



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102844038 B

(45) 授权公告日 2015. 01. 07

(21) 申请号 201180009184. 2

(22) 申请日 2011. 02. 09

(30) 优先权数据

028204/2010 2010. 02. 10 JP

028205/2010 2010. 02. 10 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2012. 08. 10

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2011/052735 2011. 02. 09

(87) PCT国际申请的公布数据

W02011/099514 JA 2011. 08. 18

(83) 生物保藏信息

ATCC PTA-1773 2000. 05. 01

NITE BP-1051 2011. 01. 18

(续)

(73) 专利权人 日环科学株式会社

地址 日本千叶县

专利权人 国立大学法人千叶大学

国立大学法人金沢大学

独立行政法人水产大学校

株式会社三六九

京叶设备工程株式会社

(72) 发明人 宫本浩邦 儿玉浩明 西内巧

松下映夫 宫本久 堀内三吉

濑田真奈未 森建一 服部正平

小川和男

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 曾祯 段承恩

(51) Int. Cl.

A61K 35/74 (2006. 01)

A61P 1/00 (2006. 01)

(续)

(56) 对比文件

JP 2009100728 A, 2009. 05. 14,

JP 2009100728 A, 2009. 05. 14,

(续)

审查员 关巍

权利要求书1页 说明书19页

序列表14页 附图4页

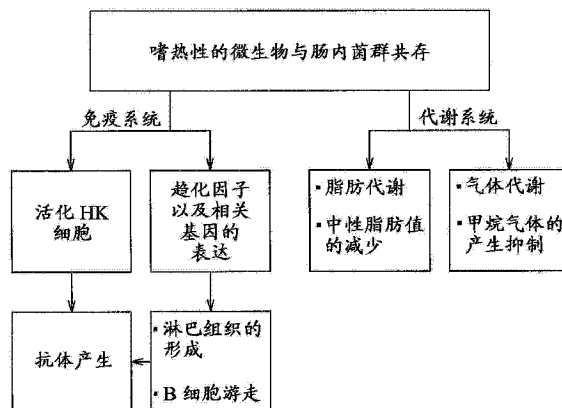
(54) 发明名称

使用了嗜热微生物的混合物、溶解液及药物

(57) 摘要

本发明的课题是提供一种使用了可调节粘膜免疫系统基因群、和 / 或肠、肝脏中的代谢相关基因群的嗜热微生物的混合物、溶解液及药物。作为本发明的解决问题的方法是, 提供一种混合物或溶解液, 是通过在 50℃ ~ 90℃ 使含有嗜热微生物的有机物发酵而得到的, 通过对动物施与该混合物或溶解液, 从而调节该动物的选自粘膜免疫系统基因群、肠中的代谢相关基因群、肝脏中的代谢相关基因群中的至少 1 个基因群的表达, 其中, 作为所述嗜热微生物, 含有 1 种以上嗜热性的芽孢杆菌 (Bacillus) 属、海洋芽孢杆菌 (Oceanobacillus) 属、类芽孢杆菌 (Paenibacillus) 属、厌氧芽孢杆菌 (Anoxybacillus) 属、赖氨酸芽孢杆菌 (Lysinibacillus) 属、甲烷嗜热菌 (Methanopyrus) 属、Geogemma 属、火叶菌

(Pyrolobus) 属、热网菌 (Pyrodictium) 属、超热菌 (Hyperthermus) 属、火球菌 (Pyrococcus) 属、火棒菌属 (Pyrobaculum)、热球菌 (Thermococcus) 属、气火菌 (Aeropyrum) 属、产水菌 (Aquifex) 属、热袍菌 (Thermotoga) 属、热脱硫杆菌 (Thermodesulfobacterium) 属、栖热菌 (Thermus) 属、地芽孢杆菌 (Geobacillus) 属、嗜热丝孢菌 (Thermomyces) 属、梭菌 (Clostridium) 属的微生物。



[转续页]

CN 102844038 B

[接上页]

(83) 生物保藏信息

NITE BP-863 2010.01.15

(51) Int. Cl.

A61P 1/16 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

(56) 对比文件

Chie Niisawa, et al.. "Microbial

analysis of a composted product of marine animal resources and isolation of bacteria antagonistic to a plant pathogen from the compost". 《J. Gen. Appl. Microbiol.》.2008, 第54卷(第3期), 第149-158页.

Chie Niisawa, et al.. "Microbial analysis of a composted product of marine animal resources and isolation of bacteria antagonistic to a plant pathogen from the compost". 《J. Gen. Appl. Microbiol.》.2008, 第54卷(第3期), 第149-158页.

1. 一种混合物或溶解液,其特征在于,含有嗜热性复合菌BP-1051或BP-863,该BP-863具有对用热噬淀粉芽孢杆菌的近源种难分解性的糖质的分解能力,通过对动物施与该混合物或溶解液,从而调节该动物的选自粘膜免疫系统基因群、肠中的代谢相关基因群、肝脏中的代谢相关基因群中的至少1个基因群的表达。

2. 一种药物,含有权利要求1所述的混合物或溶解液作为有效成分。

使用了嗜热微生物的混合物、溶解液及药物

技术领域

[0001] 本发明涉及含有能够对包括人在内的动物进行粘膜免疫系统的活化和代谢调节的嗜热微生物的混合物、溶解液及药物。

背景技术

[0002] 已知使用了微生物的益生菌改善动物的肠内细菌层、活化腹泻的预防和 / 或免疫等。例如, 专利文献 1 中公开了一种源自对动物预防腹泻等的菌体的杀菌处理成分。另外, 专利文献 2 中公开了含有作为乳酸菌的一种的乳杆菌 (*Lactobacillus*) 属的配合物。另外, 专利文献 3 中公开了一种源自作为枯草菌的一种的枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 的抗菌化合物。另外, 专利文献 4 中公开了对胃肠道具有定居性的微生物群, 其是含有酵母、乳杆菌属及双歧杆菌 (*Bifidobacterium*) 属的共生组合物。进而, 专利文献 5 中公开了含有作为乳酸菌的一种的乳杆菌属等的免疫增强剂。这些专利文献中所公开的益生菌均是使用常温性的微生物的益生菌, 不是使用嗜热性的微生物的益生菌。

[0003] 另外, 作为关于对动物施与常温性的微生物对免疫系统和 / 或代谢调节系统的影响及其作用机制进行公开的例子, 可以举出如下内容。

[0004] 非专利文献 1 中报告了枯草芽孢杆菌通过与兔的盲肠内的拟杆菌 (*Bacteroides*) 属共生来增进 CCL21 基因的表达。另外, 非专利文献 2 中报告了作为源自动物的病原菌已知的沙门氏菌 (*Salmonella*) 经由作为粘膜免疫系统的传感器的 Toll 样受体 -4 来抑制作为免疫系统的 B 细胞的游走因子的趋化因子 CXCL13 和 CCL12 的表达。其中, 所述趋化因子 CXCL13 等, 非专利文献 3 中公开了其在生物体内承担与淋巴结的发育相关的作用, 专利文献 4 中公开了其于呼吸系统的免疫功能的形成相关。

[0005] 另外, 在非专利文献 5 中, 作为用于调节作为肠道中的免疫系统的调节部位的派尔集合淋巴结的功能的细菌, 公开了分节丝状菌 (*Segmented filamentous bacteria*)。另外, 在非专利文献 6 中, 还进行了在 Germ free animal (无菌动物) 中导入如上所述的特殊的细菌, 并加入人的菌群的尝试。

[0006] 另一方面, 专利文献 6 ~ 8 中公开了使用了嗜热性的微生物的技术。该使用了嗜热性的微生物的技术具有通过将有机性废弃物进行再循环而可进行各用途的制剂化等许多应瞩目的优点。但是, 在上述各专利文献中, 虽然关于对畜产动物施与具有分解几丁质能力的芽孢杆菌 (*Bacillus*) 属时的源自粪尿的堆肥化的促进、气味减轻等进行了公开, 但没有关于其作用机制的详细记载。即, 在这些专利文献中, 未公开对动物施与嗜热微生物时对生物体的直接效果、特别是对免疫系统和 / 或内分泌系统的影响。

[0007] 如上所述, 现有的与免疫系统的调节相关的技术仅使用常温性的微生物。特别是不能在进行免疫系统的控制的同时, 实现提高肌肉的增量效果、调节肠道的气体代谢和 / 或脂肪代谢来降低源自肠道的内容物的地球变暖气体、抑制体内的脂肪积累的效果。另外, 现有的使用了嗜热性的微生物的技术提倡肥料及饲料效果、环境改善效果。

[0008] 专利文献 1 : 日本专利 2621588 号公报

- [0009] 专利文献 2:日本专利 3338446 号公报
- [0010] 专利文献 3:日本特表 2006-514019 号公报
- [0011] 专利文献 4:日本特开 2009-137962 号公报
- [0012] 专利文献 5:日本特开 2006-76961 号公报
- [0013] 专利文献 6:日本专利 3146305 号公报
- [0014] 专利文献 7:日本专利 3314302 号公报
- [0015] 专利文献 8:日本特开 2003-219864 号公报
- [0016] 非专利文献 1:Nicholas B et al. Microbial induction of B and T cell are as in rabbit appendix. Dev Comp Immunol. 2008 ;32(8) :980-981
- [0017] 非专利文献 2:Asheley L et al. Salmonella disrupts lymph node architecture by TLR-4 mediated suppression of homeostatic chemokines. Nature Medicine 2009 ;15(11) :1259-1266
- [0018] 非专利文献 3:Serge A van de Pavert et al. Chemokine CXCL13 is essential for lymph node initiation and is induced by retinoic acid and neuronal stimulation. Nature Immunology 2009 ;10(11) :1193-1200
- [0019] 非专利文献 4:Juan E Moyron-Quiroz, et al. Role of inducible bronchus associated lymphoid tissue (iBALT) in respiratory immunity. Nature Medicine. 2004 ; 10(9) :927-934
- [0020] 非专利文献 5:Klaasen H L B M et al. Infection and Immunity 61:303-306, 1993 etc.
- [0021] 非专利文献 6:肠内细菌学杂志 22:109-114, 2008

发明内容

[0022] 发明要解决的课题

[0023] 但是,各专利文献及非专利文献中所公开的技术缺乏双向检验关于对动物的影响的作用机制和对全身的健康状态的影响的数据。特别是关于现有的使用了嗜热性的微生物的技术,不是与使用实验动物的研究成果相关的技术,缺乏关于用于谋求在除畜产动物以外的动物、特别是人中的应用的基础研究等的见解。

[0024] 本发明是鉴于上述情况而完成的,基于使用了作为积累了普遍数据的实验动物的小鼠以及大鼠的研究数据,其目的在于提供一种使用了可调节粘膜免疫系统基因群、和/或肠、肝脏中的代谢相关基因群的嗜热微生物的混合物、溶解液及药物。

[0025] 用于解决课题的方法

[0026] 本发明的混合物或溶解液的特征在于,是通过在 50℃~90℃ 使含有嗜热微生物的有机物发酵而得到的,通过对动物施与该混合物或溶解液,从而调节该动物的选自粘膜免疫系统基因群、肠中的代谢相关基因群、肝脏中的代谢相关基因群中的至少 1 个基因群的表达,其中,作为所述嗜热微生物,含有一种以上嗜热性的芽孢杆菌 (Bacillus) 属、海洋芽孢杆菌 (Oceanobacillus) 属、类芽孢杆菌 (Paenibacillus) 属、厌氧芽孢杆菌 (Anoxybacillus) 属、赖氨酸芽孢杆菌 (Lysinibacillus) 属、甲烷嗜热菌 (Methanopyrus) 属、Geogemma 属、火叶菌 (Pyrolobus) 属、热网菌 (Pyrodictium) 属、

超热菌 (*Hyperthermus*) 属、火球菌 (*Pyrococcus*) 属、火棒菌属 (*Pyrobaculum*)、热球菌 (*Thermococcus*) 属、气火菌 (*Aeropyrum*) 属、产水菌 (*Aquifex*) 属、热袍菌 (*Thermotoga*) 属、热脱硫杆菌 (*Thermodesulfobacterium*) 属、栖热菌 (*Thermus*) 属、地芽孢杆菌 (*Geobacillus*) 属、嗜热丝孢菌 (*Thermomyces*) 属、梭菌 (*Clostridium*) 属的微生物。

[0027] 其中,所述嗜热微生物与 H. G. Schlegel 著、“一般微生物学”(Thieme Verlag Stuttgart, 第5版,173 高度嗜热菌及超高度嗜热菌的栏)中记载的耐热性的基准(最适增殖温度为 40℃以上)一致。

[0028] 本发明的混合物或溶解液的特征在于,作为嗜热微生物,含有嗜热性复合菌 BP-1051。

[0029] 本发明的混合物或溶解液的特征在于,作为嗜热微生物,含有 BP-863,该 BP-863 具有对用热噬淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus thermoamylovorans*) 的近源种难分解性的糖质的分解能力。

[0030] 本发明的混合物或溶解液的特征在于,作为嗜热微生物,含有嗜热性种菌 PTA-1773。

[0031] 本发明的药物的特征在于,含有上述混合物或溶解液中的任一种作为有效成分。

[0032] 发明的效果

[0033] 本发明的混合物或溶解液通过含有一种以上嗜热性的芽孢杆菌 (*Bacillus*) 属、海洋芽孢杆菌 (*Oceanobacillus*) 属、类芽孢杆菌 (*Paenibacillus*) 属、厌氧芽孢杆菌 (*Anoxybacillus*) 属、赖氨酸芽孢杆菌 (*Lysinibacillus*) 属、甲烷嗜热菌 (*Methanopyrus*) 属、*Geogemma* 属、火叶菌 (*Pyrolobus*) 属、热网菌 (*Pyrodictium*) 属、超热菌 (*Hyperthermus*) 属、火球菌 (*Pyrococcus*) 属、火棒菌属 (*Pyrobaculum*)、热球菌 (*Thermococcus*) 属、气火菌 (*Aeropyrum*) 属、产水菌 (*Aquifex*) 属、热袍菌 (*Thermotoga*) 属、热脱硫杆菌 (*Thermodesulfobacterium*) 属、栖热菌 (*Thermus*) 属、地芽孢杆菌 (*Geobacillus*) 属、嗜热丝孢菌 (*Thermomyces*) 属、梭菌 (*Clostridium*) 属的微生物作为嗜热微生物,对包括人在内的动物进行施与,由此与宿主的肠内菌群共存,可期待调节粘膜免疫系统基因群、肠中的代谢相关基因群、肝脏中的代谢相关基因群中的至少 1 个基因群的表达。另外,本混合物或溶解液即使通过无菌环境下对包括人类的动物进行施与,也可期待调节粘膜免疫系统基因群等的表达。

