



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117467558 A

(43) 申请公布日 2024. 01. 30

(21) 申请号 202310709086.4

A61K 35/747 (2015.01)

(22) 申请日 2023.06.15

A61P 37/04 (2006.01)

(83) 生物保藏信息

A61P 31/16 (2006.01)

CGMCC No. 22832 2021.07.06

C12R 1/25 (2006.01)

(71) 申请人 天津小微生物科技有限公司

地址 300400 天津市武清区开发区开源道3号

(72) 发明人 韩清波 刘瑞峰 马乐辉 王震 李云旭

(74) 专利代理机构 北京圣州专利代理事务所 (普通合伙) 11818

专利代理师 李志强

(51) Int. Cl.

C12N 1/20 (2006.01)

A23L 33/135 (2016.01)

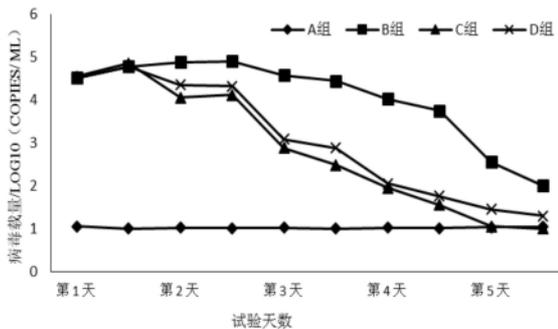
权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54) 发明名称

一种具有缓解流感和提高免疫力的植物乳杆菌LZ026及其应用

(57) 摘要

本发明属于微生物工程领域,具体公开了一种具有缓解流感和提高免疫力的植物乳杆菌LZ026,植物乳杆菌LZ026保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏编号为CGMCC NO.22832,保藏日期为2021年07月06日。本发明还公开了植物乳杆菌LZ026在缓解流感和提高免疫力中的应用。本发明所述的一种植物乳杆菌LZ026,具有显著的抗病毒,缓解流感的功效,同时还可以提高人体免疫力,因此植物乳杆菌LZ026在食品、药品和保健品中进行应用,具有巨大的应用前景。



1. 一种植物乳杆菌LZ026,其特征在于:其从贵州省遵义市,农家特色酸肉中分离得到,植物乳杆菌LZ026保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏编号为CGMCC NO.22832,保藏日期为2021年07月06日。

2. 一种如权利要求1所述的植物乳杆菌LZ026在提高机体抗体水平和T细胞应答中的应用。

3. 一种如权利要求1所述的植物乳杆菌LZ026在缓解流感中的应用。

4. 一种如权利要求1所述的植物乳杆菌LZ026在提高免疫力中的应用。

5. 一种如权利要求3-4任一项所述的应用,其特征在于:所述植物乳杆菌LZ026用于制备缓解流感和提高免疫力的产品,产品包括食品、药品或保健品。

6. 根据权利要求5所述的应用,其特征在于:所述产品中植物乳杆菌LZ026的活菌量不低于 1×10^7 CFU/mL。

7. 根据权利要求5所述的应用,其特征在于:所述食品包括固体饮料、发酵食品,药品包括含有植物乳杆菌LZ026的药物敷料、药物载体。

8. 根据权利要求5所述的应用,其特征在于:所述保健品成分中还包括组合物,组合物包括水苏糖、鼠李糖乳杆菌、 β -葡聚糖、维生素C和胶原蛋白。

一种具有缓解流感和提高免疫力的植物乳杆菌LZ026及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及微生物工程技术领域,尤其是涉及一种具有缓解流感和提高免疫力的植物乳杆菌LZ026及其应用。

背景技术

[0002] 流感常在秋冬季时大流行,主要由流感病毒诱发。流感病毒可分为甲型流感病毒、乙型流感病毒、丙型流感病毒三种,人所患的流感主要是由甲型流感病毒和乙型流感病毒引起的。病毒感染是威胁全世界人类健康、导致人类死亡的重要疾病之一。因此,寻找有效、安全的针对病毒防控方法具有重大的应用研究价值。

