

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material

3.1.1 Bakterienstämme

Die zur Erprobung der eingesetzten Gensonden herangezogenen Laktobazillienstämme sind in Tab. 11 bis 16, nach Spezies gruppiert, aufgeführt. Die Deklaration der Spezies erfolgte gemäß der Identifizierung zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Instituts-Stammsammlung, wobei spätere Zuordnungen aufgrund neuerer taxonomischer Einstufungen erfolgten. Neben Isolaten der institutseigenen Stammsammlung, die als Lyophilisate vorlagen, kamen Bakterienstämme aus den Kultursammlungen der ATCC (**A**merican **T**ype **C**ulture **C**ollection, Rockville, MD, USA), der CCUG (**C**ulture **C**ollection, **U**niversity of **G**öteborg, Schweden), der DSMZ (**D**eutsche **S**ammlung von **M**ikroorganismen und **Z**ellkulturen, Braunschweig, Bundesrepublik Deutschland) und des LMG (**L**aboratorium voor **M**icrobiologie, **G**ent, Belgien) zum Einsatz.

Die Stämme der institutseigenen Sammlung waren Isolate aus fermentierten Milchprodukten, aus pharmazeutischen Präparaten, sowie aus Darm- und Faecesuntersuchungen vom Menschen, z.T. auch aus klinischem Material isolierte Laktobazillen, die überwiegend aus den Untersuchungen von REUTER (1960-1997) stammten.

Tab.11: In die Untersuchungen einbezogene *L. acidophilus*-Stämme (Deklaration der Spezies zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Kultursammlung des Instituts)

Deklarierte Spezies	Stammbezeichnung	Biotyp (REUTER, 1964)	Stammherkunft	Stammursprung	Aufnahme in Institutssammlung	andere Stammbezeichnungen
<i>L. acidophilus</i>	ATCC 4356 ^T (HANSEN und MOCQUOT, 1970)	II	Institutssammlung	Pharynx, Mensch (Kulp, 1962) ^a	1966	DSM 20079 ^T , NCFB 1748, NCIB 8690
<i>L. acidophilus</i>	ATCC 314	IV	Subkomitee Laktobazillen	menschliches Isolat (JOHNSON et al., 1980)	1968	-
<i>L. acidophilus</i>	ATCC 332	II	Subkomitee Laktobazillen	unbekannt, (Rettger) ^a	11/62	VPI 0325
<i>L. acidophilus</i>	ATCC 4796	I	Institutssammlung	unbekannt	11/62	-
<i>L. acidophilus</i>	F 224	I	Institutssammlung (REUTER, 1964)	Faeces (Mensch)	08/61	G 6 ^b
<i>L. acidophilus</i>	F 294	II	Institutssammlung (REUTER, 1964)	Faeces (Mensch)	08/60	A 7 ^b
<i>L. acidophilus</i>	P 6	III	Produktmuster	Wiesby-Kultur	06/91	-
<i>L. acidophilus</i>	Wiesby	II	Produktmuster	Wiesby-Starterkultur	11/62	-
<i>L. acidophilus</i>	F 268 b	I	Institutssammlung (REUTER, 1960)	Faeces (Mensch)	08/60	-
<i>L. acidophilus</i>	H 28 c	I	Institutssammlung (REUTER, 1962)	Faeces (Kind)	05/63	-
<i>L. acidophilus</i>	P 10	III	Pharmaz. Produkt	Aplin & Barrett (UK)	1991	„Vagiflor“ (P 642)
<i>L. acidophilus</i>	P 7	III	Pharmaz. Produkt	Aplin & Barrett (UK)	1991	„Vitacidophilus“
<i>L. acidophilus</i>	P 9	III	Pharmaz. Produkt	Aplin & Barrett (UK)	1988	„Paidoflor“ (P 607)

Fortsetzung Tab. 11:

<i>L. acidophilus</i>	SA	II	Produktmuster	Starter-Kultur	03/89		-
<i>L. acidophilus</i>	978/1	III	Produktmuster	Starterkultur NCFM-469 D, Labor Klupsch	1988	A	4 ^b
<i>L. acidophilus</i>	Zott 992/e	I	probiot. Joghurt	Starterkultur	1994		-
<i>L. acidophilus</i>	BA nature SANOFI	II	probiot. Joghurt	Starterkultur	10/88		-
<i>L. acidophilus</i>	XXIX J	III	Institutssammlung (REUTER, 1961)	Jejunum (Mensch)	1961		A 9 ^b
<i>L. acidophilus</i>	CCUG 30451	III	CCUG	Humanblut (an Pyelonephritis erkrankt)	1993	L	16 ^c
<i>L. acidophilus</i>	CCUG 29549 B	IV	CCUG	Humanblut	1993		L 27 ^c
<i>L. acidophilus</i>	He	I	Produktmuster	Kultur Symbiopharm	1988		-
<i>L. acidophilus</i>	F 169 a	I	Institutssammlung (REUTER, 1960)	Faeces (Mensch)	08/60		-
<i>L. acidophilus</i>	M (1)	III	Institutssammlung (REUTER, 1961)	Milchprodukt	12/61		-
<i>L. acidophilus</i>	F 177 a I	I	Institutssammlung (REUTER, 1960)	Faeces	08/60		-
<i>L. acidophilus</i>	F 177 a	II	Institutssammlung (REUTER, 1961)	Faeces	02/61		-
<i>L. acidophilus</i>	N	II	(REUTER, 1961)	Milchprodukt	12/61		-

Fortsetzung Tab. 11:

<i>L. acidophilus</i>	Acid 74	III	pharmaz. Produkt	Wiesby-Kultur	1994	-
<i>L. acidophilus</i>	F 164	I	(REUTER, 1960)	Faeces, Mensch	1960	ATCC 19992, DSM 20077, G 1 ^b
<i>L. acidophilus</i>	H 18 b	III	(REUTER, 1963)	Darmisolat, Kind	1963	P 912
<i>L. acidophilus</i>	Omniflora	II/III	Institutssammlung (REUTER, 1961)	Humantherapeutikum, Med. Fabrik Pflüger	1961	Omniflora, A 2 ^b
<i>L. acidophilus</i>	CNCM I-1225 (LC 1)	III	probiot. Joghurt	Produktionsstamm, Fa. Nestlé	1995	„L. acidophilus 1“
<i>L. acidophilus</i>	B 39/4 d	III	Institutssammlung	Sauermilchprodukt	07/88	A 5 ^a

ATCC: American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA; CCUG: Culture Collection of the the Department of Clinical Bacteriology, University of Göteborg, Schweden; DSM: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig, Bundesrepublik Deutschland; Institutssammlung: Kultursammlung im Institut für Fleischhygiene und -technologie / FU Berlin; NCFB: National Collection of Food Bacteria, Shinfield, UK; NCIB: National Collection of Industrial Bacteria, Reading, UK; ^a: Erstbeschreibung in J. Gen. Microbiol, 23, 481 (1955); ^b: Stammbezeichnung nach KLEIN et al. (1998); ^c: institutseigene Bezeichnung; ^T: Typstamm; VPI: Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA, USA

Tab. 12: In den Untersuchungen mitgeführte *L. crispatus*-, *L. amylovorus*- und *L. gallinarum*-Stämme

Deklarierte Spezies	Stammbezeichnung	Biotyp (REUTER, 1964)	Stammherkunft	Stammursprung	Aufnahme in Institutssammlung	andere Stammbezeichnungen
<i>L. crispatus</i>	DSM 20584 ^T	I	DSM	Auge, Mensch (Prévot, 1957) (BRYGOO und ALADAME, 1953; CATO et al., 1983)	06/92	ATCC 33820 ^T ; C 1 ^a
<i>L. amylovorus</i>	DSM 20531 ^T	I	DSM	Gastrointestinaltrakt, Rind, (NAKAMURA, 1981)	1993	ATCC 33620 ^T
<i>L. gallinarum</i>	LMG 9435 ^T	IV/V ^b	LMG	Kropf, Huhn (JOHNSON et al., 1980)	1993	ATCC 33199 ^T , NCFB 2235, VPI 1294

