

短双歧杆菌、含短双歧杆菌或其培养物之组成物以及短双歧杆菌或其培养物之用途

5 技术领域

本揭露是关于一种益生菌与其应用，特别是关于一种短双歧杆菌(*Bifidobacterium breve*)、含短双歧杆菌或其培养物之组成物以及短双歧杆菌或培养物之用途。

10 背景技术

体重过重、高血糖、高血脂等皆为心血管疾病的主要危险因子，而健康饮食与适量运动为避免上述危险因子的方式之一。

目前已知属于肠泌素(incretin)之一的类升糖素胜肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1)具有抑制胃动力，使胃排空延迟、抑制食欲、促进胰脏胰岛 β -细胞的胰岛素分泌及抑制胰脏胰岛 α -细胞的胰高血糖素分泌等功效，其为食欲调控、血糖调节、体重控制等研究的热门目标。

益生菌(probiotics)已为现今被广泛接受的保健食品成分。益生菌被定义为含有足量可以改变宿主胃肠道菌丛而产生有益健康效果的活性微生物，其中属于乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)或属于双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)的细菌最被广泛地使用。益生菌通常可藉由刺激乳酸导致肠道pH值下降，而产生有助于更多有益微生物生

长的产物，并提升宿主对病原体的免疫反应。

如前方所述，健康饮食为避免体重过重、高血糖、高血脂等心血管疾病危险因子的方式之一，因而目前仍亟需进行益生菌作为保健食品在食欲调控、血糖调节、体重控制等方面的相关研究，以期
5 可藉由益生菌之食用达成有效健康管理的功效。

发明概述

本揭露提供一种新颖的短双歧杆菌(*Bifidobacterium breve*), 其寄存于财团法人食品工业发展研究所的生物资源保存及研究中心，且寄存编号为BCRC 911145。
10

本揭露也提供一种前述之新颖的短双歧杆菌或其培养物在制备降低食欲及/或促进类升糖素胜肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1)分泌之组成物的用途。

本揭露还提供一种前述之新颖的短双歧杆菌或其培养物在制备抑制脂肪细胞成熟之组成物的用途。
15

本揭露另提供一种前述之新颖的短双歧杆菌或其培养物在制备减少脂肪堆积及/或促进脂肪代谢之组成物的用途。

又，本揭露提供一种前述之新颖的短双歧杆菌或其培养物在制备降低体重之组成物的用途。

20 本揭露更提供一种前述之新颖的短双歧杆菌或其培养物在制备调节血脂之组成物的用途。

本揭露提供一种前述之新颖的短双歧杆菌或其培养物在制备调节血糖之组成物的用途。

此外，本揭露进一步提供一种益生菌组成物，包括前述之新颖的短双歧杆菌或其培养物；以及一益生质(prebiotics)。

5 为了让本揭露之前述之和其他目的、特征、和优点能更明显易懂，下文特举较佳实施例，并配合所附图示，作详细说明如下：

附图说明

图1A显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之
10 细胞分泌类升糖素胜肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1)至培养基的相对量（短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.25%）。

图1B显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的PYY基因的相对表现（细胞培养48小时，短双歧杆菌BCRC
15 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.5%）。相较于Mock组，**： $p < 0.01$ 。

图2A显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之细胞分泌类升糖素胜肽-1 (GLP-1)至培养基的相对量（短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液于培养细胞之培养基中的终浓度为
20 0.125%）。相较于Mock组，*： $p < 0.05$ 。

图2B显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之

细胞的PYY基因的相对表现（细胞培养24小时，短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.125%）。相较于Mock组，***: $p < 0.001$ 。

图3A显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之
5 细胞的C/EBPA基因的相对表现（细胞培养6小时，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.25%）。相较于Mock组，***: $p < 0.001$ 。

图3B显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞中的油红（脂质）含量。相较于Mock组，***: $p < 0.001$ 。

10 图4A显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的UCP1基因与UCP2基因的相对表现（细胞培养24小时，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.125%）。相较于Mock组，*: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$ 。

图4B显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之
15 细胞于培养后之培养基中的甘油量（短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.25%）。相较于Mock组，*: $p < 0.05$ 。

图5显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之细胞的UCP1基因与UCP2基因的相对表现（细胞培养24小时，短双
20 歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.25%）。相较于Mock组，***: $p < 0.001$ 。

图6A显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的ATGL基因的相对表现（细胞培养48小时，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.125%）。相较于Mock组，**： $p < 0.01$ 。

5 图6B显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的PLIN1基因的相对表现（细胞培养6小时，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.25%）。相较于Mock组，***： $p < 0.001$ 。

图6C显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的PPARG2基因的相对表现（细胞培养24小时，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.125%）。相较于Mock组，***： $p < 0.001$ 。

图6D显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的LIPE (HSL)基因的相对表现（细胞培养48小时，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.125%）。相较于Mock组，*： $p < 0.05$ 。

图7A显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之细胞的ATGL基因的相对表现（细胞培养24小时，短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.25%）。相较于Mock组，*： $p < 0.05$ 。

图7B显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之

细胞的PLIN1基因的相对表现（细胞培养24小时，短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.25%）。相较于Mock组，***: $p < 0.001$ 。

图7C显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之
5 细胞的PPARG2基因的相对表现（细胞培养24小时，短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.25%）。相较于Mock组，***: $p < 0.001$ 。

图7D显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之
细胞的CEBPA基因的相对表现（细胞培养24小时，短双歧杆菌
10 BCRC 911145之死菌悬浮液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.125%）。相较于Mock组，***: $p < 0.001$ 。

图8A显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之
细胞的CETP基因的相对表现（细胞培养6小时，短双歧杆菌BCRC
911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.5%）。
15 相较于Mock组，***: $p < 0.001$ 。

图8B显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之
细胞的SCARB1基因的相对表现（细胞培养6小时，短双歧杆菌BCRC
911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.5%）。相较于Mock组，*: $p < 0.05$ 。

20 图8C显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之
细胞的ABCA1基因的相对表现（细胞培养6小时，短双歧杆菌BCRC

911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.5%)。相较于Mock组，***: $p < 0.001$ 。

图8D显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的LDLR基因的相对表现(细胞培养48小时，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.5%)。相较于Mock组，**: $p < 0.01$ 。

图9显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之细胞的CETP基因、SCARB1基因与ABCA1基因的相对表现(细胞培养6小时，短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.125%)。相较于Mock组，*: $p < 0.05$ ，**: $p < 0.01$ ，***: $p < 0.001$ 。

图10显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的葡萄糖转运蛋白4型(GLUT4)的表现。相较于Mock组，**: $p < 0.01$ 。

图11显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之细胞的葡萄糖转运蛋白4型(GLUT4)的相对表现。相较于Mock组，***: $p < 0.001$ 。

图12显示，于活菌粉的功效检验之实验中，受试者之食欲状况的问卷调查结果。相较于第0周，*: $p < 0.05$ ，**: $p < 0.01$ 。

图13显示，于活菌粉的功效检验之实验中，受试者之总胆固醇变化。相较于第0周，*: $p < 0.05$ 。总胆固醇参考值： $<200 \text{ mg/dL}$ 。

图14A显示，于活菌粉的功效检验之实验中，受试者之高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)变化。相较于第0周，**： $p < 0.01$ 。高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)参考值： $>40 \text{ mg/dL}$ 。

图14B显示，于活菌粉的功效检验之实验中，受试者之低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)变化。低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)参考值： $<100 \text{ mg/dL}$ 。

图14C显示，于活菌粉的功效检验之实验中，受试者之低密度脂蛋白胆固醇与高密度脂蛋白胆固醇之比值(LDL/HDL)的变化。低密度脂蛋白胆固醇与高密度脂蛋白胆固醇之比值的参考值：男性： <3.55 ；女性： <3.22 。

图15显示，于活菌粉的功效检验的实验中，受试者之空腹血糖变化。相较于第0周，*： $p < 0.05$ 。空腹血糖参考值： $74-109 \text{ mg/dL}$ 。

图16A显示，含有活菌与大豆萃取物之组成物的功效检验的实验中，受试者之体重变化。

图16B显示，含有活菌与大豆萃取物之组成物的功效检验的实验中，受试者之体脂率变化。

图17显示，含有活菌、大豆萃取物与苹果萃取物之组成物的血糖调节功效检验的实验（方式1）中，受试者之血清类升糖素胜肽-1 (GLP-1)浓度变化。以相同的时间间隔采集同一群受测者在没有服用本揭露组成物情况下的血液样本（控制组）及在服用本揭露组成物之情况下的血液样本（服用本揭露组成物组）。相较于基线

(baseline) (受试者服用本揭露组成物之前 (未服用本揭露组成物) 的空腹血液检验数值 (第0小时)) , * : $p < 0.05$ 。

图18显示, 含有活菌、大豆萃取物与苹果萃取物之组成物的血糖调节功效检验的实验 (方式1) 中, 受试者之血糖浓度变化。以
5 相同的时间间隔采集同一群受测者在没有服用本揭露组成物情况下的血液样本 (控制组) 及在服用本揭露组成物之情况下的血液样本 (服用本揭露组成物组)。相较于基线 (受试者服用本揭露组成物之前 (未服用本揭露组成物) 的空腹血液检验数值 (第0小时)) , * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$ 。

10 图19显示, 含有活菌、大豆萃取物与苹果萃取物之组成物的血糖调节功效检验的实验 (方式2) 中, 受试者之血清类升糖素胜肽-1 (GLP-1) 浓度变化。以相同的时间间隔采集同一群受测者在没有服用本揭露组成物情况下的血液样本 (控制组) 及在服用本揭露组成物之情况下的血液样本 (服用本揭露组成物组)。

15 图20A显示, 含有活菌、大豆萃取物与苹果萃取物之组成物的血糖调节功效检验的实验 (方式2) 中, 受试者之血糖浓度变化。以相同的时间间隔采集同一群受测者在没有服用本揭露组成物情况下的血液样本 (控制组) 及在服用本揭露组成物之情况下的血液样本 (服用本揭露组成物组)。相较于基线 (受试者服用本揭露组成物之前 (未服用本揭露组成物) 的空腹血液检验数值 (第0小时)) , *** : $p < 0.001$ 。相较于控制组, # : $p < 0.05$ 。

20

图20B显示，含有活菌、大豆萃取物与苹果萃取物之组成物的血糖调节功效检验的实验（方式2）中，受试者之血液胰岛素浓度变化。以相同的时间间隔采集同一群受测者在没有服用本揭露组成物情况下的血液样本（控制组）及在服用本揭露组成物之情况下的血液样本（服用本揭露组成物组）。相较于基线（受试者服用本揭露组成物之前（未服用本揭露组成物）的空腹血液检验数值（第0小时）），**： $p < 0.01$ 。

图21显示，含有活菌、大豆萃取物与苹果萃取物之组成物的血糖调节功效检验的实验（方式2）中，于实验之第5日与第8日（连续服用前述组成物3日（第5日至第7日）之后）之受试者的空腹血糖浓度变化。

图22A显示，含有活菌、大豆萃取物与苹果萃取物之组成物的血糖调节功效检验的实验（方式2）中，关于受试者之饥饿感的问卷调查结果。

图22B显示，含有活菌、大豆萃取物与苹果萃取物之组成物的血糖调节功效检验的实验（方式2）中，关于受试者之食欲旺盛程度的问卷调查结果。

图22C显示，含有活菌、大豆萃取物与苹果萃取物之组成物的血糖调节功效检验的实验（方式2）中，关于受试者之整体食欲变化的问卷调查结果。

发明详述

本揭露可提供一种益生菌，其可为一经分离的益生菌。上述本揭露经分离的益生菌可为短双歧杆菌(*Bifidobacterium breve*)。

在一实施例中，上述本揭露经分离的益生菌可为一新颖的短双歧杆

5 菌，其系于2022年8月8日寄存于中国台湾食品工业发展研究所

(Food Industry Research and Development Institute, FIRDI)

