

## 飼料添加物對中國田鼠細胞染色體之異常試驗

28-13

林士鈺\* 李新進 邱仕炎

1,000 及 333 ppm Carbadox 對中國田鼠卵巢細胞 CHO-K1 產生毒性，部份細胞脫落，分裂期細胞不易見到。111、37 及 12 ppm CBX 則產生二倍性染色體，但無其它染色體異常。Olaquinox 僅產生倍數性染色體。Furazolidone 及 Nitrovin 較 Carbadox 及 Olaquinox 更具細胞毒性，但均不引起染色體異常。

畜牧業者廣泛使用飼料添加物，這些添加物有些具有致突變性<sup>(1,2,5,7,10)</sup>。飼料添加物之致突變性常以原核細胞測試之，如常用之 Ames test<sup>(1,8,9)</sup>，亦有用真核細胞者<sup>(2,5,7,10)</sup>。真核細胞常測試其染色體異常(Chromosome aberration)，如 in vitro 之培養細胞或 in vivo 之小白鼠骨髓細胞<sup>(3,4)</sup>。本試驗以培養之中國田鼠卵巢細胞株測試飼料添加物之染色體異常。

Mitomycin C (MMC) 及 Colchicine 均為 Sigma 之產品，Giemsa 飽和溶液為 Merck 之產品。

(四) 培養液：

GIBCO 之 Ham's F-12 培養液。

(五) 培養皿：

Nunc 之 60 mm (O.D.) 培養皿，每一培養皿加入 4 ml 培養液。調整細胞數，使其每 ml 含 CHO-K1  $1.0 \times 10^6$  cells。

(六) 試驗方法<sup>(3,4,6)</sup>(部份更改)：

培養於含 10% 胎牛血清之 Ham's F-12 培養液之 CHO-K1 細胞 44 小時後換液，同時將藥物溶液，MMC 及 DMSO (如表 1) 各 20  $\mu$  l 加入培養皿內。22 小時後製作染色體。

製作染色體前 2 小時加入 50  $\mu$  g/ml Colchicine, 37°C 培養。以 0.025% Trypsin 收集細胞，加 0.075 M KCl 後靜置 10 分鐘。以甲醇-冰醋酸 (3+1) 固定染色體，再滴至載玻片上，在空氣中乾燥之，24 小時後以 2% Giemsa 溶液染色。在 1,000 倍油鏡下鏡檢之。

### 材料與方法

(一) 飼料添加物：

Carbadox (CBX)(台灣輝瑞公司)、Olaquinox (OLQ)(科威化學公司)、Furazolidone (FZ)(U.S.P.C.Inc.) 及 Nitrovin (NTV)(台灣氰胺公司)等均溶於 Dimethyl sulfoxide (DMSO)。

(二) 中國田鼠卵巢細胞

CHO-K1 細胞，分讓自日本殘留農藥研究所(東京)。

(三) 化學物：

\* 抽印本索取作者

台灣省畜衛所試驗所

表一 使用於本試驗之飼料添加物及陽性對照物質濃度

藥 物	濃		度 ( ppm )				
CBX	1,000	333	111	37	12	4	
OLQ	500	167	56	19	6	2	
FZ	1,000	500	167	56	19	6	2
NTV	1,000	500	167	56	19	6	2
MMC	40	8					

CBX: Carbadox

OLQ: Olaquinox

FZ: Furazolidone

NTV: Nitrovin

MMC: Mitomycin C

## 結 果

培養22小時後製作染色體比培養24小時可得較多分裂期細胞，但添加 Colchicine 50 ppm 與 100 ppm 則無差異。

陽性對照物質 MMC 會引起 CHO-K1 細胞之 Chromatid break、Chromosome break 及 Fragment (圖 2)，但溶劑 (DMSO，陰性對照)(圖 1) 則未見染色體異常。

1,000 及 333 ppm CBX 對 CHO-K1 產生毒性，部份細胞脫落，分裂期細胞不易見到。111、37 及 12 ppm CBX 則產生二倍染色體(圖 3)，此外，均見不到任何染色體異常。

167 及 56 ppm OLQ 可產生二倍性或三倍性染色體，而 19 及 6 ppm 則致二倍性染色體，此外，無任何染色體異常(圖 4)。

1,000、500 及 167 ppm FZ 均引起細胞毒性，依其濃度降低而減弱，前者可致 60~70% 細胞死亡脫落。FZ 可使染色體縮短但不引起染色體異常。

1,000、500、167 及 56 ppm NTV 均引起細胞毒性，前者使 80~90% 之細胞死亡脫落，而其它濃度之 NTV 使染色體縮短外均不見染色體異常。