ATCC: American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA; DSM: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig, Bundesrepublik Deutschland; Institutssammlung: Kultursammlung im Institut für Fleischhygiene und -technologie / FU Berlin; LMG: Laboratorium voor Mikrobiologie, Gent, Belgien; NCFB: National Collection of Food Bacteria, Shinfield, UK; NCIB: National Collection of Industrial Bacteria, Reading, UK; ^a: Stammbezeichnung nach KLEIN et al. (1998); ^b: Biotyp nach MITSUOKA (1969); ^T: Typstamm; VPI: Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA, USA

Tab. 13: In den Untersuchungen mitgeführte *L. gasseri*-Stämme

Deklarierte Spezies	Stammbezeichnung	Biotyp (REUTER, 1964)	Stammherkunft	Stammursprung	Aufnahme in Institutssammlung	andere Stammbezeichnungen
<i>L. gasseri</i>	DSM 20243 ^T	I	DSM	Vagina, Mensch, (LAUER und KANDLER, 1980)	06/92	ATCC 33323 ^T , NCFB 2233, NCIB 11718
<i>L. gasseri</i>	P 914	I	pharmaz. Produkt	Zyma	05/94	-
<i>L. gasseri</i>	P 140	I	Klinikum Steglitz	Blutkultur	11/93	G 5 ^a
<i>L. gasseri</i>	Lactinex	I	pharmaz. Produkt	Becton Dickinson	07/95	„ <i>L. acidophilus</i> “
<i>L. gasseri</i>	Ard 1084	I	Laborkultur	Vaginalisolat	12/94	B 203 ^b
<i>L. gasseri</i>	Ard 1101	I	Laborkultur	vermutlich F 164 ^c „ <i>L. gasseri</i> “	12/94	B 201 ^b
<i>L. gasseri</i>	Ard 1136	I	Laborkultur	Dünndarm, Mensch	12/94	B 202 ^b
<i>L. gasseri</i>	CCUG 24836	I	CCUG	Urin, Mensch	1993	L 25
<i>L. gasseri</i>	CCUG 27600	I	CCUG	Urin, Mensch	1993	L 23
<i>L. gasseri</i>	CCUG 27603	V ¹	CCUG	Urin, Mensch	1993	L 28
<i>L. gasseri</i>	CCUG 27604	I	CCUG	Urin, Mensch	1993	L 29
<i>L. gasseri</i>	CCUG 29126 A	I	CCUG	Urin, Mensch	1993	L 31
<i>L. gasseri</i>	CCUG 29473	I	CCUG	Urin, Mensch	1993	L 17
<i>L. gasseri</i>	CCUG 29549 A	I	CCUG	Blut, Mensch	1993	L 26

ATCC: American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA; CCUG: Culture Collection, University of Göteborg, Schweden; DSM: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig, Bundesrepublik Deutschland; L: institutseigene Bezeichnung; ^a: Bezeichnung KLEIN (1998); ^b: Bezeichnung nach PACK (1997); ^c: persönliche Mitteilung Reuter (2000); ^T: Typstamm; ¹: Biotyp nach MITSUOKA (1969)

Tab. 14: In den Untersuchungen mitgeführte *L. johnsonii*-Stämme

Deklarierte Spezies	Stammbezeichnung	Biotyp (REUTER, 1964)	Stammherkunft	Stammursprung	Aufnahme in Institutssammlung	andere Stammbezeichnungen
<i>L. johnsonii</i>	LMG 9436 ^T	Iva*	LMG	Blut, Mensch	1992	ATCC 33200 ^T , NCFB 2241, VPI 7960
<i>L. johnsonii</i>	DSM 20553	III	DSM	Sauermilch	01/98	-
<i>L. johnsonii</i>	Ard 1139	III	Laborkultur	Joghurtprodukt	12/94	B 301 ^a
<i>L. johnsonii</i>	Ard 1169	III	Laborkultur	Faeces, Mensch	07/95	B 302 ^a

