

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **221957**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **401550**

(22) Data zgłoszenia: **12.11.2012**

(51) Int.Cl.

C12N 1/20 (2006.01)

C12R 1/245 (2006.01)

(54)

Szczep bakterii mlekowych *Lactobacillus casei*

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

26.05.2014 BUP 11/14

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

30.06.2016 WUP 06/16

(73) Uprawniony z patentu:

POLITECHNIKA ŁÓDZKA, Łódź, PL
JHJ SPÓŁKA Z OGRANICZONĄ
ODPOWIEDZIALNOŚCIĄ, Nowa Wieś, PL

(72) Twórca(y) wynalazku:

KATARZYNA ŚLIŻEWSKA, Łódź, PL
ILONA MOTYL, Łódź, PL
ZDZISŁAWA LIBUDZISZ, Łódź, PL
ANNA OTLEWSKA, Łódź, PL
HIERONIM BURCHARDT, Taczanów Drugi, PL
JÓZEF KLECHA, Jarocin, PL
JAN HENZLER, Jarocin, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Ewa Kaczur-Kaczyńska

PL 221957 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest szczep bakterii mlekowych *Lactobacillus casei*, o właściwościach probiotycznych.

Specyficzna i kontrolowana pozytywna regulacja składu mikroflory jelitowej może być osiągnięta na drodze probiozy czyli spożywania preparatów lub produktów żywnościowych zawierających żywe bakterie głównie z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Dlatego też producenci żywności, a w szczególności żywności funkcjonalnej, oraz przemysł farmaceutyczny zainteresowani są pozyskiwaniem nowych szczepów tych bakterii o udokumentowanych właściwościach probiotycznych. Środowiskiem naturalnym bytowania bakterii z rodzaju *Lactobacillus* jest mleko, sery, mleczne napoje fermentowane, mięso, a w szczególności wędliny fermentowane oraz kiszonki warzywne. Bakterie te zasiedlają również błony śluzowe przewodu pokarmowego człowieka i zwierząt.

Dotychczas znane są szczepy bakterii *Lactobacillus* o właściwościach probiotycznych jak *L. acidophilus* NCFM, *L. acidophilus* DDS-1, *L. acidophilus* SBT-2062, *L. acidophilus* R0011, *L. rhamnosus* R0052, *L. acidophilus* LA-1, *L. paracasei* CRL-431, *L. casei* Shirota, *L. casei* DN-114001, *L. fermentum* RC-14, *L. rhamnosus* GR-1, *L. johnsonii* La1, *L. plantarum* 299Y, *L. rhamnosus* 271, *L. reuteri* SD2112, *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* LB21, *L. salivarius* UCC118, *L. acidophilus* LB, *L. paracasei* F19, *L. casei* ŁOCK 0900, *L. casei* ŁOCK 0908, *L. paracasei* ŁOCK 0919, *L. brevis* ŁOCK 0944, *L. paracasei* ŁOCK 0920.

Wynalazek dotyczy nowego szczepu bakterii mlekowych z rodzaju *Lactobacillus*, o właściwościach probiotycznych, który oznaczono symbolem ŁOCK 0915 i który zdeponowano pod numerem 08/01/2012 w Zakładzie Mikrobiologii Molekularnej Narodowego Instytutu Leków z siedzibą w Warszawie. Szczep stanowi homolog bakterii z gatunku *Lactobacillus casei*. Sekwencję nukleotydową regionu DNA kodującego gen 16S rRNA nowego szczepu, która określa przynależność gatunkową szczepu, przedstawiono na końcu opisu.

W celu określenia przynależności gatunkowej nowego szczepu *Lactobacillus casei* ŁOCK 0915 zsekwencjonowano region DNA kodujący gen 16S rRNA o długości 1440 pz. Otrzymaną sekwencję nukleotydową genu 16S rRNA porównano za pomocą programu BLASTN 2.2.27+ z sekwencjami dostępnymi w bazie National Center of Biotechnology Information (NCBI). Porównanie sekwencji nukleotydowej genu 16S rRNA nowego szczepu *Lactobacillus casei* 0915 z sekwencją szczepu referencyjnego *Lactobacillus casei* ATCC 27139 zamieszczono na końcu opisu.