生物资源保存及研究中心(Bioresource Collection and Research

Center, BCRC)，并获得寄存编号BCRC 911145，且其也于2022

年9月7日寄存于德国微生物菌种保藏中心(German Collection of

10 Microorganisms and Cell Cultures GmbH, DSMZ)，并获得寄

存编号DSM 34383，而为求简洁，后续于本揭露内容中将此新颖

的短双歧杆菌称为短双歧杆菌BCRC 911145。

本揭露之短双歧杆菌BCRC 911145的功效可包括，但不限于，

降低食欲、促进类升糖素胜肽-1 (glucagon-like peptide-1,

15 GLP-1)分泌、抑制脂肪细胞成熟、减少脂肪堆积、促进脂肪代谢、

降低体重、调节血脂（例如，降低总胆固醇、促进高密度脂蛋白胆

固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)合成、促

进低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol,

LDL-C)代谢)、调节血糖等，或上述之任意组合。

20 本揭露之短双歧杆菌BCRC 911145的应用并无特别限制，例

如，本揭露之短双歧杆菌BCRC 911145可应用于健康管理及/或医

疗等相关领域，特别是可应用于食欲控制、体重控制、体脂肪调节、血脂调节、血糖调节等方面，但也不限于此。

在一实施例中，前述本揭露之短双歧杆菌BCRC 911145可经制备为一口服剂型。上述口服剂型的例子，可包括，但不限于，粉
5 剂、颗粒(granule)、锭剂(tablet)、片剂(troche)、丸剂(pill)、
胶囊(capsule)、口含锭(lozenge)、溶液、悬浮液(suspension)、
乳剂(emulsion)、糖浆(syrup)、酏剂(elixir)或浓浆(slurry)等。

在一特定实施例中，前述本揭露之短双歧杆菌BCRC 911145
可经制备为一口服剂型的粉剂。在另一特定实施例中，本揭露之短
10 双歧杆菌BCRC 911145可经制备为一口服剂型的胶囊。在又另一
特定实施例中，本揭露之短双歧杆菌BCRC 911145可经制备为一
口服剂型的溶液。

本揭露也可提供一种益生菌培养物，其为任何前述之本揭露益
生菌的培养物，而于此所述之益生菌可包括短双歧杆菌。在一实施
15 例中，于此所述之益生菌可为前述短双歧杆菌BCRC 911145。

前述本揭露之益生菌培养物可包括，经培养之前述益生菌（亦
即，经培养之益生菌单独）、含有经培养之前述益生菌之一经培养
的培养基（亦即，经培养之益生菌加上经培养之培养基），或者经
去除经培养之前述益生菌的一培养上清液（即，经培养之培养基单
20 独），但也不限于此。

将经培养之前述益生菌与经培养之培养基分离以获得单独之经

培养的前述益生菌与前述培养上清液（单独之经培养的培养基）的方式并无特别限制，只要可将两者分离即可。例如，可经由如离心、过滤等方式使经培养之前述益生菌与经培养之培养基分离，但不限于此。

5 另外，本揭露之益生菌培养物中之经培养之培养基或培养上清液所含有的短链脂肪酸(short-chain fatty acid, SCFA)，可包括下列之至少一者，但不限于此：甲酸(formic acid)、乙酸(acetic acid)、丙酸(propionic acid)、丁酸(butyric acid)、异丁酸(isobutyric acid)、3-甲基丁酸(3-methylbutyric acid)等。

10 对于前述本揭露之益生菌培养物而言，在一实施例中，前述经培养之益生菌可具备活性或维持其活性，或者可为活菌。

又，对于前述本揭露之益生菌培养物而言，在另一实施例中，前述经培养之益生菌可经去除其本身之生理活性（菌体丧失其生理功能），或者可为死菌。而将前述经培养之益生菌去除其本身之生理活性或使其成为死菌的方式并无特殊限制，只要可使前述经培养之益生菌去除其本身之生理活性或使其成为死菌即可。在一实施例中，可经由物理方式去除经培养之前述益生菌的活性或使其成为死菌，例如，可藉由高温及/或高压使经培养之前述益生菌去除其本身之生理活性（菌体丧失其生理功能）或使其成为死菌，但不限于此。

20 在一实施例中，前述本揭露之益生菌培养物可为经培养之前述益生菌（亦即，经培养之益生菌单独）。对于此实施例而言，于一

特定实施例中，经培养之前述益生菌可具备活性或维持其活性，或者可为活菌，然而于另一特定实施例中，经培养之前述益生菌则可为经去除其本身之生理活性（菌体丧失其生理功能），或者可为死菌。

5 在另一实施例中，前述本揭露之益生菌培养物可为含有经培养之前述益生菌之一经培养的培养基（亦即，经培养之益生菌加上经培养之培养基）。对于此实施例而言，于一特定实施例中，经培养之前述益生菌可具备活性或维持其活性，或者可为活菌，然而于另一特定实施例中，经培养之前述益生菌则可为经去除其本身之生理
10 活性（菌体丧失其生理功能），或者可为死菌。

 在又另一实施例中，前述本揭露之益生菌培养物可为经去除经培养之前述益生菌的一培养上清液（亦即，经培养之培养基单独）。对于此实施例而言，于一特定实施例中，前述培养上清液可为经消毒及/或灭菌，然而于另一特定实施例中，前述培养上清液则可为未
15 经消毒及/或灭菌。将前述培养上清液消毒及/或灭菌的方式也无特别限制，只要可使前述培养上清液成为无菌状态及/或去除其中可能含有的毒素即可。例如，可藉由高温及/或高压使前述培养上清液成为无菌状态及/或去除其中可能含有的毒素，但不限于此。

 再者，对于前述本揭露之益生菌培养物而言，用于培养前述益
20 生菌以产生前述本揭露之益生菌培养物的培养基也并无特殊限制，只要其可使前述益生菌生长即可。而可用于培养前述益生菌以产生

前述本揭露之益生菌培养物的培养基的例子，则可包括，但不限于，MRS肉汤(DeMan-Rogosa-Sharpe broth)、溶菌肉汤(Lysogeny broth, LB)、脱脂乳培养基(skim milk medium)等。对于前述本揭露之益生菌培养物而言，在一实施例中，用于培养前述益生菌以

5 产生前述本揭露之益生菌培养物的培养基可为MRS肉汤。

在一实施例中，前述本揭露之益生菌培养物可经制备为一口服剂型。上述口服剂型的例子，可包括，但不限于，粉剂、颗粒(granule)、锭剂(tablet)、片剂(troche)、丸剂(pill)、胶囊(capsule)、口含锭(lozenge)、溶液、悬浮液(suspension)、乳剂

10 (emulsion)、糖浆(syrup)、酏剂(elixir)或浓浆(slurry)等。

在一特定实施例中，前述本揭露之益生菌培养物可经制备为一口服剂型的粉剂。在另一特定实施例中，前述本揭露之益生菌培养物可经制备为一口服剂型的胶囊。在又另一特定实施例中，前述本揭露之益生菌培养物可经制备为一口服剂型的溶液。

15 此外，对于任一前述本揭露之益生菌培养物而言，于一特定实施例中，所述益生菌可为前述短双歧杆菌BCRC 911145。

前述本揭露之益生菌培养物可具有降低食欲、促进类升糖素胜肽-1 (GLP-1)分泌、抑制脂肪细胞成熟、减少脂肪堆积、促进脂肪代谢、降低体重、调节血脂（例如，降低总胆固醇、促进高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)合成、促进低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)代谢

20 等）、调节血糖等或上述之任意组合的功效，但不限于此。

又，前述本揭露之益生菌培养物的应用也无特别限制。例如，前述本揭露之益生菌培养物可应用于健康管理及/或医疗等相关领域，特别是可应用于食欲控制、体重控制、体脂肪调节、血脂调节、血糖调节等方面，但也不限于此。

5 基于上述，本揭露也可提供任何前述之本揭露益生菌或任何前述之其培养物的以下用途，但不限于此：

(i) 一种任何前述之本揭露益生菌或任何前述之其培养物在制备降低食欲及/或促进类升糖素胜肽-1 (GLP-1)分泌之组成物的用途；

10 (ii) 一种任何前述之本揭露益生菌或任何前述之其培养物在制备抑制脂肪细胞成熟之组成物的用途；

(iii) 一种任何前述之本揭露益生菌或任何前述之其培养物在制备减少脂肪堆积及/或促进脂肪代谢之组成物的用途；

15 (iv) 一种任何前述之本揭露益生菌或任何前述之其培养物在制备降低体重之组成物的用途；

(v) 一种任何前述之本揭露益生菌或任何前述之其培养物在制备调节血脂之组成物的用途。所述调节血脂可包括，降低总胆固醇、促进高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)合成、促进低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)代谢等，但不限于此；及/或

20 (vi) 一种任何前述之本揭露益生菌或任何前述之其培养物在制备调节血糖之组成物的用途。

又，基于上述，本揭露还可提供以下方法，但也不限于此：

(i) 一种降低食欲及/或促进类升糖素胜肽-1 (GLP-1)分泌的方法，包括，但不限于，投予任何前述之本揭露益生菌或任何前述之其培养物至一需要其之个体；

5 (ii) 一种抑制脂肪细胞成熟的方法，包括，但不限于，投予任何前述之本揭露益生菌或任何前述之其培养物至一需要其之个体；

(iii) 一种减少脂肪堆积及/或促进脂肪代谢的方法，包括，但不限于，投予任何前述之本揭露益生菌或任何前述之其培养物至一需要其之个体；

10 (iv) 一种降低体重的方法，包括，但不限于，投予任何前述之本揭露益生菌或任何前述之其培养物至一需要其之个体；

(v) 一种调节血脂的方法，包括，但不限于，投予任何前述之本揭露益生菌或任何前述之其培养物至一需要其之个体。所述调节血脂可包括，降低总胆固醇、促进高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)合成、促进低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)代谢等，但不限于此；及/或

15

(vi) 一种调节血糖的方法，包括，但不限于，投予任何前述之本揭露益生菌或任何前述之其培养物至一需要其之个体。

而上述个体则可包括，一脊椎动物，但不限于此。又，前述之脊椎动物可包括鱼类、两栖类、爬虫类、鸟类或哺乳类，但不限于此。哺乳类的例子可包括，但不限于，人类、猩猩、猴子、马、驴、

20

骆马、山羊、猪、狗、猫、兔子、天竺鼠、大鼠与小鼠等。在一实施例中，上述个体可为人类。

此外，本揭露还可进一步提供一种益生菌组成物。前述本揭露之益生菌组成物，可包括，但不限于，任何前述之本揭露益生菌或
5 任何前述之其培养物与一益生质(prebiotics)。

于本揭露之益生菌组成物中，前述本揭露益生菌或其培养物与前述益生质的重量比可为约1-6:1-12，如约1-5.5:1.5-11、约1-5:1.5-10、约1-4:2-9、约1-3:3-5、约1:1、约1:1.5、约1:2、约1:2.5、约1:3、约1.5:1、约2:1、约2:1.5、约2:3、约3:1、约
10 3:8、约4:7、约5:6、约6:5、约6:7等，但不限于此。在一实施例中，于本揭露之益生菌组成物中，前述本揭露益生菌或其培养物与前述益生质的重量比可为约1:1。在另一实施例中，于本揭露之益生菌组成物中，前述本揭露益生菌或其培养物与前述益生质的重量比可为约1:1.5。在又另一实施例中，于本揭露之益生菌组成物中，
15 前述本揭露益生菌或其培养物与前述益生质的重量比可为约1:2。

