

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A01K 67/033 (2006.01)



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200510060277.4

[43] 公开日 2006 年 2 月 22 日

[11] 公开号 CN 1736186A

[22] 申请日 2005.8.4

[21] 申请号 200510060277.4

[71] 申请人 周志钦

地址 310000 浙江省杭州市西湖区求是村 67
幢 204 室

共同申请人 沈荣法

[72] 发明人 周志钦 沈荣法 周淡宜

[74] 专利代理机构 杭州求是专利事务所有限公司
代理人 张法高

权利要求书 2 页 说明书 11 页

[54] 发明名称

具有抗肿瘤生物活性蝇蛆的养殖方法

[57] 摘要

本发明公开了一种具有抗肿瘤生物活性蝇蛆的养殖方法。方法的步骤如下：1) 大头金蝇饲养：采用全透明式蝇房，房内拉设有多根绳子供种蝇歇息，以动物蛋白、红糖、水果为食物，以中药淫羊藿、加赖氨酸、蛋氨酸、维生素作为催卵素，用集卵盘子收集蝇卵；2) 蝇蛆饲养：采用通风的蝇蛆房，房顶用透明材料，房中装有换气扇和风扇，窗户、换气窗与房外相通的地方用纱窗严实封好，蝇蛆房内设育蛆池，育蛆池温度控制 28℃ ~ 60℃，在育蛆池内放入蝇蛆饵料，同时放入上述蝇卵。本发明养殖的蝇蛆经过国家新药筛选中心几年来多次检测有对肝癌、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、肺癌、胃癌、等肿瘤细胞生长有很强的抑制率，其抗肿瘤生物活性都在 75% ~ 97%。

1. 一种具有抗肿瘤生物活性蝇蛆的养殖方法，其特征在于，方法的步骤如下

1) 大头金蝇饲养

采用全透明式蝇房，房内拉设有多根绳子供种蝇歇息，大头金蝇以动物蛋白、红糖、水果为食物，以淫羊藿、加赖氨酸、蛋氨酸、维生素作为催卵素，用集卵盘子收集蝇卵，在集卵盘上放上万分子一的碳酸氨水配制小麦麸，以引诱种蝇集中产卵；

2) 蝇蛆饲养

采用通风的蝇蛆房，房顶用透明材料，房中装有换气扇和风扇，窗户、换气窗与房外相通的地方用纱窗严实封好，蝇蛆房内放置多个育蛆池，在育蛆池内放入蝇蛆饵料，同时放入上述蝇卵，育蛆池温度控制 $28^{\circ}\text{C}\sim 60^{\circ}\text{C}$ 即可。

2. 根据权利要求 1 所述的一种具有抗肿瘤生物活性蝇蛆的养殖方法，其特征在于，所述的蝇蛆饵料为青蛙、淡水鱼或猪肺粉碎后在发酵池内发酵 4~6 天即可。

3. 根据权利要求 1 所述的一种具有抗肿瘤生物活性蝇蛆的养殖方法，其特征在于，所述的蝇蛆饵料的重量百分比为青蛙 15%~30% 淡水鱼 15%~30%、冬虫夏草 0.1%~0.2%、灵芝粉 1%~2%、鸡 20%~30%、水果 25%~35%，其余为植物饲料，粉碎后在发酵池内发酵 4~6 天即可。

4. 根据权利要求 1 所述的一种具有抗肿瘤生物活性蝇蛆的养殖方法，其特征在于，所述的蝇蛆饵料的重量百分比为猪肺 25%~35% 青蛙 15%~30%、淡水鱼 15%~30%、灵芝粉为 1%~2%、人参粉 0.1%~0.2%、水果 20%~30%，其余为植物饲料，粉碎后在发酵池内发酵 5~6 天即可。

5. 根据权利要求 1 所述的一种具有抗肿瘤生物活性蝇蛆的养殖方法，其特征在于，所述的全透明式蝇房体积为 10~20 立方米，饲养量为 30 万~50 万只种蝇。

6. 根据权利要求 1 所述的一种具有抗肿瘤生物活性蝇蛆的养殖方法，其特征在于，所述的食物中的动物蛋白 35%~45%、红糖 20%~30%、水果 30%~40%，动物蛋白为蛆浆。

