



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)  
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0025295

(51)<sup>7</sup> C12N 1/20; C12N 15/09; A23L 1/30 (13) B

- 
- (21) 1-2015-04410 (22) 16/04/2014  
(86) PCT/JP2014/060812 16/04/2014 (87) WO 2014/171478 23/10/2014  
(30) 2013-086576 17/04/2013 JP  
(45) 25/08/2020 389 (43) 25/03/2016 336A  
(73) Suntory Holdings Limited (JP)  
1-40, Dojimahama 2-chome, Kita-ku, Osaka-shi, Osaka, 530-8203, Japan  
(72) FUKUSHIMA, Eiji (JP).  
(74) Công ty TNHH Tâm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)
- 

(54) SỮA CHUA, ĐỒ UỐNG VÀ NƯỚC ÉP LÊN MEN CHỨA CHỦNG VI KHUẨN  
LACTOBACILLUS PENTOSUS TUA4337L

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L (số nộp lưu: NITE BP-1479), khác biệt ở chỗ, chủng này có khả năng tăng sinh trong ruột non và/hoặc ruột già, và tốt hơn là ruột non, sau khi sống sót trong đường ruột. Vì chế phẩm theo sáng chế chứa vi khuẩn axit lactic có khả năng tăng sinh trong đường ruột, khi được tiêu hóa trong cơ thể, vi khuẩn axit lactic sống sót tới đường ruột và tăng sinh, theo đó sự hấp thu chất béo có thể bị ngăn cản, và sự tăng trọng lượng có thể bị ngăn cản, sao cho chế phẩm có thể được dùng thích hợp cho mục đích ăn kiêng hiệu quả.

**Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa chủng vi khuẩn TUA4337L thuộc chi *Lactobacillus*. Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa *Lactobacillus pentosus* TUA4337L. Cụ thể hơn nữa, sáng chế đề cập đến sữa chua, đồ uống và nước ép lên men chứa chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L.

**Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Một số vi khuẩn axit lactic và vi khuẩn *Bifido* có hoạt tính sinh lý rất tốt như hoạt tính điều hòa ruột và hoạt tính kích thích miễn dịch, và đã được sử dụng trong các ứng dụng khác nhau, phụ thuộc vào các đặc tính của loài vi khuẩn này. Gần đây, các nghiên cứu về tác dụng của ăn kiêng đã được tiến hành bằng cách sử dụng các vi khuẩn trong số các vi khuẩn nêu trên, và nhiều báo cáo đã được đưa ra.

Ví dụ, Tài liệu sáng chế 1 thông báo rằng chủng ATCC53103 của vi khuẩn *Lactobacillus rhamnosus* phân hủy chất béo (triacyl glyxerol) là nguyên nhân gây bệnh béo phì, theo đó ngăn cản việc hấp thu của nó vào trong cơ thể. Ngoài ra, KB290 của vi khuẩn *L. brevis*, được biết đến là một loại vi khuẩn axit lactic thực vật, đi tới ruột ở trạng thái còn sống, theo đó có tỷ lệ sống trong ruột cao và khả năng sống trong đường ruột tốt (tuy nhiên, số lượng vi khuẩn bị thải bỏ là nhỏ hơn số lượng vi khuẩn được tiêu hóa) (xem Tài liệu không phải tài liệu sáng chế 1). Tương tự, Tài liệu không phải tài liệu sáng chế 2 sau đây thông báo rằng chủng L-92 của vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* được thu gom từ mẫu phân bao gồm lượng 93% số lượng vi khuẩn được tiêu hóa, do đó chủng này có khả năng sống trong đường ruột rất tốt, và Tài liệu không phải tài liệu sáng chế 3 sau đây thông báo rằng khả năng sống của SBT2055 của vi khuẩn *L. gasseri* trong đường ruột đã

được kiểm tra, và 100 g sữa lên men chứa từ  $1 \times 10^6$  đến  $5 \times 10^6$  cfu/g vi khuẩn được sử dụng, và kết quả là, vi khuẩn được phát hiện thấy ở mẫu phân nhiều nhất là khoảng  $1 \times 10^5$  cfu/g.

Mặt khác, như với vi khuẩn Bifido, đã được thông báo rằng chủng GCL2505 của vi khuẩn *Bifido animalis* loài phụ *lactis* (*Bifidobacterium animalis subspecies lactis*) không chỉ có khả năng sống trong đường ruột trong đó chủng này đi tới ruột ở trạng thái còn sống sau khi được tiêu hóa mà còn thể hiện khả năng tăng sinh đáng kể bên trong đường ruột (xem, Tài liệu sáng chế 2). Tài liệu không phải tài liệu sáng chế 4 sau đây thông báo rằng khi *B. animalis ssp. lactis* DN-173 010 được sử dụng cho người lớn, khoảng 20% DN-173 010 được phát hiện thấy ở mẫu phân, trong lượng vi khuẩn được tiêu hóa.

Tài liệu tham khảo

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: công bố đơn yêu cầu cấp Patent Nhật Bản số 2011-206057

Tài liệu sáng chế 2: công bố đơn yêu cầu cấp Patent Nhật Bản số 2011-172506

Tài liệu không phải tài liệu sáng chế

Tài liệu không phải tài liệu sáng chế 1: “Physiological Function of Lactic Acid Bacteria for Human Health,” 31 tháng 8, 2007, CMC Publishing CO., LTD., 160-162

Tài liệu không phải tài liệu sáng chế 2: Japanese Journal of Lactic Acid

Bacteria, 2001, 12, “Isolation and characterization of a *Lactobacillus acidophilus* strain L92 that can survive in human gastrointestinal tract,” 28-35

Tài liệu không phải tài liệu sáng chế 3: Microbiol. Immunol., 2006, 50, “Monitoring and survival of *Lactobacillus gasseri* SBT2055 in the human intestinal tract.,” 867-870

Tài liệu không phải tài liệu sáng chế 4: J. Mol. Microbiol. Biotechnol., 2008, 14, “Survival of *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 in the faecal microbiota after administration in lyophilized form or in fermented product - a randomized study in healthy adults,” 128-136

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Vấn đề kỹ thuật cần được giải quyết

Tuy nhiên, vì sự hấp thu chất béo chủ yếu diễn ra ở ruột non, ngay cả khi vi khuẩn *Bifido* thường được tăng sinh trong ruột già có khả năng tăng sinh trong đường ruột, nên việc ngăn cản hấp thu chất béo sẽ không đủ. Hơn nữa, vi khuẩn axit lactic được biết đến là hoạt động ngược dòng với ruột già, nhưng các thông báo về loài vi khuẩn có khả năng tăng sinh trong đường ruột là chưa có.

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm chứa vi khuẩn axit lactic có khả năng tăng sinh trong đường ruột.

Cách thức giải quyết vấn đề

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L (số nộp lưu: NITE BP-1479), khác biệt ở chỗ, chủng này có khả năng tăng sinh trong đường ruột.

## Hiệu quả của sáng chế

Khi chế phẩm theo sáng chế được tiêu hóa, vi khuẩn axit lactic có khả năng tăng sinh trong đường ruột tăng sinh, một số tác dụng rất tốt là tăng cường hoạt tính sinh lý của các tế bào vi khuẩn được thể hiện, dẫn đến thu được tác dụng ăn kiêng.

## Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG. 1 là biểu đồ thể hiện các kết quả sàng lọc trong dịch ruột nhân tạo.

FIG. 2 là biểu đồ thể hiện sự chuyển đổi của việc tăng cân, trong đó dấu “\*” trong hình thể hiện rằng có sự khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) dựa vào nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo.

FIG. 3 là biểu đồ thể hiện lượng triglyxerit trong huyết thanh, trong đó dấu “\*” trong hình thể hiện rằng có sự khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) dựa vào nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo.

## Mô tả chi tiết sáng chế

Chế phẩm theo sáng chế có đặc tính lớn là chế phẩm chứa vi khuẩn axit lactic của chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L (sau đây còn gọi là vi khuẩn axit lactic theo sáng chế), trong đó chủng này có khả năng tăng sinh trong đường ruột.

Vi khuẩn axit lactic theo sáng chế là chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L, khác biệt ở chỗ, chủng này có khả năng tăng sinh trong đường ruột. Ở đây, cụm từ “có khả năng tăng sinh trong đường ruột” hoặc “tăng sinh trong đường ruột” như được dùng ở đây nghĩa là chủng sau khi sống sót trong đường ruột tăng

sinh trong ruột non và/hoặc ruột già, và tốt hơn là ruột non, và mức độ của khả năng tăng sinh có thể được đánh giá là “tăng sinh” trong trường hợp mà giá trị số là mười lần hoặc nhiều hơn mười lần OD<sub>660</sub> lúc gieo cấy khi chủng được nuôi cấy trong dịch ruột nhân tạo ở 37°C trong 6 giờ.

Các tác giả sáng chế đã kiểm tra khả năng tăng sinh của khoảng 480 loại vi khuẩn axit lactic sở hữu bởi các tác giả sáng chế trong dịch ruột nhân tạo, và đã sử dụng huyền phù của vi khuẩn thuộc *Lactobacillus pentosus* được chọn từ đó tới động vật. Kết quả là, các tác giả sáng chế phát hiện ra rằng chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L có số lượng vi khuẩn bị thải bỏ lớn hơn đáng kể số lượng vi khuẩn được sử dụng. Sáng chế được điều chỉnh từ đó.

Chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L được nộp lưu tại Lưu chiểu vi sinh vật sáng chế, Viện công nghệ và đánh giá, Cơ quan quản lý kết hợp (Patent Microorganisms Depositary, National Institute of Technology and Evaluation, Incorporated Administrative Agency) (2-5-8 Kazusakamatar, Kisarazu-shi, Chiba-ken, Japan) với số nhận diện là NRIC 0883, với số nộp lưu là NITE BP-1479 vào ngày với ngày nộp lưu quốc tế là 10 tháng 12, 2012. Chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L sau đây được gọi đơn giản là chủng TUA4337L.

Các tính chất thuộc vi khuẩn của chủng TUA4337L được thể hiện trong bảng 1 và 2. Hoạt tính đồng hóa đường của bảng 2 là kết quả của phép đo sử dụng bộ kit nhận diện vi khuẩn API 50CH (BIOMETRIEUX). Ở đây, “+” nghĩa là đường được đồng hóa, và “-” nghĩa là đường không được đồng hóa trong bảng 2.

Bảng 1

Hình thái vi khuẩn	<i>Bacillus</i>
Nhuộm gam	Dương
Tính di động	Không có
Bào tử	Không có
Bào tử cuối cùng	Không có
Phản ứng catalaza	Âm tính
Sinh trưởng ở 15°C	○
Sinh trưởng ở 40°C	○
Sinh trưởng hiếu khí	○
Sinh trưởng kỵ khí	○
pH lúc sinh trưởng	3,0-12,5

Hoạt tính đồng hóa đường		Hoạt tính đồng hóa đường		Hoạt tính đồng hóa đường	
Glyxerol	+	D-Manitol	+	D-Raffinoza	+
Erythritol	-	D-Sorbitol	+	Tinh bột	-
D-Arabinoza	-	Metyl- $\alpha$ D-Glucopyranosit	+	Glycogen	-
L-Arabinoza	+	N-Axetylglucosamin	+	Xylitol	-
D-Riboza	+	Amygdalin	+	Gentiobioza	+
D-Xyloza	+	Arbutin	+	D-Turanoza	+
L-Xyloza	-	Ferric Xitrat-Aesculin	+	D-Lixoza	-
D-Adonitol	-	Salicin	+	D-Tagatoza	-
Metyl- $\beta$ D-xylopyranosit	-	D-Xenlobioza	+	D-Fucoza	-
D-Galactoza	+	D-Maltoza	+	L-Fucoza	-
D-Glucoza	+	D-Lactoza	+	D-Arabitol	-
D-Fructoza	+	D-Melibioza	+	L-Arabitol	-
D-Manoza	+	D-Sucroza	+	Gluconat	+
L-Sorboza	-	D-Trehaloza	+	2-Ketogluconat	-
Dulcitol	-	Inulin	-	5-Ketogluconat	-
Inositol	-	D-Melezitoza	-		

Như được mô tả chi tiết trong các ví dụ thể hiện dưới đây, chủng TUA4337L có tính chất là tăng số lượng vi khuẩn bị thải bỏ so với số lượng vi khuẩn được tiêu hóa, nói cách khác, có khả năng tăng sinh trong đường ruột. Hơn nữa, vì có khả năng tăng sinh trong đường ruột, số lượng vi khuẩn sau 6 giờ nuôi



cấy trong dịch ruột nhân tạo ở 37°C tốt hơn là 10 lần hoặc hơn 10 lần, tốt hơn nữa là 15 lần hoặc hơn 15 lần, thậm chí tốt hơn nữa là 20 lần hoặc hơn 20 lần, và thậm chí còn tốt hơn nữa là 25 lần hoặc hơn 25 lần, số lượng vi khuẩn ở thời điểm bắt đầu nuôi cấy vi khuẩn được sử dụng làm chuẩn.

Hơn nữa, trình tự của gen *recA* (SEQ ID NO: 1) được giải mã từ ADN được chiết xuất từ chủng TUA4337L có 99% tương đồng với trình tự của gen *recA* của chủng IG1 của vi khuẩn *Lactobacillus pentosus*. Ở đây, tính tương đồng như được dùng ở đây được thể hiện là mức độ giống nhau bằng số điểm sử dụng, ví dụ, chương trình tìm kiếm BLAST sử dụng thuật toán được phát triển bởi Altschul et al. (*The Journal of Molecular Biology*, 215, 403-410 (1990)).

Môi trường nuôi cấy chủng TUA4337L không bị giới hạn cụ thể, và môi trường này bao gồm các môi trường chứa nguồn cacbon, nguồn nitơ, các muối vô cơ, các chất dinh dưỡng hữu cơ thông thường và các chất tương tự. Hơn nữa, việc nuôi cấy bằng môi trường aga hoặc môi trường lỏng có thể được tiến hành. Nhiệt độ nuôi cấy tốt hơn là nằm trong khoảng từ 10° đến 45°C, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 15° đến 42°C, thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 28° đến 38°C, và thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 35° đến 37°C, và độ pH cho tăng sinh tốt hơn là độ pH nằm trong khoảng từ 3,0 đến 12,5, và tốt hơn nữa là độ pH nằm trong khoảng từ 3,5 đến 12,0.