[0034] 本发明的混合物或溶解液含有嗜热性复合菌 BP-1051 作为嗜热微生物,从而在肠内不存在菌相那样的无菌条件下、及在肠内存在菌相的通常环境下的任一环境下,都可期待通过对动物(包括人)进行施与,由此活化早期应对细菌感染、病毒感染的自然免疫系统,从而调节粘膜免疫系统基因群的表达、或调节肠、肝脏中的代谢相关基因群的表达。

[0035] 本发明的混合物或溶解液通过含有具有对用热噬淀粉芽孢杆菌的近源种难分解性的糖质的分解能力的 BP-863、嗜热性种菌 PTA-1773 中的任一种作为嗜热微生物,也可发挥上述同样的效果。

[0036] 另外,设想所述 BP-863 活化肠道的派尔集合淋巴结的发育、以及生物体内的 IL-18 的产生。通常已知派尔集合淋巴结承担免疫球蛋白的产生调节等,IL-18 诱导 γ 干扰素的产生。因此,通过 BP-863,在上述无菌条件下、或者上述通常条件下的任一种条件下,都能够有助于可以早期应对细菌感染、病毒感染的自然免疫系统的活化。

[0037] 本发明的药物通过含有上述混合物或溶解液的任一种作为有效成分,可以发挥上述同样的效果。另外,本发明的药物,可对包括人在内的动物进行经口或者经气管的施与。

附图说明

[0038] 图 1 是关于本发明的混合物或溶解液的肠道内的作用机制的概念图。

[0039] 图 2 是表示本发明的混合物或溶解液对无菌小鼠的肠道功能的影响的概念图;

[0040] 图 3 是热噬淀粉芽孢杆菌的近源种 N-11 株 (NITE BP-863) 的培养皿上的培养照片;

[0041] 图 4 是热噬淀粉芽孢杆菌的近源种 N-11 株 (NITE BP-863) 的电子显微镜图像;

[0042] 图 5 是在高脂肪食下饲养的小鼠 (饮水:自来水) 的利用 CT 扫描得到的躯干部的图像;

[0043] 图 6 是在高脂肪食下饲养的小鼠 (饮水:添加了 1.0% 溶解液 1-B 的自来水) 的利用 CT 扫描得到的躯干部的图像;

[0044] 图 7 是表示施与了嗜热性的微生物的无菌小鼠的肝脏中的 IL-18 的含量的图;

[0045] 图 8 是表示施与了嗜热性的微生物的无菌小鼠的粪中的分泌型 IgA 的浓度的图。

具体实施方式

[0046] 以下,参照附图说明本发明的实施方式。首先,对本发明的混合物或溶解液进行说明。本发明的混合物或溶解液通过高温发酵含有嗜热性的微生物的有机物而得到,通过对包括人在内的动物进行施与,从而调节该动物的粘膜免疫系统基因群、肠中的代谢相关基因群、肝脏中的代谢相关基因群中的至少 1 个基因群的表达。

[0047] 上述嗜热性的微生物也如上述所记载,是最适增殖温度为 40℃ 以上的微生物。具体而言,可以举出:嗜热性的芽孢杆菌属、海洋芽孢杆菌属、类芽孢杆菌属、厌氧芽孢杆菌属、赖氨酸芽孢杆菌属等的微生物。除此之外,可以举出嗜热性的甲烷嗜热菌属、Geogemma 属、火叶菌属、热网菌属、超热菌属、火球菌属、火棒菌属、热球菌属、气火菌属、产水菌属、热袍菌属、热脱硫杆菌属、栖热菌属、地芽孢杆菌属、嗜热丝孢菌属、梭菌属的微生物。另外,更具体而言,可以举出嗜热性种菌 PTA-1773、嗜热性复合菌 BP-1051、作为热噬淀粉芽孢杆菌的近源种 (N-11) 的 BP-863、作为细菌门属于厚壁菌门 (Firmicutes) 的热阴沟芽孢杆菌 (*Bacillus thermocloacae*) 的近源种 (在 GenBank 数据库中登记为 no. AB298562)、热噬淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus thermoamylovorans*) 的近源种 (在 GenBank 数据库中登记为 no. AB298559)。

[0048] 另外,上述嗜热性种菌 PTA-1773 于 2000 年 5 月 1 日在 ATCC (American Type Culture Collection (美国典型培养物保藏中心), 10801 University Boulevard Manassas, Virginia 20110-2209 U.S.A.) 国际保藏 (保藏号:PTA-1773)。嗜热性种菌 PTA-1773 含有几丁质分解能力高的微生物群、以及嗜热性的乳酸菌,具体而言,含有放线细菌 (*Actinomycetales bacterium*) 属、脂环酸芽孢杆菌 (*Alicyclobacillus*) 属、双芽孢杆菌 (*Amphibacillus*) 属、厌氧芽孢杆菌 (*Anoxybacillus*) 属、*Atopostipes* 属、短状杆菌 (*Brachybacterium*) 属、短杆菌 (*Brevibacterium*) 属、樱桃芽孢杆菌 (*Cerasibacillus*) 属、梭菌 (*Clostridium*) 属、棒状杆菌 (*Corynebacterium*) 属、短小杆菌 (*Curtobacterium*)

属、乔治菌 (*Georgenia*) 属、薄壁芽孢杆菌 (*Gracilibacillus*) 属、*Jeotgalicoccus* 属、*Salinibacillus* 属、蒂西耶氏菌 (*Tissierella*) 属、脲芽孢杆菌 (*Ureibacillus*) 属、漫游球菌 (*Vagococcus*) 属、枝芽孢杆菌 (*Virgibacillus*) 属、魏斯氏菌 (*Weissella*) 属等的微生物。另外,嗜热性复合菌 BP-1051 于 2011 年 1 月 18 日在独立行政法人制品评价技术基盘机构的专利微生物保藏中心 (NPMD) (日本 〒 292-0818 千叶县木更津市上总镰足 2-5-8) 国际保藏 (保藏号 :NITE BP-1051)。另外,作为热嗜淀粉芽孢杆菌的近源种 (N-11) 的 BP-863 于 2010 年 1 月 15 日在独立行政法人制品评价技术基盘机构的专利微生物保藏中心 (NPMD) (日本 〒 292-0818 千叶县木更津市上总镰足 2-5-8) 国际保藏 (保藏号 :NITE BP-863)。

[0049] 上述有机物含有如上所述的嗜热微生物且可高温发酵。具体而言,可以举出:含有上述嗜热性的微生物的海产品、农产品、它们的残渣等有机性废弃物、木材碎片等。其中,上述农产品包含玉米的外皮、玉米的芯(玉米棒)、大豆粕、草莓、蘑菇等含有作为难分解性的糖醇的阿拉伯糖、木糖醇、木聚糖等的原材料。

[0050] 另外,为了制作本发明的混合物或溶解液,在 50℃~90℃ 的温度下使上述有机物发酵。在此,如果使有机物的发酵温度低于 50℃,则可能上述嗜热性的微生物的增殖难以进行,而且常温性的微生物也增殖,因此不适当。另外,如果使有机物的发酵温度高于 90℃,则上述嗜热性的微生物可能被杀灭,因此不适当。

[0051] 本发明的混合物或溶解液可由通过上述发酵得到的发酵产物来制作。例如,本发明的混合物可以通过将上述发酵产物直接或者混合在饲料等中来制作。另外,本发明的溶解液可以通过用水稀释上述发酵产物来制作。除此之外,以不使上述嗜热性的微生物被杀灭为条件,本发明的混合物或溶解液可以通过任意的制作方法。

[0052] 如上制作的本发明的混合物或溶解液通过经口或经气管对动物(包括人)进行施与,从而可以调节该动物的粘膜免疫系统基因群、肠中的代谢相关基因群、肝脏中的代谢相关基因群中的至少 1 个基因群的表达。

[0053] 设想本发明的混合物或溶解液的上述功能通过例如图 1 中记载的机制产生。即,本发明的混合物或溶解液中所含的嗜热性的微生物在与宿主的肠内菌群共存时,作用于粘膜免疫系统及代谢系统。首先,作为对粘膜免疫系统的作用,通过肠道中活化自然杀伤细胞(NK 细胞),以及促进趋化因子以及相关基因群的表达并促进淋巴组织的形成、B 细胞的游走,从而使抗体产生增加。另外,作为代谢系统的作用,通过调节脂肪代谢的基因群的表达量使中性脂肪减少,以及调节气体代谢的基因群的表达量,从而抑制甲烷气体产生。

[0054] 另外,也设想本发明的混合物或代谢系统中所含的嗜热性的微生物直接作用于粘膜免疫系统。这基于以下事实:如图 2 所示,在施与了本发明的混合物或溶解液的 Germ free 小鼠(无菌小鼠)中,派尔集合淋巴结的发育、粪便代谢的正常化、粘膜免疫系统的温和的活化进行。因此,本发明的混合物或溶解液可以说是即使在肠内无菌的环境下也能够以性状相近的形式调节肠内代谢的益生菌。例如可期待在医疗领域中需要绝食的手术后治疗中的应用。

[0055] 另外,本发明的混合物或溶解液含有的微生物为嗜热性,因此,可在就要使用前进行 60℃ 左右的灭菌,从而可以防止了混入杂菌的形式进行灵活利用。另外,也可以通过更简便的培养技术大量地增产具有新功能的益生菌以及益生元。

[0056] 接着,对本发明的药物进行说明,本发明的药物通过含有本发明的混合物或溶解

液作为有效成分,来调节被施与的动物的粘膜免疫系统基因群、肠中的代谢相关基因群、肝脏中的代谢相关基因群中的至少 1 个基因群的表达,从而发挥效果。另外,本药物可经口或经气管对动物(包括人)进行施与。

[0057] 另外,本发明的药物可根据需要适宜选择赋形剂、增量剂、粘结剂、润湿剂、崩解剂、表面活性剂、润滑剂、分散剂、缓冲剂、保存剂、溶解辅助剂、矫味剂、无痛剂、稳定剂等药学上容许的载体或添加剂进行混合来实现,从而可以制成溶液剂、胶囊剂、片剂、颗粒剂等。

[0058] 另外,例如,作为上述赋形剂,可以举出乳糖、白糖等糖类、淀粉类等。另外,作为崩解剂,可以举出纤维素衍生物、淀粉类等。另外,作为粘结剂,可以举出明胶、阿拉伯胶等高分子类。另外,作为润滑剂,可以举出蜡类、硬脂酸等。

[0059] 以下,通过实施例更具体地说明本发明,但本发明并不受这些实施例任何限定。另外,实施例中所引用的文献中的记载内容是作为本说明书的记载被参照的。

[0060] 实施例 1

[0061] (1-1) 溶解液 1-A、1-B 的制作

[0062] 溶解液 1-A 是将新泽等(Niisawa C, Oka S, Kodama H, Hirai M, Kumagai Y, Mori K, Matsumoto J, Miyamoto H, Miyamoto H(2008)Microbial analysis of composted product of marine animal resources and isolation of antagonistic bacteria to plant pathogen from the compost. J Gen Appl Microbiol 54:149-158)报告的高温发酵产物以重量比稀释至 200 倍,在 60 ~ 70°C 下进行 6 小时以上的散气处理而制作的。另外,溶解液 1-B 是通过共培养溶解液 1-A 中所含的嗜热微生物和 PTA-1773 而制作的。

[0063] (1-2) 溶解液 1-A 中所含的微生物的分析

[0064] 上述溶解液 1-A 含有多种嗜热微生物,作为优先菌种,含有嗜热性复合菌 BP-1051,对它们的碱基序列(16SrDNA 序列)进行分析。该分析通过在标准培养基、普通琼脂培养基、心浸液培养基等中接种溶解液 1-A 中所含的微生物,从增殖而得的菌株中提取 DNA 来进行。另外,在该分析中,应用已知的方法(Lane, D. J. (1991) 16S/23S rRNA sequencing. In Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics. Stackebrandt, E. and Goodfellow, M. eds., John Wiley & Sons Ltd., Chichester, England, pp. 115-175)并使用作为通用引物的 27F 和 1525R 来实施 PCR 反应。反应溶液是混合 25 μ L 2 \times GoTaq Hot Start Colorless Master Mix(Promega Co., WI, USA) 和 2pmol 的引物,用 50 μ L 的灭菌水溶解样品而制作的。PCR 循环是在 94°C 15 分钟后,将 94°C 30 秒、55°C 30 秒、72°C 90 秒的循环进行 35 个循环,在 72°C 下使其反应 7 分钟。进而,用 QIAquick PCR Purification Kit(Qiagen GmbH, Germany) 纯化 1.5-kbp 长的 PCR 片段,使用 BigDye Terminator or Cycle Sequencing Kit 通过全自动 DNA analyser system(Applied Biosystems Inc., CA, USA) 来确定碱基序列。进而,根据 GenBank(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 的数据库等进行比对检索。通过该分析而分析出的各微生物的碱基序列如序列号 1 ~ 8 所示。

[0065] 在此,在序列号 1 中显示碱基序列的栗褐芽孢杆菌(*Bacillus badius*)的近源种(IP-2)与栗褐芽孢杆菌的标准菌株(B NBRC15713^T)具有 97.3% 的同源性。另外,作为栗褐芽孢杆菌的近源种(IP-2)的特征,可以举出革兰氏阳性、宽度 2 μ m、长度 2 μ m、形成芽孢、无葡萄糖、乳糖等的糖分解能力、过氧化氢酶、氧化酶阳性等,另外,已知栗褐芽孢杆菌具有参与氮代谢的基因。