7. 根据权利要求 1 所述的一种具有抗肿瘤生物活性蝇蛆的养殖方法，其特

征在于,所述催卵素中的淫羊藿 20%~30%、加赖氨酸 15%~25、蛋氨酸 15%~25%、维生素 25%~35%, 维生素为 B2。

8. 根据权利要求 1 所述的一种具有抗肿瘤生物活性蝇蛆的养殖方法, 其特征在于, 所述的育蛆池由轻烧镁粉 30%~50%、氧化镁 30%~50%、木渣 15%~25% 原料制成。

具有抗肿瘤生物活性蝇蛆的养殖方法

技术领域

本发明涉及一种具有抗肿瘤生物活性蝇蛆的养殖方法。

背景技术

苍蝇是蝇类的统称。蝇在生物学分类系统中属无脊椎动物、节肢动物门、昆虫纲、双翅目。再往下细分，有蝇科、麻蝇科、丽蝇科、寄蝇科、果蝇科、舌蝇科、狂蝇科、食蚜蝇科等数十个科。目前估计有 6 万种，而且每天都可能有新种发现。我国蝇类有记载的有 1500 多种。

1、常规养殖：目前国内常规养殖报道很多基本按以下办法为主。

①室外养殖：选择远离生活区，有树荫但有一定光线，野生苍蝇较多的地方，面积根据自己所需的产量而定，养殖房只要能遮雨就可以了，茅草房、水泥瓦房、树皮房都行，房屋四周用纱窗围起来，养殖采用简单的水泥池，每个池面积为 1.5-2 平方米，池边高 20 厘米，房里面用无数来回穿叉的绳子连接，以给苍蝇在上面歇息，用新鲜猪粪、鸡粪、豆腐渣等混合，堆成一堆用农膜盖严，发酵 24-48 小时后即喂养蝇蛆。

由于是室外养殖，集卵物有很多选择，有用死鱼等直接放在粪堆上，也用配制以 100 公斤粪料配麦麸 1 公斤，鱼粉 2 两，花生麸 3 两，水 1.5 公斤，混匀后放在粪堆上，集卵后放入水泥池内，第二天早上就全部孵化了一般长到七天至八天就可出池烫死，洗净烘干打粉作饲料。

②室内养殖：大多农场用红眼绿身苍蝇和家中常见的小家蝇，培育，种蝇喂养于棚内，主要喂食红糖水（1：10），加少量的奶油香精，喂法是在盆中垫块海绵，将糖水等倒入海绵即可。

种蝇房（棚），100~300 多平方米一间，种蝇和育蛆同在一房（也有笼养种蝇），有较多窗户、房顶也留数个换气窗，房顶有瓦料也有塑料薄膜、窗户、换气窗与房外相通的地方用纱窗严实封好，房内拉设数条绳子供蝇歇息，蝇房地面用水泥分隔成面积为 2~3 平方米的长方形育蛆池，池边高 20~25 厘米，池的边角处理设有收蛆桶（小塑料桶），桶边稍高于池底，长大的蝇蛆化蛹前，绝大多数都自动爬离粪堆，沿池边爬行最终掉入收蛆桶内。

蝇蛆饵料用猪粪、鸡粪、牛粪、酒糟、米糠、豆腐渣等配料，经过发酵喂养蝇蛆，长大后用开水烫死烘干打粉作饲料。也有养殖场用酒糟、米粉等配

酵母粉，经消毒，喂养无菌蝇蛆，长大后烘干打粉，经紫外线消毒作为蝇蛆蛋白，用于保健食品或化妆品的添加剂。

发明内容

本发明的目的是提供一种具有抗肿瘤生物活性蝇蛆的养殖方法。

方法的步骤如下

1) 大头金蝇饲养

采用全透明式蝇房，房内拉设有多根绳子供种蝇歇息，大头金蝇以动物蛋白、红糖、水果为食物，以淫羊藿、加赖氨酸、蛋氨酸、维生素作为催卵素，用集卵盘子收集蝇卵，在集卵盘上放上万分子一的碳酸氨水配制小麦麸，以引诱种蝇集中产卵；

