

饮水中有机提取物对 CHO 细胞 SCE 的影响

秦钰慧 郭润荣 周世伟

(中国预防医学中心卫生研究所)

随着化学物质的大量使用, 饮水中的有机污染越来越引起人们的关注。据报道, 目前已从饮用水中鉴定出 750 多种化学物质, 其中 600 多种为有机化合物^[1]。因此将饮水中有机提取物的分离鉴定与短期生物试验相结合, 综合评价饮水中有机提取物的生物活性是十分有意义的。

中国地鼠卵巢(CHO)细胞姐妹染色单体交换(SCE)测试系统是国外常用的短期生物试验方法之一, 但在国内的使用还刚刚开始。本试验选用该测试系统评价了饮用水中有机提取物的致突变性。

方法和材料

一、饮水中有机物的提取和分离

1. 样品来源 第一批水样于 1982 年 8 月取自某市自来水龙头, 水样流经 XAD-2 柱, 流速为 50—60 升/小时。第二批水样于 1983 年 8 月采集, 采样地点和方法同第一批水样。

2. 总有机提取物样品的制备 将吸附在 XAD-2 柱上的有机物依次用 30% (V/V) 丙酮之甲醇液和丙酮洗脱, 洗脱液混合在一起, 用氮气吹干备用。水中总有机提取物在第一批和第二批水样中的含量分别为 0.54 和 0.48 毫克/升。

3. 总提取物 OE-S 组分(水溶性部分)样品的制备 用 30% 丙酮之甲醇液洗脱吸附在 XAD-2 柱上的有机物, 洗脱液浓缩至原体积的 1/4, 在冰箱中放置过夜, 用 G₃ 砂蕊漏斗过滤, 滤液用氮气吹干备用。OE-S 组分在第一

和第二批水样中的含量分别为 0.33 和 0.22 毫克/升。

4. 总提取物 A-A 组分样品的制备 在 OE-S 组分的分离中, G₃ 砂蕊漏斗上的沉淀用丙酮和甲醇进行洗脱, 洗脱液用氮气吹干, 溶于少量四氢呋喃中, 在 Sephadex LH-20 柱上, 用四氢呋喃洗脱, 截取低分子量部分, 洗脱液浓缩至干后, 用己烷浸溶以去除脂溶性部分。残渣用丙酮溶解后, 在硅胶柱上分离, 依次用己烷、丙酮和甲醇洗脱硅胶柱。取丙酮部分, 吹氮气浓缩至干。该组分在第一和第二批样品中的含量分别为 0.040 和 0.11 毫克/升。

二、CHO 细胞 SCE 测试系统^[2]

CHO 细胞培养于最低基础培养液中, 另补充非必需氨基酸和 10% 小牛血清, 在含 5% CO₂ 的培养箱中于 37°C 条件下培养。实验时, 在体外活化系统分别在肝匀浆 S₁ 成分存在和不存在的条件下, 将受试的水样提取物在 37°C 的培养箱中与细胞反应 2 小时。反应结束后, 吸去含受试物的培养液, 用 Hanks 液清洗, 加入含 20 μM 5-溴脱氧尿苷的培养液 5 毫升, 于黑暗的环境下在培养箱中培养 27 小时, 加入秋水仙素后 4 小时收获细胞, 制片, 用荧光素加姬姆萨分化染色法染色。对每一种处理的样品分析 25 个分裂相的 SCE 频率。结果经 *t* 测验, 比较受试样品与溶剂对照所诱发的 SCE 频率之间统计学差异。

三、受试样品的配制

将受试水样提取物溶于二甲基亚砜(DMSO)中, 放冰箱保存备用。阳性致突变

表 1 总提取物(I)对 CHO 细胞分裂周期和 SCE 频率的影响

受 试 物	浓 度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	II 期 细胞 (%)		SCE/细胞(平均数 \pm 标准误)	
		+S ₂	-S ₂	+S ₂	-S ₂
总提取物	50	90	43	8.72 \pm 0.64	7.12 \pm 0.80
	100	19	0	10.36 \pm 0.70*	—
	150	1	0	11.75 \pm 1.80**	—
	200	0	0	—	—
DMSO	1%	98	97	7.12 \pm 0.47	8.24 \pm 0.60
B(a)P	6.7	98	98	17.40 \pm 0.98	7.45 \pm 0.62

* 与对照样品有显著差异

** 未进行统计学处理,因计数细胞数少.

表 2 提取物(I)OE-S 和 A-A 组分对细胞分裂周期和 SCE 的影响

受 试 物	浓 度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	II 期 细胞 (%)		SCE/细胞(平均数 \pm 标准误)	
		+S ₂	-S ₂	+S ₂	-S ₂
提取物 OE-S 组分	25	93	73	5.80 \pm 0.52	5.12 \pm 0.39
	50	92	41	6.96 \pm 0.65	4.72 \pm 0.49
	75	69	11	7.56 \pm 0.50	5.25 \pm 0.45
	100	77	1	9.40 \pm 0.62	—
提取物 A-A 组分	25	89	90	8.52 \pm 0.57	6.24 \pm 0.62
	50	81	4	11.52 \pm 0.85*	—
	75	74	0	13.56 \pm 0.81*	—
	100	71	0	13.32 \pm 0.87*	—
DMSO	0.3%	92	91	7.88 \pm 0.58	5.96 \pm 0.52
B(a)P	6.7	—	74	19.75 \pm 1.65*	5.80 \pm 0.44

* 与对照样品有显著差异.