而上述益生质则可包括下列成分之至少一者，但不限于此：大豆萃取物、燕麦萃取物、大麦萃取物、苹果萃取物、香蕉萃取物、西红柿萃取物、菊苣萃取物、芦笋萃取物、甜菜萃取物、大蒜萃取物、洋葱萃取物、海藻萃取物、果胶萃取物、茶叶萃取物等。

20 在一实施例中，于本揭露之益生菌组成物中，前述益生质可包括大豆萃取物。于此实施例中，前述本揭露益生菌或其培养物与前

述大豆萃取物的重量比可为约1-6:1-6，如约1-5:1-5、约1.5-4:1.5-4、约2-5:2-5、约2.5-6:2.5-6、约1:1、约1:1.5、约1:2、约1:2.5、约1:3、约1:4、约1.5:1、约2:1、约2.5:1、约3:1、约4:1、约2:3、约3:2、约5:6、约6:5等，但不限于此。又，于此
5 实施例的一特定实施例中，前述本揭露益生菌或其培养物与前述大豆萃取物的重量比可为约1:1。而于此实施例的另一特定实施例中，前述本揭露益生菌或其培养物与前述大豆萃取物的重量比可为约1:1.5。

在另一实施例中，于本揭露之益生菌组成物中，前述益生质可
10 包括大豆萃取物与苹果萃取物。于此实施例中，前述本揭露益生菌或其培养物、前述大豆萃取物与前述苹果萃取物的重量比可为约1-6:1-6:1-6，如约1-5:1-5:1-5、约1.5-4:1.5-4:1.5-4、约2-5:2-5:2-5、约2.5-6:2.5-6:2.5-6、约1:1:1、约1:1.5:1.5、约1:1.5:1、约1:1:1.5、约1.5:1:1、约1:2:2、约1:2:1、约1:1:2、
15 约2:2:1、约2:1:1、约1:2.5:2.5、约1:2.5:1、约1:1:2.5、约2.5:1:1、约1:3:3、约1:3:1、约1:1:3、约3:1:1、约1:4:4、约1:4:1、约1:1:4、约4:1:1、约2:3:3、约3:2:2、约5:6:6、约6:5:5等，但不限于此。又，于此实施例的一特定实施例中，前述本揭露益生菌或其培养物、前述大豆萃取物与前述苹果萃取物的重量比可为约1:1:1。而于此实
20 施例的另一特定实施例中，前述本揭露益生菌或其培养物、前述大豆萃取物与前述苹果萃取物的重量比可为约1:1.5:1.5。

此外，本揭露之益生菌组成物可为一食品组成物、一医药组成物等，但不限于此。

在一实施例中，本揭露之益生菌组成物可为一食品组成物。于此实施例中，本揭露之益生菌组成物可被制备为一口服剂型，但也不限于此。

在另一实施例中，本揭露之益生菌组成物则可为一医药组成物。而于此实施例中，本揭露之益生菌组成物同样也可被制备为一口服剂型，但也不限于此。

本揭露之益生菌组成物所被制备成的口服剂型，可包括，但不限于，粉剂、颗粒、锭剂、片剂、丸剂、胶囊、口含锭、溶液、悬浮液、乳剂、糖浆、酏剂或浓浆等。

在一实施例中，本揭露之益生菌组成物所被制备成的口服剂型为一粉剂。在另一实施例中，本揭露之益生菌组成物所被制备成的口服剂型为一胶囊。在又另一实施例中，本揭露之益生菌组成物所被制备成的口服剂型为一溶液。

又，于本揭露之益生菌组成物可为一食品组成物的实施例中，本揭露之益生菌组成物除了前述本揭露之益生菌培养物与前述益生菌质以外，还可更包括一食品上可接受之添加剂。

前述食品上可接受之添加剂可包括，但不限于，防腐剂、杀菌剂、抗氧化剂、漂白剂、保色剂、膨胀剂、着色剂、调味剂、甜味剂、粘稠剂（糊料）、结着剂、乳化剂、载体等，或其任意之组合。

又，于本揭露之益生菌组成物可为一医药组成物的实施例中，本揭露之益生菌组成物除了前述本揭露之益生菌培养物与前述益生菌质以外，还可更包括一药学上可接受之载体或盐类。

前述药学上可接受之载体可包括，但不限于，溶剂、分散媒
5 (dispersion medium)、套膜(coating)、抗菌与抗真菌试剂与一等渗透压与吸收延迟(absorption delaying)试剂等与药学投予相容者。对于不同的给药方式，可利用一般方法将药学组合物配制成剂型(dosage form)。

而前述药学上可接受之盐类则可包括，无机阳离子，例如，碱
10 金属盐类，如钠、钾或胺盐，碱土金属盐类，如镁、钙盐，含二价或四价阳离子之盐类，如锌、铝或镉盐。此外，也可是为有机盐类，如二环己胺盐类、甲基-D-葡萄糖胺，胺基酸盐类，如精胺酸、离胺酸、组织胺酸、麸胺酸酰胺，但不限于此。

15 实施例

A. 材料与方法

1. 菌种鉴定

将分离自人体肠道的一分离菌株，依据 GenomesDB 数据库以
用于平均核苷酸同一性(average nucleotide identity, ANI)计算
20 的软件/工具，JSpeciesWS online web server，进行全基因组平均核苷酸同一性分析，结果如下方表1所示。

表 1

菌株种类(Type strains)	大小	GC [%]	ANIb 值 (%)
短双歧杆菌 (<i>Bifidobacterium breve</i>) LMG 13208	2,263,780	58.88	97.93
短双歧杆菌BBRI4	2,426,720	58.72	97.74
短双歧杆菌BR3	2,426,006	59.09	97.81
短双歧杆菌GED8481	2,356,336	58.66	97.75
短双歧杆菌NCTC11815 [T]	2,275,664	58.89	97.95
短双歧杆菌12L	2,244,624	58.87	98.03
短双歧杆菌2L	2,240,722	58.85	98.03
短双歧杆菌31L	2,265,654	58.57	98.06
短双歧杆菌689b	2,331,707	58.73	97.98
短双歧杆菌 ACS-071-V-Sch8b	2,327,492	58.73	98.43
短双歧杆菌CECT 7263	2,314,396	58.88	98.33
短双歧杆菌DSM 20213 = JCM 1192 DSM 20213	2,257,131	58.87	97.94
本揭露分离菌株	2,460,420	59.1	100

依据全基因组平均核苷酸同一性分析之结果可知，此分离菌株的全基因组序列与短双歧杆菌(*Bifidobacterium breve*)亚种相似

性在97.74%至98.43%之间（如表1所示）。因此，确认此分离菌株为新颖的短双歧杆菌。

将此新颖的短双歧杆菌于2022年8月8日寄存于中国台湾食品工业发展研究所生物资源保存及研究中心，并获得寄存编号BCRC 911145，且也将此新颖的短双歧杆菌于2022年9月7日寄存于德国微生物菌种保藏中心(German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH, DSMZ)，并获得寄存编号DSM 34383。后续将此新颖的短双歧杆菌称为短双歧杆菌BCRC 911145。

10 2. 短双歧杆菌BCRC 911145的培养以及培养物的取得

2-1. 短双歧杆菌BCRC 911145的培养

2-1-1. 5 L发酵槽准备

于5 L发酵槽中以市售食品级MRS肉汤(DeMan-Rogosa-Sharpe broth)培养基粉末（厂商：上鼎生技有限公司(STBIO MEDIA, INC.)）配制3 L之MRS肉汤培养基(55 g/L)。需确认所配制之培养基中的粉末完全溶解。

将含培养基之上述5 L发酵槽进行灭菌（121℃，30分钟）。于灭菌完成后，对发酵槽进行通气（3 L/分钟），并使其降温至37℃。

2-1-2. 5 L发酵槽发酵

20 于上述发酵槽准备完成后，于37℃，对发酵槽进行通气（3 L/分钟）并搅拌培养基(100 rpm)，20分钟。同时，校正溶氧电极

(100%)。

于溶氧小于5%时，才可于发酵槽之培养基植入短双歧杆菌 BCRC 911145以进行发酵，且于植入菌株前须确认发酵槽未被污染。

5 菌株植入与发酵条件如下所示：

(1) 用以植入发酵槽之菌株悬浮液于600nm的吸光值(OD_{600}):

3.0-5.0;

(2) 植入菌量：5% (v/v);

(3) 溶氧量：<1% (通少量氮气维持)；

10 (4) 搅拌速率：25 rpm;

(5) 温度： $37\pm1^{\circ}\text{C}$ ；

(6) pH： 6.0 ± 0.1 ；

(7) 培养时间：约6-8小时（培养至发酵槽中经培养之培养基于600 nm的吸光值(OD_{600})为3.0-4.0）。

15 于发酵完成后，取样检验，以显微镜拍照确认菌体型态，并确认菌株活性。

之后，将发酵槽冷却（温度设定为 4°C ，实际温度小于 15°C ）。

2.2 培养物的取得

20 **2-2-1. 经培养之短双歧杆菌 BCRC 911145之活菌的取得**

于上述「 2-1-2. 5 L发酵槽发酵」完成后，进行离心以去除

培养基获得活菌。

离心条件如下所示：

10000 rpm，10分钟。

于离心后，将活菌进行冷冻干燥。

5 之后，将经冷冻干燥之活菌粉碎，以形成活菌粉。

2-2-2. 经培养之短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液的取得

于上述「 2-1-2. 5 L发酵槽发酵」完成后，将发酵槽进行灭菌（蒸气灭菌30分钟）。

10 待冷却后，进行离心以去除菌体而获得培养上清液。

离心条件如下所示：

10000 rpm，10分钟。

2-2-3. 经培养之短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液的取得

15 于上述「 2-1-2. 5 L发酵槽发酵」完成后，将发酵槽进行灭菌（蒸气灭菌30分钟）。

待冷却后，进行离心以去除培养基获得死菌。

离心条件如下所示：

5000 rpm，10分钟。

20 于离心后，对死菌添加与离心前之培养物等体积的水以形成死菌悬浮液。

3. 体外 (*in vitro*) 细胞分泌之类升糖素胜肽 -1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 的检测

3-1. 材料

5 (1) 细胞株: NCI-H716细胞(ATCC, CCL-251);

(2) 培养基:

RPMI 1640培养基 (Gibco);

10% (v/v)胎牛血清(fetal bovine serum)(Gibco);

2 mM L-麸酰胺酸(L-Glutamine)(Gibco);

10 1% (v/v) 青霉素 - 链霉素

(penicillin-streptomycin) (Gibco);

(3) 台盼蓝死细胞染色剂 (Lonza; Cat. 17-942E);

(4) PBS (Gibco);

(5) ELISA reader (BioTek);

15 (6) GLP-1 ELISA KIT (CEA804Mi)。

3-2. 方法

(1) 将细胞以 1×10^5 个细胞/孔的密度接种于6孔细胞培养盘 (培养体积为 2 mL), 并于 37°C , 5% CO_2 培养箱培养24小时;

(2) 检测前两天, 将 1×10^5 个细胞/孔细胞分种至已涂覆Matrix
20 gel的24孔盘, 并将培养基置换成DMEM完全培养基, 并培养细胞
24小时;

(3) 检测前一天，将细胞培养液换成DMEM w/o 葡萄糖培养基，同时加入毛喉素(forskolin)（于培养基中之最终浓度为1 μ M）与 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(3-isobutyl-1-methylxanthine, IBMX)（于培养基中之最终浓度为1 μ M）共培养4小时；

