



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I804945 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 06 月 11 日

(21)申請案號：110128780

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 08 月 04 日

(51)Int. Cl.：

*C12N1/20 (2006.01)**A23C17/02 (2006.01)**A61K35/742 (2015.01)**A61K35/745 (2015.01)**A61K35/747 (2015.01)**A61P37/00 (2006.01)**C12R1/01 (2006.01)**C12R1/07 (2006.01)**C12R1/46 (2006.01)**C12R1/44 (2006.01)**C12R1/85 (2006.01)*

(30)優先權：2020/08/24

中國大陸

202010858666.6

(71)申請人：大陸商湯臣倍健股份有限公司(中國大陸) (CN)

中國大陸

(72)發明人：辻曉雷(CN)；張旭光(GB)；賀瑞坤(CN)；何方(CN)

(74)代理人：蔡清福；蔡馭理

(83)生物材料寄存：

財團法人食品工業發展研究所 BCRC 911084 2020 年 12 月 06 日

(56)參考文獻：

CN 101314763

審查人員：蘇品嘉

申請專利範圍項數：72 項 圖式數：3 共 38 頁

(54)名稱

一種短雙歧桿菌 207-1 及其應用

(57)摘要

本申請涉及一種短雙歧桿菌或其後代。具體的，本申請涉及一種短雙歧桿菌 207-1 以及包括其的組合物、培養物、食物產品或膳食補充劑。本申請還涉及短雙歧桿菌 207-1 和包括其的組合物、培養物在食物產品、膳食補充劑或藥物中的用途。

指定代表圖：

符號簡單說明：
OVA:卵白蛋白

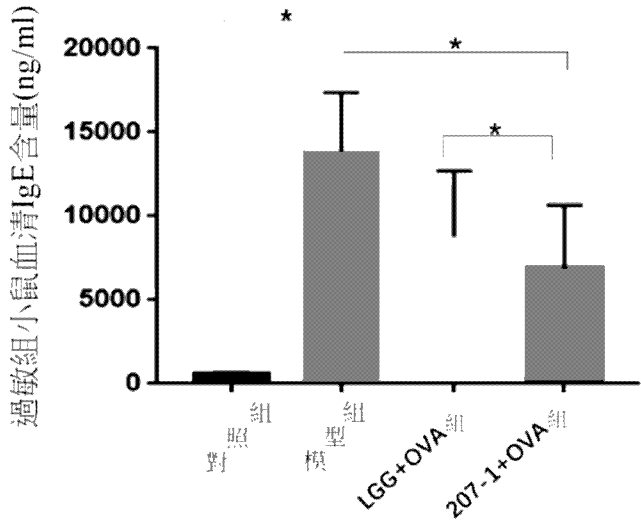


圖 3

I804945

修正之日期：112 年 1 月 17 日

【發明摘要】**【中文發明名稱】** 一種短雙歧桿菌207-1及其應用**【中文】**

本申請涉及一種短雙歧桿菌或其後代。具體的，本申請涉及一種短雙歧桿菌207-1以及包括其的組合物、培養物、食物產品或膳食補充劑。本申請還涉及短雙歧桿菌207-1和包括其的組合物、培養物在食物產品、膳食補充劑或藥物中的用途。

【指定代表圖】 圖3**【代表圖之符號簡單說明】**

OVA：卵白蛋白

【發明說明書】

【中文發明名稱】 一種短雙歧桿菌207-1及其應用

【技術領域】

【0001】本申請涉及一種短雙歧桿菌或其後代。具體的，本申請涉及一種短雙歧桿菌207-1以及包括其的組合物、培養物、食物產品或膳食補充劑。本申請還涉及短雙歧桿菌207-1和包括其的組合物、培養物、食物產品或膳食補充劑在製備藥物或保健食品中的用途。

【先前技術】

【0002】人體70%-80%的免疫細胞位於人體腸道內，同時人類腸道中的細菌總數可達100萬億，約占人體微生物總量的78%，因此腸道為宿主免疫系統與微生物相互作用提供了一個重要的平臺。聯合國糧食與農業組織FAO和世界衛生組織WHO認為，益生菌是活的微生物，當攝入足夠數量時，對宿主起到有益健康的作用。大量的體外試驗和臨床試驗顯示了益生菌在宿主腸道健康和免疫力調節等方面具有良好應用效果。

【0003】益生菌能夠藉由多種機制調節宿主的免疫功能。在黏膜屏障功能方面，益生菌可與入侵生物競爭黏膜細胞上的附著位點，從而阻止細菌穿透黏膜進入深部組織；調控腸上皮細胞間緊密連接，加強黏膜細胞的屏障機能；抑制腸黏膜細胞的溶破和凋亡，維護胃腸黏膜的完整性。益生菌還能增強先天性免疫功能，藉由加強吞噬細胞、DCs等抗原提呈細胞APCs的吞噬活力、增強NK細胞的殺傷能力，以及提升細胞因數（如促炎因數IL-12、IFN- γ 、TNF- α 和抗炎因數TGF- β 、IL-10等）的表達水準來控制炎症反應的強度等。同時益生菌能增強適應性免疫。在腸道黏膜定值的益生菌，能夠

促進T、B淋巴細胞對抗原刺激的反應性，刺激腸黏膜內的相關淋巴組織，誘導sIgA的分泌。益生菌作為抗原物質被M細胞吞噬。M細胞內的抗原快速釋放並被DCs攝取，並將抗原提呈給初始CD4⁺ T 淋巴細胞，啟動Th1或Th2細胞來平衡Th1與Th2反應的比例。

【0004】另外，乳酸菌等益生菌能否對機體發揮以上益生作用，還取決於菌株能否耐受機體胃腸道的防禦機制，如胃液中的低pH值環境和小腸中膽汁酸等，而以活菌的狀態順利到達腸道，黏附於腸上皮細胞，並在腸道內定植，才能夠產生有益代謝產物並與宿主發生相互作用。

【0005】因此，篩選能夠進入腸道、具有高生存性的乳酸菌，是益生菌開發的首要考慮的問題。具備高生存性，以及具備調節宿主免疫功能和抗過敏功能的益生菌還有待開發。

【發明內容】

【0006】在本發明中，除非另有說明，否則本文中使用的科學和技術名詞具有本領域技術人員所通常理解的含義。同時，為了更好地理解本發明，下面提供相關術語的定義和解釋。

【0007】如本文中所使用的，術語“後代”是指微生物藉由生長（例如培養基中培養生長）而產生的子代細胞。易於理解的是，在微生物的生長和培養中，尤其是細菌的生長和培養中，遺傳物質可能發生一定的變化（例如，一個或幾個鹼基的突變），這些變化可以是自發發生，也可以是因化學和/或物理試劑(例如誘變劑)誘變和/或本領域已知的重組DNA技術而導致的結果。因此，在本文中，短雙歧桿菌的後代意欲涵蓋與本發明的短雙歧桿菌相比遺傳物質未發生變化和發生變化的後代。當然，該後代仍然保留其所衍生自的菌株的功能（例如，能夠提高免疫力，改善過敏反應等）。

【0008】如本文中所使用的，術語“藥學上可接受的載體”是指在藥理學和/或生理學上與受試者和活性成分相容的載體，其是本領域公知的(參見例如 Remington's Pharmaceutical Sciences. Edited by Gennaro AR, 19th ed. Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1995)，並且包括但不限於：pH 調節劑，表面活性劑，佐劑，離子強度增強劑。例如，pH 調節劑包括但不限於磷酸鹽緩衝液；表面活性劑包括但不限於陽離子，陰離子或者非離子型表面活性劑，例如 Tween-80；離子強度增強劑包括但不限於氯化鈉。

【0009】如本文中所使用的，術語“膳食補充劑”是指能夠向消費者提供有益效果（例如，營養效果、預防效果、治療效果或其他有益效果）的可食用的產品。在本文中，膳食補充劑涵蓋營養品、補劑等產品。

【0010】如本文中所使用的，術語“保健品”與“保健食品”代表相同的含義，可互換使用。

【0011】如本文中所使用的，術語“藥物”涵蓋了人類醫學和獸醫學中供人類和動物兩者使用的藥物，同時涵蓋了用於摻入動物飼料(例如牲畜飼料和/或寵物食物)中的藥物。此外，本文中所使用的術語“藥物”意指提供治療、預防和/或有益效果的任何物質。本文中所使用的術語“藥物”不一定限於需要上市許可證(Marketing Approval)的物質，而是包括可以用於化妝品、保健食品、食物(包括例如飼料和飲料)、益生菌培養物和膳食補充劑的物質。

