

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 41/00

A61K 35/72 A61P 29/00



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03113616.8

[43] 公开日 2004年8月11日

[11] 公开号 CN 1519030A

[22] 申请日 2003.1.21 [21] 申请号 03113616.8

[71] 申请人 黄金富

地址 518042 广东省深圳市福田区天安数码
城创新科技广场 A 座 304 室

[72] 发明人 黄金富

权利要求书 2 页 说明书 20 页 附图 2 页

[54] 发明名称 经等离子体环境改性的医疗风湿痛的生物制剂药及制法

[57] 摘要

本发明采用等离子体环境产生模拟生命电波，激活普通酵母隐性基因，使普通酵母变成特异性酵母。特异性酵母所表达的特性蛋白分别具有激活、调控、校正免疫能力低下 B、T、K 和 NK 细胞免疫基因功能，并使用这些特异性酵母制成生物制剂药用于调控机体免疫基因达到重建机体免疫功能作用，使患风湿痛的机体恢复健康。本生物制剂药可用于风湿痛防治，效果显著，无毒，无副作用。

1. 制造具有预防和治疗风湿痛的生物制剂的方法，其特征在于，用等离子体环境的特定频率的无线电波处理酵母细胞。
2. 如权利要求 1 所述的方法，其特征在于，处理酵母菌的等离子体环境可以受电场和磁场作用。
3. 如权利要求 1 所述的方法，其特征在于，酵母菌在等离子体环境中被处理的时间可为数小时，数十小时，以至数百小时。
4. 如权利要求 1 的方法，其中电波的频率为 7200—10700MHz。
5. 如权利要求 1 的方法，其中电波的强度为 115—445mv / cm。
6. 如权利要求 1 的方法，其中的酵母细胞选自：酿酒酵母、椭圆酿酒酵母、薛瓦酵母、德尔布酵母、蒙古德尔布酵母、少孢酵母、发酵性酵母、洛格酵母、蜂蜜酵母、小椭圆酵母、卵形酵母、罗斯酵母、鲁氏酵母、清酒酵母、树状假丝酵母、朗比克假丝酵母、克鲁斯酵母、解脂假丝酵母、中型平滑假丝酵母、近平滑假丝酵母、铁红酵母、皱褶假丝酵母、热带假丝酵母、产朊假丝酵母、阿舒假囊酵母、白地霉、异常汉逊酵母、阿拉伯糖醇汉逊酵母、杰丁汉逊酵母、土星汉逊酵母、施氏汉逊酵母、亚膜汉逊酵母、柠檬形克勒克酵母、油脂酵母、粉状毕赤酵母、膜醭毕赤酵母、红冬孢酵母、红酵母、小红酵母、深红酵母、卡尔斯酵母、葡萄汁酵母、威尔酵母、路德类酵母、中国类酵母、八孢裂殖酵母、栗酒裂殖酵母、掷孢酵母、白球拟酵母、无名球拟酵母、球拟酵母、平常球拟酵母、贝雷丝孢酵母、头状丝孢

酵母、皮状丝孢酵母、威克酵母。

7. 如权利要求 6 的方法，其中的酵母细胞是酿酒酵母 IFFI 1021。
8. 用权利要求 1—7 中任一权项的方法制得的酵母细胞。
9. 一种用于预防和医治风湿痛的生物制剂药，其特征在于，含有权利要求 8 的酵母细胞作为活性成分。
10. 如权利要求 8 的酵母细胞用于预防和医治风湿痛的用途。

经等离子体环境改性的医疗风湿痛的生物制剂药及制法

本发明主要涉及利用等离子体环境技术制造药物的方法和相应的药物，特别是生物制剂药及其制造方法。该生物制剂药用于预防和医治风湿痛。

生物技术是当今世界科学技术研究的热门课题。但至今能够应用在人类疑难病症治疗上的生物药十分罕见。一个基因虽然了解到了它的序列，但基因所表达的机制，催化底物的机制，以及酶催化底物的活性依然是当今生物技术研究的难题，极大的限制着生物技术的发展。

如上所述，为什么生物技术研究处于这种不利局面呢？本发明认为关键是一个研究方法的问题。常规生物技术研究采用的是生物化学、生物分子学等方法，这些方法都是由常规的化学方法衍变过来的。化学方法基本上是研究非生命物质的化合、分解、氧化还原等变化。生物则是有生命的物质，这些生命物质每时每分每秒都在不停地变化，老一代死去新一代复生，交替变化。在组成机体的最小单位-----细胞中物质的代谢、物质的转换有序的进行着，从不会停止。当今生物技术研究把肉体这种有形的物质作为生命全部，实际上是十分不完全的。本发明的研究认为，一个有生命的生物最基本应由两大部分组成，一部分是看得见、摸得着的肉体，即有形物质；另一部分是常规理论认为看不见、摸不着的无形物质----“灵魂”。这里所指的“灵魂”

并不是那种封建迷信所说的“幽灵”，而是存在于每一个生物体上的“生命电波”。在一个活的生命体上，这种生命电波不停的发射，当这种无形的“生命电波”失去以后，生命也就停止了，肉体也就成为死的物质----尸首(肉体)。当今世界的所有研究都是只研究死的物质----肉体，而从没有人研究“生命电波”。从某种意义上说肉体是一种死的物质，“生命电波”才是活的物质，肉体只是“生命电波”的宿主，即发射源。只有当肉体 and “生命电波”有机地结合在一起才能称之为有生命的物质----生物。综上所述，在生命科学的研究上，“生命电波”的研究比肉体的研究更为重要!当然“生命电波”的研究一定要结合肉体才能是一个完整的生物研究。