5 (4) 去除培养盘各孔洞中之上清液，接着于各孔中加入含有1 mM CaCl_2 之PBS（300 μ L/孔），并加入不同之待测样本以及1 μ M的毛喉素与1 μ M的3-异丁基-1-甲基黄嘌呤，之后进行培养24小时；

(5) 经24小时培养后，从各孔吸取上清液，使用GLP-1 ELISA KIT (CEA804Mi)检测上清液中GLP-1含量，以确认细胞分泌至培
10 养基的GLP-1量；

(6) 统计分析则经由Excel以单尾(one tailed)学生氏t检定 (Student's t-test, T-TEST)进行（相较于Mock，*： $p < 0.05$ ，**： $p < 0.01$ ，***： $p < 0.001$ ）。

15 4. 体外细胞之PYY基因之表现的检测

4-1. 材料与仪器

(1) 细胞株：NCI-H716细胞(ATCC, CCL-251)；

(2) 培养基：

89% (v/v)RPMI 1640培养基(Gibco)；

20 10% (v/v)胎牛血清(fetal bovine serum)(Gibco)；

2 mM L-麸酰胺酸(L-Glutamine)(Gibco)；

1% (v/v) 青霉素 - 链霉素
(penicillin-streptomycin) (Gibco);

(3) RNA Extraction Kit (Geneaid);

(4) SuperScript® III 反转录酶 (reverse transcriptase)

5 (Invitrogen);

(5) 引子组 (primer set): 针对PYY基因的引子组与针对作为
内部控制之GAPDH基因的引子组;

(6) KAPA CYBR FAST qPCR Kits (2x) (KAPA
Biosystems);

10 (7) StepOnePlus实时聚合酶链锁反应仪(ABI)。

4-2. 方法

4-2-1. 细胞之培养与前处理

(1) 将细胞以 1×10^5 个细胞/孔的密度接种于6孔细胞培养盘
(培养体积为 2 mL), 并于 37°C , 5% CO_2 培养箱培养24小时;

15 (2) 之后, 将细胞以不同待测样本处理24小时及48小时;

(3) 收取细胞以进行基因表现分析。

4-2-2. 基因表现分析

(1) 使用 RNA Extraction Kit (Geneaid) 萃取细胞之RNA;

(2) 以 SuperScript® III Reverse Transcriptase
20 (Invitrogen), 将上述RNA (2000 ng) 反转录为cDNA;

(3) 使用 KAPA SYBR FAST qPCR Kits (2x) (KAPA

Biosystems)藉由StepOnePlus实时聚合酶链锁反应仪，针对上述cDNA进行实时聚合酶链锁反应，以测量目标基因之表现量；

(4) 分析实时聚合酶链锁反应过程中之熔化曲线 (melting curve)；

5 (5) 使用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法测定基因表现的相对定量。以GAPDH参考基因的循环阈值(threshold cycle, C_T 值)作为内部对照与模拟组，依据下方式(I)至式(III)所示之公式计算相对倍数变化：

$$\Delta C_T = C_{T_{\text{目标基因/参考基因}}} - C_{T_{\text{内部控制}}}$$

式(I)；

10

$$\Delta\Delta C_T = \Delta C_{T_{\text{目标基因}}} - \Delta C_{T_{\text{参考基因}}}$$

式(II)；

15

$$\text{倍数改变} = 2^{-\Delta\Delta C_{T_{\text{平均值}}}}$$

式(III)

(6) 基因之相对表现量的标准偏差系藉由Excel中的STDEV来计算；

(7) 统计分析则经由Excel以单尾(one tailed)学生氏t检定(Student's t-test, T-TEST)进行 (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$)。

5. 体外细胞之脂肪相关基因(CEBPA、UCP、ATGL、PLIN1、

PPARG2与LIPE(HSL))之表现的检测

5.1 材料与仪器

(1) 细胞株：小鼠骨髓基质细胞(bone marrow, stroma)OP9
(BCRC; Cat. 60566);

5 (2) 培养基:

最低限度必需培养基 α (minimum essential
medium α , MEM α) (Gibco; Cat.12000-022, 或同功能之品
项);

2% (v/v) 胎牛血清(fetal bovine ferum) (Gibco;
10 Cat. 10437-028);

1% (v/v) 抗生素(Gibco; Cat.15240-062, 或同功
能之品项);

(3) 10X DPBS (Gibco; Cat. 14200-075, 或同功能之品项);

(4) 台盼蓝死细胞染色剂 (Lonza; Cat. 17-942E, 或同功能
15 之品项);

(5) RB Buffer (Geneaid; Cat. RP050, 或同功能之品项);

(6) 10X胰蛋白酶溶液(SIGMA; Cat.59427C, 或同功能之
品项);

(7) RNA Extraction Kit (Geneaid);

20 (8) SuperScript® III 反转录酶(reverse transcriptase)
(Invitrogen);

(9) 引子组(primer set): 分别针对各待测基因 (CEBPA、UCP、ATGL、PLIN1、PPARG2及LIPE(HSL)) 的引子组以及针对作为内部控制之GAPDH基因的引子组;

(10) KAPA CYBR FAST qPCR Kits (2x) (KAPA Biosystems);

(11) StepOnePlus实时聚合酶链锁反应仪(ABI)。

5-2. 方法

5-2-1. 操作试剂的制备

(1) 1X DPBS: 将10X DPBS以经灭菌之ddH₂O稀释10倍;

10 (2) 1X 胰蛋白酶溶液: 10X 胰蛋白酶溶液以1X DPBS稀释10倍。

5-2-2. 细胞的培养与前处理

(1) 将细胞以 1×10^5 个细胞/孔的密度种植于6孔细胞培养盘(培养体积为 2 mL), 并于37℃, 5% CO₂培养箱培养24小时;

15 (2) 之后, 将细胞分别为Mock组、实验组(高剂量组及低剂量组), 并于添加不同待测样本后, 将细胞置于37℃, 5% CO₂培养箱以处理6小时、24小时及48小时;

(3) 于处理完成后, 去除培养基;

(4) 将细胞以1X DPBS清洗(1 mL/孔), 之后移除1X DPBS;

20 (5) 重复步骤(4);

(6) 加入RB Buffer (600 μL/孔) 使细胞裂解以获得细胞裂解

液；

(7) 将细胞裂解液收集于1.5 mL微量离心管中并保存于-80℃冰箱。

5-2-3. 基因表现分析

5 (1) 使用 RNA Extraction Kit (Geneaid) 萃取细胞之RNA；

(2) 以 SuperScript® III Reverse Transcriptase (Invitrogen)，将上述RNA (2000 ng) 反转录为cDNA；

(3) 使用 KAPA SYBR FAST qPCR Kits (2x) (KAPA Biosystems) 藉由StepOnePlus实时聚合酶链锁反应仪，针对上述
10 cDNA进行实时聚合酶链锁反应，以测量目标基因之表现量；

(4) 分析实时聚合酶链锁反应过程中之熔化曲线 (melting curve)。

(5) 使用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法测定基因表现的相对定量。以GAPDH参考基因的循环阈值(threshold cycle, C_T 值)作为内部对照与模拟
15 组，依据前方式(I)至式(III)所示之公式计算相对倍数变化。

6. 体外细胞之脂肪堆积的检测

利用OP9小鼠胚胎干细胞(mouse embryonic stem cell)做为细胞平台，确认实验组中之测试样本是否具备减少油滴形成的功效。

20 6-1. 材料

(1) 细胞株：OP9小鼠胚胎干细胞(mouse embryonic stem

cell (ATCC; Cat. CRL-2749);

(2) 培养基:

79% (v/v)最低限度必需培养基 α (MEM α) (Gibco;
Cat. 12561072);

5 20% (v/v) 胎牛血清(fetal bovine ferum) (Gibco;
Cat. 10437-028);

1% (v/v) 青霉素-链霉素(Gibco; Cat. 15140122);

(3) 10X DPBS (Gibco; Cat. 14200-075, 或同功能之品项);

(4) 台盼蓝死细胞染色剂 (Lonza; Cat. 17-942E, 或同功能
10 之品项);

(5) 10X 胰蛋白酶溶液(Gibco; Cat. 15400-054);

(6) 油红O (Oil red O) (Sigma; Cat. O0625-25G);

(7) 异丙醇(isopropanol) (景明; Cat. 184130010);

(8) 甲醛(formaldehyde) (景明; Cat. 119690010)。

15 **6-2 方法**

6-2-1. 操作试剂的制备

(1) 1X DPBS: 将10X DPBS以经灭菌之ddH₂O稀释10倍;

(2) 1X 胰蛋白酶溶液: 10X 胰蛋白酶溶液以1X DPBS稀释
10倍;

20 (3) 10%甲醛: 将甲醛以经灭菌的ddH₂O稀释;

(4) 50%与60%异丙醇: 将异丙醇以经灭菌的ddH₂O稀释;

(5) 油红O储备溶液(stock solution): 将油红O以100%异丙醇配制成终浓度3 mg/mL的油红O储备溶液;

(6) 油红O工作溶液(working solution): 将油红O储备溶液与ddH₂O以3:2的比例混合均匀以形成一混合溶液。之后将混合溶液以1000 x g离心10分钟, 并取上清液至新的15 mL离心管备用。

6-2-2. 细胞培养与前处理

(1) 将细胞以8 x 10⁴个细胞/孔的密度接种于24孔细胞培养盘(培养体积为500 µL/孔), 于CO₂培养箱中培养7天, 每3天更换一次培养基;

(2) 7天后, 利用显微镜观察细胞中油滴的生成, 以确认细胞分化;

(3) 将培养盘中之培养基置换为用于实验组培养基(含测试样本)与用于对照组(Mock)培养基, 于CO₂培养箱中培养7-10天, 每3天更换一次培养基。

6-2-3. 油滴含量测定

(1) 于培养完成后, 将孔盘内之液体移除, 并以1X DPBS冲洗细胞2次;

(2) 将10%甲醇(1 mL/孔)添加至细胞, 并于室温下固定细胞30分钟;

(3) 将孔盘内之液体移除, 以1X DPBS冲洗细胞2次;

(4) 将孔盘内之液体移除, 加入60%异丙醇(1 mL/孔)并于

室温下静置1分钟；

(5) 将孔盘内之液体移除，加入油红O工作溶液（1 mL/孔）并于室温下避光染色1小时；

(6) 将孔盘内液体移除，加入60%异丙醇（1 mL/孔）退染5秒；

(7) 将孔盘内之液体移除，加入ddH₂O（1 mL/孔）；

(8) 以显微镜观察拍照；

(9) 将孔盘内之液体移除，加入100%异丙醇，并将孔盘置于轨道震荡器上摇晃10分钟以析出染剂；

10 (10) 将孔盘内之液体加入96孔盘内（100 μL/孔），并以分光亮度计测定其于波长510 nm下的吸光值(O.D.510)；

(11) 统计分析则经由Excel以单尾(one tailed)学生氏t检定(Student's t-test, T-TEST)进行(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$)。

15

7. 体外细胞之脂肪分解的检测

利用OP9小鼠胚胎干细胞做为细胞平台，确认实验组之测试样本的刺激对于OP9脂肪分化过程中释放至培养液之甘油含量的影响，以藉此得知测试样本是否具备脂肪分解之功效。

20

7-1. 材料

(1) 细胞株：OP9小鼠胚胎干细胞(ATCC; Cat. CRL-2749)；

(2) 培养基:

79% (v/v)最低限度必需培养基 α (MEM α) (Gibco;

Cat. 12561072);

20% (v/v)胎牛血清(fetal bovine ferum) (Gibco;

5 Cat. 10437-028);

1% (v/v)青霉素-链霉素(Gibco; Cat. 15140122);

