

禾谷镰刀菌产毒影响因子预测微生物学筛选*

徐得月¹, 王伟¹, 陈西平², 林肖惠¹, 李玉伟¹, 李凤琴¹

摘要:目的 对可能影响禾谷镰刀菌产毒的关键因子进行筛选,为不同自然条件下预测禾谷镰刀菌的产毒情况和粮食防霉提供实验手段。方法 以禾谷镰刀菌为材料,以玉米、小麦和大米为基质,对影响禾谷镰刀菌产毒的重要因素变量(温度、通气量、水分含量、pH 值、光照、培养基量、基质成分、培养时间等)进行筛选,构建 L18-Hunter 和 Plackett-Burman 模型(PB 模型)。结果 L18-Hunter 模型的实验结果表明,3 株禾谷镰刀菌受试菌株中仅菌株 3.4522 产 3-A-DON、15-A-DON 以及毒素总量的模型拟合结果有统计学意义,回归方程系数效应检验结果显示,水分含量和培养时间是影响禾谷镰刀菌 3.4522 产 3-A-DON、15-A-DON 及毒素总量的关键因子;PB 模型实验结果表明,就脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)及毒素总量的绝对值以及 DON、玉米赤霉烯酮(ZEN)、DON 及其衍生物、B 类单端孢霉烯族化合物及毒素总量浓度的对数值而言,该模型显著(P 值分别为 0.034 5、0.014 8、0.002 2、0.002 9、0.006 8、0.006 7 和 0.000 6),模型 R^2 分别为 0.812 4、0.861 6、0.928 7、0.921 6、0.894 5、0.895 1 和 0.954 3,回归方程系数显著性检验结果显示,培养时间、温度和培养基初始 pH 值是影响禾谷镰刀菌 3.452 2 产毒的关键因子。结论 培养时间、一定范围内(20%~50%)的水分含量、温度和培养基初始 pH 值是影响禾谷镰刀菌产毒的关键因子。

关键词: 预测微生物学;禾谷镰刀菌;产毒

中图分类号: R 181.2+4

文献标志码: A 文章编号: 1001-0580(2013)01-0072-05

Screening of toxin production influence factors of *Fusarium graminearum* with predictive microbiology method

XU De-yue*, WANG Wei, CHEN Xi-ping, et al (Institute of Nutrition and Food Safety, China Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100021, China)

Abstract: **Objective** To screen key factors affecting toxin production of *Fusarium graminearum* (*F. graminearum*) with predictive microbiology for prediction of toxin production under different natural conditions. **Methods** The L18-Hunter and Plackett-Burman (PB) models were developed based on wheat kernels, corn flakes, and rice inoculated with *F. graminearum* to screen the important factors (temperature, ventilatory capacity, water content, pH value, illumination, the amount and ingredients of the medium, and incubation time) which may affect the toxin production of *F. graminearum*. **Results** The results of L18-Hunter model showed that only 3-acetyl-deoxynivalenol (3-A-DON), 15-acetyl-deoxynivalenol (15-A-DON) and total toxins produced by strain 3.4522 were statistically significant. The coefficients of the regression equations indicated that water content and incubation time were the key factors affecting the production of 3-A-DON, 15-A-DON and total toxins by *F. graminearum* strain 3.4522. While the results of Plackett-Burman model designed on the basis of L18-Hunter results showed that the absolute concentration of doxynivalenol (DON) and the total toxins, logarithm concentration of DON, zearalenone (ZEN), DON and its derivatives, type B trichothecenes, and the total toxins were statistically significant ($P = 0.0345, 0.0148, 0.0022, 0.0029, 0.0068, 0.0067, \text{and } 0.0006$), respectively. The R^2 of the models were 0.8124, 0.8616, 0.9287, 0.9216, 0.8945, 0.8951, and 0.9543, respectively. The coefficients of the regression equations showed that incubation time, temperature, and initial pH value of the matrix were the key factors for toxin production of *F. graminearum* strain 3.4522. **Conclusion** Incubation time, water content within a certain range (20–50%), temperature, and initial pH value of culture base are the key factors affecting toxins production of *F. graminearum*.

