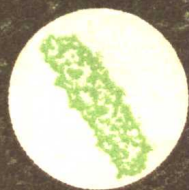


化学物质 致突变性检测法

HUAXUEWUZHIZHITUBIANXINGJIANCFAR



化学物质致突变性检测法

田岛弥太郎

〔日〕 吉田 俊秀 编

贺田 恒夫

谢 雄 唐玲光 宁 广 林梓桐 译

刘志成 于守洋 审校

人 民 卫 生 出 版 社

(日本) 田岛弥太郎 吉田 俊秀 贺田 恒夫

化学物质の突然変異性検出法

講談社サイエンティフィック, 东京

1978年9月1日第三次重印

化学物质致突变性检测法

謝 雄 唐玲光 宁 广 林梓桐 译

人民卫生出版社出版

(北京市崇文区天坛西里10号)

四川新华印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

787×1092毫米32开本 $9\frac{1}{4}$ 印张 195千字

1981年8月第1版第1次印刷

印数: 1—5,400

统一书号: 14048·3866 定价: 0.96元

内 容 简 介

本书系日本遗传学家、肿瘤学家、食品卫生学家等各方面 15 位学者共同编著。作者在现代分子生物学的理论基础上，以化学物质致突变为中心，深入探讨了环境中化学物质的遗传毒理学，特别是详细而系统地介绍了化学物质致突变性的检测方法。如微生物筛选法、细胞遗传学检测法、细胞培养检测法以及化学物质在体内代谢与在自然界循环中对诱变性的影响等等。本书是研究环境化学物质安全性的一本优秀参考书，可供环境科学、食品卫生学、生物学、毒理学以及有关专业的高等院校师生、科研工作者、预防医学工作者、有关高、中级检验工作者参考。

著 者 名 单

(按分担编写顺序排列, 著者后附数字为分担编写章节)

田岛弥太郎	(国立遗传学研究所所长 农学博士)	1
杉村 隆	(国立癌症中心研究所所长 医学博士)	2
松岛泰次郎	(东京大学医科学研究所癌生物学研究部助教授 理学博士)	2
岩原 繁雄	(食品药品安全中心 医学博士)	3-3.1, A
		3-3.1, B
贺田 恒夫	(国立遗传学研究所变异遗传部长 理学博士)	7-7.2
		8
德山 文武	(野村总合研究所生物科学研究部主任研究员 医学博士)	
		3-3.1, C
吉田 俊秀	(国立遗传学研究所细胞遗传部长 理学博士)	3-3.3, A, B
外村 晶	(东京医科齿科大学难治疾患研究所教授 理学博士)	3-3.3, C~F
土川 清	(国立遗传学研究所变异遗传部主任研究官)	3-3.4
黑田 行昭	(国立遗传学研究所形质遗传部室长 理学博士)	4
堀川 正克	(金沢大学药学部教授 理学博士)	4
白须 泰彦	(财团法人残留农药研究所毒性部长 农学博士)	5
内山 充	(国立卫生试验所食品部长 药学博士)	6
早津 彦哉	(东京大学药学部助教授 药学博士)	7-7.1
西岡 一	(同志社大学工学部生物化学教室助教授 医学博士)	8

目 录

前言	1
1. 化学物质的诱变作用	3
1.1 化学物质引起的突变作用	3
1.2 突变的种类及其危害性	4
1.3 化学物质引起突变的检测法及问题	6
A. 微生物检测法	6
B. 染色体畸变检测法	7
a. 体内 (in vivo) 法	7
b. 离体 (in vitro) 法	7
C. 显性致死法	8
D. 特定位点法	8
E. 哺乳类培养细胞的突变检测法	9
1.4 主要化学诱变剂及其作用	12
A. 烷化剂	12
B. 嘌呤及嘧啶类	13
C. 吡啶衍生物	14
D. 氨基甲酸酯衍生物	14
E. 抗菌素类	14
F. 生物碱类	14
G. 食品添加剂	14
H. 农药及其它	15
1.5 当务之急的国际协作	15
2. 致癌性和诱变性	17

