



(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 I850578 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：110129969

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 08 月 13 日

(51)Int. Cl.：

*C12N1/20 (2006.01)**C12N1/21 (2006.01)**A61K35/74 (2015.01)**A61P37/00 (2006.01)**A61P17/00 (2006.01)**A61P11/00 (2006.01)*

(30)優先權：2020/08/14 南韓

10-2020-0102564

(71)申請人：南韓商 K O 生物技術有限公司 (南韓) KOBIO LABS, INC. (KR)

南韓

(72)發明人：徐普攬 SEO, BORAM (KR)；全慶燦 JEON, KYUNGCHAN (KR)；金雲基 KIM,

WOON KI (KR)；南泰旭 NAM, TAE WOOK (KR)；金德允 KIM, DUKYUN

(KR)；高光杓 KO, GWANG PYO (KR)

(74)代理人：閻啓泰；林景郁

(56)參考文獻：

CN 105228635A

期刊 Almut Heinken, et al., "Functional Metabolic Map of Faecalibacterium prausnitzii, a Beneficial Human Gut Microbe", American Society for Microbiology, Vol. 196, Issue 18, 無, 15 September 2014, Pages 3289-3302

期刊 Satyabrata Bag, Tarini Shankar Ghosh, and Bhabatosh Das, "Complete Genome Sequence of Faecalibacterium prausnitzii Isolated from the Gut of a Healthy Indian Adult", American Society for Microbiology, Vol. 5, Issue 46, 無, 16 November 2017, <https://doi.org/10.1128/genomea.01286-17>

期刊 Cormac Brian Fitzgerald, et al., Comparative analysis of Faecalibacterium prausnitzii genomes shows a high level of genome plasticity and warrants separation into new species-level taxa", BMC Genomics, Vol.19, No.931, 無, 14 December 2018, <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5313-6>

審查人員：吳思瑩

申請專利範圍項數：24 項 圖式數：9 共 54 頁

(54)名稱

普拉梭菌 (FAECALIBACTERIUM PRAUSNITZII) 菌株及其用途

(57)摘要

本發明係關於一種普拉梭菌菌株及其用途。

The present invention relates to a Faecalibacterium prausnitzii strain and uses thereof.

指定代表圖：

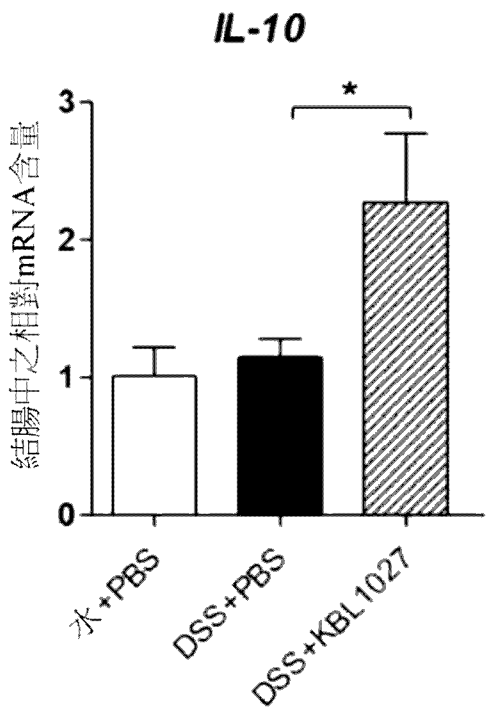


圖4a



I850578

【發明摘要】

【中文發明名稱】 普拉梭菌（FAECALIBACTERIUM PRAUSNITZII）菌株及其用途

【英文發明名稱】 FAECALIBACTERIUM PRAUSNITZII STRAIN AND
USES THEREOF

【中文】

本發明係關於一種普拉梭菌菌株及其用途。

【英文】

The present invention relates to a *Faecalibacterium prausnitzii* strain and uses thereof.

【指定代表圖】 圖4a

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 普拉梭菌（FAECALIBACTERIUM PRAUSNITZII）菌株及其用途

【英文發明名稱】 FAECALIBACTERIUM PRAUSNITZII STRAIN AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種普拉梭菌（*Faecalibacterium prausnitzii*）菌株及其用途。

【先前技術】

【0002】 約100萬億微生物體，比人體中之細胞數目多十倍，共存於健康人體中。其基因之數目超過人類之100倍，且腸道微生物群針對各個體及疾病具有獨特結構。健康腸道共生微生物群與人類細胞具有複雜的相互作用且執行多種功能，包括經由調節代謝及免疫反應而發展免疫系統及維持腸道內穩態。

【發明內容】

[技術難題]

【0003】 本發明之一個具體實例為提供具有寄存編號KCTC14231BP之普拉梭菌KBL1027菌株。

【0004】 本發明之另一具體實例提供一種組成物，其包含選自由以下者組成之群之一或多種：普拉梭菌菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物或由該菌株產生之細胞外多醣。

【0005】 本發明之其他具體實例提供具有發炎疾病之治療或預防功效的普拉梭菌菌株用於預防、改善或治療發炎疾病的用途。

【0006】 本發明之其他具體實例提供具有消炎活性之普拉梭菌菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物或由該菌株產生之細胞外多醣。

【0007】 本發明之其他具體實例提供一種具有消炎活性之物質，例如產生細胞外多醣之普拉梭菌菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物或來源於該菌株之物質（例如誘導消炎細胞介素之分泌的細胞外多醣）。

【0008】 為達成以上目的，本發明已發現分離自健康韓國人的新穎普拉梭菌KBL1027菌株，且已證實與習知普拉梭菌菌株相比，消炎細胞介素產生之極佳功效及發炎疾病之症狀改善。

[技術解決方案]

【0009】 本發明之一個具體實例係關於具有寄存編號KCTC14231BP之普拉梭菌KBL1027菌株。

【0010】 本發明之另一具體實例係關於具有消炎活性之普拉梭菌菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物或由該菌株產生之細胞外多醣。

【0011】 本發明之其他具體實例係關於產生細胞外多醣之普拉梭菌菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物或由該菌株產生之細胞外多醣。細胞外多醣可為具有消炎活性之物質。

【0012】 本發明之其他具體實例係關於一種組成物，其包含選自由以下者

組成之群的一或多種：普拉梭菌菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物及由該菌株產生之細胞外多醣。

【0013】 組成物可為用於預防、改善或治療發炎疾病之組成物。

【0014】 組成物可為食品組成物或益菌質組成物。

【0015】 組成物可為用於改善腸道微生物平衡之組成物。

【0016】 在下文中，將更詳細地描述本發明。

【0017】 本發明之一個具體實例係關於具有寄存編號KCTC14231BP之普拉梭菌KBL1027菌株。

【0018】 菌株可用於消炎、用於誘導消炎細胞介素、用於強化腸道上皮細胞之間的緊密型連結、用於改善腸道微生物平衡或用於預防、改善、緩解或治療發炎疾病。

【0019】 普拉梭菌KBL1027菌株可具有由SEQ ID NO: 4表示之16s rRNA序列。

【0020】 在本申請案之實施例中，作為比較屬於同一物種之普拉梭菌KBL1027菌株及普拉梭菌DSM17677菌株之平均核苷酸一致性（Average Nucleotide Identity，ANI）的結果，該等菌株儘管屬於同一物種，但展現低平均核苷酸一致性。此意謂根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌KBL1027菌株為基因特徵區別於習知普拉梭菌微生物體之新穎菌株。

【0021】 舉例而言，普拉梭菌KBL1027菌株與普拉梭菌DSM17677菌株之平均核苷酸一致性（ANI）可為小於100%、99%或更小、98%或更小、97%或更小、96%或更小、95%或更小、94%或更小、93%或更小、92%或更小、91%或更小、90%或更小、89%或更小、88%或更小、87%或更小、86%或更小或85%或更小。所屬技術領域中具有通常知識者可清楚地操作與普拉梭菌DSM17677菌株具

有低平均核苷酸一致性之普拉梭菌KBL1027菌株，即使未指定平均核苷酸一致性之下限，且平均核苷酸一致性之下限可為5%或更大、10%或更大、20%或更大、30%或更大、40%或更大、50%或更大、60%或更大、70%或更大或80%，但不限於此。

【0022】 在本發明之一實施例中，作為普拉梭菌KBL1027菌株相較於屬於與該菌株相同之物種的普拉梭菌DSM17677菌株之比較基因體學分析的結果，存在多種普拉梭菌KBL1027特有的基因。此意謂根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌KBL1027菌株為基因特徵區別於習知普拉梭菌微生物體之新穎菌株。

【0023】 舉例而言，普拉梭菌KBL1027菌株可包含在細胞壁及莢膜中起作用之基因。該在細胞壁及莢膜中起作用之基因可執行胞外多醣（exopolysaccharide）生物合成或含有鼠李糖之聚醣之功能。舉例而言，普拉梭菌KBL1027菌株可包含一或多種類別之選自由以下（1）至（7）組成之群的基因：

（1）胞外多醣生物合成醣苷轉移酶（glycosyltransferase）**EpsF**（EC 2.4.1.-）

（2）酪胺酸-蛋白激酶**EpsD**（EC 2.7.10.2）

（3） α -D-GlcNAc α -1,2-L-鼠李糖苷轉移酶（EC 2.4.1.-）**rgpA**

（4） α -L-Rha α -1,3-L-鼠李糖苷轉移酶（EC 2.4.1.-）**rgpB**

（5）莢膜多醣生物合成蛋白

（6）脂蛋白釋放系統ATP結合蛋白**LolD**

（7）推定的N-乙酰基半乳糖胺基-二磷十一異戊烯醇葡萄糖醛酸基轉移酶（N-acetylgalactosaminyl-diphosphoundecaprenol glucuronosyltransferase）**TuaG**

【0024】 舉例而言，普拉梭菌KBL1027菌株可包含一或多種類別之選自由以下（1）至（13）組成之群的基因：

（1）胞外多醣生物合成醣苷轉移酶**EpsF**（EC 2.4.1.-）

（2）酪胺酸-蛋白激酶**EpsD**（EC 2.7.10.2）

- (3) α -D-GlcNAc α -1,2-L-鼠李糖苷轉移酶 (EC 2.4.1.-) **rgpA**
- (4) α -L-Rha α -1,3-L-鼠李糖苷轉移酶 (EC 2.4.1.-) **rgpB**
- (5) 莢膜多醣生物合成蛋白
- (6) 脂蛋白釋放系統ATP結合蛋白**LolD**
- (7) 推定的N-乙醯基半乳糖胺基-二磷十一異戊烯醇葡萄糖醛酸基轉移酶

TuaG

- (8) N-乙醯基葡萄糖胺利用之預測轉錄調節因子，GntR家族**NagQ**
- (9) 膜結合溶解胞壁質轉醣苷酶(lytic murein transglycosylase) **B** (EC 3.2.1.-)
- (10) 肌苷-尿苷偏好核苷水解酶 (EC 3.2.2.1)
- (11) LysR家族轉錄調節因子**YnfL**
- (12) 陽離子流出系統蛋白**CusA**
- (13) 鈷-鋅-鎘抗性蛋白**CzcA**

【0025】 根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌KBL1027菌株可具有消炎特徵，且特定言之，其可具有藉由誘導消炎細胞介素產生之消炎特徵。

【0026】 根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌KBL1027菌株可誘導消炎細胞介素產生。舉例而言，當LPS及菌株一起投予時，與單獨LPS投予之對照組相比，消炎細胞介素產率 (pg/mL) 可為大於1倍、1.5倍或更大、2倍或更大、2.5倍或更大、3倍或更大、3.5倍或更大、4倍或更大、大於4倍、4.1倍或更大、4.2倍或更大、4.3倍或更大、4.4倍或更大或4.5倍或更大。消炎細胞介素可為IL-10。

【0027】 消炎細胞介素IL-10為免疫調節細胞介素，且已知在發炎反應、瘤形成、過敏及自體免疫疾病中起重要作用。特定言之，IL-10為各種細胞中產生之重要免疫調節細胞介素，且其不僅抑制發炎反應，且亦用於調節各種免疫細胞，諸如T細胞、B細胞、自然殺手 (natural killer, NK) 細胞、抗原呈現細胞、

肥大細胞及其類似細胞之增殖及分化。IL-10亦展現免疫活化功能以移除感染性或非感染性粒子，同時使發炎反應最小化。此外，IL-10在與過敏性反應有關之大部分細胞中抑制抗原特異性活性，且抑制發炎細胞，諸如嗜酸性球及其類似物在發炎區域中之遷移，且由此減少過敏原IgE受體及其類似物之表現，且因此有效阻斷單核球或樹脂細胞中之過敏原反應。因此，根據本發明之一個具體實例之菌株可藉由誘導消炎細胞介素IL-10之產生而展現預防、改善或治療發炎疾病、過敏或自體免疫疾病或其類似疾病之活性。

【0028】 根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌KBL1027菌株可強化腸道上皮細胞之間的緊密型連結。舉例而言，當硫酸葡聚糖鈉（dextran sulfate sodium，DSS）與菌株一起投予時，與單獨DSS投予之對照組相比，緊密型連結相關基因（作為一個實例，*Zo-1*或緊連蛋白）之表現可為大於1倍、1.1倍或更大、1.2倍或更大、1.3倍或更大、1.4倍或更大或1.5倍或更大，或與DSS及普拉梭菌DSM17677菌株一起投予之對照組相比，緊密型連結相關基因（作為一個實例，*Zo-1*或緊連蛋白）之表現可為大於1倍、1.01倍或更大、1.05倍或更大、1.1倍或更大、1.15倍或更大、1.2倍或更大、1.25倍或更大或1.3倍或更大。