近 200 年是化学技术高度发展的时代，特别是 20 世纪后 70 年以来化学、生物化学、生物工程等有了突飞猛进的发展，因而创造了数以万计的化学产品。从人类使用的工具、穿着的衣服、食用的食品、装饰用的化妆品以及建筑材料等都是化学产品；化学品使传统的农业变成了化学农业，无论是使用的肥料，还是防病、杀虫、除草都是化学物质；为了获得高产、刺激作物快速生长使用的也是化学物质。在医学上，特别是在西方国家化学药物占据 100% 的市场，就是在中国也占领了近 82% 的市场。大量的抗生素、激素、干扰素等各种各样的化学药物无处不在。今日的世界无论是在自己的家庭还是繁华的世界每一个角落到处是琳琅满目的化学晶。近年来许多科学家认为，化学工业为人类带来了高度的发展，但也同时给人类带来了健康的危

害。这是因为大量的化学品造成了环境的污染，无论是人类食用的食物，还是饮用的水，都不同程度地受到化学品的污染；大量的化学药物，特别是抗生素类、干扰素类、激素类药物危害更大；就连从来不使用抗生素，甚至从来不吃药的人也无法避免农产品、肉、蛋、奶以及它们的制品所携带的化学物质对身体的危害。人类摄取了大量的化学物质，造成了奇奇怪怪的疑难病症无法医治。这是因为各种各样的化学物质造成了人体免疫系统的损伤、降低甚至缺失。另外大量的各种各样的化学物质对环境的污染，诱发了各种各样的病原微生物。从近年来世界上各种各样的报道可知，当今病原微生物无论从品种上，还是从致病能力上都有了很大的提高。因此造成了人类的疾病越来越多，越来越奇怪，越来越难治疗。特别是糖尿病至今还没有一个有效的医治办法。纵观世界上的研究机构，大量的科学家从事医学的研究，各国政府投入了无数的资金支持医学的研究，将许多化学药物推向市场，然而不但传统的疾病没有得到有效地控制，反而新产生了各种各样的奇难杂症，不停的向医学界发出挑战！如艾滋病、疯牛病等相继产生，并使医学界束手无策！

综上所述，按照目前世界上的医学研究方向和方法发展下去，不但风湿痛得不到有效的预防与治疗，反而还会诱发更多、更新、更难治疗的疾病。如何找到一个有效的、安全的控制和治疗风湿痛等疾病的办法是当今世界急不可待的大事。

本发明的目的为解决上述问题而提供一种特定的用等离子体

环境改性处理酵母细胞以制造具有预防和治疗风湿痛的生物制剂药的方法。

本发明的另一个目的是提供用上述方法获得的生物制剂药。

本发明采用等离子体环境改性技术激活酵母“隐性功能基因”，使这些酵母变成具有激活人体免疫细胞功能的特异性酵母。再经过本发明等离子体环境改性条件下的驯化培养，然后制成预防和治疗风湿痛的生物制剂药。

本发明之所以能够成功地获得用于风湿痛防治的生物制剂药，在于本发明采用了与常规生物技术完全不同的方法。

通过大量的实验表明，本发明生物制剂药，具有以下特性：

1. 采用等离子体环境改性方法，与传统生命科学研究完全不同；
2. 本发明生物制剂药不是中药，也不是西药，更不是抗生素类、干扰素类、激素类等，而是一种安全无毒副作用的生物制剂药。

图 1 是基因结构的示意图。

图 2 是人工等离子体环境激活酵母“隐性功能基因”方法示意图。

图 3 是激活后特异性酵母扩大培养工艺的示意图。

图 4 是特异性酵母液浓缩工艺的示意图。

下面结合附图，对本发明的特征作进一步详细说明。

参阅图 1，图 1 说明本生物制剂药的机理。风湿痛是人类健康的大敌，大量的研究表明，无论是什么疾病都与机体的免疫力有关。当机体的免疫力较强时各种疾病都不会发生。现在，各种各样的化学

物质、各种各样的抗生素、激素等造成机体免疫力细胞的损伤，免疫细胞代谢紊乱，免疫基因不能正常的表达，致使免疫功能衰退。免疫力衰退的机体很容易受到各种各样病原菌的侵袭，也会受到各种各样有毒物质的危害，从而造成风湿痛的发生。机体免疫力的下降按照常规的检测方法是很难发现的。因为常规方法检测机体会发现机体内的B、T、K、NK等免疫细胞数量正常。本发明的研究认为，免疫细胞的数量正常与否只能是机体免疫功能指标之一，但并不表示免疫基因表达正常，更不能标志免疫酶的性质、活性也是正常的。这就是说免疫细胞的免疫功能不应只是B、T、K、NK细胞数量的多少，还要辨认这些免疫细胞中的免疫基因所表达免疫酶的性质是否正常，免疫酶的催化活性是否足够。本发明认为，免疫基因所表达的免疫酶不但数量要足，而且必须有足够的催化效力，也就是说，当机体B、T、K、NK细胞数量正常时，所表达的免疫酶数量并不一定足量，当免疫酶数量足够时，也并不一定有良好的催化活性。免疫基因和其他基因一样，按照其作用分为两大部分，图1示出，图的左侧部分为免疫基因的启动子部分，其中包括启动基因。启动基因担负着启动右侧功能结构基因表达免疫酶的数量、表达的时间等功能。图的右侧称为功能结构基因部分，其中主要是结构基因。结构基因决定了该基因所表达酶的结构，即酶性质，也就是说只要结构基因碱基序列和基因链的卷曲结构不变，其所表达酶结构及性质就不会发生变化，但其所表达的数量和时间、何时表达酶量少一些、何时表达酶量多一些、何时表