(3) 10X DPBS (Gibco; Cat. 14200-075, 或同功能之品项);

(4) 台盼蓝死细胞染色剂 (Lonza; Cat. 17-942E, 或同功能
之品项);

10 (5) 10X 胰蛋白酶溶液(Gibco; Cat. 15400-054);

(6) 甘油细胞检测套组(Glycerol cell-based assay kit)
(Cayman; Cat. 10011725);

甘油标准溶液 (Glycerol standard solution)

(Cayman; Cat. 10009952);

15 游离甘油测定试剂(Free glycerol assay reagent)
(Cayman; Cat. 10009953);

氯化奎宁阳性对照 (Chloroquine positive
control)(25 mM) (Cayman; Cat. 10012670)。

7-2. 方法

20 7-2-1. 操作试剂的制备

(1) 1X DPBS: 将10X DPBS以经灭菌之ddH₂O稀释10倍;

(2) 1X 胰蛋白酶溶液：10X 胰蛋白酶溶液以1X DPBS稀释10倍。

(3) 游离甘油测定试剂(Free glycerol assay reagent)：将套组内具此标签之小瓶(Cat. 10009953)开封后加入5 mL ddH₂O以溶解瓶中内容物以制备游离甘油测定试剂。一瓶的量可以供应48个（半个96孔盘）样品测试。所制备之可置于4℃保存2周；

(4) 甘油标准溶液(Glycerol standard solution)：套组内于具此标签之小瓶中的甘油原液 (Cat. 10009952)的浓度为125 μg/mL。将此原液进行序列稀释。将8个干净的1.5 mL微量离心管分别写上号码1至8。在第1管中加入200 μL甘油原液，另外分别在剩下7管中加入100 μL 1X DPBS。接着，于第1管取100 μL至第2管，混合均匀后再从第二管取100 μL至第3管，重复此动作序列稀释至第7管，获得浓度分别为125 μg/mL（第1管）、62.5 μg/mL（第2管）、31.25 μg/mL（第3管）、15.625 μg/mL（第4管）、7.8125 μg/mL（第5管）、3.90625 μg/mL（第6管）、1.953125 μg/mL（第7管）与0 μg/mL（第8管）之甘油溶液。

7-2-2. 细胞培养与前处理

(1) 将细胞以8 x 10⁴个细胞/孔的密度接种于24孔细胞培养盘（培养液体积为500 μL/孔），于CO₂培养箱中培养7天，每3天换一次培养液；

(2) 7天后，利用显微镜观察细胞中油滴的生成，以确认细胞

分化；

(3) 将培养基换成实验组（测试样本）与对照组(Mock)培养基，于CO₂培养箱中培养7-10天，每3天换一次培养液。

7-2-3. 释放至培养液之甘油含量的测定

5 (1) 于培养完成后，收集最后一次培养的细胞培养液；

(2) 将 25 μL细胞培养液、各浓度之甘油标准溶液与氯化奎宁阳性对照分别加入96孔盘；

(3) 加入游离甘油测定试剂（100 μL/孔），并于室温下反应15分钟；

10 (4) 以分光光度计测定各孔于波长540 nm下的吸光值(O.D.540)；

(5) 统计分析则经由Excel以单尾(one tailed)学生氏t检定(Student's t-test, T-TEST)进行(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$)。

15

8. 体外细胞之血脂相关基因（CETP、SCARB1、ABCA1、LDLR）之表现的检测

8.1 材料与仪器

(1) 细胞株：人肝癌细胞HepG2 (ATCC; Cat. HB-8065)；

20 (2) 培养基：

达尔伯克氏改良伊格尔氏培养基 (Dulbecco's

modified Eagle's medium, DMEM) (Gibco ; Cat. 11965-092);

10% (v/v) 胎牛血清(Gibco; Cat.10437-028, 或同功能之品项);

5 1% (v/v) 青霉素-链霉素 (Gibco; Cat. 15140122);

(3) 10X DPBS (Gibco; Cat. 14200-075, 或同功能之品项);

(4) 台盼蓝死细胞染色剂 (Lonza; Cat.17-942E, 或同功能之品项);

(5) RB Buffer (Geneaid; Cat. RP050, 或同功能之品项);

10 (6) 10X 胰蛋白酶(trypsin)溶液(SIGMA; Cat.59427C, 或同功能之品项);

(7) RNA Extraction Kit (Geneaid);

(8) SuperScript® III 反转录酶(reverse transcriptase) (Invitrogen);

15 (9) 引子组(primer set): 针对各待测基因 (CETP、SCARB1、ABCA1及LDLR) 的引子组与针对作为内部控制之GAPDH基因的引子组;

(10) KAPA CYBR FAST qPCR Kits (2x) (KAPA Biosystems);

20 (11) StepOnePlus实时聚合酶链锁反应仪(ABI)。

8-2. 方法

8-2-1. 细胞之培养与前处理

(1) 将细胞以 1×10^6 个细胞 / 孔接种于 6 孔盘，并隔夜培养 (n=3)；

(2) 将细胞以不同待测样本处理 6、24、48 小时；

5 (3) 去除上清液之后，将细胞以 1X PBS 清洗一次；

(4) 于加入 600 μ L RB Buffer 使细胞裂解之后，将细胞裂解液收集于离心管中并保存于 -80℃ 冰箱。

8-2-2. 基因表现分析

(1) 使用 RNA Extraction Kit (Geneaid) 萃取细胞之 RNA；

10 (2) 以 SuperScript® III Reverse Transcriptase (Invitrogen)，将上述 RNA (2000 ng) 反转录为 cDNA；

(3) 使用 KAPA SYBR FAST qPCR Kits (2x) (KAPA Biosystems) 藉由 StepOnePlus 实时聚合酶链锁反应仪，针对上述 cDNA 进行实时聚合酶链锁反应，以测量目标基因之表现量；

15 (4) 分析实时聚合酶链锁反应过程中之熔化曲线 (melting curve)；

(5) 使用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法测定基因表现的相对定量。以 GAPDH 参考基因的循环阈值 (threshold cycle, CT 值) 作为内部对照与模拟组，依前方式 (I) 至式 (III) 所示之公式计算相对倍数变化。

20

9. 体外细胞之 Glut4 之表现量的检测

9.1 材料与仪器

(1) 细胞株：人肝癌细胞HepG2 (ATCC; Cat. HB-8065);

(2) 培养基：

达尔伯克氏改良伊格尔氏培养基 (Dulbecco's
5 modified Eagle's medium, DMEM) (Gibco; Cat.
12100046);

10% 胎牛血清(Gibco; Cat.10437-028, 或同功能
之品项);

1% 抗生素 (Gibco; Cat.15240-062, 或同功能之
10 品项);

碳酸氢钠 (Sodium bicarbonate) (Sigma ;
Cat.S5761-500G, 或同功能之品项);

氢氧化钠(NaOH) (Sigma; Cat.221465-500G,
或同功能之品项);

15 氯化氢(HCl) (Sigma; Cat.7647-01-0, 或同功能
之品项);

(3) 10X DPBS (Gibco; Cat. 14200-075, 或同功能之品项);

(4) 胎牛血清 (Gibco; Cat.10437-028, 或同功能之品项);

(6) 10X 胰蛋白酶(trypsin)溶液(Gibco; Cat.15400054,
20 或同功能之品项);

(7) Alexa Fluor 488山羊抗小鼠IgG(goat anti-mouse IgG)

抗体(Invitrogen; Cat.A-11001, 或同功能之品项);

(8) GLUT4抗体 (Invitrogen; Cat.MA5-17176, 或同功能之品项);

(9) 胰岛素 (Sigma; Cat.I9278-5ML, 或同功能之品项);

5 (10) 台盼蓝死细胞染色剂 (Lonza; Cat.17-942E, 或同功能之品项);

(11) 流式细胞仪(flow cytometer) (BD, Accuri C6 Plus, 或同功能之品项)。

9-2-1. 操作试剂的制备

10 (1) 1X DPBS: 将10X DPBS以经灭菌之ddH₂O稀释10倍;

(2) 1X 胰蛋白酶溶液: 将10X 胰蛋白酶溶液以纯水稀释10倍;

(3) 2%胎牛血清溶液: 将1 mL胎牛血清与49 mL 1X DPBS于50 mL离心管混合均匀。

9-2-2. 细胞培养与前处理

15 (1) 将细胞以 1×10^5 个细胞/孔的密度种植于6孔细胞培养盘(培养体积为 2 mL), 并于37°C, 5% CO₂培养箱培养24小时;

(2) 之后, 将细胞分别为Mock组、实验组(高剂量组及低剂量组);

(3) 视需要而定(optional): 移除原培养基, 并对细胞添加含
20 1 μ M胰岛素之无血清培养基, 并于37°C, 5% CO₂培养箱培养72小时。之后移除培养基;

(4) 添加具不同浓度之测试样本的培养基至细胞, 再于37°C,

5% CO₂培养箱培养24小时；

(5) 视需要而定(optional)：对细胞添加0.5 μM 胰岛素，于37℃，5% CO₂培养箱培养24小时；

(6) 于处理完成后，去除培养基；

5 (7) 将细胞以1X DPBS清洗（1 mL/孔），之后移除1X DPBS；

(8) 重复步骤(7)；

(9) 加入1X 胰蛋白酶溶液（200 μL/孔），将细胞于37℃，5% CO₂培养箱避光作用5分钟，拍打培养盘并确认细胞脱离贴附；

(10) 加入培养基（800 μL/孔）以终止胰蛋白酶之作用；

10 (11) 将各孔中之细胞悬浮液转移至分别的微量离心管并以400 x g离心5分钟，以移除上清液；

(12) 于每一管加入200 μL 1X DPBS清洗细胞，且之后以400 x g离心5分钟，移除上清液；

(13) 于每一管加入200 μL 2%胎牛血清溶液混合均匀以固定
15 细胞，避光常温培养30-60分钟；

(14) 将每一管以400 x g离心5分钟，以移除上清液；

(15) 于每一管加入200 μL 1X DPBS及1 μL GLUT4抗体(1:200)并混合均匀，避光常温培养30分钟；

(16) 将每一管以400 x g离心5分钟，以移除上清液；

20 (17) 于每一管加入200 μL 1X DPBS清洗细胞并以400 x g离心5分钟，以移除上清液；

(18) 重复步骤(17)；

(19) 于每一管加入200 μ L 1X DPBS及1 μ L Alexa Fluor 488山羊抗小鼠IgG二次抗体(1:200)并混合均匀，避光常温培养10分钟；

5 (20) 将每一管以400 x g离心5分钟，以移除上清液；

(21) 于每一管加入200 μ L 1X DPBS清洗细胞并以400 x g离心5分钟，以移除上清液；

(22) 重复步骤(21)；

(23) 于每一管加入200 μ L 1X DPBS以重新悬浮细胞；

10 (24) 以流式细胞仪分析(flow cytometry)异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)的荧光强度；

(25) 统计分析则经由Excel以单尾(one tailed)学生氏t检定(Student's t-test, T-TEST)进行(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$)。

15

10. 大豆萃取物的制备

大豆萃取物系委托日本不二制油股份有限公司(FUJI OIL CO., LTD, Japan)制作。

主要制程如下依序如下所示；

20 (1) 大豆蛋白分离；

(2) 酵素水解；

- (3) 分离；
(4) 灭菌；
(5) 过滤；
(6) 喷雾干燥 (pray drying)；及
5 (7) 获得产品。

11. 苹果萃取物的制备

苹果萃取物的主要制程如下依序如下所示；

- (1) 将苹果粗碎（粗碎孔径：12 mm）；
10 (2) 将经粗碎的苹果以RO水进行萃取以获得粗萃液。萃取条件如下：
经粗碎的苹果与RO水的重量比：1:6；
萃取温度：85±5℃；
萃取时间：60分钟；
15 回流帮浦3.0±0.5 kg/cm²；
(3) 将粗萃液进行过滤（孔径：400 筛目(mesh)），并于过滤后取样检验（布理糖度(Brix)：8.0±0.5 (20℃)）；
(4) 将过滤液进行浓缩，并取样检验确认浓缩液是否达到预定规格（布理糖度：8.0±0.5；CA: 0.3±0.2 (20℃)；pH: 2.7±1.0
20 (20℃)）；
(5) 达成规格后，浓缩液即可作为本揭露所使用的苹果萃取液。