物选用 B(a)P 和黄曲霉毒素 B₁。阴性对照为 DMSO 溶剂。

结 果 和 讨 论

一、第一批样品的生物活性

将第一批水样的总提取物、OE-S 和 A-A 组分对 CHO 细胞分裂周期和 SCE 频率的影响情况列于表 1 和 2 以及图 1。

结果表明,无论总提取物或 OE-S 和 A-A 组分均对 CHO 细胞有明显毒性,能抑制细胞分裂和延缓细胞分裂周期。从表 1 和 2 以及图 1 中可以看出,随着剂量的增加,II 期细胞百分数显著减少,尤其在不加 S₂ 的情况下, A-A 组分抑制细胞分裂的能力最强。由于水样提取物抑制细胞分裂周期,当浓度高

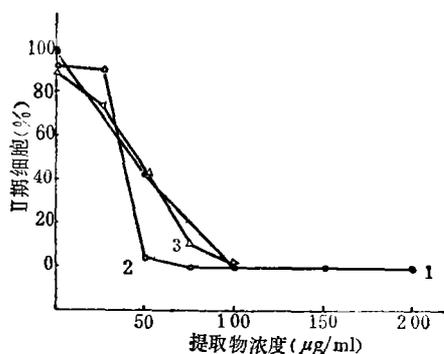


图 1 水提取物(I)对细胞分裂周期的影响

1—总提取物(-S₂); 2—A-A(-S₂);

3—OE-S(-S₂)

时,特别是当无 S₂ 的情况下,往往无法计数 II 期细胞的 SCE,故图 2 仅引用在 S₂ 存在条件下的资料。当总提取物浓度为 100 微克/毫升时,诱发 SCE 频率为 10.36/细胞,与对照样

表 3 总提取物 (II) 及其 OE-S 和 A-A 组分对细胞分裂周期和 SCE 频率的影响

受 试 物	浓 度 (微克/毫升)	II 期 细胞 (%)		SCE/细胞(平均数±标准误差)	
		+S ₁	-S ₁	+S ₁	-S ₁
总提取物	50	100	90	7.12±0.69	5.60±0.65
	100	99	26	6.56±0.49	6.20±0.57
	150	98	10	7.84±0.57	5.40±0.33
	200	96	—	9.76±0.80	—
OE-S 组分	50	100	91	8.48±0.66	7.32±0.66
	75	100	88	9.36±0.85	7.52±0.56
	100	98	100	8.64±0.57	6.68±0.58
	125	99	98	8.56±0.52	8.04±0.46*
	150	98	—	9.28±0.70	—
	200	97	—	7.88±0.64	6.20±0.59
A-A 组分	50	98	71	7.36±0.54	7.32±0.71
	75	99	17	7.16±0.55	6.00±0.20
	100	96	3	10.64±0.65*	—
	125	88	—	10.20±0.73*	—
	150	84	—	9.68±0.67	—
DMSO	0.5%	99	98	8.48±0.64	6.20±0.51
黄曲霉毒素 B ₁	2.5/10 ⁻³	97	97	14.48±1.01*	6.48±0.40

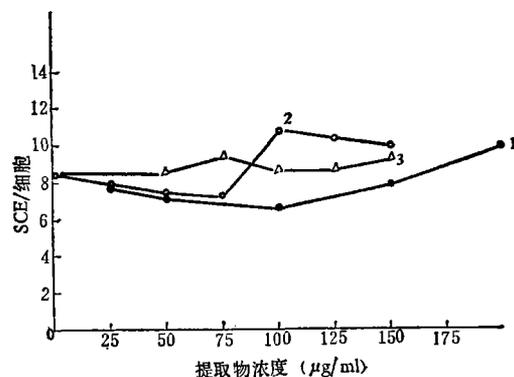
* 与对照样品有显著差异。

品比较有显著差异。当浓度为 150 微克/毫升时,因细胞毒性作用,仅能计数少量细胞的 SCE。OE-S 组分未引起 SCE 频率的明显增加,而 A-A 组分为 50 微克/毫升时即引起 SCE 频率的明显增加,并呈现一定的剂量-反应关系。