Na podstawie tego porównania stwierdzono podobieństwo nowego szczepu bakterii do gatunku *Lactobacillus casei* z prawdopodobieństwem 100%.

Nowy szczep otrzymuje się w wyniku hodowli na płynnym podłożu MRS, stanowiącym modyfikowane podłoże Rogosa, o składzie w g/l: ekstrakt drożdżowy – 4,0, ekstrakt mięsny – 8,0, pepton K – 10,0, glukoza – 20,0, wodorocytrynian amonu – 2,0, fosforan dwupotasowy 2,0, octan sodu – 5,0, siarczan magnezu 7-wodny – 0,20, siarczan magnezu 4-wodny – 0,05, agar – 15,0, w temperaturze 35–37°C, korzystnie 37°C. Szczep rośnie w postaci dużych (średnica około 2–3 mm), lekko wypukłych kolonii o kolorze jasnokremowym. Brzeg i powierzchnia kolonii są gładkie. Nie wytwarza przetrwalników.

Cechy fizjologiczne i biochemiczne szczepu ŁOCK 0915

Szczep charakteryzuje się metabolizmem względnie heterofermentatywnym. Jest zdolny do fermentacji następujących sacharydów i ich pochodnych: glicerolu, L-arabinozy, rybozy, D-ksylozy, galaktozy, glukozy, fruktozy, mannozy, sorbozy, ramnozy, duocytolu, inozytolu, mannitolu, sorbitolu, α -metylo-D-glukozydu, N-acetyloglukozoaminy, amygdaliny, arbutyny, esculiny, salicyny, celobiozy, maltozy, laktozy, melibiozy, sacharozy, trehalozy, inuliny, melecytozy, rafinozy, skrobi, gencjiozy, D-turanozy, D-liksozy, D-tagatozy, glukonianu, co stwierdzono stosując test API 50 CHL. Laktozę fermentuje z wytworzeniem kwasu mlekowego w ilości 5,3 g/l, przy czym udział kwasu L(+) mlekowego wynosi 95,1%, kwasu octowego (2,02) g/l, aldehydu octowego (1,91 mg/l) i etanolu (6,50 mg/l).

Cechy probiotyczne szczepu ŁOCK 0915

Szczep spełnia kryteria stawiane bakteriom probiotycznym, co stwierdzono w wyniku badań *in vitro* wykonanych według procedur zalecanych przez FAO/WHO.

Wykazuje odporność na niskie pH (kwasowość soku żołądkowego) w zakresie pH od 2,5 do 3,5 oraz na sole żółci w stężeniach 2%, 4%, 6% w czasie do 48 godzin.

Wykazuje oporność w stosunku do następujących antybiotyków i chemioterapeutyków o działaniu przeciwbakteryjnym: wankomycyny, kanamycyny, cefalotyny, cefitazydymu, aztreonamu, amikacyny, streptomycyny, klotrimazolu.

Charakteryzują się słabym przyleganiem do linii komórkowych Caco-2 oznaczonym jako (+), przy czym adherencję określano ilościowo przyjmując, iż (-) oznacza brak przylegania, (+) – pojedyncze komórki bakterii w całym preparacie, (++) – pojedyncze komórki bakterii w poszczególnych polach widzenia, liczne w preparacie, (+++) – liczne bakterie w poszczególnych polach widzenia.

Wykazuje aktywność antagonistyczną w stosunku do bakterii patogennych przenoszonych drogą pokarmową: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*.

Posiada niewielką aktywność fekalną. Spośród trzech enzymów β -glukozydazy, β -glukuronidazy i ureazy, aktywna jest tylko β -glukozydaza.

Cechy biotechnologiczne szczepu ŁOCK 0915

W celu określenia właściwości biotechnologicznych szczepu, inokulum szczepu zaszczerpiono mleko UHT o 2% zawartości tłuszczu. Szczep osiągnął fazę stacjonarną po 32 godzinach hodowli w mleku, zaś plon komórek wynosił $5,9 \times 10^8$ jtk/ml. Czas trwania fazy adaptacyjnej bakterii wyniósł 1 godzinę.

Maksymalna wartość właściwej szybkości wzrostu szczepu wynosiła $0,49 \text{ h}^{-1}$, a produktywność hodowli była równa $0,26 \times 10^8$.