B. 成分分析

1. 经培养之短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液中所含有的短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFA)的分析

5 目前已知短链脂肪酸会刺激类升糖素胜肽-1 (GLP-1)的分泌，因而分析经培养之短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液中所含有的短链脂肪酸，以获知经培养之短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液之刺激类升糖素胜肽-1 (GLP-1)分泌的潜力。

结果如表2所示。

10 表2、经培养之短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液中所含有的短链脂肪酸

短链脂	C1	C2	C3	C4	isoC4	isoC5
肪酸	甲酸 (formic acid)	乙酸 (acetic acid)	丙酸 (propinoic acid)	丁酸 (butyric acid)	异丁酸 (isobutyric acid)	3-甲基丁酸 (3-methylbutyric acid)
(μM)	11121.571	303688.219	790.959	178.32	88.731	10.291

依据表2可知，经培养之短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液至少含有甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸与 3-甲基丁酸等短链
15 脂肪酸，因此应具备刺激类升糖素胜肽-1分泌的能力。

C. 体外实验

1. 培养上清液与死菌悬浮液之促进类升糖素胜肽-1 (GLP-1)

分泌与减少食欲的功效确认

类升糖素胜肽-1 (GLP-1)系为人体内最主要的肠泌素，其可促进胰岛素分泌并抑制升糖素分泌，具备调节血糖、减少食欲、控制
5 体重之效果，而PYY基因则为食欲抑制相关基因。

藉由分别分析短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬浮液对类升糖素胜肽-1 (GLP-1)分泌与PYY基因表现的影响，以评估短双歧杆菌BCRC 911145在食欲控制、体重控制与血糖调节等功效。

10 依据上方「A. 材料与方法」中之「3. 体外(*in vitro*)细胞分泌之类升糖素胜肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1)的检测」与「4. 体外细胞之PYY基因之表现的检测」中所述之方法，分别确认短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬浮液（以NCI-H716细胞进行试验）对类升糖素胜肽-1分泌与PYY基因表现
15 的影响。

图1A与表3显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞分泌类升糖素胜肽-1 (GLP-1)至培养基的相对量（短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.25%）。

20 图1B与表4显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的PYY基因的相对表现（细胞培养48小时，短双歧杆菌

BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.5%)。

图2A与表5显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之细胞分泌类升糖素胜肽-1 (GLP-1)至培养基的相对量（短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.125%）。

图2B与表6显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之细胞的PYY基因的相对表现（细胞培养24小时，短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.125%）。

表3、经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞分泌类升糖素胜肽-1至培养基的相对量（短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.25%）

		相对GLP-1含量	标准偏差	T检定
Mock	Mock	100	5.667436084	
葡萄糖 (阳性控制组)	30 mM 葡萄糖	138.5623	3.73147136	***
短双歧杆菌 BCRC 911145	培养上清液 0.25%	151.7905	2.109478447	***

相较于Mock组，***: $p < 0.001$ 。

表4、经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的

PYY基因的相对表现(细胞培养48小时,短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.5%)

	PYY基因的相对表现	标准偏差
Mock	1	0
短双歧杆菌BCRC 911145 培养上清液0.5%	1.797643198	0.359497822

表5、经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之细胞分泌类升糖素胜肽-1至培养基的相对量(短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.125%)

		相对GLP-1含量	标准偏差	T检定
Mock	Mock	100	2.897637825	
葡萄糖 (阳性控制组)	30 mM 葡萄糖	133.2586786	13.31189218	*
短双歧杆菌BCRC 911145	死菌悬浮液 0.125%	120.4927212	10.28495385	*

相较于Mock组, **: $p < 0.05$ 。

表6、经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之细胞的PYY基因的相对表现(细胞培养24小时,短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.125%)

	PYY基因的相对表现	标准偏差
--	------------	------

Mock	1	0
短双歧杆菌BCRC 911145 死菌悬浮液0.125%	1.484153968	0.094467242

根据上述结果可知，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬浮液两者，皆可有效促进细胞分泌类升糖素胜肽-1 (GLP-1)，且有效提升细胞之PYY基因表现。

5 具体而言，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液可促进类升糖素胜肽-1 (GLP-1)分泌，分泌量提升51.8%，同时可有效提升食欲抑制相关基因PYY基因表现，而表现提升高达79.8%。

相似地，短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液同样可促进类升糖素胜肽-1 (GLP-1)分泌，分泌量提升20.5%，同时可有效提
10 升食欲抑制相关基因PYY基因表现，而表现提升高达48.4%。

整合前述，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬浮液两者，皆可应用于食欲控制、体重控制及/或血糖调节等功效等相关应用。

15 **2. 培养上清液之抑制脂肪细胞成熟与减少脂肪堆积的功效确认**

依据上方「A. 材料与方法」中之「5. 体外细胞之脂肪相关基因 (C/EBPA、UCP、ATGL、PLIN1、PPARG2、LIPE(HSL)) 之表现的检测」与「6. 体外细胞之脂肪堆积的检测」中所述之方法，

确认短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液对C/EBPA基因表现与脂肪堆积的影响。

C/EBPA基因为体内能量恒定及脂质囤积的关键调控基因，其低表现将终止脂肪油滴细胞的分化。

5 藉由分析短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液对C/EBPA基因表现与脂肪堆积的影响，以评估短双歧杆菌BCRC 911145于抑制脂肪细胞成熟与减少脂肪堆积的能力。

结果如表7与表8以及图3A与图3B所示。

表7与图3A显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的C/EBPA基因的相对表现（细胞培养6小时，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.25%）。

10

表8与图3B显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞中的油红（脂质）含量。

15 表7、经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的C/EBPA基因的相对表现（细胞培养6小时，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.25%）

	C/EBPA基因的相对表现量	标准偏差
Mock	1	0
短双歧杆菌BCRC 911145 培养上清液0.25%	0.165920988	0.007281205

表 8、经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞中的油红（脂质）含量（短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.25%）

	细胞中的油红（脂质）含量	标准偏差
Mock	100	3.79
短双歧杆菌BCRC 911145 培养上清液0.25%	78.97	1.24

5 根据上述结果可知，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液，可有效抑制C/EBPA基因表现，即抑制脂肪细胞成熟，而抑制率高达83.4%，且可成功减少21.0%脂肪堆积。

整合前述，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液可应用于减少脂肪等相关应用。

10

3. 培养上清液与死菌悬浮液之促进脂肪燃烧及/或促进脂肪分解的功效确认

依据上方「A. 材料与方法」中之「5. 体外细胞之脂肪相关基因（CEBPA、UCP、ATGL、PLIN1、PPARG2、LIPE(HSL))
15 之表现的检测」与「7. 体外细胞之脂肪分解的检测」中所述之方法，确认短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液对UCP1基因与UCP2基因表现与脂肪分解的影响。

UCP1基因与UCP2基因表现提升有助于脂肪细胞的转换，促使

脂肪燃烧。

藉由分析短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬浮液对UCP1基因与UCP2基因表现以及短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液对脂肪分解的影响，以评估短双歧杆菌BCRC 911145于促进脂肪燃烧与促进脂肪分解的潜力。

结果如表9、表10与表11以及图4A、图4B与图5所示。

表9与图4A显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的UCP1基因与UCP2基因的相对表现（细胞培养24小时，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.125%）。

表10与图4B显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞于培养后之培养基中的甘油量（短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.25%）。

表11与图5显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之细胞的UCP1基因与UCP2基因的相对表现（细胞培养24小时，短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.25%）。

表9、经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的UCP1基因与UCP2基因的相对表现（细胞培养24小时，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为0.125%）

	相对基因表现量	
组别/基因	UCP1	UCP2
Mock	1	1
短双歧杆菌BCRC 911145培养上清液0.125%	5.350352	2.839444
	标准偏差	
Mock	0	0
短双歧杆菌BCRC 911145培养上清液0.125%	1.793952	0.277548

表 10、经短双歧杆菌 BCRC 911145 之培养上清液处理之细胞于培养后之培养基中的甘油量（短双歧杆菌 BCRC 911145 之培养上清液于培养细胞之培养基中的终浓度为 0.25 %）

	经培养之培养基的甘油量(%)	标准偏差	T 检定
Mock	100.00	8.05	
短双歧杆菌BCRC 911145 培养上清液0.25%	120.56	4.25	*

5 相较于 Mock 组，**： $p < 0.05$ 。

表 11、经短双歧杆菌 BCRC 911145 之死菌悬浮液处理之细胞的 UCP1 基因与 UCP2 基因的相对表现（细胞培养 24 小时，短双歧杆菌 BCRC 911145 之死菌悬浮液于培养细胞之培养基中的终浓度
10 为 0.25 %）

	相对基因表现量
--	---------

组别/基因	UCP1	UCP2
Mock	1	1
短双歧杆菌BCRC 911145死菌悬浮液0.25%	2.332464	2.100877
	标准偏差	
Mock	0	0
短双歧杆菌BCRC 911145死菌悬浮液0.25%	0.099721	0.195996

根据上述结果可知，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬浮液两者，皆可有效促进脂肪燃烧，具有减少脂肪的功效。

具体而言，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液可有效提升脂肪燃烧相关基因UCP1基因与UCP2基因表现，提升率最高可达约4.35倍，且同时可提高约20.6%之脂肪分解效率。

相似地，短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液同样可有效提高脂肪燃烧相关基因UCP1基因与UCP2基因表现，提升率最高可达约1.3倍。

整合前述，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬浮液两者皆可应用于减少脂肪等相关应用。

4. 培养上清液与死菌悬浮液之代谢脂肪的功效确认

依据上方「A. 材料与方法」中之「5. 体外细胞之脂肪相关基因（CEBPA、UCP、ATGL、PLIN1、PPARG2、LIPE(HSL)）之表现的检测」中所述之方法，确认短双歧杆菌BCRC 911145之

培养上清液对脂肪相关基因表现的影响。

ATGL系涉及于脂肪油滴细胞中，脂肪代谢的第一步，其可将三酸甘油脂水解。PLIN1基因则调控脂肪油滴细胞内的脂肪代谢，其低表现将促使细胞进行脂肪代谢。PPARG2则调控脂肪酸的 β 氧化过程，其低表现将促进脂肪代谢。LIPE (HSL)则将三酸甘油脂水解为游离脂肪酸，其负责将胆固醇脂转换为游离胆固醇。而CEBPA则终止脂肪油滴细胞的分化，是体内能量恒定及脂质囤积的关键调控基因之一。

藉由分析短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬浮液对上述各基因之表现的影响，以评估短双歧杆菌BCRC 911145于促进脂肪代谢的功效。

结果如表12与表13以及图6A至6D与图7A至7D所示。

表12与图6A至6D显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的ATGL基因、PLIN1基因、PPARG2基因与LIPE(HSL)基因的相对表现。

表13与图7A至7D显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之细胞的ATGL基因、PLIN1基因、PPARG2基因与CEBPA基因的相对表现。

表12、经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的ATGL基因、PLIN1基因、PPARG2基因与LIPE (HSL)基因的相对表现