达酶到最高峰等，完全受启动基因的控制。当 B、T、K、NK 免疫细胞的免疫基因的启动子部分受到各种有害因子的影响，造成表达异常时，直接影响到功能结构基因所表达免疫酶数量、表达时间曲线。当免疫基因的功能结构基因部分受到外因子干扰，造成其碱基或卷曲形状发生变化时，会影响功能结构基因所表达免疫酶的性质或者是活性，使机体的免疫力遭到严重破坏，但常规的检测并不容易发现。另外当免疫基因所表达的免疫酶数量、性质不变时，免疫基因对有害因子影响，作出表达反应的时间是否相一致也是十分重要的，这就是所说的免疫基因应答能力。当免疫基因的应答能力下降，或应答时间提前或滞后时都会表现出免疫力的下降，造成机体患病。为什么机体的 B、T、K、NK 细胞的免疫基因会有上述问题呢？本发明的研究发现许多带有阴离子或阳离子的“自由基”、各种各样的病原微生物所产生的毒素类物质，以及多种神经障碍、各种辐射源等都可能造成 B、T、K、NK 免疫细胞基因变异或“僵化”，对这种僵化的基因，在本发明中称之为“隐性基因”，这种隐性基因不能及时、准确的表达，对外界病原微生物和多种致病因子不能及时的抵御，造成机体患病，包括患了风湿痛。

本发明多年的研究发现，各种免疫基因在各自的生命活动过程中，都会发射出一种特异性的“生命电波”，不同的免疫基因所发射的“生命电波”不同，免疫基因靠这些“生命电波”传输免疫信息对侵害机体的有害因子作出免疫反应。因此当免疫基因发生变化时，所

发射的“生命电波”就会发生变化，那怕是一种微小的变化都会造成“生命电波”的变化。本发明的关键在于发现了基因的“生命电波”会因有害因子造成改变，但也可以在带有有益电波物质的调控下恢复正常，被有害因子造成“僵化”的“隐性基因”，可使用有益因子激活。可用于本发明的等离子体环境的电波的频率范围是 1800MHz—56000MHz,优选 3500—36000MH~更优选 7000—11500MHz。电波的强度为 115—445mv / cm。

本发明根据以上原理采用模拟机体免疫基因“生命电波”的等离子体环境的人工电波，创造一种“有益因子”，并将这种有益因子物质制成生物制剂药，使用这种生物制剂药调控变异的免疫基因，从而达到预防和治疗风湿痛作用。通过调控免疫功能，使机体增强抵御疾病的能力，使患多种病患的机体快速恢复。

本发明通过大量的研究认为，要通过人工模拟“生命电波”获得一种能够调控免疫基因的活性物质，是一件十分困难的工作。本发明经过 20 多年的探索发现自然界无处不在的微生物中人类利用的仅是“九牛一毛”，这是因为人们对微生物基因功能了解得不多。时至今日，人类所了解全部基因组成和功能的微生物仅有 26 种，而且这 26 种微生物也仅是结构简单的种类，对于复杂的真核微生物人类还不了解。特别是人类经常使用的酵母微生物中，含有大量没被利用的基因，这些基因由于长期得不到应用已经变成了“僵化基因”。本发明称这些“僵化基因”为“隐性功能基因”。更为重要的是在这些“隐性功

能基因”中存在着本发明所需要的，能够用于调控人类机体免疫功能的有益蛋白类物质。本发明就是利用等离子体环境产生的人工模拟生命电波的方法激活酵母中能够表达调控机体免疫功能蛋白物质的“隐性功能基因”实现的。

本发明采用等离子体环境模拟生命电波方法激活酵母“隐性功能基因”，培育出了4种分别激活B、T、K、NK 4种免疫细胞的特异性酵母，制成了调控机体免疫功能从而预防和医治风湿痛的生物制剂药。本发明为了使这4种特异性的酵母在食用后顺利通过胃，并保证在胃中不会被大量的酸性物质杀死，本发明又将这4种特异性酵母做了耐 $\text{pH} \leq 2.5$ 的条件培养。培养后的酵母细胞将会顺利通过胃器官到达小肠。在小肠多种酶的作用下，特异性酵母细胞被裂解，释放出包装在细胞内的特异性免疫功能调节酶(蛋白)。这些特异性免疫功能调节酶“专一性”的激活、调控机体相对应免疫细胞中免疫基因的表达。本发明所涉及的4种机体免疫调节特异性酵母，由于它们都是人类长期食用或生产上使用的微生物，不会产生任何毒副作用。这些特异性酵母细胞内释放出的活性酶，具有瞬间激活、调节机体内免疫基因正确、高效表达的作用，然后将会随着机体内的代谢很快失掉活性转变成机体的营养物质被吸收，不会造成在机体中内残留。

本发明所涉及的调控机体免疫功能并预防和医治风湿痛的生物制剂作用机理简要说明如下：调控机体免疫功能生物制剂的核心成分是4种具有分别激活机体B、T、K、NK“隐性免疫基因”的蛋白，