Szczep w początkowym etapie fazy stacjonarnej osiągnął kwasowość wynoszącą 32°SH , gwarantującą czysto kwaśny smak produktu. Specyficzna aktywność kwasząca bakterii, wyrażona w $^\circ \text{SH}$ na jednostkę tworzącą kolonie, w fazie stacjonarnej wzrostu szczepu wynosiła $5,8^\circ \text{SH}/108 \text{ jtk}$.

Po 24 godzinach inkubacji szczep wykorzystał laktozę mleka w 25,3%.

Nadto:

- szczep charakteryzuje się aktywnością β -galaktozydazy na poziomie 0,26 J, przy czym jednostka aktywności J definiowana jest jako ilość μmoli o-nitrofenylo- β -galaktopiranozy (ONP) uwolnionych w czasie 1 minuty przez 1 mg suchej masy bakterii,
- jest zdolny do jednoczesnego wykorzystania glukozy i galaktozy,
- nie syntetyzuje bakteriocyn i związków bakteriocynopodobnych,
- jest zdolny do syntezy biosurfaktantów, związków niewrażliwych na działanie enzymów proteolitycznych – pepsyny i trypsyny, wykazujących aktywność antagonistyczną w stosunku do: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterobacter aerogenes*.

Przedmiot wynalazku ilustrują poniższe przykłady.

P r z y k ł a d I.

Szczep ŁOCK 0915 hodowano na podłożu płynnym MRS o składzie w g/l: ekstrakt drożdżowy – 4,0, ekstrakt mięsny – 8,0, pepton K – 10,0, glukoza – 20,0, wodorocytrynian amonu – 2,0, fosforan dwupotasowy 2,0, octan sodu – 5,0, siarczan magnezu 7-wodny – 0,20, siarczan magnezu 4-wodny – 0,05, agar – 15,0, w temperaturze 37°C . Po 24 godzinach hodowli wyhodowane komórki oddzielono od podłoża na wstrząsarce uzyskując gęstość $4,9 \times 10^8$ komórek/ml.

P r z y k ł a d II.

Bakterie otrzymane jak w przykładzie I umieszczono w środowiskach o pH 2,5 i 3,5. W środowisku o pH 2,5 po 180 minutach przeżyło $3,7 \times 10^4$ jtk (jednostek tworzących kolonie) /ml przy wyjściowej ich ilości $4,0 \times 10^8$ jtk/ml. W środowisku o pH 3,5 po 180 minutach przeżyło $3,9 \times 10^8$ /ml przy wyjściowej ich ilości $4,0 \times 10^8$ /ml.

P r z y k ł a d III.

Bakterie otrzymane jak w przykładzie I poddano działaniu soli żółci o stężeniach 2%, 4% i 6% w czasie do 48 godzin. W wyniku działania soli żółci o stężeniu 2% po 48 godzinach przeżyło $6,7 \times 10^6$ jtk/ml przy wyjściowej ich ilości $4,5 \times 10^8$ jtk/ml. Pod wpływem działania soli żółci o stężeniu 4% po 48 godzinach przeżyło $4,3 \times 10^6$ jtk/ml przy wyjściowej ich ilości $4,2 \times 10^8$ jtk/ml. Pod wpływem działania soli żółci o stężeniu 6% po 48 godzinach przeżyło $3,0 \times 10^5$ jtk/ml przy wyjściowej ich ilości $2,7 \times 10^8$ jtk/ml.

P r z y k ł a d IV.

Określano trwałość przechowalniczą produktów i preparatów zawierających szczepu ŁOCK 0915. W tym celu mleko UHT o 2% zawartości tłuszczu zaszczerpiano inokulum tych bakterii dodanym w ilości 10%, inkubowano do momentu ukwaszenia mleka, po czym ukwaszone mleko przechowywano w temperaturze $4-5^\circ \text{C}$ w ciągu 21 dni.

W analogicznych warunkach przechowywano również mleko nieukwaszone zawierające inokulum tych bakterii.

W trakcie przechowywania w mleku ukwaszonym i nieukwaszonym sprawdzano przeżywalność bakterii ŁOCK 0915 oraz kwasowość ogólną produktu.