[0003] 目前,世界卫生组织认为每年在流感流行高峰前期接种疫苗是最有效的预防手段。现阶段,已经上市的三价流感疫苗有灭活流感疫苗(TIV)和减毒活疫苗(LAIV)两种,由3种病毒组成,包含2种甲型流感病毒株和1种乙型流感病毒株。而相关流感感染的药物治疗主要有两类西药,一类是神经氨酸酶抑制剂如奥司他韦、扎那米韦、帕拉米韦,其机理是通过作用在病毒表面的糖蛋白神经氨酸酶,使病毒颗粒无法侵害人体细胞;另一类是M2离子通道阻滞剂如金刚烷胺和金刚乙胺,此类药物是作用于质子通道M2蛋白,通过阻扰其蛋白质离子通道以抑制甲型流感病毒的复制。

[0004] 但是,疫苗注射不能长久有效保护机体不受病毒侵染,而药物治疗在杀死病毒的同时对中枢神经系统有副作用。因此,仍然需要一种药物或治疗方式,既能够长久有效保护机体不受流感病毒侵染,也能够缓解流感的一些临床病症,同时,不会给患者中枢神经系统带来副作用。

[0005] 益生菌是一种对宿主健康产生促进作用的活性微生物,也是一类被认为具有长期安全的食品级微生物。近年,大量的研究表明,肠道微生物对于维持人体健康有着重要的作用,同时,益生菌在人类干预研究中对健康的影响包括改善儿童急性腹泻,缓解儿童牛奶过敏、特应性皮炎以及缓解人肠易激综合征,并且,益生菌可能通过肠道粘膜产生影响,通过抑制病原微生物的生长来平衡局部微生物群,进而增强局部和全身免疫反应,病毒引起的流感可影响肠道菌群结构,且特定益生菌可有效减轻急性轮状病毒胃肠炎的持续时间和严重程度。因此,可以从肠道微生物入手,找到预防以及治疗流感的新药物或新方法,并且提高机体的免疫力。

发明内容

[0006] 为解决上述问题,本发明提供了一种植物乳杆菌LZ026及其应用,具有显著的抗病毒,缓解流感的效果,同时还可以提高人体免疫力,将植物乳杆菌LZ026在食品、药品和保健品中进行应用,具有巨大的应用前景。

[0007] 本发明的目的之一是提供一种具有缓解流感和提高免疫力的植物乳杆菌LZ026,具有显著的抗病毒,缓解流感的效果,同时还可以提高人体免疫力。

- [0008] 本发明的目的之二是提供植物乳杆菌LZ026在食品、药品和保健品中的应用。
- [0009] 为实现上述目的,本发明提供了一种具有缓解流感和提高免疫力的植物乳杆菌LZ026,其从贵州省遵义市,农家特色酸肉中分离得到,植物乳杆菌LZ026保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏编号为CGMCC NO.22832,保藏日期为2021年07月06日。
- [0010] 本发明还提供了一种植物乳杆菌LZ026在提高机体抗体水平和T细胞应答中的应用。
- [0011] 本发明还提供了一种植物乳杆菌LZ026在缓解流感中的应用。
- [0012] 本发明还提供了一种植物乳杆菌LZ026在提高免疫力中的应用。
- [0013] 上述植物乳杆菌LZ026用于制备缓解流感和提高免疫力的产品,产品包括食品、药品或保健品。
- [0014] 优选的,所述产品中植物乳杆菌LZ026的活菌量不低于 1×10^7 CFU/mL。
- [0015] 优选的,所述食品包括固体饮料、发酵食品,药品包括含有植物乳杆菌LZ026的药物敷料、药物载体。
- [0016] 优选的,所述保健品成分中还包括组合物,组合物包括水苏糖、鼠李糖乳杆菌、 β -葡聚糖、维生素C和胶原蛋白。
- [0017] 本发明所述的一种具有缓解流感和提高免疫力的植物乳杆菌LZ026及其应用的优点和积极效果是:
- [0018] 1、本发明的植物乳杆菌LZ026在保健品的应用中,植物乳杆菌LZ026通过与组合物之间相互协同,提高机体的免疫力。
- [0019] 2、本发明中通过服用植物乳杆菌LZ026产品,增强机体对流感病毒的特异性免疫,提高抗体水平和T细胞的免疫应答,降低机体内的病毒载量,有效缓解流感。
- [0020] 下面通过附图和实施例,对本发明的技术方案做进一步的详细描述。

