体がマイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有する限り特に限定されず、例えば、細胞膜透過性ペプチド、タグペプチド、毒素、抗体又はその抗原結合フラグメント、リポソーム、脂質、脂質ナノ粒子、ポリエチレングリコール、糖鎖、低分子化合物が挙げられる。ペプチド、蛋白質や修飾剤は直接的又は間接的に本発明のバクテリオファージに融合させても良い。間接的に融合させる場合には、例えば、リンカーやタグペプチドを利用することができる。

[0074] バクテリオファージ融合体は、本発明のバクテリオファージの配列情報、融合体に使用されるペプチド、蛋白質又は修飾剤の情報に基づいて、当該分野で公知の方法を使用して、当業者によって容易に作製され得る。例えば、目的の蛋白質をコードする外来遺伝子を搭載したプラスミドを形質転換させた宿主細菌に、バクテリオファージを感染させることで、目的の蛋白質が融合されたバクテリオファージ粒子を作製することができる。

[0075] ＜２．本発明の医薬組成物及びバクテリオファージの用途＞

本発明のバクテリオファージは、非結核性抗酸菌（ＮＴＭ）、特に肺ＭＡＣ症の原因となるマイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有する。そのため、本発明のバクテリオファージは、非結核性抗酸菌症（ＮＴＭ症）、特に肺ＭＡＣ症の治療又は予防に有効であると期待される。

[0076] 別の態様において、本発明は、本発明のバクテリオファージの用途、例えば有効成分として本発明のバクテリオファージを含む医薬組成物（以下、「本発明の医薬組成物」と称することがある）を提供する。

[0077] 本発明の医薬組成物には、本発明のバクテリオファージ及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物が含まれる。

[0078] 本発明の医薬組成物は、当該分野において通常用いられている賦形剤、即ち、薬剤用賦形剤や薬剤用担体等を用いて、通常使用される方法によって調製することができる。これら医薬組成物の剤型の例としては、例えば、注射剤、点滴用剤、粉末吸入剤、ネブライザー等の非経口剤が挙げられ、静脈内投与又は経肺投与等により投与することができる。製剤化にあたっては、薬学的に許容される範囲で、これら剤型に応じた賦形剤、担体、又は添加剤等を使用することができる。例えば、本発明の医薬組成物は、本発明のバクテリオファージと薬学的に許容される賦形剤とを混合することにより、又は薬学的に許容される賦形剤に本発明のバクテリオファージを懸濁することにより、製造することができる。

[0079] 本発明の医薬組成物には、本発明のバクテリオファージを少なくとも２種含み、かつ、薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物が含まれる。

[0080] 本発明の医薬組成物には、本発明のバクテリオファージを３種含み、かつ、薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物が含まれる。

[0081] １つの実施形態において、本発明の医薬組成物には、以下の（１）～（３）のバクテリオファージ及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物が含まれる：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）溶原遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）溶原遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；並びに、

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ。

[0082]　１つの実施形態において、本発明の医薬組成物には、以下の（１）～（３）が含まれる：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；並びに、

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該

バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ。

[0083] １つの実施形態において、本発明の医薬組成物には、以下の（１）～（３）が含まれる：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；並びに、

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ。

[0084] １つの実施形態において、本発明の医薬組成物には、以下の（１）～（３）が含まれる：

（１）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（２）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；及び、

（３）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ。

[0085] １つの実施形態において、本発明の医薬組成物には、以下の（１）～（３）が含まれる：

（１）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージ；

（２）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージ；及び、

（３）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージ。

[0086] １つの実施形態において、本発明の医薬組成物には、以下の（１）～（３）が含まれる：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列において１～５０００個（例えば、１～１０００個、１～５００個、又は１～１００個）の塩基が欠失、置換、挿入若しくは付加され、又はそれらの組み合わせにより改変された核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列において１～５０００個（例えば、１～１０００個、１～５００個、又は１～１００個）の塩基が欠失、置換、挿入若しくは付加され、又はそれらの組み合わせにより改変された核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニ

ティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；並びに、

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列において１～５０００個（例えば、１～１０００個、１～５００個、又は１～１００個）の塩基が欠失、置換、挿入若しくは付加され、又はそれらの組み合わせにより改変された核酸配列を含む、バクテリオファージ。

[0087] 上記の塩基の欠失、置換、挿入又は付加などの改変について、複数の改変が連続していてもよいし、又は複数の改変が異なる位置に存在してもよい。

[0088] 本発明の医薬組成物には、マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有する限り、上記受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４、又は受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９のいずれかで特定されるバクテリオファージの継代株も含まれる。

[0089] 有効な投与量、投与回数及び投与期間は、投与の目的（治療又は予防目的）、投与する対象の症状の程度や年齢、使用する製剤の剤型、又はバクテリオファージの力価等により異なる。例えば、単独バクテリオファージの有効投与量として、又は、２つ以上の複数のバクテリオファージの合計有効投与量として、$10^{4}$～$10^{14}$プラーク形成単位（ｐｆｕ）程度を用いることができる。２つ以上の複数のバクテリオファージの投与量の比率は、患者の症状の程度や年齢、使用する製剤の剤型、又はバクテリオファージの力価等に応じて適宜調整することができる。例えば、医薬組成物が３つのバクテリオファージを含む場合、各バクテリオファージはほぼ等量（例えば、３．３×$10^{3}$～３．３×$10^{13}$ｐｆｕ）で含まれてもよいし、各バクテリオファージが異なる比率で含まれてもよい。

[0090] 本発明の医薬組成物は、ＮＴＭ症、例えば、ＭＡＣ症又は肺ＭＡＣ症の予防又は治療剤として用いることができる。

[0091] 本明細書において、「治療」とは、ＮＴＭ症の症状（例えば、咳、痰、血痰、発熱、呼吸困難、倦怠感、肺の小結節、気管支拡張など）の少なくとも一部の改善、喀痰培養陰性化を含むＮＴＭ症の進行又は悪化の停止、完全な治癒などを意味する。本明細書において、「予防」とは、ＮＴＭ症に罹患していない対象がＮＴＭ症に罹患することを阻止すること、ＮＴＭ症の再発を防止することなどを意味する。