ATCC: American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA; CNCM: Collection Nationale de Cultures de Microorganismes, Inst. Pasteur, Paris, Frankreich; DSM: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig, Bundesrepublik Deutschland; LMG: Laboratorium voor Mikrobiologie, Gent, Belgien; VPI: Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA, USA; ^a: Bezeichnung nach PACK (1997); ^T: Typstamm; *: Biotyp nach MITSUOKA (1969)

Tab. 15: In den Untersuchungen mitgeführte Stämme der „*L. casei*-Gruppe“

Deklarierte Spezies	Stammbezeichnung	entnommen aus (Material)	Stammherkunft	Stammursprung	Aufnahme in Institutssammlung	andere Stammbezeichnungen
<i>L. zeae</i>	DSM 20178 ^T	Lyo	DSM	Mais (Dicks et al., 1996)	1997	ATCC 15820 ^T
<i>L. casei</i>	ATCC 393 ^T	Lyo	ATCC	Käse	1968	DSM 20011 ^T
<i>L. casei</i>	„Shirota“	Lyo	Produktionsstamm Yakult	Faeces, Mensch	1967	-
<i>L. casei</i>	„Yakult“	Lyo	probiot. Joghurt	Yakult	1996	<i>L. casei</i> (Shirota)
<i>L. casei</i>	Actimel 563	Lyo	probiot. Joghurt	Yakult-Kultur	1995	-
<i>L. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i>	DSM 5622 ^T	Lyo	DSM	unbekannt (COLLINS et al., 1989)	07/93	ATCC 25302, NCDO 151
<i>L. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i>	DSM 20020	Lyo	DSM	Speichel, Mensch (MILLS und LESSEL, 1973)	1993	Fi 1/67 e/a, früher <i>L. casei</i> ssp. <i>alactosus</i> , ATCC 27216
<i>L. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i>	LMG 12586	Lyo	LMG	Emmentaler Käse	1999	ATCC 334
<i>L. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i>	F 10 a	Lyo	(REUTER, 1962)	Faeces, Mensch	1962	R 27 ^a
<i>L. rhamnosus</i>	DSM 20021 ^T	Lyo	DSM	unbekannt	12/91	ATCC 7469 ^T , NCFB 243
<i>L. rhamnosus</i>	DSM 7133	Glycerolkultur	Schaumann	Bonvital F 500, Probiotikum, Schwein	1995	-
<i>L. rhamnosus</i>	GG	Lyo	probiot. Joghurt	Valio	1988	R 25 ^a
<i>L. rhamnosus</i>	P 210	Lyo	probiot. Joghurt	„Zott Kefir“	12/92	R 21 ^a
<i>L. rhamnosus</i>	P 211	Lyo	probiot. Joghurt	„Symbifilact“	1992	R 22 ^a
<i>L. rhamnosus</i>	P 216	Lyo	probiot. Joghurt	„Symbiolact“	1992	R 23 ^a

Fortsetzung Tab. 16:

<i>L. rhamnosus</i>	P 237	Lyo	probiot. Joghurt	„Gefilus“	12/92	R 24 ^a
<i>L. rhamnosus</i>	P 972	Lyo	pharmazeutisches Präparat	„Synthapharm“	12/92	R 26 ^a
<i>L. rhamnosus</i>	CCUG 18011	Lyo	CCUG	Urethra, Mensch	1993	L 43
<i>L. rhamnosus</i>	CCUG 22413	Lyo	CCUG	Blut, Mensch	1993	L 42
<i>L. rhamnosus</i>	CCUG 27333	Lyo	CCUG	Synovia, Mensch	1993	L 33
<i>L. rhamnosus</i>	CCUG 27405	Lyo	CCUG	Pleura, Mensch	1993	L 20
<i>L. rhamnosus</i>	CCUG 27772	Lyo	CCUG	Blut / Abort, Mensch	1993	L 18
<i>L. rhamnosus</i>	CCUG 28228	Lyo	CCUG	Autopsie, Mensch	1993	L 19
<i>L. rhamnosus</i>	CCUG 28262	Lyo	CCUG	Sputum, Mensch	1993	L 35
<i>L. rhamnosus</i>	CCUG 28641	Lyo	CCUG	Herzklappe, Mensch	1993	L 34
<i>L. rhamnosus</i>	CCUG 29185	Lyo	CCUG	Blut, Mensch	1993	L 37
<i>L. rhamnosus</i>	CCUG 29281	Lyo	CCUG	Cervix, Mensch	1993	L 38
<i>L. rhamnosus</i>	CCUG 29713	Lyo	CCUG	Bronchialsekret, Mensch	1993	L 39
<i>L. rhamnosus</i>	CCUG 30069	Lyo	CCUG	Blut, Mensch	1993	L 40
<i>L. rhamnosus</i>	CCUG 30616	Lyo	CCUG	Uterus, Mensch	1993	L 41
<i>L. rhamnosus</i>	H 213	Lyo	Klinikum Steglitz, Berlin	Drainageflüssigkeit, Mensch	1992	-
<i>L. rhamnosus</i>	P 898	Lyo	Klinikum Steglitz, Berlin	Leberabszeß, Mensch	1992	R 3 ^a

ATCC: American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA; CCUG: Culture Collection, University of Göteborg, Schweden; DSM: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig, Bundesrepublik Deutschland; L: institutseigene Bezeichnung; LMG: Laboratorium voor Mikrobiologie, Gent, Belgien; Lyo: Lyophilisat NCDO (NCFB): Nat. 'l. Collection of Dairy Organisms (Nat. 'l. Collection of Food Bacteria), Schottland, Großbritannien; ^a: Stammbezeichnung nach KLEIN (1998); [†]: Typstamm

Tab. 17: Weitere zur Validierung der eingesetzten Gensonden mitgeführte Laktobazillen-Spezies und Stämme des Genus *Weissella*

Deklarierte Spezies	Stammbezeichnung	entnommen aus (Material)	Stammherkunft	Stammursprung	Aufnahme in Institutssammlung	andere Stammbezeichnungen
<i>L. brevis</i>	DSM 20054 ^T	Lyo	DSM	Faeces (ORLA-JENSEN, 1919)	1988	ATCC 14869, NCFB 1749
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	DSM 20081 ^T	Lyo	DSM	bulgarischer Joghurt (WEISS et al, 1983)	1988	ATCC 11842, NCFB 1489
<i>L. leichmannii</i>	ATCC 4797	Lyo	Subkomitee Laktobazillen	Käse (WEISS et al, 1983)	06/63	Sharpe Le 2, DSM 20076, NCIB 7854 ehemals Typstamm von <i>L. leichmannii</i>
<i>L. plantarum</i>	DSM 20174 ^T	Glyzerol-Bouillon	DSM	Sauerkraut (ORLA-JENSEN, 1919)	07/98	ATCC 14917, NCFB 1752
<i>L. fermentum</i> II b (= <i>L. reuteri</i> *)	F 275	Lyo	LERCHE und REUTER (1962)	Intestinum, Mensch (KANDLER et al. 1980)	1962	DSM 20016 ^T
<i>L. oris</i>	DSM 4864 ^T	Lyo	DSM	Speichel, Mensch (FARROW und COLLINS, 1979)	1997	ATCC 49062, NCFB 2160, NCIB 8831
<i>L. vaginalis</i>	DSM 5837 ^T	Lyo	DSM	Vagina, Mensch (EMBLEY et al., 1989)	1997	ATCC 49540, NCTC 12197
<i>W. confusa</i>	DSM 20196 ^T	Lyo	Prof. Holzapfel, Karlsruhe	Zuckerrohr (COLLINS et al., 1993)	06/92	ATCC 10881, NCFB 1586, NCIB 9311 ehemals <i>L. confusus</i>
<i>W. hellenica</i>	DSM 7378 ^T	Lyo	DSM	Rohwurst (COLLINS et al., 1993)	07/98	NCFB 2973