[0066] 在序列号 2 中显示碱基序列的 *Anoxybacillus kamchatkensis* 的近源种 (IP-3) 与 *Anoxybacillus kamchatkensis* 的标准菌株 (IAM11061^T) 具有 99.5% 的同源性。另外, 作为 *Anoxybacillus kamchatkensis* 的近源种 (IP-3) 的特征, 可以举出革兰氏阳性、宽度 0.4 μm 、长度 3 ~ 4 μm 、形成芽孢、有淀粉、葡萄糖的分解能力、过氧化氢酶、氧化酶阳性、将硝酸盐还原成亚硝酸等。另外, 设想 *Anoxybacillus kamchatkensis* 具有脂肪酶活性、且脂质的分解能力高。

[0067] 在序列号 3 中显示碱基序列的泛酸枝芽孢杆菌 (*Virgibacillus pantothenicus*) 的近源种 (IP-9) 与泛酸枝芽孢杆菌的标准菌株 (DSM24988^T) 具有 99.5% 的同源性。另外, 作为泛酸枝芽孢杆菌的近源种 (IP-9) 的特征, 可以举出革兰氏阴性、宽度 0.5 μm 、长度 5 ~ 6 μm 、形成大的芽孢、有淀粉、葡萄糖、塔格糖的分解能力、过氧化氢酶、氧化酶阳性、将硝酸盐还原成亚硝酸等。另外, 泛酸枝芽孢杆菌具有作为具有抗盐性的成分的 ectoine, 该 ectoine 也作为保湿成分已知。

[0068] 在序列号 4 中显示碱基序列的 *Bacillus fortis* 的近源种 (IP-14) 与 *Bacillus fortis* 的标准菌株 (LMG22079^T) 具有 99.7% 的同源性。另外, 作为 *Bacillus fortis* 的近源种 (IP-14) 的特征, 可以举出革兰氏阳性、宽度 0.5 μm 、长度 1 μm 、形成芽孢、无淀粉、葡萄糖的分解能力、有海藻糖的分解能力, 过氧化氢酶、氧化酶阳性、不将硝酸盐还原成亚硝酸等。

[0069] 在序列号 5 中显示碱基序列的 *Lysinibacillus xylanilyticus* 的近源种 (IP-23) 与 *Lysinibacillus xylanilyticus* 的标准菌株 (YC6957^T) 具有 95.0% 的同源性。另外, 作为 *Lysinibacillus xylanilyticus* 的近源种 (IP-23) 的特征, 可以举出革兰氏阳性、宽度 0.5 μm 、长度 3 ~ 5 μm 、形成芽孢、无糖分解能力、有脲分解能力, 过氧化氢酶、氧化酶阳性、不将硝酸盐还原成亚硝酸等。另外, 已知 *Lysinibacillus xylanilyticus* 具有对难分解性的木聚糖的分解特性, 但 *Lysinibacillus xylanilyticus* 的近源种 (IP-23) 如上所述, 完全没有糖分解能力, 仅脲的利用能力高, 认为是新菌种。

[0070] 在序列号 6 中显示碱基序列的 *Paenibacillus timonensis* 的近源种 (IP-60) 与 *Paenibacillus timonensis* 的标准菌株 (CIP108005^T) 具有 96.9% 的同源性。另外, 作为 *Paenibacillus timonensis* 的近源种 (IP-60) 的特征, 可以举出革兰氏阳性、宽度 0.5 μm 、长度 3 ~ 5 μm 、形成芽孢、有分解淀粉、木糖醇、木聚糖的能力、过氧化氢酶、氧化酶阴性、将硝酸盐还原成亚硝酸等。另外, *Paenibacillus timonensis* 木聚糖的分解能力未知, 但 *Paenibacillus timonensis* 的近源种 (IP-60) 如上所述具有高的木聚糖分解能力, 设想为新菌种。另外, 对难分解性的糖醇的分解能力也与 BP-863 同程度地高。

[0071] 在序列号 7 中显示碱基序列的 *Paenibacillus curdlanolyticus* 的近源种 (IP-75) 与 *Paenibacillus curdlanolyticus* 的标准菌株 (IF015724^T) 具有 94.6% 的同源性。另外, 作为 *Paenibacillus curdlanolyticus* 的近源种 (IP-75) 的特征, 可以举出革兰氏阳性、宽度 0.5 μm 、长度 3 ~ 5 μm 、形成芽孢、有乳糖分解能力、过氧化氢酶、氧化酶阴性、不将硝酸盐还原成亚硝酸等。另外, 已知 *Paenibacillus curdlanolyticus* 具有对难分解性的木聚糖的分解特性。另外, *Paenibacillus curdlanolyticus* 的近源种 (IP-75), 对难分解性的糖醇的分解能力也与 BP-863 同程度地高, 设想为新菌种。

[0072] 另外, 在序列号 8 中显示碱基序列的 *Bacillus raris* 的近源种 (IP-95) 与

Bacillus raris 的标准菌株 (LMG22866^T) 具有 99.9% 的同源性。另外, 作为 *Bacillus raris* 的近源种 (IP-95) 的特征, 可以举出革兰氏阳性、宽度 1 μm、长度 2 μm、形成芽孢、有淀粉、葡萄糖、海藻糖分解能力、过氧化氢酶、氧化酶阳性、将硝酸盐还原成亚硝酸等。

[0073] 实施例 2

[0074] (2-1) 溶解液 2 的制作

[0075] 溶解液 2 如下制作: 在株式会社三六九所设置的 3 段式的通气性发酵槽中, 在 70°C ~ 90°C 利用溶解液 1-B 中所含的微生物群来发酵含有海产残渣的有机物, 用水将其最终发酵物稀释至 100 倍, 在 60°C 以下且在曝气条件下使其溶解 10 小时以上时间。

[0076] (2-2) 通过施与溶解液 2 来分析在无菌小鼠的盲肠便中成为优先种的微生物

[0077] 对无菌饲养的 Balb/c 小鼠 (雄性、10 周龄) 以 0.5% 的浓度将溶解液 2 施与 3 周, 对从其盲肠便中分离的微生物的碱基序列 (16SrDNA 序列) 进行分析。另外, 在饲养时, 在调节为室温 24 ± 1°C、湿度 55 ± 5% 的饲养室中用隔离器 (アイ・シー・エム社制) 饲养上述 Balb/c 小鼠, 饲料使用经放射线灭菌的饲料 (オリエンタル酵母社制品名 CMF)。另外, 碱基序列的分析通过与实施例 1 的 (1-2) 中叙述的方法同样的方法进行。通过该分析所分析出的溶解液 2 中所含的各微生物的碱基序列如序列号 9、10 所示。

[0078] 在上述序列号 9 中显示碱基序列的热噬淀粉芽孢杆菌的近源种 (N-11) 为上述 BP-863, 与热噬淀粉芽孢杆菌的标准菌株 (LMG18084^T) 具有 99.9% 的同源性。该热噬淀粉芽孢杆菌的近源种 (N-11) 的生物化学特性如表 1 所示, 另外, 热噬淀粉芽孢杆菌的近源种 (N-11) 的培养照片如图 3、图 4 所示。

[0079] [表 1]

特征	热噬淀粉芽孢杆菌的 近源种(N-11)	热噬淀粉芽孢杆菌的 标准菌株(LMG18084 ^T)
菌落及显微镜观察		
菌落的颜色	奶油色	奶油色
菌的形状	杆菌	杆菌
菌的大小	0.5×2-5μm	0.45-0.5×3-4μm
革兰氏染色	+	+
芽孢染色	+	+
芽孢的位置	端(接近端点)	端(接近端点)
运动性	V	V(在菌株中可变)
其它生物化学特性		
吲哚产生	-	-
IPA 产生	-	-
H ₂ S 产生	-	-
脲分解	-	-
硝酸盐还原	+	+
过氧化氢酶	+	+
氧化酶	+	+
酸产生能力试验		
葡萄糖	+	+
乳糖	+	+
麦芽糖	+	+
半乳糖	+	+
海藻糖	+	+
甘露糖	+	+
蔗糖	+	+
果糖	+	+
纤维二糖	+	+
核糖	+	+
木糖	+	V(在菌株中可变)
鼠李糖	+	-
D-阿拉伯糖	+	-
松二糖	+	ND
葡萄糖酸钠	+	-
肌醇	+	-
木糖醇	+	-
卫矛醇	+	-
赤藓糖醇	+	-
山梨糖醇	+	-
甘露糖醇	+	-
乳酸	+(弱)	ND
木聚糖	+	ND

[0080]

[0081] 其中,表1中,与热噬淀粉芽孢杆菌的标准菌株(LMG18084^T)比较显示热噬淀粉芽孢杆菌的近源种(N-11)的生物化学性状。另外,热噬淀粉芽孢杆菌的标准菌

株 (LMG18084^T) 的生物化学性状基于 Combet-Blanc, Y., Ollivier, B., Streicher, C., Patel, B. K. C., Dwivedi, P. P., Pot, B., Prensier, G., Garcia, J. L. (1995) *Bacillus thermoamylovorans* sp. nov., a moderately thermophilic and amyolytic bacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45:9-16、及 Coorevits, A., Logan, N., Dinsdale, A., Halket, G., Scheldeman, P., Heyndrickx, M., Schumann, P., Van Landschoot, A., De Vos, P. (2010) *Bacillus thermolactis* sp. nov., isolated from dairy farms, and emended description of *Bacillus thermoamylovorans*. *Int. J. Syst. Microbiol.* 56:781-786 中记载的内容。

[0082] 上述热噬淀粉芽孢杆菌的近源种 (N-11) 如表 1 中所示, 与热噬淀粉芽孢杆菌的标准菌株 (LMG18084^T) 相比, 对作为难分解性的糖醇的阿拉伯糖、木糖醇等具有高的分解能力。因此, 热噬淀粉芽孢杆菌的近源种 (N-11) 在利用于发酵饲料等时, 可对目前饲料价值低的含有难分解性的糖醇等的玉米外皮、小麦粕、大豆粕、蘑菇、蔬菜粕等期待有效的分解能力。另外, 热噬淀粉芽孢杆菌的近源种 (N-11) 也被确认了作为难分解性的多糖类的木聚糖的分解能力。另外, 热噬淀粉芽孢杆菌的近源种 (N-11) 如图 4 的电子显微镜照片所示, 在通常的培养基条件下, 形成芽孢的菌体与杆菌共存。

[0083] 在上述序列号 10 中显示碱基序列的凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) 的近源种 (N-16) 与凝结芽孢杆菌的标准菌株 (ATCC7050^T) 具有 99.9% 的同源性。作为该凝结芽孢杆菌的近源种 (N-16) 的特征, 可以举出革兰氏阳性、宽度 0.7 μm 、长度 3 ~ 5 μm 、形成芽孢、无淀粉分解能力、有葡萄糖、海藻糖、塔格糖的分解能力、过氧化氢酶阳性、氧化酶阴性、不将硝酸盐还原成亚硝酸等。

[0084] (2-3) 溶解液 3、4、5 的制作

[0085] 作为仅含有热噬淀粉芽孢杆菌的近源种 (N-11) (BP-863) 的溶解液制作溶解液 3。另外, 作为仅含有凝结芽孢杆菌的近源种 (N-16) (BP-1051 中含有的分离菌) 的溶解液制作溶解液 4。另外, 作为仅含有热噬淀粉芽孢杆菌的标准菌 (LMG18084^T) 的溶解液制作溶解液 5。

[0086] 实施例 3

[0087] (3-1) 溶解液 1-A 的检验实验 [1]

[0088] 对 Wistar 大鼠 (雄性、3 周龄) (从九动社获得) 施与溶解液 1-A, 进行检验该溶解液 1-A 的基因群表达调节效果的实验。其中, 通过准备下述 3 组并比较来进行本实验。

[0089] (1-A) 组通常饲养组 (对照组)

[0090] (1-B) 组溶解液 1-A 的饮水添加组

[0091] (1-C) 组溶解液 1-A (其中, 经 0.02 μm 过滤器灭菌处理) 的饮水添加组

[0092] 其中, 对于 Wistar 大鼠, (1-A) ~ (1-C) 组均将经 5 天预备饲养的 Wistar 大鼠用于实验。另外, Wistar 大鼠各组均为 5 只, 每只用各自的计量器 (夏目制作所社制) 进行饲养。另外, 饲料使用经放射线灭菌的饲料 (オリエンタル酵母社制品名 MF), 对 1 只 Wistar 大鼠, 使其在每日 25g 的摄取限制内自由摄食。另外, 饮水对于 (1-A) 组使用自来水, 对于 (1-B) 组使用添加有 1.0% 溶解液 1-A 的自来水, 对于 (1-C) 组使用添加有 1.0% 的 0.02 μm 过滤器进行了灭菌处理的溶解液 1-A 的自来水, 使其自由摄取。

[0093] 上述 (1-A) ~ (1-C) 组的 Wistar 大鼠分别饲养 3 个月后, 采取它们的肠道、肝脏、脾脏、血液等, 迅速用液氮冷冻, 然后, 在 -80°C 的冰箱中保管。

[0094] 使用上述采取的小肠道分析各组间的基因群的表达的变动。具体而言,在从采取的小肠道中除去派尔集合淋巴结后的部位中,实施 RNA 提取。在 100mg 以下的组织中添加 Isogen(ニッポンジーン社制)1000 μ l,在用液氮冷冻的状态下用乳钵进行粉碎,使用 RNAeasy mini kit(Quiagen 公司制)进行该 RNA 提取。然后,各基因群的表达量如下进行数值化:使上述提取的 RNA 与搭载小鼠的全基因的微阵列(Agilent 公司制)杂交并清洗后,通过阵列扫描仪(Agilent 公司制)进行各点荧光值的计算及补正。其结果如表 2、3 所示。

[0095] [表 2]

基因	基因符号	调节
免疫球蛋白相关基因	XM_213585, LOC500183, RGD1359539, Z93370, XM_345745, X60291, A2m	向上
维生素 D- 结合蛋白前体	TC641315	向上
趋化因子 (C-C 基序) 配基	Ccl21b, Scya11, Scya28, Sdf1, LOC498335	向上
趋化因子 (C-C 基序) 受体	Cxcr4, Ccr5, Ccr6, Ccr7	向上
核受体共激活因子 7	XM_574285	向上
颗粒酶 B/ 自然杀伤细胞蛋白酶前体	M_224224, RGD1562700_predicted Gzmb, RGD1562700_predicted	向上 向上

[0097] [表 3]

