

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

林士鈺 李新進 邱仕炎

台灣省家畜衛生試驗所

以中國田鼠卵巢細胞 CHO-K1 測試 Carbadox、Olaquinox、Furazolidone 及 Nitrovin 之同源染色體交換，它們均呈陽性反應，其頻率依劑量之增加而增加。

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，亦有用真核細胞^(4,5,6)。染色體異常 (Chromosome aberration) 為真核細胞常測試之項目^(2,3)，而同源染色體交換 (Sister chromatid exchange, SCE，又叫姊妹染色體分體交換)^(1,3,4,5,6)，亦為其測試項目之一。本試驗以 Chinese hamster 卵巢細胞測試飼料添加物之 SCE。

試驗材料與方法

1. 藥物：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)。
2. 中國田鼠卵巢細胞：CHO-K1 細胞，分讓自殘留農藥研究所 (東京)。
3. 化學物：Bromodeoxy uridine (BrdU) 及 Mitomycin C (MMC) 為 Sigma 之產品、Giemsa 飽和溶液及 EDTA 4 Na 則為 Merck 之產品。GIBCO 之 Colcemid

(10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)。

4. 培養基：GIBCO 之 Ham's F-12 及 Eagle's MEM。
5. 試驗方法^(2,3) (部份更改)：

培養於含 10% 胎牛血清之 Ham's F-12 培養基的 CHO-K1 細胞 24 小時後將藥物溶液、MMC 及 DNSO 10 μl 加入細胞內作用 30 分後棄之，以 PBS 洗 2 次，加入含 20 μM BrdU 之 Eagle's MEM，37 $^{\circ}\text{C}$ 培養 44 小時。

製作染色體前 2 小時加入 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Colcemid，37 $^{\circ}\text{C}$ 培養。以 0.025% trypsin 收集細胞，加 0.075 MKCl 後靜置 10 分。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，48 小時後染色。

40 $^{\circ}\text{C}$ 下，在 30 ml 蒸餾水內加 0.6 g EDTA 4 Na 及 0.6 ml Giemsa 飽和溶液，以此染色 7 ~ 8 分計算每一細胞之 SCE。

結 果

由表 1 可知，CBX、OLQ、FZ 及

NTV 在 CHO-K1 細胞內可誘導 SCE，較 OLQ 強，FZ 亦較 NTV 強。其頻率依劑量之增加而增加，CBX 之 SCE

表1 飼料添加物對 CHO-K1 細胞之 SCEs

藥 物	劑 量 ($\mu\text{g} / \text{ml}$)		
	200	20	2
CBX	13.9 \pm 2.0 *	9.6 \pm 1.1	7.2 \pm 0.6
OLQ	10.0 \pm 1.3	8.0 \pm 1.3	6.1 \pm 1.1
FZ	15.0 \pm 2.6	10.0 \pm 2.3	10.0 \pm 2.1
NTV	13.2 \pm 2.0	9.2 \pm 1.4	7.5 \pm 1.8

* Mean \pm S.E.

** DMSO 之 SCEs 為 6.5 \pm 1.4

討 論

SCE 的產生代表 DNA 之複製產物在對等處發生交換。雖然 SCE 在分子生物學上的解釋還不清楚，但是一般認為 SCE 代表 DNA 受傷⁽¹⁾。準此，CBX、OLQ、FZ 及 NTV 會攻擊 DNA，公視為 S-dependent mutagens⁽¹⁾，亦即為一種基因毒性 (genotoxic) 物質。

藥物加入方法可全程加入 (即 2 cell cycles) 亦可短時間加入後除去^(1,3)，視藥物之毒性而定。例如，CBX 之濃度超過 3.3 $\mu\text{g} / 5 \text{ml}$ 時即具細胞毒性⁽⁶⁾，故加入 30 分後即除去，以免因細胞之死亡而掩蓋了 SCE 現象。

誌 謝

細胞培養承蒙楊喜金博士之協助，謹致謝忱。

參 考 文 獻

1. 詹崑源。1988。姊妹染色分體對比染色，科學發展月刊，十六(八)：1109 ~ 1121。
2. 石館基。1987。染色體異常試驗データ

集，國立衛生試驗所安全性生物研究センター變異原性部，東京。

3. 田島彌太郎、賀田恒夫、近藤宗平及外村晶。1988。環境變異原實驗法，講談社サイエンティフィック東京。
4. Hude, W.V.D., M., Scheutwinkel-Reich, S. Carstensen and L Beutin 1984. SCE induction by quindoxin, carbadox and alaquindox in V79 cells Mutation Research, 130: 256.
5. Latt, S.A., J. Allen, S.E. Bloom, A. Carrano, E. Falke, D. Kram, E. Schneider, R. Schreck, R. Tice, B. Whitfield and S. Wolff. 1981. Sister-chromatid exchanges: a report of the genetox program. Mutation Research, 87: 17-62.
6. Scheutwinkel-Reich, M. and W.V.D. Hude. 1984. Sisterchromatin exchange in Chinese hamster V79 cells exposed to quindoxin, carbadox and olaquindox. Mutation Research 139: 199-202.

**Sister Chromatid Exchange in Chinese Hamster CHO-K1 Cell
Exposed to Mutagenic Feed Additives**

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

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.

SUMMARY

Carbadox, olaquinox, furazolidone and nitrovin were subjected to the Chinese hamster CHO-K1 cell. All four compounds demonstrated a dose-dependent increase of SCE frequencies.