【0029】 當腸道上皮細胞之緊密型連結減弱時，可出現一類免疫疾病，腸道滲透，亦即腸漏症。特定言之，其係指腸道上皮細胞必須建立保護性障壁以誘導細胞之「緊密型連結（tight junction）」來防止其他物質進入，但當緊密型連結相關蛋白質表現及產生存在問題時，外來物質被引入且腸道相關淋巴組織（gut-associated lymphoid tissue，GALT）觸發免疫反應而引起發炎的現象。根據本發明之一個具體實例之菌株可藉由強化腸道上皮細胞之緊密型連結來預防、改善或治療腸道滲透或腸漏症，且可預防、改善、緩解或治療發炎反應。

【0030】 根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌KBL1027菌株可改善腸道微生物平衡。當出現腸道微生物不平衡時，宿主與微生物群之間發生異常相互

作用，且因此破壞免疫內穩態且可能出現免疫介導之疾病，諸如自體免疫、過敏及慢性發炎疾病。根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌KBL1027菌株可藉由改善活體內腸道微生物群不平衡來預防、改善、緩解或治療發炎反應、過敏性疾病、自體免疫疾病及其類似者。舉例而言，普拉梭菌KBL1027菌株可具有一或多個選自由以下（1）至（5）組成之群的特徵：

- （1）誘導動物腸道微生物群（microflora）之多樣性增加，
- （2）改善動物之菌群失調，
- （3）誘導動物腸中普雷沃菌屬（genus *Prevotella*）及/或副普雷沃菌科（family *Paraprevotellaceae*）之菌株相對豐度增加，或防止其相對豐度降低，
- （4）防止動物腸道微生物群中有害細菌，例如具有脂多醣細胞壁之菌株，作為一個實例，變形菌門（phylum *Proteobacteria*）菌株的相對豐度增加，
- （5）防止動物腸道微生物群中擬桿菌屬（genus *Bacteroides*）之菌株相對豐度增加。

【0031】 根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌KBL1027菌株可具有針對發炎疾病之預防性、可改善性或治療活性。舉例而言，普拉梭菌KBL1027菌株可具有一或多種類別之選自由以下（1）及（2）組成之群的特徵：

- （1）預防由發炎疾病引起之體重減輕，例如當硫酸葡聚糖鈉（DSS）與菌株一起投予時，與單獨DSS投予之對照組相比，體重減小比率（體重變化%）小於1倍、0.9倍或更小、0.8倍或更小、0.7倍或更小、0.6倍或更小或0.5倍或更小。
- （2）預防由發炎疾病引起之腸道長度減少，例如當硫酸葡聚糖鈉（DSS）與菌株一起投予時，與單獨DSS投予之對照組相比，腸道長度減少比率（%）小於1倍、0.9倍或更小、0.8倍或更小、0.7倍或更小、0.6倍或更小、0.5倍或更小、0.4倍或更小、0.3倍或更小、0.2倍或更小或0.1倍或更小。

【0032】 本發明之其他具體實例係關於一種用於預防、改善或治療發炎疾

病之組成物，其包含選自由以下者組成之群的一或多種：普拉梭菌菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物或由該菌株產生之細胞外多醣。普拉梭菌菌株可為具有寄存編號 KCTC14231BP 之普拉梭菌 KBL1027 菌株。

【0033】發炎疾病為伴隨發炎之疾病，且可包括但不限於任何伴隨發炎的疾病，且例如其可為選自由以下者組成之群的一或多種：發炎腸病、發炎皮膚病、發炎膠原-血管疾病、異位性皮炎、過敏性疾病、自體免疫疾病、自體免疫發炎疾病、濕疹、哮喘、過敏性哮喘、支氣管哮喘、鼻炎、過敏性鼻炎、結膜炎、過敏性結膜炎、食物過敏、類風濕性關節炎、類風濕性發熱、狼瘡、全身性硬皮病、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、哮喘、吉蘭-巴雷氏症候群（Guilian-Barre syndrome）、重症肌無力、皮肌炎、多發性肌炎、多發性硬化症、自體免疫腦脊髓炎、結節性多動脈炎、橋本氏甲狀腺炎（Hashimoto thyroiditis）、顳動脈炎、小兒糖尿病、斑禿、天庖瘡、口瘡性口炎、自體免疫溶血性貧血、瓦格納氏肉芽腫（Wegener granulomatosis）、肖格倫氏症候群（Sjogren syndrome）、艾迪森氏病（Addison's disease）、白塞氏病（Behcet's disease）、水腫、結膜炎、牙周炎、鼻炎、中耳炎、慢性鼻竇炎、喉嚨痛、扁桃腺炎、支氣管炎、肺炎、胃潰瘍、胃炎、結腸炎、痛風、濕疹、痤瘡、接觸性皮炎、脂漏性皮炎、僵直性脊髓炎、纖維肌痛、骨關節炎、肩周炎（shoulder periarthritis）、腱炎、腱鞘炎、肌炎、肝炎、膀胱炎、腎炎、敗血症、血管炎及滑囊炎。

【0034】異位性皮炎意謂出現瘙癢之慢性或復發性發炎皮膚病狀。

【0035】過敏性疾病意謂由免疫系統產生之結合於免疫球蛋白 E（immunoglobulin E，IgE）的嗜鹼性球暴露於抗原，且肥大細胞分泌之組織胺誘導周圍組織發炎。

【0036】自體免疫疾病意謂體內已出現針對物質之免疫反應且已在器官

或組織中發生自體免疫性之發炎反應。自體免疫疾病可為例如發炎皮膚病。發炎皮膚病可為例如選自由以下者組成之群的一或多種：特異反應、牛皮癬、濕疹、痤瘡、接觸性皮炎及脂漏性皮炎。自體免疫疾病可為局部自體免疫疾病或全身性自體免疫疾病。局部自體免疫疾病可為例如選自由以下者組成之群的一或多種：第1型糖尿病、甲狀腺低能症、甲狀腺高能症、特發性血小板減少症及白斑病，但不限於此。全身性自體免疫疾病可為選自由以下者組成之群的一或多種：全身性紅斑狼瘡、類風濕性關節炎、尚格倫氏症候群、白塞氏病、全身性硬化症、多發性肌炎及皮肌炎，但不限於此。

【0037】發炎腸病（inflammatory bowel disease, IBD）為胃腸道之發炎疾病，且病因通常為未知的，且已進行大量治療發炎腸病之藥物開發研究，且作為使用次世代定序法分析患有發炎腸病及潰瘍性結腸炎之患者之腸道微生物群的結果，隨著腸道微生物群之多樣性降低存在菌群失調，且與健康正常人群相比，變形菌門在患者體內占主導。

【0038】發炎腸病可為選自由以下者組成之群的一或多種：發炎結腸直腸疾病、潰瘍性結腸炎（ulcerative colitis, UC）、腸炎、腸躁症候群（irritable bowel syndrome, IBS）及克隆氏病（Crohn's disease, CD）。

【0039】根據本發明之一個具體實例之發炎疾病可引起一或多種類別之選自由以下（1）至（10）組成之群的症狀或病理學現象：

- （1）誘導發炎細胞介素，
- （2）抑制消炎細胞介素，
- （3）過度活化自體免疫性，
- （4）動物體重減輕，
- （5）動物腸道長度減少，
- （6）減弱動物腸道上皮細胞的緊密型連結，

(7) 動物菌群失調，

(8) 動物腸道微生物群中有害細菌，例如具有脂多醣細胞壁之菌株，作為一個實例，變形菌門菌株的相對豐度增加，

(9) 動物腸道微生物群中擬桿菌屬菌株之相對豐度增加，

(10) 動物腸道微生物群中普雷沃菌屬及/或副普雷沃菌科菌株之相對豐度減少。

【0040】 根據本發明之一個具體實例之組成物可具有消炎特徵，且特定言之，其可具有藉由誘導消炎細胞介素產生之消炎特徵。舉例而言，當LPS及組成物一起投予時，與單獨LPS投予之對照組相比，消炎細胞介素產生 (pg/mL) 可為大於1倍、1.5倍或更大、2倍或更大、2.5倍或更大、3倍或更大、3.5倍或更大、4倍或更大、大於4倍、4.1倍或更大、4.2倍或更大、4.3倍或更大、4.4倍或更大或4.5倍或更大。消炎細胞介素可為IL-10。

【0041】 根據本發明之一個具體實例之組成物可具有強化動物腸道上皮細胞之間的緊密型連結之特徵。舉例而言，當硫酸葡聚糖鈉 (DSS) 與組成物一起投予時，與單獨DSS投予之對照組相比，緊密型連結相關基因 (作為一個實例，*Zo-1* 或緊連蛋白) 之表現可為大於1倍、1.1倍或更大、1.2倍或更大、1.3倍或更大、1.4倍或更大或1.5倍或更大，或與DSS及普拉梭菌DSM17677一起投予之對照組相比，緊密型連結相關基因 (作為一個實例，*Zo-1* 或緊連蛋白) 之表現可為大於1倍、1.01倍或更大、1.05倍或更大、1.1倍或更大、1.15倍或更大、1.2倍或更大、1.25倍或更大或1.3倍或更大。

【0042】 根據本發明之一個具體實例之組成物可改善腸道微生物平衡。舉例而言，組成物可具有一或多種類別之選自由以下(1)至(5)組成之群的特徵：

(1) 誘導動物腸道微生物群之多樣性增加，

(2) 改善動物之菌群失調，

(3) 防止動物腸道微生物群中有害細菌，例如具有脂多醣細胞壁之菌株，作為一個實例，變形菌門菌株的相對豐度增加，

(4) 防止動物腸道微生物群中擬桿菌屬之菌株相對豐度增加，

(5) 誘導動物腸中普雷沃菌屬及/或副普雷沃菌科之菌株相對豐度增加，或防止其相對豐度降低，

【0043】 根據本發明之一個具體實例之組成物可具有發炎疾病之預防性、可改善性或治療活性。舉例而言，組成物可具有一或多種類別之選自由以下(1)至(2)組成之群的特徵：

(1) 預防由發炎疾病引起之動物體重減輕，例如當硫酸葡聚糖鈉(DSS)與組成物一起投予時，與單獨DSS投予之對照組相比，體重減小比率(體重變化%)小於1倍、0.9倍或更小、0.8倍或更小、0.7倍或更小、0.6倍或更小或0.5倍或更小。

(2) 預防由發炎疾病引起之動物腸道長度減少，例如當硫酸葡聚糖鈉(DSS)與組成物一起投予時，與單獨DSS投予之對照組相比，腸道長度減少比率(%)小於1倍、0.9倍或更小、0.8倍或更小、0.7倍或更小、0.6倍或更小、0.5倍或更小、0.4倍或更小、0.3倍或更小、0.2倍或更小或0.1倍或更小。

【0044】 組成物可改善腸道微生物平衡。舉例而言，組成物可增加動物腸道微生物群之多樣性。作為一個實例，組成物可增加動物腸中的普雷沃菌屬及/或副普雷沃菌科菌株的相對豐度。作為一個實例，組成物可降低動物腸中擬桿菌屬及/或變形菌門菌株的相對豐度。

【0045】 組成物可包含普拉梭菌菌株之細胞外多醣。根據本申請案之實施例，證實普拉梭菌KBL1027菌株特異性地產生細胞外多醣，且因此組成物可包含具有寄存編號KCTC14231BP之普拉梭菌KBL1027菌株的細胞外多醣。

【0046】 基於實驗證實，與屬於同一物種之其他菌株相比，根據本發明之

普拉梭菌KBL1027菌株具有極佳之改善結腸炎疾病症狀功效，且已證實強化消炎細胞介素 $IL-10$ 及與腸道上皮細胞之間的緊密型連結功能相關之 $Zo-1$ 及緊連蛋白之基因表現及恢復腸道微生物群之功效。另外，普拉梭菌KBL1027菌株特異性產生之細胞外多醣物質以實驗方式且在基因體學上確認，且基於BMDM確認普拉梭菌KBL1027菌株培養溶液的消炎細胞介素 $IL-10$ 生產力。此類結果意謂普拉梭菌KBL1027菌株可有效地用於預防、改善及治療發炎疾病。

【0047】 本發明之其他具體實例係關於一種具有消炎活性之普拉梭菌菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物或由該菌株產生之細胞外多醣。普拉梭菌菌株可為具有寄存編號KCTC14231BP之普拉梭菌KBL1027菌株。

【0048】 本發明之其他具體實例係關於一種產生具有消炎活性之物質，例如細胞外多醣的普拉梭菌菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物或由該菌株產生之細胞外多醣。普拉梭菌菌株可為具有寄存編號KCTC14230BP之普拉梭菌KBL1026菌株或具有寄存編號KCTC14231BP之普拉梭菌KBL1027菌株，且較佳地，其可為具有寄存編號KCTC14231BP之普拉梭菌KBL1027菌株。

【0049】 本發明之其他具體實例係關於一種食品組成物，其包含選自由以下者組成之群的一或多種：普拉梭菌菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物或由該菌株產生之細胞外多醣。普拉梭菌菌株如上文所描述。作為一個實例，普拉梭菌菌株可為具有寄存編號KCTC14231BP之普拉梭菌KBL1027菌株。

【0050】 本發明之其他具體實例係關於一種益菌質組成物，其包含選自由以下者組成之群的一或多種：普拉梭菌菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物或由該菌株產生

之細胞外多醣。普拉梭菌菌株如上文所描述。作為一個實例，普拉梭菌菌株可為具有寄存編號KCTC14231BP之普拉梭菌KBL1027菌株。

【0051】 本發明之其他具體實例係關於一種用於改善腸道微生物平衡之組成物，其包含選自由以下者組成之群的一或多種：普拉梭菌菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物或由該菌株產生之細胞外多醣。普拉梭菌菌株如上文所描述。作為一個實例，普拉梭菌菌株可為具有寄存編號KCTC14231BP之普拉梭菌KBL1027菌株。