Chế phẩm theo sáng chế chứa chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L có khả năng tăng sinh trong đường ruột được nêu phía trên ở các dạng khác nhau.

Các dạng của chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L chứa

trong chế phẩm theo sáng chế bao gồm chính vi khuẩn axit lactic, bao gồm vi khuẩn còn sống và vi khuẩn đã chết, thể vùi của vi khuẩn axit lactic và các tế bào đã qua xử lý của vi khuẩn axit lactic, và các dạng tương tự. Vi khuẩn còn sống có thể thu được từ thể vùi của vi khuẩn axit lactic như môi trường nuôi cấy chứa vi khuẩn axit lactic. Vi khuẩn đã chết có thể thu được, ví dụ, bằng cách cho vi khuẩn còn sống gia nhiệt, chiếu tia cực tím, xử lý với formalin, xử lý với axit hoặc các cách tương tự. Vi khuẩn còn sống hoặc vi khuẩn đã chết thu được có thể còn được tạo ra trong các tế bào được xử lý bằng cách đem vi khuẩn đi nghiền, nghiền nát, hoặc bằng cách tương tự. Ở đây, vi khuẩn axit lactic ở mỗi dạng trong số các dạng trên tốt hơn là vi khuẩn còn sống với mục đích là thể hiện đầy đủ các tác dụng của việc tăng sinh trong đường ruột, và vi khuẩn đã chết có thể được trộn thêm vào.

Vi khuẩn axit lactic phía trên bao gồm, ví dụ, vi khuẩn còn sống, vi khuẩn ướt, vi khuẩn khô, và các dạng tương tự. Thể vùi của vi khuẩn axit lactic phía trên bao gồm, ví dụ, huyền phù của vi khuẩn axit lactic, các tế bào được nuôi cấy của vi khuẩn axit lactic (bao gồm các tế bào vi khuẩn, dịch nổi, và các thành phần của môi trường), và môi trường nuôi cấy chứa vi khuẩn axit lactic (thu được bằng cách loại bỏ các thành phần dạng rắn khỏi các tế bào vi khuẩn được nuôi cấy). Hơn nữa, các tế bào vi khuẩn axit lactic đã qua xử lý phía trên bao gồm, ví dụ, các tế bào nền, các tế bào bị nghiền nát, các tế bào hóa lỏng (chiết xuất v.v.), dạng cô đặc, các tế bào dạng nhão, các tế bào được làm khô (các tế bào được phun khô, các tế bào được đông khô, các tế bào được làm khô chân không, các tế bào được làm khô trong thùng làm khô hình trụ, v.v.), các tế bào được pha loãng, và các dạng tế bào tương tự.

Chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L theo sáng chế có thể được sử dụng ở dạng đơn lẻ hoặc kết hợp hai hoặc nhiều kiểu của các dạng miễn là chủng có khả năng tăng sinh trong đường ruột. Mặc dù tổng hàm lượng trong chế phẩm theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể, tổng hàm lượng này thường từ 0,00001 đến 99,9% (g/g), và đặc biệt tốt hơn là từ khoảng 0,0001% đến khoảng 50% (g/g). Nói cách khác, số lượng các tế bào vi khuẩn tốt hơn là nằm trong khoảng từ  $1,0 \times 10^2$  đến  $1,0 \times 10^{12}$  tế bào/g, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ  $1,0 \times 10^6$  đến  $1,0 \times 10^{12}$  tế bào/g. “Tế bào/g” phía trên có thể được biểu hiện trong vi khuẩn còn sống như “CFU/g.” Vi khuẩn axit lactic theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với chủng có tác dụng khác với tác dụng gây tăng sinh trong đường ruột.

Chế phẩm theo sáng chế có thể chứa chất mang, các chất cơ bản, và/hoặc các chất phụ gia và các chất tương tự thường được sử dụng trong lĩnh vực thực phẩm, lĩnh vực dược phẩm và các lĩnh vực tương tự nằm trong khoảng mà sẽ không ảnh hưởng tới các tác dụng theo sáng chế, miễn là chế phẩm chứa chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L có khả năng tăng sinh trong đường ruột. Cụ thể là, chế phẩm chứa các thành phần khác nhau được biết đến là chất tạo ngọt, chất axit hóa, và vitamin, và các chất khác như tá dược, chất liên kết, chất phân tán, chất bôi trơn, chất điều hòa, chất hỗ trợ hòa tan, huyền phù, chất phủ, và chất ổn định.

Hơn nữa, chế phẩm theo sáng chế có thể tùy ý chứa một hoặc nhiều loại thành phần đã biết như các thành phần mỹ phẩm, và các chất ngăn ngừa hoặc cải thiện các bệnh liên quan đến lối sống, nhằm bổ sung các tác dụng hữu ích.

Dạng chế phẩm theo sáng chế không bị hạn chế cụ thể miễn là chế phẩm ở dạng trong đó chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L có khả năng tăng sinh trong đường ruột có thể được tiêu hóa trong cơ thể, và dạng chế phẩm được minh họa là đồ uống hoặc thực phẩm chứa chủng này, với mục đích thể hiện tác dụng của chủng, dạng viên nén nuốt được như dạng bổ sung, và các dạng tương tự, với mục đích nuốt chế phẩm một cách thuận lợi. Các ví dụ cụ thể bao gồm, ví dụ, các dạng khác nhau như viên nén, viên nang, thức uống chăm sóc sức khỏe, gia vị, thực phẩm đã chế biến, đồ tráng miệng, và bánh kẹo. Trong các dạng này, các dạng được tạo ra ở dạng thực phẩm lên men được ưu tiên. Thực phẩm lên men là tên thường gọi của thực phẩm được lên men với vi khuẩn axit lactic thực vật, và đồ uống cũng được bao gồm ở đây. Mặc dù các loại thực phẩm lên men không bị giới hạn cụ thể, thực phẩm lên men bao gồm, ví dụ, sữa lên men, đồ uống chứa vi khuẩn axit lactic, sữa đậu nành lên men, các loại thu được bằng cách lên men quả và rau, như rau muối chua, kimchi, rượu vang, sốt đậu nành (miso), và nước tương; sữa chua nước ép trái cây lên men trong đó nước ép trái cây, nước ép rau và các loại tương tự được lên men.

Ở đây, đồ uống hoặc thực phẩm trong đó vi khuẩn axit lactic theo sáng chế được trộn lẫn, nói cách khác, đồ uống hoặc thực phẩm chứa chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L có khả năng tăng sinh trong đường ruột, khi được tiêu hóa, thể hiện tác dụng ngăn cản sự hấp thu chất béo tốt, như được so sánh với trường hợp trong đó vi khuẩn axit lactic không có khả năng tăng sinh trong đường ruột được tiêu hóa, và tác dụng của nó tiếp tục; do đó, nó được cho rằng thực phẩm với sự bảo đảm sức khỏe hoặc thực phẩm có lợi cho sức khỏe có tác dụng ngăn cản sự hấp thu chất béo liên tục, có thể tạo ra dấu hiệu mà đồ uống

hoặc thực phẩm này là hữu dụng trong việc ngăn cản sự tăng trọng lượng hoặc giảm trọng lượng, hoặc hữu dụng trong ngăn ngừa bệnh béo phì hoặc cải thiện bệnh béo phì, hoặc còn hữu dụng trong ăn kiêng. Thực phẩm với sự đảm bảo sức khỏe như được dùng ở đây nghĩa là thực phẩm với sự đảm bảo sức khỏe được chỉ định bởi Bộ y tế, lao động và phúc lợi xã hội, bao gồm thực phẩm với sự đảm bảo chức năng dinh dưỡng và thực phẩm để sử dụng cho sức khỏe đặc hiệu, và thực phẩm với sự đảm bảo sức khỏe hoặc thực phẩm có lợi cho sức khỏe có thể là loại thực phẩm và đồ uống bất kỳ.