附图说明

- [0021] 图1为本发明实施例2中大鼠体内病毒载量的测定结果;
- [0022] 图2为本发明实施例3中特异性抗体浓度的测定结果。

具体实施方式

- [0023] 以下通过附图和实施例对本发明的技术方案作进一步说明。
- [0024] 除非另外定义,本发明使用的技术术语或者科学术语应当为本发明所属领域内具有一般技能的人士所理解的通常意义。
- [0025] 保藏信息
- [0026] 植物乳杆菌LZ026保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏编号为CGMCC NO.22832,保藏日期为2021年07月06日,分类命名植物乳杆菌*Lactobacillus plantarum*。
- [0027] 下列实施例中涉及的培养基如下:MRS琼脂培养基:蛋白胨10g,牛肉膏粉8g,酵母膏粉4g,葡萄糖20g,吐温80 1.08g,磷酸氢二钾(无水)2g,乙酸钠(无水)5g,柠檬酸氢二铵(无水)2g,硫酸镁(无水)0.2g,硫酸镁(一水)0.05g,L-半胱氨酸0.5g,琼脂15g,蒸馏水

1000mL。

[0028] MRS液体培养基:蛋白胨10g,牛肉膏粉8g,酵母膏粉4g,葡萄糖20g,吐温80 1.08g,磷酸氢二钾(无水)2g,乙酸钠(无水)5g,柠檬酸氢二铵(无水)2g,硫酸镁(无水)0.2g,硫酸镁(一水)0.05g,L-半胱氨酸0.5g,蒸馏水1000mL。

[0029] 实施例1植物乳杆菌的分离、鉴定

[0030] 采集贵州省遵义市的农家特色酸肉作为样本,在无菌条件下,取5g酸肉样本加入15mL MRS液体培养基中,震荡均匀后37℃条件下富集培养24h;取1mL菌液进行梯度稀释,加入生理盐水制成 10^{-6} 至 10^{-8} 浓度梯度菌悬液,然后将不同稀释浓度的菌悬液涂布接种到MRS琼脂培养基中,37℃培养48h;根据乳酸菌的菌落特征以及参考相关文献图片,挑选出相应的菌落至MRS琼脂培养基上进行划线纯化培养,然后挑取单菌落至MRS液体培养基中,37℃培养48h,得到单一菌株。将得到的单一菌株送往第三方公司进行菌株鉴定,得植物乳杆菌LZ026。

[0031] 实施例2植物乳杆菌LZ026的抗病毒研究

[0032] 取生长状况良好,体重为 $30\text{g} \pm 5\text{g}$ 的大鼠雌性16只,随机分成4组,A组空白对照组,B组流感对照组,C组奥司他韦药物治疗组,D组植物乳杆菌LZ026治疗组。

[0033] 实验前3天对大鼠进行身体检测,确保大鼠生长状况保持一致。

[0034] 实验第1天,对B组、C组、D组的大鼠进行流感病毒的攻毒,采取少量多次的原则,即每2h一次,一次30分钟,持续12h。然后对大鼠体内病毒载量进行测定,每6h小时测定一次,共计2次,并记录。

[0035] 实验第2天,对C组大鼠进行给药奥司他韦进行治疗,D组大鼠进行相同剂量的 1×10^8 CFU植物乳杆菌LZ026稀释液灌胃进行治疗,A组和B组大鼠每天灌胃相同剂量的生理盐水。采取少量多次的原则,即每6h一次,共计2次。A、B、C、D组给药治疗12h后,采用实时定量荧光PCR或酶联免疫PCR对大鼠体内病毒载量进行测定,每6h小时测定一次,共计2次,并记录。