2.1 致癌性和诱变性的关系	17
2.2 有助于理解癌变与突变有关的实例	17
A. 癌化一般认为是不可逆的过程	17
B. 关于所谓的“总和 (summation)”实验	18
C. 诱变物中多数有致癌性	18
D. 致癌物中有的具有诱变作用	18
E. 致癌物及其代谢产物多数可使 DNA 发生变化	21
F. DNA 损伤修复机能障碍的细胞易于癌化	21
G. 关于致癌物的代谢产物引起质体转换	
DNA 的不活性化	24
H. 由致癌性化学物质引起突变的分子机理	25
I. 多数致癌物引起染色体畸变	26
2.3 认为癌化和突变无关的事例及探讨	27
A. 某些致癌物没有诱变作用	27
B. 著名的诱变物中有的没有致癌性的报告	27
C. 致癌实验有很长的潜伏期	28
D. 能修饰 DNA 和引起染色体变化的不一定	
就是致癌物	29
E. 某种癌经过再分化而失去癌的性质	29
2.4 把癌理解为突变有何有利之点	30
3. 应用于药物检定的突变检测系统及其检测法	34
3.1 微生物一次筛选法	34
A. 作为预筛的致死感受性法	34
B. 利用微生物的一次筛选法	41
a. 细菌平板法	41
b. 紫外线修复缺陷型菌株的利用	43
c. Ames 氏的沙门氏菌法	44

C. 有关依赖性 (链霉素依存性) 的变异检出系统	49
a. Iyer 等所用的滤纸法	49
b. Demerec 等的试管法	53
D. 真核生物系统	56
a. 实验上的一般问题	57
b. 用霉菌类检测环境诱变物的方法	58
c. 其它	60
3.2 由代谢引起的诱变物活性的 消长及其测定	62
A. 宿主间介法	64
实验法	65
在宿主中的重组试验	67
B. 试管内代谢活化法 (in vitro metabolic activation assay)	67
实验材料及方法	68
反应时间	69
实验结果	70
3.3 诱变物的细胞遗传学检查法	72
A. 人类及各种实验动物的正常染色体	73
B. 核型分析	75
1) 人	77
2) 小鼠	77
3) 大鼠	77
4) 染色体的分带染色法	78
C. 检定系统	79
a. 活体内检定	80
b. 离体法检定	81

c. 染色体分析	81
D. 细胞分裂周期与染色体畸变	81
a. 细胞分裂周期	81
b. 染色体畸变出现的时期	83
E. 染色体畸变的种类	84
a. 染色单体型畸变	84
1) 无染色质损伤	84
2) 断裂	85
3) 互换	88
b. 染色体型畸变	88
1) 断裂	88
2) 互换	88
c. 非特定型畸变	89
d. 分裂后期的染色体畸变	89
F. 对检测结果的解释	89
G. 染色体标本的制作方法	90
a. 人的外周血培养法	90
b. 各种组织细胞培养法	91
c. 骨髓细胞 (直接法)	92
d. 生殖细胞	93
3.4 显性致死法	94
A. 什么是显性致死	95
B. 显性致死率的测定	97
C. 配子形成阶段和显性致死感受性	100
a. 关于精子形成	100
b. 关于卵母细胞	103
D. 种间感受性的差异	104

E. 检验方法	104
a. 实验规模和所需时间	104
b. 被检物给与量	105
c. 动物选择	106
d. 实验分组和交配	107
e. 胎仔检查	107
f. 检查结果的综合整理和显性致死诱发性的判定	109
g. 亚急性、慢性试验法	110
a) 急性试验	110
b) 亚急性试验	110
c) 慢性试验	110
4. 哺乳类培养细胞的突变	
4.1 用于诱变物检定法的培养细胞	113
4.2 由化学药剂引起的突变法	114
4.3 突变细胞的选择分离法	118
A. 过剩标记胸嘧啶核苷法	118
B. 5-溴脱氧尿嘧啶核苷 (BUdR) 可见光线照射法	119
C. 胸嘧啶饥饿法	124
D. 集团选择法	125
操作方法	126
E. 复制法	129
4.4 今后的研究方向	134
5. 药物代谢过程中诱变性相应的消长	138
5.1 化学物质在体内代谢和对突变的影响	138
5.2 2-乙酰氨基苄衍生物	139
5.3 其它芳胺和芳酰胺	142
5.4 多环芳烃	143