Nitrofurans (FZ 及 NYV) 之細胞毒性較 Quinoxalin-N-Oxides 強，除使染色體縮短外，不見染色體異常，二者相似。

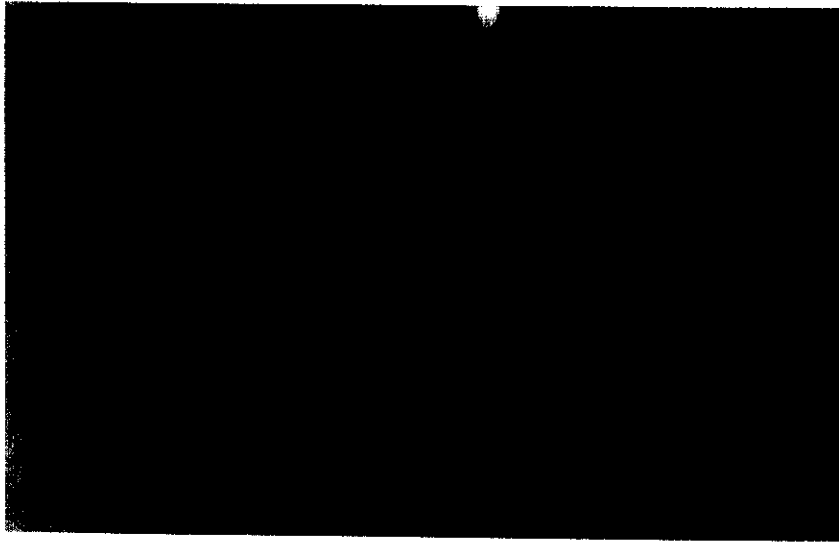


圖1 溶劑DMSO培養後之染色體

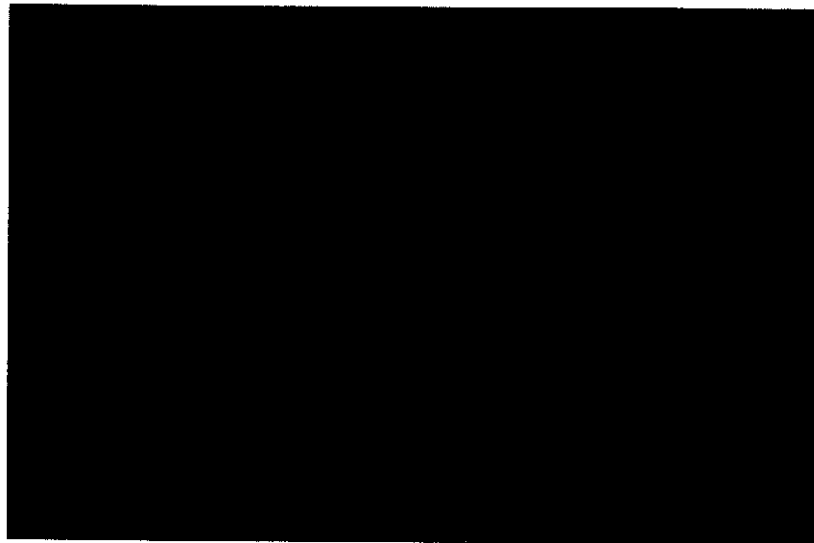


圖2 0.2 ppm MMC 培養後之染色體↑:Chromosome break

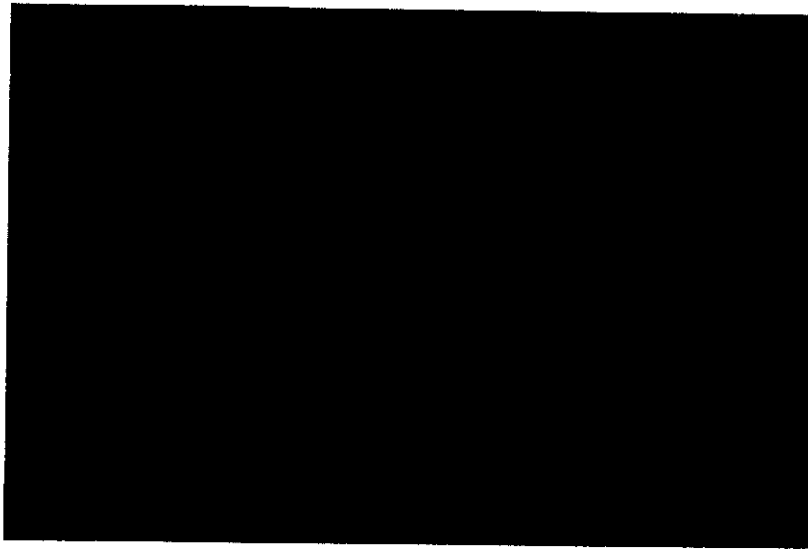


圖3 37 ppm CBX 培養後之染色體

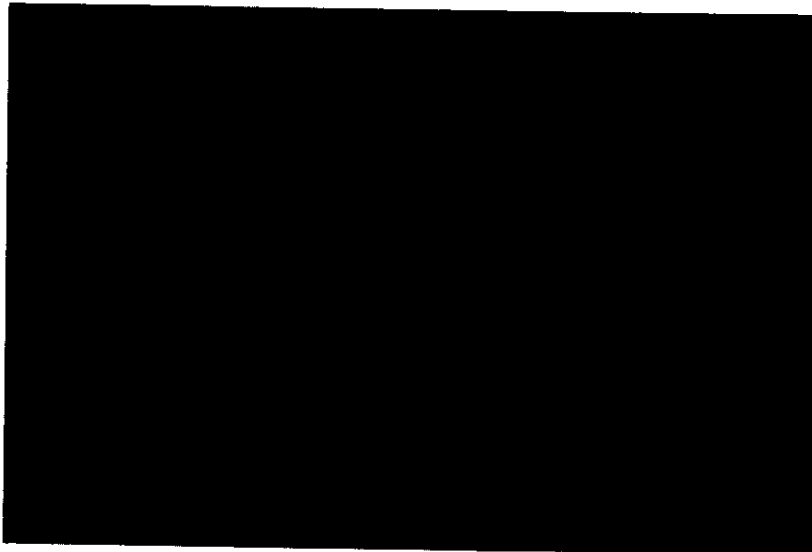


圖4 500 ppm OLQ 培養後之染色體

## 討 論

Quinoxalin-N-Oxides (CBX 及 OLQ) 對 CHO-K1 細胞僅產生倍數性，且均在5% 以下，應判定為非突變劑<sup>(4,6)</sup>，但由其它試驗可知它們確是致突變劑<sup>(1,2,5,7-10)</sup>，且非 Metabolic activating agents<sup>(1,4)</sup>，導致此種矛盾結果，可能是這些藥物對這種細胞不易產生染色體異常。因同一藥物對不同之測試方法可產生不同結果<sup>(7)</sup>。因找不到他人之報告<sup>(11)</sup>，故無從比較。

CBX 濃度超過 333 ppm 會對 CHO-K1 細胞產生毒性，此與 CBX 超過 3.3 mg/5 ml 時對中國田鼠 V79 細胞即具毒性<sup>(10)</sup>，濃度相近。

## 參 考 文 獻

1. 林士鈺、李新進、邱仕炎。1991。以 Ames test 及大腸菌 SOS 功能誘導活性篩選致突變性飼料添加物。台灣省家畜衛生試驗所研究報告，27:7-12。
2. 林士鈺、李新進、邱仕炎。1991。致突變性飼料添加物對中國田鼠卵巢細胞之同源染色體交換之影響。台灣省家畜衛生試驗所研究報告，27:13-15。
3. 日本環境變異原學會，哺乳動物試驗分科會。1988。化學物質による染色體異常アトラス。1988 p.p.朝倉書店，東京。
4. 白須泰彦、吐山豊秋。1985。新毒性試驗法，方法と評價，p.260-p.287。株式會社ソアテイズ社，東京。
5. Chihak, R. and M. Vontorkova. 1983. Cytogenetic effects of quinoxaline-1, 4-dioxide-type growth-promoting agents I. Metaphase analysis in mice. *Mutation Research*, 117:311-316.
6. Ishidate, M. 1987. Date book of chromosomal aberration test in vitro, p.31-p.46. Life-Science Information Center, Tokyo.
7. Knapp, A.G.A.C., C.E. Voogd, P.G.N. Kramers, G.F. van Went and J.H. Oud. 1983. Mutagenicity of feed additives. *Mutation Research*, 113: 270-271.