【0052】 本發明之其他具體實例係關於一種預防、改善或治療發炎疾病之方法，其包含投予選自由以下者組成之群的一或多種：具有寄存編號KCTC14231BP之普拉梭菌KBL1027菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物或由該菌株產生之細胞外多醣。普拉梭菌KBL1027菌株、發炎疾病及其類似者如上文所描述。

【0053】 本發明之其他具體實例係關於一種用於改善腸道微生物平衡之方法，其包含投予選自由以下者組成之群的一或多種：具有寄存編號KCTC14231BP之普拉梭菌KBL1027菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物或由該菌株產生之細胞外多醣。在本申請案的實施例中，作為投予根據本發明之一個具體實例的菌株的結果，誘導腸道微生物群多樣性之增加，且動物之菌群失調得到改善，且特定言之，防止動物腸道微生物群中有害細菌，例如具有脂多醣細胞壁之菌株，作為一個實例，變形菌門菌株的相對豐度增加，且防止動物腸道微生物群中擬桿菌屬菌株的相對豐度增加，且誘導動物腸道微生物群中普雷沃菌屬及/或副普雷沃菌科之菌株相對豐度增加，或防止其相對豐度降低。因此，動物之腸道微生物平衡可藉由投予根據本發明之一個具體實例之菌株來改善。

【0054】 本文中，術語『活性成分 (active ingredient)』意謂單獨展現所要

活性或可與本身不具有活性之載劑一起展現活性的成分。

【0055】 本文中，術語『預防 (prevention)』意謂抑制或延遲病痛、病症或病痛之發生。當病痛、病症或疾病之發生被抑制或延遲預定時段時，預防可視為完全的。

【0056】 本文中，術語『治療 (treatment)』意謂部分或完全減輕、改善、緩解、抑制或延遲特定病痛、病症及/或疾病或由疾病引起之症狀，及降低一或多種症狀或特徵之嚴重程度或減少其發生。

【0057】 本發明之組成物，例如醫藥組成物除以上活性成分以外可進一步包含一或多種類型之活性成分，其展示相同或類似功能。

【0058】 此外，根據本發明所屬技術領域中具有通常知識者可清楚地進行方法，根據本發明之組成物，例如，醫藥組成物可藉由使用醫藥學上可接受之載劑調配或藉由包括於高劑量容器中來製備而呈單位劑型製備。本文中，術語『載劑 (carrier)』意謂允許容易地添加化合物至細胞或組織中之化合物，且術語『醫藥學上可接受 (pharmaceutically acceptable)』係指生理學上可接受且當投予人類中時通常不會引起過敏性反應，諸如胃腸道病症及眩暈或與其類似之反應的組成物。

【0059】 醫藥學上可接受之載劑常用，且包括乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖醇、澱粉、阿拉伯膠、磷酸鈣、海藻酸酯、明膠、矽酸鈣、微晶纖維素、聚乙烯吡咯啉酮、纖維素、水、糖漿、甲基纖維素、甲基羥苯甲酸酯、丙基羥苯甲酸酯、滑石、硬脂酸鎂及礦物油及其類似物，但不限於此。

【0060】 另外，除以上成分之外，根據本發明之組成物，例如醫藥組成物亦可進一步包含添加劑，諸如填充劑、抗凝劑、潤滑劑、濕潤劑、調味劑、乳化劑、防腐劑及其類似物。本文中，組成物中所包含的添加劑的含量不受特定限制，且可在用於一般調配物的含量範圍內適當地調整。

【0061】 此外，根據本發明之組成物，例如醫藥組成物、食品組成物或益生菌組成物可調配為經口調配物。經口調配物之非限制性實例包括錠劑、糖衣錠、口含錠、水性懸浮液、油性懸浮液、製備散劑、粒劑、乳液、硬膠囊、軟膠囊、糖漿或酏劑或其類似物。為了調配根據本發明之醫藥組成物以用於經口投予，可使用黏合劑，諸如乳糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖醇、澱粉、支鏈澱粉、纖維素或明膠；賦形劑，諸如磷酸氫鈣；崩解劑，諸如玉米澱粉或甘薯澱粉；硬脂酸鎂、硬脂酸鈣、硬脂醯反丁烯二酸鈉及其類似物，且可使用甜味劑、芳香劑、糖漿及其類似物。此外，在膠囊之情況下，除前述物質以外，可另外使用液體載劑，諸如脂肪油及其類似物。

【0062】 在本文中，術語『賦形劑 (excipient)』意謂除治療劑以外的任何物質，且意謂作為載劑或介質用於或添加至醫藥組成物中以遞送治療劑的物質。由此，其可改良操作及儲存特徵或允許且促進組成物之單位劑量形成。

【0063】 根據本發明之組成物，例如醫藥組成物、食品組成物或益生菌組成物可以各種形式調配來使用，諸如經口調配物，包括液體、懸浮液、散劑、粒劑、錠劑、膠囊、丸劑、萃取物、乳液、糖漿、霧劑、無菌注射溶液注射劑及其類似物，且其可經由各種途徑投予，包括經口投予或靜脈內、腹膜內、皮下、經直腸、局部投予及其類似途徑。在本文中，術語『經口投予 (oral administration)』意謂製備物質以使活性物質可被攝取，亦即，向胃腸道投予該活性物質以吸收。

【0064】 根據本發明之組成物，例如醫藥組成物、食品組成物或益生菌組成物之較佳劑量可視以下者而定在其範圍內變化：患者之狀況及體重、年齡、性別、健康狀況、膳食組成特異性、調配物特性、疾病程度、組成物投予時間、投予方法、投予時段或間隔、排泄速率及藥物類型，且可由所屬技術領域中具有通常知識者適當地選擇。

【0065】 本文中，術語『醫藥組成物之有效劑量 (effective dose of

pharmaceutical composition)』意謂具有足以治療特定症狀之活性成分之組成物的量。此可隨醫藥組成物之調配方法、投予方法、投予時間及/或投予途徑及其類似因素而變化，且其可視各種因素而變化，該等因素包括待藉由投予醫藥組成物達成之反應類型及程度、待投予個體之種類、年齡、體重、一般健康狀況、疾病之症狀或嚴重程度、性別、飲食、排泄、同步或同時一起使用之藥物其他組成物之組分及醫藥學領域中熟知之類似因素，且所屬技術領域中具有通常知識者可容易地確定及開處用於所要治療之有效劑量。

【0066】 根據本發明之醫藥組成物之投予可一天一次投予，或可分成若干次投予。組成物可作為個別治療劑投予或與其他治療劑組合投予，且可與習知治療劑依序或同時投予。考慮到所有以上因素，可在無副作用之情況下以最小量可達成最大功效的量投予。

【0067】 舉例而言，根據本發明之組成物可以0.001至10,000 mg、0.001至5,000 mg、0.001至1,000 mg、0.001至500 mg、0.001至300 mg、0.001至100 mg、0.001至50 mg、0.001至30 mg、0.001至10 mg、0.001至5 mg、0.001至1 mg、0.001至0.5 mg、0.001至0.1 mg、0.001至0.05 mg、0.001至0.01 mg、0.01至10,000 mg、0.01至5,000 mg、0.01至1,000 mg、0.01至500 mg、0.01至300 mg、0.01至100 mg、0.01至50 mg、0.01至30 mg、0.01至10 mg、0.01至5 mg、0.01至1 mg、0.01至0.5 mg、0.01至0.1 mg、0.01至0.05 mg、0.1至10,000 mg、0.1至5,000 mg、0.1至1,000 mg、0.1至500 mg、0.1至300 mg、0.1至200 mg、0.1至100 mg、0.1至50 mg、0.1至30 mg、0.1至10 mg、0.1至5 mg、0.1至1 mg、0.1至0.5 mg、1至10,000 mg、1至5,000 mg、1至1,000 mg、1至500 mg、1至300 mg、1至200 mg、1至100 mg、1至50 mg、1至30 mg、1至10 mg、1至5 mg、10至10,000 mg、10至5,000 mg、10至1,000 mg、10至500 mg、10至300 mg、10至200 mg、10至100 mg、10至50 mg、10至40 mg、10至30 mg、10至20 mg、100至10,000 mg、100至5,000 mg、100至1,000 mg、100至

500 mg、100至300 mg或100至200 mg/1 kg體重但不限於此之日劑量投予。作為一個實例，基於成年患者之經口投予，根據本發明之組成物之日劑量可為0.001至10 g/1天、0.001至5 g/1天、0.01至10 g/1天或0.01至5 g/1天。另外，總日劑量可分為多份且必要時連續或非連續地投予。

【0068】 在本文中，術語「菌株培養物 (culture of strain)」意謂在培養根據本發明之一個具體實例之菌株之後獲得的產物，且培養物可為根據本發明之一個具體實例之菌株之總培養物、稀釋溶液、濃縮物、乾燥材料、冷凍乾燥材料、溶胞產物及/或部分及其類似物，且濃縮物可藉由對培養物進行離心或蒸發而獲得，且乾燥材料可藉由使用乾燥器或其類似者對培養物進行乾燥而獲得，且冷凍乾燥材料可藉由使用冷凍乾燥器或其類似者進行冷凍乾燥而獲得，且溶胞產物可以物理方式或藉由對菌株或培養物進行音波處理而獲得，且部分可藉由對培養物、溶胞產物及其類似物應用諸如離心、層析及其類似方法之方法而獲得。培養物可為固相（固體，例如乾燥材料）、液相（液體）或流體化相，但不限於此。在一個實例中，培養物可意謂包含藉由培養根據本發明之一個具體實例之菌株持續某一時段獲得的培養菌株、其代謝物及/或額外營養素及其類似物之總培養基。在一個實例中，培養物可為其中根據本發明之一個具體實例之菌株經移除或未移除的培養物。在一個實例中，培養物可意謂除了根據本發明之一個具體實例之菌株在培養基中培養的培養物中菌株（微生物細胞）之外的其餘組分。在一個實例中，培養物可為根據本發明之一個具體實例之菌株在培養基中培養之培養溶液中移除菌株（微生物細胞）之培養溶液（或培養物）。移除菌株之培養溶液（或培養物）可為無細胞培養溶液（或培養物）或包含死細胞之培養溶液，且例如其可為其中菌株藉由過濾或離心移除的濾液（離心上清液）及/或包含死細胞之培養溶液（或培養溶液之乾燥材料）。特定言之，培養物可在相當於由根據本發明之一個具體實例之菌株展示之活性的水準下展現發炎疾病之消炎活性或預

防性、可改善性或治療活性。作為一個實例，培養物可包含由根據本發明之一個具體實例之菌株產生的細胞外多醣。

【0069】 在本文中，術語「菌株溶胞產物 (lysate of strain)」可意謂藉由化學或物理力溶解根據本發明之一個具體實例的菌株獲得的產物。特定言之，溶胞產物可在相當於由根據本發明之一個具體實例之菌株展示之活性的水準下展現發炎疾病之消炎活性或預防性、可改善性或治療活性。作為一個實例，溶胞產物可包含由根據本發明之一個具體實例之菌株產生的細胞外多醣。

【0070】 在本文中，術語「萃取物 (extract)」可意謂藉由萃取根據本發明之一個具體實例之菌株、菌株之培養物、菌株之溶胞產物或其混合物獲得之產物，無關於萃取方法、萃取溶劑、萃取組分或萃取物之形式，且為包括可在萃取之後藉由其他方法加工或處理獲得之所有物質的廣泛概念。舉例而言，萃取物可為根據本發明之一個具體實例之菌株的萃取物、菌株之培養物的萃取物或菌株之溶胞產物的萃取物。特定言之，萃取物可在相當於由根據本發明之一個具體實例之菌株、菌株之培養物或菌株之溶胞產物展示之活性的水準下展現發炎疾病之消炎活性或預防性、可改善性或治療活性。作為一個實例，萃取物可包含由根據本發明之一個具體實例之菌株產生的細胞外多醣。

[有利功效]

【0071】 根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌菌株與習知菌株相比具有極佳的消炎細胞介素產生促進能力，且因此展現消炎特性，從而對發炎疾病展現治療功效，且因此其可用於供預防、改善及治療發炎疾病用之組成物中。

【圖式簡單說明】

【0072】 [圖1a]為展示基於16S rRNA，分離普拉梭菌KBL1027菌株之K0-

16個體及分離KBL1026菌株之K0-13個體的腸道微生物群分析之結果的圖式。

【0073】 [圖1b]為展示分離普拉梭菌KBL1027菌株之K0-16個體及分離KBL1026菌株之K0-13個體的腸道微生物群分析之結果的圖式。

【0074】 [圖2a]為展示根據投予根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌菌株的體重變化的圖式。

【0075】 [圖2b]為展示根據投予根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌菌株的結腸長度變化的圖式。

【0076】 [圖2c]為展示量測根據投予根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌菌株的結腸長度變化的方法的圖式。

【0077】 [圖3]為展示在投予根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌菌株之後的H&E染色結果的圖式。

【0078】 [圖4a]為展示根據投予根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌菌株的發炎細胞介素基因IL-10之表現變化的圖式。

【0079】 [圖4b]為展示根據投予根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌菌株的緊密型連結基因Zo-1之表現變化的圖式。

【0080】 [圖4c]為展示根據投予根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌菌株的緊密型連結基因緊連蛋白之表現變化的圖式。

【0081】 [圖5a]為展示根據投予根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌菌株的腸道微生物群之多樣性變化的圖式。

【0082】 [圖5b]為展示在投予根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌菌株之後的腸道微生物群經由加權UniFrac距離的主要組分分析結果的圖式。