Key words: predictive microbiology; *Fusarium graminearum*; toxin production

禾谷镰刀菌是田间侵染谷物的一种重要产毒真菌,中国北方地区的玉米、小麦、大豆等均不同程度的受到其污染。产毒真菌在谷物中生长繁殖产生有毒代谢产物,当人畜食入被真菌污染的食物或饲料

以后,真菌毒素同时进入机体,引起急性或慢性中毒。某些真菌毒素因少量、持续食入而引起癌症^[1]。禾谷镰刀菌可产生 A、B 2 类单端孢霉烯族化合物和玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN),其产毒素种类和产毒水平受众多环境因素如温度、湿度、谷物生长期间的降雨量、光照时间等影响^[2-6]。对禾谷镰刀菌产毒条件的研究不仅可以确定影响毒素产量的主要环境因素,还可以预测该菌在自然条件下的产毒情况。本研究通过 L18-Hunter 和 Plackett-Burman 模型设计,对可能影响禾谷镰刀菌产毒的众多因子进行了筛选,为禾谷镰刀菌侵染及其毒素污

* 基金项目: 国家自然科学基金(81072307); 国家“十一五”科技支撑计划重点项目(2009BADB9B00)

作者单位: 1. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100050; 2. 中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品研究所

作者简介: 徐得月(1982-),女,河北唐山人,实习研究员,硕士,研究方向:食品微生物。

通讯作者: 李凤琴, E-mail: lifengqin0224@gmail.com

染的预防和控制提供依据。

1 对象与方法

1.1 材料 能产生单端孢霉烯族化合物和 ZEN 的禾谷镰刀菌 3.4521 和 3.4522、非产毒株禾谷镰刀菌 3.4598(中国科学院微生物研究所);小麦、玉米和大米购于北京市农贸市场,并按照文献[7]报道方法对相关毒素的本底含量进行测定。产毒实验完毕后,菌株实际的产毒量应为毒素的实测值减去原粮食中同种毒素的本底含量。

1.2 主要仪器与试剂 生物安全柜(Class II Type A2,美国 Labconco Corporation 公司),真菌培养箱(MIR-253,日本 SANYO Electronic Co, Ltd),高压灭菌器(MLS-3750,日本 SANYO Electronic Co, Ltd),烘箱(AX120,英国 CARBOLITF 公司),光照培养箱(HPG-280B,哈尔滨东联电子技术开发公司),匀浆器(T25,德国 IKA 公司),氮吹仪(美国 Organomation associates 公司),ACQUITY TM Ultra Performance LC 分离单元和 Quattro premier XE 三重四级杆串联质谱仪(美国 Waters 公司),Mycosep226 型多功能净化柱(美国 ROMER 公司),马铃薯-葡萄糖-琼脂培养基(PDA,北京三药科技开发公司),甲醇(美国 Dikma 公司,色谱纯),乙腈(美国 Fisher 公司,色谱纯),甲酸(美国 Fluka 公司,分析纯)。

1.3 相关溶液 0.01 mol/L pH 7.4 的磷酸盐(phosphate buffer solution, PBS)缓冲液,按文献[8]要求配置;乙腈-水溶液(84:16, v/v);40% 甲醇水溶液;10 种真菌毒素的标准储备液:50 μg/mL ZEN 乙腈溶液、103.7 μg/mL T-2 毒素乙腈溶液购自美国 SUPELCO 公司,100 μg/mL 脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)乙腈溶液、49.6 μg/mL DON-3-葡萄糖苷(DON-3-glucoside, DON-3-G)乙腈溶液、104.0 μg/mL 15-乙酰化-DON(15-Acetyl-DON, 15-A-DON)乙腈溶液、101.1 μg/mL 3-乙酰化-DON(3-Acetyl-DON, 3-A-DON)乙腈溶液、100.9 μg/mL 雪腐镰刀菌烯醇(nivalenol, NIV)乙腈溶液、101.6 μg/mL HT-2 毒素乙腈溶液、102.2 μg/mL 二乙酰蕈草镰刀菌烯醇(diacetoxyscirpenol, DAS)乙腈溶液、102.1 μg/mL 镰刀菌酮-X(*Fusarenon X*, FX)乙腈溶液(美国 ROMER 公司)。分别吸取一定体积的 10 种真菌毒素单标储备液于 10 mL 棕色容量瓶中,用 40% 的甲醇水溶液定容至刻度,制成 100 ng/mL 的毒素标准混合工作液,4 ℃ 保存备用。