Chế phẩm theo sáng chế có thể được chuẩn bị theo phương pháp đã biết trong lĩnh vực thực phẩm, lĩnh vực dược phẩm và các lĩnh vực tương tự, phụ thuộc vào các dạng của nó.

Chế phẩm theo sáng chế được thiết lập đúng cách và không ở mức độ xác định phụ thuộc vào dạng của nó, các mục đích là tiêu hóa, và tuổi, trọng lượng cơ thể và các triệu chứng của đối tượng có ý định sử dụng chế phẩm, và, ví dụ, chế phẩm được ưu tiên sử dụng qua đường miệng với lượng, về mặt lượng của vi khuẩn axit lactic, là  $1,0 \times 10^6$  tế bào hoặc nhiều hơn/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày, với liều đơn đến một vài liều được phân chia. Hơn nữa, lượng của các tế bào vi khuẩn được tiêu hóa trong một ngày là, trên cơ sở lượng khô, tốt hơn là từ 0,00001 đến 1 g, tốt hơn nữa là từ 0,0001 đến 0,2 g, và thậm chí tốt hơn nữa là từ 0,0003 đến 0,002 g, mỗi khoảng 50 kg trọng lượng cơ thể của người trưởng thành. Ví dụ, vì vi khuẩn axit lactic theo sáng chế có đặc tính là ngăn cản sự hấp thu chất béo, và có khả năng tăng sinh trong đường ruột, chế phẩm theo sáng chế có thể được tiêu hóa cùng với khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo, hoặc trước khẩu phần

ăn chứa nhiều chất béo, với lượng sao cho lượng của vi khuẩn axit lactic sẽ nằm trong khoảng phía trên. Chế phẩm có thể được tiêu hóa một lần mỗi ngày vào bữa sáng, với mục đích thể hiện tác dụng ngăn cản sự hấp thu chất béo liên tục. “Được tiêu hóa” như được dùng ở đây nghĩa là “tiêu hóa” và/hoặc “sử dụng.”

Đối tượng có ý định sử dụng chế phẩm như được dùng ở đây tốt hơn là người cần tác dụng ngăn cản sự hấp thu chất béo, và có thể là động vật nuôi cảnh và các đối tượng tương tự.

Do đó, bằng cách tiêu hóa chế phẩm theo sáng chế, sự hấp thu chất béo từ đường ruột có thể được ngăn cản. Do đó, sáng chế còn đề xuất chất ngăn cản sự hấp thu chất béo chứa *Lactobacillus pentosus* có khả năng tăng sinh trong đường ruột, để ngăn cản sự hấp thụ chất béo có nguồn gốc từ khẩu phần ăn từ đường ruột.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn cản sự hấp thu chất béo, khác biệt ở chỗ phương pháp bao gồm việc sử dụng chế phẩm chứa chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L phía trên với lượng hiệu quả trong cá thể cần ngăn cản sự hấp thu chất béo.

Cá thể cần ngăn cản sự hấp thu chất béo không bị hạn chế cụ thể miễn là cá thể là cá thể mắc bệnh mà được tìm thấy là có một số tác dụng trị liệu bằng cách ngăn cản sự hấp thu chất béo. Cá thể được minh họa bởi, ví dụ, cá thể mang bệnh béo phì, hoặc bệnh như đái tháo đường, chứng tăng lipit, chứng tăng huyết áp, hoặc xơ cứng động mạch gây ra bởi bệnh béo phì. Hơn nữa, với mục đích ngăn ngừa hoặc cải thiện bệnh trên đây, cá thể này còn bao gồm cá thể quan tâm tới trọng lượng cơ thể, cá thể quan tâm tới mức độ đường trong máu, cá thể quan tâm tới huyết áp, và tương tự.

Lượng hiệu quả chỉ lượng mà ngăn cản sự hấp thu chất béo khi chủng TUA4337L được sử dụng với cá thể trên, khi so sánh với cá thể không sử dụng chế phẩm. Lượng hiệu quả cụ thể được thiết lập đúng cách và không nhất định phải phụ thuộc vào dạng liều lượng, phương pháp sử dụng, mục đích sử dụng, và tuổi, trọng lượng cơ thể, triệu chứng và các thông số tương tự của cá thể. Ở đây, việc sử dụng được dự định bao hàm tất cả các phương án sử dụng, tiêu hóa, thuốc nội, và đồ uống.

### **Ví dụ thực hiện sáng chế**

Sáng chế sẽ được mô tả cụ thể dưới đây bởi các ví dụ, mà không dự định hạn chế phạm vi của sáng chế với các ví dụ này.

Ví dụ 1: Sàng lọc sử dụng khả năng tăng sinh trong dịch ruột nhân tạo làm chỉ số

Giữa các vi khuẩn axit lactic sở hữu bởi các tác giả sáng chế, khả năng tăng sinh trong dịch ruột nhân tạo được đánh giá cho khoảng 480 chủng chủ yếu là vi khuẩn axit lactic thực vật (bao gồm các chủng JCM).

Cụ thể là, đầu tiên, mỗi vi khuẩn axit lactic được cấy từ vật liệu gốc trong glyxerol vào môi trường MRS (Difco Laboratories) (10mL) với lượng là 1% thể tích/thể tích (v/v%), và các tế bào vi khuẩn được nuôi cấy ở 35°C trong 16 đến 17 giờ. Sau đó, OD<sub>660</sub> của mỗi môi trường nuôi cấy (độ hấp thụ ở 660 nm) được xác định với máy đo quang phổ UV-1600 (Shimadzu Corporation), và 100 µL dung dịch được chuẩn bị với môi trường MRS do đó OD<sub>660</sub> của mỗi môi trường nuôi cấy sẽ là 10 được cấy vào dịch ruột nhân tạo (10mL) của chế phẩm được thể hiện sau đây. Sau đó, các tế bào vi khuẩn được nuôi cấy ở 37°C trong 6 giờ cùng với lắc nhẹ, và OD<sub>660</sub> sau đó được xác định để thu được số lần tăng sinh (OD<sub>660</sub> sau 6

giờ/OD<sub>660</sub> ở thời điểm cấy). Các kết quả sàng lọc đại diện được thể hiện trong bảng 3 và FIG. 1.

< Dịch ruột nhân tạo (độ pH 6,45) >

Môi trường MRS	9 mL
Dung dịch 10 w/v% axit mật (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)	1 mL
1 w/v% Pancreatin (từ lợn: SIGMA)	100 µL

Ở đây, sử dụng dung dịch axit mật và dung dịch pancreatin, mà được khử trùng bằng cách xử lý dung dịch với màng lọc 0,22 µm (màng PVDF, được sản xuất bởi Millipore).

