



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113444668 A

(43) 申请公布日 2021.09.28

(21) 申请号 202110843846.1

A23L 33/135 (2016.01)

(22) 申请日 2021.07.26

A23L 19/00 (2016.01)

(83) 生物保藏信息

A23C 9/12 (2006.01)

CCTCC NO:M2021662 2021.06.02

A23C 9/16 (2006.01)

(71) 申请人 吉林省命之元生物科技有限公司

A23L 11/50 (2021.01)

地址 130000 吉林省长春市朝阳区人民大

C12R 1/07 (2006.01)

街7655号航空国际商务中心A座506室

(72) 发明人 崔伟东

(74) 专利代理机构 长春众邦菁华知识产权代理

有限公司 22214

代理人 于晓庆

(51) Int. Cl.

C12N 1/20 (2006.01)

A61K 35/742 (2015.01)

A61P 3/10 (2006.01)

权利要求书1页 说明书7页

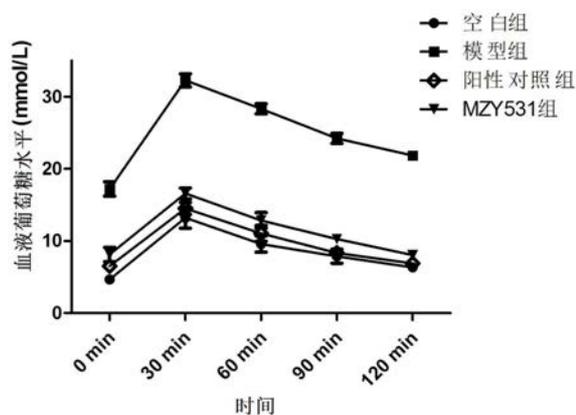
序列表1页 附图1页

(54) 发明名称

一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌及其应用

(57) 摘要

一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌及其应用，涉及食品微生物领域。该凝结芽孢杆菌(Bacillus coagulans) MZY531于2021年6月2日保藏于中国典型培养物保藏中心，保藏编号为：CCTCC NO:M2021662。本发明的凝结芽孢杆菌MZY531在制备降血糖产品中的应用。该凝结芽孢杆菌MZY531对人工模拟胃肠液具有较好的耐受性；对II型糖尿病的高血糖症有治疗作用，能显著降低空腹血糖值；可较好的调节II型糖尿病小鼠的血糖值，改善II型糖尿病小鼠的葡萄糖不耐受情况；具有良好的降脂作用；能够调节宿主能量平衡；可以起到调节II型糖尿病小鼠肠道菌群平衡的作用。



1. 一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌 (*Bacilluscoagulans*) MZY531, 其特征在于, 该菌株于2021年6月2日保藏于中国典型培养物保藏中心, 保藏编号为: CCTCCNO: M2021662。

2. 如权利要求1所述的一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌 (*Bacilluscoagulans*) MZY531在制备降血糖产品中的应用。

3. 根据权利要求2所述的应用, 其特征在于, 所述产品为食品、保健品或药品。

4. 根据权利要求3所述的应用, 其特征在于, 所述食品为发酵果蔬、发酵乳制品或发酵豆制品。

5. 根据权利要求4所述的应用, 其特征在于, 所述发酵乳制品为乳酪、含乳饮料或乳粉。

6. 根据权利要求3所述的应用, 其特征在于, 所述药品的剂型为胶囊、粉剂或片剂。

7. 根据权利要求6所述的应用, 其特征在于, 所述粉剂采用冷冻干燥工艺制备。

8. 如权利要求1所述的一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌 (*Bacilluscoagulans*) MZY531在制备预防和/或治疗糖尿病产品中的应用。

9. 以权利要求1所述的一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌 (*Bacilluscoagulans*) MZY531作为活性成份的产品。

10. 根据权利要求9所述的产品, 其特征在于, 所述产品为食品、保健品或药品。

一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及食品微生物技术领域,具体涉及一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌及其应用。