基因	基因符号	调节
HBV pX 相关蛋白 8 大同工型	Hbxap_predicted	向下
碳酸酐酶	ENSRNOT00000051309	向下
载脂蛋白 A-V	Apoa5	向下
内皮缩血管肽	Edn3	向下
热激蛋白 4	Hspa4	向下

[0099] 表 2 表示相对于 (1-A) 组在 (1-B) 组中显示 2.0 倍以上的表达量的上位 6 个基因群。在这些基因群中,免疫球蛋白相关基因、趋化因子 (C-C 基序) 配基、趋化因子 (C-C 基序) 受体、颗粒酶 B/ 自然杀伤细胞蛋白酶前体为粘膜免疫系统基因群,维生素 D- 结合蛋白前体为代谢相关基因群。另外,虽然表中没有,但作为粘膜免疫系统基因群的肿瘤坏死因子受体也相对于 (1-A) 组在 (1-B) 组中为 1.8 倍左右的表达量。

[0100] 其中,作为上述免疫球蛋白相关基因,确认了抗独特型免疫球蛋白 M 轻链、免疫球蛋白 γ 2a 恒定区、NGF- 结合 Ig 轻链、Ig γ -1、链 C 区、 γ -2a 免疫球蛋白重链、免疫球蛋白 κ 链可变区。另外,作为上述趋化因子 (C-C 基序) 配基,小诱导细胞因子 B13 前体 (CXCL13) (B 淋巴细胞化学引诱物) 显著地表达。进行利用实时 PCR 的定量化,结果相对于 (1-A) 组在 (1-B) 组中确认了 3.6 倍 (n=3) 的增加倾向。

[0101] 表 3 表示相对于 (1-A) 组在 (1-B) 组中显示二分之一以下的表达量的上位 5 个基因群。在这些基因群中,HBV pX 相关蛋白参与病毒感染的控制,碳酸酐酶参与气体代谢,载脂蛋白 A-V 参与脂肪代谢,内皮缩血管肽参与血压调节,热激蛋白 4 参与基因表达、蛋白质功能调节及细胞内信号等。

[0102] 另外, (1-C) 组与 (1-B) 组不同,相对于 (1-A) 组的基因群的表达量的变动少。

[0103] (3-2) 溶解液 1-B 的检验实验 [1]

[0104] 对无菌小鼠施与溶解液 1-B,进行检验该溶解液 1-B 的基因群表达量调节效果的实验。其中,通过准备下述 2 组并比较来进行本实验。

[0105] (2-A) 组通常饲养组 (对照组)

[0106] (2-B) 组溶解液 1-B 的饮水添加组

[0107] 另外, 无菌小鼠 (从东京大学大学院农学生命科学研究科兽医公共卫生学研究室获得并委托该研究室饲养) (2-A)、(2-B) 组均为 5 只, 在各组内用相同的隔离器 (アイ・シー・エム社制) 进行饲养。另外, 饲料使用经放射线灭菌的饲料 (オリエンタル酵母社制制品名 CMF), 使其自由摄食。另外, 饮水对于 (2-A) 组使用通过紫外线及高压灭菌器灭菌后的水, 对于 (2-B) 组使用在通过紫外线及高压灭菌器灭菌后的水中添加有 0.5% 溶解液 1-B 的水, 使其自由摄取。

[0108] 上述 (2-A)、(2-B) 组的无菌小鼠分别饲养 3 周后, 采取它们的肠道、肝脏、脾脏、血液等, 迅速用液氮进行冷冻, 然后在 -80°C 的冰箱中保管。然后, 应用与本实施例 (3-1) 同样的方法分析各组间的基因群的表达量的变动。

[0109] 由上述分析的结果也表明, 在无菌小鼠中, 通过施与溶解液 1-B, 虽然与表 2 及表 3 中所示的 Wistar 大鼠的情况同样地变化的基因群少, 但是, 如表 4 所示的类似的作为粘膜免疫系统基因群的免疫球蛋白相关基因、趋化因子 (C-C 基序) 配基、肿瘤坏死因子受体高表达, 代谢相关基因群的表达也被调节。此外, 该结果由于对无菌小鼠的施与时间短至 3 周, 因而设想为短时间施与的效果。

[0110] [表 4]

	基因	小鼠基因符号	调节
[0111]	免疫球蛋白相关基因	Igsf9, Igsf3, Semas3b	向上
	趋化因子 (C-C 基序) 配基	Ccl25	向上
	肿瘤坏死因子受体	Tnfrsf1b	向上

[0112] (3-3) 溶解液 1-A 的检验实验 [2]

[0113] 关于在本实施例 (3-1) 中采取的 Wistar 大鼠的肝脏, 分析 (1-A)、(1-B) 组间的基因群间的表达量的变动。本分析应用与本实施例 (3-1) 同样的方法进行。分析结果如表 5、6 所示。

[0114] [表 5]

	基因	基因符号	调节
[0115]	嗅觉受体 1148 (predicted)	Olr1148	向上
	免疫球蛋白相关基因	RGD1562855 predicted, Igk	向上
	UDP 糖基转移酶 2 家族, 多肽 B	Olr1330	向上
	TRAF2 结合蛋白	LOC310877; Ab2-389	向上
	醇脱氢酶 6(class V)	Adh6	向上

[0116] [表 6]

	基因	基因符号	调节
[0117]	间皮素	Msln	向下
	促乳素受体	RATPRLR; MGC105486	向下
	Nucturnin (CCR4 蛋白同源物)	LOC310395	向下
	羟基类固醇 (17-β) 脱氢酶 2	Hsd17b2	向下
	apelin, AGTRL1 配基	Apel	向下
	环指蛋白 187 (predicted)	RGD1308636	向下
	SNF1 样激酶	Sik	向下
	硬脂酰辅酶 A 脱氢酶	Scd1, Scd2	向下

[0118] 表 5 表示相对于 (1-A) 组在 (1-B) 组的肝脏中显著高表达的主要的上位 5 个基因群。在这些的基因群中, 免疫球蛋白相关基因为粘膜免疫系统的基因, 醇脱氢酶 6(class V) 为代谢相关系统的基因。另外, 嗅觉受体 1148(predicted)、UDP 糖基转移酶 2 家族多肽 B、TRAF2 结合蛋白为参与其它的生理反应的基因。另外, 虽然表中没有, 但作为代谢相关基因群的葡糖激酶等也高表达。

[0119] 另外,作为上述免疫球蛋白相关基因,可以举出 Igκ 链、Ig 种系 κ-链 C-区基因、3' 末端、抗 NGF30 抗体轻链 mRNA、可变区和恒定区、免疫球蛋白 α 重链。

[0120] 表 6 表示相对于 (1-A) 组在 (1-B) 组的肝脏中显著低表达的主要的上位 8 个基因群。在这些的基因群中,羟基类固醇 (17-β) 脱氢酶 2 影响睾酮的增减,硬脂酰辅酶 A 脱氢酶影响甘油三酯的减少等脂肪代谢整体。另外,apelin 在慢性肝病及肥胖时增加。

[0121] (3-4) 溶液 1-B 的检验实验 [2]

[0122] 关于在本实施例 (3-2) 中采取的无菌小鼠的肝脏,分析 (2-A)、(2-B) 组间的基因群的表达量的变动。本分析使用与本实施例 (3-1) 同样的方法进行,分析结果如表 7、8 所示。

[0123] [表 7]

	基因	小鼠基因符号	调节
[0124]	含主要协助因子超族域 2	Mfsd2	向上
	前胶原, IV 型, α 2	Col4a2	向上
	嘌呤受体 P2Y, G-蛋白偶联 2	P2ry2	向上
	ERBB 受体反馈抑制物 1	Erff1	向上
	磷脂酰肌醇蛋白聚糖 1	Gpc1	向上

[0125] [表 8]

	基因	小鼠基因符号	调节
[0126]	基因模型 837, (NCBI), transcript variant1 (Gm837)	Thsd7a	向下
	磷脂酶 C, β 1	Plcb1	向下
	间皮素	Msln	向下
	溶质运载蛋白家族 17	Slc17a8	向下
	肾癌缺损 2	Dirc2	向下

[0127] 表 7 表示相对于 (2-A) 组在 (2-B) 组的肝脏中显著高表达的主要的上位 5 个基因群。另外,表 8 表示相对于 (2-A) 组在 (2-B) 组的肝脏中显著低表达的主要的上位 5 个基因群。此外,这些结果由于对无菌小鼠的施与时间短至 3 周,因而设想为短时间施与的效果。由表 7、8 可知,在无菌小鼠的肝脏中,与本实施例 (3-3) 中的 Wistar 大鼠的肝脏相比,虽然关于间皮素 (mesothelin) 的表达量显著减少的方面一致,但未发现关于其它的基因群的一致。

[0128] (3-5) 溶液 1-B 的检验实验 [3]

[0129] 对 Wistar 大鼠 (雄性、3 周龄) (从九动社获得) 施与溶解液 1-B,进行检验该溶解液 1-B 的脂质能量代谢调节效果的实验。其中,通过准备下述 4 组并比较来进行本实验。

[0130] (3-A) 组通常食饲养组 (对照组)

[0131] (3-B) 组通常食 + 溶解液 1-B 的饮水添加组

[0132] (3-C) 组高脂肪食饲养组

[0133] (3-D) 组高脂肪食 + 溶解液 1-B 的饮水添加组

[0134] 其中,关于 Wistar 大鼠, (3-A) ~ (3-D) 组均将经 5 天预备饲养的 Wistar 大鼠用于实验。另外,Wistar 大鼠各组均为 5 只,每只用各自的计量器 (夏目制作所社制) 饲养。另外,关于饲料, (3-A)、(3-B) 组使用经放射线灭菌的饲料 (オリエンタル酵母社制品名 MF), (3-C)、(3-D) 组使用在经放射线灭菌的饲料 (オリエンタル酵母社制品名 MF) 中以含有 20% 的方式添加猪油而成的饲料 (在ケービーティーオリエンタル社制成),对于 1 只 Wistar 大鼠在每日 25g 的摄取限制内使其自由摄食。另外,关于饮水, (3-A)、(3-C) 组自由摄取自来水, (3-B)、(3-D) 组自由摄取添加有 1.0% 溶解液 1-B 的自来水。

[0135] 上述 (3-A) ~ (3-D) 组的 Wistar 大鼠分别饲养 3 个月后,在采取它们的血液等,并

测定体重。其中,体重的统计处理通过 ANOVA(分散分析)来进行,其结果如表 9 所示。其中,表中的 NS 表示无显著差异

[0136] [表 9]

[0137]

通常食	平均值	标准偏差	平均值	标准偏差	显著差异(LF-T vs LF-C)	显著差异(LF-C vs HF-C)
饮水天数	(3-A)组(LF-C)		(3-B)组(LF-T)			
实验前	88.6	0.5	89.4	4.9	NS	NS
实验后 3 个月	485.2	35.3	486.6	49.7	NS	NS

[0138]

高脂肪食	平均值	标准偏差	平均值	标准偏差	显著差异(HF-T vs HF-C)	显著差异(LF-T vs HF-T)
饮水天数	(3-C)组(HF-C)		(3-D)组(HF-T)			
实验前	88.6	3.4	88.0	2.9	NS	NS
实验后 3 个月	456.8	35.7	516.4	31.7	p < 0.05	NS

[0139] 由表 9 表明,在都摄食通常食的 (3-A) 组和 (3-B) 组之间, Wistar 大鼠的体重无显著差异。但是,在都摄食高脂肪食的 (3-C) 组和 (3-D) 组之间, Wistar 大鼠的体重有显著差异。即,作为高脂肪食 + 溶解液 1-B 的饮水添加组的 (3-D) 组的 Wistar 大鼠,与作为高脂肪食饲养组的 (3-C) 组的 Wistar 大鼠相比较体重显著增加。

[0140] 另外,在 (3-C) 组和 (3-D) 组之间, Wistar 大鼠的血液分析的结果未发现显著差异。另外,在 (3-D) 组的 Wistar 大鼠中,在解剖学观察中未发现显著的脂肪沉积。另外,根据肝脏的免疫组织染色,脂肪滴也变少。

[0141] (3-6) 溶液 1-B 的检验实验 [4]

[0142] 对 Balb/c 小鼠 (雄性、3 周龄) (从九动社获得) 施与溶解液 1-B, 进行检验该溶解液 1-B 的脂质能量代谢调节效果的实验。其中,通过准备下述 4 组并比较来进行本实验。

[0143] (4-A) 组通常食饲养组 (对照组)

[0144] (4-B) 组通常食 + 溶解液 1-B 的饮水添加组

[0145] (4-C) 组高脂肪食饲养组

[0146] (4-D) 组高脂肪食 + 溶解液 1-B 的饮水添加组

[0147] 另外,关于 Balb/c 小鼠,各组为 4 只或 6 只,在 4 只的情况下用 1 个计量器 (夏目制作所社制) 进行饲养,在 6 只的情况下分成 2 个计量器 (夏目制作所社制) 进行饲养。另外,关于饲料, (4-A)、(4-B) 组使用经放射线灭菌的饲料 (オリエンタル酵母社制品名 MF), (4-C)、(4-D) 组使用在经放射线灭菌的饲料 (オリエンタル酵母社制品名 MF) 中以含有 20% 的方式添加猪油而成的饲料 (在ケービーティーオリエンタル社制成), 分别使其自由摄食。另外,关于饮水, (4-A)、(4-C) 组自由摄取自来水, (4-B)、(4-D) 组自由摄取添加有 1.0% 溶解液 1-B 的自来水。然后,上述 (4-A) ~ (4-D) 组的 Balb/c 小鼠分别饲养 3 个月后,通过 CT 扫描测定体脂肪率,并测定体重。

[0148] (4-C)、(4-D) 组的 Balb/c 小鼠的躯干部的 CT 扫描像分别如图 5、6 所示,在 Balb/c 小鼠的体内,图 5、6 中的接近外周的部分及图 6 中的中央上部的偏黑的灰色中看到的部分为脂肪。由此表明, (4-D) 组的 Balb/c 小鼠与 (4-C) 组的 Balb/c 小鼠相比,尽管有体重增加的倾向,但体脂肪少,实际体脂肪率降低了 20% 左右。其中,在 Balb/c 小鼠的大腿部也显示同样的倾向。该倾向表明体脂肪的蓄积低,肌肉容易附着。