【0012】如本文中所使用的，術語“CFU (Colony-Forming Units)”是指產品中細菌、真菌、酵母等微生物的群落總數，通常用作活菌數計算。

【0013】如本文中所使用的，術語“CFU/劑量”意指每天或每次向受試者提供的組合物/食物產品或膳食補充劑/藥物組合物中細菌存在的量。例如，在某些實施方案中，該食物產品或膳食補充劑中短雙歧桿菌以 10^6 至 10^{12} CFU/劑量的量存在（例如 10^8 至 10^{12} CFU/劑量）。在此種實施方案中，如果將短

雙歧桿菌施用在食物產品中（例如，在固體飲料、優酪乳中），則每天或每次向受試者提供的食物產品（例如固體飲料、優酪乳）可含有約 10^6 至 10^{12} CFU的短雙歧桿菌。當然，可替代地，這種細菌的量的可以分成多次施用，只要受試者在任何特定時間內(例如每24小時期間)接受的短雙歧桿菌的總量是從約 10^6 至約 10^{12} CFU的細菌，即滿足上述的食物產品或膳食補充劑中短雙歧桿菌以 10^6 至 10^{12} CFU/劑量的量存在（例如 10^8 至 10^{12} CFU/劑量）。

【0014】本申請的發明人經過大量實驗從265株健康新生兒腸道來源的菌株中篩選到了一株具有顯著菌株特異益生菌潛能的短雙歧桿菌。本申請的發明人藉由大量實驗證實，該短雙歧桿菌對胃液酸性環境以及膽汁鹽有良好的耐受性，並對腸道有良好的黏附性，並且能夠提高免疫力、改善或緩解過敏症狀，並由此完成了本發明。

【0015】因此，在第一方面，本申請提供了一種短雙歧桿菌(*Bifidobacterium breve*)或其後代，該短雙歧桿菌保藏於廣東省微生物菌種保藏中心，保藏編號為GDMCC No.60962。

【0016】在第二方面，本申請提供了一種組合物，其包含該短雙歧桿菌或其後代。

【0017】在某些實施方案中，該組合物還包含選自以下的微生物：細菌，真菌(例如酵母)，或其任何組合。

【0018】在某些實施方案中，該短雙歧桿菌可與一種或多種其他物種的微生物組合使用，該其他物種的微生物能夠對其施用的宿主的健康起到有益影響。

【0019】在某些實施方案中，該微生物是益生菌。

【0020】在某些實施方案中，該益生菌選自益生細菌，酵母，或其任何組合。

【0021】如本文所使用的，術語“益生細菌”被定義為任何非致病的細菌，並且將其以活菌向宿主施用足夠數量時，能夠對宿主的健康起到有益影響。

【0022】在某些實施方案中，該細菌選自乳酸桿菌屬，雙歧桿菌屬，芽孢桿菌屬，丙酸桿菌屬，鏈球菌屬，乳球菌屬，片球菌屬，腸球菌屬，葡萄球菌屬，或其任何組合。

【0023】在某些實施方案中，該雙歧桿菌屬的細菌選自：動物雙歧桿菌(*Bifidobacterium animalis*)，兩歧雙歧桿菌(*Bifidobacterium bifidum*)，短雙歧桿菌(*Bifidobacterium breve*)，嬰兒雙歧桿菌(*Bifidobacterium infantis*)，長雙歧桿菌(*Bifidobacterium longum*)，青春雙歧桿菌(*Bifidobacterium adolescentis*)，或其任何組合。

【0024】在某些實施方案中，該乳桿菌屬的細菌選自：副乾酪乳桿菌(*Lactobacillus paracasei*)，嗜酸乳桿菌(*Lactobacillus acidophilus*)，短乳桿菌(*Lactobacillus brevis*)，詹氏乳桿菌(*Lactobacillus jensenii*)，惰性乳桿菌(*Lactobacillus iners*)，乾酪乳桿菌(*Lactobacillus casei*)，捲曲乳桿菌(*Lactobacillus crispatus*)，彎曲乳桿菌(*Lactobacillus curvatus*)，德氏乳桿菌(*Lactobacillus delbrueckii*)，發酵乳桿菌(*Lactobacillus fermentum*)，加氏乳桿菌(*Lactobacillus gasseri*)，瑞士乳桿菌(*Lactobacillus helveticus*)，約氏乳桿菌(*Lactobacillus johnsonii*)，植物乳桿菌(*Lactobacillus plantarum*)，羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*)，鼠李糖乳桿菌(*Lactobacillus rhamnosus*)，清酒乳桿菌(*Lactobacillus sakei*)，唾液乳桿菌(*Lactobacillus salivarius*)，或其任何組合。

【0025】在某些實施方案中，該芽孢桿菌屬的細菌選自：枯草芽孢桿菌(*Bacillus subtilis*)，凝結芽孢桿菌(*Bacillus coagulans*)，或其任何組合。

【0026】在某些實施方案中，該丙酸桿菌屬的細菌選自：謝氏丙酸桿菌(*Propionibacterium shermanii*)，費氏丙酸桿菌(*Propionibacterium*

freudenreichii), 產丙酸丙酸桿菌 (*Propionibacterium acidipropionici*), 或其任何組合。

【0027】在某些實施方案中，該鏈球菌屬的細菌選自：嗜熱鏈球菌 (*Streptococcus thermophilus*), 唾液鏈球菌 (*Streptococcus salivarius*), 或其任何組合。

【0028】在某些實施方案中，該乳球菌屬的細菌為乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*)。

【0029】在某些實施方案中，該腸球菌屬的細菌選自：糞腸球菌 (*Enterococcus faecalis*), 屎腸球菌 (*Enterococcus faecium*), 或其任何組合。

【0030】在某些實施方案中，該酵母選自釀酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*), 布拉氏酵母 (*Saccharomyces boulardii*), 馬克斯克魯維酵母 (*Kluyveromyces marxianus*), 或其任何組合。

【0031】在某些實施方案中，該組合物還包括額外的添加劑。

【0032】本領域技術人員可以根據需求對額外的添加劑進行選擇和調整。在某些實施方案中，該額外的添加劑選自其他營養物質，礦物質，維生素，或其任何組合。

【0033】在某些實施方案中，該額外的添加劑能夠對其施用的宿主的健康起到有益影響。

【0034】在某些實施方案中，該其他營養物質選自膳食纖維，益生元，蛋白質（例如酶），碳水化合物，脂類物質（例如脂肪），礦物質，維生素，植物成分（例如，植物提取物），氨基酸，免疫調節劑，乳汁替代物，或其任何組合。

【0035】在某些實施方案中，該礦物質選自鐵，鋅，鉀，鈉，鈣，鎂，及其任何組合。

【0036】在某些實施方案中，該維生素選自維生素B1、維生素B2、維生素B6、維生素B12，維生素A，維生素C，維生素D，維生素E，維生素K，及其任何組合。

【0037】在某些實施方案中，該組合物作為發酵劑（例如，植物發酵製品的發酵劑，乳製品發酵劑）。在此類實施方案中，該組合物中的短雙歧桿菌作為發酵劑參與發酵過程。例如，在製備優酪乳的過程中，短雙歧桿菌作為益生菌與鮮奶一同發酵，製備成優酪乳。

【0038】在某些實施方案中，該組合物用於製備食物產品和/或膳食補充劑。

【0039】在某些實施方案中，該食物產品選自固體飲料，糖果或果汁；或者，該食物產品為乳製品（例如，優酪乳，風味發酵乳，乳酸菌飲料，乳酪）。

【0040】在某些實施方案中，該膳食補充劑被配製用於口服施用。

【0041】在某些實施方案中，該膳食補充劑為丸劑、粉劑、膠囊劑、片劑、顆粒粉劑、蓋膜劑(opercula)、口溶性顆粒劑、小袋劑、糖衣丸劑或液體劑的形式。

【0042】在某些實施方案中，較佳地，該組合物中短雙歧桿菌以 10^6 至 10^{12} CFU/劑量的量存在（例如 10^8 至 10^{12} CFU/劑量）。