背景技术

[0002] 糖尿病是一类以持续性高血糖症为病理特征的代谢紊乱疾病,已成为主要的公共健康问题。导致糖尿病发生的原因主要包括遗传因素和环境因素。II型糖尿病患者由于胰岛素缺乏和胰岛素功能障碍造成机体代谢紊乱,包括糖、脂质及蛋白质等,进而引起一系列并发症导致器官衰竭。采用普通药物如二甲双胍、米格列醇片等治疗会对人体的肝脏、肾脏等器官产生伤害,引起多器官衰竭,甚至死亡。因此急需寻找一种安全无毒、无副作用的治疗方式来治疗糖尿病。

[0003] 益生菌是一类对宿主机体有益的活的微生物,摄入一定剂量后可改善及预防疾病。研究发现益生菌和合生元可改善成年人糖尿病前期的代谢综合征。益生菌是目前具有前瞻性的天然生物治疗剂,具有广阔的开发前景。

[0004] 截至目前,未见凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) 在预防和/或治疗糖尿病方面的应用。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌及其应用,为预防和/或治疗糖尿病提供了新思路。

[0006] 本发明为解决技术问题所采用的的技术方案如下:

[0007] 本发明的一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531,该菌株已于2021年6月2日保藏于中国典型培养物保藏中心,保藏编号为:CCTCC NO:M2021662。

[0008] 本发明的一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531在制备降血糖产品中的应用。

[0009] 作为优选的实施方式,所述产品为食品、保健品或药品。

[0010] 作为优选的实施方式,所述食品为发酵果蔬、发酵乳制品或发酵豆制品。

[0011] 作为优选的实施方式,所述发酵乳制品为乳酪、含乳饮料或乳粉。

[0012] 作为优选的实施方式,所述药品的剂型为胶囊、粉剂或片剂。

[0013] 作为优选的实施方式,所述粉剂采用冷冻干燥工艺制备。

[0014] 本发明的一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531在制备预防和/或治疗糖尿病产品中的应用。

[0015] 以本发明的一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531作为活性成份的产品。

[0016] 作为优选的实施方式,所述产品为食品、保健品或药品。

[0017] 本发明的有益效果是:

[0018] 本发明以从传统发酵食品酸菜中分离鉴定的乳酸菌为研究对象,经大量的实验筛选获得一株乳酸菌新菌株,命名为凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531株。本发明采用高脂饲料和链脲佐菌素建立糖尿病小鼠模型,小鼠灌胃给予凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531连续28天,探讨凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531对糖尿病模型小鼠的治疗作用。研究结果显示,凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531对人工模拟胃肠液具有较好的耐受性;凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531对II型糖尿病的高血糖症有治疗作用,能显著降低空腹血糖值;凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531可较好的调节II型糖尿病小鼠的血糖值,改善II型糖尿病小鼠的葡萄糖不耐受情况;凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531具有良好的降脂作用;凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531能够调节宿主能量平衡;凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531可以起到调节II型糖尿病小鼠肠道菌群平衡的作用。

[0019] 本发明的凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531株对糖尿病具有预防和治疗作用,因此,本发明的凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531株可用于制备具有降血糖功能的食品、保健品或药品等,同时,本发明提供的一株凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531株还可以作为功能性益生菌应用于制备食品、保健品或药品中,安全、无毒副作用,应用前景非常广阔。

附图说明

[0020] 图1为凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531对II型糖尿病小鼠血糖水平的影响。

[0021] 图2为凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531对II型糖尿病小鼠血糖曲线下面积(AUC)的影响。

具体实施方式

[0022] 本发明的一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531,已于2021年6月2日保藏于中国典型培养物保藏中心,简称CCTCC,地址为:湖北省武汉市武昌区八一路299号武汉大学校内(武汉大学保藏中心),保藏编号为:CCTCC NO:M2021662。

[0023] 本发明的一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531可以应用在制备降血糖产品中。

[0024] 本发明的一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531可以应用在制备预防和/或治疗糖尿病产品中。

[0025] 以本发明的一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531作为活性成份的产品。

[0026] 优选的,所说的产品为食品、保健品或药品,但不限于此。

[0027] 更优选的,所说的食品为发酵果蔬、发酵乳制品或发酵豆制品,但不限于此。

[0028] 更优选的,所说的发酵乳制品为乳酪、含乳饮料或乳粉,但不限于此。

[0029] 更优选的,所说的药品的剂型为胶囊、粉剂或片剂,但不限于此。

[0030] 更优选的,所说的粉剂采用冷冻干燥工艺制备,但不限于此。

[0031] 下面将结合本发明实施例,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,

显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0032] 下述实施例中的实验方法,如无特殊说明,均为常规方法。下述实施例中所用的试验材料,如无特殊说明,均为自常规生化试剂商店购买得到的。以下实施例中的定量试验,均设置三次重复实验,结果取平均值。