【0083】 [圖5c]為展示研究根據投予根據本發明之一個具體實例之普拉梭菌菌株的腸道微生物群變化的單變數分析（LefSE）結果的圖式。

【0084】 [圖6]為展示用掃描電子顯微鏡觀測普拉梭菌菌株的結果的圖

式。

【0085】 [圖7]為展示特異性地由普拉梭菌KBL1027菌株產生之細胞外多糖的發炎功效的圖式。

【0086】 [圖8]為展示根據其功能特徵的特異性存在於普拉梭菌KBL1027菌株之基因體中的基因的圖式。

【0087】 [圖9]為展示屬於細胞壁及莢膜功能之在普拉梭菌KBL1027菌株之基因體中特異性存在的基因的圖式。

【實施方式】

【0088】 在下文中，將藉由以下實施例更詳細地描述本發明。然而，此等實施例僅意欲說明本發明，但本發明之範圍不受此等實施例限制。

實施例1. 新穎菌株的分離

【0089】 自韓國人腸道微生物群分離出新穎的普拉梭菌菌株。特定言之，用於分離腸道微生物群之樣品係自彼此不同的6個月未服用抗生素之健康正常成年人提供之糞便樣品中分離（漢城大學IRB批准編號：1602/001-001）。將糞便樣品運輸至本發明實驗室且移動至厭氧室（Laboratory Products公司）中立即用於菌株之分離。樣品在包含1.5%瓊脂之YCFAG培養基中以直接塗抹形式劃線，且隨後在厭氧條件下在37°C下培養最大48小時。在培養之後，隨機選擇純粹分離菌落且在YBHI培養基中培養，且為了長期儲存菌株，將甘油（25% v/v）添加至培養溶液中，該溶液達到指數期且儲存於-80°C超低溫冷凍器中。為鑑別菌株，使用Wizard基因體純化套組（Promega）萃取菌株之基因體DNA且隨後使用以下表1之27F/1492R引子（SEQ ID NO: 1及2）使用16S rRNA基因作為目標進行PCR反應。

[表1]

分類	序列 (5'→ 3')	SEQ ID NO:
正向	AGAGTTTGATYMTGGCTCAG	1
反向	TACGGYTACCTTGTTACGACT	2

【0090】 此使用QIAquick PCR純化套組（Qiagen）純化，且隨後使用ABI3711自動定序儀（Macrogen）進行定序。16S rRNA分析之結果如下表2，且使用此序列資訊，藉由Chunlab之EzBioCloud程式（<http://www.ezbiocloud.net/identify>）多重比較來最後完成菌株之鑑別。

[表2]

菌株名稱	名稱	序列	SEQ ID NO:
普拉梭菌	KBL1026	GACGAACGCTGGCGGCGCGCCTAACACATGCAAGTC GAACGAGTGAGAGAGAGCTTGCTTTCTCGAGCGAGT GGCGAACGGGTGAGTAACGCGTGAGGAACCTGCCTC AAAGAGGGGGACAACAGTTGGAAACGACTGCTAATA CCGCATAAGCCCACGACCCGGCATCGGGTAGAGGGA AAAGGAGCAATCCGCTTTGAGATGGCCTCGCGTCCG ATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAGTGGCCACCAAGGCG ACGATCGGTAGCCGACTGAGAGGTTGAACGGCCAC ATTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAG GCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCC TGATGCAGCGACGCCGCGTGGAGGAAGAAGGTCTTC GGATTGTAACTCCTGTTGTTGAGGAAGATAATGACG GTACTCAACAAGGAAGTGACGGCTAACTACGTGCCA GCAGCCGCGGTAAAACGTAGGTCACAAGCGTTGTCC GGAATTACTGGGTGTAAAGGGAGCGCAGGCGGGAAG ACAAGTTGGAAGTGAAATCCATGGGCTCAACCCATG AACTGCTTTCAAACTGTTTTTCTTGAGTAGTGCAGA GGTAGGCGGAATTCCCGGTGTAGCGGTGGAATGCGTA GATATCGGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCCTA CTGGGCACCAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGTGTGG GTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACACT GTAAACGATGATTACTAGGTGTTGGAGGATTGACCCC TTCAGTGCCGCAGTTAACACAATAAGTAATCCACCTG GGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATT GACGGGGGCCCCGCACAAGCAGTGGAGTATGTGGTTT AATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGTCTTG ACATCCTGCGACGCACATAGAAACAGTAGTTTCCTTC GGGACGCAGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAG CTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGA GCGCAACCCTTATGGTCAGTTACTACGCAAGAGGACT CTGGCCAGACTGCCGTTGACAAAACGGAGGAAGGTG GGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTTATGACTTGG GCTACACACGTACTACAATGGCGTTAAACAAAGAGA	3

		AGCAAGACCGCGAGGTGGAGCAAACTCAGAAACA ACGTCCCAGTTCGGACTGCAGGCTGCAACTCGCCTG CACGAAGTCGGAATTGCTAGTAATCGCAGATCAGCAT GCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCG CCCGTCACACCATGAGAGCCGGGGGGACCCGAAGTC GGT	
普拉梭菌	KBL1027	TGAATTTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGGCGCGCCT AACACATGCAAGTCGAACGAGCGAGAGAGAGCTTGC TTTCTCAGAGCGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACGCG TGAGGAACCTGCCTCAAAGAGGGGGGACAACAGTTGG AAACGACTGCTAATACCGCATAAGCCCACGACCCGGC ATCGGGTAGAGGGAAAAGGAGCAATCCGCTTTGAGA TGGCCTCGCGTCCGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACG GCCCACCAAGGCGACGATCGGTAGCCGGACTGAGAG GTTGAACGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCACG ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA ATGGGGGAAACCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGGAG GAAGAAGGTCTTCGGATTGTAACTCCTGTTGTTGAG GAAGATAATGACGGTACTCAACAAGGAAGTGACGGC TAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAAACGTAGGTC ACAAGCGTTGTCCGGAATTACTGGGTGTAAAGGGAG CGCAGGCGGGAAGACAAGTTGGAAGTGAAATCCATG GGCTCAACCCATGAACTGCTTTCAAACTGTTTTTCT TGAGTAGTGCAGAGGTAGGCGGAATTCCCGGTGTAG CGGTGGAATGCGTAGATATCGGGAGGAACACCAGTG GCGAAGGCGGCCTACTGGGCACCAACTGACGCTGAG GCTCGAAAGTGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATACC CTGGTAGTCCACACTGTAAACGATGATTACTAGGGGT TGGAGGATTGACCCCTTCAGTGCCGCAGTTAACACA ATAAGTAATCCACCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTG AAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCAG TGGAGTATGTGGTTTAATTTCGACGCAACGCGAAGAAC CTTACCAAGTCTTGACATCCTGCGACGCACATAGAAA TATGTGTTTCCTTCGGGACGCAGAGACAGGTGGTGCA TGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTA AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATGGTCAGTTACT ACGCAAGAGGACTCTGGCCAGACTGCCGTTGACAAA ACGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGC CCTTTATGACTTGGGCTACACACGTACTACAATGGCG TTAAACAAAGAGAAGCAAGACCGCGAGGTGGAGCA AAACTCAGAAACAACGTCCCAGTTCGGACTGCAGGC TGCAACTCGCCTGCACGAAGTCGGAATTGCTAGTAAT CGCAGATCAGCATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGC CTTGACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGCCGGG GGGACCCGAAGTCGGTAGTCTAACCGCAAGGAG	4

【0091】 分離的兩種類型的新穎菌株分別命名為普拉梭菌KBL1026菌株及普拉梭菌KBL1027菌株，且在2020年7月寄存至韓國生物科學與生物技術研究所生物資源中心（ Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology

Biological Resource Center)，且分別得到寄存編號KCTC14230BP（普拉梭菌KBL1026）及KCTC14231BP（普拉梭菌KBL1027）。

實施例2. 具有新穎菌株之個體之腸道微生物群之結構的分析

【0092】 在實施例1中分離之新穎菌株普拉梭菌KBL1026菌株來源於K0-13個體且普拉梭菌KBL1027菌株來源於K0-16。為了分析具有新穎菌株之個體之腸道微生物群的結構，出於腸道微生物群分析之目的，將得到的糞便樣品儲存於-80℃超低溫冷凍器中，且將冷凍樣品轉移至實驗室且使用QIAamp FAST DNA大便微型套組（Qiagen）萃取糞便中之總細菌基因體DNA。所萃取之DNA使用靶向細菌16S rRNA基因之V4區的下表3之515F/806R引子（SEQ ID NO: 5及6）擴增，且隨後使用MiSeq（Illumina）產生序列數據。在所產生之大容量定序分析中，藉由使用QIIME管線作業（pipeline）確定腸道細菌之完整基因資訊來鑑別腸道菌群之結構。

[表3]

分類	序列（5'→3'）	SEQ ID NO:
正向	ATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACTATG GTAATTGTGTGCCAGCMGCCGCGGTAA	5
反向	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATAGTCAGT CAGCCGGACTACHVGGGTWTCTAAT	6

【0093】 作為基於16S rRNA分析腸道微生物群的結果，如圖1a中所示，證實其中分離普拉梭菌KBL1027菌株的K0-16個體的腸道微生物群的多樣性高於分離KBL1026菌株的K0-13個體（圖1a）。

【0094】 另外，作為分析微生物群中之物種含量佔1%或更大之比率的細菌分佈的結果，如圖1b中所示，證實K0-16個體為高度占優的，因為腸中之普拉梭菌菌株之相對豐度為15.5%或更大（圖1b）。另一方面，證實分離KBL1026菌株之K0-13個體占比極低，因為腸中之普拉梭菌菌株之相對豐度為0.8%（圖1b）。

【0095】 個體腸中之普拉梭菌相對豐度的此差異表明儘管新獲得之普拉

梭菌KBL1026及KBL1027菌株屬於同一物種，但所來源個體之腸道微生物群環境不同，且因此菌株之功能性可不同。

實施例3. 使用動物模型的發炎疾病改善功效分析

(1) 動物模型構築及飼餵

【0096】 為了證實藉由單次菌株投予普拉梭菌KBL1026或KBL1027菌株之活體內發炎疾病改善功效，進行動物實驗（漢城大學IACUC批准編號：SNU-160602-9）。作為發炎疾病之一實例，將發炎腸病動物模型用於實驗。為了比較菌株之發炎疾病改善功效，採用來自德國培養物寄存機構（German culture collection）(DSMZ)之屬於同一物種且已知具有消炎功效的普拉梭菌DSM17677菌株用作對照組。

【0097】 特定言之，為構築結腸炎小鼠模型，將C57BL/6 7至8週齡雌性小鼠分成各8隻小鼠之群落，且隨後將2.5%硫酸葡聚糖鈉（DSS）溶解於飲用水中且使該等小鼠飲用其總計5天以誘導急性腸炎。向正常對照組提供無DSS之飲用水。

【0098】 將普拉梭菌KBL1026、KBL1027或DSM17677菌株分別在YBHI液體培養基中在厭氧條件下在37°C下培養以達到指數期，且隨後移除上清液且將其在PBS中稀釋為 2×10^8 CFU/ml，且隨後自開始DSS供應之前一週直至實驗結束為止，每天向小鼠經口投予200 μ l經稀釋菌株中之每一者以定殖。向正常對照組經口投予200 μ l PBS中之每一者。

(2) 體重變化分析

【0099】 DSS供應在5天內（第5天早晨）停止，且自DSS供應開始當天（第0天）9天，每日量測小鼠之體重變化且展示於圖2a中。圖2a為展示根據急性腸炎

之小鼠體重之變化的圖式。如圖2a中所示，在DSS對照組（DSS+PBS）中，相較於未投予DSS之正常對照組（水+PBS），展示體重之顯著降低，由此證實結腸炎小鼠模型之構築。另外，在KBL1027投予組（DSS+KBL1027）中，相較於DSS對照組（DSS+PBS），證實體重減輕之顯著改善功效。另一方面，相較於DSS對照組（DSS+PBS），在KBL1026投予組及DSM17677投予組中，不存在顯著的體重變化。

（3）腸長度分析

【0100】 在開始DSS供應之後第9天，終止實驗且對小鼠進行屍體剖檢以量測腸道長度之改變，且其展示於圖2b中。如圖2b中所示，可確認與DSS對照組相比，在KBL1027投予組中，大腸長度之減小幅度顯著改善。圖2c為展示在小鼠屍體剖檢之後量測腸長度之方法的圖式。

（4）腸之組織病理學分析

【0101】 另外，進行蘇木精&曙紅（Hematoxylin&Eosin，H&E）染色以觀測由普拉梭菌單次菌株投予所引起的大腸之組織病理學變化。特定言之，在屍體剖檢之後，將大腸之遠端部分固定於10%中性福馬林溶液中，且隨後將石蠟組織樣本切成5 μm 之厚度且用H&E試劑染色且用光學顯微鏡進行觀測。H&E染色結果展示於圖3中，且相較於正常對照組（水+PBS），在DSS對照組（DSS+PBS）中觀測到發炎細胞在大腸組織中之浸潤及黏膜組織之顯著破壞。另一方面，可組織學上證實與DSS對照組（DSS+PBS）相比，在KBL1027投予組（DSS+KBL1027）中發炎緩解。

（5）使用標記基因之活體內發炎疾病改善功效分析

【0102】 對於組織之免疫細胞分析，在實施例2之實驗結束時，獲得小鼠之腸道組織且保存於RNAlater（Thermo Fisher Scientific）溶液中，且在-81℃下保持冷凍，且使用easy-spin總RNA萃取套組（Intron）萃取RNA。所萃取之RNA使用高容量RNA至cDNA套組（Applied biosystems）立即以等量以cDNA合成，且隨後使用roter-gene SYBR綠色PCR套組（Qiagen）分析基因表現。使用稱為消炎細胞介素之IL-10及與腸道上皮細胞之間的緊密型連結相關之Zo-1及緊連蛋白基因作為目標，使用表4之引子且用HPRT管家基因校正表現，且分析基因表現之結果展示於圖4a（IL-10）、圖4b（Zo-1）及圖4c（緊連蛋白）中

[表4]