这4种蛋白又分别包藏在4种特异性酵母中。这4种酵母就是本发明采用用等离子体环境产生人工模拟“生命电波”激活的微生物，在本发明中称这4种被模拟“生命电波”激活“隐性功能基因”的酵母为特异性酵母。这4种特异性酵母细胞中分别含有被激活免疫调节功能酶，这些免疫调节功能酶专一性地激活机体内免疫B细胞、免疫T细胞、免疫T细胞和免疫NK细胞免疫基因恢复、活化，使这些免疫基因正确高效表达。这些特异性的酵母是通过各自特异性的模拟“生命电波”条件培养出来的。本发明所使用的激活机体B细胞免疫功能特异性酵母，所使用的人工模拟电波频率和电波强度，是由免疫B细胞的免疫基因特异性“生命电波”决定的；激活机体T细胞免疫功能特异性酵母，所使用的人工模拟电波频率和电波强度，是由免疫T细胞的免疫基因特异性“生命电波”决定的；激活机体K细胞免疫功能特异性酵母，所使用的人工模拟电波频率和电波强度，是由免疫K细胞的免疫基因特异性“生命电波”决定的；激活机体NK细胞免疫功能特异性酵母，所使用的人工模拟电波频率和电波强度，是由免疫NK细胞的免疫基因特异性“生命电波”决定的。这4种不同功能的特异性酵母，经过隐性基因激活、模拟“生命电波”条件培养，使细胞内产生了具有激活、调控上述4种免疫基因的活性酶(蛋白)。使用这4种特异性酵母制剂时，特异性酵母进入机体的小肠内，在小肠多种酶的作用下细胞裂解，裂解后的细胞释放出免疫基因激活调控酶。这些免疫基因激活调控酶立即被小肠吸收进入血液，通过血液分

别运送到4种免疫细胞内，从而达到激活、调控4种免疫基因正确表达提高免疫力，从而预防并医治了风湿痛。

本发明免疫功能生物制剂药，是通过以下两个方面的步骤实现的。第一个步骤是采用等离子体环境产生特异性的模拟“生命电波”激活普通酵母，使这些酵母变成具有调节B、T、K、NK细胞免疫功能的特异性酵母，并将这些酵母作耐低pH条件培养；第二步是在采用等离子体环境产生特异模拟生命电波条件下，扩大培育这些特异性酵母，然后将这些特异性酵母制成调控免疫功能从而预防并医治风湿痛的生物药品。这两个方面的实施过程是通过以下的步骤实现的。

一. 激活酵母功能“隐性基因”

在以上的叙述中，说明了本发明采用等离子体环境产生模拟“生命电波”方法激活普通酵母，使酵母中隐性功能基因复活，分别表达出具有激活、调控B细胞免疫基因、T细胞免疫基因、K细胞免疫基因和NK细胞免疫基因功能的蛋白。众所周知，普通酵母是一类发酵淀粉、糖类、蛋白类等多种物质的发酵菌，多用于造酒、制作面包、制造各种食品、制造医药及其多种产品的菌种，虽然酵母菌的品种繁多，功能各异，但从没有人利用酵母所表达的特异性蛋白，分别激活、调节B、T、K、NK免疫基因功能，当然这些酵母细胞在没有使用本发明专利之方法进行隐性基因激活之前是不具备上述功能的。

(一)激活用于调控B细胞免疫功能基因酵母“隐性功能基因”的

方法步骤:

大量的基因技术研究证明, 一个完整 B 细胞免疫功能基因由两大部分组成(见图 1), 一部分为 B 细胞免疫功能基因的启动基因, 另一部分为 B 细胞免疫功能基因的结构基因。B 细胞免疫功能基因的结构基因决定了它所表达免疫酶的性质; B 细胞免疫功能基因的启动基因控制 B 细胞免疫功能基因的结构基因所表达免疫酶的数量、免疫活性和免疫应答能力, 即免疫酶的效价。因此, 要保持 B 细胞免疫功能基因所表达酶的性质不变, 必须设法保持 B 细胞免疫功能基因的结构基因 DNA 序列不变; 要达到 B 细胞免疫功能基因的结构基因高效表达, 并保持所表达免疫酶最佳免疫活性和及时的免疫应答能力, 必须设法使 B 细胞免疫功能基因的启动基因高效启动。本发明通过人工模拟“生命电波”方法, 激活酵母“隐性功能基因”, 获得具有表达调控 B 细胞免疫功能基因蛋白的特异性酵母。

参阅图 2, 本发明所涉及采用等离子体环境产生人工模拟“生命电波”激活酵母“隐性功能基因”的方法步骤如下:

1. 按照表 1 的成分配制培养基, 并灭菌处理。
2. 选择适当的酵母种类(可选择酵母见表 3), 按照活酵母细胞 / 培养基多于或等于 1 亿个 / 1000ml 的比例, 注入图 2 所示容器培养皿 (34) 内的培养基中。
3. 保持容器培养皿 (34) 温度在 $37 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 间, 先培养 24-56 小时。
4. 打开图 2 所示的等离子体发生器, 将高压放电针 (31) 输出

电波频率调节到 7200—10700MHz 范围内。

5. 将线圈包 (35) 输出电磁场强度调节到: 115—445mv / cm 范围内。

6. 将装有酵母培养液的培养皿 (34), 按照图 2 所示的模式安装等离子体发生器内。

7. 在上述条件下, 并保持 $37 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 的温度条件, 激活 42—72 小时。

8. 经以上条件激活后酵母细胞, 然后采用真空冷冻干燥的方法制成安瓿或制成粉剂保存。

T, K. NK 细胞免疫功能基因调控的方法和步骤, 除使用频率不同外, 其方法步骤相同。

参阅图 2, 人工等离子体装置 (3) 激活酵母的详细说明如下:
图 2 中示出酵母菌菌种 (1) 在一产生等离子体装置 (3) 所产生的等离子体环境中被处置改性并激活酵母“隐性功能基因”的说明图。等离子态是大量分子原子丢失电子成为正离子及俘获电子成为负离子所形成的状态, 通常可由气体在低真空下被高压放电形成, 其状态可利用电磁学中的麦克斯维方程大致确定。图中示出, 等离子体 (2) 是被限制在等离子体装置 (3) 的内壳 (33) 内, 内壳 (33) 上设置扇门以放入和取出酵母菌菌种 (1) 和相应的酵母菌营养型培养基, 扇门闭合时可使内壳 (33) 密封, 内壳 (33) 内放置培养皿 (34), 培养皿 (34) 内放置酵母菌菌种 (1) 和相应的酵母菌营养型培养基,