[0033] 固体LB培养基:溶剂为水,胰蛋白胨10g/L、酵母浸粉5g/L、氯化钠10g/L、琼脂15g/L;如无特殊说明,pH=7.0。液体LB培养基与固体LB培养基的区别仅在于液体LB培养基中不加入琼脂。

[0034] SPF级健康雄性C57BL/6J小鼠,购于长春市亿斯实验动物技术有限公司,生产许可证号:SCXK(吉)-2011-0004。进行为期一周的适应性喂养,动物房温度为 $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$,相对湿度为 $(40 \pm 10)\%$,采食和饮水自由进行。

[0035] 基础饲料:长春市亿斯实验动物技术有限责任公司。

[0036] 高脂饲料(%代表g/100g):基础饲料75%,猪油10%,蛋黄粉10%,胆固醇(食品级,郑州苍宇化工产品有限公司)5%。

[0037] 小鼠总胆固醇(TC)试剂盒:南京建成生物工程研究所。

[0038] 小鼠甘油三酯(TG)试剂盒:南京建成生物工程研究所。

[0039] 小鼠高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)酶联免疫试剂盒:上海江莱生物科技有限公司。

[0040] 小鼠低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)酶联免疫试剂盒:上海江莱生物科技有限公司。

[0041] 实施例1凝结芽孢杆菌菌株的分离、鉴定和保藏

[0042] 一、凝结芽孢杆菌菌株的分离

[0043] 样本取材:传统发酵食品酸菜。

[0044] 2019年10月,从四川省成都市收集新鲜腌制的老坛酸菜样品放入运输培养基中,迅速置于冰盒内送至实验室进行菌株分离。将酸菜样品 80°C 水浴处理10分钟,然后进行研磨、梯度稀释后均匀涂于LB固体培养基平板上, 50°C 培养48h,挑取单菌落接种于LB培养基平板上继续培养,经LB培养基平板反复划线培养纯化,得到多株纯菌落。纯培养的菌种接种到液体LB培养基培养,然后加入60%甘油, -80°C 冰箱保存。将其中1株菌株命名为MZY531。

[0045] 二、菌株的鉴定

[0046] 菌株MZY531的生理生化鉴定结果:革兰氏染色阳性,过氧化氢酶试验阴性,联苯胺试验阴性,吲哚试验阴性,乙酰甲基甲醇试验阳性;不水解淀粉,不液化明胶,不产生硫化氢,发酵葡萄糖产酸不产气;不运动的杆菌;在 25°C 和 65°C 能够生长,最适生长温度 $45 \sim 50^{\circ}\text{C}$;适宜pH为 $5.0 \sim 7.0$;耐受6.5%NaCl;菌株MZY531在LB液体培养基中呈均匀浑浊生长,久置菌体呈白色沉淀。

[0047] 16SrDNA序列同源性分析:提取基因组DNA,采用27F和1492R组成的引物对(27F:5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3';1492R:5'-TACGGTTACCTTGTTACGACTT-3')进行PCR扩增,然后将扩增产物进行测序,16srDNA序列如序列列表的序列1所示。将16s rDNA序列通过BLAST程序在Gen Bank库中进行同源性比对分析,与Bacillus coagulans strain 18774(GenBank:MW674216.1)、Bacillus coagulans strain IGM5-2(GenBank:MT197258.1)、Bacillus coagulans strain 400(GenBank:MT573073.1)同源性均达到99%。

[0048] 根据以上鉴定结果,菌株MZY531被鉴定为凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*)。

[0049] 三、菌株的保藏

[0050] 本发明的一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531,已于2021年6月2日保藏于中国典型培养物保藏中心,简称CCTCC,地址为:湖北省武汉市武昌区八一路299号武汉大学校内(武汉大学保藏中心),保藏编号为:CCTCC NO:M2021662。