5.5 利用宿主中介法检出其代谢物	
有诱变性的化合物	146
5.6 新化学物质在环境中正在增加	147
6. 自然界中药物的循环	150
6.1 药物与机体内的靶	150
6.2 在自然界的变迁	150
A. 藉水循环的药物	151
B. 类似氮循环式的移动	152
C. 食物链与生物富集	155
D. 在动植物中的残留	156
E. 人体内的蓄积	158
6.3 关于蓄积与移行的几项特殊事例	159
A. 探索蓄积的靶器官	159
B. 药物半减期的变动	161
C. 与使用形态完全不同的药物作用形式	161
D. 关于所谓相乘作用	164
6.4 脱离原因物质的作用论是没有意义的	165
7. 化学诱变物引起突变的机理	167
7.1 化学机理	167
A. 化学突变的机理	167
B. 化学诱变物的反应方式	168
a. 碱基同系物 (base analogs)	168
b. 亚硝酸	173
c. 羟胺	175
d. 亚硫酸	177
e. 烷化剂	178
f. 吡啶类和氮杂菲类	180

C. 今后展望	182
7.2 生物机理	182
A. 突变前兆与突变固定	182
B. DNA 的复制, 损伤的排除和部分修复合成, 重组修复	183
C. 突变固定的机理	185
a. DNA 复制环节	185
b. 损伤部分的抽出、除去与部分修复合成等环节	187
c. 关于重组修复的作用	188
D. 在高等生物方面的机理	190
8. 诱变物一览表	193
表 8-1 主要化学诱变物的分类	193
表 8-2 化学诱变物及有关化合物 (按日文五十音顺序)	195
略字简释	262
附 复杂化合物的化学结构式	283

前 言

最近,人们之所以关注化学物质的“遗传毒性”,其理由概有如下几点。其一是,世界各国工业生产已有长足发展,在这一过程中产生了环境污染问题;加之随着人类消费型生活的扩大,人体就接触到了种种化学物质,其中包括大气污染物、医药品、农药、食品添加剂等。随着这些物质的增多,除急性毒性之外,也还不得不考虑包括人类遗传物质受损伤在内的慢性毒性。其二是,由于化学致癌研究工作的进步,已经看到大部分化学致癌物质的代谢物有诱变作用。基于这一事实,人们产生了癌化是否就是突变这一疑问,已经证明在诱变性与致癌性之间,存在着显著的相关性。

本书就是为了满足从我们所接触的各种物质当中,尽快检出那些有诱变活性的物质这一要求,而邀请有关专家们来编写并出版的。对本书稍加浏览,就会理解,遗传毒性的检测运用了近年来基础生物学的发展和成果。特别是充分应用了在分子水平上的遗传机理分析与化学物质在机体内代谢等有关知识。然而,明确地以遗传毒性检测与评价为目的的研究,毕竟时日尚浅,而这一领域又处于日新月异的状态,因而本书也就必然带有随着今后的进步而有待逐步完善的性质。

基于对环境中的化学物质对人类遗传所给予的危害的认识,1969年在美国创建了环境诱变物学会,1970年在欧洲,1972年在日本,同样的组织相继创立。1973年三个地区的组织召开了第一次联席会议,讨论了诱变物的检测方法以及机体内突变产生过程等。还讨论了关于使用有遗传毒性

的物质的立法问题，认为这个问题现在虽还没到实行阶段，但似可以诱变物的充分评价为依据而采取一些立法方法。这样，就使得对迄今没有明确意识到的遗传毒性，有了对它采取措施的重要性的认识，这对确保人类将来的安全，确是可喜之事。

关于第3章的检测法，在方法的细节上，国际上还没有标准化，而是尽可能按对将来的设想而努力予以引伸。与其设想由微生物到高等生物顺序地进行实验，将微生物的结果用高等生物来验证，而勿宁按多数人所强烈设想那样去进行；即在现在，就不问高等低等生物，不管是那种生物，只要是能得到确实的阳性的一种结果，就尊重这个结果，设计多种实验系列，就其结果相互比较而进行变异性评价。关于最后一章的表，由于没有充裕的时间对许多文献进行充分的选择，深感不足，有待于今后修订。

谨向对上述各点的重要性早有认识、对本书的问世不惜作出具体努力的讲谈社编者表示敬意，同时也希今后读者给予指正。

编 者

1 化学物质的诱变作用

1.1 化学物质引起的突变作用

最近,随着化学工业的急剧发展,人们在忧虑人工合成的化学物质对人类健康带来的有害影响。化学物质的使用虽给人类生活带来巨大的利益,相反地引起各种身体的和遗传的障碍的例子也不少。因而使用中必须尽可能努力减轻这些危险。为此,对各种化学物质的生物作用,必须有正确的认识。