分類	目標基因	序列（5'→3'）	SEQ ID NO:
正向	<i>HPRT</i>	TTATGGACAGGACTGAAAGAC	7
反向	<i>HPRT</i>	GCTTTAATGTAATCCAGCAGGT	8
正向	<i>IL-10</i>	ATAACTGCACCCACTTCCCA	9
反向	<i>IL-10</i>	TCATTTCCGATAAGGCTTGG	10
正向	<i>Zo-1</i>	ACCCGAAACTGATGCTGTGGATAG	11
反向	<i>Zo-1</i>	AAATGGCCCGGGCAGAACTTGTGTA	12
正向	緊連蛋白	GGAGGACTGGGTCAGGGAATA	13
反向	緊連蛋白	CGTCGTCTAGTTCTGCCTGT	14

【0103】 如圖4a中所示，相較於DSS對照組（DSS+PBS），在KBL1027投予組（DSS+KBL1027）中，消炎細胞介素*IL-10*基因之表現顯著增加。此意謂普拉梭菌KBL1027菌株經由誘導IL-10產生之免疫調節有助於活體內改善發炎疾病之功效。

【0104】 根據圖4b及圖4c之結果，在與腸道上皮細胞之間的緊密型連結相關之*Zo-1*及緊連蛋白的情況下，兩種基因均展示相較於正常對照組，DSS對照組（DSS+PBS）中之表現顯著減少。另一方面，相較於DSS對照組（DSS+PBS），*Zo-1*及緊連蛋白之表現在KBL1027投予組（DSS+KBL1027）中均顯著增加。此意謂KBL1027菌株投予增加*Zo-1*及緊連蛋白之表現且強化腸道上皮細胞之間的緊密型連結，由此幫助活體內緩解發炎疾病。

實施例4. 使用動物模型之腸道微生物群變化分析

【0105】 為了分析DSS急性腸炎及單一菌株定殖誘導之腸道微生物群的變化，在實施例3之實驗結束時，獲得小鼠糞便且在-81℃下保持冷凍。根據實施例1之方法，自冷凍樣品萃取總細菌基因體DNA且使用細菌16S rRNA基因的V4區作為目標產生高容量序列數據。使用QIIME管線作業，確認腸道細菌之總基因資訊且鑑別小鼠糞便中微生物群之結構，且進行根據群組之單變數分析(LefSE)且結果展示於圖5a至圖5c中。

【0106】 利用費氏譜系學多樣性指數(Faith's Phylogenetic diversity index)的基於16S rRNA，確認根據腸道微生物群的群組之腸道微生物群多樣性變化的結果在圖5a中展示，且證實與正常對照組(水+PBS)相比，腸道微生物群之多樣性在DSS對照組(DSS+PBS)中顯著下降。此表明根據由DSS引起之急性腸炎，有益細菌之多樣性降低及潛在有害細菌占主導可不利地影響腸道健康。另一方面，證實與DSS對照組(DSS+PBS)相比，普拉梭菌KBL1027投予組(DSS+KBL1027)中之腸道微生物群之多樣性顯著增加，且在DSM17677投予組(DSS+DSM17677)中無顯著性。此表明即使在相同普拉梭菌菌株之情況下，對腸道微生物群之作用可不同且投予普拉梭菌KBL1027菌株可恢復腸道微生物群之多樣性，從而積極地影響腸道健康。

【0107】 經由在16S rRNA基礎上分析的腸道微生物群的加權UniFrac距離進行主要組分分析的結果展示於圖5b中，且藉由PCA圖確認DSS對照組的腸道微生物群結構極不同於正常對照組。另一方面，確認KBL1027投予組具有在DSS對照組與正常對照組之間的腸道微生物群結構。此表明KBL1027菌株投予改變構成腸道微生物群之物種，從而調節結構。

【0108】 進行單變數分析(LefSE)以分析藉由KBL1027菌株投予改變了

哪些腸道微生物群之結果展示於圖5c中。在DSS對照組中，擬桿菌屬及代表性有益細菌，細胞壁由脂多醣（lipopolysaccharide，LPS）構成之變形菌門占主導。此意謂KBL1027菌株投予藉由改變此腸道微生物群幫助緩解結腸炎。

實施例5. 普拉梭菌KBL1027菌株來源物質的消炎測試

（1）KBL1027菌株特有之細胞外多醣之觀測

【0109】 為證實普拉梭菌菌株之間的特異性（菌株特異性），使用掃描電子顯微鏡（scanning electron microscope，SEM）觀測細菌樣品之三維表面形狀。

【0110】 特定言之，藉由在YBHI培養基中在厭氧條件下在37°C下培養普拉梭菌KBL1026、KBL1027及DSM17677菌株48小時獲得之樣品進行在臨界點下使用卡氏溶液（karnovsky's solution）及2%四氧化鐵之固定、乙醇脫水及乾燥之預處理過程。隨後，將其固定在短柱上且用鉑塗佈，且隨後使用掃描電子顯微鏡（Carl Zeiss）觀測。觀測相片展示於圖6中，且證實與KBL1026及DSM17677菌株相比，KBL1027菌株特異性地在細胞表面上產生細胞外多醣物質。另一方面，在KBL1026之情況下，觀測到類似於先前報告之DSM17677的形式。因此，由KBL1027菌株特異性產生之物質經由觀測細菌細胞表面確認，且此菌株特異性表明與屬於普拉梭菌物種之其他菌株相比，可得到之KBL1027菌株緩解發炎疾病的極佳功能。

（2）KBL1027菌株之細胞外多醣之消炎功效

【0111】 為了證實普拉梭菌KBL1027菌株產生之物質的免疫調節功效，分離小鼠之骨髓衍生之巨噬細胞（bone-marrow derived macrophage，BMDM）且用普拉梭菌KBL1026、KBL1027及DSM17677菌株之培養溶液處理以確認產生涉及消炎反應之細胞介素IL-10的能力。

【0112】 特定言之，為獲得菌株之培養溶液，將普拉梭菌KBL1026、KBL1027及DSM17677菌株在厭氧條件下在37℃下在500 ml YBHI培養基中培養48小時以藉由離心獲得上清液，且進行0.45 μm過濾。作為陰性對照組，使用未接種菌株之YBHI培養基，且藉由在-81℃下保持冷凍之後凍乾且在PBS中以相同量稀釋至100 mg/ml，製備所得到之培養基及上清液。

【0113】 為了獲得小鼠之BMDM細胞，分離C57BL/6小鼠之骨髓且在37℃、5% CO₂之條件下使用培育箱在針對BMDM之將10%胎牛血清（fetal bovine serum，FBS）、15% L292細胞培養溶液及1%青黴素/鏈黴素抗生素添加至DMEM培養基中的培養基中培養7天。L292細胞購自韓國細胞系庫（Korean Cell Line Bank）。

【0114】 在將 2×10^4 個細胞等分至96孔盤之各孔中且使其附著24小時之後，將陰性對照組YBHI培養基及普拉梭菌KBL1026、KBL1027及DSM17677菌株之上清液以1 mg/ml之濃度添加至培養溶液中且更換。另外，為確認由LPS誘導之發炎反應刺激下之反應，添加100 ng/ml濃度之LPS，且隨後添加相同量之各菌株之上清液。作為陽性對照組，LPS以10 ng/ml，100 ng/ml之濃度處理，且為與由普拉梭菌產生之丁酸鹽代謝物相比較，丁酸鈉（sigma Aldrich）以1 ng/ml、10 ng/ml處理。隨後，在24小時內，收集培養溶液且在-81℃下保持冷凍，且隨後使用小鼠IL-10 ELISA套組（Thermo Fisher Scientific）根據製造商方法量測IL-10細胞介素之量。

【0115】 結果展示於圖7中，證實在小鼠之BMDM細胞中，與陰性對照組YBHI培養基及KBL1026及DSM17677菌株之培養溶液相比，普拉梭菌KBL1027菌株之培養溶液最顯著地誘導消炎細胞介素IL-10產生。另外，即使在經由LPS刺激發炎反應的情況下，IL-10產生仍相較於陰性對照組YBHI培養基及KBL1026菌株之培養溶液被顯著誘導。此類實驗結果意謂普拉梭菌KBL1027菌株特異性產

生的物質誘導消炎細胞介素IL-10產生。

實施例6. 普拉梭菌KBL1027菌株的比較基因體學分析

【0116】 為了證實普拉梭菌菌株之間的特異性（菌株特異性），進行比較基因體學分析。為獲得細菌之基因體資訊，KBL1026及KBL1027菌株在YBHI培養基中在厭氧條件下在37℃下培養以根據實施例1之方法萃取菌株之基因體DNA。在KBL1026之情況下，使用MiSeq（Illumina）產生高容量序列數據且根據A5-MiSeq管線作業集合，且結果展示於下表5中。在KBL1027之情況下，使用RSII（PacBio）獲得總基因體資訊（完整基因體）。DSM17677之基因體資訊獲自NCBI且用於比較基因體學分析（寄存編號：GCA_000162015.1）。為了比較基因體之平均核苷酸一致性（ANI），其藉由JSpeciesWS（<http://jspecies.ribohost.com/jspeciesws/#analyse>）計算且所獲得菌株之基因體資訊的概述及比較展示於表5中。KBL1027菌株與KBL1026菌株之ANI值為96.13%，且另一方面，KBL1027菌株與DSM17677菌株之ANI值計算為83.25%。此意謂KBL1027菌株與KBL1026菌株之基因體序列類似性高於先前已知的DSM17677菌株。

[表5]

分類	KBL1026	KBL1027	DSM17677
大小（bp）	3,105,066	3,124,218	3,090,349
GC 含量（%）	56.2	56.1	56.4
片段重疊組 N50（bp）	330,297	-	63,061
骨架之數目	36	1	20
編碼序列之數目	3,193	3176	3,298
RNA 數目	71	83	79
與 KBL1027 之 ANI（%）	96.13	100	83.25

【0117】 基於所獲得之普拉梭菌菌株基因體資訊，根據RASTtk管線作業使用RAST（<https://rast.nmpdr.org/>）進行標註且進行比較基因體學分析。與DSM17677菌株相比，KBL1027菌株之基因體中特異性存在之基因總計為61個，

且與KBL1026菌株相比，KBL1027菌株之基因體中特異性存在之基因總計為15個。此解釋為因為KBL1027菌株之ANI值低於DSM17677菌株，所以更多基因特異性存在。當與兩種比較菌株KBL1026菌株及DSM17677菌株相比時，僅特異性存在於KBL1027菌株之基因體中的基因數目根據其功能特徵展示於圖8中。

【0118】 其中，在涉及產生實施例5中所定義之細胞外多醣物質之細胞壁及莢膜功能之情況下，確認與KBL1026菌株相比7個基因及與DSM17677菌株相比10個基因特異性存在。

【0119】 接下來，確認13個不存在於KBL1026菌株及DSM17677菌株中且僅特異性存在於KBL1027菌株之基因體中之基因（以下（1）至（13）），且其中，7個（以下（1）至（7））屬於細胞壁及莢膜功能：

- （1）胞外多醣生物合成醣苷轉移酶**EpsF**（EC 2.4.1.-）
- （2）酪胺酸-蛋白激酶**EpsD**（EC 2.7.10.2）
- （3） α -D-GlcNAc α -1,2-L-鼠李糖苷轉移酶（EC 2.4.1.-）**rgpA**
- （4） α -L-Rha α -1,3-L-鼠李糖苷轉移酶（EC 2.4.1.-）**rgpB**
- （5）莢膜多醣生物合成蛋白
- （6）脂蛋白釋放系統ATP結合蛋白**LolD**
- （7）推定的N-乙醯基半乳糖胺基-二磷十一異戊烯醇葡萄糖醛酸基轉移酶

TuaG

- （8）N-乙醯基葡萄糖胺利用之預測轉錄調節因子，GntR家族**NagQ**
- （9）膜結合溶解胞壁質轉醣苷酶B（EC 3.2.1.-）
- （10）肌苷-尿苷偏好核苷水解酶（EC 3.2.2.1）
- （11）LysR家族轉錄調節因子**YnfL**
- （12）陽離子流出系統蛋白**CusA**
- （13）鈷-鋅-鎘抗性蛋白**CzcA**

【0120】 特異性存在於普拉梭菌KBL1027菌株之基因體中之屬於細胞壁及莢膜功能之基因展示於圖9中，且證實KBL1027菌株特異性基因執行胞外多醣生物合成及含有鼠李糖之聚醣之功能且形成叢集（圖9之B）。圖9之B為展示確定普拉梭菌KBL1027菌株之基因體序列上的圖9之A中之第1、3、4及5號基因之叢集的結果的圖式。比較基因體學分析之此類結果意謂普拉梭菌KBL1027菌株特異性地產生細胞外多醣物質。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊〔請依寄存機構、日期、號碼順序註記〕

【0121】 無

國外寄存資訊〔請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記〕

【0122】 韓國生物科學與生物技術研究所（Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology）、2020年7月7日、寄存號碼KCTC14230BP

【0123】 韓國生物科學與生物技術研究所（Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology）、2020年7月7日、寄存號碼KCTC14231BP

【序列表】

<110>	Ko生物技術有限公司（KoBioLabs， Inc.）		
<120>	普拉梭菌（Faecalibacterium prausnitzii）菌株及其用途		
<130>	OPP20213792TW		
<140>	TW 110129969		
<141>	2021-08-13		
<150>	KR 10-2020-0102564		
<151>	2020-08-14		
<160>	14		
<170>	KoPatentIn 3.0		
<210>	1		
<211>	20		
<212>	DNA		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	（合成）27F引子		
<220>			
<221>	misc_feature		
<222>	(11)		
<223>	y爲t或c		
<220>			
<221>	misc_feature		
<222>	(12)		
<223>	m爲a或c		
<400>	1		
	agagtttgat ymtggctcag	20	
<210>	2		
<211>	21		
<212>	DNA		
<213>	人工序列		
<220>			