Przeżywalność szczepu ŁOCK 0915 w nieukwaszonym mleku, przechowywanym przez 21 dni w temperaturze 4–5°C, wynosiła 92%, a liczba komórek bakterii kształtowała się na poziomie 10^8 jtk/ml.

W mleku ukwaszonym szczepem ŁOCK 0915 liczba żywych bakterii była wysoka i wynosiła 10^9 jtk/ml i w trakcie 21 dni przechowywania nie uległa istotnej zmianie. Nadto stwierdzono, iż chłodnicze przechowywanie mleka ukwaszonego szczepem ŁOCK 0915 stabilizuje kwasowość całkowitą na poziomie 42,8° SH (granice kwasowości 30–46° SH), która gwarantuje czysto kwaśny smak produktu i zapewnia bardzo dobre cechy sensoryczne produktu.

Przygotowano mieszanki szczepu ŁOCK 0915 zawierające 10% dodatek glukonianu wapnia, preparatu Raftilose® i mleka w proszku, po czym poddano je procesowi liofilizacji. Oceniano trwałość liofilizowanych preparatów przechowywanych w czasie 4 miesięcy w warunkach chłodniczych (4–5°C) oraz w temperaturze pokojowej (25°C). Na poniższych wykresach przedstawiono wyniki oceny przeżywalności bakterii ŁOCK 0915 w tych mieszankach w temperaturze chłodniczej i temperaturze pokojowej.

Wykres 1 ilustruje przeżywalność bakterii ŁOCK 0915 przechowywanych w temperaturze chłodniczej 4–5°C, zaś wykres 2 przeżywalność bakterii ŁOCK 0915 przechowywanych w temperaturze pokojowej. Okazało się, iż temperatura chłodnicza zapewnia większą stabilność i trwałość liofilizowanych preparatów niezależnie od czynnika ochronnego. Przechowywanie preparatu bakterii suszonego sublimacyjnie z mlekiem jako medium ochronnym w czasie 4 miesięcy w temperaturze chłodniczej spowodowało obniżenie liczby żywych komórek o 16,9%, zaś w temperaturze pokojowej o 33,8%. W czasie 4 miesięcy przechowywania liofilizatu mieszaniny komórek bakterii z preparatem Raftilose® stopień redukcji liczby żywych komórek ŁOCK 0915 wzrósł o 20,8% w temperaturze chłodniczej i o 40,1% w temperaturze pokojowej. Zamieralność komórek bakterii ŁOCK 0915 liofilizowanych z glukonianem wapnia, przechowywanych w temperaturze chłodniczej wynosiła 30,7%, natomiast przechowywanych w temperaturze pokojowej – 20,7%.

Wykaz sekwencji nukleotydowej regionu DNA kodującego gen 16S rRNA szczepu *Lactobacillus casei* ŁOCK 0915, która określa przynależność gatunkową szczepu:

```

1   ATACATGCAA AGTCGACGAG TTCTCGTTGA TGATCGGTGC TTGCACCGAG
    ATTCAACATG GAACGAGTGG CGGACGGGTG AGTAACACGT GGGTAACCTG
101 CCCTTAAGTG GGGGATAACA TTTGGAAACA GATGCTAATA CCGCATAGAT
    CCAAGAACCG CATGGTTCTT GGCTGAAAGA TGGCGTAAGC TATCGCTTTT
201 GGATGGACCC GCGGCGTATT AGCTAGTTGG TGAGGTAATG GCTCACCAAG
    GCGATGATAC GTAGCCGAAC TGAGAGGTTG ATCGGCCACA TTGGGACTGA
301 GACACGGCCC AAACCTCTAC GGGAGGCAGC AGTAGGGAAT CTTCCACAAT
    GGACGCAAGT CTGATGGAGC AACGCCGCGT GAGTGAAGAA GGCTTTCGGG
401 TCGTAAAAC TGTGTTGTTG AGAAGAATGG TCGGCAGAGT AACTGTTGTC
    GGCGTGACGG TATCCAACCA GAAAGCCACG GCTAACTACG TGCCAGCAGC
501 CGCGGTAATA CGTAGGTGGC AAGCGTTATC CGGATTTATT GGGCGTAAAG
    CGAGCGCAGG CGGTTTTTTA AGTCTGATGT GAAAGCCCTC GGCTTAACCG
601 AGGAAGCGCA TCGGAACTG GGAACTTGA GTGCAGAAGA GGACAGTGGA
    ACTCCATGTG TAGCGGTGAA ATGCGTAGAT ATATGGAAGA ACACCAAGTGG
701 CGAAGGCGGC TGTCTGGTCT GTAAC TGACG CTGAGGCTCG AAAGCATGGG
    TAGCGAACAG GATTAGATAC CCTGGTAGTC CATGCCGTAA ACGATGAATG
801 CTAGGTGTTG GAGGGTTTCC GCCCTTCAGT GCCGCAGCTA ACGCATTAAG
    CATTCCGCC TGGGAGTACG ACCGCAAGGT TGAAACTCAA AGGAATTGAC