[0092] 本発明には、本発明のバクテリオファージ又は本発明の医薬組成物を含む、ＮＴＭ症、例えば、ＭＡＣ症又は肺ＭＡＣ症の予防又は治療用医薬組成物が含まれる。

[0093] また、本発明には、本発明のバクテリオファージ又は本発明の医薬組成物の治療有効量を投与する工程を包含する、対象においてＮＴＭ症、例えば、ＭＡＣ症又は肺ＭＡＣ症を予防又は治療する方法が含まれる。１つの実施形態において、本発明のバクテリオファージの少なくとも２種、例えば３種を対象に投与することができ、複数のバクテリオファージは同時に投与してもよいし別個に投与してもよい。

[0094] さらに、本発明には、ＮＴＭ症、例えば、ＭＡＣ症又は肺ＭＡＣ症の予防又は治療に使用するための、本発明のバクテリオファージ又は本発明の医薬組成物が含まれる。さらに、本発明には、ＮＴＭ症、例えば、ＭＡＣ症又は肺ＭＡＣ症の予防又は治療用医薬組成物製造における、本発明のバクテリオファージ又は本発明の医薬組成物の使用が含まれる。

[0095] 本発明において、バクテリオファージを投与する対象は、哺乳動物である限り限定されるものではなく、例えば、マウス、ラット、イヌ、ブタ、サル、ヒト等が挙げられる。例えば、ＮＴＭ症と診断された対象、ＮＴＭ症に罹患するリスクがある対象に投与される。

[0096] また本発明のバクテリオファージ又は本発明の医薬組成物は、ＮＴＭ症の治療又は予防に有効な他の成分と組み合わせて使用若しくは投与されてもよく、本発明のバクテリオファージ又は本発明の医薬組成物はかかる他の有効成分との組合せ医薬として提供されてもよい。

[0097] 本発明について全般的に記載したが、さらに理解を得るために参照する特定の実施例をここに提供する。これらは例示を目的とするものであって、本発明を限定するものではない。

## 実施例

[0098] 市販のキット又は試薬等を用いた部分については、特に断りのない限り添付のプロトコールに従って実験を行った。また、便宜上、濃度ｍｏｌ／ＬをＭとして表す。例えば、１Ｍ水酸化ナトリウム水溶液は１ｍｏｌ／Ｌの水酸化ナトリウム水溶液であることを意味する。

[0099] ＜実施例１：バクテリオファージの作製＞

以下の方法により、自然環境サンプルからバクテリオファージを単離した。自然環境サンプル（日本国内の土壌）を１ｍＭ　$CaCl_2$、１０ｍＭ　$MgSO_4$、６８．４ｍＭ　ＮａＣｌ含有１０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ（ｐＨ７．５）へ懸濁した。懸濁液を遠心し、上清を分取した。上清を０．２２　μｍフィルターで濾過した。濾過液をマイコバクテリウム・スメグマティスと混合し、数時間～一昼夜、７Ｈ９培地を用いて振盪培養した。培養液を遠心し、上清を分取した。上清を０．２２　μｍフィルターで濾過した。濾過液をマイコバクテリウム・スメグマティス及び０．６％　軟寒天含有７Ｈ９培地と混合し、これを７Ｈ１０プレート上に重層した。３７度で数日間培養した。培地上に現れた溶菌斑を採取し、親ファージとした。得られた親ファージを＃３３親株、＃６３親株、＃１０５親株及び＃１２３親株と称する。

[0100] 次に、岡山大学から分譲されたファージＤ２９、Ｂ１及びＹ２（それぞれＤ２９親株、Ｂ１親株及びＹ２親株とも称する）並びに上記方法により取得したファージ＃３３親株及び＃６３親株からゲノムを抽出し、全塩基配列を決定した。アノテーションを行い、溶原遺伝子を同定した。溶原遺伝子であるインテグラーゼ遺伝子及びイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損させたファージを以下のいずれかの方法により取得した。すなわち、１）前記で取得した親ファージからＭａｒｉｎｅｌｌｉら（ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ．２００８；３（１２）：ｅ３９５７．）の方法により溶原遺伝子を欠損させることで

、目的の遺伝子欠損ファージを取得した。又は、２）目的ファージゲノム（溶原遺伝子が除去された塩基配列を有する）を、該ファージゲノムの部分塩基配列を有する複数のポリヌクレオチドから遺伝子工学的手法により構築し、該ファージゲノムをエレクトロポレーション法によりマイコバクテリウム・スメグマティスに導入することで、目的の遺伝子欠損ファージを取得した。得られたバクテリオファージをそれぞれＤ２９溶原遺伝子欠損株、Ｂ１溶原遺伝子欠損株、Ｙ２溶原遺伝子欠損株、＃３３溶原遺伝子欠損株及び＃６３溶原遺伝子欠損株と称する。

[0101] 前記で得られたバクテリオファージのゲノムを抽出し、全塩基配列を決定した。なお、親ファージの塩基配列と比較することによってインテグラーゼ遺伝子及びイミュニティリプレッサー遺伝子が欠損されていることを確認した。

[0102] 前記で得られたＤ２９溶原遺伝子欠損株、Ｂ１溶原遺伝子欠損株、Ｙ２溶原遺伝子欠損株、＃３３溶原遺伝子欠損株、＃６３溶原遺伝子欠損株、＃１０５親株、＃１２３親株、＃３３親株及び＃６３親株の受託番号は、それぞれ受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０及び受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１である。