2) 蝇蛆饲养

采用通风的蝇蛆房，房顶用透明材料，房中装有换气扇和风扇，窗户、换气窗与房外相通的地方用纱窗严实封好，蝇蛆房内放置多个育蛆池，在育蛆池内放入蝇蛆饵料，同时放入上述蝇卵，育蛆池温度控制 28°C~60°C 即可。

所述的蝇蛆饵料为青蛙、淡水鱼或猪肺粉碎后在发酵池内发酵 4~6 天即可。

或者青蛙 15%~30% 淡水鱼 15%~30%、冬虫夏草 0.1%~0.2%、灵芝粉 1%~2%、鸡 20%~30%、水果 25%~35%，其余为植物饲料，粉碎后在发酵池内发酵 4~6 天即可。

或者猪肺 25%~35% 青蛙 15~30%、淡水鱼 15%~30%、灵芝粉为 1%~2%、人参粉 0.1%~0.2%、水果 20%~30%，其余为植物饲料，粉碎后在发酵池内发酵 4~6 天即可。

全透明式蝇房体积为 10~20 立方米，饲养量为 30 万~50 万只种蝇。

食物中的动物蛋白 35%~45%、红糖 20%~30%、水果 30%~40%，动物蛋白为蛆浆。

催卵素中的淫羊藿 20%~30%、加赖氨酸 15%~25%、蛋氨酸 15%~25%、维生素 25%~35%，维生素为 B2。

育蛆池由轻烧镁粉 30%~50%、氧化镁 30%~50%、木渣 15%~25%原料制成。

本发明养殖的蝇蛆经过国家新药筛选中心几年来多次检测有对肝癌、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、肺癌、胃癌、等肿瘤细胞生长有很强的抑制率，其抗肿瘤生物活性都在 75%~97%。几年来通过国家新药筛选中心的多次生物活性检测，我们提供的特种蝇蛆全虫粉具有抗癌等的生物活性。检测结果证明我们采用这种蛆虫的活体吸收、体内整合、组成特种蝇蛆全虫粉的方法是成功的。

具体实施方式

一. 苍蝇（蝇蛆）房场地

选择远离生活区，无环境污染，植被良好，取用水方便地方建造蝇蛆房（棚）。

苍蝇房材料以木材为主每间有 10~20 立方米，有较多窗户，房顶也留数个换气窗，房顶用透明材料，房中装有换气扇和风扇，窗户、换气窗与房外相通的地方用多层纱窗严实封好，房内拉设来回穿叉的绳索供种蝇歇息。蝇蛆房地面用轻烧镁粉 30%~40%、氧化镁 10%~30%、木渣 5%~15%原料制成 60×40×50 的长方体育蛆池，具有透气性能好。育蛆池温度控制 28℃—60℃。池边角处理设有收蛆桶（小塑料桶），桶边稍高于地面，长大的蝇蛆化蛹前，绝大多数都自动爬离饵料，沿池边爬行最终掉入收蛆桶内（不健康的蝇蛆、死亡蝇蛆和健康蝇蛆形成自然分离）。

二. 蝇种选择

目前，从国内到国际研究，饲养苍蝇一般都选用家蝇，因为家蝇比较容易养，饲养成本比较低，而我们所选用的是：“大头金蝇”（英文名：chrgsomgia megacephala (Fabricius)），此蝇经浙大生命科学院鉴定。

该蝇种是我们经过多年选择，最终确定。它具有健壮、生殖率高、抗病能力强等特点。经过我们近几年的培养，选出了一批优良蝇种，使其不会退化确保功效。

三. 种蝇的饲养

“大头金蝇”特点，好动，不易人工饲养，饲养要求高，这里主要的是其对温度条件要求很高，在 25℃~40℃内为最佳。全透明式蝇房要求体积 10~20 立方米，饲养量 30 万~50 万只种蝇，房内拉设有多根绳子供种蝇歇息。大头金蝇以动物蛋白 35%、40%、45%、红糖 20%、25%、30%、水果 30%、35%、40%为食物，其中动物蛋白为蛆浆。以中药淫羊藿 20%、25%、30%、加赖氨酸 15%、20%、25%、蛋氨酸 15%、20%、25%、维生素 25%、30%、35%作为“催卵素”，其中维生素为 B2。用集卵盘子收集蝇卵，在集卵盘子上放上万分子一的碳酸氨水配制小麦麸适量，以引诱种蝇集中产卵。