<223> (合成) 1492R引子

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)
<223> y爲t或c

<400> 2
tacggytacc ttgttacgac t 21

<210> 3
<211> 1383
<212> DNA
<213> 普拉梭菌

<400> 3
gacgaacgct ggcgcgcgcg ctaacacatg caagtcgaac gagtgagaga gagcttgctt 60

tctcgagcga gtggcgaacg ggtgagtaac gcgtgaggaa cctgcctcaa agagggggac 120

aacagttgga aacgactgct aataccgcat aagcccacga cccggcatcg ggtagaggga 180

aaaggagcaa tccgctttga gatggcctcg cgtccgatta gctagttagt gaggtaaactg 240

gcccaccaag gcgacgatcg gtagccggac tgagagggtg aacggccaca ttgggactga 300

gacacggccc agactcctac gggaggcagc agtggggaat attgcacaat gggggaaacc 360

ctgatgcagc gacgccgctt ggaggaagaa ggtcttcgga ttgtaaactc ctgtttgtga 420

ggaagataat gacggtactc aacaaggaag tgacggctaa ctacgtgccg gcagccgcgg 480

taaaacgtag gtcacaagcg ttgtccgga ttactgggtg taaagggagc gcaggcggga 540

agacaagttag gaagtgaat ccatgggctc aacctatgaa ctgctttcaa aactgttttt 600

cttgagtagt gcagaggtag gcggaattcc cgggtgtagc gtggaatgcg tagatatcgg 660

gaggaacacc agtggcgaag gcggcctact gggcaccaac tgacgtgag gctcgaaagt 720

gtgggtagca aacaggatta gataccctgg tagtccacac tgtaaacgat gattactagg 780

tgttgaggga ttgacccctt cagtgccgca gtaaacaca taagtaatcc acctggggag 840

tacgaccgca aggttgaaac tcaaaggaat tgacgggggc ccgcacaagc agtggagtat 900

gtggtttaat tcgacgcaac gcgaagaacc ttaccaagtc ttgacatcct gcgacgcaca 960

tagaaacagt agtttccttc gggacgcaga gacaggtagt gcatggttgt cgtcagctcg 1020

tgtcgtgaga tgttgggtta agtcccgcaa cgagcgcaac ccttatggtc agttactacg 1080

caagaggact ctggccagac tgccgttgac aaaacggagg aaggtagggga tgacgtcaaa 1140

tcatcatgcc ctttatgact tgggctacac acgtactaca atggcgttaa acaaagagaa 1200

gcaagaccgc gaggtggagc aaaactcaga aacaacgtcc cagttcggac tgcaggctgc 1260

aactcgcctg cacgaagtcg gaattgctag taatcgcaga tcagcatgct gcggtgaata 1320

cgttcccggg ccttgtacac accgcccgtc acaccatgag agccgggggg acccgaagtc 1380

ggt 1383

<210> 4

<211> 1414

<212> DNA

<213> 普拉梭菌

<400> 4

tgaatttggc tcaggacgaa cgctggcggc ggcgctaaca catgcaagtc gaacgagcga 60

gagagagctt gctttctcag agcgagtggc gaacgggtga gtaacgcgtg aggaacctgc 120

ctcaaagagg gggacaacag ttggaacga ctgctaatac cgcataagcc cacgaccggg 180

catcgggtag agggaaaagg agcaatccgc tttgagatgg cctcgcgtcc gattagctag 240

ttggtgaggt aacggcccac caaggcgacg atcggtagcc ggactgagag gttgaacggc 300

cacattggga ctgagacacg gcccagactc ctacgggagg cagcagtggg gaatattgca 360

caatggggga aacctgatg cagcgacgcc gcgtggagga agaaggtctt cggattgtaa 420

actcctgttg ttgaggaaga taatgacggt actcaacaag gaagtgcgg ctaactacgt 480

gccagcagcc gcggtaaaac gtaggtcaca agcgttgtcc ggaattactg ggtgtaaagg 540

gagcgcaggc gggaagacaa gttggaagtg aaatccatgg gctcaacca tgaactgctt 600

tcaaaactgt ttttcttgag tagtgcagag gtaggcggaa ttcccgtgt agcggtgga 660

tgcgtagata tcgggaggaa caccagtggc gaaggcggcc tactgggcac caactgacgc 720

tgaggctcga aagtgtgggt agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc acactgtaaa 780

cgatgattac taggggttgg aggattgacc ccttcagtgc cgcagttaac acaataagta 840

atccacctgg ggagtacgac cgcaagggtg aaactcaaag gaattgacgg gggcccgcac 900

aagcagtgga gtatgtggtt taattcgacg caacgcgaag aaccttacca agtcttgaca 960

tcctgcgacg cacatagaaa tatgtgtttc cttcgggacg cagagacagg tggtgcatgg 1020

ttgtcgtcag ctcggtgctg gagatgttgg gttaagtccc gcaacgagcg caacccttat 1080

ggtcagttac tacgcaagag gactctggcc agactgccgt tgacaaaacg gaggaagggtg 1140

gggatgacgt caaatcatca tgccttttat gacttgggct acacacgtac tacaatggcg 1200

ttaaacaag agaagcaaga ccgcgagggtg gagcaaaact cagaaacaac gtcccagttc 1260

ggactgcagg ctgcaactcg cctgcacgaa gtcggaattg ctagtaatcg cagatcagca 1320

tgctgcggtg aatacgttcc cgggccttgt acacaccgcc cgtcacacca tgagagccgg 1380

ggggacccga agtcggtagt ctaaccgcaa ggag 1414

<210> 5

<211> 59

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> （合成）515F引子

<220>

<221> misc_feature

<222> (49)

<223> m爲a或c

<400> 5

atgatacggc gaccaccgag atctacacta tggtaattgt gtgccagcmg ccgcggtaa 59

<210> 6

<211> 56

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> （合成）806R引子

<220>
<221> misc_feature
<222> (44)
<223> h爲a、c或t

<220>
<221> misc_feature
<222> (45)
<223> v爲g、c或a

<220>
<221> misc_feature
<222> (50)
<223> w爲a或t

<400> 6
caagcagaag acggcatacg agatagtcag tcagccggac tachvgggtw tctaat 56

<210> 7
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> (合成) HPRT引子FWD

<400> 7
ttatggacag gactgaaaga c 21

<210> 8
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> (合成) HPRT引子RVS

<400> 8
gctttaatgt aatccagcag gt 22

<210> 9

<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> (合成) IL-10引子FWD

<400> 9
ataactgcac ccacttccca 20

<210> 10
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> (合成) IL-10引子RVS

<400> 10
tcatttccga taaggcttgg 20

<210> 11
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> (合成) Zo-1引子FWD

<400> 11
acccgaaact gatgctgtgg atag 24

<210> 12
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> (合成) Zo-1引子RVS

<400> 12
aaatggccgg gcagaacttg tgta 24

<210> 13
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> (合成) 緊連蛋白引子FWD

<400> 13
ggaggactgg gtcaggggaat a 21

<210> 14
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> (合成) 緊連蛋白引子RVS

<400> 14
cgtcgtctag ttctgcctgt 20

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種普拉梭菌 (*Faecalibacterium prausnitzii*) KBL1027菌株，其具有寄存編號KCTC14231BP。

【請求項2】如請求項1之菌株，其中該菌株具有由SEQ ID NO: 4表示之16S rRNA序列。

【請求項3】如請求項1之菌株，其中該菌株產生細胞外多醣。

【請求項4】如請求項1之菌株，其中該菌株包含在細胞壁及莢膜中起作用之基因，其中該在細胞壁及莢膜中起作用之基因執行胞外多醣生物合成或含有鼠李糖之聚醣之功能。

【請求項5】如請求項4之菌株，其中該在細胞壁及莢膜中起作用之基因包含一或多種類別之選自由以下(1)至(7)組成之群的基因：

- (1) 胞外多醣生物合成醣苷轉移酶，
- (2) 酪胺酸-蛋白激酶，
- (3) α -D-GlcNAc α -1,2-L-鼠李糖苷轉移酶，
- (4) α -L-Rha α -1,3-L-鼠李糖苷轉移酶，
- (5) 莢膜多醣生物合成蛋白，
- (6) 脂蛋白釋放系統ATP結合蛋白，
- (7) N-乙酰基半乳糖胺基-二磷十一異戊烯醇葡萄糖醛酸基轉移酶。

【請求項6】如請求項1之菌株，其中該菌株包含一或多種類別之選自由以下(1)至(13)組成之群的基因：

- (1) 胞外多醣生物合成醣苷轉移酶，
- (2) 酪胺酸-蛋白激酶，
- (3) α -D-GlcNAc α -1,2-L-鼠李糖苷轉移酶，
- (4) α -L-Rha α -1,3-L-鼠李糖苷轉移酶，

- (5) 莢膜多醣生物合成蛋白，
- (6) 脂蛋白釋放系統ATP結合蛋白，
- (7) N-乙醯基半乳糖胺基-二磷十一異戊烯醇葡萄糖醛酸基轉移酶，
- (8) N-乙醯基葡萄糖胺利用之預測轉錄調節因子，GntR家族，
- (9) 膜結合溶解胞壁質轉醣苷酶B，
- (10) 肌苷-尿苷偏好核苷水解酶，
- (11) LysR家族轉錄調節因子，
- (12) 陽離子流出系統蛋白，
- (13) 鈷-鋅-鎘抗性蛋白。

【請求項7】如請求項1之菌株，其中該菌株具有誘導消炎細胞介素產生之特性。

【請求項8】如請求項1之菌株，其中該菌株具有強化腸道上皮細胞之間的緊密型連結之特性。

【請求項9】如請求項1之菌株，其中該菌株具有改善腸道微生物平衡之特性。

【請求項10】如請求項9之菌株，其中改善該腸道微生物平衡為一或多種選自由以下(1)至(5)組成之群的類別：

- (1) 誘導動物腸道微生物群之多樣性增加，
- (2) 改善動物腸道微生物群之不平衡，
- (3) 誘導動物腸道微生物群中的普雷沃菌屬 (genus *Prevotella*) 及/或副普雷沃菌科 (family *Paraprevotellaceae*) 之菌株相對豐度增加，
- (4) 防止動物腸道微生物群中具有脂多醣細胞壁的有害細菌的相對豐度增加，
- (5) 防止動物腸道微生物群中變形菌門 (phylum *Proteobacteria*)、擬桿菌屬

(genus Bacteroides) 及/或變形菌門之菌株相對豐度增加。

【請求項11】如請求項1之菌株，其中該菌株具有一或多個選自由以下(1)至(2)組成之群的特徵：

- (1) 預防由發炎疾病引起之體重減輕，
- (2) 預防由發炎疾病引起之腸道長度減少。

【請求項12】一種醫藥組成物，其包含選自由以下者組成之群的一或多者：如請求項1至請求項11中任一項之菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物及由該菌株產生之細胞外多糖。

【請求項13】一種如請求項12之組成物的用途，其係用於製備用於預防、改善或治療發炎疾病之藥物。

【請求項14】如請求項13之用途，其中該發炎疾病為選自由以下者組成之群的一或多種：發炎腸病、發炎皮膚病、發炎膠原-血管疾病、過敏性疾病、自體免疫疾病、濕疹、哮喘、鼻炎、結膜炎、食物過敏、類風濕性發熱、狼瘡、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、吉蘭-巴雷氏症候群 (Guilian-Barre syndrome)、皮肌炎、多發性肌炎、多發性硬化症、結節性多動脈炎、橋本氏甲狀腺炎 (Hashimoto thyroiditis)、顱動脈炎、小兒糖尿病、斑禿、天疱瘡、口瘡性口炎、瓦格納氏肉芽腫 (Wegener granulomatosis)、肖格倫氏症候群 (Sjogren syndrome)、艾迪森氏病 (Addison's disease)、白塞氏病 (Behcet's disease)、水腫、結膜炎、牙周炎、中耳炎、慢性鼻竇炎、喉嚨痛、扁桃腺炎、支氣管炎、肺炎、胃潰瘍、胃炎、結腸炎、痛風、濕疹、痤瘡、接觸性皮炎、脂漏性皮炎、僵直性脊髓炎、纖維肌痛、骨關節炎、肩周炎、腱炎、腱鞘炎、肌炎、肝炎、膀胱炎、腎炎、敗血症、血管炎及滑囊炎。

【請求項15】如請求項14之用途，其中該發炎腸病為選自由以下者組成之群

的一或多種：發炎結腸直腸疾病、潰瘍性結腸炎（ulcerative colitis，UC）、腸炎、腸躁症候群（irritable bowel syndrome，IBS）及克隆氏病（Crohn's disease，CD）。

【請求項16】如請求項14之用途，其中該發炎皮膚病係異位性皮炎。

【請求項17】如請求項14之用途，其中該過敏性疾病為選自由以下者組成之群的一或多者：過敏性哮喘、過敏性鼻炎及過敏性結膜炎。

【請求項18】如請求項14之用途，其中該哮喘為選自由以下者組成之群的一或多者：過敏性哮喘及支氣管哮喘。

【請求項19】如請求項14之用途，其中該鼻炎係過敏性鼻炎。

【請求項20】如請求項14之用途，其中該自體免疫疾病為選自由以下者組成之群的一或多者：自體免疫發炎疾病、自體免疫溶血性貧血、類風濕性關節炎、全身性硬皮病及重症肌無力。

【請求項21】如請求項13之用途，其中該發炎疾病之預防、改善或治療係由該菌株之細胞外多醣引起。

【請求項22】一種用於預防或改善發炎疾病之食品組成物，其包含選自由以下者組成之群的一或多種：如請求項1至請求項11中任一項之菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物及由該菌株產生之細胞外多醣。

【請求項23】一種用於預防或改善發炎疾病之益生菌組成物，其包含選自由以下者組成之群的一或多種：如請求項1至請求項11中任一項之菌株、該菌株之培養物、該菌株之溶胞產物、該菌株之萃取物、該培養物之萃取物、該溶胞產物之萃取物及由該菌株產生之細胞外多醣。