[0036] 实验第3-5天,每天对A、B、C、D组进行给药治疗,对大鼠体内病毒载量进行测定,并记录,具体方法同实验第2天。

[0037] 结果如图1所示,由图1可知,3-5天时C组大鼠的流感病毒载量下降较明显,说明奥司他韦可以抑制流感病毒的复制,可以有效缓解流感。A组为空白对照组,大鼠体内的病毒载量始终在较低水平,B组为流感对照组,大鼠完全依靠自身免疫力来缓解流感,3-5天时,病毒载量依旧维持在较高水平。D组为植物乳杆菌治疗组,3-5天时大鼠体内病毒载量下降明显,但是比C组下降趋势较缓,说明植物乳杆菌在一定程度上可以抑制流感病毒的复制,有效缓解流感。

[0038] 实施例3植物乳杆菌LZ026的提高抗体水平研究

[0039] 取生长状况良好,体重为 $20\text{g} \pm 5\text{g}$ 的大鼠雄性12只,随机分成A、B、C三组。A、B、C三组大鼠进行流感病毒攻毒,大鼠出现流感症状后,进行疫苗注射给药,直至康复,继续饲养大鼠30天,30天内A组大鼠每天注射0.2mL的生理盐水,B组大鼠每天灌胃0.2mL的 1×10^8 CFU植物乳杆菌LZ026稀释液,C组大鼠不做处理。30天后,对A、B两组大鼠进行相同流感病毒攻毒,记录A、B两组大鼠发病时间,结果如表1所示。A、B两组大鼠发病6h后进行体内抗体水平的测定,C组大鼠同时进行体内抗体水平的测定,结果如图2所示。

[0040] 表1A、B两组大鼠发病时间

	A 组				B 组			
[0041] 发病时间 (天)	2	2.5	2.2	1.9	3	3.5	4	3.8
平均值 (天)	2.15				3.575			

[0042] 由表1可知,B两组大鼠发病时间明显比A组发病时间长,说明B组大鼠对流感具有一定的免疫力,由此说明植物乳杆菌LZ026可以有效提高大鼠的免疫力。

[0043] 如图2可知,与C组相比,A、B两组大鼠发病6h后体内特异性抗体水平均显著升高,说明植物乳杆菌LZ026可以明显提高二次免疫过程中特异性抗体的浓度,提高机体的免疫力。

[0044] 实施例4植物乳杆菌LZ026的提高免疫力研究

[0045] 实验对象为近交系雌性小鼠,18-22g,每组10-15只,A、B两组,A组小鼠饲喂 1×10^8 CFU植物乳杆菌LZ026稀释液,B组不饲喂植物乳杆菌LZ026作为空白对照,其他饲喂条件相同,30天后对A、B两组小鼠进行以下实验。

[0046] (一)、ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞转化实验

[0047] 当T淋巴细胞受ConA刺激后发生母细胞发生增殖反应,活细胞特别是增殖细胞中的线粒体水解酶可将MTT(一种淡黄色的唑氮盐)分解为兰紫色结晶,其光密度值能反映细胞的增殖情况。应用该原理来测定淋巴细胞增殖反应。

[0048] a、仪器和材料

[0049] RPMI1640细胞培养液、小牛血清、2-巯基乙醇(2-ME)、青霉素、链霉素、刀豆蛋白A(ConA)、盐酸、异丙醇、MTT、Hank's液、PBS缓冲液(pH7.2-7.4)