四. 蛆的饲养

采用通风的蝇蛆房，房顶用透明材料，房中装有换气扇和风扇，窗户、换气窗与房外相通的地方用纱窗严实封好，蝇蛆房内放置多个蝇蛆池，在育蛆池内放入蝇蛆饵料，同时放入上述蝇卵，育蛆池温度控制 28℃~60℃即可。

1. 蝇房地面放有轻烧氧化镁粉配木渣制成 60×40×50 的长方体蝇蛆池，

池内放入经过发酵的饵料。

1) 饵料选择 A: 青蛙 15%、23%、30% 淡水鱼 15%、23%、30%、冬虫夏草 0.1%、0.15%、0.2%、灵芝粉 1%、1.5%、2%、鸡 20%、25%、30%、水果 25%、30%、35%，其余为植物饲料，粉碎后在发酵池内发酵 4、5、6 天即可。

2) 饵料选择 B: 猪肺 25%、30%、35% 青蛙 15%、23%、30%、淡水鱼 15%、23%、30%、灵芝粉为 1%、1.5%、2%、人参粉 0.1%、0.15%、0.2%、水果 20%、25%、30%，其余为植物饲料，粉碎后在发酵池内发酵 4、5、6 天即可。

3) 蝇蛆饵料 C 为青蛙、淡水鱼或猪肺粉碎后在发酵池内发酵 4、5、6 天即可。

4) 发酵: 用水泥砌成 $120 \times 60 \times 50$ 发酵池，将粉碎后的配方饵料倒入发酵池，加入少量发酵粉和 EM 菌液并拌匀，用塑料薄膜密封，发酵 4~6 天即可喂养蝇蛆，发酵能杀灭饵料中的致病菌和寄生虫卵，还可消除饵料在蝇蛆房直接发酵产生的有害气体，以免对蝇蛆造成危害。

5) 用以上配方喂养的蝇蛆经国家新药筛选中心多次检测对肝癌、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、胃癌、肺癌（附表）肿瘤细胞生长有很强的抑制率，其抗肿瘤生物活性都在 75%~97%。

五. 加工

将收集的蝇蛆漂洗冷冻，在适当的温度下进行烘干，去除虫体无效杂物、打粉，经紫外线消毒灭菌，没有经过任何分离就能达到这种活性效果，它完全有可能以中药单方进入市场，造福人类。

我们提供的特种蝇蛆全虫粉，具有抗癌等生物活性，检测结果证明我们采用这种蛆虫活体吸收、体内整合、组成特种蝇蛆全虫粉的方法是成功的。

国家新药筛选中心

National Center for Drug Screening
Shanghai, China

抗肿瘤生物活性体外筛选试验

筛选方法: 磺酰罗丹明 B (sulforhodamine B, SRB)

蛋白染色法

细胞株: BEL-7402 人肝癌

作用时间: 72h

对肿瘤细胞生长的抑制率 %

浓度 (mg/ml)		BEL-7402				评价	备注
样品编号	1	0.25	0.063	0.016	0.0039		
115426	88.5	95.4	20.1	4.1	2.3	有活性	
115427	92.1	70.6	13.0	2.5	6.1	有活性	

日期: 2003.3.7

国家新药筛选中心

National Center for Drug Screening
Shanghai, China

抗肿瘤生物活性体外筛选试验

筛选方法: 磺酰罗丹明 B (sulforhodamine B, SRB)

蛋白染色法

细胞株: A-549 人肺癌

作用时间: 72h

对肿瘤细胞生长的抑制率 %

浓度 (mg/ml)		A-549				评价	备注
样品编号	1	0.25	0.063	0.016	0.0039		
115426	93.2	97.7	4.0	0	0	有活性	
115427	95.4	98.2	0	0	0	有活性	

日期: 2003.3.7

国家新药筛选中心

National Center for Drug Screening
Shanghai, China

抗肿瘤生物活性体外筛选试验

筛选方法: 磺酰罗丹明 B (sulforhodamine B, SRB)