【0043】在第三方面，本申請提供了一種食物產品或膳食補充劑，其包含如前所述的短雙歧桿菌或其後代或如前所述的組合物。

【0044】在文本中，“食物”一詞是廣義的，包括人類的食物和飲物，也涵蓋動物的食物和飲物(即飼料)。在某些實施方案中，該食物產品適合於以及設計用於人類進食。

【0045】可以理解的是，根據用途、應用方式或施用方式的不同，本申請的食物產品可以是液體、固體、懸浮液或粉末的形式。

【0046】在某些實施方案中，該食物產品選自固體飲料，糖果或果汁，或者，該食物產品為乳製品（例如，優酪乳，風味發酵乳，乳酸菌飲料，乳酪）。

【0047】在某些實施方案中，該膳食補充劑被配製用於口服施用。

【0048】在某些實施方案中，該膳食補充劑為丸劑、粉劑、膠囊劑、片劑、顆粒粉劑、蓋膜劑(opercula)、口溶性顆粒劑、小袋劑、糖衣丸劑或液體劑的形式。

【0049】在某些實施方案中，食物產品或膳食補充劑還可包括(但不限於)下列物質中的一種或任何組合：益生菌(例如益生細菌)、膳食纖維、益生元、蛋白質（例如酶）、碳水化合物、脂類物質（例如脂肪）、維生素、礦物質、植物成分（例如植物提取物）、氨基酸、免疫調節劑、乳汁替代物，或者短雙歧桿菌或其後代的代謝物或提取物。在某些實施方案中，還可將本發明的組合物與不同的甜味劑或調味劑、調色物質、穩定劑、助流劑、填充劑等食品中可接受的輔料進行組合。

【0050】在某些實施方案中，短雙歧桿菌或其後代以濃縮物形式存在。

【0051】在某些實施方案中，該食物產品或膳食補充劑中短雙歧桿菌以 10^6 至 10^{12} CFU/劑量的量存在（例如 10^8 至 10^{12} CFU/劑量）。

【0052】在第四方面，本申請提供了一種藥物組合物，其包含如前所述的短雙歧桿菌或其後代。

【0053】在本文中，術語“藥物”涵蓋用於人類的藥物以及用於動物的藥物(即獸醫應用)。在某些實施方案中，該藥物用於人。

【0054】在某些實施方案中，該藥物組合物包含短雙歧桿菌的製劑。

【0055】在某些實施方案中，該藥物組合物包含藥學上可接受的載體。

【0056】在某些實施方案中，該藥物組合物被配製用於口服施用。

【0057】在某些實施方案中，該藥物組合物為丸劑、粉劑、膠囊劑、片劑、顆粒粉劑、蓋膜劑(opercula)、口溶性顆粒劑、小袋劑、糖衣丸劑或液體劑的形式。

【0058】較佳地，該藥物組合物中短雙歧桿菌以 10^6 至 10^{12} CFU/劑量的量存在（例如 10^8 至 10^{12} CFU/劑量）。

【0059】在第五方面，本申請提供了一種培養物，其包含如前所述的短雙歧桿菌或其後代。

【0060】在某些實施方案中，該培養物還包含選自以下的微生物：細菌，真菌（例如酵母），或其任何組合。

【0061】在某些實施方案中，該培養物還包含提供營養的成分（例如，固體或液體培養基，飼養細胞層）。

【0062】在某些實施方案中，該提供營養的成分選自益生元，蛋白質（例如酶），碳水化合物，脂類物質（例如脂肪），益生菌，維生素，免疫調節劑，乳汁替代物，礦物質，氨基酸，或其任何組合。

【0063】在某些實施方案中，該培養物還包含短雙歧桿菌或其後代的無細胞培養濾液。

【0064】在某些實施方案中，該培養物還包含短雙歧桿菌或其後代的衍生物。

【0065】在某些實施方案中，該衍生物選自代謝產物，酶，細胞結構成分（例如，細胞壁或其成分），胞外多糖，細菌素，含有免疫原性成分的化合物，或其任何組合。

【0066】在某些實施方案中，該微生物可以是任何形式，例如，是活的或死的，為裂解物或提取物，或為細菌產物，或為上清液形式。

【0067】在第六方面，本申請提供了如前所述的短雙歧桿菌或其後代或如前所述的組合物或如前所述的藥物組合物或如前所述的培養物在製備藥物或膳食補充劑或保健食品中的用途，該藥物或膳食補充劑或保健食品用於在受試者中抑制炎症或緩解炎症性疾病，或用於提高受試者的免疫力，或用於在受試者中預防細菌或病毒感染或自身免疫疾病，或用於在受試者中改善或緩解過敏反應或其相關症狀。

【0068】在某些實施方案中，該炎症性疾病選自視網膜炎引起的疾病（例如，視網膜炎，角膜炎），皮膚炎症引起的疾病（例如，皮炎，濕疹），呼吸道炎症引起的相關疾病（例如，上呼吸道感染）和消化道炎症引起的相關疾病（例如，炎性腸疾病）。

【0069】在某些實施方案中，該細菌或病毒感染選自細菌性感冒，病毒性感冒，尿路感染，陰道炎和子宮頸炎。

【0070】在某些實施方案中，該自身免疫疾病選自系統性紅斑狼瘡，糖尿病，類風濕性關節炎和自身免疫性腦炎。

【0071】在某些實施方案中，該過敏反應或其相關症狀選自濕疹，特應性皮炎，哮喘和食物過敏。

【0072】在某些實施方案中，該藥物或膳食補充劑或保健食品能夠促啟動免疫細胞，促進細胞因數的產生，抑制炎症或緩解炎症性疾病。

【0073】在某些實施方案中，該細胞因數選自IL-10，IL-6，IL-12，TNF- α ，或其任何組合。

【0074】在某些實施方案中，該抗炎細胞因數是IL-10。

【0075】在某些實施方案中，該藥物或膳食補充劑或保健食品能夠降低IgE水準，抑制IgE介導的過敏反應。

【0076】在某些實施方案中，該藥物或膳食補充劑或保健食品單獨使用，或與其他抗真菌劑、止痛藥、抗炎藥、促癒合劑、或保濕劑聯合使用。

【0077】在某些實施方案中，該受試者是哺乳動物。

【0078】在某些實施方案中，該受試者是人。

【0079】在第七方面，本發明提供了一種抑制炎症或緩解炎症性疾病、或預防細菌或病毒感染或自身免疫疾病、或改善或緩解過敏反應或其相關症狀的方法，該方法包括，將如上所述的短雙歧桿菌或其後代或如前所述的組合物或如前所述的藥物組合物施用於有此需要的受試者。

【0080】在某些實施方案中，該炎症性疾病選自視網膜炎引起的疾病（例如，視網膜炎，角膜炎），皮膚炎症引起的疾病（例如，皮炎，濕疹），呼吸道炎症引起的相關疾病（例如，上呼吸道感染）和消化道炎症引起的相關疾病（例如，炎性腸疾病）。

【0081】在某些實施方案中，該細菌或病毒感染選自細菌性感冒，病毒性感冒，尿路感染，陰道炎和子宮頸炎。

【0082】在某些實施方案中，該自身免疫疾病選自系統性紅斑狼瘡，糖尿病，類風濕性關節炎和自身免疫性腦炎等。

【0083】在某些實施方案中，該過敏反應或其相關症狀選自濕疹，特應性皮炎，哮喘和食物過敏。

【0084】在某些實施方案中，藉由選自下列的方式來施用如上所述的短雙歧桿菌或其後代或如前所述的藥物組合物：口服施用，注射施用（例如靜脈內注射或肌肉注射），局部施用（例如塗抹），或其任何組合。

【0085】在某些實施方案中，單獨施用如上所述的短雙歧桿菌或其後代或如前所述的藥物組合物，或將其與其他抗真菌劑、止痛藥、抗炎藥、促癒合劑、或保濕劑聯合使用。

【0086】在某些實施方案中，該受試者是哺乳動物。

【0087】在某些實施方案中，該受試者是人。

【0088】在第八方面，本發明提供了一種提高受試者的免疫力的方法，該方法包括，將如上所述的短雙歧桿菌或其後代或如前所述的組合物或如前所述的藥物組合物施用於有此需要的受試者。

【0089】在某些實施方案中，藉由選自下列的方式來施用如上所述的短雙歧桿菌或其後代或如前所述的藥物組合物：口服施用，注射施用（例如靜脈內注射或肌肉注射），或其任何組合。

【0090】在某些實施方案中，該受試者是哺乳動物。

【0091】在某些實施方案中，該受試者是人。

【0092】在第九方面，本發明提供了一種如前所述的短雙歧桿菌或其後代或如前所述的組合物或如前所述的培養物在製備發酵劑的用途，該發酵劑用於固體食品（例如，乳酪）或液體食品（例如，優酪乳，風味發酵乳，乳酸菌飲料）的發酵中。