在内壳（33）内壁的一侧设置有一个至数个高压放电针（31），高压放电针（31）可被加上数千伏至数万伏的高电压，从而使高压放电针（31）产生尖端放电，使气体电离，产生等离子体。在内壳（33）内壁的高压放电针（31）旁设置有一个至数个进气管（32）以向内壳（33）内充气，可分别充以惰性气体例如氦气氖气之类，或氮气，以及易电离气体如氢气等。采用的被电离气体可以有多种选择，可根据需要选择，也可以利用有机物及石油化工产品的气体被充入以形成所需的等离子体环境，在内壳（33）内壁的另一侧设置有一个至数个板形电极（36），与高压放电针（31）相配合，产生所需电场。在内壳（33）内壁上适当处设置抽真空管（37），它与外部抽真空的真空泵相连，以将内壳（33）内的空间抽成所需真空度。在内壳（33）内侧或外侧设置产生磁场的线圈包（35），使内壳（33）内的等离子体环境受线圈包（35）的磁场作用，例如，线圈包（35）产生数千高斯的磁场之类，这样，内壳（33）内的等离子体环境可被所加电场和磁场所单独或联合作用，使等离子体产生移动及旋转，按预定程序对酵母菌菌种（1）进行改性处理并激活酵母“隐性功能基因”，处理时间可根据需要确定，可以是数小时，数十小时，以至数百小时。

二. 特异性酵母耐酸(耐低 pH)的驯化

以上说明了本发明采用等离子体环境产生人工模拟“生命电波”的方法，分别激活酵母不同“隐性功能基因”，获得 4 种分别用于激活、调控 B 细胞免疫基因、T 细胞免疫基因、K 细胞免疫基因和 NK

细胞免疫基因功能的特异性酵母。但这4种特异性酵母还不能直接用于调控各种免疫基因，这是因为它们还不能适应机体内的环境。众所周知，机体内是一个十分复杂的环境，而且各种环境因子每时每刻都在变化着。当这4种特异性的酵母通过口腔、胃进入小肠的途径时，很难保障其细胞的完整性，更难保障酵母细胞内目的酶的活性，因此保障酵母细胞活性是十分关键的。本发明采用了对4种特异性酵母的环境因子驯化培养，驯化培养方法步骤如下：

本发明4种功能微生物的环境适应性驯化是通过如图2所示的方法实现的：

参阅图2，本发明4种特异性酵母环境适应性驯化的方法步骤分别如下：

(一)驯化调控B细胞免疫基因的特异性酵母步骤

1. 按照表2的方法配置好培养基，并灭菌处理。
2. 取步骤1中的培养基1000ml注入图2的容器培养皿(34)中。
3. 取调控B细胞的特异性酵母液10ml(酵母液活细胞含量多于或等于1亿个/ml)，注入图2所示的容器培养皿(34)中，
4. 打开如图2所示的等离子体发生器，并调节到调控B细胞免疫基因的特异性酵母专一性频率7200—10700MHz上，
5. 调节如图2所示的电波输出电压为5—10mv/ml(1000ml培养基所使用的电波强度为5—10v)，
6. 保持上述电波频率和电波强度不变，在 $37 \pm 5^\circ\text{C}$ 的温度条件

培养 48—96 小时后，分离保存在 0—4℃ 的条件下备用。

三、本发明生物制剂药的制法

本发明所涉及的特异性酵母经过上述方法获得后仅是获得了种子，要制成大量的本发明生物制剂药，必须有足量的特异性酵母，因此需要扩大培养。特异性酵母培养是通过以下方法步骤实现的：

A、调节 B 细胞免疫基因功能的特异性酵母培养工艺

本发明所涉及调节 B 细胞免疫功能的特异性酵母培养工艺工程正如图 3 所示。

参阅本发明说明书图 3，本发明所涉及的调节 B 细胞免疫功能的特异性酵母培养工艺步骤如下：

1. 按照表 4 的成分配制培养基，并经灭菌处理后，分别注入到图 3 的 A、B、C 罐中。

2. 将经人工等离子体环境模拟生命电波方法激活，并经耐受低 pH(小于 pH2.5)的培养所获得的调节 B 细胞免疫功能的特异性酵母，输入到图 3 所示的种子罐 A 中，作为种子液。然后按照一定的比例将 A 罐种子液注入到 B 罐的培养基中扩大培养，注入的比例为：A 种子液 / B 培养液=5ml / 1000ml，

3. 调节电波发生器，使其输出生物电波为 7200—10700MHz，并同时按照 0.5—1.0v / L 的要求计算，设定电波强度(如假设 B 罐中培养液的数量为 50L，单磁波强度应为：0.5-1.0v / L × 50L=25v-50v)。

4. 保持上述电波频率和电波强度不变情况下, $37 \pm 5^\circ\text{C}$ 条件下培养 56—72 小时。

5. 当 B 罐中调节 B 细胞免疫基因的特异性酵母活细胞达到 20 亿个 / ml 时, 将 B 罐酵母液输入 C 罐中, 准备输送到下道工艺。

T, K. NK 细胞的驯化方法步骤与上述步骤相同, 只是使用的频率不同。

以下将通过具体的实施例对本发明的实施方案进行具体描述。虽然在每一个实施例中仅涉及一种具体的酵母菌, 但发明人通过实验, 发现用其他的酵母菌菌株也可以获得相同的结果。