[0051] 实施例2凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531对人工模拟胃肠液的耐受性实验

[0052] 将冷冻保存的凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531接种于LB培养基中,在50℃摇床180rpm培养16h,再经LB培养液传代培养2~3次后,取1mL凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531的培养液,与9.0mL、pH2.5的人工模拟胃液(含1%胃蛋白酶、pH=2.5的LB培养基)混合,并在50℃摇床180rpm培养,分别在0h、0.5h、1h和2h时取样,用LB琼脂培养基浇注培养,并进行平板菌落计数,测定活菌数并计算其存活率。存活率是指在该培养液中取样时的活菌数对数值与在第0h时取样时的活菌数对数值之比,以%表示。

[0053] 取1mL凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531的培养液加入到9mL人工模拟肠液(含0.3%牛胆盐、1%胰蛋白酶、pH=8.0的LB培养基)中,在50℃摇床180rpm培养,分别在0h、0.5h、1h、2h、3h和4h时取样,用LB琼脂培养基浇注培养,并进行平板菌落计数,测定活菌数并计算其存活率。存活率是指在该培养液中取样时的活菌数对数值与在第0h时取样时的活菌数对数值之比,以%表示。

[0054] 实验结果如表1和表2所示。结果表明,凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531对人工模拟胃肠液具有较好的耐受性。

[0055] 表1凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531在人工模拟胃液中的耐受性

| | 人工模拟胃液 | | |
|-----------------|--------|------|------|
| [0056] 处理时间 (h) | 0.5 | 1 | 2 |
| 存活率 (%) | 78.6 | 65.4 | 39.8 |

[0057] 表2凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531在人工模拟肠液中的耐受性

| | 人工模拟肠液 | | | | |
|-----------------|--------|-----|----|----|----|
| [0058] 处理时间 (h) | 0.5 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 存活率 (%) | 100 | 100 | 81 | 72 | 53 |

[0059] 实施例3凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531降血糖作用评价

[0060] 一、菌悬液的制备

[0061] 将凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531接种于液体LB培养基中,50℃摇床180rpm培养16h,3000r/min,4℃离心10min,弃上清,得到菌体沉淀,菌泥用无菌生理盐水配置成菌悬液,根据其OD600吸光度及平板计数结果,调整菌数为 1×10^8 CFU/mL的菌悬液。

[0062] 二、糖尿病模型建立与分组

[0063] 雄性C57BL/6J小鼠适应1周后,正常组喂以普通饲料,各实验组喂以高脂高糖饲料。各组小鼠自由饮食饮水,每周监测一次体重,8周后禁食12h,实验组小鼠按体重腹腔注

射30mg/kg链脲佐菌素生理盐水溶液,正常组注射同等剂量生理盐水。1周后禁食12h,尾静脉取血,检测空腹血糖,以连续3次空腹血糖值 ≥ 11.1 mmol/L并伴有多食、多饮、多尿症状者即为II型糖尿病小鼠模型。

[0064] 100只雄性C57BL/6J小鼠,随机分成4组,每组20只,分组处理如下:

[0065] 空白对照组:从开始至试验结束均采用普通饲料饲喂;第9周,小鼠空腹12小时后一次性腹腔注射生理盐水30mg/kg;第10周至第13周进行给药,给药剂量为:每kg体重每次给予12mL无菌生理盐水。

[0066] 模型组:第1周至第8周均采用高脂饲料饲喂,第9周至试验结束均采用普通饲料饲喂;第9周,小鼠空腹12小时后一次性腹腔注射链脲佐菌素30mg/kg;第10周至第13周进行给药,给药剂量为:每kg体重每次给予12mL无菌生理盐水。

[0067] 阳性对照组:第1周至第8周均采用高脂饲料饲喂,第9周至试验结束均采用普通饲料饲喂;第9周,小鼠空腹12小时后一次性腹腔注射链脲佐菌素30mg/kg;第10周至第13周进行给药,给药剂量为:每kg体重每次给予12mL浓度为0.1mg/ml的二甲双胍生理盐水溶液。