对化学物质的诱变作用,有明确的认识,始于 Auerbach 和 Robson¹⁾ 用芥子气(mustard gas 或硫芥 sulfur mustard)作用于果蝇的实验。几乎同时Rapoport²⁾ 发现了二甲基硫的诱变作用。其后虽发现了多数化学物质有诱变作用,但也都主要是从遗传学的角度进行的研究。特别是研究清楚基因本身是由四种核酸碱基组合而成为遗传密码之后,研究化学物质引起的突变已经成为分子生物学领域的注意中心,而对于此类物质将给人类以何种影响这一点,关心的人却不多。

反应停引起海豹形畸形病³⁾的大量发生,对世界各地的医师和制药业的人们响亮地敲起了警钟,痛感到对化学药剂的致畸作用,有进行慎重调查的必要。遗传学者也以此为契机,逐渐认识到调查化学物质诱变性的必要。

具有这样的认识以后,便查明了在我们日常生活中用的食品添加剂、防腐剂、着色剂、嗜好品等,其中具有诱变作

用和致癌作用的物质意外地多。同时，也逐渐查明化学物质的诱变作用、致癌作用、致畸作用都具有相互的关联性，因而人们对诱变作用也渐渐寄与极大的关心。

本章叙述突变的一般性状，化学物质诱变性的检测法及其问题。还有迄今已知具有诱变性的主要化学物质及其特征。

1.2 突变的种类及其危害性

基因一般认为是稳定的，但其稳定性也不是绝对的，而有罕见的变化。一旦基因发生变化，在多数情况下，它所表现的作用也将发生变化，这就是突变。突变本身是以观察到的表现型的变化，来推测基因的变化，从而确定其遗传性来下定义的，所以不单包括由基因的质的变化所引起者，也包括染色体的形态与数量的变化。前者叫做基因突变，后者叫做染色体畸变以资区别（表1-1）。

表 1-1 突变的种类及其主要诱发原因

染色体畸变	数量的变化	- 倍数性—秋水仙素，高、低温 - 异数性（不分离）—加冷*，有机汞
	形态的变化	- 断裂，缺失—X线，氮芥 - 逆位—X线，氮芥 - 重复，易位—X线，氮芥
基因突变	碱基置换	5 BU, 2 AP, EMS
	碱基切除，插入	前黄素，吡啶橙
	主链切断	EMS

5BU: 5-溴尿嘧啶, 2AP: 2-氨基嘌呤, EMS: 甲磺酸乙酯

*译者注: 未查到适当译名暂存原文

细胞的染色体发生突变时，如异常显著细胞自身就会死亡。如是生殖细胞，这一现象可从对它的影响得到说明，其受精率随接受射线量和处理药剂投与量的增加而降低。投与量少，畸变程度不显著时，受精后不久由于致死作用，而呈现显性致死。畸变程度再轻一些，则出生前后死亡，或成为幼儿期死亡的原因。具有一个多余染色体的三倍体等虽能正常出生，也能发育，但多数伴有精神及身体的异常。程度更轻的畸变，如小的缺失或小的重复，虽没有特别显著的缺陷，但与后述的基因突变同样，比正常个体其生理机能或多或少差一些。

其次谈到基因突变将是怎样，因为不能有人类的实验资料，故引用果蝇的资料。Muller⁴⁾ 对此蝇照以极弱的 X 线后，把发生的突变收集起来，分类如图 1-1。

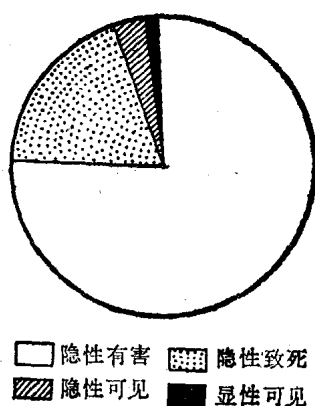


图 1-1 弱 X 线对果蝇照射时发生突变的分布

从图上可知，在出现的突变中，隐性者绝对地多，而且大部分是有害的突变。本图中关于可见突变部分也包括有害的变异，因此实际上出现的有害突变的比例还要大。这种情况在化学物质作用时也完全一样。如果从此例类推到人类，则在产生基因的突变中，包括着各种各样的影响，从障碍程度最显著的致死突变，到各种遗传病的突变，特别是有一些虽然没有形态的突变，但是却成为生理的虚弱，生殖能力的缺损或低下等的原因。