【請求項24】一種如請求項12之組成物的用途，其係用於製備用於改善腸道微生物平衡之藥物。

【發明圖式】

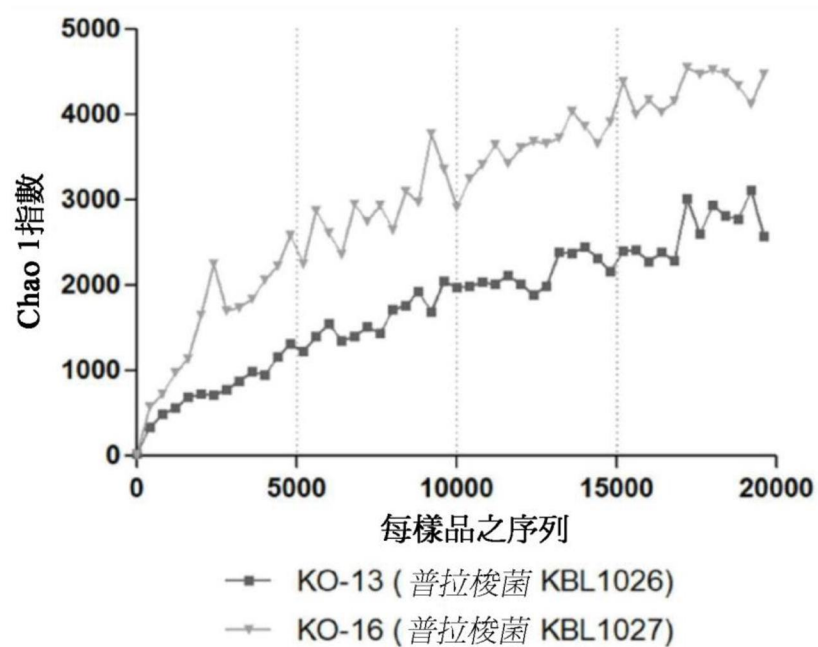


圖1a

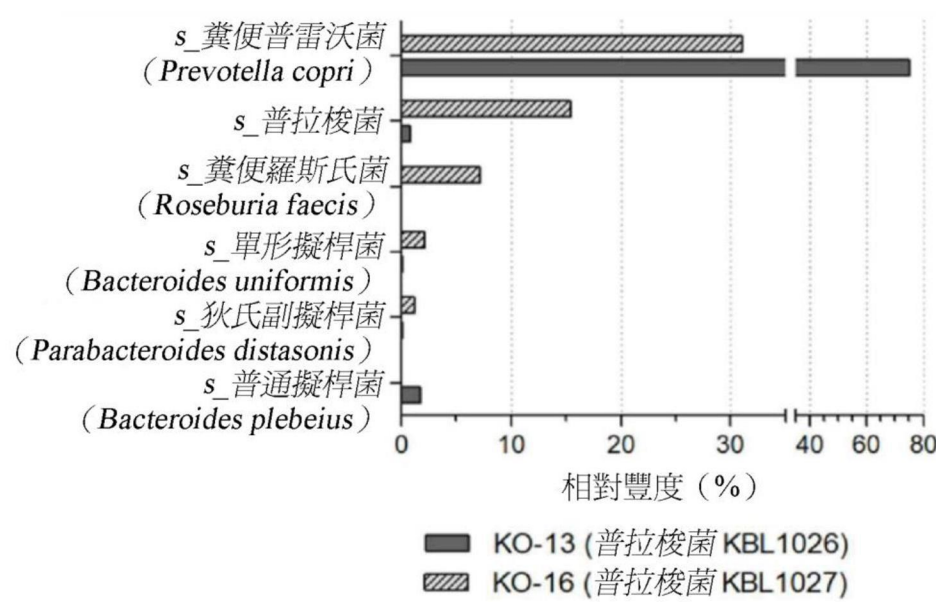


圖1b

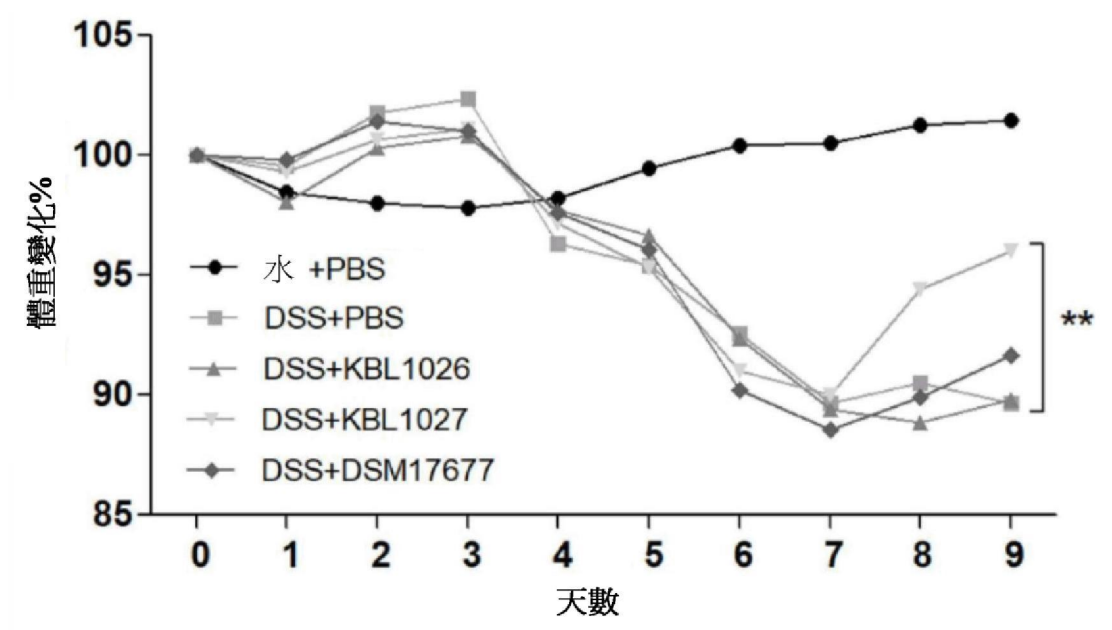


圖2a

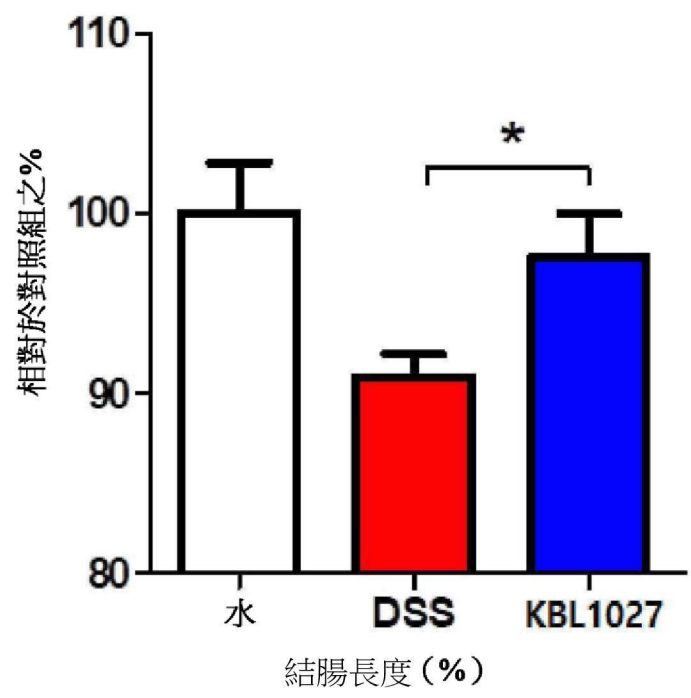


圖2b



圖2c

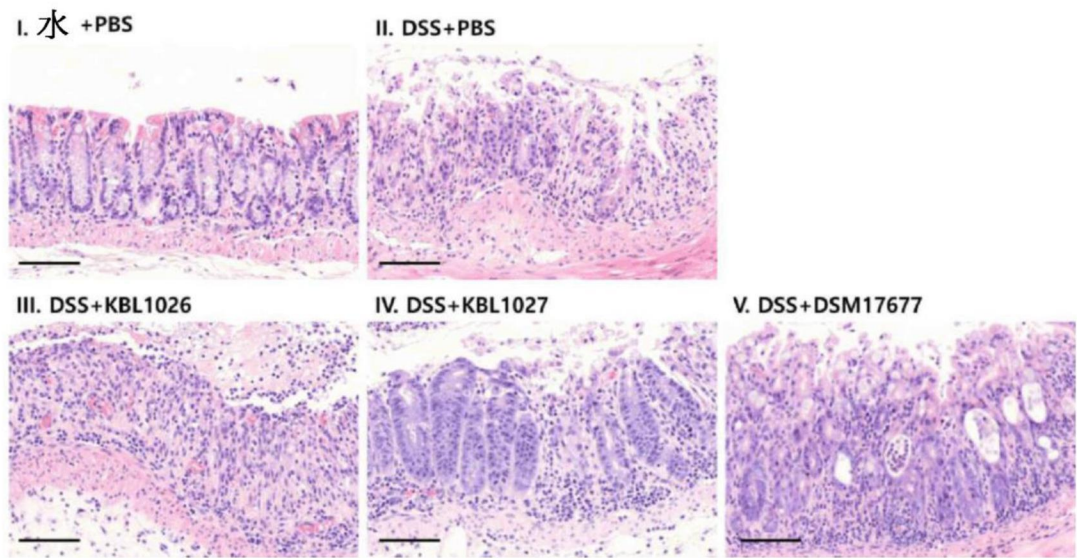


圖3

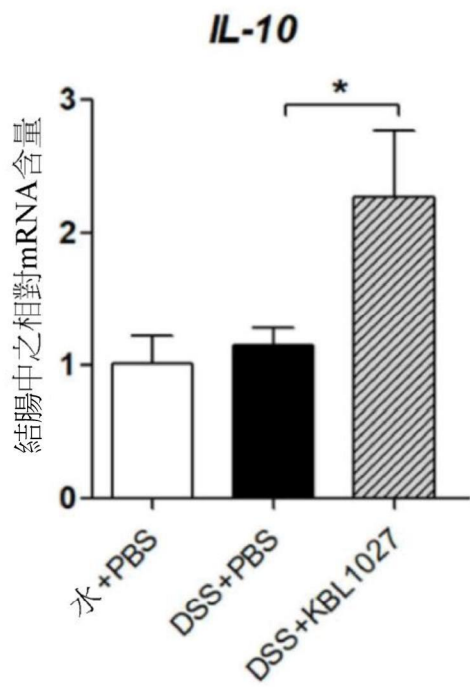


圖4a

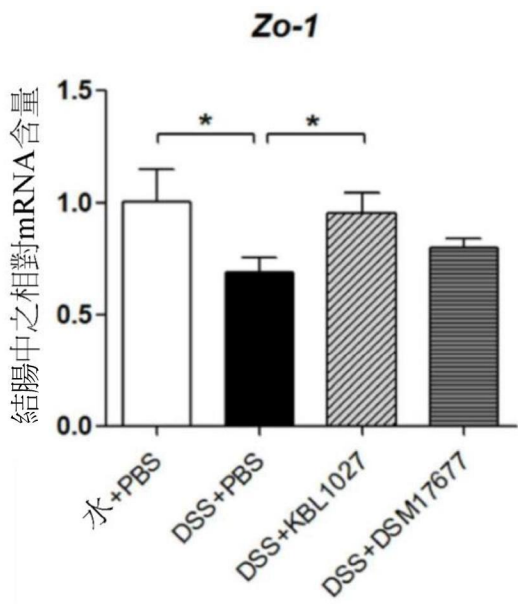


圖4b

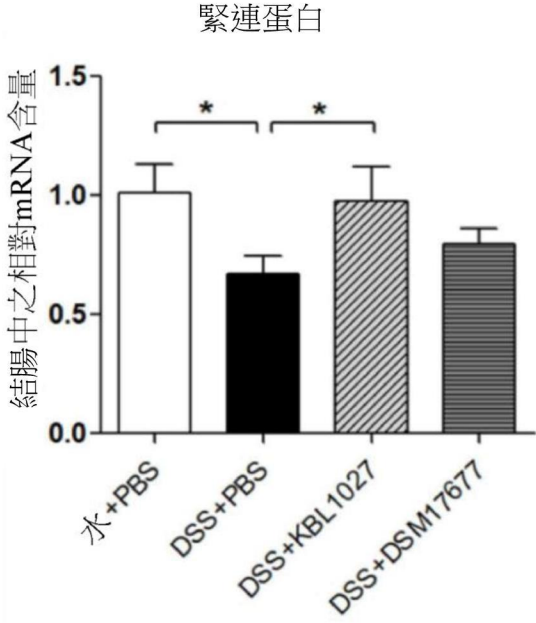


圖4c

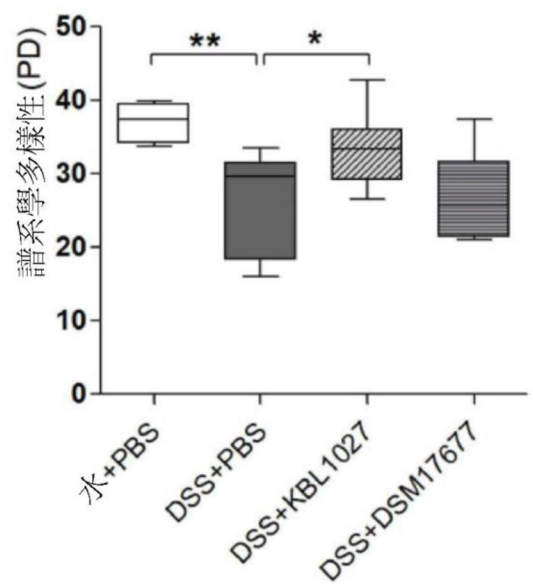


圖5a

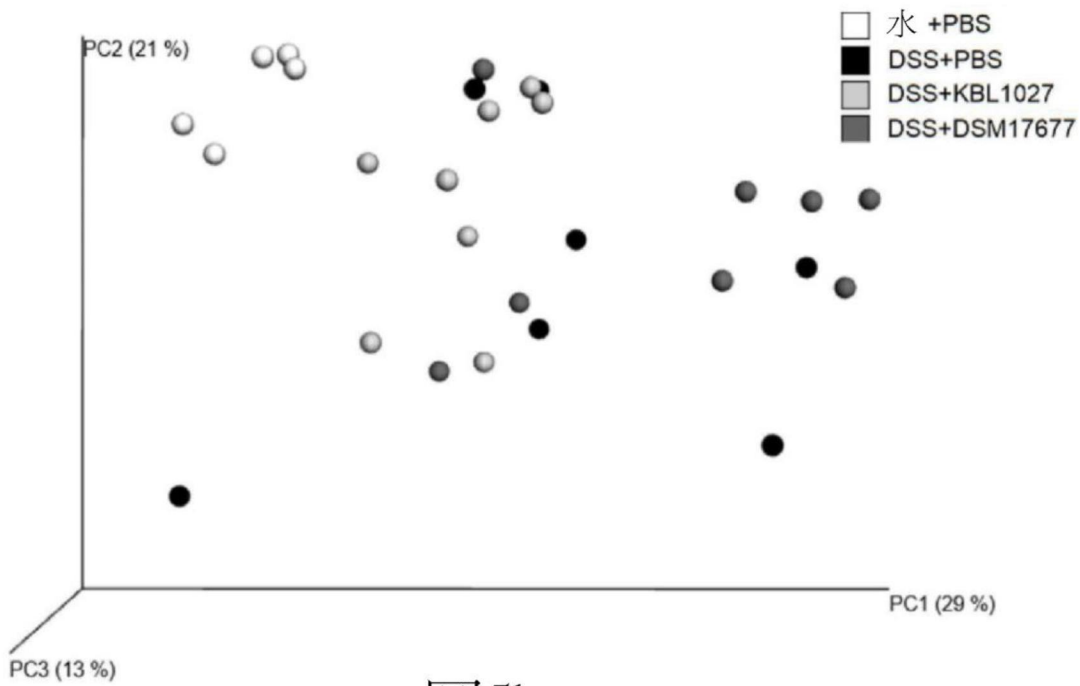


圖5b

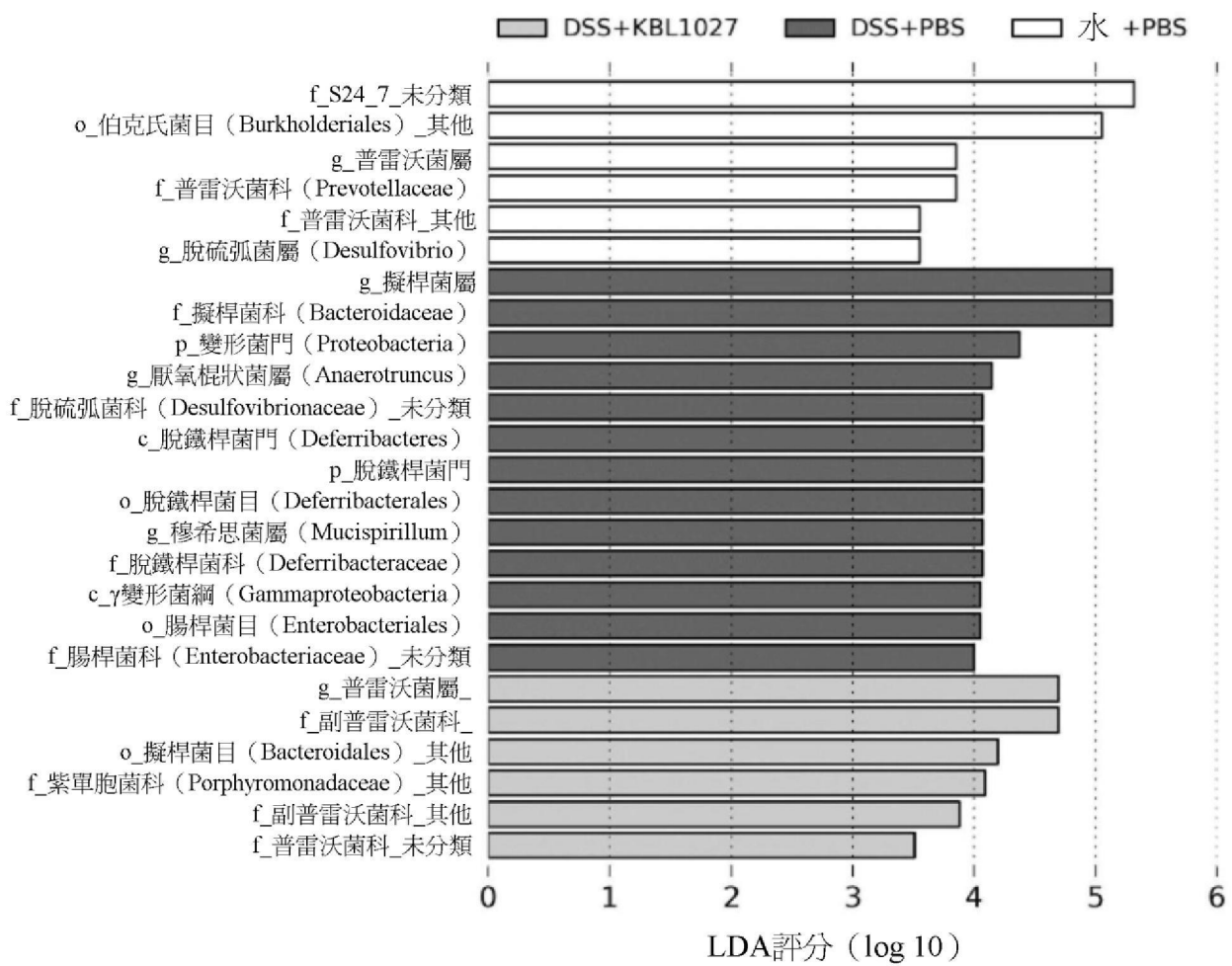


圖5c

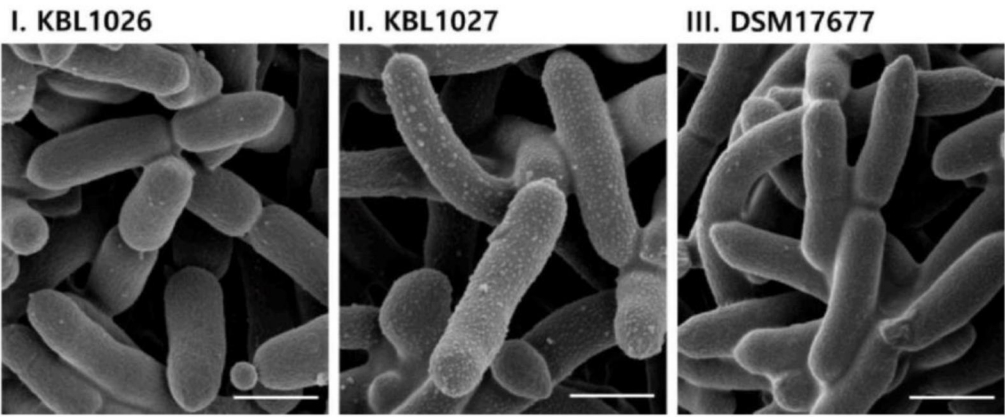