实施例 1: 激活用于调控 B 细胞免疫功能基因酵母“隐性功能基因”的方法:

1. 按照表 1 的成分配制培养基 1000-2000ml, 并灭菌处理。
2. 选择 IFFI 1021 酵母种类, 按照活 IFFI 1021 细胞 / 培养基多于或等于 1 亿个 / 1000ml 的比例, 注入图 2 所示容器培养皿 (34) 内的培养基中。
3. 保持容器培养皿 (34) 温度在 $37 \pm 5^\circ\text{C}$ 间, 先培养 24-56 小时。
4. 打开图 2 所示的等离子体发生器 (3), 将高压放电针 (31) 输出电波频率调节到 7200—10700MHz 范围内。
5. 将线包圈 (35) 输出电磁场强度调节到: 11.5—44.5V 范围内。
6. 将装有酵母 IFF11021 培养液的培养皿 (34), 按照图 2 所示的模式安装等离子体发生器内。
7. 在上述条件下, 并保持 $37 \pm 5^\circ\text{C}$ 的温度条件, 激活 42—72 小时。

8. 经以上条件激活后IFF11021酵母细胞，采用真空冷冻干燥的方法制成安瓿或制成粉剂保存。

实施例2. 免疫调节剂对180腹水瘤的抑制效果

a. 取wates大鼠60只，分成A、B、C共3组，每组20只大鼠。A组为实验组，B组为使用环磷酰胺对照组，C为空白对照组。

b. 采用180腹水瘤，分别接种各组大白鼠。

c. 从接种后第二天开始，A组给本生物制剂液(特异性酵母细胞多于或等于1亿个/ml)，剂量0.6ml/kg；B组给环磷酰胺，剂量为20ug/kg；C组给生理盐水0.6ml/kg。每天一次。

d. 七天后解剖检测腹水瘤的大小，如下表：

数据组别	瘤重	比例%	说明
C组	22g±4.2 / 只	100%(以此为100%)	平均值
B组	16g±3.7 / 只	-27.2%	平均值
A组	3g±0.3 / 只	-86.4%	平均值

实施例3. 免疫调节剂对U-14实体瘤的抑制效果

a. 取wates大鼠90只，分成A、B、C共3组，每组30只大鼠。A组为实验组，B组为使用环磷酰胺对照组，C为空白对照组。

b. 采用U-14实体瘤，分别接种各组大白鼠。

c. 从接种后的第二天开始，A组给本生物制剂液(特异性酵母细胞多于或等于1亿个/ml)，剂量为0.6ml/kg；B组给环磷酰胺，剂量为20ug/kg；C组给生理盐水0.6ml/kg。每天一次。

d. 服用14天后解剖检测腹水瘤的大小，如下表：

数据组别	瘤重	比例%	说明
C组	19g±2.2 / 只	100%(以此为100%)	平均值
B组	17g±1.6 / 只	-10.5%	平均值
A组	2g±0.2 / 只	-89.5%	平均值

此微生物制剂通过对老鼠的肿瘤治疗取得了良好的疗效，同样，对人体预防和治疗风湿痛也相当有效。

参阅图4，所示的是将驯化后的可调控各种免疫基因的酵母菌液按预防和医治风湿痛最有效配方选择一种，两种，三种，或四种的上述的免疫基因的酵母菌液，再按预先经临床选定的一定比例配合后混合，再进行浓缩的说明图，可进行两次浓缩，以达到适当的便于封装的浓度。

将图4所述步骤后的预防和医治风湿痛的生物制剂药浓缩冷却，称量、罐封出成品，就制出了用于预防和医治风湿痛的生物制剂药。它是经等离子环境改性技术生产出的微生物药物。

表1. 激活调控(B、T、K、NK)细胞所用酵母“隐性功能基因”培养基成分表

培养基成分	数量
甘露醇	16g
K ₂ HPO ₄	0.25g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2g
NaCl	0.22g
CaSO ₄ ·H ₂ O	0.5g
CaSO ₄ ·H ₂ O	0.5g
CaCO ₃	6.0g
Urea	0.2—0.5g
血清	100--300ml
蒸馏水	700--900mL

表2. 环境条件适应性培养基成分表(以1000ml为例)

培养基成分	数量	说明
酸枣汁	300ml	用干酸枣 / 水=1g / 5ml 比例制成的清液
山定子汁	500ml	用干山定子 / 水=1g / 5ml 比例制成的清液
(NH ₄)SO ₄	0.25g	
K ₂ HPO ₄	0.2g	
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.22g	
NaCl	0.5g	
CaSO ₄ · 2H ₂ O	0.3g	
CaCO ₃	3.0g	
激活后的特异性酵母培养液	各 20ml	含活酵母细胞多于或等于 1 亿个 / ml

表3. 本专利所涉及的微生物种类(但不仅限于本表所列微生物)

酿酒酵母、椭圆酿酒酵母、薛瓦酵母、德尔布酵母、蒙古德尔布酵母、少孢酵母、发酵性酵母、洛格酵母、蜂蜜酵母、小椭圆酵母、卵形酵母、罗斯酵母、鲁氏酵母、清酒酵母、树状假丝酵母、朗比克假丝酵母、克鲁斯酵母、解脂假丝酵母、中型平滑假丝酵母、近平滑假丝酵母、铁红酵母、皱褶假丝酵母、热带假丝酵母、产朊假丝酵母、阿舒假囊酵母、白地霉、异常汉逊酵母、阿拉伯糖醇汉逊酵母、杰丁汉逊酵母、土星汉逊酵母、施氏汉逊酵母、亚膜汉逊酵母、柠檬形克勒克酵母、油脂酵母、粉状毕赤酵母、膜醭毕赤酵母、红冬孢酵母、红酵母、小红酵母、深红酵母、卡尔斯酵母、葡

