

姜黄油抗突变作用机理进一步试验研究

赵泽贞 温登瑰 魏丽珍 支惠英 邱海灵¹

河北省肿瘤研究所 石家庄 050011 ¹河北医科大学第三医院

摘要 为进一步探讨姜黄油的抗突变作用机理,采用抗突变和致突变同步快速试验法对其做了四种处理方式的试验:A.姜黄油先与已知致突变剂丝裂霉素 C(MMC)接触,再加入遇到致突变剂即发生突变的指示菌;B.姜黄油先与上述指示菌接触,用生理盐水(NS)洗菌,最后加 MMC;C. MMC 先与指示菌接触,用 NS 洗菌,最后加姜黄油;D.姜黄油、MMC 和指示菌同时混合接触。以上四种方式在 37℃ 下接触 20min 后分别做试验。结果 A、B、C、D 四种方式的试验结果均显示姜黄油有抗突变效应,提示其既能保护细胞免受损伤又能促使已突变细胞的 DNA 修复;既有细胞外直接灭活致突变剂的抗突变作用,又有细胞内的抗突变效应。

关键词 姜黄油;抗突变;机理

A STUDY ON THE MECHANISM OF ANTIMUTAGENESIS OF TURMERIC OIL

Zhao Zezhen¹, Wen Denggui¹, Wei Lizhen¹ and Di Hailing²

¹Hebei Cancer Institute, Shijiazhuang 050011, ²The Third Hospital Of Hebei Medical University

Abstract To understand the mechanism of mutagenesis inhibitory effect of Turmeric oil, the authors designed a series of testing procedures to examine the inhibitory effect by Turmeric oil on the mutagenesis induced by Mitomycin(MMC) in *Escherichia Coil* lysogenic strain of GY5027 as indicated by GY4015 as following ways: A. GY5027 was added after Turmeric oil and MMC had been put together for 20 minutes. B. Turmeric oil was added after GY5027 had been treated with MMC for 20 minutes. C. MMC was added after GY5027 had been treated with Turmeric oil for 20 minutes. D. GY5027, Turmeric oil and MMC were put into together at the same time. Results found that in all of the above A, B, C and D experimental designs, the mutagenesis was significantly inhibited by Turmeric oil. This indicates that Turmeric oil might be able to inhibit mutagenesis both intercellularly and extracellularly and repair genetic damages caused by genotoxicant.

Key words Turmeric oil; Antimutagenesis; Mechanism

我们曾对姜黄油的抗突变作用进行过研究,多次试验结果有明显的抗突变作用⁽¹⁾,并逐渐被国外学者所证实^(2,3),有广阔的开发利用前景,但对其抗突变作用的机理尚未完全搞清。探求其抗突变作用机理,区分其是细胞外作用的抗突变剂还是细胞内作用的抗突变剂,并鉴别其是保护细胞免受损伤还是促进

已突变细胞的 DNA 修复、或是多种作用的结果,对研究开发应用途径及方式具有重要意义。本文报告用抗突变和致突变同步快速试验,依据姜黄油与 MMC 及指示菌的多种不同接触方式的特殊设计,揭示其抗突变作用的部分机理。

材料与amp;方法

1 检品、对照剂及标准菌种

- 1.1 检品:已知有抗突变作用的姜黄油。
- 1.2 致突变阳性对照剂:0.05mg/ml 的 MMC。
- 1.3 抗突变阳性对照剂:100mg/ml 的维生素 C (Vit. C)。
- 1.4 阴性对照剂:生理盐水。
- 1.5 标准试验菌种:遇到致突变剂即发生突变并释放噬菌体的菌株为 GY5027,对上述噬菌体敏感的菌株为 GY4015。试验前做菌种鉴定均符合原生物学特性。

2 试验设计:试验前将姜黄油、MMC 和 GY5027 菌株进行以下四种方式的接触处理:

- 2.1 A. 0.3ml 的姜黄油和 0.3ml 的 MMC 混合 20min 后加入指示菌。
- 2.2 B. 0.3ml 的姜黄油和 0.7ml 菌液混合 20min 后离心弃上清液,用 NS 洗菌,最后加 MMC。
- 2.3 C. 0.15ml MMC 和 0.85ml 菌液混合 20min 后离心弃上清液,用 NS 洗菌,最后加姜黄油。
- 2.4 D. 0.25ml 的姜黄油,0.25ml MMC 和 0.5ml 菌液同时混合 20min。

以上四种方式混合 20min 在 37 温箱中进行。

3 结果的分析:按照上述设计得到的试验结果将产生以下七种情况之一:

- 3.1 A 和 D 姜黄油抗突变阳性但 B 和 C 阴性,则提示姜黄油只具有灭活 MMC 致突变性的细胞外抗突变作用。
- 3.2 B 和 D 抗突变阳性而 A 和 C 阴性,提示姜黄油只具有保护细胞免受损伤的抗突变作用。
- 3.3 C 和 D 抗突变阳性而 A 和 B 阴性,提示姜黄油只具有促使已突变细胞 DNA 修复的细胞内抗突变作用。
- 3.4 B、C 和 D 抗突变阳性,只有 A 阴性,则提示姜黄油既有保护细胞免受损伤又有促使突变的细胞修复的细胞内抗突变作用,但对致突变剂无灭活的作用。
- 3.5 A、B 和 D 抗突变阳性,只有 C 阴性,提示姜黄油既有灭活 MMC 致突变的细胞作用又有保护细胞免受损伤的抗突变作用,但无使突变的细胞 DNA 修复的效应。

3.6 A、C 及 D 抗突变阳性,只有 B 阴性,提示姜黄油既有使 MMC 致突变性灭活的细胞外作用,同时又有促使突变的细胞 DNA 修复的细胞内抗突变作用,但不能确定是否具有保护细胞免受损伤的作用。

3.7 A、B、C 及 D 全部出现抗突变阳性,即可认为姜黄油具有上述多种综合的抗突变作用。

4 试验方法

4.1 各种培养基的制作、菌种的活化处理、加菌铺皿按抗突变和致突变同步快速试验程序进行⁽⁴⁾。

4.2 加检品及各种对照剂:按照本室建立的抗/致突变同步试验方法,用长 7cm 宽 0.5cm 的灭菌滤纸条沾 MMC 液贴在平皿半固体表面直径线上,用长 2.5cm 宽 0.5cm 的灭菌滤纸条分别沾 MMC、Vit. C、NS、姜黄油垂直贴在 MMC 长纸条上。每皿等距平行贴三条呈“#”状,为标准对照。上述各种处理后的检品按同样贴条方式处理。每个样品各做三个平行对照。

4.3 培养:将贴好条的平皿全部置 37 温箱培养,6 - 12h 内观察结果。

4.4 判断结果的标准:试验平皿半固体表面菌苔背景生长良好并有散在分布均匀的自然回变噬菌斑;标准对照中的 MMC 长、短纸条周围有密集的噬菌斑,超过背景一倍以上;Vit. C 及姜黄油纸条周围噬菌斑减少一倍以上或消失,尤其与 MMC 长纸条相交处更明显;NS 纸条周围无变化,则认为试验成功。其它各种不同检品纸条与标准对照进行对比,如与 Vit. C 及姜黄油纸条反应一致则判为该检品抗突变阳性,与 NS 一致为阴性,与 MMC 反应一致为致突变阳性。

结果

1 标准对照试验结果:培养 6h 后开始观察,结果在 7h 后各个平皿半固体表面菌苔背景均出现了散在均匀的噬菌斑,MMC 的长、短条周围有密集的噬菌斑,多于背景三倍以上,Vit. C 及姜黄油纸条周围无噬菌斑,NS 纸条周围无变化,即证实标准对照试验成功,MMC 致突变阳性;Vit. C 及姜黄油抗突变阳性;NS 为阴性,既无致突变性也无抗突变性。