[0149] (3-7) 溶液 1-B 的检验实验 [5]

[0150] 对 Wistar 大鼠 (雄性、3 周龄) (从九动社获得) 施与溶解液 1-B, 进行测定肠内的作为肠内原有菌的梭菌属 *Clostridium clusters IV* 及 *Clostridium subcluster XIVa* 的变化的实验。其中, 通过准备下述 2 组并比较来进行本实验。

[0151] (5-A) 组通常食饲养组 (对照组)

[0152] (5-B) 组通常食 + 溶解液 1-B 的饮水添加组

[0153] 其中, 关于 Wistar 大鼠, (5-A)、(5-B) 组均使用经 5 天预备饲养的 Wistar 大鼠。另外, Wistar 大鼠各组均为 5 只, 每只用各自的计量器 (夏目制作所社制) 饲养。另外, 饲料使用经放射线灭菌的饲料 (オリエンタル酵母社制品名 MF), 对于 1 只 Wistar 大鼠, 使其在每日 25g 的摄食限制内自由摄食。另外, 关于饮水, (5-A) 组自由摄取自来水, (5-B) 组自由摄取添加有 1.0% 溶解液 1-B 的自来水。

[0154] 上述 (5-A)、(5-B) 组的 Wistar 大鼠分别饲养 3 个月。然后, 通过 T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis, 末端限制性片段长度多态性分析) 来确认它们的粪中的 *lostridium clusters IV* 及 *Clostridium subcluster XIVa* 的变化。其结果如表 10 所示。

[0155] [表 10]

	(5-A) 组	(5-B) 组
[0156] <i>Clostridium cluster IV</i>	3.38	7.17
<i>Clostridium subcluster XIVa</i>	9.50	14.04

[0157] 由此表明, 相对于 (5-A) 组, 在 (5-B) 组中, *Clostridium cluster IV* 及 *Clostridium subcluster XIVa* 均增加。

[0158] (3-8) 由溶解液 1-A、1-B 的检验实验得到的见解

[0159] 通过对本实施例 (3-1) ~ (3-7) 中记载的各实验的结果进行研究, 可得到如下的见解。

[0160] 根据本实施例 (3-1)、(3-3) 的实验结果, 可列举通过溶解液 1-A 中所含的微生物, 使免疫系统活化和 / 或使肠道功能正常化的倾向。例如, 已知抗 IgM 抗体代替抗原而有助于初始 B 细胞的活性 (Mora et al. Generation of Gut-Homing Ig A-secreting B cells by intestinal dendritic cells. *Science* 2006;314:1157-1160)。另外, 同样地可推测抗 NGF 抗体的产生。已知抗 NGF 抗体降低肠中的细胞旁通透性的异常增加 (Barreau, et al. Pathways involved in gut mucosal barrier dysfunction induced in adult rats by maternal deprivation: corticotrophin-releasing factor and nerve growth factor interplay. *J Physiol.* 2007;580(1):347-356)。

[0161] 接着, 根据本实施例 (3-1) 的实验结果, 通过溶解液 1-A 中所含的微生物, 维生素 D- 结合蛋白前体的表达量增加, 已知该维生素 D- 结合蛋白前体有助于巨噬细胞的活化, 也启示了抗癌功能 (Kisker et al., Vitamin D binding protein-Macrophage activating factor (DBP-maf) inhibits angiogenesis and tumor growth in mice. *Neoplasia* 2003;5(1):32-40)。另外, HBV pX 相关蛋白的表达量减少, 已知该 HBV pX 相关蛋白 (HBV pX 基因) 促进 p53 诱导型的细胞死亡。

[0162] 另外, 碳酸酐酶的表达量降低, 已知该碳酸酐酶属于代谢调节系统, 调节碳酸离子量。粪中的碳酸离子为由肠内菌群产生的甲烷气体的来源, 因此, 可期待由于碳酸酐酶的表达

达量减少而使甲烷气体的产生在肠内减少。这与在另行进行的实验中施与高温发酵饲料（包含含有与溶解液 1-A 同样的微生物的发酵产物的饲料）则粪发酵时的恶臭变少并不矛盾。此外，通常畜粪在堆肥化时倾向于厌氧发酵，可由粪中的甲烷气体和硫化氢生成甲硫醇。因此，若预先使粪中甲烷少，则上述甲硫醇的生成量变少。此外，甲烷气体具有二氧化碳的 20 倍的地球变暖潜力，因此，若可从肠内进行调节，则意义深远。

[0163] 另外，载脂蛋白 A-V 的表达量降低，已知该载脂蛋白 A-V 通过其表达量降低而有助于降低中性脂肪值。此外，对本实施例 (3-1) 中采取的肝脏等进行分析，结果血清中的甘油三酯有减少的倾向，通过免疫组织化学染色也确认了肝脏中的甘油三酯的沉积减少。

[0164] 另外，在进行了灭菌处理的 (1-C) 组中，与 (1-B) 组不同，未发现相对于 (1-A) 组的基因群的表达量的变动，由此启示，为了发挥基因群的表达量的调节效果，嗜热性的微生物的存在是重要的。

[0165] 接着，根据本实施例 (3-3) 的实验结果，通过溶解液 1-A 中所含的微生物群，醇脱氢酶 6(class V) 的基因表达量增加，该醇脱氢酶 6(class V) 被期待与脂肪代谢的相关性。另外，间皮素的表达量降低，该间皮素被推测为致癌相关基因群，表达量降低是优选的。

[0166] 另外，Nocturnin(黑夜因子)的表达量减少，已知该 Nocturnin 的表达量减少则脂肪量倾向于减少。对本实施例 (3-1) 中采取的肝脏进行分析，结果中性脂肪的沉积减少，可得到与该 Nocturnin 的表达量减少不矛盾的结果。另外，羟基类固醇 (17-β) 脱氢酶 2 的表达量减少。对于该羟基类固醇 (17-β) 脱氢酶 2 的减少，可期待对类固醇代谢系统的影响。

[0167] 接着，无菌小鼠的本实施例 (3-2)、(3-4) 的实验结果启示，溶解液 1-B 中所含的微生物直接发挥效果。根据 Wistar 大鼠的本实施例 (3-1)、(3-3) 的实验结果，认为粘膜免疫系统的基因群及代谢系统的基因群的表达调节效果是通过与宿主侧的土著肠内菌群的协调而得到的，但推测上述直接的效果与其完全不同。

[0168] 接着，本实施例 (3-5)、(3-6) 的实验结果显示溶解液 1-B 中所含的微生物可能调节肠内的脂质能量的代谢。实际在另行进行的实验中也表明，施与高温发酵饲料（含有与溶解液 1-B 同样的微生物）时，作为肠内的能量源的有机物的组成发生变化。

[0169] 接着，本实施例 (3-7) 的实验结果显示，溶解液 1-B 中所含的微生物使作为常居菌的无害的梭菌 *clostridium clusters IV* 和 *XIVa*(*Clostridium leptum* and *coccoides* groups, 柔嫩球形梭菌群) 增加。由此表明，溶解液 1-B 中所含的微生物诱导被施与后的动物的肠内细菌相的变化。另外，通过与本实施例 (3-5) 及 (3-6) 的实验结果组合进行考察，通过该梭菌的增加，刺激 Toll 样受体 5(TLR5) 等并调节脂肪代谢，如图 6 所示的 CT 扫描图像所示，可推测存在即使在高脂肪食条件下也不使内脏脂肪积蓄这样的机制。

[0170] 另外，认为作为肠道的免疫系统的受体的上述 TLR5 是具有鞭毛的梭菌等的受体，不仅调节自然免疫系统，而且调节代谢综合症。另外，有如下报告：缺损了 TLR5 的基因的小鼠患代谢综合症，将源自该小鼠的肠内细菌相对无菌小鼠经口施与时，该无菌小鼠也患了代谢综合症 (Matam Vijay-Kumar, et al. Metabolic Syndrome and Altered Gut Microbiota in Mice Lacking Toll-Like Receptor 5. Science 2010;328:228-231)。该事实说明，如果梭菌的刺激无法经由 TLR5 给予时，就患代谢综合症，由此质疑作为肠内的原有菌的梭菌的存在意义。

[0171] 另外,报告了上述梭菌诱导肠道的免疫系统的控制、特别是表达转录因子 forkhead box P3(Foxp3) 的 CD4 阳性的控制性 T 细胞 (Treg 细胞) 的表达,不易引起炎症性肠炎及过敏反应 (Koji Atarashi, et al. Induction of Colonic Regulatory T Cells by Indigenous Clostridium Species. 学术志 Science 电子版 (H22. 12. 24 发表), Science 2011;311:337-341)。另外,也有在人类的溃疡性大肠炎的患者中该细胞减少的报告。此外,认为上述控制性 T 细胞为控制免疫系统的过度反应的 T 细胞的一种,对于自身免疫疾病的调节也承担重要的作用。

[0172] 实施例 4

[0173] (4-1) 溶解液 1-B 的检验实验 [6]

[0174] 对无菌饲养的 Balb/c 小鼠施与溶解液 1-B,进行检验由此引起的肠道内派尔集合淋巴结的发育等的实验。此外,通过准备通常饲养组(对照组)和溶解液 1-B 的饮水添加组这 2 组并比较来进行本实验。

[0175] 其中,无菌饲养的 Balb/c 小鼠(从东京大学大学院农学生命科学研究科兽医公共卫生学研究室获得,并委托该研究室饲养),两组均为 5 只,在各组内用相同的隔离器(アイ・シー・エム社制)饲养。另外,饲料使用经放射线灭菌的饲料(オリエンタル酵母社制品名 CMF),使其自由摄食。另外,饮水对于对照组使用通过紫外线及高压灭菌器灭菌的水,对于溶解液 1-B 的饮水添加组使用在通过紫外线及高压灭菌器灭菌的水中添加有 0.5% 溶解液 1-B 的水,使其自由摄取。

[0176] 两组无菌饲养的 Balb/c 小鼠分别饲养 3 周。然后,对该饲养后的两组无菌饲养的 Balb/c 小鼠进行比较,结果与对照组相比,发现溶解液 1-B 的饮水添加组的粪便正常化的倾向。另外,与对照组相比,确认了溶解液 1-B 的饮水添加组的肠道内的派尔集合淋巴结发育。进而,确认了溶解液 1-B 的饮水添加组的大肠粪中的分泌型 IgA 的浓度增加至对照组的 1.5 倍左右的倾向,肠道的强度也比对照组增强,是性状相近的粪便的状态。

[0177] (4-2) 溶解液 1-B 的检验实验 [7]

[0178] 对无菌小鼠施与溶解液 1-B,进行检验由此引起的肝脏的 IL-18 含量的变化的实验。此外,通过准备通常饲养组(对照组)与溶解液 1-B 的饮水添加组这 2 组并比较来进行本实验。

[0179] 其中,无菌小鼠(从东京大学大学院农学生命科学研究科兽医公共卫生学研究室获得,并委托该研究室饲养)两组均为 5 只,在各组内用相同的隔离器(アイ・シー・エム社制)饲养。另外,饲料使用经放射线灭菌的饲料(オリエンタル酵母社制品名 CMF),使其自由摄食。另外,饮水对于对照组使用通过紫外线及高压灭菌器灭菌的水,对于溶解液 1-B 的饮水添加组使用在通过紫外线及高压灭菌器灭菌的水中添加有 0.5% 溶解液 1-B 的水,使其自由摄取。

[0180] 两组无菌小鼠分别饲养 3 周。然后,对该饲养后的两组无菌小鼠的肝脏进行分析,结果确认了与对照组相比,溶解液 1-B 的饮水添加组的肝脏的 IL-18 含量如图 7 所示那样增加。

[0181] (4-3) 溶解液 2、3、4、5 的检验实验

[0182] 对 Balb/c 小鼠(雄性、3 周龄)(由九动社获得)施与溶解液 2、3、4、5,进行检验由它们引起的肠道及脾脏中的分泌型 IgA 的浓度变化的实验。此外,通过准备下述 5 组并

比较来进行本实验。

[0183] (6-A) 组通常食饲养组 (对照组)

[0184] (6-B) 组溶解液 2 的饮水添加组

[0185] (6-C) 组溶解液 3 的饮水添加组

[0186] (6-D) 组溶解液 4 的饮水添加组

[0187] (6-E) 组溶解液 5 的饮水添加组

[0188] 其中, Ba1b/c 小鼠各组为 4 只或 6 只, 在 4 只的情况下, 用 1 个计量器 (夏目制作所社制) 饲养, 在 6 只的情况下, 分成 2 个计量器 (夏目制作所社制) 饲养。另外, 饲料使用经放射线灭菌的饲料 (オリエンタル酵母社制品名 MF), 使其自由摄食。另外, 饮水对于 (6-A) 组使用自来水, 对于 (6-B) 组使用添加有 1.0% 溶解液 2 的自来水, 对于 (6-C) 组使用添加有 1.0% 溶解液 3 的自来水, 对于 (6-D) 组使用添加有 1.0% 溶解液 4 的自来水, 对于 (6-E) 组使用添加有 1.0% 溶解液 5 的自来水, 分别使其自由摄取。

[0189] 上述 (6-A) ~ (6-E) 组的 Ba1b/c 小鼠分别饲养 3 个月后, 通过测定粪中的分泌型 IgA 的浓度来分析肠道及脾脏的分泌型 IgA 的浓度。将小肠的数据示于图 8。分析的结果是, 相对于作为对照组的 (6-A) 组, 分别施与了溶液 2、3、4 的 (6-B)、(6-C)、(6-D) 组中分泌型 IgA 的浓度显著增加。另外, 可知相对于 (6-A) 组, 施与了溶解液 5 的 (6-E) 组的分泌型 IgA 的浓度的增加量比 (6-B)、(6-C)、(6-D) 组小。在脾脏中也可确认了这样的倾向。

[0190] (4-4) 由溶解液 1-B、2、3、4、5 的检验实验得到的见解

[0191] 通过对本实施例 (4-1) ~ (4-3) 中记载的各实验的结果进行研究, 可得到如下见解。

[0192] 无菌饲养的 Ba1b/c 小鼠及无菌小鼠的本实施例 (4-1)、(4-2) 的实验结果启示, 溶解液 1-B 中所含的微生物直接具有粘膜免疫系统的基因群的表达调节效果。这是因为可通过以下实验结果设想: 已知一般派尔集合淋巴结调节免疫球蛋白的产生等, IL-18 诱导 γ 干扰素的产生, 但热噬淀粉芽孢杆菌的近源种 (N-11) 等溶解液 1-B 中所含的微生物活化肠道的派尔集合淋巴结的发育及生物体内的 IL-18 的产生。