有益效果

【0093】本申請的短雙歧桿菌對胃液酸性環境以及膽汁鹽有良好的耐受性，並對腸道有良好的黏附性，並且，其能夠啟動巨噬細胞的活性，促進細胞因數的表達。特別地，本申請的短雙歧桿菌能夠顯著提高抗炎因數IL-10的表達，能夠抑制炎症或緩解炎症性疾病，並提高免疫力。此外，本申請的短雙歧桿菌能夠降低血清IgE的水準，並改善過敏反應。

【0094】下面將結合附圖和實施例對本發明的實施方案進行詳細描述，但是本領域技術人員將理解，下列附圖和實施例僅用於說明本發明，而不是對本發明的範圍的限定。根據附圖和較佳實施方案的下列詳細描述，本發明的各種目的和有利方面對於本領域技術人員來說將變得顯然。

【圖式簡單說明】**【0095】**

圖1顯示了短雙歧桿菌207-1在平板上培養的菌落形態，其中，圖1A顯示了短雙歧桿菌207-1 在BL平板上培養的菌落形態，圖1B顯示了短雙歧桿菌207-1 在TOS平板上培養的菌落形態。

圖2顯示了經革蘭氏染色的短雙歧桿菌207-1的鏡檢圖。

圖3顯示了接受或不接受短雙歧桿菌207-1治療的OVA模型小鼠的血清IgE水準。

關於生物材料保藏的說明

短雙歧桿菌207-1 (*Bifidobacterium breve* 207-1) 已在位於廣州市先烈中路100號大院59號樓5樓的廣東省微生物菌種保藏中心(GDMCC, Guangdong Microbial Culture Collection Center)進行保藏，其具有保藏號GDMCC No. 60962，且保藏時間為2020年1月15日。

短雙歧桿菌207-1 (*Bifidobacterium breve* 207-1) 已在位於新竹市食品路331號的食品工業發展研究所進行保藏，其具有保藏號BCRC 911084，且保藏時間為民國110年12月6日。

【實施方式】

【0096】 現參照下列意在舉例說明本發明（而非限定本發明）的實施例來描述本發明。

【0097】 除非特別指明，否則基本上按照本領域內熟知的以及在各種參考文獻中描述的常規方法進行實施例中描述的實驗和方法。例如，本發明中所使用的免疫學、生物化學、化學、分子生物學、微生物學、細胞生物學、

基因組學和重組DNA等常規技術，可參見薩姆布魯克(Sambrook)、弗裡奇(Fritsch)和馬尼亞蒂斯(Maniatis)，《分子克隆：實驗室手冊》(MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL)，第2次編輯(1989)；《當代分子生物學實驗手冊》(CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY)(F.M.奧蘇貝爾(F.M.Ausubel)等人編輯，(1987))；《酶學方法》(METHODS IN ENZYMOLOGY)系列(學術出版公司)；《PCR 2：實用方法》(PCR 2: A PRACTICAL APPROACH)(M.J.麥克弗森(M.J. MacPherson)、B.D.黑姆斯(B.D. Hames)和G.R.泰勒(G.R. Taylor)編輯(1995))，以及《動物細胞培養》(ANIMAL CELL CULTURE)(R.I.弗雷謝尼(R.I. Freshney)編輯(1987))。

【0098】另外，實施例中未注明具體條件者，按照常規條件或製造商建議的條件進行。所用試劑或儀器未注明生產廠商者，均為可以藉由市購獲得的常規產品。本領域技術人員知曉，實施例以舉例方式描述本發明，且不意欲限制本發明所要求保護的範圍。本文中提及的全部揭露案和其他參考資料以其全文藉由引用合併入本文。

實施例1. 菌株的分離與鑒定

【0099】本申請從四川大學華西婦產兒童醫院出生的正常足月新生兒糞便樣本中分離出265株菌株，從中篩選到了一株短雙歧桿菌，將其命名為短雙歧桿菌207-1。其中，新生兒的納入標準為：居住於成都市五城區；胎齡37-42週，出生體重在2500-4000g之間，嬰兒無先天性異常或出生缺陷。排除標準為：母親在產前一個月內使用過抗生素；父母有愛滋病、結核病、B肝等傳染性疾病；新生兒因新生兒肺炎等嚴重疾病無法收集糞便。

【0100】收集嬰兒出生後1-4月內的新鮮糞便於無菌採便管。取樣後立即暫存於4℃，由取樣人員低溫送至實驗室隨即進行糞便樣品的稀釋培養，如不能立即操作，則厭氧4℃保存，當日進行培養。

【0101】稱取糞便0.5g，並加入4.5 mL的糞便稀釋液（4.5g KH_2PO_4 、6.0g Na_2HPO_4 、0.5g L-半胱氨酸鹽酸鹽、0.5g Tween-80、1.0g瓊脂混於1000ml蒸餾水，121°C 15min高壓滅菌備用），充分振盪混勻，10倍系列稀釋。取適宜稀釋度的糞便混合液100 μL ，用L型棒表面塗布於（5%馬血）葡萄糖、血、肝培養基（BL培養基）平板上，37°C厭氧培養48h。挑取BL平板上的雙歧桿菌疑似菌落（形態呈棕色或棕紅色，表面光滑濕潤，圓形，隆起，邊緣整齊，直徑約3-5mm）繼代培養於雙歧桿菌選擇性培養基TOS丙酸鹽瓊脂平板上，37°C厭氧培養48h。而後從TOS平板上挑取菌落接種於MRS平板37°C厭氧培養，觀察菌種在有氧氣情況下的生長情況。同時進行革蘭染色，顯微鏡觀察細菌形態。

【0102】上述實驗得出該細菌對氧氣的需求為嚴格需氧型，細菌形態為革蘭陽性桿菌，一端或兩端膨大或分叉，無芽孢。初步判定本申請分離的菌株為雙歧桿菌（圖1和圖2所示）。

【0103】採用PCR方法進行進一步的鑒定。煮沸法提取細菌DNA，分別採用雙歧桿菌屬引物及*B. adolescentis group*、*B. angulatum*、*B. bifidum*、*B. breve*、*B. catenulatum group*、*B. dentium*、*B. infantis*、*B. longum* 8種雙歧桿菌菌株引物對細菌DNA進行PCR擴增。引物序列見相關文獻（Matsuki T, et al. 2004, Appl Environ Microbiol）與表1。擴增體系為2×Taq MasterMix（北京康為世紀生物科技有限公司）25 μL ，上、下游引物（10 $\mu\text{mol/L}$ ）各2 μL ，範本DNA 4 μL ，ddH₂O 17 μL 。PCR擴增溫度迴圈參數為：94°C預變性2 min；94°C變性30s，55°C退火30s，72°C延伸30s，迴圈35次後，72°C終延伸2min。PCR產物採用2%的瓊脂糖凝膠電泳驗證（0.4g瓊脂糖加熱溶解於20mL 0.5×TBE緩衝液中，加1 μL Goldview，加樣體積5 μL ，80V電泳20min），ChemiDoc XRS+ System凝膠成像系統拍照以進行雙歧桿菌菌種的鑒定。

【0104】PCR初步鑒定的結果如表2所示，雙歧桿菌屬引[物]和*B. breve*引[物]均擴增到強陽性產物，其餘引[物]未擴增到產物，因此，本申請該菌株為短雙歧桿菌。

【0105】進一步，採用PacBio Sequel2測序平臺對短雙歧桿菌207-1進行全基因組測定，其基因組長度2,352,089bp，GC含58.8%(其中，GC含量是指在DNA4種鹼基中，鳥嘌呤和胞嘧啶所占的比率)，染色體基因組含有2,077個編碼基因，58個tRNA基因，9個rRNA基因（包括5s rRNA、16s rRNA和23s rRNA），14個其他類型RNA基因。