ATCC: American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA; DSM: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen, Braunschweig, Bundesrepublik Deutschland; *L.*: *Lactobacillus*; Lyo: Lyophilisat; NCFB: National Collection of Food Bacteria, Shinfield, UK; NCIB: National Collection of Industrial Bacteria, Reading, UK; NCTC: National Collection of Type Cultures, London, UK; ^T: Typstamm; *W.*: *Weissella*; *: Spezies-Bezeichnung nach neuerer Taxonomie

3.1.2 Nährmedien zur Stammhaltung und Kultivierung

Die in gefriergetrockneter Form vorliegenden Laktobazillenstämme wurden mit 1,5 ml NaCl-Pepton-Lösung (8,5 g NaCl, 1 g Caseinpepton · l⁻¹) resuspendiert und auf MRS-Agar (Fa. Biotest, 953127005) ausgestrichen. Die Anzucht erfolgte entsprechend den optimalen Wachstumsverhältnissen der verschiedenen Laktobazillen in mikroaerobem Milieu. Hierzu wurden die Stämme in Anaerobiertöpfen (Fa. BBL) unter Verwendung von Anaerocult C (Fa. Merck, 116275) für 48±1h bei 37±1°C im Brutschrank inkubiert. Zur längerfristigen Konservierung bei minus 20±1°C wurden die Laktobazillenstämme in MRS-Bouillon (Fa. Merck, 110661) kultiviert und jeweils 0,8 ml Bakteriensuspension in ein 0,2 ml Glycerol enthaltendes 2 ml Reaktionsgefäß (Fa. Sorenson, 15610) überführt und nach Verschließen eingefroren.

3.1.3 Nährmedien und Substrate für die physiologische und biochemische Prüfung der Bakterienstämme

Zur Kultivierung und zur Speziesidentifizierung von Laktobazillen mittels physiologischer und biochemischer Tests wurden folgende Nährmedien und Substrate verwendet:

MRS-Nährlösung bzw. Agar (Fa. Biotest, 953057005)

Katalase - Reagenz (3%ige H₂O₂-Lösung, jeweils frisch angesetzt nach 5-8 Tagen)

Bunte Reihe für Laktobazillen (LERCHE und REUTER, 1960; 1962):

Lackmusmilch 10%ig (Fa. Oxoid, CM 45)

"Briggs-Milch": 2%ige MRS-Nährlösung in 10%iger Magermilch

MRS-Nährlösung mit Paraffinabschluß (Test auf Gasbildung aus Glukose)

spezielles Mischungsverhältnis: (2/3 Paraffin schüttfähig, Fa. Merck, 7337)

(1/3 Paraffin dickflüssig, Fa. Merck, 7160)

Basalmedium (nach LERCHE und REUTER, 1960; 1962):

Fleischextrakt (Fa. Biotest, 953108005)	10 g
Hefeextrakt (Fa. Biotest, 953111005)	10 g
Trypton (Fa. Oxoid, L 42)	10 g
Tween 80 (Fa. Merck, 822187)	1 ml
Natriumacetat (Fa. Merck, 6267)	10 g
Natriumcitrat (Fa. Merck, 6448)	6 g
Magnesiumsulfat (1%ig) (Fa. Merck, 5886)	40 ml

Mangansulfat (1%ig) (Fa. Merck, 6963)	10 ml
Agar-Agar (Fa. Aldrich, 28289-8)	6 g
Bromkresolgrün (0,1%ig) (Fa. Merck, 8121)	40 ml
Bromkresolpurpur (0,1%ig) (Fa. Merck, 3035)	40 ml
Aqua demin.	ad 2 l