```

```

901      GGGGGCCCCG ACAAGCGGTG GAGCATGTGG TTTAATTCGA AGCAACGCGA
      AGAACCTTAC CAGGTCTTGA CATCTTTTGA TCACCTGAGA GATCAGGTTT
1001     CCCCTTCGGG GGCAAAATGA CAGGTGGTGC ATGGTTGTCTG TCAGCTCGTG
      TCGTGAGATG TTGGGTAAAG TCCCGCAACG AGCGCAACCC TTATGACTAG
1101     TTGCCAGCAT TTAGTTGGGC ACTCTAGTAA GACTGCCGGT GACAAACCGG
      AGGAAGGTGG GGATGACGTC AAATCATCAT GCCCCTTATG ACCTGGGCTA
1201     CACACGTGCT ACAATGGATG GTACAACGAG TTGCGAGACC GCGAGGTCAA
      GCTAATCTCT TAAAGCCATT CTCAGTTCGG ACTGTAGGCT GCAACTCGCC
1301     TACACGAAGT CGGAATCGCT AGTAATCGCG GATCAGCACG CCGCGGTGAA
      ACGTTCCCG GGCCTTGTAC ACACCGCCCG TCACACCATG AGAGTTTGTGTA
1401     ACACCCGAAG CCGGTGGCGT AACCTTTTA GGGAGCGAGC

```

której: a – oznacza adeninę, g – guaninę, c – cytozynę, t – tyminę.

Porównanie sekwencji nukleotydowej genu 16S rRNA nowego szczepu *Lactobacillus casei* 0915 z sekwencją szczepu referencyjnego *Lactobacillus casei* ATCC27139:

	1	50
Lb. casei ATCC27139	(1) -----TCTCGTTGATGATCGGTGCTTGACCGAG	
Lb. casei 0915	(1) ATACATGCAAAGTCGACGAGTTCTCGTTGATGATCGGTGCTTGACCGAG	
	51	100
Lb. casei ATCC27139	(30) ATTCAACATGGAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTG	
Lb. casei 0915	(51) ATTCAACATGGAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTG	
	101	150
Lb. casei ATCC27139	(80) CCCTTAAGTGGGGGATAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAGAT	
Lb. casei 0915	(101) CCCTTAAGTGGGGGATAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAGAT	
	151	200
Lb. casei ATCC27139	(130) CCAAGAACCGCATGGTTCTTGGCTGAAAGATGGCGTAAGCTATCGCTTTT	
Lb. casei 0915	(151) CCAAGAACCGCATGGTTCTTGGCTGAAAGATGGCGTAAGCTATCGCTTTT	
	201	250
Lb. casei ATCC27139	(180) GGATGGACCCGCGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAG	
Lb. casei 0915	(201) GGATGGACCCGCGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAG	
	251	300
Lb. casei ATCC27139	(230) GCGATGATACGTAGCCGAAGTGAAGGTTGATCGGCCACATTGGGACTGA	
Lb. casei 0915	(251) GCGATGATACGTAGCCGAAGTGAAGGTTGATCGGCCACATTGGGACTGA	
	301	350
Lb. casei ATCC27139	(280) GACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAAT	
Lb. casei 0915	(301) GACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAAT	
	351	400
Lb. casei ATCC27139	(330) GGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCTTTCGGG	
Lb. casei 0915	(351) GGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCTTTCGGG	