圖6

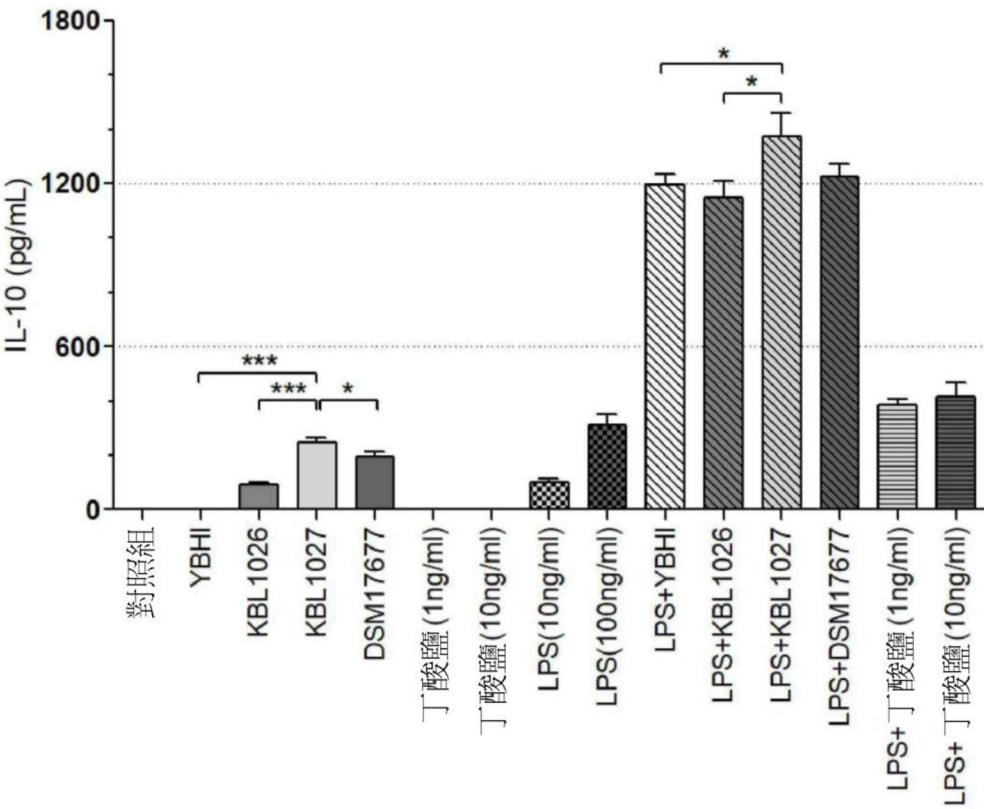


圖7

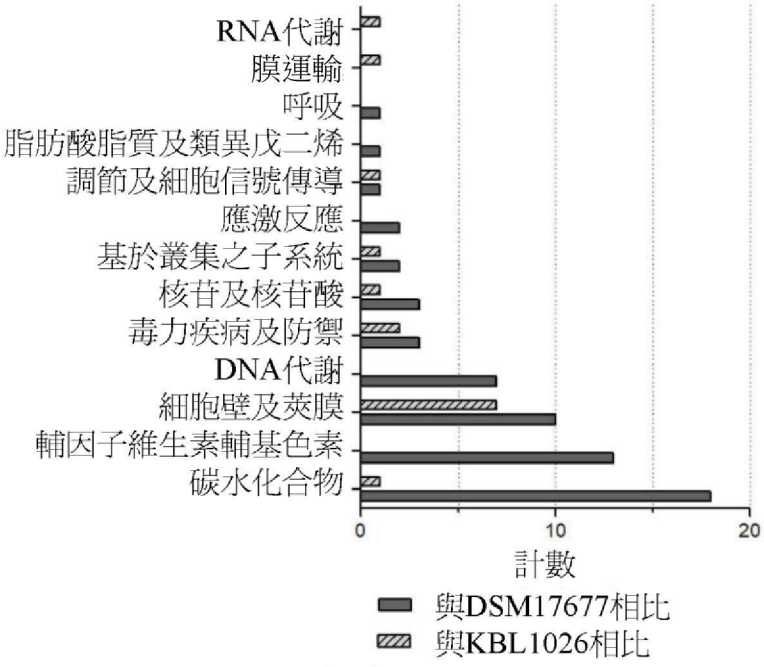


圖8

A

類別	子類別	子系統	作用	bp
1 細胞壁及荚膜	荚膜及細胞外多醣	胞外多醣生物合成	胞外多醣生物合成醣苷轉移酶 EpsF (EC 2.4.1.-)	1,140
2 細胞壁及荚膜	荚膜及細胞外多醣	胞外多醣生物合成	醣胺酸蛋白激酶 EpsD (EC 2.7.10.2)	768
3 細胞壁及荚膜	荚膜及細胞外多醣	含有鼠李糖之聚醣	α -D-GlcNAc α -1,2-L-鼠李糖苷轉移酶 (EC 2.4.1.-)	276
4 細胞壁及荚膜	荚膜及細胞外多醣	含有鼠李糖之聚醣	α -L-Rha α -1,3-L-鼠李糖苷轉移酶 (EC 2.4.1.-)	912
5 細胞壁及荚膜	荚膜及細胞外多醣	含有鼠李糖之聚醣	荚膜多醣生物合成蛋白	1,101
6 細胞壁及荚膜	革蘭氏陰性細胞壁組分	脂蛋白分類系統	脂蛋白釋放系統 ATP 結合蛋白 LolD	675
7 細胞壁及荚膜	革蘭氏陽性細胞壁組分	磷壁酸 (Teichuronic acid)	推定的 N-乙酰基半乳糖胺基-二磷十一-異戊烯醇葡萄糖醛酸基轉移酶	768

B

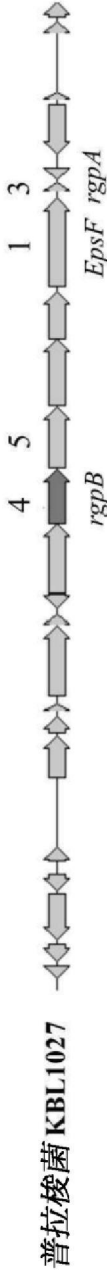


圖9