蛋白染色法

细胞株: A-549 人肺癌

作用时间: 72h

结果评定: 无效: $10^{-5} \text{ mol/L} < 85\%$ 弱效: $10^{-5} \text{ mol/L} \geq 85\%$ 或 $10^{-6} \text{ mol/L} > 50\%$ 强效: $10^{-6} \text{ mol/L} \geq 85\%$ 或 $10^{-7} \text{ mol/L} > 50\%$

对肿瘤细胞生长的抑制率%

浓度 (mg/ml)							
样品编号	4	1	0.25	0.063	0.016	评价	备注
NC00114961	95.0	97.3	79.4	0	3.7	有活性	
NC00114962	95.3	97.0	52.0	0	0	有活性	
NC00114963	91.4	96.8	2.5	2.5	0	有活性	
NC00114964	94.8	97.2	94.3	0	0	有活性	

试验者:许承辉 杨蔚怡

日期:2004.11.30

抗肿瘤生物活性体外筛选试验

筛选方法: 磺酰罗丹明 B (sulforhodamineB,SRB)

蛋白染色法

细胞株: BEL-7402 人肝癌

作用时间: 72h

结果评定: 无效: $10^{-5}\text{mol/L} < 85\%$

弱效: $10^{-5}\text{mol/L} \geq 85\%$ 或 $10^{-6}\text{mol/L} > 50\%$

强效: $10^{-6}\text{mol/L} \geq 85\%$ 或 $10^{-7}\text{mol/L} > 50\%$

对肿瘤细胞生长的抑制率%

浓度 (mg/ml)							
样品编号	4	1	0.25	0.063	0.016	评价	备注
NC00114961	84.3	96.6	23.6	0	3.0	有活性	
NC00114962	92.6	95.4	97.0	0	0	有活性	
NC00114963	86.2	94.3	0	0	0	有活性	
NC00114964	85.9	94.3	90.6	0	0	有活性	

试验者:许承辉 杨蔚怡

日期:2004.11.30

国新药筛选中心

抗肿瘤生物活性体外筛选试验

筛选方法：四氮唑盐(Methyl-Thiazol-Tetrozolim,MTT)

还原法

细胞株：HL-60 人白血病

作用时间：72h

对肿瘤细胞生长的抑制率%

浓度 (mg/ml)						
样品编号	4	1	0.25	0.063	0.016	评价 备注
NC00114961	92.8	100	1.2	0	0	有活性
NC00114962	89.4	62.7	1.8	0	0	有活性
NC00114963	6.3	10.5	9.0	1.3	0	无活性
NC00114964	88.0	99.3	40.7	6.4	0	有活性

试验者：许承辉 杨蔚怡

日期：2004.11.30

抗肿瘤生物活性体外筛选试验

筛选方法：磺酰罗丹明 B (sulforhodamineB,SRB)

蛋白染色法

细胞株：HO-8910 人卵巢癌

作用时间：72h

结果评定：无效： 10^{-5} mol/L < 85%

弱效： 10^{-5} mol/L \geq 85%或 10^{-6} mol/L > 50%

强效： 10^{-6} mol/L \geq 85%或 10^{-7} mol/L > 50%

对肿瘤细胞生长的抑制率%

浓度 (mg/ml)						
样品编号	4	1	0.25	0.063	0.016	评价 备注
NC00114961	91.1	92.9	93.0	1.2	0	有活性
NC00114962	89.2	94.3	64.5	17.4	20.	有活性
NC00114963	92.8	90.1	97.2	46.6	25.	有活性
NC00114964	86.4	91.1	95.9	24.5	9.8	有活性

试验者：许承辉 杨蔚怡

日期：2005.3.30

国家新药筛选中心
抗肿瘤生物活性体外筛选试验

筛选方法：磺酰罗丹明 B (sulforhodamineB,SRB)