Bảng 3

Chi, Loài	Chủng	OD <sub>660</sub> sau 6 giờ	Số lần tăng sinh (lần) (OD <sub>660</sub> sau 6 giờ/OD <sub>660</sub> ở thời điểm cấy)
<i>Lactobacillus pentosus</i>	TUA4337L (Sáng chế)	2,93	29,3
	JCM1558	0,73	7,3
	1	1,55	15,5
	2	1,79	17,9
	3	1,54	15,4
	4	1,90	19,0
	5	1,68	16,8
	6	1,93	19,3
	7	1,60	16,0



	8	1,60	16,0
	9	1,78	17,8
	10	0,78	7,8
	11	1,68	16,8
	12	1,42	14,2
	13	1,37	13,7
	14	0,96	9,6
	15	1,46	14,6
	JCM1149	1,53	15,3
<i>Lactobacillus plantarum</i>	16	1,63	16,3
	17	1,70	17,0
	18	1,42	14,2
	19	1,59	15,9
	JCM1059	0,68	6,8
<i>Lactobacillus brevis</i>	20	1,18	11,8
	21	0,63	6,3
	22	0,58	5,8
	23	0,61	6,1
	24	0,65	6,5
	JCM1134	0,14	1,4
<i>Lactobacillus casei</i>	25	0,94	9,4
	26	0,10	1,0
	27	0,12	1,2

	28	0,12	1,2
	29	0,11	1,1
	30	0,13	1,3
<i>Lactobacillus fermentum</i>	JCM1173	0,27	2,7
	31	0,45	4,5
	32	0,45	4,5
	33	0,69	6,9
	34	0,93	9,3
<i>Lactobacillus acidophilus</i> JCM1132		0,19	1,9
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> JCM1012		0,06	0,6
<i>Lactobacillus gasseri</i> JCM1131		0,08	0,8
<i>Lactobacillus helveticus</i> JCM1120		0,07	0,7
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> JCM1136		0,17	1,7

Kết quả là, có thể thấy rằng số lần tăng sinh có nhiều khả năng là cao ở *Lactobacillus pentosus* và *Lactobacillus plantarum*, trong số chúng, chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L có số lần tăng sinh đặc biệt cao và khả năng tăng sinh trong đường ruột rất tốt.

Ví dụ 2: Đánh giá khả năng tăng sinh in vivo trong đường ruột

Các con chuột với khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo được sử dụng *tự do* chủng TUA4337L được chuẩn bị như sau, và số lượng vi khuẩn bị thải bỏ được

xác định. Cụ thể là, chuột C57BL/6J (10 tuần tuổi, đực) được sử dụng dạng liều đơn với khoảng  $1,0 \times 10^9$  tế bào vi khuẩn axit lactic (tương ứng với 250  $\mu$ L tế bào vi khuẩn huyền phù) lúc 10 giờ sáng (n=5), dùng mẫu sử dụng được chuẩn bị như sau.

Chuẩn bị mẫu sử dụng (Mẫu chứa vi khuẩn còn sống)

[1] gieo cấy chủng TUA4337L từ vật liệu gốc trong glyxerol vào môi trường MRS (30 mL) với lượng là 1 v/v%;

[2] nuôi cấy các tế bào vi khuẩn (35°C, 20 giờ);

[3] ly tâm môi trường nuôi cấy (8000 rpm, 5 phút) để loại bỏ dịch nổi, và tạo huyền phù trong 30 mL PBS(-);

[4] ly tâm huyền phù của bước [3] (8000 rpm, 5 phút) để loại bỏ dịch nổi, và tạo huyền phù lại trong 5 mL PBS(-);

[5] đếm số lượng vi khuẩn với kính hiển vi; và

[6] pha chế dung dịch chứa 20000000000 tế bào vào ống ly tâm 15 mL, ly tâm (8000 rpm, 5 phút) dung dịch để loại bỏ dịch nổi, và sau đó tạo huyền phù trong 5 mL thức ăn dạng lỏng (khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo 60 kcal % Chất béo: Nghiên cứu khẩu phần ăn) để tạo ra huyền phù tế bào vi khuẩn (thức ăn dạng lỏng được chuẩn bị với PBS(-)).

Sau đó, tất cả các mẫu phân của các phần 2 ngày được thu thập trong 4 lần riêng rẽ (buổi chiều của ngày bắt đầu thử nghiệm, buổi sáng và buổi chiều của ngày tiếp theo, và buổi sáng của ngày sau ngày tiếp theo đó), số lượng vi khuẩn cho tất cả các mẫu phân được định lượng bởi phương pháp sau, và tỷ lệ tăng ở

chúng TUA4337L trong ruột ở mỗi chuột (số lượng vi khuẩn cho tất cả các mẫu phân/số lượng vi khuẩn được sử dụng) được tính toán. Các kết quả được thể hiện trong bảng 4.

Phương pháp xác định số lượng vi khuẩn bằng PCR thời gian thực

[1] bổ sung 1 mL PBS(-) vào 100 mg mẫu phân (cơ sở trọng lượng ướt), và sau đó làm vỡ mẫu phân với dao trộn;

[2] thu thập phần 100 mg của mẫu phân vào ống Eppendorf (đã được đăng ký nhãn hiệu), ly tâm (15000 rpm, 5 phút) mẫu phân để loại bỏ dịch nổi, và tạo huyền phù phần kết tủa trong 1 mL PBS(-) (quy trình ly tâm để tạo huyền phù được lặp lại hai lần);

[3] loại bỏ dịch nổi từ huyền phù của bước [2], và sau đó tách chiết ADN từ huyền phù với bộ kit (Bộ kit mini mẫu phân ADN QIAamp: QIAGEN)

(bước phá vỡ tế bào được tiến hành bằng cách lặp lại quy trình 3 lần bổ sung 300 mg hạt thủy tinh (150 đến 212  $\mu\text{m}$ : SIGMA), 300  $\mu\text{L}$  rượu phenol/cloroform/isoamyl (25:24:1), và 900  $\mu\text{L}$  dung dịch đệm ASL (các chất phản ứng trong bộ kit) vào mẫu phân, ly tâm hỗn hợp với máy gây sốc đa hạt (MULTI-BEADS SHOCKER) MB-200 (YASUI KIKAI) ở 3000 rpm trong 1 phút, và để trong đá lạnh trong 1 phút); và

[4] định lượng vi khuẩn axit lactic trong đường ruột bằng PCR thời gian thực với các điều kiện được thể hiện sau đây:

((Các điều kiện cho PCR thời gian thực))

(1) Mười microlit SYBR Premix Ex Taq II (Takara Bio), 0,8  $\mu\text{L}$  mỗi đoạn

môi (10  $\mu$ M), 0,4  $\mu$ L chất nhuộm đối chứng ROX II, 6  $\mu$ L nước vô trùng, và 2  $\mu$ L dung dịch ADN được trộn, để tạo ra hỗn hợp phản ứng dạng lỏng cho PCR. Các đoạn môi sau phát hiện đặc hiệu 16S rADN của *Lactobacillus pentosus* và *Lactobacillus plantarum* được sử dụng làm đoạn môi (trình tự 16S rADN của *Lactobacillus pentosus* và *Lactobacillus plantarum* là giống nhau 100%).