[0193] 接着, Ba1b/c 小鼠的本实施例 (4-3) 的实验结果启示, 溶解液 2 中所含的微生物通过与宿主侧的土著肠内菌群的协调, 发挥粘膜免疫系统基因群的表达调节效果。因此, 通过实时 PCR 研究在上述说明的作为免疫系统的控制细胞的 Treg 细胞中表达的 Foxp3 在大肠组织中的表达水平, 结果在作为 BP-863 的单独施与组的 (6-C) 组中确认了与作为通常饲养组 (对照组) 的 (6-A) 组以及作为标准菌株施与组的 (6-E) 组相比为 1.4 倍左右的表达量。由本结果可推测, 有可能通过嗜热性 BP-863 的施与, 作为免疫系统的控制细胞的 Treg 细胞集聚, 过敏的发病预防等的免疫控制机构发挥作用。

[0194] 另外, 作为溶解液 2 中所含的微生物的热噬淀粉芽孢杆菌的近源种 (N-11) (BP-863) 及凝结芽孢杆菌的近源种 (N-16) 与热噬淀粉芽孢杆菌的标准菌株 (LMG18084¹) 不同, 即使在作为分离菌施与的情况下, 如图 8 所示, 也发挥粘膜免疫系统的基因群的表达调节效果。进而, 根据实施例 3 的 (3-5)、(3-6) 的检验实验结果等, 在添加了热噬淀粉芽孢杆菌的近源种 (N-11) 的组中, 饲料效率提高, 成为了与作为同时饲养的卡路里数高 10% 以上的高脂肪食饲养的小鼠同等以上的体重, 体重增加率得以改善。设想这如下产生: 热噬淀粉芽孢杆菌的近源种 (N-11) 分解饲料中的难分解性的糖, 提高利用效率。

[0195] 产业可利用性

[0196] 本发明的混合物、溶解液及药物可通过对动物进行施与,从而作为能够调节该动物的粘膜免疫系统基因群、和 / 或肠、肝脏中的代谢相关基因群的混合物、溶解液及药物利用。

[0001]

序列表

- <110> 日环科学株式会社
 国立大学法人千叶大学
 国立大学法人金泽大学
 独立行政法人水产大学校
 株式会社三六九
 京叶设备工程株式会社
- <120> 使用了嗜热微生物的混合物、溶解液及药物
- <130> *****
- <150> JP 2010-028204
 <151> 2010-02-10
- <150> JP 2010-028205
 <151> 2010-02-10
- <160> 10
- <170> PatentIn 版本 3.1
- <210> 1
 <211> 1475
 <212> DNA
 <213> 栗褐芽孢杆菌的近源种 IP-2 (Bacillusadius sp. IP-2)
- <400> 1
 gacgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgagc ggacggaagg gagcttgctc 60
 ccggaagtea ggcggcgaag ggtgagtaac acgtgggtaa cctgectgta agactgggat 120
 aactccggga aaccggggct aataccggat agcttcttcc tcgcatgga ggaagaatga 180
 aaggcggect ttggetgtca cttacagatg gaccgcgggc gcattagcta gttggtgggg 240
 taacggetca ccaaggcgac gatgcgtagc cgacctgaga gggatgatcg ccacactggg 300
 actgagacac ggcaccagact cctacgggag gcagcagtag ggaatcttcc gcaatggacg 360
 aaagtetgac ggagcaacgc cgcgtgagtg aagaaggttt tcggatcgta aagctctgtt 420
 gtcagggaag aacaagtacc ggagtcactg ccggtacctt gacggtacct gaccagaaag 480

[0002]

ccacggctaa ctacgtgccca gcagccgcgg taatacgtag gtggcaagcg ttgtccggaa	540
ttattgggcg taaagcgcgc gcagcggccc ttttaagtct gatgtgaaag cccacggctc	600
aaccgtggag ggtcattgga aactggaagg cttgagtgca gaagaggaga gcggaattcc	660
acgtgtagcg gtgaaatgcg tagagatgtg gaggaacacc agtggcgaag gggctctct	720
ggtctgtaac tgacgetgag gcgcgaaagc gtggggagcg aacaggatta gataccctgg	780
tagtccacgc cgtaaacgat gaggctaaag tgttgagggg ttccgcctc tcagtgtctc	840
agctaacgca ttaagcactc cgcctgggga gtacggccgc aaggetgaaa ctcaaaggaa	900
ttgaoggggg cccgcacaag cgggtggagca tgtggtttaa ttcgaagcaa cgcgaagaac	960
cttaccaggt cttgacatcc tetgacacct ctggagacag agegttccce ttccggggac	1020
agagtacag gtgggtcatg gttgtctca gctcgtctcg tgagatggtg ggtaagtcc	1080
cgcaacgagc gcaacccttg accttagttg ccagcattca gttgggcact ctaaggtgac	1140
tgcgggtgac aaaccggagg aaggtgggga tgacgtcaaa tcatcatgcc cttatgacc	1200
tgggetacac acgtgctaca atggatggtg caaagggcag cgaagccgcg aggtgaagcc	1260
aatcccataa aaccattctc agttcggatt gcaggetgca actcgcctgc atgaagccgg	1320
aatcgctagt aatcgcggat cagcatgccg cggatgaatac gttcccgggc cttgtacaca	1380
ccgcctgca caccacgaga gtttgcaaca cccgaagtcg gtggggtaac cttacggga	1440
gccagccgcc taaggtgggg cagatgattg gggtg	1475

<210> 2

<211> 1476

<212> DNA

<213> *Anoxybacillus kamchatkensis* sp. IP-3

<400> 2

cgaacgctgg cggcgtgcct aatacatgca agtcgagcgg acgattcaaa agcttgettt 60

[0003]

tggatcgfta gcgcggaac ggtgagtaac acgtgggeaa cctgccctgt agacggggat	120
aacaccgaga aatcgggtct aataccggat aacacgaaag accgeatggt ttttcgttga	180
aaggcggcgc aggctgtcgc tacaggatgg gcccgcgcg cattagctag ttggtgaggt	240
aaaggctcac caaggcgacg atgcgtagec gacctgagag ggtgatcgge cacactggga	300
ctgagacacg gccagactc ctaegggagg cagcagtagg gaatcttcg caatggacga	360
aagctcagc gagcaacgc gclgagcga agaaggcctt cgggctgtaa agctctgtt	420
ttagggaaga acaagtaccg cagtcactgg cggtaacctg acggtacctc acgaggaagc	480
cacggctaac tacgtgccag cagccgggt aatacgtagg tggcaagegt tctccggaat	540
tattggcgt aaagcgcgc caggcggctt ctttaagtctg atgtgaaagc ccacggctca	600
accgtggagg gtcattggaa actgggggac ttgagtcag aagaggagag cggattcca	660
cgtgtagcgg tgaatgcgt agagatgtgg aggaacaaca gtggcgaagg cgctctctg	720
gtctgtaact gacgtgagg cgcgaaagcg tggggagcaa acaggattag atacctggt	780
agtecacgc gtaaacgatg agtgcatagt gttagagggt atccacctt tagtctgta	840
gtaacgat taagcactcc gctggggag tacctcgca agagtgaaac tcaaaggaat	900
tacgggggc ccgacaagc ggtggagcat gtggttaat tcaagcaac gcgaagaacc	960
ttaccaggtc ttgacatccc ctgacaacce gagagatcgg gcgttcccc ttcggggga	1020
cagggtgaca ggtggtcat ggtgtctc agctctgtc gtgagatgtt gggtaagtc	1080
ccgaacgag ccgaaccctc gaccttagtt gccagcttc agttgggac tctaaggtga	1140
ctgccgcta aaagtcggag gaaggtggg atgacgtcaa atcatcatge cccttatgac	1200
ctggctaca cacgtctac aatggcgggt acaaagggtc gcgaaccgc gagggggagc	1260
caatccaaa aagccctct cagttcggat tgcagctgc aactgcctg catgaagccg	1320
gaatcctag taatcggga tcagcatgcc ggggtgaata cgttccggg cctgtacac	1380

[0004]

accgcccgtc acaccacgag agtttgcaac accegaagtc ggtgaggtaa cccttacggg	1440
agccagccgc cgaaggtggg gcaaatgatt ggggtg	1476
<210> 3	
<211> 1487	
<212> DNA	
<213> 泛酸枝芽孢杆菌的近源种 IP-9 (<i>Virgibacillus pantothenicus</i> sp. IP-9)	
<400> 3	
gacgaacget ggcggcgtgc ctaatacatg caagtegage ggggaagea agcagatctc	60
cttcgggggt gacgcttgtg gaacgagcgg cggacgggtg agtaacacgt gggeaaccta	120
cctgtaagac tgggataacc ccgggaaacc ggggctaata ccgatgata catatcgtcg	180
catgacgaga tgttgaaagg cggcatatgc tgcaacttac agatgggccc gcggcgcatt	240
agctagttag tgagataaaa gctcaacaag gcgacgatgc gtagccgacc tgagagggtg	300
atcgccaca ctgggactga gacacggccc agactcctac gggagcagc agtagggaat	360
cttccgcaat ggaegaaagt ctgacggagc aacgcgcgt gagtgatgaa ggttttcgga	420
tctgaaaact ctgttgttag ggaagaacaa gtgccattcg aataggttgg caccttgacg	480
gtacctaac agaaagcccc ggctaactac gtgccagcag ccgcgtaat acgtaggggg	540
caagcgttgt ccggaattat tgggcgtaaa gcgcgcgcag gggtccttt aagtctgatg	600
tgaaagccca cgcttaacc gtggagggcc attggaaact gggggacttg agtacagaag	660
aggagagtgg aattccacgt gtageggtga aatgcgtaga gatgtggagg aacaccagtg	720
gcgaaggcga ctctctggtc tgtaactgac gctgaggtgc gaaagcgtgg gtagcgaaca	780
ggattagata ccttggtagt ccacgcogta aacgatgagt getaggtgtt agggggtttc	840
cgccccctag tgetgaagtt aacgeatata gcactcogcc tggggagtac ggccgcaagg	900
ctgaaactca aaagaattga eggggaccog cacaageggt ggagcatgig gtttaattcg	960
aagcaacgcg aagaacctta ccaggctctg acatcctctg acgcccctag agatagggag	1020

[0005]

ttcccttcgg ggacagagtg acaggtggtg catggttgc gtcagctegt gtcgtgagat 1080
 gttgggttaa gtcccgcaac gagcgcaace cttgatetta gttgccagca tttagttggg 1140
 cactetaagg tgaactgccg tgacaaaccg gaggaagggtg gggatgacgt caaatcatca 1200
 tgccccttat gacctgggct acacacgtgc tacaatggat ggaacaaagg gcagegaagc 1260
 cgcgaggcca agcaaatccc ataaaacccat tctcagttcg gattgcagge tgcaactcgc 1320
 ctgcatgaag ccggaatcgc tagtaatcgc ggatcagcat gccgcggtga atacgttccc 1380
 gggctttgta cacaccgccc gtcacaccac gagagtgggt aacacccgaa gtcggtgagg 1440
 taaccttttg gagccagccc ccgaagggtg gaccaatgat tgggggtg 1487

<210> 4
 <211> 1470
 <212> DNA
 <213> *Bacillus fortis* sp. IP-14

<400> 4
 gacgaacgct ggccggctgc ctaatacatg caagtcgagc ggatgaagag gagcttgcgc 60
 cttggattca gcggcggacg ggtgagtaac acgtgggcaa cctgcctgta agactgggat 120
 aactccggga aaccggggct aataccggat aactctttt cccgcattgg gagaggttga 180
 aagacggtta tgetgtcact tacagatggg cccgcggcgc attagctggt tgggtgggta 240
 acggcctacc aaggcgacga tgcgtagecg acctgagagg gtgatcgccc aactgggac 300
 tgagacacgg cccagactcc tacgggagge agcagtaggg aatcttccgc aatggacgaa 360
 agtctgacgg agcaacgcgc cgtgagtgc gaaggccttc ggtctgtaaa actctgttat 420
 caggaagaa caagtgtcgg ttaactgcgc gtgccttgac ggtacctgac cagaaageca 480
 cggctaacta cgtgccagca gccgcggtaa tacgtagggt gcaagcgttg tccggaatta 540
 ttggcgtaa agcgcgcgca ggcggcttct taagtctgat gtgaaagccc accgctcaac 600

[0006]

cgtggagggt cattggaac tgggaggctt gagtgcagaa gagaagagcg gaattccacg	660
tgtagegggt aatgcgtag agatgtggag gaacaccagt ggcaaggcg gctctttggt	720
ctgtaactga cgtgaggcg cgaaagcgtg gggagcgaac aggattagat accctggtag	780
tcacgcgct aaacgatgag tgctaagtgt tagggggtt cgcgccotta gtgctgcagc	840
aaacgcatta agcactccgc ctggggagta cgccgcgaag gctgaaactc aaaggaattg	900
acgggggccc gcacaagcgg tggagcatgt ggtttaatte gaagcaacgc gaagaacctt	960
accaggtctt gacatccgc tggccggcgc agagatgtgc ctttcccttc ggggacagcg	1020
gtgacagggt gtgatggtt gtctcagct cgtgtctga gatgttgggt taagtccgc	1080
aacgagcga acccttgatc ttagtgcga gcattgagtt gggcactcga aggtgactgc	1140
cggtgacaaa ccgaggaag gtgggatga cgtcaaatca tcatgccct tatgacctgg	1200
gtacacacg tctacaatg gatgtacag agggcagcga gaccgcagg tggagcgaat	1260
ccctaaaac cattctcagt tggattgca ggetgcaact cgcctgatg aagccggaat	1320
cgtatgaat cgcggatcag catcccgcg tgaatacgtt cccggccctt gtacacaccg	1380
cccgtcacac cagagagtt tgtaacacc gaagtcggtg aggtaaccgt aaggagccag	1440
cgcgcgaagg tgggacagat gattggggtg	1470