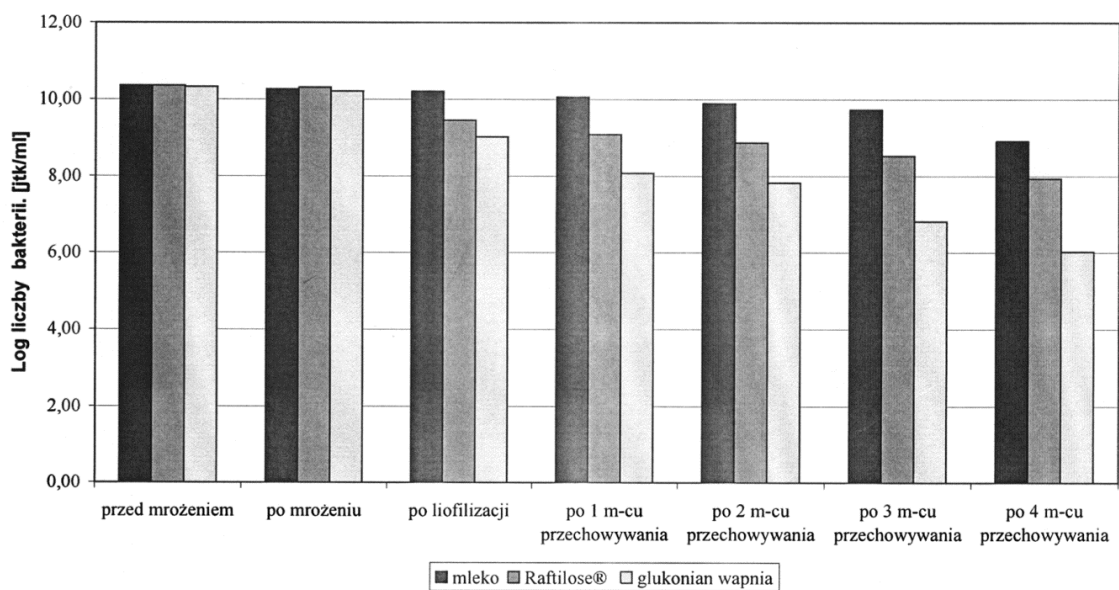
		401	450
Lb. casei ATCC27139	(380)	TCGTAAAACTCTGTTGTTGGAGAAGAATGGTCGGCAGAGTAACGTGTTGTC	
Lb. casei 0915	(401)	TCGTAAAACTCTGTTGTTGGAGAAGAATGGTCGGCAGAGTAACGTGTTGTC	
		451	500
Lb. casei ATCC27139	(430)	GGCGTGACGGTATCCAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC	
Lb. casei 0915	(451)	GGCGTGACGGTATCCAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC	
		501	550
Lb. casei ATCC27139	(480)	CGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTATTTGGGCGTAAAG	
Lb. casei 0915	(501)	CGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTATTTGGGCGTAAAG	
		551	600
Lb. casei ATCC27139	(530)	CGAGCGCAGGCGGTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCG	
Lb. casei 0915	(551)	CGAGCGCAGGCGGTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCG	
		601	650
Lb. casei ATCC27139	(580)	AGGAAGCGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGA	
Lb. casei 0915	(601)	AGGAAGCGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGA	
		651	700
Lb. casei ATCC27139	(630)	ACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACCACAGTGG	
Lb. casei 0915	(651)	ACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACCACAGTGG	
		701	750
Lb. casei ATCC27139	(680)	CGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGG	
Lb. casei 0915	(701)	CGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGG	
		751	800
Lb. casei ATCC27139	(730)	TAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGATGAATG	
Lb. casei 0915	(751)	TAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGATGAATG	
		801	850
Lb. casei ATCC27139	(780)	CTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCATTAAG	
Lb. casei 0915	(801)	CTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCATTAAG	
		851	900
Lb. casei ATCC27139	(830)	CATTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGAC	
Lb. casei 0915	(851)	CATTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGAC	
		901	950
Lb. casei ATCC27139	(880)	GGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGA	
Lb. casei 0915	(901)	GGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGA	
		951	1000
Lb. casei ATCC27139	(930)	AGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTT	
Lb. casei 0915	(951)	AGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTT	
		1001	1050
Lb. casei ATCC27139	(980)	CCCCTTCGGGGGCAAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTG	
Lb. casei 0915	(1001)	CCCCTTCGGGGGCAAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTG	
		1051	1100
Lb. casei ATCC27139	(1030)	TCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAG	
Lb. casei 0915	(1051)	TCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAG	
		1101	1150
Lb. casei ATCC27139	(1080)	TTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGG	
Lb. casei 0915	(1101)	TTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGG	
		1151	1200
Lb. casei ATCC27139	(1130)	AGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTA	
Lb. casei 0915	(1151)	AGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTA	