萄汁酵母、威尔酵母、路德类酵母、中国类酵母、八孢裂殖酵母、栗酒裂殖酵母、掷孢酵母、白球拟酵母、无名球拟酵母、球拟酵母、平常球拟酵母、贝雷丝孢酵母、头状丝孢酵母、皮状丝孢酵母、威克酵母。

表4. 特异性酵母扩大培养基成分表(以1000L培养液计)

培养基成分	数量
山楂液	200L
五味子液	200L
大枣液	200L
大豆汁	200L
苹果液	200L

注：1. 上表中各种液体均是按照：物料 / 水=1 / 10的比例加工制成的。

2. 上表培养液要调整到pH2.5±0.2范围内。

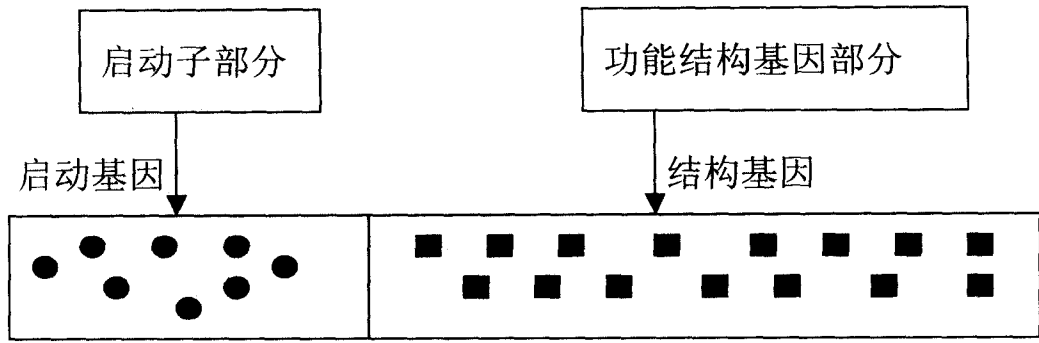


图 1

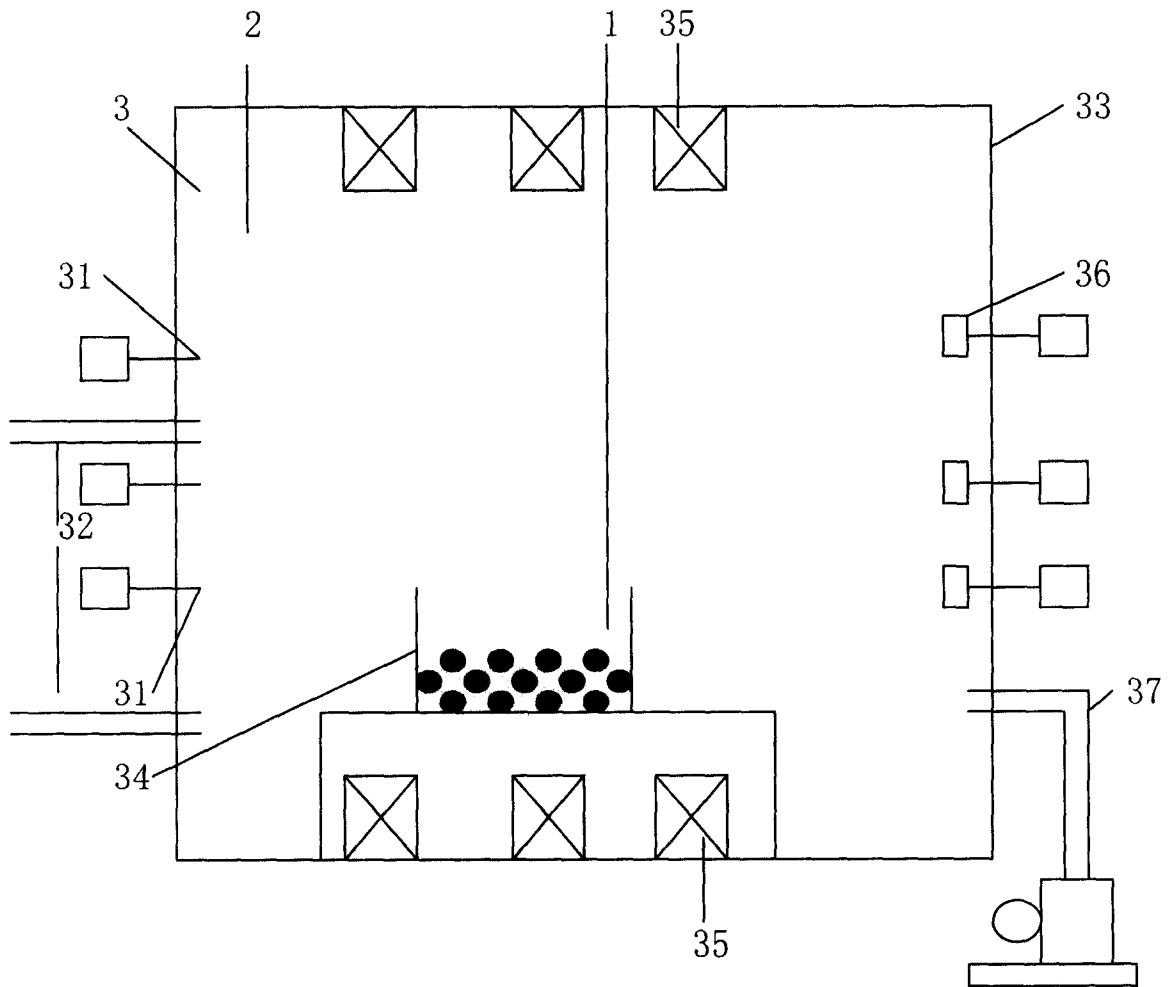


图 2

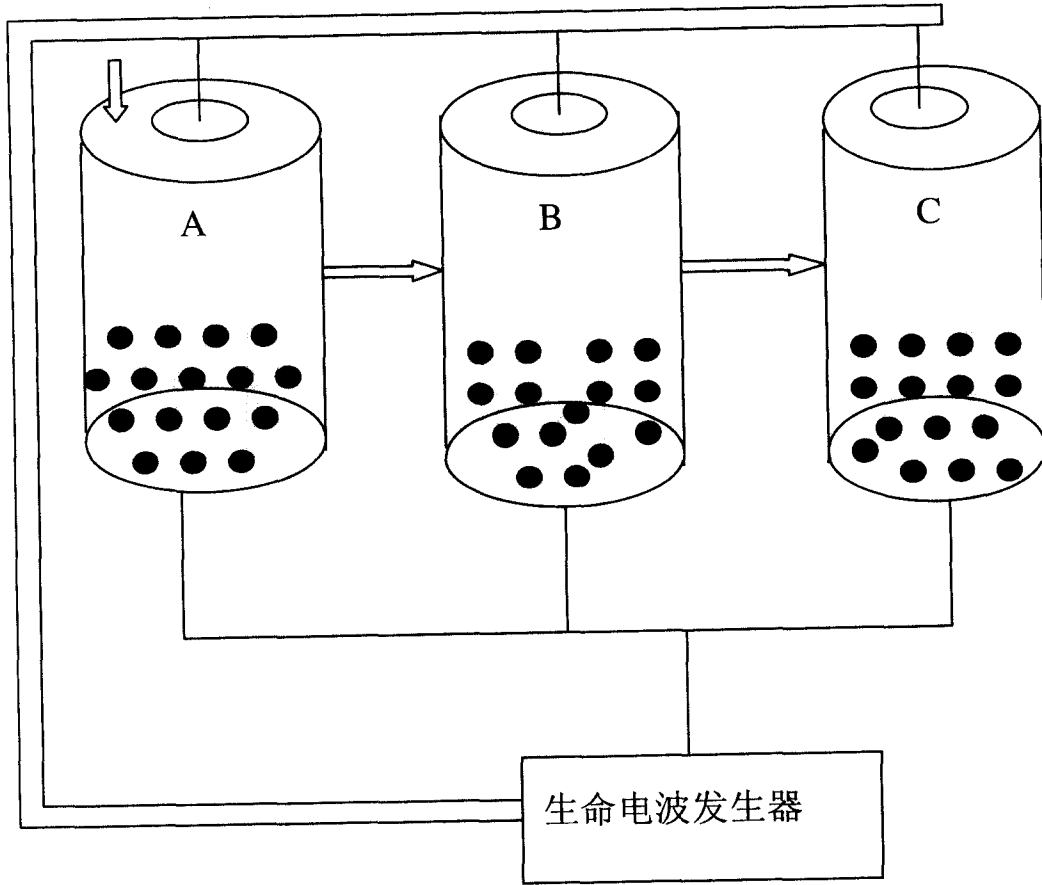


图 3

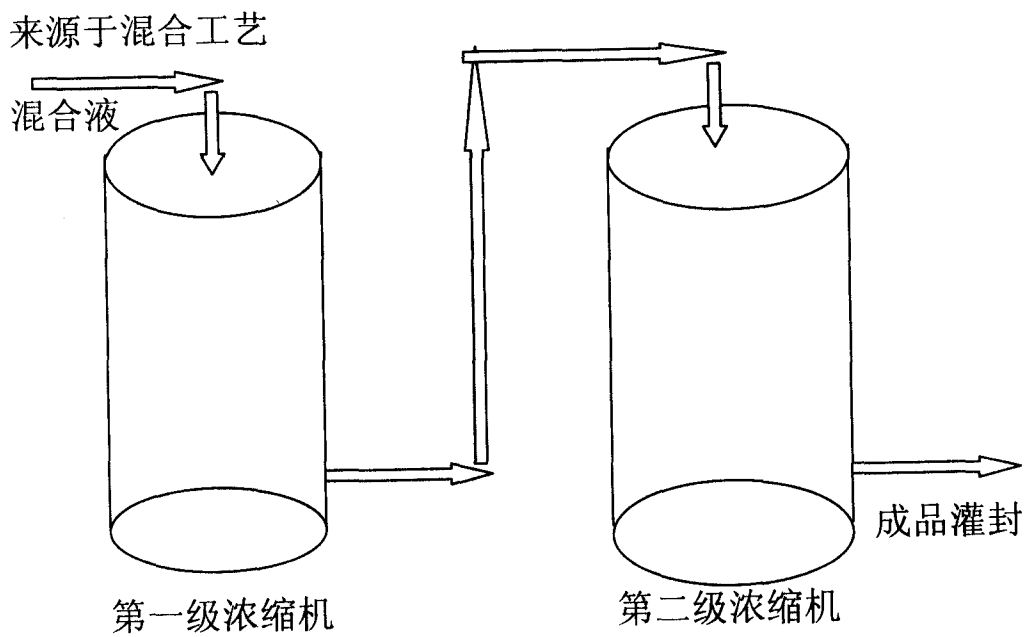


图 4