[0068] MZY531组:第1周至第8周均采用高脂饲料饲喂,第9周至试验结束均采用普通饲料饲喂;第9周,小鼠空腹12小时后一次性腹腔注射链脲佐菌素30mg/kg;第10周至第13周进行给药,给药剂量为:每kg体重每次给予12mL菌液。菌液的制备方法为:用生理盐水悬浮凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)MZY531,得到浓度为 1.0×10^8 CFU/mL的凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)MZY531菌液。

[0069] 三、血糖检测

[0070] 空腹血糖值检测结果如表3所示。与模型组相比,MZY531组小鼠空腹血糖值呈下降趋势;MZY531组小鼠空腹血糖值在第12周、第13周、第14周显著下降,第14周时血糖值降到7.12mmol/L。结果表明,凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)MZY531对II型糖尿病的高血糖症有治疗作用,能显著降低空腹血糖值。

[0071] 表3凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)MZY531对II型糖尿病小鼠血糖的影响

| 组别 | 空腹血糖值 (mmol/L) | | | | |
|----------|----------------|--------|--------|--------|--------|
| | 第 10 周 | 第 11 周 | 第 12 周 | 第 13 周 | 第 14 周 |
| 空白对照组 | 4.83 | 4.78 | 4.93 | 4.89 | 5.01 |
| 模型组 | 16.33 | 16.58 | 15.97 | 16.23 | 16.08 |
| 阳性对照组 | 16.17 | 12.89 | 10.01 | 8.51 | 6.48 |
| MZY531 组 | 16.28 | 13.21 | 10.56 | 9.01 | 7.12 |

[0074] 四、凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)MZY531对II型糖尿病小鼠口服葡萄糖耐量的影响

[0075] 如图1所示,0min,各组血糖值均处于较正常数值,灌胃葡萄糖溶液后,三组小鼠血糖值在30min处达到峰值,MZY531组血糖值为16.58mmol/L,模型组小鼠达到32.26mmol/L,在30~60min处迅速回落,在90min处血糖值趋于平缓,在120min处恢复为8.03mmol/L。在规定时间内,模型组血糖值一直明显高于其余两组,但各组小鼠血糖值均处于下降趋势。

MZY531组血糖值处于空白对照组与模型组之间。由图2可以看出,MZY531组血糖曲线下面积较模型组明显减少,具有极显著差异($P < 0.01$)。结果表明,凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531可较好的调节II型糖尿病小鼠的血糖值,改善II型糖尿病小鼠的葡萄糖不耐受情况。

[0076] 五、血脂检测

[0077] 经凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531干预后,小鼠注射麻醉戊巴比妥钠,心脏取血后37℃温育60min,3000r/min离心15min,收集上清分装于EP管置-80℃冰箱保存。参照试剂盒说明书测定血清中TC、TG、LDL-C和HDL-C含量。

[0078] 实验结束后,评估小鼠的脂质代谢值(TC、TG、LDL-C和HDL-C),结果如表4所示。模型组的TC、TG、LDL-C含量显著高于空白对照组($P < 0.05$),而HDL含量显著降低($P < 0.05$)。经凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531干预后,TC、TG和LDL-C含量极显著降低($P < 0.01$),而HDL-C含量显著增加($P < 0.05$)。这证实了凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531具有良好的降脂作用。

[0079] 表4凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531对II型糖尿病小鼠血脂的影响

[0080]

| 组别 | TC(mmol/L) | TG(mmol/L) | HDL(mmol/L) | LDL(mmol/L) |
|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 空白对照组 | 1.89±0.25 | 2.08±0.11 | 2.97±0.18 | 1.09±0.08 |
| 模型组 | 6.63±0.21## | 5.33±0.14## | 1.08±0.07## | 3.85±0.21## |
| 阳性对照组 | 2.88±0.11** | 2.97±0.17** | 2.74±0.12** | 1.56±0.09** |
| MZY531组 | 3.08±0.23** | 3.21±0.25** | 2.81±0.14** | 1.77±0.18** |

[0081]

[0082] 组间比较:##与空白对照组比较,差异极显著($P < 0.01$);*与模型组比较,差异显著($P < 0.05$),**与模型组比较,差异极显著($P < 0.01$)。