<210> 5

<211> 1473

<212> DNA

<213> *Lysinibacillus xylanilyticus* sp. IP-23

<400> 5

gacgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcagc gaacagatga ggagcttget	60
ccctctgatgt tagcggcgga cgggtgagta acacgtgggt aacctgccct gtagttgggg	120
ataacttegg gaaaccgagg ctaataccga atgatacttg gaaacacatg ttctgaagtt	180
gaaagatggt tetactatcg ctacaggatg gaccgcggc gcattagcta gttggtgagg	240

[0007]

taacggetca ccaaggegac gatgcgtage cgacctgaga gggatgatgg ccacactggg	300
actgagacac ggcccagact cctacgggag gcagcagtag ggaatettcc acaatgggcg	360
aaagcotgat ggagcaacgc cgcgtgagtg aagaaggttt tcggatcgta aaactctgtt	420
gtaagggaag aacaagtaca gtagtaactg gctgtacctt gaeggtaacct tattagaaag	480
ccacggctaa ctacgtgcea gcagccggcg taatacgtag gtggcaagcg ttgtccggaa	540
ttattgggcg taaagcgcgc gcagcgggtc ctttaagtct gatgtgaaag cccacggctc	600
aaccgtggag ggtcattgga aactggggga cttgagtgcg gaagaggaaa gtggaattcc	660
aagtgtagcg gtgaaatgcg tagagattg gaggaacacc agtggcgaag gcgactttct	720
ggtctgtaac tgaecgtgag gcgcgaaagc gtggggagca aacaggatta gataacctgg	780
tagtccacgc cgtaaacgat gagggtctaa gttagggggg ttccgcctcc ttagtctctc	840
agctaacgca ttaagcactc cgcctgggga gtacggctgc aagactgaaa ctcaaaggaa	900
ttgacggggg cccgcacaag cggtaggagca tgtggtttaa ttggaagcaa cgcgaagaac	960
cttaccaggt cttgacatcc cgttgaccac tgtagagata tagtttcccc ttccggggca	1020
acggtagacag gtggtagcatg gttgtctgca gctctgtctg tgagatgttg ggtaagtcc	1080
cgaacagagc gcaacccttg atcttagttg ccatcattta gttgggcaact ctaaggtgac	1140
tgcgggtgac aaaccggagg aaggtgggga tgacgtcaaa tcatcatgcc ctttatgacc	1200
tgggtacac acgtgctaca atggacgata caaacggttg ccaactcgcg agagggagct	1260
aatccgataa agtcgttctc agttcggatt gtaggtgca actcgcctac atgaagccgg	1320
aatcgetagt aatcgcggat cagcatgcgc cggatgaatac gttccgggc cttgtacaca	1380
ccgcccgtca caccacgaga gtttgtaaca cccgaagtcg gtgaggtaac cttttggagc	1440
cagccgccga aggtgggata gatgattggg gtg	1473

[0008]

<210> 6
 <211> 1477
 <212> DNA
 <213> *Paenibacillus timonensis* sp. IP-60

 <400> 6
 gaegaacgcc ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgagc ggacttgaig gagagcttgc 60
 tetctgatg gttageggcg gacgggtgag taacacgtag gcaacctgcc tgcaagactg 120
 ggataactac cggaaacggt agctaatacc ggatacgcag ttctctgca tgaggagct 180
 gggaaagacg gagcaatctg tcacttgcgg atgggcctgc ggcgcattag ctagtggtg 240
 aggtaacggc tcaccaagge gacgatgcgt aaccaacctg agagggtgaa cggccacact 300
 gggactgaga cacggeccag actcctacgg gaggcagcag tagggaatct tccgeaatgg 360
 acgaaagtct gacggagcaa cgcgcgtga gtgatgaagg ttttcggatc gtaaagctct 420
 gttgccaggg aagaacgtcg gtagagtaa ctgctgccg agtgacggta cctgagaaga 480
 aagccccggc taactacgtg ccagcagcgc cggtaatacg tagggggcaa gcgttgctccg 540
 gaattattgg gcgtaaagcg cgcgcaggcg gtcattgtaag tctgggtggtt aatcccgggg 600
 ctcaaccccg ggtcgcactg gaaactgggt gacttgagtg cagaagagga aagtggaatt 660
 ccacgtgtag cggtgaaatg ctagagatg tggaggaaca ccagtggcga aggecacttt 720
 ctgggctgta actgacgctg aggcgcgaaa gcgtggggag caaacaggat tagataccct 780
 gtagtccac gccgtaaagc atgaatgcta ggtgttaggg gtttcgatac ccttgggtgc 840
 gaagttaaca cattaagcat tccgcctggg gactacggtc gcaagactga aactcaaagg 900
 aattgacggg gaccgcaca agcagtggag tatgtggttt aattcgaage aacgcgaaga 960
 acctaccag gtcttgacat cccctgacc ggtctagaga taggccttc ctctgggaca 1020
 ggggagacag gtggtgcatt gttgtcgtca gctcgtgtcg tgagatgttg ggttaagtec 1080
 cgcaacgagc gcaacccttg actttagttg ccagcaggta aggetgggea ctctagagtg 1140

[0009]

actgccggtg acaaaccgga ggaaggtggg gatgaogtca aatcatcatg cccttatga 1200
 cctgggctac acacgtacta caatggccgg tacaacggga agegaaggag cgatctggag 1260
 ogaatcttta gaagecggtc tcagttcgga ttgcaggctg caactcgctt gcatgaagtc 1320
 ggaattgcta gfaatcgagg atcagcatgc egcggtgaat acgttccggg gtcttgtaca 1380
 caccgcccgt cacaccacga gaggttacaa caccgcaagt cgggtgggta acccgcaagg 1440
 gagccagccg ccgaaggtgg gtagacgat tggggtg 1477

<210> 7

<211> 1478

<212> DNA

<213> *Paenibacillus curdianolyticus* sp. IP-75

<400> 7

gacgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgagc ggaccgatg gactgcttgc 60
 actcctgaag gtggcggca ggacgggtga gtaacacgta ggcaacctgc ccataagatc 120
 gggataacat tcggaaacgg atgctaatac cggatagttg gactcctcgc atgaggggac 180
 ctggaaagcc ggagcaactt gccgcttatg gatggccctg cggcgcatta getagtttgt 240
 ggggtaacgg cctaccaagg cgaogatgag tagccgacct gagagggtga tcggccacac 300
 tgggactgag acacggccca gactcctacg ggaggcagca gtagggaate ttccgcaatg 360
 gacgcaagtc tgacggagca acgcccgtg agtgaggaag gccttcgggt cgtaaagctc 420
 tgttgccagg gaagaacggg taggggagta actgcccttg ccatgacggt acctgagaag 480
 aaagcccggc ctaactacgt gccagcagcc gcgtaatac gtaggggca agcgttctcc 540
 ggaattattg ggcgtaaagc gcgcgcagcc ggctttgtaa gtcttctgtt taagtccggg 600
 gcttaacccc gtategeatg ggaaactgca agctttgagt gcagaagagg aaagtggaat 660
 tccacgtgta gcggtgaaat gcgtagagat gtggaggaaac accagtggcg aaggcgaatt 720
 tctgggctgt aactgacgct gaggcgcgaa agcgtgggga gcaaacagga ttagatacct 780

[0010]

tggtagtcca cgccgtaaac gatgaatgct aggtgttagg gtttcgata cccttgggtgc 840
 cgaagttaac acattaagca ttccgcctgg ggagtaacgt cgcaagactg aaactcaaag 900
 gaattgacgg ggaccgcgac aagcagtgga gtatgtgggt taattcgaag caacgcgaag 960
 aaccttacca ggtettgaca tccccctgac cgggacagag atgttccttc ccttcggggc 1020
 aggggagaca ggtggtgcat ggttgtcgtc agctcgtgtc gtgagatggt gggttaagtc 1080
 ccgcaacgag cgcaaccctt gatcttagtt gccagcactt cgggtgggca ctctaagatg 1140
 actgcoggtg acaaaccgga ggaaggtggg gatgacgtca aatcatcatg ccccttatga 1200
 cctgggetac acacgtaata caatggccgg taaaaaggc tgcgaaatcg cgagatggag 1260
 ccaatcccat caaagecggc ctcagttcgg attgcaggct geaacctgcc tgcataagat 1320
 cggaaattgct agtaatcggc gatcagcatg ccggcgtgaa tacgttcccg ggtcttctac 1380
 acaccgccg tcacaccagg agagtttaca acaccggaag tcggtggggc aaccgcgaag 1440
 ggagccagcc gccgaaggtg gggtagatga ttgggggt 1478

<210> 8

<211> 1482

<212> DNA

<213> *Bacillus ruris* sp. IP-95

<400> 8

tcaggacgaa cgttggcggc gtgcctaata catgcaagtc gagegaatct aaagggaget 60
 tgctcccgga agattagcgg cggacgggtg agtaaacagt gggeaaccta cctgtaagtc 120
 tgggataact tcgggaaacc ggagctaata ccggataatt tctttcttcg catgaagaaa 180
 ggttgaaaga cgcttttctt gtcacttaca gatgggcccg cgccgcatta gttagttggt 240
 gaggtaacgg ctcaccaaga ccacgatgcg tagccgacct gagagggtga tcggccacac 300
 tgggactgag acacggccca gactctacg ggaggcagca gtaggaate ttccgcaatg 360

[0011]

gacgaaagtc tgacggagca acgccgcgtg agtgaagaag gtcttcggat cgtaaaactc 420
 tgttatcagg gaagaacaag taccggagtc actgccggta ccttgacggt acctgaccag 480
 aaagccacgg etaactacgt gccagcagcc gcggtaaatac gtaggtggca agcgttgtec 540
 ggaattattg ggogtaaagc gcgcgcagge ggttctttaa gtctgatgtg aaatcttgcg 600
 gctcaaccgt gagcggatcat tggaaactgg agaacttgag tgcagaagag aagagcggaa 660
 ttccaogtgt agcggtgaaa tgcgtagaga tgtggaggaa caccagtggc gaaggcggct 720
 ctttggctcg taactgacgc tgagcgcgca aagcgtgggg agcgaacagg attagatacc 780
 ctggtagtcc acgccgtaaa cgatgagtgc taagtgttag agggtttccg ccttttagtg 840
 ctgcagcaaa cgcattaage actccgcctg gggagtacgg ccgcaaggct gaaactcaaa 900
 ggaattgacg ggggcccgca caagcgggtg agcatgtggt ttaattogaa gcaacgcgaa 960
 gaaccttacc aggtcttgac atcctttgac aacctagag ataggcggtt cccctteggg 1020
 ggacaaaagtg acaggtgggtg catggttgc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa 1080
 gtccegcac gagcgcaacc cttgaaatta gttgccagca ttcagttggg cactctaatt 1140
 tgactgccgg tgacaaaccg gaggaaggtg gggatgacgt caaatcatca tgccccttat 1200
 gaectggget acacacgtgc tacaatgat ggtacagagg gctgcaagac cgcgaggttt 1260
 agccaatecc ttaaaaceat tctcagttcg gattgtagge tgcaactcgc ctacatgaag 1320
 ccggaatcgc tagtaatcgc ggatcagcat gccgcggtga atacgttccc gggecttgta 1380
 cacaccgccc gtcacaccac gagagtttgt aacaccgaa gtcggtgagg taaccttttg 1440
 gagccagccg ccgaaggtgg gacagatgat tggggtgaag tc 1482

<210> 9

<211> 1506

<212> DNA

<213> 热嗜淀粉芽孢杆菌的近源种 N-11 (*Bacillus thermoamylovorans* sp. N-11) (NITE BP-863)

[0012]

<400> 9	
gacgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgagc gaaccaataa gaagcttget	60
ttttgttggf tagcggcgga egggtgagta acacgtgggt aacctgectg taagaccggg	120
ataactccgg gaaaccggtg ctaataccgg atagattatc tttccgctg gagagataag	180
gaaagatggc twttgccatc acttacagat gggcccggc cgcattagct agttggtgag	240
gtaacggetc accaaggcga cgatgcgtag ccgacctgag aggtgatcg gccacactgg	300
gactgagaca eggcccagac tectacggga ggcagcagta gggaatcttc cgcaatggac	360
gaaagtctga cggagcaacg ccgcgtgagc gaagaaggtc ttcggatcgt aaagctctgt	420
tgttagggaa gaacaagtat cggaggaaat gccggtacct tgacggtacc tgacgagaaa	480
gccacggeta actacgtgcc agcagcccg gtaatacgtg gttggcaagc gttgtccgga	540
wttattgggc gtaaagcgcg ccgagcgggt cctttaagtc tgatgtgaaa tcttgcgget	600
caaccgcaag cggtcattgg aaactggggg acttgagtgc agaagaggaa ageggaatc	660
caegtgtagc ggtgaaatgc gtagagatgt ggaggaacac cagtggcgaa ggcgcttcc	720
tggtctgtaa ctgacgctga ggcgcgaaag cgtggggagc aaacaggatt agataccctg	780
gtagtccacg ccgtaaacga tgagtctaa gtgttgagg gttccgccc ttcagtctg	840
cagctaacgc attaaagcct ccgcctgggg agtacggtcg caagactgaa actcaaagga	900
attgacgggg gcccgcaaaa gcggtggagc atgtggttta attcgaagca acgcaagaa	960
ccttaccagg tcttgacatc tctgaccgc cctggagaca ggtcttccc ttcggggaca	1020
ggatgacagg tggatcatgg ttgtcgtcag ctcgtgctg gagatggtg gtttaagtc	1080
gcaacgagcg caacccttgg ttctagtgc cagcattcag ttggcactc tagagcgaet	1140
gccggcgaca agtcggagga aggtgggat gaegtcaaat catcatgccc cttatgacct	1200
gggetacaca cgtgctaaa tggatggtac aaaggcagc gaagcggcga cgcatrageg	1260