đoạn môi 1: 5'-GCAAGTCGAACGAACTCTGGTATT-3' (SEQ ID NO: 2)

đoạn môi 2: 5'-CGGACCATGCGGTCCAA-3' (SEQ ID NO: 3)

(2) PCR được tiến hành với hệ thống PCR thời gian thực 7500 (Applied Biosystems), bao gồm, sau khi xử lý ở 95°C trong 30 giây, tiến hành tổng cộng 60 chu kỳ phản ứng, trong đó một chu kỳ bao gồm 95°C trong 5 giây và 60°C trong 34 giây. Số lượng bản sao với mỗi gam thành phần của đường ruột thu được từ cường độ huỳnh quang thu được, tổng lượng của thành phần của đường ruột, và số lần pha loãng.

(3) Một cách riêng rẽ, số lượng bản sao 16S rADN với mỗi tế bào thu được, và số lượng bản sao này được chuyển đổi thành số lượng vi khuẩn. Trong bản mô tả này, được xác nhận ở chuột không được sử dụng vi khuẩn axit lactic là cả hai *Lactobacillus pentosus* và *Lactobacillus plantarum* không được phát hiện theo PCR thời gian thực trên đây.

Bảng 4

Số thứ tự cá thể	Số lượng vi khuẩn TUA4337L trong phân (tế bào)	Tỷ lệ tăng (Số lượng vi khuẩn mỗi khối phân/ Số lượng vi khuẩn được sử dụng)
1	$3,6 \times 10^9$	3,6

2	$1,9 \times 10^9$	1,9
3	$2,6 \times 10^9$	2,6
4	$1,6 \times 10^9$	1,6
5	$1,4 \times 10^9$	1,4
Trung bình	$2,2 \times 10^9$	2,2

### Ví dụ 3: Tác dụng của việc ngăn cản sự tăng cân

Chuột C57BL/6J (8 tuần tuổi, đực) được chia thành 4 nhóm là nhóm có khẩu phần ăn bình thường, nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo, nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo + vi khuẩn còn sống, và nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo + vi khuẩn đã chết (mỗi nhóm có  $n = 10$ ), và mỗi nhóm được cho ăn liên tục với khẩu phần ăn được thể hiện theo bảng 5 sau đây trong 32 ngày, và trọng lượng cơ thể được xác định hàng ngày và giá trị trung bình được tính toán. Sự biến đổi ở giá trị trung bình được thể hiện trong FIG. 2. Ở đây, sự so sánh giữa các nhóm được tiến hành sử dụng thử nghiệm  $t$  với mức độ có ý nghĩa là 0,05.

Cụ thể là, mỗi nhóm của bảng 5 được cho ăn *tự do* thức ăn dạng rắn làm khẩu phần ăn. Nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo + vi khuẩn còn sống được dùng mẫu sử dụng được chuẩn bị theo cách giống như ở ví dụ 2. Nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo + vi khuẩn đã chết được dùng mẫu sử dụng được chuẩn bị như sau sao cho vi khuẩn axit lactic sẽ có lượng là khoảng 1000000000 tế bào mỗi ngày. Mặt khác, nhóm có khẩu phần ăn bình thường được sử dụng 250  $\mu$ L PBS(-) không chứa vi khuẩn axit lactic, và nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo được sử dụng 250  $\mu$ L thức ăn dạng lỏng không chứa vi khuẩn axit lactic.

Bảng 5

Nhóm	Khẩu phần ăn	
	Khẩu phần ăn dạng rắn	Vi khuẩn axit lactic Được sử dụng
Nhóm có khẩu phần ăn bình thường	10 kcal % Chất béo	-
Nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo	60 kcal % Chất béo	-
Nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo + Vi khuẩn còn sống	60 kcal % Chất béo	TUA4337L Vi khuẩn còn sống
Nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo + Vi khuẩn đã chết	60 kcal % Chất béo	TUA4337L Vi khuẩn đã chết

\* 10 kcal % Chất béo (Nghiên cứu khẩu phần ăn)

60 kcal % Chất béo (Nghiên cứu khẩu phần ăn)

Chuẩn bị mẫu sử dụng (mẫu chứa vi khuẩn đã chết)

[1] gieo cấy chủng TUA4337L với lượng là 1 v/v % từ vật liệu gốc trong glyxerol vào môi trường MRS (30 mL);

[2] nuôi cấy các tế bào vi khuẩn (35°C trong 20 giờ);

[3] ly tâm môi trường nuôi cấy (8000 rpm, 5 phút) để loại bỏ dịch nổi, và sau đó tạo huyền phù trong 30 mL PBS(-);

[4] ly tâm huyền phù của bước [3] (8000 rpm, 5 phút) để loại bỏ dịch nổi, và sau đó tạo huyền phù lại trong 5 mL PBS(-);

[5] đếm số lượng vi khuẩn bằng kính hiển vi;

[6] pha chế dung dịch chứa 20000000000 tế bào vào ống ly tâm 15 mL, ly tâm dung dịch (8000 rpm, 5 phút) để loại bỏ dịch nổi, sau đó bổ sung 5 mL dịch dạ dày nhân tạo (125 mM NaCl, 7 mM KCl, độ pH 1,0) vào đó, khuấy hỗn hợp, và để yên trong 60 phút; và

[7] ly tâm dung dịch của bước [6] (8000 rpm, 5 phút) để loại bỏ dịch nổi, và sau đó tạo huyền phù trong 5 mL thức ăn dạng lỏng (60 kcal % Chất béo) để tạo ra huyền phù tế bào vi khuẩn.

Kết quả là, nhóm được sử dụng vi khuẩn còn sống TUA4337L thể hiện hiệu quả đáng kể của việc ngăn cản sự tăng cân, khi so sánh với đối chứng (nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo). Tương tự, việc sử dụng vi khuẩn còn sống hiệu quả hơn sử dụng vi khuẩn đã chết. Chúng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L được cho là tăng sinh trong đường ruột, do đó ảnh hưởng hiệu quả tới thể chủ.

Ví dụ 4: Hiệu quả của việc ngăn cản sự hấp thu chất béo

Các thành phần nhóm của nhóm có khẩu phần ăn bình thường, nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo, và nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo + vi khuẩn còn sống trong ví dụ 3 (mỗi nhóm có n = 12) được tiếp tục cho mỗi nhóm hàm lượng thức ăn giống với ở ví dụ 3 trong 2 tuần. Sau đó, các nhóm này được cho nhịn ăn qua đêm, và được sử dụng dầu ô liu (nacalai tesque) (5 mL/kg), và còn được chia cắt sau 3 giờ để thu thập huyết thanh từ tĩnh mạch chủ. Triglycerit (TG) trong huyết thanh được xác định bằng thử nghiệm E triglycerit Wako (Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.). Các kết quả được thể hiện trên FIG. 3. Ở đây, sự so sánh giữa các nhóm được tiến hành bằng cách đánh giá sự khác



biệt có ý nghĩa bởi thử nghiệm t ở mức độ có ý nghĩa là 0,05.