[0083] 六、小鼠粪便当中短链脂肪酸检测

[0084] 经凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531干预后,收集小鼠粪便于EP管中置-80℃冰箱中保存。测定粪便中乙酸、丙酸、异丁酸、正丁酸、异戊酸及正戊酸的含量。粪便中短链脂肪酸含量见表5,与空白对照组比较,模型组中乙酸、丙酸、异丁酸、正丁酸、异戊酸及正戊酸的含量均极显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,MZY531组各短链脂肪酸含量呈极显著升高($P < 0.01$)。短链脂肪酸能够维持肠道的正常功能、调控脂肪组织中的脂肪合成与分解。结果显示,凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531能够调节宿主能量平衡。

[0085] 表5凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*) MZY531对II型糖尿病小鼠肠道中短链脂肪酸的影响

[0086]

| 组别 | 乙酸 | 丙酸 | 异丁酸 | 正丁酸 | 异戊酸 | 正戊酸 |
|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 空白对 | 99.92± | 47.03± | 10.45± | 47.01± | 10.28± | 9.12± |
| 模型组 | 47.18± | 20.43± | 3.45± | 17.66± | 1.62± | 3.18± |
| 阳性对 | 89.75± | 38.39± | 5.48± | 25.15± | 2.39± | 3.85± |
| MZY53 | 92.39± | 36.66± | 8.97± | 49.64± | 5.88± | 10.65± |

[0087] 组间比较:##与空白对照组比较,差异极显著($P < 0.01$);*与模型组比较,差异显著

($P < 0.05$), **与模型组比较, 差异极显著 ($P < 0.01$)。

[0088] 七、小鼠肠道菌群组成分析

[0089] 经凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531 干预治疗后, 收集小鼠粪便于 EP 管中置 -80°C 冰箱中保存。提取粪便总 DNA 使用引物 341F/806R (341F: CCTACGGGNGGCWGCAG, 806R: GACTACHVGGGTATCTAATCC) 扩增 16S rRNA 的 V3V4 区域, 并使用 MiSeq 测序仪 (加利福尼亚州圣地亚哥市 Illumina) 进行高通量测序。

[0090] 测序结果如表 6 所示, 与空白对照组比较, 模型组肠道菌群多样性显著降低; 与模型组比较, MZY531 组肠道菌群多样性显著增多, 其中, *Lactobacillus* 的含量较模型组增多 15 倍左右, *Lactobacillus* 是人类肠道中最重要共生微生物之一, 在调解肠道菌群平衡、改善肠道功能中发挥着重要作用; 同时 *Allobaculum* 在 MZY531 组小鼠肠道中明显被富集, *Allobaculum* 可以产生 SCFAs, 对脂质代谢起到了调控作用。因此, 凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) MZY531 可以起到调节 II 型糖尿病小鼠肠道菌群平衡的作用。

[0091] 表 6 各组小鼠肠道菌群属水平的物种相对丰度

[0092]

| 组别 | 空白对照组 | 模型组 | 阳性对照组 | MZY531 组 |
|----------------------|-------|------|-------|----------|
| <i>Allobaculum</i> | 6.4% | 5.5% | 6.9% | 8.8% |
| <i>Oscillospira</i> | 5.3% | 4.7% | 3.5% | 4.4% |
| <i>Flexispira</i> | 1.1% | 0.6% | 2.9% | 1.7% |
| <i>Lactobacillus</i> | 4.9% | 0.2% | 0.6% | 3.0% |
| <i>Desulfovibrio</i> | 1.3% | 0.8% | 1.1% | 4.3% |
| <i>Mucispirillum</i> | 2.3% | 1.3% | 1.8% | 2.8% |
| <i>Ruminococcus</i> | 2.1% | 0.4% | 1.9% | 1.4% |
| <i>Coprococcus</i> | 1.3% | 0.2% | 1.3% | 1.6% |
| <i>Alistipes</i> | 0.9% | 0.1% | 2.8% | 0.2% |

[0093] 本发明公开了一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌及其应用, 本领域技术人员可以借鉴本文内容, 适当改进工艺参数实现。特别需要指出的是, 所有类似的替换和改动对本领域技术人员来说是显而易见的, 它们都被视为包括在本发明。本发明的产品已经通过较佳实施例进行了描述, 相关人员明显能在不脱离本发明内容、精神和范围内对本文所述的产品进行改动或适当变更与组合, 来实现和应用本发明技术。