[0103] ＜実施例２：バクテリオファージの溶菌活性＞

標的細菌として、クラリスロマイシン耐性マイコバクテリウム・アビウム臨床分離株ＫＣＨ－ＡＳＧＦ－ＭＡＣ－５３若しくはＫＣＨ－ＡＳＧＦ－ＭＡＣ－３７６（近畿中央呼吸器センターから分譲）、又は、クラリスロマイシン耐性マイコバクテリウム・イントラセルラーレ臨床分離株ＫＣＨ－ＡＳＧＦ－ＭＡＣ－２７若しくはＫＣＨ－ＡＳＧＦ－ＭＡＣ－９０（近畿中央呼吸器センターから分譲）を７Ｈ１０プレート（１９ｇ／Ｌ　Ｍｉｄｄｌｅｂｒｏｏｋ　７Ｈ１０　Ａｇａｒ（Ｄｉｆｃｏ）、６．３ｇ／Ｌ　グリセロー

ル、１００ｍＬ／Ｌ Ｍｉｄｄｌｅｂｒｏｏｋ ＯＡＤＣ Ｅｎｒｉｃｈｍｅｎｔ（Ｄｉｆｃｏ））上で生育させた。細菌コロニーを綿棒で掻き取り、７Ｈ９培地（４．７ｇ／Ｌ Ｍｉｄｄｌｅｂｒｏｏｋ ７Ｈ９ Ｂｒｏｔｈ（Ｄｉｆｃｏ））へ懸濁した。分光光度計を用いて細菌懸濁液がＯＤ６００＝１．５～２．０程度になるよう７Ｈ９培地で調整した。細菌懸濁液７００μＬを０．６％軟寒天含有７Ｈ９培地（４．７ｇ／Ｌ Ｍｉｄｄｌｅｂｒｏｏｋ ７Ｈ９ Ｂｒｏｔｈ（Ｄｉｆｃｏ）、６ｇ／Ｌアガロース、１００ｍＬ／Ｌ Ｍｉｄｄｌｅｂｒｏｏｋ ＡＤＣ Ｅｎｒｉｃｈｍｅｎｔ（Ｄｉｆｃｏ）、又は、４．７ｇ／Ｌ Ｍｉｄｄｌｅｂｒｏｏｋ ７Ｈ９ Ｂｒｏｔｈ（Ｄｉｆｃｏ）、６ｇ／Ｌアガロース、１００ｍＬ／Ｌ Ｍｉｄｄｌｅｂｒｏｏｋ ＯＡＤＣ Ｅｎｒｉｃｈｍｅｎｔ（Ｄｉｆｃｏ））７ ｍＬと混合し、これを７Ｈ１０プレート（縦１００ ｍｍ×横１４０ ｍｍ×高さ１４．５ ｍｍ）上に重層した。

[0104] 軟寒天が完全に固化したことを確認したのち、実施例１に記載のＤ２９親株、Ｄ２９溶原遺伝子欠損株、Ｂ１親株、Ｂ１溶原遺伝子欠損株、Ｙ２親株、Ｙ２溶原遺伝子欠損株、＃３３親株、＃３３溶原遺伝子欠損株、＃６３親株、＃６３溶原遺伝子欠損株、＃１０５親株及び＃１２３親株をファージバッファー（１ ｍＭ $CaCl_2$、１０ ｍＭ $MgSO_4$、６８．４ ｍＭ ＮａＣｌ含有１０ ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ（ｐＨ７．５））で$10^9$ｐｆｕ／ｍＬとなるように希釈し、２．５μＬ滴下した。３７℃で３～７日間程度培養した。目視により溶菌斑の有無を確認した。溶菌斑が確認された場合、透明でほとんど又は全く濁りがなく輪郭が鮮明な溶菌斑を示すものを＋＋＋、濁りがあり輪郭が鮮明な溶菌斑を示すものを＋＋、濁りがあり輪郭が不鮮明な溶菌斑を示すものを＋と判定した（図１参照）。なお、予備検討により、固化した軟寒天にファージバッファーのみを添加しても溶菌斑ができないことは確認済みである。

[0105] 結果を表１に示す。バクテリオファージＤ２９親株、Ｄ２９溶原遺伝子欠損株、Ｂ１親株、Ｂ１溶原遺伝子欠損株、Ｙ２親株、Ｙ２溶原遺伝子欠損株

、＃３３親株、＃３３溶原遺伝子欠損株、＃６３親株、＃６３溶原遺伝子欠損株、＃１０５親株及び＃１２３親株はマイコバクテリウム・アビウム及びマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌斑を示すことが認められた。

[0106] [表1]

| | クラリスロマイシン耐性マイコバクテリウム・アビウム | | クラリスロマイシン耐性マイコバクテリウム・イントラセルラーレ | |
|---|---|---|---|---|
| | KCH－ASGF－MAC－53 | KCH－ASGF－MAC－376 | KCH－ASGF－MAC－27 | KCH－ASGF－MAC－90 |
| D29親株 | ＋＋＋ | ＋＋＋ | ＋＋＋ | ＋＋＋ |
| D29溶原遺伝子欠損株 | ＋＋＋ | ＋＋＋ | ＋＋＋ | ＋＋＋ |
| B1親株 | ＋＋ | ＋＋＋ | ＋＋＋ | ＋＋ |
| B1溶原遺伝子欠損株 | ＋＋＋ | ＋＋＋ | ＋＋＋ | ＋＋＋ |
| Y2親株 | ＋ | ＋ | ＋＋ | ＋＋＋ |
| Y2溶原遺伝子欠損株 | ＋＋ | ＋＋ | ＋＋＋ | ＋＋＋ |
| ＃33親株 | ＋＋＋ | ＋＋＋ | ＋＋＋ | ＋＋＋ |
| ＃33溶原遺伝子欠損株 | ＋＋＋ | ＋＋＋ | ＋＋＋ | ＋＋＋ |
| ＃63親株 | ＋＋＋ | ＋＋ | ＋＋ | ＋＋ |
| ＃63溶原遺伝子欠損株 | ＋＋＋ | ＋＋ | ＋＋ | ＋＋ |
| ＃105親株 | ＋＋＋ | ＋＋＋ | ＋＋＋ | ＋＋＋ |
| ＃123親株 | ＋ | ＋＋ | ＋＋ | ＋＋ |