Kết quả là, nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo được phát hiện là thể hiện rõ ràng khả năng tăng mức độ TG trong máu khi so sánh với nhóm có khẩu phần ăn bình thường. Do đó, nếu khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo tiếp tục được tiêu hóa, thì cơ thể được cho rằng sẽ hấp thu chất béo dễ dàng hơn. Hơn nữa, nhóm được sử dụng vi khuẩn còn sống TUA4337L được phát hiện là ngăn cản sự tăng TG trong máu, khi so sánh với đối chứng (nhóm có khẩu phần ăn chứa nhiều chất béo). Do đó, một trong số các cơ chế hiệu quả ngăn cản sự tăng trọng lượng được cho là việc ngăn cản sự hấp thu chất béo, là hiệu quả thậm chí sau 1 ngày từ lúc sử dụng vi khuẩn còn sống TUA4337L, vì vậy nó được cho là thể hiện tác dụng liên tục.

Các công thức cụ thể của chế phẩm chứa chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L theo sáng chế được minh họa sau đây.

Ví dụ sản xuất 1: Viên nén

Dược phẩm chứa chủng TUA4337L (viên nén) được tạo ra theo phương pháp được thể hiện sau đây.

Lượng 66,7 g sản phẩm khô của chủng TUA4337L được trộn cùng với 232,0 g lactoza và 1,3 g magie stearat, và hỗn hợp được tạo viên nén bằng máy dập viên một chày, để tạo ra viên nén có đường kính là 10 mm và trọng lượng là 300 mg.

Ví dụ sản xuất 2: Sữa chua

Hỗn hợp thu được bằng cách trộn sữa, sữa bột tách béo, và nước được

chuẩn bị, và hỗn hợp này được khử trùng bằng nhiệt, làm nguội xuống 40°C, và được ủ với chủng TUA4337L làm nguồn khởi đầu, và được để ủ trong buồng lên men để được lên men. Ở đây, nhiệt độ lên men trong khi để ủ có thể được chọn một cách thích hợp. Hơn nữa, để kiểm soát hàm lượng oxy mà duy trì hòa tan ở thời điểm bắt đầu lên men thấp, hỗn hợp lên men có thể được xử lý theo cách khác với khí trơ như nitơ. Do đó, sữa lên men TUA4337L thu được được bổ sung vào sữa có sẵn trên thị trường và được ủ trong 3 ngày để tạo ra sữa chua.

Ví dụ sản xuất 3: Đồ uống chứa vi khuẩn axit lactic

Vật liệu thô được thể hiện ở bảng 6 được trộn sử dụng chủng TUA4337L để tạo ra đồ uống chứa vi khuẩn axit lactic.

Bảng 6

Chế phẩm	Các phần theo trọng lượng
Sữa lên men TUA4337L chứa 21% hàm lượng sữa dạng rắn	14,76
Đường fructoza-glucoza dạng lỏng	13,31
Pectin	0,5
Axit xitric	0,08
Hương thơm	0,15
Nước	71,2
Lượng toàn bộ	100

Ví dụ sản xuất 4: Đồ uống lên men nước ép hoa quả và đồ uống lên men nước ép rau

TUA4337L được cấy với lượng là 2% trọng lượng vào nước ép đào, và

được nuôi cấy ở 30°C trong 38 giờ, để sản xuất nước ép đào lên men. Hơn nữa, nước ép cà rốt được lên men với cùng phương pháp tạo ra nước ép lên men cà rốt.

Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

Vì chế phẩm theo sáng chế chứa vi khuẩn axit lactic có khả năng tăng sinh trong đường ruột, khi được tiêu hóa trong cơ thể, vi khuẩn axit lactic sống sót tới đường ruột và tăng sinh, theo đó sự hấp thu chất béo có thể bị ngăn cản, và sự tăng trọng lượng có thể bị ngăn cản, sao cho chế phẩm có thể được dùng thích hợp cho mục đích ăn kiêng hiệu quả.

Trình tự

SEQ ID NO: 1 của danh mục trình tự là trình tự nucleotit của *recA* của *Lactobacillus pentosus* TUA4337L.

SEQ ID NO: 2 của danh mục trình tự là trình tự nucleotit của đoạn motif đặc hiệu của *Lactobacillus pentosus/plantarum*.

SEQ ID NO: 3 của danh mục trình tự là trình tự nucleotit của đoạn motif đặc hiệu của *Lactobacillus pentosus/plantarum*.

**YÊU CẦU BẢO HỘ**

## 1. Sữa chua chứa:

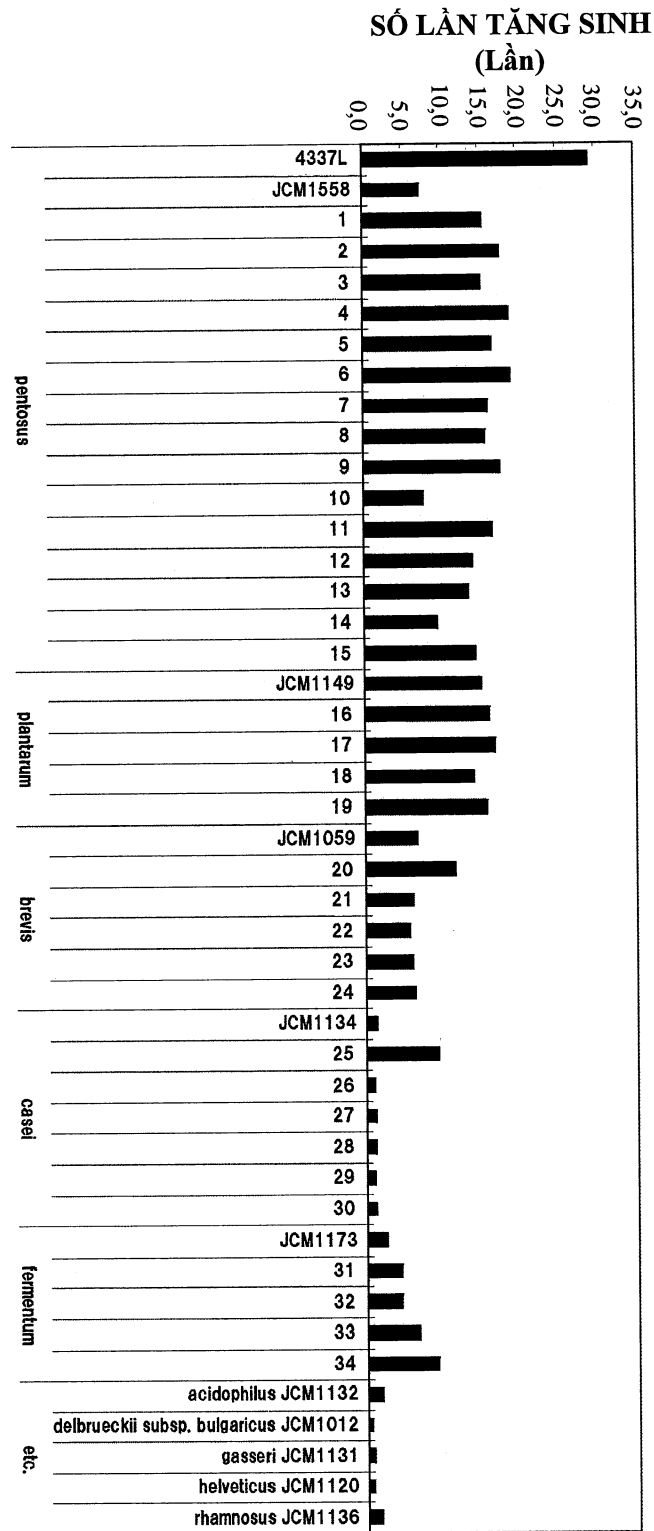
sữa lên men TUA4337L thu được bằng cách lên men sữa với chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L (số nộp lưu: NITE BP-1479), và chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L.