序列表

- <110> 吉林省命之元生物科技有限公司
 <120> 一株降血糖作用的凝结芽孢杆菌及其应用
 <160> 1
 <170> SIPOSequenceListing 1.0
 <210> 1
 <211> 1380
 <212> DNA
 <213> 人工(1)
 <400> 1

```

gcttgctttt aaaaggtag cggcggacgg gtgagtaaca cgtgggcaac ctgcctgtaa 60
gatcgggata acgccgggaa accggggcta ataccggata gtttttctt cgcgatggag 120
gaaaaaggaa agacggcttt tgetgtcact tacagatggg cccgcggcgc attagctagt 180
tggtggggta acggctcacc aaggcaacga tgcgtagccg acctgagagg gtgatcggcc 240
acattgggac tgagacacgg cccaaactcc tacgggaggc agcagtaggg aatcttccgc 300
aatggacgaa agtctgacgg agcaacgccg cgtgagttaa gaaggccttc gggtcgtaaa 360
actctgttgc cggggaagaa caagtgccgt tcgaacaggg cggcgccttg acggtaccgc 420
gccagaaagc cacggctaac tacgtgccag cagccgcggt aatacgtagg tggcaagcgt 480
tgtccggaat tattgggcgt aaagcgcgcg caggcggctt cttaagtctg atgtgaaatc 540
ttgcggctca accgcaagcg gtcattgaa actgggaggc ttgagtgcag aagaggagag 600
tggaattcca cgtgtagcgg tgaatgcgt agagatgtgg agaacacca gtggcgaagg 660
cggctctctg gtctgtaact gacgtgagg cgcgaaagcg tggggagcaa acaggattag 720
ataccctggg agtccacgcc gtaaacgat agtgctaagt gttagagggt ttccgccctt 780
tagtgctgca gtaacgcat taagcactcc gcctggggag tacggccgca aggctgaaac 840
tcaaaggaat tgacgggggc ccgcacaagc ggtggagcat gtggtttaat tcgaagcaac 900
gcgaagaacc ttaccaggtc ttgacatcct ctgacctcc tggagacagg gccttcccct 960
tcgggggaca gaggacagc ttggtgatgg ttgtcgtcag ctctgtcgt gagatggttg 1020
gttaagtccc gcaacgagcg caacccttga ccttagttgc cagcattcag ttgggcactc 1080
taagtgact gccggtgaca aaccggagga aggtggggat gacgtcaaat catcatgccc 1140
cttatgacct gggctacaca cgtgctacaa tggatggtac aaaggctgc gagaccgca 1200
ggttaagcca atcccagaaa accattcca gttcggattg caggctgcaa cccgcctgca 1260
tgaagccgga atcgcctagta atcgcggatc agcatgccg ggtgaatacg ttcccgggcc 1320
ttgtacacac cgcccgtcac accacgagag tttgtaacac ccgaagtcgg tgaggtaacc 1380