[0107] 以上から、Ｄ２９親株、Ｄ２９溶原遺伝子欠損株、Ｂ１親株、Ｂ１溶原遺伝子欠損株、Ｙ２親株、Ｙ２溶原遺伝子欠損株、＃３３親株、＃３３溶原遺伝子欠損株、＃６３親株、＃６３溶原遺伝子欠損株、＃１０５親株及び＃１２３親株がマイコバクテリウム・アビウム及びマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有することが確認された。

[0108] ＜実施例３：バクテリオファージ単独あるいはファージカクテルの経時的な溶菌活性＞

７Ｈ１０プレート上で生育させたマイコバクテリウム・スメグマティスの３つ程度の細菌コロニーを掻き取って５ｍＬの０．０５％Ｔｗｅｅｎ８０（ナカライテスク）含有７Ｈ９培地に懸濁した後、分光光度計を用いて細菌懸濁液がＯＤ６００＝３以上になるまで３７℃で振盪培養した。培養後、遠心分離して上清を除いた沈殿物を７Ｈ９培地に再懸濁する操作を３回繰り返し

、細菌懸濁液とした。細菌懸濁液と０．６％軟寒天含有７Ｈ９培地とを混合し、実施例１に記載のＤ２９溶原遺伝子欠損株、Ｂ１溶原遺伝子欠損株、又は、＃１２３親株（３株）をそれぞれ添加して転倒混和し、７Ｈ１０プレート上に重層した。軟寒天が固化した後に３７℃で１日間程度培養した。プレートに１０ｍＬのファージバッファーを加え、室温で４時間程度静置した。プレートの上清を０．２２μｍフィルターで濾過して３株それぞれのファージライセートとした。ファージライセートのｐｆｕを決定し、４℃で保管した。

[0109] ３株のそれぞれのファージライセートを１×１０$^{10}$ｐｆｕ／ｍＬ、又は３×１０$^{10}$ｐｆｕ／ｍＬとなるようにファージバッファーで希釈した。また、３株のファージカクテルとして、合計１×１０$^{10}$ｐｆｕ／ｍＬ、又は、合計３×１０$^{10}$ｐｆｕ／ｍＬになるようそれぞれを等量混合した。これらのファージ溶液又はファージバッファーを９６ウェルプレートに１ウェルあたり１０μＬ添加した。７Ｈ１０プレート上で３７℃、６日間生育させたマイコバクテリウム・アビウムの２株（ＫＣＨ－ＡＳＧＦ－ＭＡ－０５（近畿中央呼吸器センターから分譲）、又は、ＡＴＣＣ　７００８９８（ＡＴＣＣから分譲））をそれぞれ掻き取って、７Ｈ９培地に懸濁した。分光光度計を用いて最終的にＯＤ６００＝０．００２５になるよう７Ｈ９培地で細菌懸濁液を調整し、９６ウェルプレートに１ウェルあたり９０μＬ添加した。９６ウェルプレートに蓋としてプレートシールを貼付し、３７℃で培養した。培養後０、４８、９６、２４０時間にコロニー形成単位濃度（ＣＦＵ／ｍＬ）を算出した。ファージの評価を３試行実施した。各ポイントにおいて、３試行それぞれのコロニー形成単位濃度（ＣＦＵ／ｍＬ）を対数に換算した後、算術平均値±標準誤差を算出した（図２）。２４０時間後のＣＦＵ／ｍＬについては、一元配置分散分析及びＴｕｋｅｙ法の多重比較として検定した（表２）。

[0110] 表２は培養後２４０時間におけるコロニー形成単位濃度（ＣＦＵ／ｍＬ）の検定の結果を表す。＊はＴｕｋｅｙの多重比較検定法により有意水準５％

未満で検定すると、任意の二群の間で有意な差が認められたことを示し（ｐ＜０．０５）、＊＊は上記検定法により任意の二群の間で有意な差が認められたことを示し（ｐ＜０．０１）、＊＊＊は上記検定法により任意の二群の間で有意な差が認められたことを示し（ｐ＜０．００１）、ｎ．ｓ．（ｎｏｔ　ｓｉｇｎｉｆｉｃａｎｔ）は上記検定法により有意な差が認められなかったことを示す。

[0111] 以上から、培養後０時間と９６時間とにおけるコロニー形成単位濃度（ＣＦＵ／ｍＬ）を比較した結果、３株のそれぞれのファージ、及び、ファージカクテルは、マイコバクテリウム・アビウムに対して培養後０時間の細菌数を減少させる活性を有することが確認された（図２）。さらに、それぞれのファージを単独で作用させた場合に比較して、ファージカクテルで作用させた場合に本活性が長期間、持続されることが確認された（図２及び表２）。

[0112]

[表2]

| KCH－ASGF－MA－05 | ファージカクテル（1．0×$10^9$ pfu／mL each）（合計3．0×$10^9$ pfu／mL） | ファージカクテル（3．3×$10^8$ pfu／mL each）（合計1．0×$10^9$ pfu／mL） | ＃123親株（1．0×$10^9$ pfu／mL） | B1溶原遺伝子欠損株（1．0×$10^9$ pfu／mL） | D29溶原遺伝子欠損株（1．0×$10^9$ pfu／mL） |
|---|---|---|---|---|---|
| ファージバッファー | ＊＊ | ＊＊ | n．s． | n．s． | n．s． |
| D29溶原遺伝子欠損株 | ＊ | ＊ | n．s． | n．s． | |
| B1溶原遺伝子欠損株 | n．s． | n．s． | n．s． | | |
| ＃123親株 | n．s． | ＊ | | | |
| ファージカクテル（3．3×$10^8$ pfu／mL each）（合計1．0×$10^9$ pfu／mL） | n．s． | | | | |

