

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；

~~2、根据权利要求 1 所述的用于高产细菌素的植物乳杆菌 SWUN5815，其特征在于，~~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。；

~~3、根据权利要求 1 所述的用于高产细菌素的植物乳杆菌 SWUN5815，其特征在于，~~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%。

42、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。

53、根据权利要求 42 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。

64、根据权利要求 53 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；

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℃ 静置 8h 使蛋白充分沉淀, 4℃, 15000 × 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 μL 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。

75、根据权利要求 **53** 所述的应用, 其特征在于, MRS 培养基成分如下: 蛋白胨 10.0g、牛肉膏 10.0g、酵母粉 5g、葡萄糖 20.0g、吐温 80 1.1g、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。