[0050] 纱布或200目筛网、24孔培养板,96孔培养板(平底),手术器械、二氧化碳培养箱、酶标仪、721分光光度计、超净工作台、高压灭菌器、无菌滤器。

[0051] b、实验步骤

[0052] ①试剂配制

[0053] 完全培养液RPMI1640培养液过滤除菌,用前加入10%小牛血清,1%谷氨酰胺(200mmol/L),青霉素(100U/mL),链霉素(100 μ g/L)及 5×10^{-5} mol/L的2-巯基乙醇,用无菌的1mol/L的HCl或1mol/L的NaOH调pH至7.0-7.2,即完全培养液。

[0054] ConA液用双蒸水配制成100 μ g/mL的溶液,过滤除菌,在低温冰箱(-20 $^{\circ}$ C)保存。

[0055] 无菌Hank's液用前以3.5%的无菌NaHCO₃调pH至7.2-7.4。

[0056] MTT液将5mgMTT溶于1mLpH7.2的PBS中,现配现用。

[0057] 酸性异丙醇溶液96mL异丙醇中加入4mL1mol/L的HCl,临用前配制。

[0058] ②脾细胞悬液制备

[0059] 无菌取脾,置于盛有适量无菌Hank's液平皿中,用镊子轻轻将脾磨碎,制成单个细胞悬液。经200目筛网过滤,或用4层纱布将脾磨碎,用Hank's液洗2次,每次离心10min(1000r/min)。然后将细胞悬浮于1mL的完全培养液中,用台酚兰染色计数活细胞数(应在95%以上),调整细胞浓度为 3×10^6 个/mL。

[0060] ③淋巴细胞增殖反应

[0061] 将每一份脾细胞悬液分两孔加入24孔培养板中,每孔1mL,一孔加75 μ L ConA液(相当于7.5 μ g/mL),另一孔作为对照,置5%CO₂,37 $^{\circ}$ C CO₂孵箱中培养72h。培养结束前4h,每孔轻轻吸去上清液0.7mL,加入0.7mL不含小牛血清的RPMI1640培养液,同时加入MTT(5mg/mL) 50 μ L/孔,继续培养4h。培养结束后,每孔加入1mL酸性异丙醇,吹打混匀,使紫色结晶完全溶解。然后分装到96孔培养板中,每个孔作3个平行孔,用酶标仪,以570nm波长测定光密度值,结果如表2所示。

[0062] 表2

组别	光密度值		
	加 ConA	不加 ConA	差值
A 组(实验组)	2.85 \pm 0.14	2.26 \pm 0.11	0.59 \pm 0.06**
B 组(对照组)	1.72 \pm 0.09	1.29 \pm 0.07	0.43 \pm 0.05

[0064] c、数据处理及结果判定

[0065] 用加ConA孔的光密度值减去不加ConA孔的光密度值代表淋巴细胞的增殖能力,受试样品组的光密度差值显著高于对照组的光密度差值,可判定该项实验结果阳性。由表2可知A组的光密度差值显著高于B组的光密度差值,表明A组小鼠淋巴细胞的增殖能力较强,免疫力显著提高。

[0066] (二) 抗体生成细胞检测

[0067] 经过绵羊红细胞(SRBC)免疫的小鼠脾细胞悬液与一定量的SRBC混合,在补体参与下,使分泌抗体的脾细胞周围的SRBC溶解,形成肉眼可见的空斑。溶血空斑数可反映抗体生成细胞数。应用该原理来进行抗体生成细胞的检测。

[0068] a、仪器和材料

[0069] 二氧化碳培养箱、恒温水浴、离心机、手术器械、玻片架、200目筛网、SRBC、补体(豚鼠血清)、Hank's液、RPMI1640培养液、SA缓冲液、琼脂糖。

[0070] b、实验步骤

[0071] ①SRBC绵羊颈静脉取血,将羊血放入有玻璃珠的灭菌锥形瓶中,朝一个方向摇动,以脱纤维,放入4 $^{\circ}$ C冰箱保存备用,可保存2周。

[0072] ②制备补体采集豚鼠血,分离出血清(至少5只豚鼠的混合血清),将1mL压积SRBC加入到5mL豚鼠血清中,4 $^{\circ}$ C冰箱放置30min,经常振荡,离心取上清,分装,-70 $^{\circ}$ C保存。用时以SA缓冲液按1:8-15稀释。