```

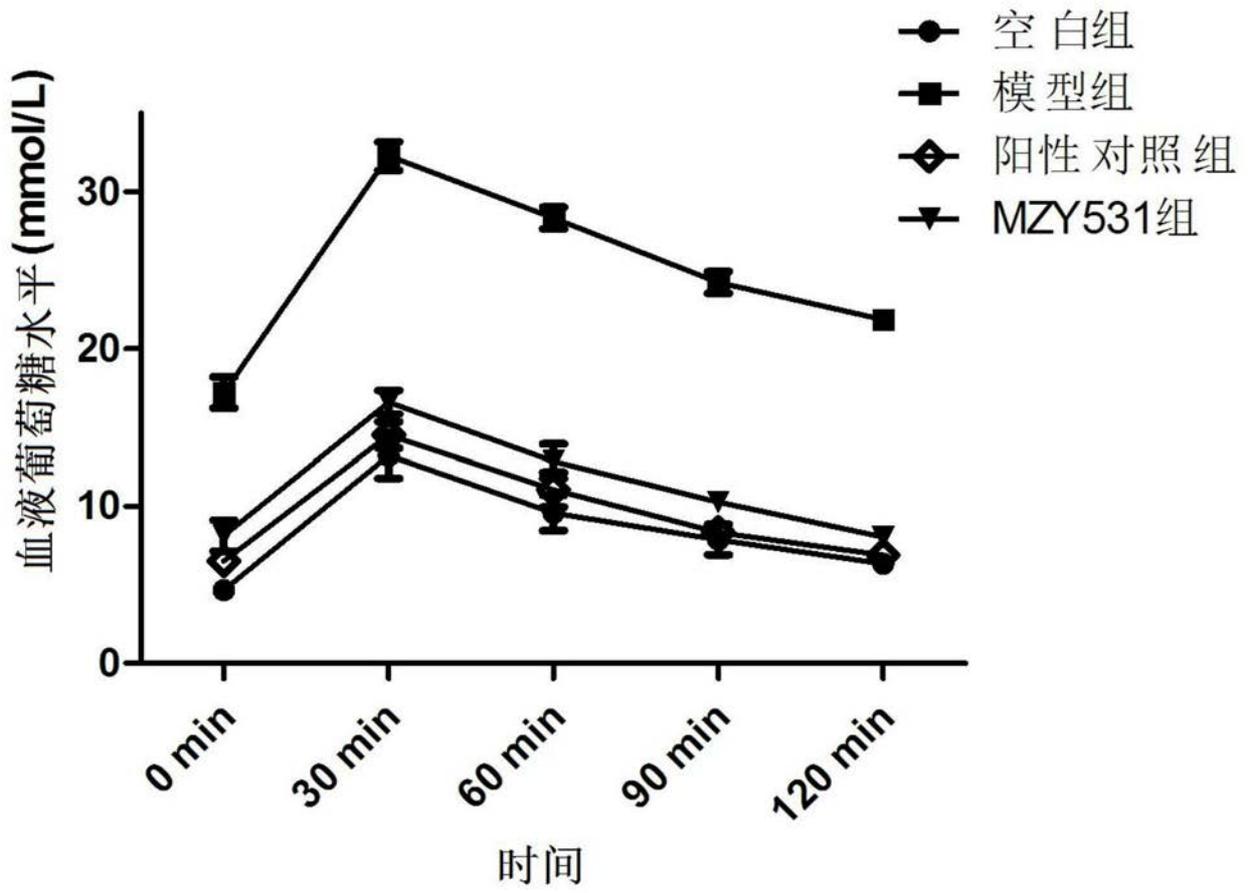


图1

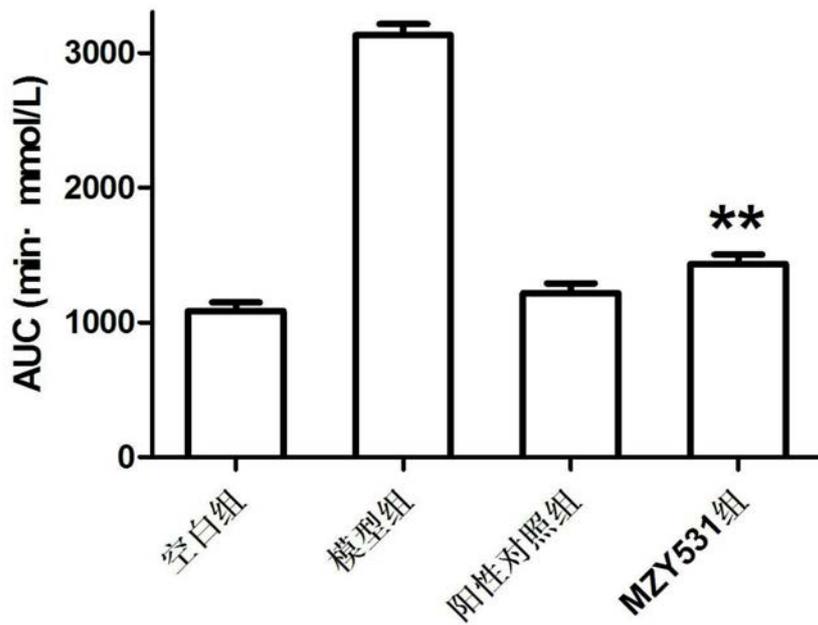


图2