| ATCC 700898 | ファージカクテル（1．0×$10^9$ pfu／mL each）（合計3．0×$10^9$ pfu／mL） | ファージカクテル（3．3×$10^8$ pfu／mL each）（合計1．0×$10^9$ pfu／mL） | ＃123親株（1．0×$10^9$ pfu／mL） | B1溶原遺伝子欠損株（1．0×$10^9$ pfu／mL） | D29溶原遺伝子欠損株（1．0×$10^9$ pfu／mL） |
|---|---|---|---|---|---|
| ファージバッファー | ＊＊＊ | ＊＊＊ | n．s． | n．s． | n．s． |
| D29溶原遺伝子欠損株 | ＊＊＊ | ＊＊＊ | n．s． | n．s． | |
| B1溶原遺伝子欠損株 | ＊＊＊ | ＊＊ | n．s． | | |
| ＃123親株 | ＊＊＊ | ＊＊ | | | |
| ファージカクテル（3．3×$10^8$ pfu／mL each）（合計1．0×$10^9$ pfu／mL） | n．s． | | | | |

[0113] ＜実施例４：ファージカクテルのマウス感染モデルにおける効力＞

７Ｈ１０プレート上で生育させたマイコバクテリウム・スメグマティスの細菌コロニーを掻き取ってＬＢ（Ｌｕｒｉａ－Ｂｅｒｔａｎｉ）培地に懸濁した後、３７℃で拡大培養した。培養後に、実施例３に記載の方法で培養し取得したＤ２９溶原遺伝子欠損株、Ｂ１溶原遺伝子欠損株、又は、＃１２３親株のそれぞれを添加して１日間程度３７℃で培養を継続した。培養後の上清を０．２２μｍフィルターで濾過して３株それぞれのファージライセートとした。次いで、それぞれのライセートを超遠心法により精製したファージ溶液を得た。

[0114] 超遠心法による精製：それぞれのファージライセートにＤＮａｓｅＩ及びＲＮａｓｅＡをそれぞれ終濃度１μｇ／ｍＬとなるように加えて室温で３０分間静置した。ＮａＣｌを終濃度１Ｍとなるように加えて溶解し、氷上又は冷蔵庫で１時間静置した。ポリエチレングリコール８０００を終濃度１０％ｗ／ｖになるように加えて溶解し、氷上又は冷蔵庫で２時間静置した。１１０００ｇ、１０分間、４℃の条件下で遠心分離操作して上清を除去し、ファージバッファーを添加して沈殿を懸濁して回収した。回収した溶液に１ｍＬあたり０．５ｇの塩化セシウムを加えて穏やかに溶かし、超遠心分離用の容器に移した。１．４５ｇ／ｍＬ、１．５ｇ／ｍＬ、１．７ｇ／ｍＬの各濃度の塩化セシウム溶液を順次、注射器を用いて容器の底に注入した。２２０００ｇ、２時間、４℃の条件下で遠心分離操作し、ファージを含むバンドを回収した。回収後のファージを含む溶液は透析によりファージバッファーへ置換し、ファージ溶液とした。ファージ溶液のｐｆｕを決定し、４℃で保管した。

[0115] 上記に記載の方法で培養し取得したＤ２９溶原遺伝子欠損株、Ｂ１溶原遺伝子欠損株、及び、＃１２３親株のそれぞれのファージ溶液を、マウスに投与する当日に５×$10^{11}$ｐｆｕ／ｍＬになるように調整した。調整後、各ファージ溶液を１：１：１の割合にて混合しファージカクテルの投与溶液とした。

[0116] ７Ｈ１０プレート上で３７℃、約４日間生育させたクラリスロマイシン耐

性マイコバクテリウム・イントラセルラーレＫＣＨ－ＡＳＧＦ－ＭＡＣ－４７５株（近畿中央呼吸器センターから分譲）を掻き取って、生理食塩水に懸濁した。懸濁の後、分光光度計を用いて最終的にＯＤ６００＝０．００５になるよう生理食塩水で細菌懸濁液を調整した。２０匹のヌードマウス（ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン、ＢＡＬＢ／ｃ－ｎｕ（ｎｕ／ｎｕ）、７週齢、雌性）に１匹あたり４０μＬの細菌懸濁液を鼻腔内に投与し、肺内に感染させた。感染の６－１０日後、１３－１７日後、２０－２３日後、２７－３１日後の各日において、１日あたり１回（延べ１９回）、ファージバッファー又はファージカクテルの投与溶液を１匹あたり２０μＬ鼻腔内に投与した。感染の３４日後にマウスを安楽死させた後、肺組織を採取した。ｇｅｎｔｌｅＭＡＣＳ™ Ｏｃｔｏ Ｄｉｓｓｏｃｉａｔｏｒ（ミルテニーバイオテック）を用いて生理食塩水中で肺組織を破砕し、破砕溶液を得た。破砕溶液のコロニー形成単位濃度（ＣＦＵ／ｍＬ）を算出し、肺中の細菌数（ＣＦＵ／肺）として示した（図３）。

[0117] 図３は、肺中の細菌数（ＣＦＵ／肺）の検定の結果を表す。２群間の差を対応の無いｔ検定法により有意水準５％未満で検定すると、ファージカクテル投与群がファージバッファー投与群に対して有意な差が認められたことを示す（ｐ＜０．００１）。

[0118] 以上から、マウスを用いたインビボ肺感染モデルにおいて、バクテリオファージのカクテルが殺菌活性を有することが確認された。

## 産業上の利用可能性

[0119] 本発明のバクテリオファージ及び医薬組成物は、非結核性抗酸菌症、例えば、ＭＡＣ症又は肺ＭＡＣ症の予防又は治療に有用であると期待される。

[0120] ［受託番号］

受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３（バクテリオファージＤ２９溶原遺伝子欠損株Ｄ２９Δ、２０２１年８月２６日受託）

受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４（バクテリオファージＢ１溶原遺伝子欠損株Ｂ１Δ、２０２１年８月２６日受託）