		1201		1250
Lb. casei ATCC27139	(1180)	CACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAA		
Lb. casei 0915	(1201)	CACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAA		
		1251		1300
Lb. casei ATCC27139	(1230)	GCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCC		
Lb. casei 0915	(1251)	GCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCC		
		1301		1350
Lb. casei ATCC27139	(1280)	TACACGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAA		
Lb. casei 0915	(1301)	TACACGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAA		
		1351		1400
Lb. casei ATCC27139	(1330)	TACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTA		
Lb. casei 0915	(1351)	TACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTA		
		1401		1449
Lb. casei ATCC27139	(1380)	ACACCCGAAGCCGGTGGCGTAACCCTTTTAGGGAGCGAGCCGTCTAAGG		
Lb. casei 0915	(1401)	ACACCCGAAGCCGGTGGCGTAACCCTTTTAGGGAGCGAGC-----		

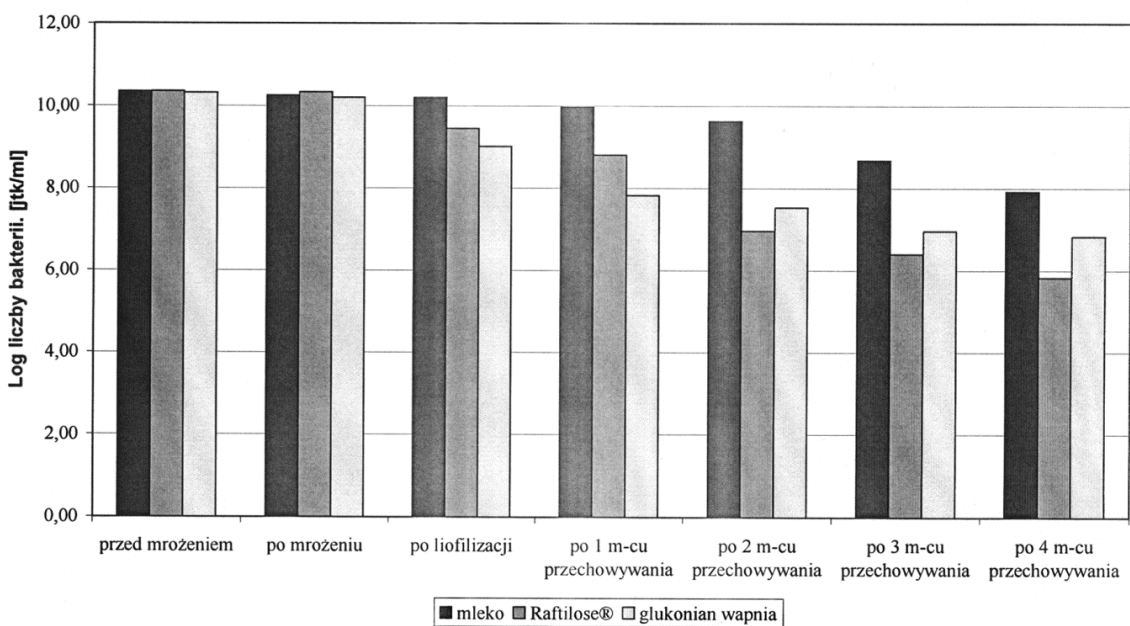
Zastrzeżenie patentowe

Szczep bakterii mlekowych *Lactobacillus casei* ŁOCK 0915, o właściwościach probiotycznych – 08/01/2012.

Rysunki



Wykres 1



Wykres 2