[0073] ③玻片涂膜在清洁玻片上刷上一薄层琼脂糖(0.5g琼脂糖加双蒸水至100mL,加热溶解),干后可长期保存备用。

[0074] ④免疫动物取脱纤维的羊血,用生理盐水洗涤3次,每次离心(2000r/min)10min,计数细胞,每只鼠经腹腔或静脉注射SRBC $5 \times 10^7 \sim 2 \times 10^8$ 个。也可将压积SRBC用生理盐水配成2%(v/v)的细胞悬液,每只鼠腹腔注射0.2mL。

[0075] ⑤脾细胞悬液制备

[0076] 将SRBC免疫4~5天后的小鼠颈椎脱臼处死,取出脾脏,放在盛有Hank's液的小平

皿内,轻轻磨碎脾脏,制成细胞悬液,经200目筛网过滤,或用4层纱布将脾磨碎,离心(1000r/min)10min,用Hank's液洗2遍,最后将细胞悬浮在5mLRPMI1640培养液中,计数细胞,并将细胞浓度调整为 5×10^6 个/mL。也可将细胞悬浮在8mLHank's液。

[0077] ⑥空斑的测定

[0078] 将表层培养基(1g琼脂糖加双蒸水至100mL)加热溶解后,放45~50℃水浴保温,与等量pH7.2~7.4、2倍浓度的Hank's液混合,分装小试管,每管0.5mL,再向管内加50 μ L10%SRBC(v/v,用SA缓冲液配制),20 μ L脾细胞悬液(5×10^6 个/mL)或25 μ L脾细胞悬液,迅速混匀,倾倒入已刷琼脂糖薄层的玻片上,做平行片,待琼脂凝固后,将玻片水平扣放在片架上,放入二氧化碳培养箱中孵育1~1.5h,然后用SA缓冲液稀释的补体(1:8)加入到玻片架凹槽内,继续温育1~1.5h后,计数溶血空斑数,结果如表3所示。

[0079] 表3

[0080]		空斑数(PFC/ 10^5 脾细胞)
[0081]	A组(实验组)	143 \pm 38
	B组(对照组)	96 \pm 22

[0082] c、数据处理及结果判定

[0083] 用空斑数/ 10^5 脾细胞或空斑数/全脾细胞来表示,受试样品组的空斑数显著高于对照组的空斑数,可判定该项实验结果阳性。由表3可知,A组的空斑数显著高于B组的空斑数,表明A组抗体生成细胞多,产生的抗体多,免疫力显著提高。

[0084] (三)小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验

[0085] 利用巨噬细胞对光滑表面如玻璃表面具有粘附的特性,将含有巨噬细胞的腹腔液滴于载玻片上,加入鸡红细胞,孵育一定时间后,冲洗掉未粘附的细胞,固定染色,在显微镜下计数吞噬鸡红细胞的巨噬细胞的吞噬率和吞噬指数,据此判定巨噬细胞的吞噬能力。应用该原理来测定小鼠巨噬细胞的吞噬能力。

[0086] a、仪器和材料:

[0087] 显微镜、37℃孵箱、计数器、手术器械一套、注射器、滴管、胶头吸管、吸耳球、载玻片、染色槽、试管

[0088] ①玻片处理

[0089] 重复使用的载玻片要经洗液浸泡、洗净晾干后,经酒精浸泡过夜。用前以纱布拭干或晾干,否则会影响巨噬细胞粘附和镜检。在玻片上标号,用3%琼脂(配方见试剂部分)每个玻片上划两个圆圈(圆圈必须全封闭,否则液体会流出),晾干备用。

[0090] ②搪瓷或塑料盒:内垫半湿纱布(用温水湿透,置于孵箱内备用),纱布一定要平整。

[0091] ③试剂配制方法

[0092] 琼脂的配制:

[0093] 取琼脂3g,加水100mL,加热煮沸至透明,加入1%的溴甲酚紫指示剂1—2滴。

[0094] PBS缓冲液的配制方法:

[0095] KH_2PO_4 6.66g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 6.38g, 将上述试剂溶于1000mL蒸馏水中调pH值至7.2即成。

[0096] 鸡红细胞悬液:

[0097] 实验前取鸡颈静脉或动脉血, 置于盛有玻璃珠(20个左右)的三角瓶内, 连续顺一个方向充分摇动5~10min, 除去纤维蛋白, 4℃冰箱保存。实验前用生理盐水洗涤3次, 1500r/min, 离心10min, 弃去上清, 按血球压积用Hank's液配制成1%的红细胞悬液。

[0098] Giemsa染液:

[0099] I. 取Giemsa染料0.5g, 中性甘油33mL, 甲醇33mL。先将Giemsa染料置清洁研钵中, 加甘油后, 研磨片刻, 倒入棕色瓶内, 放置55~60℃水浴箱内2小时, 不断摇匀, 再加入甲醇摇匀, 保存备用。

[0100] II. 稀释姬姆萨氏染色液: 使用时, 用pH6.8的缓冲液8份, 加姬姆萨氏染色液原液1份, 即成应用液。

[0101] Giemsa染液脱色液: 配制方法: 甲醇20mL, 蒸馏水80mL。混合后加2N HCl_2 滴即成。

[0102] b、实验步骤

[0103] ①小鼠巨噬细胞的激活: 实验前4天给每只小鼠腹腔注射2%压积羊血红细胞0.2mL。用颈椎脱臼法处死小鼠, 腹腔注射加小牛血清的Hank's液4mL/只, 轻轻按揉腹部20次, 以充分洗出腹腔巨噬细胞, 然后将腹壁剪开一个小口, 用胶头吸管吸取腹腔洗液2mL于试管内(或用注射器)。

[0104] ②用1mL加样器吸取腹腔洗液0.5mL加入盛有0.5mL1%鸡血红细胞悬液的试管内, 混匀。用注射器(装大针头)吸取0.5mL混合液, 加入玻片的琼脂圈内。放置孵箱内37℃孵育15-20分钟。孵育结束后迅速用生理盐水将未贴壁细胞冲掉, 于甲醇液中固定1分钟, Giemsa液染色15分钟。用蒸馏水冲洗干净, 晾干, 用40×显微镜计数吞噬率和吞噬指数。吞噬率为每100个巨噬细胞中, 吞噬鸡红细胞的巨噬细胞所占的百分率; 吞噬指数为平均每个巨噬细胞吞噬鸡红细胞的个数, 实验结果如表4所示。

[0105] 表4

[0106]		吞噬率(%)	吞噬指数(%)
	A组(实验组)	45.82±1.78	87.36±5.14
	B组(对照组)	37.49±2.05	76.92±4.81

[0107] c、数据处理及结果判定

[0108] 受试样品组的吞噬百分率或吞噬指数与对照组比较, 差异均有显著性, 方可判定该项实验结果阳性。由表4可知, A组的吞噬率和吞噬指数显著高于B组, 表明A组小鼠吞噬细胞吞噬能力强, 免疫力显著提高。

[0109] 因此, 本发明所述的一种具有缓解流感和提高免疫力的植物乳杆菌LZ026, 具有显著的抗病毒, 缓解流感的效果, 同时还可以提高人体免疫力, 因此植物乳杆菌LZ026在食品、药品和保健品中进行应用, 具有巨大的应用前景。

[0110] 最后应说明的是: 以上实施例仅用以说明本发明的技术方案而非对其进行限制, 尽管参照较佳实施例对本发明进行了详细的说明, 本领域的普通技术人员应当理解: 其依然可以对本发明的技术方案进行修改或者等同替换, 而这些修改或者等同替换亦不能使修改后的技术方案脱离本发明技术方案的精神和范围。