## 2. Đồ uống chứa:

sữa lên men TUA4337L thu được bằng cách lên men sữa với chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L (số nộp lưu: NITE BP-1479), chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L, và ít nhất một trong số đường dạng lỏng và nước.

## 3. Nước ép lên men chứa:

chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L (số nộp lưu: NITE BP-1479), và nước ép hoa quả hoặc nước ép rau, trong đó hỗn hợp của chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L và nước ép hoa quả hoặc nước ép rau được lên men.



**FIG 1**

FIG. 2

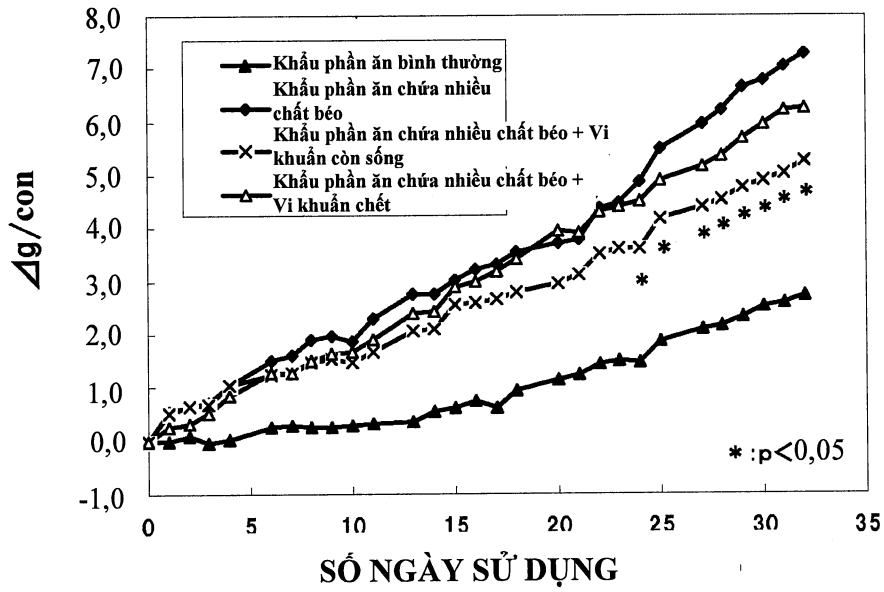
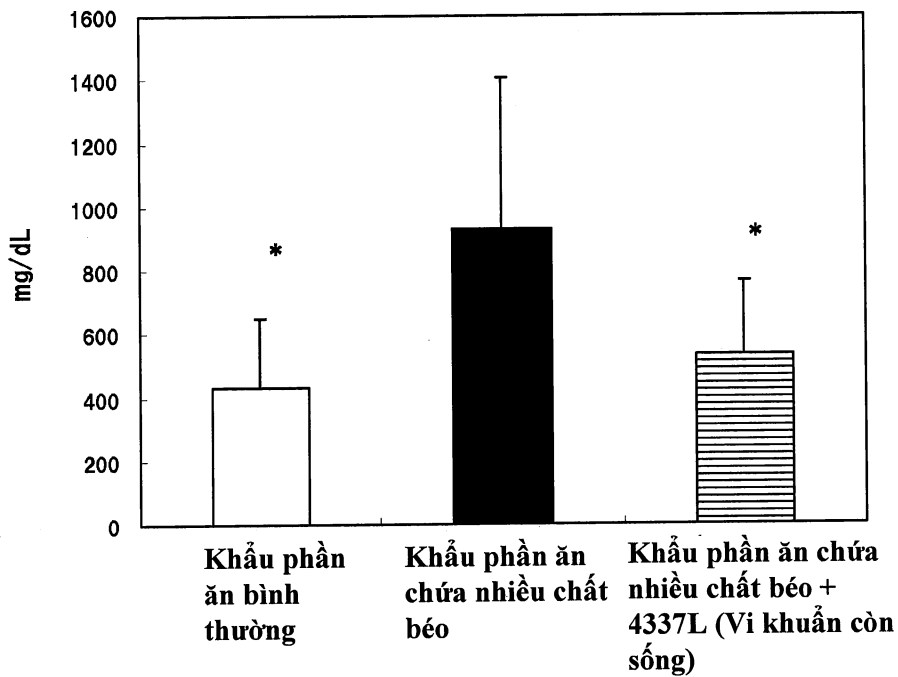


FIG. 3



## DANH MỤC TRÌNH TỰ

- <110> SUNTORY HOLDINGS LIMITED
- <120> Chế phẩm chứa chủng vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* TUA4337L
- <130> 14-013-PCTJP
- <150> JP 2013-86576
- <151> 2013-04-17
- <160> 3
- <170> PatentIn version Ver. 3.3
- <210> 1
- <211> 535
- <212> ADN
- <213> *Lactobacillus pentosus* 4337L
- <220>
- <223> gen mã hóa recA của *Lactobacillus pentosus* 4337L
- <400> 1
- |            |            |            |             |            |            |     |
|------------|------------|------------|-------------|------------|------------|-----|
| gcgattatgc | ggatgggtga | cgctgccag  | acgaccattt  | caacaatttc | cagcgggtca | 60  |
| ctagccttag | atgacgcatt | aggcgttgg  | ggttaccac   | gtggccgaat | cgttgaaatt | 120 |
| tatggccctg | aaagttccgg | taaaacgacc | ggtgcactac  | acgcggtcgc | tgaagttcaa | 180 |
| aagcaaggcg | ggacggccgc | ctatatcgat | gctgaaaacg  | ccttgatcc  | ggtttacgcg | 240 |
| gaacatttag | gtgtcaacat | tgatgattg  | ttactttcac  | aaccagatac | tggtgaacaa | 300 |
| ggtcttgaaa | tcgcggatgc | tttagtttc  | agtggcgcg   | ttgatattt  | agttgtcgat | 360 |
| tcagttgcg  | cgttagtacc | acgggcccga | attgaagggtg | aatgggtga  | cgcccacggt | 420 |
| ggnntacaag | cccggttaat | gncacaagcg | ttgcggaagt  | tatccgggac | tttgaacaag | 480 |
| acaaagacca | tcgcactatt | tattaaccaa | attcgtgaaa  | aagttggcgt | gatgt      | 535 |
- <210> 2
- <211> 24
- <212> ADN
- <213> Nhân tạo
- <220>
- <223> đoạn môi cho *Lactobacillus pentosus*
- <400> 2
- |            |            |      |    |
|------------|------------|------|----|
| gcaagtcgaa | cgaactctgg | tatt | 24 |
|------------|------------|------|----|
- <210> 3
- <211> 17
- <212> ADN
- <213> Nhân tạo
- <220>
- <223> đoạn môi cho *Lactobacillus pentosus*
- <400> 3
- |            |         |    |
|------------|---------|----|
| cggaccatgc | ggtccaa | 17 |
|------------|---------|----|