受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５（バクテリオファージＹ２溶原遺伝子欠損株Ｙ２Δ、２０２１年８月２６日受託）

受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６（バクテリオファージ＃３３溶原遺伝子欠損株＃３３Δ、２０２１年８月２６日受託）

受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７（バクテリオファージ＃６３溶原遺伝子欠損株＃６３Δ、２０２１年８月２６日受託）

受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８（バクテリオファージ＃１０５親株、２０２１年８月２６日受託）

受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９（バクテリオファージ＃１２３親株、２０２１年８月２６日受託）

受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２０（バクテリオファージ＃３３親株、２０２１年８月２６日受託）

受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５２１（バクテリオファージ＃６３親株、２０２１年８月２６日受託）

# 請求の範囲

[請求項1] 下記（１）～（７）から選択される、バクテリオファージ：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（４）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）イン

テグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（５）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（６）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ；並びに、

（７）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ。

[請求項2]　下記（１）～（７）から選択される、請求項１に記載のバクテリオファージ：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム

・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（４）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（５）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（６）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；並びに

（７）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を

含む、バクテリオファージ。

[請求項3] 下記（１）～（７）から選択される、請求項１又は請求項２に記載のバクテリオファージ：

（１）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（２）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（３）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（４）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（５）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（６）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；及び

（７）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ。

[請求項4] 下記（１）～（７）から選択される、バクテリオファージ：

（１）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；

（２）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオ

ファージ、又はその継代株；

（３）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１５で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；

（４）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１６で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；

（５）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１７で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；

（６）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１８で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；及び、

（７）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株。

[請求項5]　請求項１～４のいずれか１項に記載のバクテリオファージ及び薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物。

[請求項6]　請求項１～４のいずれか１項に記載のバクテリオファージを少なくとも２種含み、かつ、薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物。

[請求項7]　請求項１～４のいずれか１項に記載のバクテリオファージを３種含み、かつ、薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

[請求項8]　非結核性抗酸菌症の予防又は治療用医薬組成物である、請求項５～７のいずれか１項に記載の医薬組成物。

[請求項9]　非結核性抗酸菌症が肺ＭＡＣ症である、請求項８に記載の医薬組成物。

[請求項10]　下記（１）～（３）のバクテリオファージ及び薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸

配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが（ａ）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含み、かつ（ｂ）インテグラーゼ遺伝子及び／又はイミュニティリプレッサー遺伝子を欠損している、バクテリオファージ；並びに、

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列と９０％以上の同一性を有する核酸配列を含む、バクテリオファージ。

[請求項11]　下記（１）～（３）のバクテリオファージを含む、請求項１０に記載の医薬組成物：

（１）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；

（２）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ；　並びに、

（３）マイコバクテリウム・アビウム及び／又はマイコバクテリウム

・イントラセルラーレに対して溶菌活性を有するバクテリオファージであって、該バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列を含む、バクテリオファージ。

[請求項12]　下記（１）～（３）のバクテリオファージを含む、請求項１０又は請求項１１に記載の医薬組成物：

（１）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；

（２）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ；及び、

（３）バクテリオファージのゲノムが受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージのゲノムの核酸配列からなる、バクテリオファージ。

[請求項13]　下記（１）～（３）のバクテリオファージ及び薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物：

（１）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１３で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；

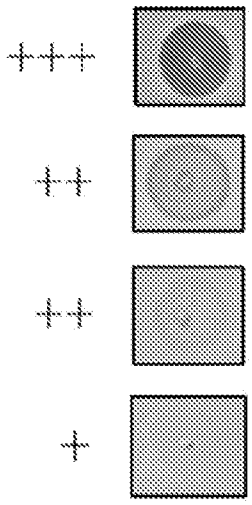
（２）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１４で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株；及び、

（３）受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３５１９で特定されるバクテリオファージ、又はその継代株。

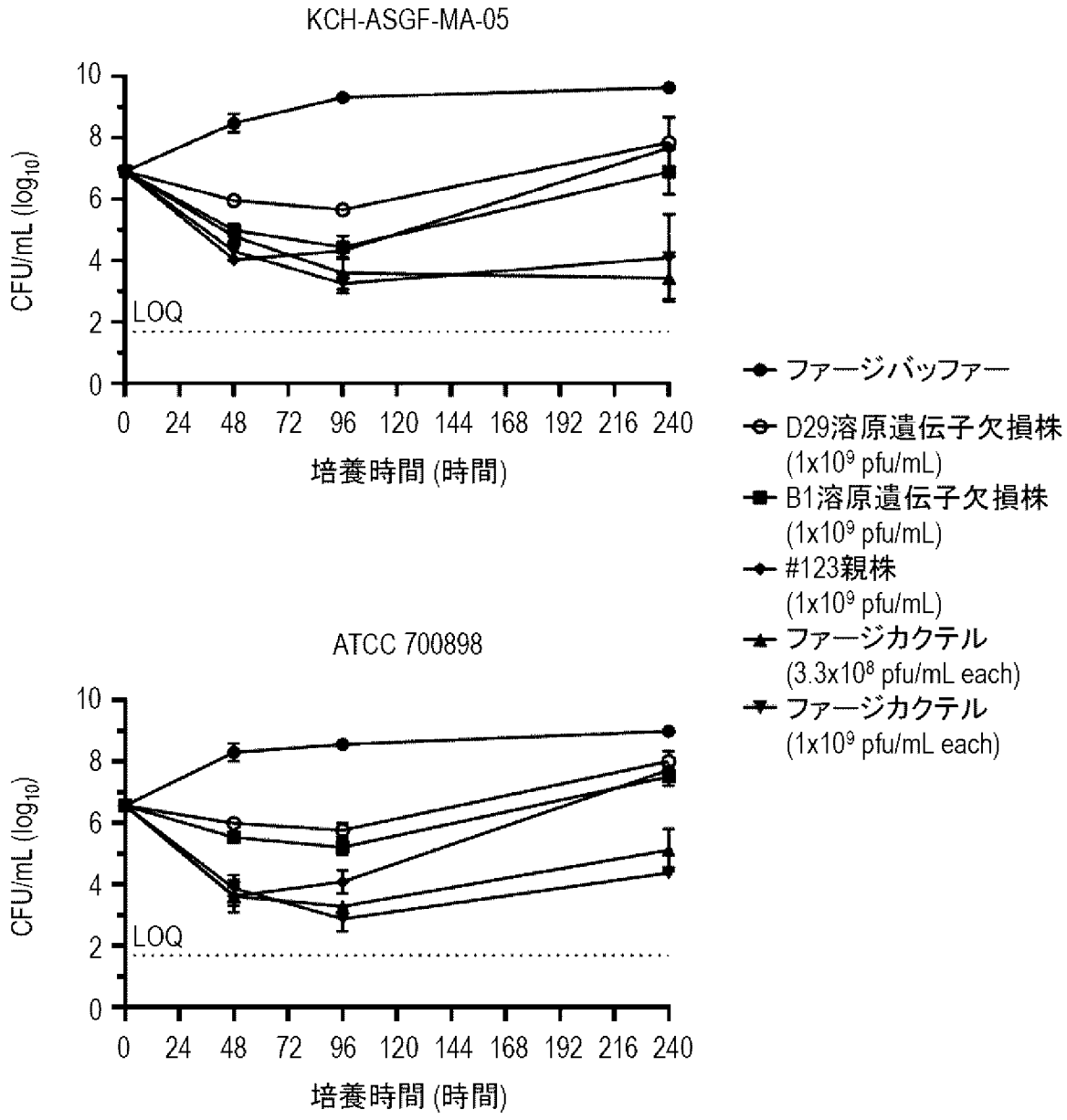
[請求項14]　非結核性抗酸菌症の予防又は治療用医薬組成物である、請求項１０～１３のいずれか１項に記載の医薬組成物。

