

权 利 要 求 书

1、一种用于高产细菌素的植物乳杆菌 SWUN5815, 其特征在于, 该菌株已于 2016 年 08 月 02 日保藏于保藏于中国典型培养物保藏中心(CCTCC), 保藏号为 CCTCC NO:M2016419; 该菌株从牦牛粪便中提取出来;

5 所述植物乳杆菌的形态学特征具体为:

菌体特征: 呈革兰氏染色阳性, 细胞杆状, 菌体约 0.5-1.0 μ m 宽, 1.5-4 μ m 长, 成单、成对或者成链, 不形成芽孢, 两端圆形;

菌落特征: 在 MRS 培养基上形成明显的菌落, 直径在 0.5-2.0mm 之间, 圆形, 边缘整齐, 乳白色, 透明, 表面湿润光滑, 不产生色素;

10 所述植物乳杆菌体内耐受特征为:

植物乳杆菌的菌株耐酸性较强, 在 pH3.0 的人工胃液下 3h 后存活率为 93.36 \pm 4.06%; 在 1.0% 浓度胆盐下可以缓慢生长, 生长效率达到无胆盐培养的 15.26 \pm 1.19%。

15 2、权利要求 1 所述的植物乳杆菌 SWUN5815 在制备植物乳杆菌细菌素中的应用。

3、根据权利要求 2 所述的应用, 其特征在于, 包括以下步骤: 将权利要求 1 所述的植物乳杆菌 SWUN5815 接种于 MRS 培养基中培养, 得到植物乳杆菌菌发酵液。

20 4、根据权利要求 3 所述的应用, 其特征在于, 制备植物乳杆菌细菌素的方法具体为:

1) 把菌株 SWUN5815 保存液接种到 5mL 的 MRS 液体培养基中, 震荡混匀, 37 $^{\circ}$ C 恒温培养 24h, 以 2% 的接种量连续活化三代, 取第三代的发酵液以 4000 \times g 离心 10min, 取上清, 上清液经 0.22 μ m 微膜过滤, -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用, 制备得到粗植物乳杆菌 MRS 发酵上清液;

25 2) 收集后指数生长期的植物乳杆菌 MRS 发酵上清液 500mL, 4 $^{\circ}$ C, 12000 \times g 离心 20min 收集上清液, 以 0.22 μ m 的滤膜过滤上清液以除去残余的细胞碎片; 加入预冷的三氯乙酸/丙酮溶液至三氯乙酸的终浓度为 12.5%, -20 $^{\circ}$ C 静置 8h 使蛋白充分沉淀, 4 $^{\circ}$ C, 15000 \times g 离心 20min 收集蛋白沉淀, 向沉

淀中加入 80%的预冷丙酮反复洗涤 3-5 次以除去残留的三氯乙酸，室温放置 4-5min 使丙酮完全挥发，加入 100 μ L 超纯水溶解蛋白沉淀，制备得到纯化后的植物乳杆菌 MRS 发酵上清液，即为植物乳杆菌细菌素。

5、根据权利要求 3 所述的应用，其特征在于，MRS 培养基成分如下：

- 5 蛋白胨 10.0g、牛肉膏 10.0g、酵母粉 5g、葡萄糖 20.0g、吐温 801.1g、磷酸氢二钾 2.0g、乙酸钠 3.0g、柠檬酸二胺 2.0g、硫酸镁 0.6g、硫酸锰 0.25g 以及蒸馏水 1000mL。