【0106】綜合上述PCR鑒定和全基因組測序的實驗結果，本申請獲得了一株全新的短雙歧桿菌207-1，並於2020年1月15日對其進行了保藏。

表1. 引物序列

引物		序列	SEQ ID NO.
<i>Bifidobacterium</i>	g-Bifid-F	CTCCTGGAAACGGGTGG	1
	g-Bifid-R	GGTGTTCCTCCCGATATCTACA	2
<i>B. adolescentis</i> group	BiADog-1a	CTCCAGTTGGATGCATGTC	3
	BiADog-1b	TCCAGTTGACCGCATGGT	4
	BiADO-2	CGAAGGCTTGCTCCCAGT	5
<i>B. angulatum</i>	BiANG-1	CAGTCCATCGCATGGTGGT	6
	BiANG-2	GAAGGCTTGCTCCCCAAC	7
<i>B. bifidum</i>	BiBIF-1	CCACATGATCGCATGTGATTG	8
	BiBIF-2	CCGAAGGCTTGCTCCCCAAA	9
<i>B. breve</i>	BiBRE-1	CCGGATGCTCCATCACAC	10
	BiBRE-2	ACAAAGTGCCTTGCTCCCT	11
<i>B. catenulatum</i> group	BiCATg-1	CGGATGCTCCGACTCCT	12
	BiCATg-2	CGAAGGCTTGCTCCCGAT	13
<i>B. longum</i>	BiLON-1	TTCCAGTTGATCGCATGGTC	14
	BiLON-2	GGGAAGCCGTATCTCTACGA	15
<i>B. infantis</i>	BiINF-1	TTCCAGTTGATCGCATGGTC	16
	BiINF-2	GGAAACCCCATCTCTGGGAT	17
<i>B. dentium</i>	BiDEN-1	ATCCCGGGGGTTCGCCT	18
	BiDEN-2	GAAGGGCTTGCTCCCGA	19

表2. 雙歧桿菌鑒定結果表

編號	屬	<i>Breve</i>	<i>Infantis</i>	<i>Bifidum</i>	<i>catenulatum</i>	<i>longum</i>	<i>adolescentis</i>	<i>dentium</i>	<i>angulatum</i>
207-1	++	++	-	-	-	-	-	-	-

注釋：引物條帶“++”為強陽性；“+”為陽性；“±”為弱陽性；“-”為陰性。

實施例2. 短雙歧桿菌207-1的益生菌特性研究

1.短雙歧桿菌207-1的耐酸、耐膽鹽實驗篩選

【0107】1.1供試菌懸液的製備：短雙歧桿菌207-1經TOS培養基復甦，傳代兩次後備用。在TOS培養48 h後，刮取細菌至2 mL糞便稀釋液中，旋渦震盪混勻，粗調其濃度為 10^8 - 10^9 CFU/mL。

【0108】1.2模擬胃酸和膽鹽培養液的製備

模擬胃酸培養液的製備：配製MRS肉湯培養液，滅菌後用1mol/L HCL調節pH值至3.0，製成模擬胃酸培養液。

【0109】模擬膽鹽培養液的製備：配製MRS肉湯培養液，滅菌後加入牛膽鹽至濃度為0.1%，用1mol/L HCL調節pH值至8.0，然後用0.22 μ m微孔濾膜過濾除菌，製成膽鹽培養液。

【0110】1.3胃酸、膽鹽耐受性測試

短雙歧桿菌207-1耐酸性測試：將0.9ml模擬胃酸培養液分裝至EP管中，再加入製得的菌懸液0.1mL，旋渦混勻，然後將其置於37℃厭氧培養箱培養2小時。在0h和2h時分別進行測試，菌株在每個時間點設置3個平行。以未調整pH的MRS肉湯（pH=7）作對照，觀察細菌的生長狀況，排除其他因素造成的細菌死亡。

【0111】短雙歧桿菌207-1膽鹽耐受性測試：將0.9ml膽鹽培養液分裝至EP管中，再加入製得的菌懸液0.1mL，旋渦混勻，然後將其置於37℃厭氧培養箱培養24小時。在0h和24h時分別進行測試，菌株在每個時間點設置3個平行。以未加膽鹽的MRS肉湯（pH=7）作對照，觀察細菌的生長狀況，排除其他因素造成的細菌死亡。

【0112】以上培養完畢後立即10倍梯度稀釋，選擇適宜稀釋度點種TOS平板，37℃厭氧培養24-48 h計數。以0小時稀釋接種計數結果為初始細菌濃度。結果以存活率進行比較。計算公式如下：

存活率(%)=培養後活菌濃度(CFU/mL)/0小時活菌濃度(CFU/mL)×100

實驗結果顯示：該短雙歧桿菌207-1在pH=3的模擬胃酸培養液中消化2小時後的存活率為86.3%；在膽鹽培養液中培養24小時後的存活率為73.6%。因此，可知該短雙歧桿菌207-1對胃酸和膽鹽有良好的耐受性，能夠有效抵禦上游消化道極端環境，從而順利抵達下游消化道（如結腸），發揮健康功能。短雙歧桿菌207-1因此滿足作為益生菌的基礎要求。

2.短雙歧桿菌207-1對腸黏膜的黏附能力

【0113】2.1黏附性實驗方法：將短雙歧桿菌207-1在TOS平板上復甦、傳代三次後，調節菌懸液OD600吸亮度為 1.051 ± 0.005 （濃度為 1×10^9 CFU/mL）。以商業菌株動物雙歧桿菌(*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*) BB-12和鼠李糖乳桿菌(*Lactobacillus rhamnosus*) LGG為對照菌株進行平行試驗，按照上述相同的方法製備菌懸液。

【0114】將500μg/mL黏蛋白溶液加入96孔Maxisorp板(Nunc)，每孔100μL。置於4℃冰箱過夜孵育。取出用PBS清洗三次，每孔200μL。再用含1%吐溫20的PBS封閉1 h，每孔100μL。將製備好的菌懸液各取100μL加入微孔，每個菌株設置3個平行。同時，以PBS代替菌懸液加入作為空白對照，設置3個平行。置於4℃冰箱過夜孵育。孵育完畢後，取出，用含0.05%吐溫20的PBS清洗三次，除去未黏附的細菌。再於60℃烘箱中乾燥1 h。在乾燥後的微孔板中加入1%結晶紫溶液，每孔100μL，染色45 min。之後用PBS清洗6次，加入無水乙醇，靜置10min，釋放染液。最後藉由酶標儀測定各孔在590nm波長下的吸亮度。

【0115】2.2短雙歧桿菌207-1黏附性結果：短雙歧桿菌207-1的黏附性實驗結果如表3所示。

表3. 黏附性實驗結果			
序號	菌株編號	菌種	OD ₅₉₀ 值 ($\bar{X} \pm S$)
1	207-1	<i>B. breve</i>	0.648±0.001
2	LGG	<i>L. rhamnosus</i>	0.609±0.018
3	Bb-12	<i>B. animalis</i>	0.696±0.021
4	空白	-	0.089±0.003

【0116】黏蛋白是腸道上皮細胞產生大量黏液的主要成分，黏液能夠保護腸黏膜細胞不與病原微生物接觸,阻止病原菌侵入上皮細胞，從而保護上皮細胞的正常功能。研究證明，益生菌能夠誘導長上皮細胞分泌黏蛋白，並以佔據腸道黏膜附著點的方式在腸黏膜表面形成生物膜，阻止外來菌對腸黏膜的附著。黏蛋白的寡糖鏈上含有大量的與各種益生菌結合的特異位點，特別是糖鏈末端的抗原表位還可對腸道益生菌的菌群進行篩選和識別，協助腸道益生菌定植。

【0117】本實驗結果顯示，短雙歧桿菌207-1與商業化菌株動物雙歧桿菌BB12和鼠李糖乳桿菌LGG具有相似的黏蛋白結合能力。因此申請人認為，短雙歧桿菌207-1能夠有效的黏附腸黏膜，具有優良的定植能力，以此為基礎佔據腸黏膜表面，形成益生菌屏障，抑制有害菌的定植和入侵，從而有效調節腸道菌群，保護腸道免疫細胞的正常免疫功能。

實施例3. 短雙歧桿菌207-1的免疫特性的細胞實驗

1.實驗方法

【0118】培養小鼠巨噬細胞RAW264.7 (5×10^5 /mL)，將短雙歧桿菌207-1的菌懸液濃度調整為 10^9 CFU/mL，稀釋10倍後與細胞共培養作為實驗組，以PGN為陽性對照（PGN為革蘭陽性菌的肽聚糖，作為革蘭陽性菌刺激誘導宿主免疫細胞炎症作用的主要物質，故作為本實驗的陽性對照），以Bb-12

和LGG為商業對照菌株，RPMI1640培養基為空白對照，每組設立三個平行樣品。共培養24h後收集細胞上清液，酶聯免疫吸附測定 (ELISA)法檢測表4中細胞因數表達的蛋白的分泌水準。以相同的方法進一步用短雙歧桿菌207-1干預人體巨噬細胞THP-1，並觀察其對人體細胞的免疫調節作用。