[請求項15]　非結核性抗酸菌症が肺ＭＡＣ症である、請求項１４に記載の医薬組成物。

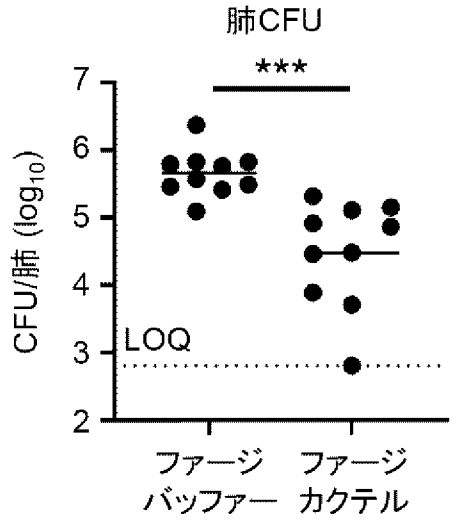
[図1]



[図2]


KCH-ASGF-MA-05
CFU/mL (log10)
LOQ
培養時間 (時間)
ATCC 700898
CFU/mL (log10)
LOQ
培養時間 (時間)
ファージバッファー
D29溶原遺伝子欠損株
(1x10^9 pfu/mL)
B1溶原遺伝子欠損株
(1x10^9 pfu/mL)
#123親株
(1x10^9 pfu/mL)
ファージカクテル
(3.3x10^8 pfu/mL each)
ファージカクテル
(1x10^9 pfu/mL each)

[図3]




N=10, Mean
Unpaired t-test, ***; p<0.001

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
**PCT/JP2023/016600**

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

***C12N 7/01***(2006.01)i; ***A61K 35/76***(2015.01)i; ***A61P 11/00***(2006.01)i; ***A61P 31/04***(2006.01)i; ***C12N 7/00***(2006.01)i; ***C12N 15/33***(2006.01)i
FI: C12N7/01; C12N15/33; A61K35/76; A61P31/04; A61P11/00; C12N7/00

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

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N7/00-7/08; C12N15/00-15/90; A61K35/76; A61P11/00; A61P31/04

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2023
Registered utility model specifications of Japan 1996-2023
Published registered utility model applications of Japan 1994-2023

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X | WO 2021/092362 A1 (UNIVERSITY OF PITTSBURGH - OF THE COMMONWEALTH SYSTEM OF HIGHER EDUCATION) 14 May 2021 (2021-05-14)<br>claim 1 | 1-9 |
| Y | | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |
| X | RYBNIKER, J. et al. Host range of 14 mycobacteriophages in Mycobacterium ulcerans and seven other mycobacteria including Mycobacterium tuberculosis - application for identification and susceptibility testing. J. Med. Microbiol. 2006, vol. 55, pp. 37-42<br>p. 39, right column, lines 14-36, table 2 | 1-9 |
| Y | | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |

☑ 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
"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 |
|---|---|
| **07 July 2023** | **18 July 2023** |
| Name and mailing address of the ISA/JP<br>**Japan Patent Office (ISA/JP)**<br>**3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915**<br>**Japan** | Authorized officer<br><br>Telephone No. |

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X | SHAHRAKI, A. H. et al. Phage Therapy for Mycobacterium Abscessus and Strategies to Improve Outcomes. Microorganisms. 2021, vol. 9; 596, pp. 1-20<br>p. 4, lines 11-13, table 1 | 1-9 |
| Y | | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |
| X | JP 2020-506726 A (ELIGO BIOSCIENCE) 05 March 2020 (2020-03-05)<br>paragraph [0215] | 1-9 |
| Y | | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |
| X | ＫＡＫＥＮ－研究課題をさがす, [オンライン], 松崎茂展, バクテリオファージライシンを利用する新しい多剤耐性結核制御法の創出, ２０２０年度　実施状況報告書, 27 December 2021, [retrieval date: 07 July 2023], Internet: <URL: https://kaken.nii.ac.jp/ja/report/KAKENHI-PROJECT-19K08953/19K089532020hokoku/><br>Overview of annual research achievements, (KAKEN -Grants. [online]. MATSUZKA, Shigenobu. Development of the new multidrug-resistant tuberculosis control method to use bacteriophage lysin. 2020 Fiscal Year Research-status Report.) | 1-9 |
| Y | | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |
| Y | WO 2020/237044 A1 (UNIVERSITY OF PITTSBURGH - OF THE COMMONWEALTH SYSTEM OF HIGHER EDUCATION) 26 November 2020 (2020-11-26)<br>paragraph [0063] | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |
| Y | US 11066691 B1 (NATIONAL TECHNOLOGY & ENGINEERING SOLUTIONS OF SANDIA, LLC) 20 July 2021 (2021-07-20)<br>example 1 | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |
| Y | WO 2021/092249 A1 (LOCUS BIOSCIENCES, INC.) 14 May 2021 (2021-05-14)<br>example 18 | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**
**Information on patent family members**