培养 时间	基因 组别	相对基因表现量			
		ATGL	PLIN1	PPARG2	LIPE (HSL)
	Mock	1	1	1	1
6小时	短双歧杆菌BCRC 911145 培养上清液0.25%		0.177391		
24小 时	短双歧杆菌BCRC 911145 培养上清液0.125%			0.187532	
48小 时	短双歧杆菌BCRC 911145 培养上清液0.125%	1.387792			4.383512
		标准偏差			
	Mock	0	0	0	0
6小时	短双歧杆菌BCRC 911145 培养上清液0.25%		0.019206		
24小 时	短双歧杆菌BCRC 911145 培养上清液0.125%			0.054401	
48小 时	短双歧杆菌BCRC 911145 培养上清液0.125%	0.230635			0.607965

表 13、经短双歧杆菌 BCRC 911145 之培养上清液处理之细胞的 ATGL 基因、PLIN1 基因、PPARG2 基因与 CEBPA 基因的相对表现

		相对基因表现量
--	--	---------

培养时间	组别/基因	ATGL	PLIN1	PPARG2	CEBPA
6小时	Mock	1	1	1	1
24小时	短双歧杆菌BCRC 911145死菌悬浮液 0.125%				0.642016
24小时	短双歧杆菌BCRC 911145死菌悬浮液0.25%	1.067559	0.770049	0.889962	
		标准偏差			
6小时	Mock	0	0	0	0
24小时	短双歧杆菌BCRC 911145死菌悬浮液 0.125%				0.044377
24小时	短双歧杆菌BCRC 911145死菌悬浮液0.25%	0.042945	0.052777	0.024701	

根据上述结果可知，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬浮液两者，皆可有效促进脂肪代谢，具有减少脂肪的功效。

具体而言，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液可有效促进脂肪代谢，提升率最高可达约3.39倍。

相似地，短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液同样可有效促进脂肪代谢，提升率平均可达约10%。

整合前述，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬

浮液两者皆可有效应用于减少脂肪等相关应用。

5. 培养上清液与死菌悬浮液之调节血脂与促进高密度脂蛋白胆固醇(**high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C**)的功

5 效确认

依据上方「A. 材料与方法」中之「8. 体外细胞之血脂相关基因(**CETP**、**SCARB1**、**ABCA1**、**LDLR**)之表现的检测」中所述之方法，确认短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬浮液对血脂相关基因表现的影响。

10 **CETP**基因、**SCARB1**基因及**ABCA1**基因与高密度脂蛋白胆固醇(**high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C**)的合成相关，而**LDLR**基因则与低密度脂蛋白胆固醇(**low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C**)的代谢相关。

藉由分析短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬浮液对上述各基因之表现的影响，以评估短双歧杆菌BCRC 911145于调节血脂的功效。

结果如表14与表15以及图8A至8D与图9所示。

表14与图8A至8D显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的**CETP**基因、**SCARB1**基因、**ABCA1**基因与
20 **LDLR**基因的相对表现。

表15与图9显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处

理之细胞的CETP基因、SCARB1基因与ABCA1基因的相对表现。

表14、经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的CETP基因、SCARB1基因、ABCA1基因与LDLR基因的相对表现

培养时间	基因 组别	相对基因表现量			
		CETP	SCARB1	ABCA1	LDLR
6小时	Mock	1	1	1	1
6小时	短双歧杆菌BCRC 911145 培养上清液0.5%	1.724851	1.179249	4.069225	
48小时	短双歧杆菌BCRC 911145 培养上清液0.5%				10.20103
		标准偏差			
6小时	Mock	0	0	0	0
6小时	短双歧杆菌BCRC 911145 培养上清液0.5%	0.132365	0.12391	0.442441	
48小时	短双歧杆菌BCRC 911145 培养上清液0.5%				2.247979

5

表15、经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之细胞的CETP基因、SCARB1基因与ABCA1基因的相对表现

培养时间	基因 组别	相对基因表现量		
		CETP	SCARB1	APA1

6小时	Mock	1	1	1
6小时	短双歧杆菌BCRC 911145 死菌悬浮液0.125%	1.896516	1.3157348	1.621850302
		标准偏差		
6小时	Mock	0	0	0
6小时	短双歧杆菌BCRC 911145 死菌悬浮液0.125%	0.153532	0.1588998	0.054549114

根据上述结果可知，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬浮液两者，皆可有效调节血脂，并促进高密度脂蛋白胆固醇的合成。

5 具体而言，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液可有效促进高密度脂蛋白胆固醇的合成，提升率最高可达约9.2倍，并且可促进低密度脂蛋白胆固醇的代谢。

相似地，短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液同样可有效促进脂肪代谢，可有效促进高密度脂蛋白胆固醇的合成，提升率最高可达约89.7%。

10

6. 培养上清液与死菌悬浮液之调节血糖的功效确认

依据上方「A. 材料与方法」中之「9. 体外细胞之Glut4之表现量的检测」中所述之方法，确认短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬浮液对血糖相关基因表现的影响。

15

目前已知，葡萄糖转运蛋白4型(glucose transporter type 4, GLUT4)是整合膜葡萄糖转运蛋白(integral membrane glucose transporter, GLUT)的家族成员，其表现于肌肉、脂肪及肝脏组织中，并透过对葡萄糖的汲取作用，将葡糖糖带进细胞利用，而具有平衡血糖的功能。

藉由分析短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬浮液对葡萄糖转运蛋白4型(GLUT4)之表现的影响，以评估短双歧杆菌BCRC 911145于调节血糖的功效。

结果如表16与表17以及图10与图11所示。

表16与图10显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的葡萄糖转运蛋白4型(GLUT4) 的相对表现。

表17与图11显示，经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之细胞的葡萄糖转运蛋白4型(GLUT4) 的相对表现。

表16、经短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液处理之细胞的葡萄糖转运蛋白4型(GLUT4)的表现

	葡萄糖转运蛋白4型 (GLUT4)的相对表现 (%)	标准偏差	T检定
Mock	100.00	5.671702896	
短双歧杆菌BCRC 911145 培养上清液0.25%	120.40	3.591077438	**

相较于Mock组， **: $p < 0.01$ 。

表 17、经短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液处理之细胞的葡萄糖转运蛋白4型(GLUT4)的相对表现

	葡萄糖转运蛋白4型 (GLUT4)的相对表现	标准偏差	T检定
Mock	1	0	
短双歧杆菌BCRC 911145 死菌悬浮液0.25%	2.156835291	0.629533696	***

相较于Mock组，***: $p < 0.001$ 。

5

根据上述结果可知，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液与死菌悬浮液两者，皆可有效调节血糖。

具体而言，短双歧杆菌BCRC 911145之培养上清液可提升葡萄糖转运蛋白4型(GLUT4)表现约20.4%。

10

相似地，短双歧杆菌BCRC 911145之死菌悬浮液可提升葡萄糖转运蛋白4型(GLUT4)表现约116%。

D. 人体试验

D-1. 活菌粉的功效检验

15

实验目的：检验短双歧杆菌BCRC 911145的减肥效果。

实验内容：

1. 剂型及剂量：短双歧杆菌BCRC 911145活菌胶囊（100 mg

活菌粉/胶囊，相当于 1×10^9 CFU/胶囊），每日晚餐饭后1粒。

2. 实验设计：

连续4周每日服用1粒活菌胶囊，并于服用前及服用4周后进行检测。

5 3. 受试者条件：

20岁以上健康成年人，已知男性体脂肪>25%；女性>30%

4. 受试者数：9人

5. 检测项目：

(1) 问卷调查-食欲状况；

10 (2) 血液生化指标（总胆固醇、HDL、LDL、LDL/HDL以及空腹血糖）（委托立人医事检验所进行检测）

结果如图12、图13、图14A与图14B以及表18所示。

图12显示，受试者之食欲状况的问卷调查结果。

根据图12可知，连续服用短双歧杆菌BCRC 911145活菌胶囊4
15 周后，可显著降低嘴馋情况25.9%及显著降低饥饿感情况20.4%。
此外，问卷调查结果也显示针对嘴馋情况与饥饿感请情况获得改善
之人数占总人数的比例分别为62.5%及87.5%。

表18、受试者之血液生化指标

葡萄糖	平均	标准偏差	%	p值	总人数	9
第0周	94.4	3.0			获得改善人数	9
第4周	85.1	2.5	-9.9	0.027182	改善人数比率 (%)	100
胆固醇	平均	标准偏差	%	p值	总人数	9

第0周	206.6	11.0			获得改善人数	7
第4周	198	8.8	-4.2	0.272127	改善人数比率 (%)	77.8
HDL	平均	标准偏差	%	p值	总人数	9
第0周	53.85556	3.4			获得改善人数	8
第4周	55.97778	3.5	-3.9	0.0055	改善人数比率	88.9
LDL	平均	标准偏差	%	p值	总人数	9
第0周	138.9	9.7			获得改善人数	7
第4周	127.6	9.6	-8.2	0.15	改善人数比率 (%)	77.8
LDL/HDL	平均	标准偏差	%	p值	总人数	9
第0周	2.6	0.3			获得改善人数	7
第4周	2.4	0.3	-9.3	0.101	改善人数比率 (%)	77.8

依据图13与表18可知，连续服用短双歧杆菌BCRC 911145活菌胶囊4周后，可降低总胆固醇4.2%，且改善人数比率达77.8%。

又，依据图14A至14C与表18可知，连续服用短双歧杆菌BCRC 911145活菌胶囊4周后，可显著增加高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C) 3.9%，并减少低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C) 8.2%，同时降低低密度脂蛋白胆固醇与高密度脂蛋白胆固醇比值(LDL/HDL)约9.3%，而前述3项指标获得改善之人数的比率分别为88.9%、77.8%及77.8%。

此外，依据图15与表18可知，连续服用短双歧杆菌BCRC 911145活菌胶囊4周后，可显著降低空腹血糖9.1%，获得改善人数

比率达90.0%。

整合前述可知，短双歧杆菌BCRC 911145活菌，对于人体确实具有减少食欲、降低总胆固醇与低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、增加高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)以及降低空腹血糖的功效。

5

D-2. 活菌组成物的功效检验

D-2-1. 含有活菌与大豆萃取物之组成物的功效测试

实验目的：检验含有短双歧杆菌BCRC 911145活菌与大豆萃取物之组成物的减肥效果。

10

实验内容：

1. 剂型：粉包

2. 剂量：含有短双歧杆菌BCRC 911145活菌与大豆萃取物之组成物4000 mg/包（含有短双歧杆菌BCRC 911145活菌粉150 mg（相当于 2×10^8 CFU/g）与大豆萃取物150 mg以及添加剂）

15

3. 实验设计：受试者每日午餐饭前1小时服用1包，连续服用60日。

4. 试验人数：30人

5. 受试者纳入条件：20-40岁男性或女性

6. 检测项目：

20

体重与体脂

结果如表19以及图16A与图16B所示。

表 19、受试者之体重与体脂率变化

受试者 编号	第0天体重 (起始体重)	第0天体脂率 (起始体脂率)	第14天 体重	第14天 体脂率	第28天 体重	第28天 体脂率
1	55.7	26.3	54.6	26.8	54.6	25.6
2	58	29.6	55.4	27	55	26.7
3	73.6	26	71.6	25.1	70.5	24.9
4	79	40.3	76.1	40.6	74.4	37.8
5	97.7	35.6	95.2	35.5	94.1	38.3
6	61.9	29.4	59.5	28.4	58.9	28
7	71.8	23.4	71.7	23.9	71	23
8	70.4	41.7	68.4	40.4	67.9	41
9	69	24.1	67.7	23.9	67.6	24.2
10	71.2	36.8	69.4	35.7	68.4	34.9
11	62	36.7	60.7	36	60.3	38.7
12	50	41.2	48.2	41.6	48.2	40.5
13	88.4	32	85	32	83.6	31.2
14	84.4	31.9	81.4	30.8	79.3	30.3
15	84.4	30.5	83	29.9	82.4	27.5
16	118.6	32.9	115.2	32.9	115	32.8
17	78.3	42.4	78	42	76	40
18	75.4	38.8	72.3	36.8	72.2	36.6
19	64	32.3	60.4	30.1	60.4	31.1
20	102.9	31.8	99.9	30.8	99.9	30.9