2.小鼠巨噬細胞RAW264.7實驗結果及分析

2.1酶聯免疫吸附試驗結果及分析

【0119】短雙歧桿菌207-1與小鼠巨噬細胞RAW264.7共培養的ELISA實驗結果如表4所示。

表4. ELISA實驗結果（均數±標準差）				
菌株編號	菌種	細胞因數分泌量（pg/mL）		
		IL-6	IL-10	TNF-α
207-1	<i>B. breve</i>	619.02±13.83	1554.61±305.37	4731.00±173.31
Bb-12	<i>B. animal</i>	307.44±65.03	931.44±299.42	9887.97±596.94
LGG	<i>L.rhamnosus</i>	44.93±39.48	92.07±19.01	8097.62±1006.08
PGN	-	1005.75±38.74	985.22±130.50	7850.80±467.76
對照組	-	153.39±20.75	450.99±135.83	107.29±58.44

【0120】結果表明，相對於對照組，短雙歧桿菌207-1能刺激細胞因數IL-6、IL-10和TNF-α基因的表達水準的升高，誘導巨噬細胞活化。尤其的，ELISA結果顯示，在短雙歧桿菌207-1刺激後，抗炎因數IL-10顯著提高，尤其是顯著高於對照的Bb-12、LGG、PGN及對照組。短雙歧桿菌207-1能夠刺激巨噬細胞分泌大量的抗炎細胞因數IL-10，提示雙歧桿菌潛在的抗炎活性，能夠起到緩解炎症反應、改善炎症性疾病的作用。

3.人體巨噬細胞THP-1實驗結果及分析

【0121】短雙歧桿菌207-1與人體巨噬細胞THP-1共培養的ELISA實驗結果如表5所示。

表5. THP-1 ELISA實驗結果（均數±標準差）				
菌株編號	菌種	細胞因數分泌量（pg/mL）		
		IL-6	IL-10	TNF-α
207-1	<i>B. breve</i>	247.24±14.00	211.16±11.46	1162.38±102.36
PGN	-	19.97±0.67	14.77±1.26	297.185±24.65

對照組	-	0.34±0.11	0.24±0.33	6.57±1.59
-----	---	-----------	-----------	-----------

【0122】從表5的結果可以看出，短雙歧桿菌207-1與人體巨噬細胞也表現出跟動物細胞相同的免疫學特徵，其活化功能顯著高於陽性對照PGN。藉由上述兩個實驗可以看出，激起巨噬細胞的免疫反應，分泌抗炎細胞因數IL-10，是雙歧桿菌207-1重要的免疫特性。

實施例4. 短雙歧桿菌207-1免疫調節能力測試

1.實驗方法：

【0123】選取BALB/C小鼠，雄性，6週齡，體重18-20g，共18隻。分為3組，包括：對照組6隻，已在動物及臨床試驗中證明最具有顯著的免疫調節能力的商業益生菌菌株LGG干預對照組6隻，短雙歧桿菌207-1干預組6隻。對照組每天灌胃生理鹽水0.2ml，益生菌干預組每天灌胃菌液0.2ml（其含菌量為10⁹cfu）。各分組飼養4週後處死。

【0124】樣品採集：在實驗開始灌胃前一天，對所有小鼠進行稱重、採便。在實驗進行的第14天，對所有小鼠進行稱重、採便。在實驗進行的第28天，對所有小鼠進行稱重、採便、處死、採集並稱重臟器（脾、肺、胸腺、肝）。

【0125】測定指標：用稱重法測定脾臟和胸腺的臟器係數；用RT-PCR法測定脾臟組織中細胞因數基因的表達。

2.實驗結果：

【0126】干預前後各組體重無顯著差異，說明短雙歧桿菌207-1對小鼠正常發育無不良影響。各組脾臟係數和胸腺係數無顯著差異，說明益生菌發揮免疫調節作用不會影響到臟器的正常功能。如表6所示，動物實驗證明短雙歧桿菌207-1啟動巨噬細胞活性，刺激其各種相關細胞因數的分泌。IL-10是一種多功能負性調節細胞因數，在益生菌活化促炎應答（產生IL-6和TNF-

α) 時同時促進了大量抗炎因數IL-10的分泌，說明短雙歧桿菌207-1能夠而平衡炎症反應，維護細胞免疫穩態。雙歧桿菌207-1啟動巨噬細胞分泌細胞因數的能力高於商業菌株LGG(表6)。動物實驗結果與細胞實驗結果一致。

表6. 脾臟細胞因數mRNA相對表達量

分組	IL-10	IL-6	IL-12	TNF-a
對照組	1.15±0.28	1.19±0.55	1.18±0.62	0.99±0.47
207-1 組	1.36±0.49	1.23±0.45	2.00±0.88	2.12±0.87
LGG 組	0.47±0.14	0.87±0.3	0.35±0.11	0.32±0.11

實施例5. 短雙歧桿菌207-1抑制過敏反應測試

1.實驗方法：

【0127】本實驗藉由卵白蛋白（OVA）建立小鼠血清IgE超敏反應的過敏模型，用已在動物及臨床試驗中證明有顯著的抑制過敏反應能力的商業益生菌菌株LGG作對照，來研究短雙歧桿菌207-1對於抑制過敏反應的作用。

【0128】實驗分組：選取雄性BALB/C小鼠，6週齡，18-20g，共60隻。分組情況如表7：

表7. 實驗動物分組

組別	數量	灌胃與干預
對照組	15	0.2ml 生理鹽水灌胃+生理鹽水注射
模型組	15	0.2ml 生理鹽水灌胃+OVA 干預
207-1 實驗組	15	0.2ml 207-1+OVA 干預
LGG 組	15	0.2ml LGG+OVA 干預

【0129】干預：其中OVA的試劑為40ugOVA+0.2ml AL(OH)₃ 佐劑（絕對劑量為4mgAL(OH)₃）。益生菌組的絕對劑量為10⁹CFU，灌胃體積為0.2ml/隻/天。餵養42天，分別在7天、21天、28天、35天共進行4次腹腔OVA注射干預。

【0130】樣品採集和檢測：42天處死動物，測定血清IgE含量以及脾臟細胞因數的表達。

2.實驗結果：

【0131】IgE是介導I型超敏反應的主要介質，I型超敏反應是大多數過敏性疾病的主要生理機制。結果顯示，短雙歧桿菌207-1能夠降低過敏小鼠模型血清IgE的水準，抑制IgE介導的過敏反應，具有緩解過敏性疾病的作⽤（圖3）。本實驗還顯示，短雙歧桿菌207-1降低血清IgE的能力高於商業菌株LGG。

【0132】脾臟細胞因數檢測結果顯示，短雙歧桿菌207-1使脾臟中的抗炎因數IL-10的表達量顯著增加（表8）。有報導顯示，IL-10能夠參與TH1、TH2調節，結合上述結果分析認為，本申請的益生菌能夠誘導IL-10表達，從而抑制TH1和TH2細胞活性，下調機體免疫反應水準，從而達到緩解過敏反應的效果。

表8. 脾臟IL-10細胞因數mRNA相對表達量

分組	mRNA 相對表達量
	IL-10
空白對照組	1.69±0.95
OVA 模型組	1.03±0.32
207-1+OVA 組	4.65±0.88
LGG+OVA 組	1.84±0.89

【符號說明】

【0133】

OVA：卵白蛋白

序列表

<110> 湯臣倍健股份有限公司；ByHealth Co., Ltd.

<120> 一種短雙歧杆菌 207-1 及其應用

<130> 110128780

<150> 202010858666.6

<151> 2020-08-24

<160> 19

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 17

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> 引物

<400> 1

ctcctggaaa cgggtgg 17

<210> 2

<211> 22

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> 引物

<400> 2

ggtgttcttc ccgatatcta ca 22

<210> 3

<211> 19

<212> DNA

<213> artificial

<220>		
<223>	引物	
<400>	3	
ctccagttgg atgcatgtc		19
<210>	4	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	artificial	
<220>		
<223>	引物	
<400>	4	
tccagttgac cgcattggt		18
<210>	5	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	artificial	
<220>		
<223>	引物	
<400>	5	
cgaaggcttg ctcccagt		18
<210>	6	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	artificial	
<220>		
<223>	引物	
<400>	6	
cagtccatcg catggtggt		19
<210>	7	