International application No.
**PCT/JP2023/016600**

| Patent document cited in search report | Publication date (day/month/year) | Patent family member(s) | Publication date (day/month/year) |
|---|---|---|---|
| WO 2021/092362 A1 | 14 May 2021 | US 2022/0193160 A1 | |
| JP 2020-506726 A | 05 March 2020 | US 2020/0040346 A1<br>paragraph [0207]<br>WO 2018/141907 A1<br>EP 3358015 A1<br>CN 110268062 A<br>KR 10-2019-0115019 A | |
| WO 2020/237044 A1 | 26 November 2020 | US 2022/0233615 A1 | |
| US 11066691 B1 | 20 July 2021 | (Family: none) | |
| WO 2021/092249 A1 | 14 May 2021 | JP 2022-554347 A<br>US 2022/0389392 A1<br>EP 4055143 A1<br>CN 114981408 A | |

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2023/016600

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

C12N 7/01(2006.01)i; A61K 35/76(2015.01)i; A61P 11/00(2006.01)i; A61P 31/04(2006.01)i; C12N 7/00(2006.01)i; C12N 15/33(2006.01)i
FI: C12N7/01; C12N15/33; A61K35/76; A61P31/04; A61P11/00; C12N7/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

C12N7/00-7/08; C12N15/00-15/90; A61K35/76; A61P11/00; A61P31/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

| | |
|---|---|
| 日本国実用新案公報 | １９２２－１９９６年 |
| 日本国公開実用新案公報 | １９７１－２０２３年 |
| 日本国実用新案登録公報 | １９９６－２０２３年 |
| 日本国登録実用新案公報 | １９９４－２０２３年 |

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献のカテゴリー* | 引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する請求項の番号 |
|---|---|---|
| X | WO 2021/092362 A1 (UNIVERSITY OF PITTSBURGH - OF THE COMMONWEALTH SYSTEM OF HIGHER EDUCATION) 14.05.2021 (2021-05-14)<br>請求項１ | 1-9 |
| Y | | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |
| X | RYBNIKER, J. et al., Host range of 14 mycobacteriophages in Mycobacterium ulcerans and seven other mycobacteria including Mycobacterium tuberculosis - application for identification and susceptibility testing, J. Med. Microbiol., 2006, Vol. 55, pp. 37-42<br>第３９頁右欄第１４－３６行、表２ | 1-9 |
| Y | | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

| 国際調査を完了した日 | 国際調査報告の発送日 |
|---|---|
| 07.07.2023 | 18.07.2023 |

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
西　賢二 4B 5803
電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C.　関連すると認められる文献

| 引用文献のカテゴリー* | 引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する請求項の番号 |
|---|---|---|
| X | SHAHRAKI, A. H. et al., Phage Therapy for Mycobacterium Abscessus and Strategies to Improve Outcomes, Microorganisms, 2021, Vol. 9; 596, pp. 1-20<br>第４頁第１１－１３行、表１ | 1-9 |
| Y | | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |
| X | JP 2020-506726 A (エリゴ・バイオサイエンス) 05.03.2020 (2020-03-05)<br>［０２１５］ | 1-9 |
| Y | | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |
| X | ＫＡＫＥＮ－研究課題をさがす, [オンライン], 松崎茂展, バクテリオファージライシンを利用する新しい多剤耐性結核制御法の創出, ２０２０年度　実施状況報告書, 2021.12.27, [検索日：2023年7月7日], インターネット: <URL: https://kaken.nii.ac.jp/ja/report/KAKENHI-PROJECT-19K08953/19K089532020hokoku/><br>研究実績の概要 | 1-9 |
| Y | | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |
| Y | WO 2020/237044 A1 (UNIVERSITY OF PITTSBURGH - OF THE COMMONWEALTH SYSTEM OF HIGHER EDUCATION) 26.11.2020 (2020-11-26)<br>［００６３］ | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |
| Y | US 11066691 B1 (NATIONAL TECHNOLOGY & ENGINEERING SOLUTIONS OF SANDIA, LLC) 20.07.2021 (2021-07-20)<br>実施例１ | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |
| Y | WO 2021/092249 A1 (LOCUS BIOSCIENCES, INC.) 14.05.2021 (2021-05-14)<br>実施例１８ | 1-10, 13-15 |
| A | | 11-12 |

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2023/016600

| 引用文献 | 公表日 | パテントファミリー文献 | 公表日 |
|---|---|---|---|
| WO 2021/092362 A1 | 14.05.2021 | US 2022/0193160 A1 | |
| JP 2020-506726 A | 05.03.2020 | US 2020/0040346 A1<br>［０２０７］<br>WO 2018/141907 A1<br>EP 3358015 A1<br>CN 110268062 A<br>KR 10-2019-0115019 A | |
| WO 2020/237044 A1 | 26.11.2020 | US 2022/0233615 A1 | |
| US 11066691 B1 | 20.07.2021 | （ファミリーなし） | |
| WO 2021/092249 A1 | 14.05.2021 | JP 2022-554347 A<br>US 2022/0389392 A1<br>EP 4055143 A1<br>CN 114981408 A | |