

Ames 试验中菌落呈色计数的探讨

韩惠娟 袁振华 查捷

(杭州市卫生防疫站毒理科)

摘要 本实验利用氯化三苯四氮唑 (TTC) 使革兰氏阴性菌显色的原理,在平板法 Ames 试验中,添加 TTC 浓度为 1 mg/皿时,使测试菌株(鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型株 TA97、TA98、TA100、TA102) 呈为红色。试验证明 TTC 本身无诱变性,亦不干扰阳性物(2-AF) 的诱变性。菌落呈色后便于菌落计数,并在一定程度上提高试验结果的准确性。

关键词 Ames 试验;氯化三苯四氮唑 (TTC)

Ames 试验是一项已为国内外广泛采用的筛选试验方法,以检测环境化学诱变剂和致癌物。此实验结果的判定是肉眼计数自发回变菌落数,为了便于计数菌落,提高实验结果的准确性,我们在常规 Ames 试验的基础上,采用了氯化三苯四氮唑 (TTC) 呈色计数自发回变菌落,并对 TTC 的致诱变性进行了测试。

材料和方法

1. 实验用菌株:鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型菌株 TA97、TA98、TA100、TA102 由北京卫生部药品生物制品检定所提供。

2. 呈色用试剂:1% 氯化三苯四氮唑 (2,3,5-Triphenyl tetrazolium chloride), 使用时用蒸馏水无菌配制。

3. 平板掺入试验^[1]:参照标准的 Ames 试验操作程序进行。呈色剂 TTC 以 1% 浓度,0.1 ml/皿量加入顶层管中。试验用培养基与 Ames 试验平板掺入法同。

结果与讨论

(一) 不同 TTC 浓度对菌落的呈色效果 结果见表 1。

从表 1 结果可见,使菌落显色的 TTC 最佳浓度为 1 mg/皿。

(二) TTC 的诱变性

结果见表 2,3。

从表 2 结果可见,加与不加 TTC 的回变菌落数无显著差异,说明 TTC 在未经活化条件下,无诱变性。

表 1 不同浓度 TTC 对菌落的呈色效果

TTC 浓度 (mg/皿)	回变菌落数*	
	TA98	TA102
1.0	20, 28	238, 224
0.2	18, 31	显色不佳
0.1	不显色	不显色
0.05	不显色	不显色
0	21, 28	252, 224

* 表中数字为两次测试的回变菌落数。

表 2 加入 TTC 对自发回变菌落数的影响

测试菌	TTC 加入量 (mg/皿)	回变菌落数*	
		加 TTC	不加 TTC
TA97	1.0	178, 162	156, 182
TA98	1.0	24, 29	20, 23
TA100	1.0	178, 174	187, 162
TA102	1.0	224, 280	276, 242

* 两次测试的回变菌落数;自发回变菌落数为:

TA97 = 90-180, TA98 = 30-50,

TA100 = 120-200 TA102 = 240-320

从表 3 结果可见, TTC 经 +S9 活化后未产生诱变性。

(三) TTC 对阳性诱变剂 2-AF 的诱变性影响

结果见表 4。

(下转第 297 页)

表3 TTC 在活化条件下的诱变性

测试菌	TTC 加入量 (mg/皿)	回变菌落数*	
		+S9	-S9
TA97	1.0	119	170
TA98	1.0	30	26.5
TA100	1.0	111.5	176
TA102	1.0	—	252

* 两次测试的平均菌落数;

“+S9”示加大鼠肝微粒体酶和辅助因子;

“-S9”示不加

表4 TTC 对阳性物 2-AF* 的诱变性影响

测试菌	TTC 加入量 (mg/皿)	+S9	
		加 TTC	未加 TTC
TA97	1.0	2480*	2280
TA100	1.0	2520	2100
TA102	1.0	3000	2280

* “2-AF”示 2-氨基蒽,为已知阳性诱变剂;
表中数字为两次测试的平均回变菌落数。

从表4结果可见,TTC 的加入不会干扰阳性物 2-AF 的诱变性;在活化条件下(+S9) 2-AF 得到阳性结果。

本实验中菌株显色原理在于 TTC 在细菌脱氢酶的作用下,还原为甲臍而使菌落呈红色^[2]。从本试验结果看,TTC 本身无诱变性,也不会干扰阳性物(2-AF)的诱变性,因此,添加 TTC 作为显色剂是可行的,在一定程度上可提高试验的准确性。但 TTC 对其他受试物的诱变性影响,还有待于进一步探讨。最后建议在正式测试中设 TTC 对照,以便对结果作出正确的判断。

参 考 文 献

- [1] Maron, D. M. and Ames, B. N.: Mutation Res, 113: 173—215, 1983.
- [2] 中国医学科学院流研所流脑室: 中华流行病学杂志, 2(1): 59—62, 1981.