Reaktionskörper zu je 10%:

L(+)-Arabinose-Monohydrat (Fa. Merck, 1492)
D(+)-Glucose-Monohydrat ((Fa. Merck, 8342)
Lactose-Monohydrat (Fa. Merck, 7657)
Saccharose-Monohydrat (Fa. Merck, 7651)
Maltose-Monohydrat (Fa. Merck, 5910)
Trehalose-Monohydrat (Fa. Merck, 8353)
Melibiose-Monohydrat (Fa. Merck, 12240)
Cellobiose-Monohydrat (Fa. Merck, 2352)
Raffinose-Pentahydrat (Melitose) (Fa. Merck, 7549)
D(-)-Mannit (Fa. Merck, 5982)
Salicin [2-o-(β -D-Glucopyranosido)-benzylalkohol] (Fa. Merck, 7665)
L(+)-Rhamnose-Monohydrat (Fa. Merck, 4736)

3.1.4 Reagenzien und Lösungen

Reagenzien und Lösungen für die **DNA-Isolierung**

1. Extraktionspuffer (pH 8,0)	
Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (Fa. Roth, 54293)	50 mM
Natriumchlorid (Fa. Roth, 39571)	50 mM
EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure, Na-Salz; Fa. Sigma, ED2SS)	10 mM
Salzsäure rauchend, 37%, (Fa. Merck, 317) zur pH-Einstellung	
2. Lysozym (Fa. Serva, 28262), gelöst in Extraktionspuffer	50 mg/ml
3. Mutanolysin (Fa. Fluka, 70017), gelöst in A. bidest.	3000 U/ml
4. Na-dodecylsulfat (SDS), (Fa. Boehringer-Mannheim, 1028693)	25 %
5. Proteinase-K-Lösung (Boehringer-Mannheim, 1092766)	20 mg/ml
6. Chloroform zur Analyse (Fa. Merck, 2445)	
7. Isoamylalkohol zur Analyse (Fa. Merck, 979)	

8. Isopropanol / 2-Propanol zur Analyse (Fa. Merck, 109634)

9. Ethanol absolut zur Analyse (Fa. Roth, 90652)

Reagenzien und Lösungen für die **Messung der DNA-Konzentration**

1. TNE Puffer 10x

- Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (Fa. Roth, 54293)	12,1 g
- Natriumchlorid (Fa. Roth, 39571)	116,8 g
- EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure, Na-Salz; Fa. Sigma, ED2SS)	3,7 g
- A. bidest.	ad 1 l

2. Kälberthymus-DNA-Standard (Fa. Clontech Laboratories, 6290-Y)

3. Farbstoff Hoechst 33258 (Fa. Polyscience, 9460)

Reagenzien und Lösungen für die **(Dot Blot)-Hybridisierung**

1. Stammlösung: 20x SSC (standard saline citrate) =

- NaCl (Fa. Roth, 39571)	3,0 M
- tri-Na-Citrat Dihydrat (Fa. Roth, 35801)	0,3 M

2. 2x SSC

- NaCl (Fa. Roth, 39571)	0,3 M
- tri-Na-Citrat Dihydrat (Fa. Roth, 35801)	0,03 M

Reagenzien und Lösungen für die **Prä-/ Hybridisierung**

1. Hybridisierungslösung:

Stammlösung: 20x SSC =

- NaCl (Fa. Roth, 39571)	3,0 M
- tri-Na-Citrat Dihydrat (Fa. Roth, 35801)	0,3 M

und Zugabe von:

- 10% SDS (Fa. Boehringer-Mannheim, 1028693)
- 10% N-Lauroyl-Sarcosin (Fa. Sigma, L-9150)

Gebrauchslösung: 5x SSC mit Zugabe von:

- 0,02% SDS (Fa. Boehringer-Mannheim, 1028693)
- 0,1% N-Lauroyl-Sarcosin (Fa. Sigma, L-9150)
- 1% Blockierungsreagens (Fa. Boehringer-Mannheim, 1096176)

2. Blockier-Lösung:

- 100 mM Tris-HCl (pH 7,5)
- 150 mM NaCl
- 1% Blockierungsreagens (Fa. Boehringer-Mannheim, 1096176)

3. Inkubation mit Konjugat:

- Anti-Digoxigenin-AP, Fab-Fragmente
(Fa. Boehringer-Mannheim, 1093274)

4. (Puffer-) Lösungen:

- Waschpuffer 1: 2x SSC
0,1% SDS
- Puffer 1: 100 mM Tris-HCl (pH 7,5)
150 mM NaCl
- Puffer 2: 100 mM Tris-HCl (pH 7,5)
150 mM NaCl
1% Blockier-Reagenz (Fa. Boehringer-Mannheim, 1096176)
- Puffer 3: 100 mM Tris-HCl (pH 9,5)
100 mM NaCl
50 mM MgCl₂
(nicht sterilisiert)
- Puffer 4: 10 mM Tris-HCl (pH 8,0)
1 mM EDTA (Ethyldiamintetraessigsäure; Fa. Sigma,
ED2SS)

5. Färbelösung:

- 90 µl NBT (Nitroblautetrazoliumchlorid)
(Fa. Boehringer-Mannheim 1383213)
 - und
 - 70 µl X-Phosphat (5-Brom-4-chlor-3-indolyl-phosphat, 4-Toluidin-Salz)
(Fa. Boehringer-Mannheim, 1383221)
- gelöst in 20 ml Puffer 3 (100 mM Tris-HCl (pH 9,5), 100 mM NaCl, 50 mM MgCl₂)

Für die Färbung eines Nitrozellulosefilters (100 x 100 mm) (Schleicher & Schuell, 439386) wurden 20 ml Färbelösung benötigt.

Reagenzien und Lösungen für die **PCR**

1. Polymerase (AmpliTaq Gold) mit 10x PCR-Puffer (100 mM Tris-HCl (pH 8,3), 500 mM KCl, 15 mM MgCl₂, 0.01% Gelatine) (Fa. Perkin Elmer, N808-0161)
2. dATP, (Roche, 1 934 511)
dCTP, (Roche, 1 934 520)
dGTP, (Roche, 1 934 538)
dTTP, (Roche, 1 934 546)
3. Digoxigenin-11-dUTP (1 093 088, Roche)
4. Primer für die Amplifikation eines 16S rRNA-Abschnittes des *L. gasseri*-Stammes ATCC 19992 / DSM 20077 sowie zur Herstellung der *L. gasseri*-Sonde mittels PCR-Technik
Oligonukleotid-Primer (Lb-RNA-16F) 5`-GTGCCTAATACATGCAAGTC-3`
Oligonukleotid-Primer (Lb-RNA-124R) 5`-TTACCCACGTGTTACTCACC-3`
Oligonukleotid-Primer (Lb-RNA-1257R) 5`-TGTAGCCCAGGTCATAAGGG-3`
(in Auftragsarbeit hergestellt von: MWG Biotech AG, Ebersberg)
5. Mineralöl (Fa. Sigma, M-5904)

Reagenzien und Lösungen für die **Gelelektrophorese**

1. Agarose (Fa. Serva, 11404) 1,4% ig in 1 x TBE
2. TBE-Laufpuffer aus
 - Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (Fa. Merck, 8382) 218,0g
 - Borsäure (Fa. Merck, 165) 111,2g
 - EDTA (Fa. Merck, 8418) 18,6g
 - Aqua bidest. ad 1 l
3. DNA-Molekulargewichtsmarker 100bp Molecular Ruler (Fa. BioRad, 1708202)
4. Ethidiumbromid in Aqua dest. (1 mg/l) (Fa. Sigma, E-8751)