8. Ohta, T.M. Moriya, Y. Kanecla, K. Watanabe, T. Miyaszawa, F. Sugiyama and Y. Shirasu. 1980. Mutagenicity screening of feed additives in the microbial system. *Mutation Research*, 77:21-30.
9. Voogd, C.E., J.J. van der Stal and J. J.J.A.A. Jacpbs. 1980. The mutagenic action of quinoxin, carbadox, olaguinox and some other N-oxides on bacteria and yeast. *Mutation Research*, 78:233-242.
10. Scheutwinkel-Peick, M. and M.v.d. Hude. 1984. Sister chromatin exchange in Chinese hamster V79 cells exposed to quinoxin, carbadox and olaquinox. *Mutation Research*, 139: 199-202.
11. Silverplatter International N.V. 1985-1992.(Jan. to Apr.) Medline on Silverplatter, U.S.A.

## Chromosome Aberration Test of Feed Additives in Chinese Hamster CHO-K1 Cell

S.Y. Lin\*, S.C. Lee and S.Y. Chiu

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health

Chinese hamster CHO-K1 cell showed cytotoxicity when cultured in 1000 and 333 ppm of carbadox. Some of these cells died and mitotic cell could hardly be observed. However, the cells showed diploid chromosomes but no aberration when they were exposed to 111, 37 and 12 ppm of carbadox. Olaquinox induced polyploids only. Both furazolidone and nitrovin demonstrated more cytotoxic than carbadox and olaquinox but did not induced chromosome aberration.

---

\*Corresponding author

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health, Taiwan, R.O.C.