<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	artificial	
<220>		
<223>	引物	
<400>	7	
	gaaggcttgc tccccaac	18
<210>	8	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	artificial	
<220>		
<223>	引物	
<400>	8	
	ccacatgatc gcatgtgatt g	21
<210>	9	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	artificial	
<220>		
<223>	引物	
<400>	9	
	ccgaaggctt gctcccaaa	19
<210>	10	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	artificial	
<220>		
<223>	引物	
<400>	10	

ccggatgctc catcacac 18

<210> 11
<211> 19
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> 引物

<400> 11
acaaagtgcc ttgctccct 19

<210> 12
<211> 17
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> 引物

<400> 12
cggatgctcc gactcct 17

<210> 13
<211> 18
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> 引物

<400> 13
cgaaggcttg ctcccgat 18

<210> 14
<211> 20
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> 引物

<400> 14
ttccagttga tcgcatggtc 20

<210> 15
<211> 20
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> 引物

<400> 15
gggaagccgt atctctacga 20

<210> 16
<211> 20
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> 引物

<400> 16
ttccagttga tcgcatggtc 20

<210> 17
<211> 20
<212> DNA
<213> artificial

<220>
<223> 引物

<400> 17
ggaaacccca tctctgggat 20

<210> 18

<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	artificial	
<220>		
<223>	引物	
<400>	18	
	atcccggggg ttcgcct	17
<210>	19	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	artificial	
<220>		
<223>	引物	
<400>	19	
	gaagggcttg ctcccga	17

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種短雙歧桿菌(*Bifidobacterium breve*)或其後代，該短雙歧桿菌保藏於廣東省微生物菌種保藏中心，保藏編號為GDMCC No. 60962。

【請求項2】一種組合物，其包含如請求項1所述的短雙歧桿菌或其後代，其中該組合物還包含選自以下的微生物：一細菌，一真菌，或其任何組合並且，該微生物是益生菌。

【請求項3】如請求項2所述的組合物，其中，該細菌選自乳酸桿菌屬，雙歧桿菌屬，芽孢桿菌屬，丙酸桿菌屬，鏈球菌屬，乳球菌屬，片球菌屬，腸球菌屬，葡萄球菌屬，或其任何組合。

【請求項4】如請求項2所述的組合物，其中該真菌為酵母。

【請求項5】如請求項4所述的組合物，其中，該酵母選自釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)，布拉氏酵母 (*Saccharomyces boulardii*)，馬克斯克魯維酵母 (*Kluyveromyces marxianus*)，或其任何組合。

【請求項6】如請求項3所述的組合物，其中，該雙歧桿菌屬的細菌選自：動物雙歧桿菌(*Bifidobacterium animalis*)，兩歧雙歧桿菌(*Bifidobacterium bifidum*)，短雙歧桿菌(*Bifidobacterium breve*)，嬰兒雙歧桿菌(*Bifidobacterium infantis*)，長雙歧桿菌(*Bifidobacterium longum*)，青春雙歧桿菌(*Bifidobacterium adolescentis*)，或其任何組合。

【請求項7】如請求項3所述的組合物，其中，該乳桿菌屬的細菌選自：副乾酪乳桿菌(*Lactobacillus paracasei*)，嗜酸乳桿菌(*Lactobacillus acidophilus*)，短乳桿菌(*Lactobacillus brevis*)，詹氏乳桿菌 (*Lactobacillus jensenii*)，惰性乳桿菌 (*Lactobacillus iners*)，乾酪乳桿菌(*Lactobacillus casei*)，捲曲乳桿菌(*Lactobacillus crispatus*)，彎曲乳桿菌(*Lactobacillus curvatus*)，德氏乳桿菌(*Lactobacillus delbrueckii*)，發酵乳桿菌(*Lactobacillus fermentum*)，加氏乳桿菌(*Lactobacillus*

gasseri)，瑞士乳桿菌(*Lactobacillus helveticus*)，約氏乳桿菌(*Lactobacillus johnsonii*)，植物乳桿菌(*Lactobacillus plantarum*)，羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*)，鼠李糖乳桿菌(*Lactobacillus rhamnosus*)，清酒乳桿菌(*Lactobacillus sakei*)，唾液乳桿菌(*Lactobacillus salivarius*)，或其任何組合。

【請求項8】如請求項3所述的組合物，其中，該芽孢桿菌屬的細菌選自：枯草芽孢桿菌(*Bacillus subtilis*)，凝結芽孢桿菌(*Bacillus coagulans*)，或其任何組合。

【請求項9】如請求項3所述的組合物，其中，該丙酸桿菌屬的細菌選自：謝氏丙酸桿菌(*Propionibacterium shermanii*)，費氏丙酸桿菌(*Propionibacterium freudenreichii*)，產丙酸丙酸桿菌(*Propionibacterium acidipropionici*)，或其任何組合。

【請求項10】如請求項3所述的組合物，其中，該鏈球菌屬的細菌選自：嗜熱鏈球菌(*Streptococcus thermophilus*)，唾液鏈球菌(*Streptococcus salivarius*)，或其任何組合。

【請求項11】如請求項3所述的組合物，其中，該乳球菌屬的細菌為乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)。

【請求項12】如請求項3所述的組合物，其中，該腸球菌屬的細菌選自：糞腸球菌(*Enterococcus faecalis*)，屎腸球菌(*Enterococcus faecium*)，或其任何組合。