蛋白染色法

细胞株：SGC-7901 人胃癌

作用时间：72h

结果评定：无效： $10^{-5}\text{mol/L} < 85\%$

弱效： $10^{-5}\text{mol/L} \geq 85\%$ 或 $10^{-6}\text{mol/L} > 50\%$

强效： $10^{-6}\text{mol/L} \geq 85\%$ 或 $10^{-7}\text{mol/L} > 50\%$

对肿瘤细胞生长的抑制率%

浓度 (mg/ml)							
样品编号	4	1	0.25	0.063	0.016	评价	备注
NC00114961	92.8	96.4	95.0	10.8	25.0	有活性	
NC00114962	92.1	95.6	92.6	0	13.3	有活性	
NC00114963	90.8	96.2	0	0	1.7	有活性	
NC00114964	81.0	96.9	89.9	0.6	3.1	有活性	

试验者：许承辉 杨蔚怡

日期：2005.3.30

国新药筛选中心
抗肿瘤生物活性体外筛选试验

筛选方法：磺酰罗丹明 B (sulforhodamineB,SRB)

蛋白染色法

细胞株：HELA 人宫颈癌

作用时间：72h

结果评定：无效： $10^{-5}\text{mol/L} < 85\%$

弱效： $10^{-5}\text{mol/L} \geq 85\%$ 或 $10^{-6}\text{mol/L} > 50\%$

强效： $10^{-6}\text{mol/L} \geq 85\%$ 或 $10^{-7}\text{mol/L} > 50\%$

对肿瘤细胞生长的抑制率%

浓度 (mg/ml)							
样品编号	4	1	0.25	0.063	0.016	评价	备注
NC00114961	54.5	92.2	95.6	19.5	0	有活性	
NC00114962		90.4	95.9	0	0	有活性	
NC00114963	66.3	95.7	20.0	0	0	有活性	
NC00114964		93.4	95.0	0	0	有活性	

试验者:许承辉 杨蔚怡

日期:2005.3.30

抗肿瘤生物活性体外筛选试验

筛选方法: 磺酰罗丹明 B (sulforhodamineB,SRB)

蛋白染色法

细胞株: MDA-MB-468 人乳腺癌

作用时间: 72h

结果评定: 无效: $10^{-5}\text{mol/L} < 85\%$

弱效: $10^{-5}\text{mol/L} \geq 85\%$ 或 $10^{-6}\text{mol/L} > 50\%$

强效: $10^{-6}\text{mol/L} \geq 85\%$ 或 $10^{-7}\text{mol/L} > 50\%$

对肿瘤细胞生长的抑制率%

浓度 (mg/ml)							
样品编号	4	1	0.25	0.063	0.016	评价	备注
NC00114961	97.3	97.8	86.6	13.9	2.7	有活性	
NC00114962	97.0	97.8	93.0	0	15.4	有活性	
NC00114963	96.6	98.1	15.7	0	1.2	有活性	
NC00114964	97.3	97.8	96.9	0	0	有活性	

试验者:许承辉 杨蔚怡

日期:2005.3.30

抗肿瘤生物活性体外筛选试验

筛选方法：四氮唑盐 (Methyl-Thiazol-Tetrazolium, MTT)

还原法

细胞株：HCT-116 人肠癌

作用时间：72h

结果评定：无效： 10^{-5} mol/L < 85%

弱效： 10^{-5} mol/L \geq 85% 或 10^{-6} mol/L > 50%

强效： 10^{-6} mol/L \geq 85% 或 10^{-7} mol/L > 50%

对肿瘤细胞生长的抑制率%

浓度 (mg/ml)							
样品编号	4	1	0.25	0.063	0.016	评价	备注
NC00114961	90.9	97.7	96.8	0	0	有活性	
NC00114962	93.7	97.7	98.7	0	0	有活性	
NC00114963	95.4	97.7	42.1	0	0	有活性	
NC00114964	95.4	97.3	97.0	0	0	有活性	

试验者：许承辉 杨蔚怡

日期：2005.3.30

国家新药筛选中心

National Center for Drug Screening
Shanghai, China

抗肿瘤生物活性体外筛选试验

筛选方法：四氮唑盐 (Methyl-Thiazol-Tetrazolium, MTT)

还原法

细胞株：P-388 小鼠白血病

作用时间：48 h

对肿瘤细胞生长的抑制率%

浓度 (mg/ml)		P-388				评价	备注
样品编号	1	0.25	0.063	0.016	0.0039		
115426	99.0	98.9	20.8	0	0	有活性	