2 四种处理方式检品的试验结果:A、B、C、D 四种处理方式的检品的试验结果,与同时做的标准对照试验相比较,均出现了符合判断结果的标准反应,

A. B. C. D. 反应结果均呈现了姜黄油抗突变阳性反应,表明姜黄油具有多种综合抗突变作用,即:既有细胞外直接灭活致突变剂的抗突变作用又有细胞内的抗突变作用;既能保护细胞免受损伤又能促使突变的

细胞 DNA 修复(附表)。此外该试验结果 B 的反应自然背景噬菌斑及 MMC 周围与标准对照有所减少,而 C 表现有所增多、但不影响判断结果。

附表:姜黄油抗突变机理试验结果

处理方式 检 品	标准对照				A(GY)			B(TO + GY)			C(M + GY)			D(TO + M + GY)		
	NS	TO	Vit. C	M	NS	TO+M	M	NS	TO	M	NS	TO	M	NS	TO	M
致突变	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
抗突变	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-

注:GY:代表指标菌;TO:代表姜黄油,M:代表 MMC

讨 论

1 本研究结果进一步提示了姜黄油的部分抗突变机理,证实其有多种方式的抗突变性能,预示其应用方式及途径可灵活多样,为应用研究提供了参考依据,应用前景有望。

2 该试验设计是在多年做抗突变和致突变试验中探索出来的,不用复杂昂贵的仪器设备,通过致突变物、指示菌及被检物三者之间多种不同处理方式,在一定温度及一定时间的条件下,用抗突变和致突变同步快速试验即能揭示出抗突变物的作用机理,可区分细胞外或细胞内的作用,也可区分保护细胞免受损伤或促进突变的细胞 DNA 修复。快速、简便有实用意义⁽⁵⁾。

3 由于 B 的处理过程是用姜黄油先作用于指示菌,然后在遇到致突变剂 MMC 时显示不再发生突变,据此推断姜黄油能起到保护指示菌细胞免受 MMC 损伤的作用;而 C 的处理方式是用致突变剂 MMC 先作用于指示菌,督其发生突变最后加入姜黄油,其反应结果未产生噬菌斑,提示细菌得到修复,进而推断姜黄油可能既能保护细胞免受损伤又有使突变细胞 DNA 修复。但其保护及修复过程尚难推断。

4 因为 A 处理方式先用姜黄油作用于致突变剂 MMC,结果显示 MMC 失去了致突变活性,提示姜黄油存在与指示菌细胞接触之前直接灭活致突变剂的作用;由 C 处理方式的反应结果说明突变细胞可以

得到修复,即显示了细胞内的抗突变效益。但试验方法不同,作用原理及遗传终端不同,改用其它试验能否得到相似结果有待验证。

5 抗突变和致突变同步快速试验最适宜上述试验设计,因在同一试验中能同时显示抗突变和致突变两种结果,故在同批试验中可得到判断物质的抗突变部分机理。

6 B 处理方式的试验结果中,平皿半固体表面菌苔背景自然回变噬菌斑比标准对照有所减少,这与姜黄油先接触有关,提示姜黄油可使部分自然突变细胞 DNA 修复,在一定意义上也佐证了 C 处理方式的试验结果重现性,C 方式的试验结果中自然变噬菌斑相对增多,是 MMC 先与指示菌接触的必然结果。

7 姜黄油为直接抗突变剂,故不用做加 S₉ 试验。

参考文献

- 1 赵泽贞,黄民提,秦榆荣,等. 姜黄油的抗突变及致突变性试验研究. 中国中西医结合杂志,1991;11 增刊:329
- 2 stoner GD, Mukhtar H. Polyphenols as cancer chemopreventive agent. *J Cell Biochemo Suppl*, 1995;22:169
- 3 Oda Y. Inhibitory effect of curcumin on SOS functions induced by UV irradiation. *Mutat Res*, 1995;348(2):67
- 4 赵泽贞,黄民提,魏丽珍. 抗诱变及诱变同步快速试验方法的研究. 中国公共卫生学报,1992;11(1):41
- 5 赵泽贞,温登瑰,魏丽珍. 一种快速显示抗突变作用机理的试验设计. 癌变 畸变 突变,1998;10(3):187

(1998 - 08 - 31 收稿;1998 - 11 - 21 修回)