二、第二批样品的生物活性

将第二批样品总提取物及其 OE-S 和 A-A 组分对细胞分裂周期和 SCE 频率的影响总结于表 3,并绘于图 2。从所列结果可以看出,总提取物和 A-A 组分,在无 S₁ 的条件下,仍显示明显的细胞毒作用,抑制细胞分裂周期,当浓度为 100 微克/毫升时,使 II 期细胞百分数分别降到 26% 和 3%。经统计学处理,总提取物和 OE-S 组分在 S₁ 存在的情况下,未引起 SCE 频率的明显增加。而当 A-A 组分的终浓度达 100 微克/毫升时,即引起 SCE 频率的明显增加,呈现致突变活性。

综上所述,在 S₁ 存在的情况下,第一批样品总提取物显示一定的致突变活性,第二批样品的总提取物与对照样品相比,未见明显

图 2 提取物 (II) 对细胞 SCE 频率的影响 (+S₁)

1—总提取物; 2—A-A; 3—OE-S

活性。OE-S 组分在两批样品的试验中均未观察到明显的致突变活性。A-A 组分在两批实验中均引起 SCE 频率的明显增加。可见 A-A 组分与 OE-S 组分相比,前者是水样有机提取物中的一种活性成分,与 Ames 试验结果一致^[8]。这一事实说明,本文所采用的化学分离方法是可行的,可以把活性组分鉴别出来,

但是,还需要进一步分析活性组分和非活性组分所含有的有机化合物成分,从而鉴定出引起水样致突变性的主要化合物,以便采取有效措施去除这些有害成分。

参 考 文 献

- [1] WHO, Guidelines for Drinking Water Quality, Vol. I Recommendations, P. 59, 1984.
 [2] 秦钰慧、郭润荣,卫生研究,13(6),14(1984).
 [3] 徐风丹等,环境科学,6(2),2(1985).

甲基汞的遗传毒性

——诱变和致畸作用

李志超

(白求恩医科大学)

本世纪五十年代以来,世界上发生了几次触目惊心的甲基汞中毒事件^[1]。惨痛的教训引起有关学术界对汞污染防治的高度重视。但迄今这一问题尚未彻底解决。全世界每年汞产量约为 6950—10350 吨,仅有 20% 被回收,其余大部分排入环境^[2]。由此看来,汞对环境的污染日趋严重。继之,人们对环境中低剂量汞长期作用人体所产生的遗传损伤作用十分关切。近些年来,许多学者在该领域内做了大量的研究工作,本文仅就甲基汞对生物的遗传毒性研究报道综述如下。

一、甲基汞诱发细胞染色体畸变

1. 甲基汞对植物细胞染色体的作用

Ramel^[3] 报道洋葱根尖细胞培养液中,含有 2.5×10^{-7} 克分子 (0.05ppm) 浓度氯化甲基汞时,培养 48 小时则可诱发细胞 C—有丝分裂和类放射性染色体损伤。Fiskesjö^[4] 也曾报道氯化甲基汞诱发洋葱根尖细胞 C—有丝分裂的最低效应值为 5×10^{-6} 克分子 (1ppm) 浓度。Bielecki^[5] 又用相同实验系统研究了醋酸苯汞对洋葱根尖细胞染色体的作用,结果发现洋葱根尖细胞培养液中醋酸苯汞浓度为 1ppm 时,可使其产生 C—有丝分裂,当培养

液中醋酸苯汞浓度较高时,则诱发细胞染色体畸变。这些报道表明氯化甲基汞和醋酸苯汞对植物细胞具有遗传毒性。

Ramel^[6] 认为甲基汞引起洋葱根尖细胞类秋水仙素样 C—有丝分裂的异常,可能是甲基汞与细胞内巯基 (SH) 相结合,破坏纺锤体的结构和功能,进而导致细胞染色体数目的畸变。甲基汞引起细胞染色体结构上类放射性损伤,可能是其与细胞遗传物质相互作用的结果。

2. 甲基汞对哺乳动物细胞染色体的作用

Kato^[7] 采用体外培养单克隆中国仓鼠脑细胞作为模型系统,研究氯化甲基汞对其染色体的损伤作用。中国仓鼠脑细胞培养液中含有 1ppm 浓度氯化甲基汞,经过 2 小时培养后观察到中国仓鼠脑细胞染色单体和染色体畸变高于对照组。同时,作者还发现其染色单体和染色体畸变率与培养液中氯化甲基汞浓度呈正相关。

Shiramiza^[8] 长期给猫喂以含有氯化甲基汞的金枪鱼,观察其对猫淋巴细胞染色体的影响。作者把猫分为对照组和实验组。实验组分别喂以含有 0.667 和 0.995ppm 氯化甲基汞的金枪鱼,经过五年多的喂养,发现对照