【請求項13】如請求項2所述的組合物，其中，該組合物還包括一額外的添加劑。

【請求項14】如請求項13所述的組合物，其中，該額外的添加劑選自膳食纖維、蛋白質、脂類物質、礦物質、維生素、或其任何組合。

【請求項15】如請求項13所述的組合物，其中該額外的添加劑為益生元。

【請求項16】如請求項13所述的組合物，其中該額外的添加劑為植物提取物。

【請求項17】如請求項2所述的組合物，其中，該組合物作為發酵劑。

【請求項18】如請求項17所述的組合物，其中，該發酵劑為植物發酵製品的發酵劑或乳製品發酵劑。

【請求項19】如請求項2所述的組合物，其中，該組合物中的短雙歧桿菌作為發酵劑參與發酵過程。

【請求項20】如請求項2所述的組合物，其中，該組合物用於製備食物產品和/或膳食補充劑。

【請求項21】如請求項20所述的組合物，其中，該組合物用於製備保健食品。

【請求項22】如請求項20所述的組合物，其中，該食物產品選自固體飲料，糖果或果汁。

【請求項23】如請求項20所述的組合物，其中，該食物產品為乳製品。

【請求項24】如請求項23所述的組合物，其中，該乳製品選自優酪乳，風味發酵乳，乳酸菌飲料，或乳酪。

【請求項25】如請求項20所述的組合物，其中，該膳食補充劑被配製用於口服施用。

【請求項26】如請求項20所述的組合物，其中，該膳食補充劑為丸劑、粉劑、膠囊劑、片劑、蓋膜劑(opercula)、口溶性顆粒劑、或液體劑的形式。

【請求項27】如請求項2所述的組合物，其中，該組合物中短雙歧桿菌以 10^6 至 10^{12} CFU/劑量的量存在。

【請求項28】如請求項2所述的組合物，其中，該組合物中短雙歧桿菌以 10^8 至 10^{12} CFU/劑量的量存在。

【請求項29】一種食物產品或膳食補充劑，其包含如請求項1所述的短雙歧桿菌或其後代或如請求項2至請求項28中任一項所述的組合物。

【請求項30】如請求項29所述的食物產品或膳食補充劑，其中，該食物產品選自固體飲料，糖果或果汁。

【請求項31】如請求項29所述的食物產品或膳食補充劑，其中，該食物產品為乳製品。

【請求項32】如請求項31所述的食物產品或膳食補充劑，其中，該乳製品選自優酪乳，風味發酵乳，乳酸菌飲料，或乳酪。

【請求項33】如請求項29所述的食物產品或膳食補充劑，其中，該膳食補充劑被配製用於口服施用。

【請求項34】如請求項29所述的食物產品或膳食補充劑，其中，該膳食補充劑為丸劑、粉劑、膠囊劑、片劑、蓋膜劑(opercula)、口溶性顆粒劑、或液體劑的形式。

【請求項35】如請求項29所述的食物產品或膳食補充劑，其中，該食物產品或膳食補充劑中短雙歧桿菌以 10^6 至 10^{12} CFU/劑量的量存在。

【請求項36】如請求項29所述的食物產品或膳食補充劑，其中，該食物產品或膳食補充劑中短雙歧桿菌以 10^8 至 10^{12} CFU/劑量的量存在。

【請求項37】一種藥物組合物，其包含如請求項1所述的短雙歧桿菌或其後代。

【請求項38】如請求項37所述的藥物組合物，其中，該藥物組合物包含短雙歧桿菌的製劑。

【請求項39】如請求項37所述的藥物組合物，其中，該藥物組合物包含藥學上可接受的載體。

【請求項40】如請求項37所述的藥物組合物，其中，該藥物組合物被配製用於口服施用。

【請求項41】如請求項37所述的藥物組合物，其中，該藥物組合物為丸劑、粉劑、膠囊劑、片劑、蓋膜劑(opercula)、口溶性顆粒劑、或液體劑的形式。

【請求項42】如請求項37所述的藥物組合物，其中，該藥物組合物中短雙歧桿菌以 10^6 至 10^{12} CFU/劑量的量存在。

【請求項43】如請求項37所述的藥物組合物，其中，該藥物組合物中短雙歧桿菌以 10^8 至 10^{12} CFU/劑量的量存在。

【請求項44】一種培養物，其包含如請求項1所述的短雙歧桿菌或其後代。

【請求項45】如請求項44所述的培養物，其中，該培養物還包含選自以下的微生物：細菌，真菌，或其任何組合。

【請求項46】如請求項45所述的培養物，其中，該真菌為酵母。

【請求項47】如請求項44所述的培養物，其中，該培養物還包含提供營養的成分。

【請求項48】如請求項47所述的培養物，其中，該提供營養的成分選自固體或液體培養基，或飼養細胞層。

【請求項49】如請求項47所述的培養物，其中，該提供營養的成分選自蛋白質，碳水化合物，脂肪，益生菌，維生素，免疫調節劑，礦物質，氨基酸，或其任何組合。

【請求項50】如請求項44所述的培養物，其中，該培養物還包含短雙歧桿菌或其後代的無細胞培養濾液。

【請求項51】如請求項44所述的培養物，其中，該培養物還包含短雙歧桿菌或其後代的衍生物。

【請求項52】如請求項51所述的培養物，其中，該衍生物選自代謝產物，酶，細胞壁或其成分，胞外多糖，細菌素，含有免疫原性成分的化合物，或其任何組合。

【請求項53】如請求項45所述的培養物，其中，該微生物可以是活的或死的，為裂解物或提取物，或為細菌產物，或為上清液形式。

【請求項54】一種如請求項1所述的短雙歧桿菌或其後代或如請求項2至請求項28中任一項所述的組合物或如請求項37至請求項43中任一項所述的藥物組合物或如請求項44至請求項53中任一項所述的培養物在製備藥物或膳食補充劑或保健食品中的用途，該藥物或膳食補充劑或保健食品用於在受試者中抑制炎症或

緩解炎症性疾病，或用於提高一受試者的免疫力，或用於在受試者中預防細菌或病毒感染或自身免疫疾病，或用於在受試者中改善或緩解過敏反應或其相關症狀。

【請求項55】如請求項54所述的用途，其中，該炎症性疾病選自視網膜炎引起的疾病，皮膚炎症引起的疾病，呼吸道炎症引起的相關疾病和消化道炎症引起的相關疾病。

【請求項56】如請求項55所述的用途，其中，該視網膜炎引起的疾病為視網膜炎或角膜炎。

【請求項57】如請求項55所述的用途，其中，該皮膚炎症引起的疾病為皮炎或濕疹。

【請求項58】如請求項55所述的用途，其中，該呼吸道炎症引起的相關疾病為上呼吸道感染。

【請求項59】如請求項55所述的用途，其中，該消化道炎症引起的相關疾病為炎症性腸疾病。

【請求項60】如請求項54所述的用途，其中，該細菌或病毒感染選自細菌性感冒，病毒性感冒，尿路感染、陰道炎和子宮頸炎。

【請求項61】如請求項54所述的用途，其中，該自身免疫疾病選自系統性紅斑狼瘡，糖尿病，類風濕性關節炎和自身免疫性腦炎。

【請求項62】如請求項54所述的用途，其中，該過敏反應或其相關症狀選自濕疹，特應性皮炎，哮喘和食物過敏。

【請求項63】如請求項54所述的用途，其中，該藥物或膳食補充劑或保健食品能夠促啟動免疫細胞，促進細胞因數的產生，抑制炎症或緩解炎症性疾病。

【請求項64】如請求項63所述的用途，其中，該細胞因數選自IL-10，IL-6，IL-12，TNF- α ，或其任何組合。

【請求項65】如請求項63所述的用途，其中，該抗炎細胞因數是IL-10。

【請求項66】如請求項54所述的用途，其中，該藥物或膳食補充劑或保健食品能夠降低IgE水準，抑制IgE介導的過敏反應。

【請求項67】如請求項54所述的用途，其中，該藥物或膳食補充劑或保健食品單獨使用，或與其他抗真菌劑、止痛藥、抗炎藥、促癒合劑、或保濕劑聯合使用。

【請求項68】如請求項54所述的用途，其中，該受試者是哺乳動物。

【請求項69】如請求項54所述的用途，其中，該受試者是人。

【請求項70】一種如請求項1所述的短雙歧桿菌或其後代或如請求項2至請求項27中任一項所述的組合物或如請求項44至請求項53中任一項所述的培養物的用途，其用於固體食品或液體食品發酵的發酵劑中。

【請求項71】如請求項70所述的用途，其中，該固體食品為乳酪。

【請求項72】如請求項70所述的用途，其中，該液體食品為優酪乳，風味發酵乳，或乳酸菌飲料。

【發明圖式】

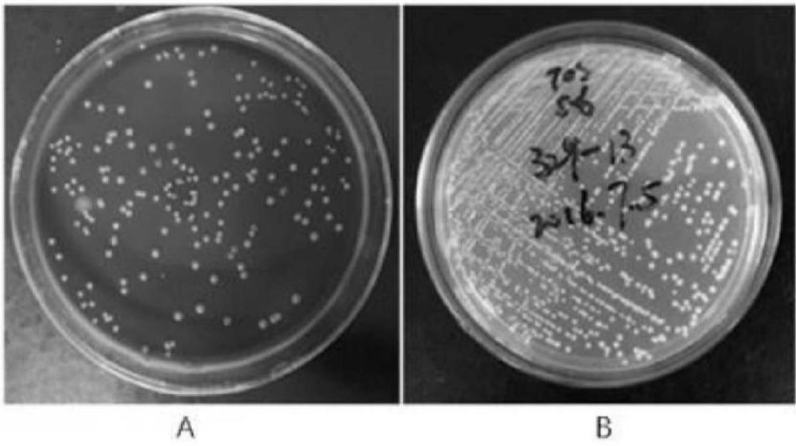


圖 1

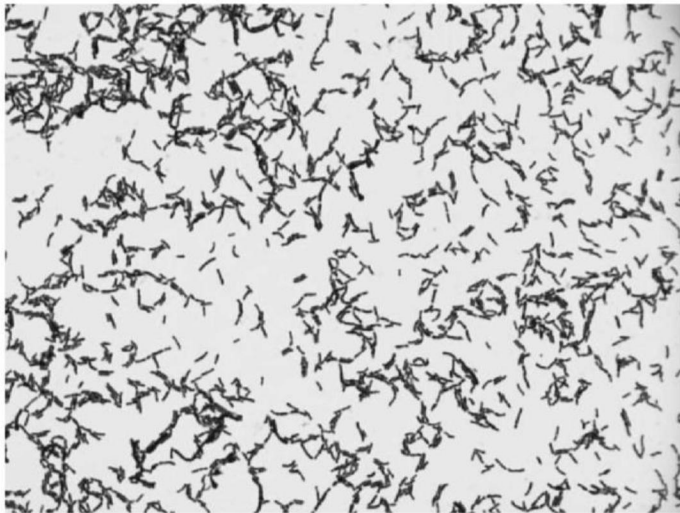


圖 2

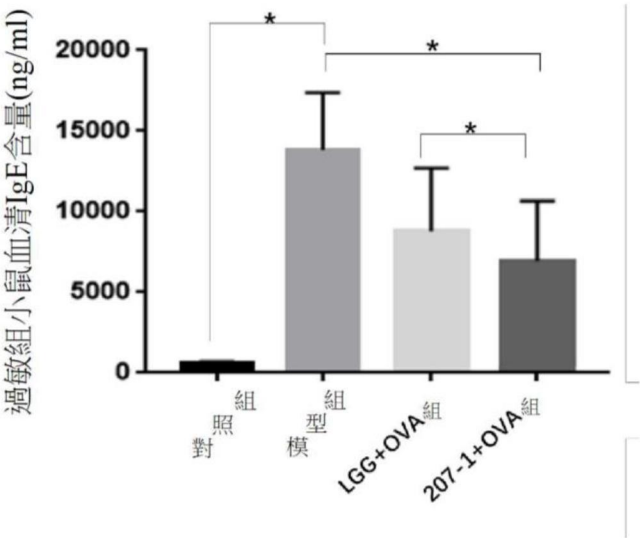


圖 3