[0013]

aatcccagaa aaccattotc agttcggatt gcaggetgca actcgcctgc atgaagccgg	1320
aatcgetagt aatecgggat cagcatgccg cggtaatac gttcccgge cttgtacaca	1380
ccgcccgtca caccacgaga gtttgtaaca cccgaagtcg gtgaggtaac cgaaggagc	1440
cagcccgcga aggtgggaca gatgattggg gtgaagtcgt aacaagtag ccgtatcgga	1500
aggtgc	1506
<210> 10	
<211> 1509	
<212> DNA	
<213> 凝结芽孢杆菌的近源种 N-16 (<i>Bacillus coagulans</i> sp. N-16)	
<400> 10	
gacgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgtgc ggaccttta aaagcttget	60
tttaaaaggt tagcggcgga cgggtgagta acacgtgggc aacctgctg taagateggg	120
ataacgcgg gaaaccggg ctaataaccg atagtfffft cctccgatg gaggaaaaag	180
gaaagaagcc ttccgctgc acttacagat ggcccccgg cgcattaget agttggtggg	240
gtaacggctc accaaggcaa cgtgcgtag ccgacctgag aggtgateg gecacattg	300
gactgagaca cggcccaaac tctacggga ggcagcagta gggaatctc cgcaatggac	360
gaaagtctga cggagcaacg ccgcgtgagt gaagaaggcc ttccggtcgt aaaactctgt	420
tgcggggaa gaacaagtgc cgttcgaaca ggccggcgcc ttgacggtac ccggccagaa	480
agccacggct aactacgtc cagcagccgc ggtaatacgt aggtggcaag cgttgccgg	540
aattattggg cgtaaagcc gcgcaggcgg cttcttaagt ctgatgtaa atcttgcggc	600
tcaaccgcaa gggtcattg gaaactggga ggcttgagtg cagaagagga gactggaatt	660
ccacgtgtag cggtaaatg cgtagagatg tggaggaaca ccagtggcga aggcggctct	720
ctggctctga actgacgtg aggcgcgaaa gcgtggggag caaacaggat tagataacct	780
ggtagtccac gcgtaaacg atgagtctc agtgltagag ggcttccgc ctttagtget	840

[0014]

gcagctaacg cattaageac tccgcctggg gactacggcc gcaaggctga aactcaaagg	900
aattgacggg ggcccccaaca agcgggtggag catgtggttt aattcgaage aacgcgaaga	960
accttaccag gtcttgacat cctctgacct cctggagac agggecttec ccttcggggg	1020
acagagtgac aggtgggtgca tggttgctgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt	1080
ccgcaacga ggcgaacct tgacctagt tgccagcatt cagttgggca ctctaaggtg	1140
actgcccgtg acaaaccgga ggaaggtggg gatgaectca aatcatcatg cccttatga	1200
cctgggctac acacgtgcta caatggatgg taaaaagggc tgcgagaccg cgaggttaag	1260
ccaatcccag aaaaccatte ccagttcgga ttgcaggctg caaccgccct gcatgaagcc	1320
ggaatcgcta gtaatcgcg atcagcatgc cgcggatgaat acgttcccgg gccttgtaaca	1380
caccgcccgt cacaccacga gagtttgtaa caccogaagt cggtgaggta acctttacgg	1440
agccagccgc cgaaggtggg acagatgatt ggggtgaagt cgtaacaagg tagccgtatc	1500
ggaaggtgc	1509

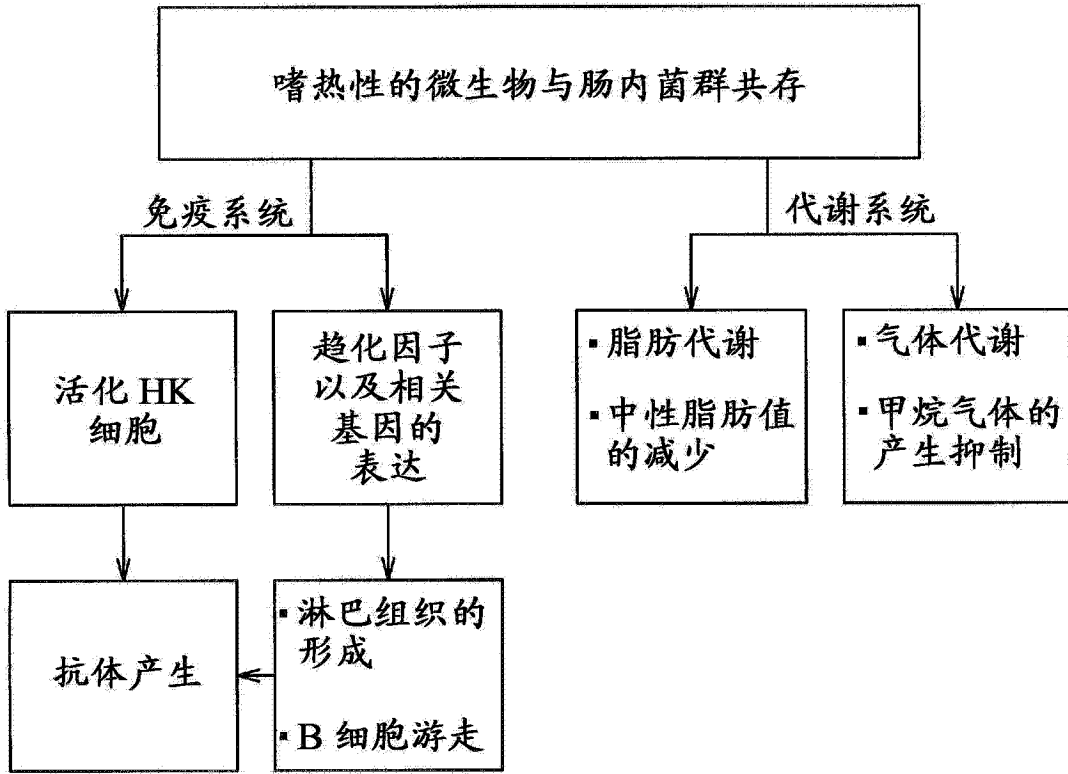


图 1

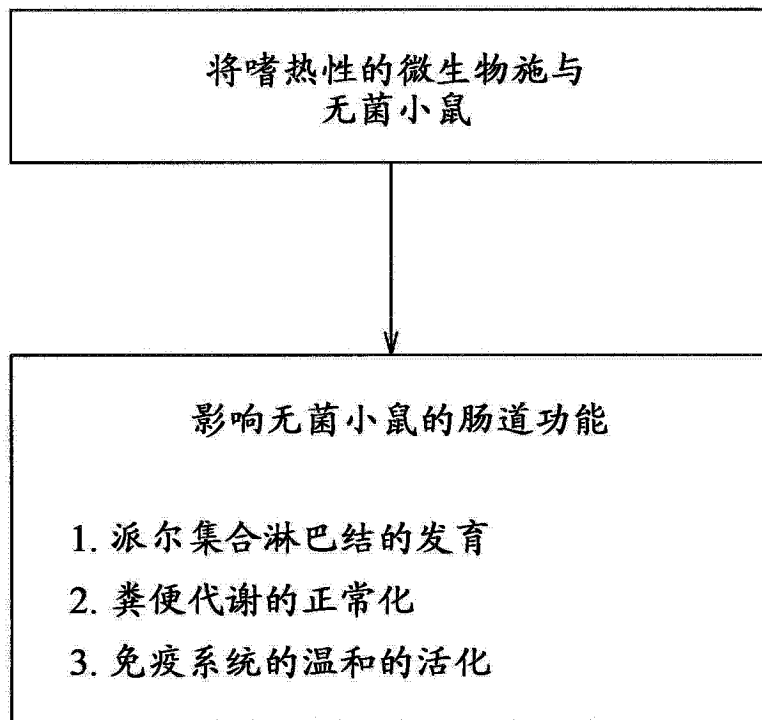


图 2

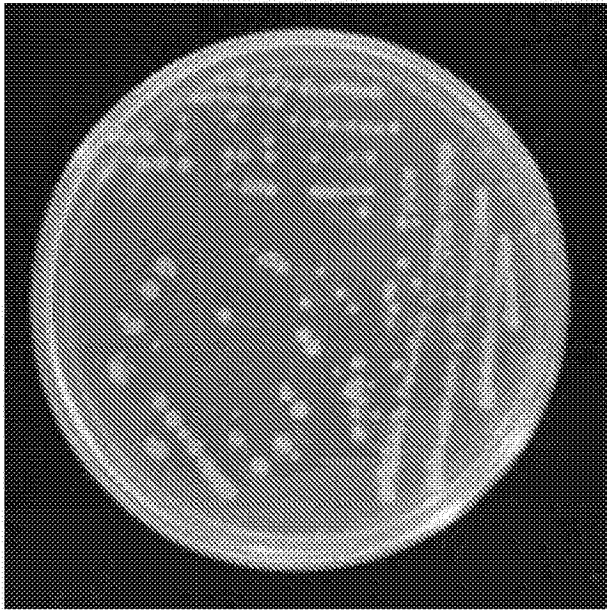


图 3

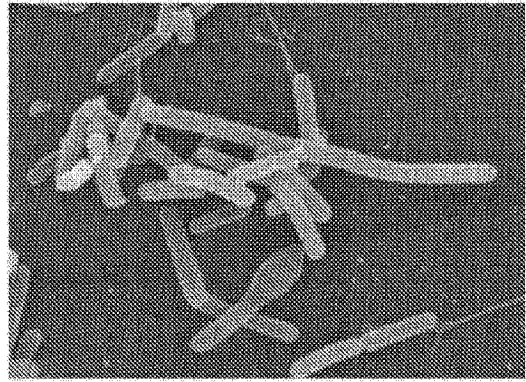


图 4

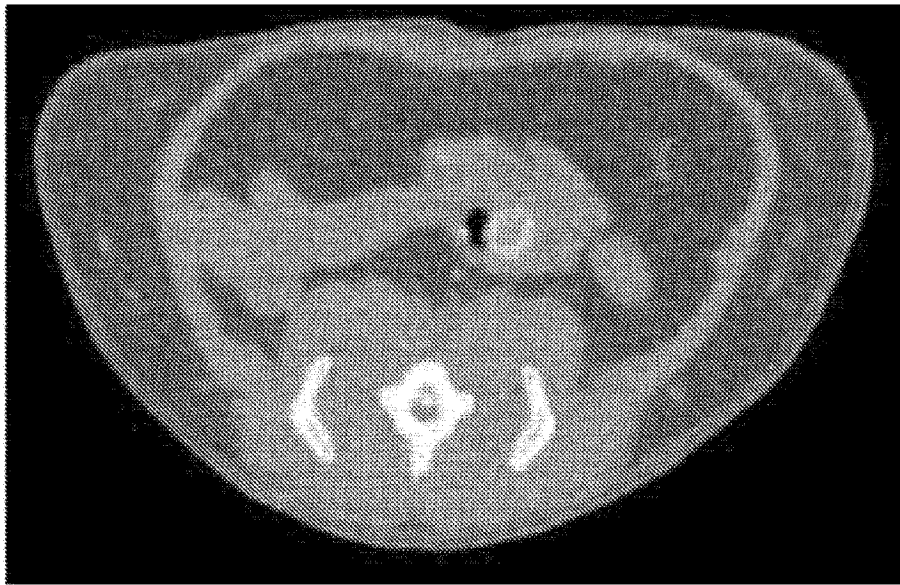


图 5



图 6

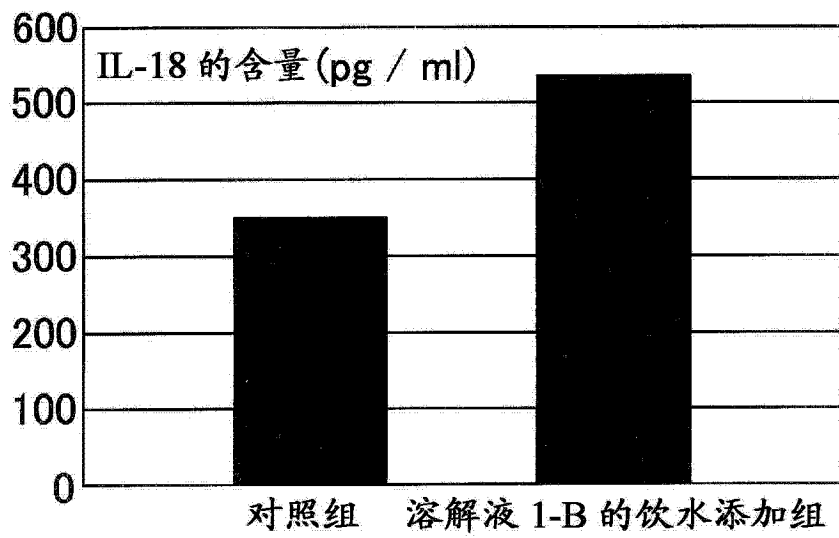


图 7

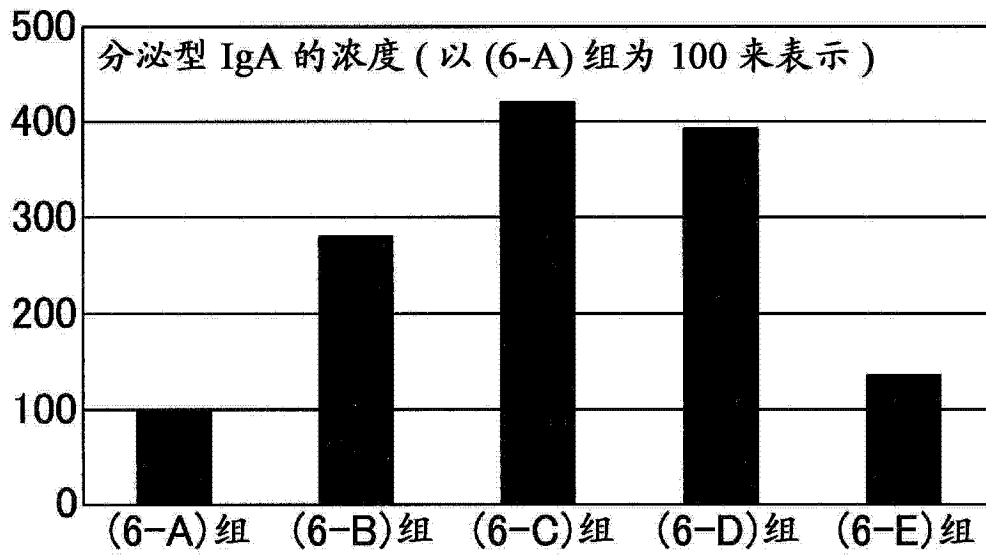


图 8