21	61.8	38.1	60	37	60	35
22	111.5	42.6	106.7	41.7	104.1	40.8
23	53.3	28.8	51	27.9	51	28
24	84.3	33.6	83	33	82	32.5
25	81.1	24.9	77.2	24.3	75.4	23.1
26	54.1	29.1	52.6	28.7	50.8	27
27	53.2	28.6	50.2	27	49.3	25.8
28	79.8	29.5	76	27	75	26.3
29	54.2	30.7	51.6	30.1	51.3	29.4
30	78.7	42.3	77.8	41.9	77.8	41.9

依据表 19 以及图 16A 与图 16B 可知，含有短双歧杆菌 BCRC 911145 活菌与大豆萃取物之组成物确实可减少体重与降低体脂率，而具备减肥功效。

5

D-2-2. 含有活菌、大豆萃取物与苹果萃取物之组成物的功效测试

D-2-2-1. 含有活菌、大豆萃取物与苹果萃取物之组成物的血糖调节功效检验

10 **方式 1**

实验目的：检验含有短双歧杆菌 BCRC 911145 活菌、大豆萃取物与苹果萃取物之组成物的血糖调节效果。

实验内容：

1. 剂型：粉包

2. 剂量：含有短双歧杆菌BCRC 911145活菌、大豆萃取物与苹果萃取物之组成物 800 mg/包（含有短双歧杆菌BCRC 911145活菌粉150 mg（相当于 5×10^9 CFU/g）、大豆萃取物150 mg、苹果萃取物150 mg以及添加剂）

3. 受试人数：5人

4. 受试者纳入条件：20-40岁男性或女性

5. 实验设计：

10 受试者自身对照实验。以相同的时间间隔采集同一群受测者在没有服用本揭露组成物情况下的血液样本（控制组）及在服用本揭露组成物之情况下的血液样本（服用本揭露组成物组）。

受试者于实验第1日服用前述组成物1包，于实验第7日不服用组成物。于实验第1日，采集受试者于空腹时血液，接着请受试者服用1包前述组成物，并于服用后15分钟、45分钟、60分钟、120分钟与240分钟采集受试者血液。洗脱7日后，再次采集受试者于空腹时血液（于实验第9日），接着15分钟、45分钟、60分钟、120分钟与240分钟采集受试者血液。

6. 检测项目：

20 (1) 血清GLP-1浓度变化；

(2) 血糖浓度变化

结果如图17与图18所示。

图17显示，服用前述组成物60分钟后，受试者血清中类升糖素胜肽-1 (GLP-1)浓度显著升高17.6%，表示前述组成物可有效促进体内分泌类升糖素胜肽-1 (GLP-1)。相对于此，在无服用前述组成物的状况下，受试者血清中类升糖素胜肽-1 (GLP-1)浓度波动大。并无稳定提升的趋势。

图18显示，相较于未服用前述组成物，受测者服用前述组成物后的血糖值更稳定而无波动，表示服用前述组成物可有效帮助调节血糖，藉由稳定血糖变达到控制食欲效果。

整合前述可知，前述组成物确实具有调节血糖之功效，且可藉此控制食欲。

方式2

实验目的：检验含有短双歧杆菌BCRC 911145活菌、大豆萃取物与苹果萃取物之组成物的血糖调节效果。

实验内容：

1. 剂型：粉包

2. 剂量：含有短双歧杆菌BCRC 911145活菌、大豆萃取物与苹果萃取物之组成物 800 mg/包（含有短双歧杆菌BCRC 911145活菌粉150 mg（相当于 5×10^9 CFU/g）、大豆萃取物150 mg、苹果萃取物150 mg以及添加剂）

3. 受试人数：4人

4. 受试者纳入条件：20-40岁男性或女性

5. 实验设计：

受试者自身对照实验。以相同的时间间隔采集同一群受测者在没有服用本揭露组成物情况下的血液样本（控制组）及在服用本揭露组成物之情况下的血液样本（服用本揭露组成物组）。

于实验第1日，采集受试者于空腹时血液，接着请受试者于15分钟内将早餐（玉米蛋饼一份）食用完毕，并于食用早餐后2小时与4小时采集受试者血液。间隔3日后（实验第5日），采集受试者于空腹时血液，接着请受试者服用1包前述组成物，并于15分钟内将与先前相同之早餐食用完毕，并于食用早餐后2小时与4小时采集受试者血液。于受试者连续服用前述组成物3日（实验第5至7日）之后，再次采集受试者于空腹时血液（实验第8日）。

6. 检测项目：

- (1) 血清中类升糖素胜肽-1 (GLP-1)浓度变化；
- (2) 血糖浓度变化与胰岛素浓度变化；
- (3) 空腹血糖浓度；
- (4) 食欲问卷调查。

结果如图19、图20A与图20B、图21以及图22A至图22C所示。

图19显示，服用前述组成物2小时与4小时之后，受试者的血清中类升糖素胜肽-1 (GLP-1)持续稳定升高，而此表示服用前述组成物可有效促进体内分泌类升糖素胜肽-1 (GLP-1)，帮助调节血糖与

控制食欲。相对于此，控制组的血清中类升糖素胜肽-1 (GLP-1) 浓度并无提升。

依据图20A与图20B可知，服用早餐4小时后，受试者的餐后血糖显著升高。而相对于此，而服用前述组成物4小时后，受试者的餐后血糖升高幅度显著低于控制组，而此表示前述组成物可有效帮助稳定餐后血糖。

依据图21可知，连续服用前述组成物3天之后，受试者的空腹血糖改善，而此代表前述组成物可有效帮助稳定空腹血糖。

又依据图22A至图22C可知，服用前述组成物之后，受试者在早餐食用完毕4小时之后的饥饿感与食欲旺盛度皆低于控制组。且受试者于食用午餐之前较不易感到饥饿，同时也较不易嘴馋。

整合前述可知，前述组成物确实具有调节血糖与减低食欲的功效。

虽然本揭露已以较佳实施例揭露如上，然其并非用以限定本揭露，任何熟习此技艺者，在不脱离本揭露之精神和范围内，当可作些许之更动与润饰，因此本揭露之保护范围当视后附之申请专利范围所界定者为准。

生物材料寄存

国内寄存

1. 短双歧杆菌 *Bifidobacterium breve* TCI761

中国台湾食品工业发展研究所生物资源保存及研究中心

2022年8月8日

BCRC 911145

国外寄存

- 5 1. 短双歧杆菌 *Bifidobacterium breve* TCI761
德国微生物菌种保藏中心 (German Collection of
Microorganisms and Cell Cultures GmbH, DSMZ)
2022年9月7日
DSM 34383

PCT

(原件为电子形式)

0-1	PCT/RO/134表 有关保藏的微生物或其他生物材料的说明 (PCT细则第13条之二)	
0-1-1	软件版本	i-system Version 1.0.21 20240101 MT/FOP 20140331/0.20.5.21
0-2	国际申请号	PCT/CN2024/073257
0-3	申请人或代理人的档案号	F24W8015
1	下面的说明与本申请说明书中此处提到的 保藏的微生物或其他生物材料相关:	
1-1	页码	73
1-2	行号:	5
1-3	保藏事项	
1-3-1	保藏单位名称	DSMZ Leibniz-Institut DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ)
1-3-2	保藏单位地址	Inhoffenstr. 7B, 38124 Braunschweig , Germany
1-3-3	保藏日期	2022年 9月 07日 (07.09.2022)
1-3-4	保藏号	DSMZ 34383
1-4	补充说明	
1-5	本说明是对下列指定国	所有指定国
1-6	单独提交的说明 这些说明将随后提交给国际局	

由受理局填写

0-4	本表格与国际申请一起收到: (是或否)	
0-4-1	授权官员	

由国际局填写

0-5	国际局收到本表格日期:	
0-5-1	授权官员	

权利要求

1. 一种新颖的短双歧杆菌(*Bifidobacterium breve*), 其寄存于财团法人食品工业发展研究所的生物资源保存及研究中心, 且寄存编号为BCRC 911145。
5
2. 一种如权利要求1所述之培养物在制备降低食欲及/或促进类升糖素胜肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1)分泌之组成物的用途。
3. 一种如权利要求1所述之新颖的短双歧杆菌或其培养物在制备抑制脂肪细胞成熟之组成物的用途。
10
4. 一种如权利要求1所述之新颖的短双歧杆菌或其培养物在制备减少脂肪堆积及/或促进脂肪代谢之组成物的用途。
5. 一种如权利要求1所述之新颖的短双歧杆菌或其培养物在制备降低体重之组成物的用途。
- 15 6. 一种如权利要求1所述之新颖的短双歧杆菌或其培养物在制备调节血脂之组成物的用途。
7. 如权利要求6所述之用途, 其中该调节血脂包括:
降低总胆固醇;
促进高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein
20 cholesterol, HDL-C)合成; 及/或
促进低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein

cholesterol, LDL-C)代谢。

8.一种如权利要求1所述之新颖的短双歧杆菌或其培养物在制备调节血糖之组成物的用途。

5 9.如权利要求2、3、4、5、6与8中之任一项所述之用途，其中该培养物包括经培养之该新颖的短双歧杆菌。

10.如权利要求2、3、4、5、6与8中之任一项所述之用途，其中该经培养之该新颖的短双歧杆菌具备活性或为活菌。

11.如权利要求2、3、4、5、6与8中之任一项所述之用途，其中该经培养之该新颖的短双歧杆菌系经去除其本身之生理活性或为死菌。
10

12.如权利要求2、3、4、5、6与8中之任一项所述之用途，其中该培养物包括该新颖的短双歧杆菌之一培养上清液。

13.一种益生菌组成物，包括：

如权利要求1所述之新颖的短双歧杆菌或其培养物；以及
15 一益生质(prebiotics)。

14.如权利要求13所述之益生菌组成物，其中该新颖的短双歧杆菌或其培养物与该益生质之重量比为1-6:1-12。

15.如权利要求13所述之益生菌组成物，其中该培养物包括经培养之该新颖的短双歧杆菌。

20 16.如权利要求15所述之益生菌组成物，其中该经培养之该经培养之该新颖的短双歧杆菌具备活性或为活菌。

17.如权利要求15所述之益生菌组成物，其中该经培养之该新颖的短双歧杆菌系经去除其本身之生理活性或为死菌。

18.如权利要求13所述之益生菌组成物，其中该益生菌培养物包括该新颖的短双歧杆菌之一培养上清液。

5 19.如权利要求13所述之益生菌组成物，其中该益生质包括下列成分之至少一者：

大豆萃取物、燕麦萃取物、大麦萃取物、苹果萃取物、香蕉萃取物、西红柿萃取物、菊苣萃取物、芦笋萃取物、甜菜萃取物、大蒜萃取物、洋葱萃取物、海藻萃取物、果胶萃取物与茶叶萃取物。

10 20.如权利要求19所述之益生菌组成物，其中该益生质包括大豆萃取物。

21.如权利要求19所述之益生菌组成物，其中该益生质包括大豆萃取物与苹果萃取物。

15 22.如权利要求13所述之益生菌组成物，其中该益生菌组成物为一食品组成物。