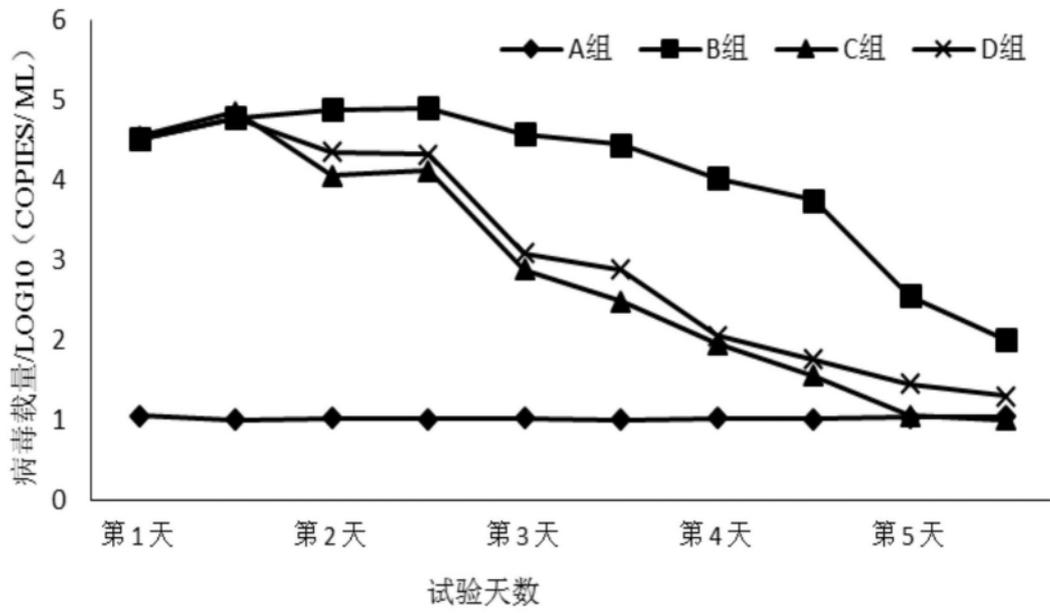


图1

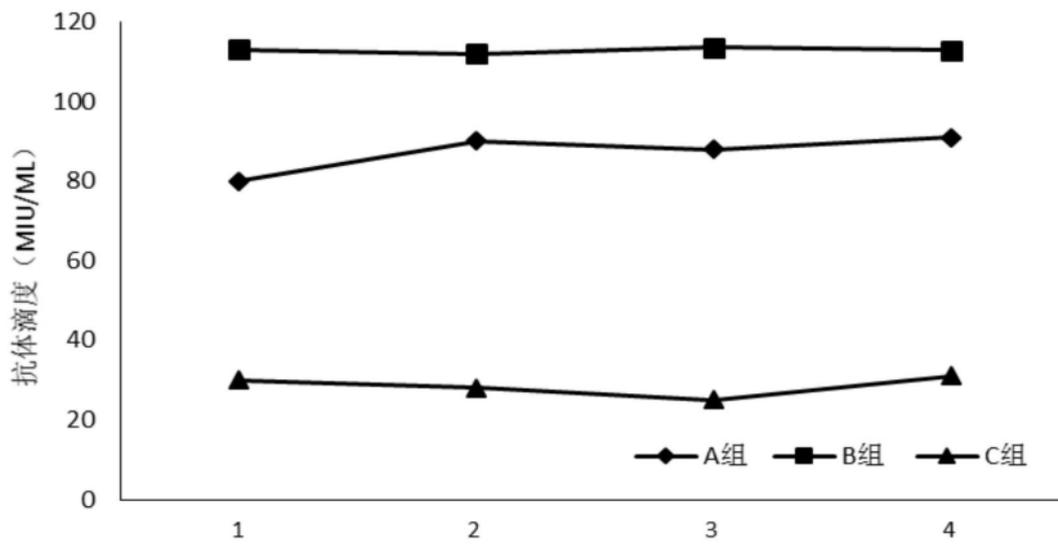


图2