1.4 方法

1.4.1 小麦、玉米和大米 3 种培养基的制备 按照 GB/T 5009.3-2003 用直接干燥法^[9]测定小麦、玉米和大米中本底水分含量后,分别称取 100 g 小麦、玉米渣和大米各 18 份,置于 1 000 mL 三角瓶中,分别用 pH 4.5 或 pH 9.0 的 PBS 缓冲液(事先用盐酸或氢氧化钠将 0.01 mol/L pH 7.4 的 PBS 调至 pH 4.5 和 pH 9.0 两种缓冲体系)按表 1 要求将 3 种粮食的水分含量分别调至 20% 或 50%,充分混匀后 121 ℃ 高压灭菌 15 min,冷却至室温后打散,次日 121 ℃ 2 次高压灭菌后备用。

1.4.2 L18-Hunter 模型(表 1) 为了解环境因素对禾谷镰刀菌产毒量的影响,探究适宜于真菌产毒的预测微生物学模型,本实验选择可能影响禾谷镰刀菌产毒的温度、水分含量、初始 pH 值、培养时间、通气量、培养基成分、光照等 7 个因子作为自变量,将毒素产量作为响应值,进行 L18-Hunter 设计,以观察上述因素对禾谷镰刀菌产毒的影响。实验用 3 株禾谷镰刀菌传代活化后,无菌条件下分别用接种针挑取长有菌丝体的一小块 PDA 培养基,置于 3 种制备好的粮食培养基中(每个菌株每种培养基接种 6 个瓶子,3 种培养基每株菌共接种 18 瓶),充分混匀后,分别于 18 ℃ 和 35 ℃ 条件下按照表 1 中的实验设计进行预测微生物学产毒研究。实验完毕后培养物按照文献[8]方法进行毒素的提取、净化和分析。

1.4.3 Plackett-Burman 设计(PB 设计)(表 2)

PB 设计法是一种两水平的试验设计方法,它可以利用最少的实验次数,从众多的观察因素中快速有效地筛选出影响产毒的主要因子,被广泛地用于因子主效应的估计^[10],因而本研究从众多实验设计中选择 PB 模型进一步研究。(1)培养基制备:根据 L18-Hunter 模型结果,禾谷镰刀菌在玉米基质中产毒比小麦和大米两种基质要好,因此 PB 模型中仅选择玉米为实验基质。称取 12 份市售玉米渣(每份 100 g)于 1 000 mL 锥形瓶中,用 pH 4.5 或 pH 9.0 的 0.01 mol/L PBS 缓冲液按表 2 要求将水分含量分别调至 50% 和 90%,充分混匀后 121 ℃ 高压灭菌 15 min,室温下冷却后手拍锥形瓶将玉米渣打散,次日 121 ℃ 重复高压灭菌处理 1 次。(2)产毒实验:实验用菌种传代活化后,无菌条件下用接种针挑取长有菌丝体的小块 PDA 培养基,置于制备好的玉米培养基中,充分混匀后,分别于 20 ℃ 和 35 ℃ 条件下按照表 2 中的 PB 实验设计条件进行预测微生物学产毒研究,按文献[7]进行毒素的提取、净化及测定。

表 1 L18-Hunter 实验设计及拟合阳性结果

实验编号	温度(℃)	水分含量(%)	pH	培养时间(d)	通气量	培养基	光照	毒素水平(μg/kg)		
								3-A-DON	15-A-DON	毒素总量
1	18	50	9.0	42	振荡	大米	连续光照	0.5	0.7	1 211.2
2	35	20	4.5	42	振荡	小麦	明暗交替	0.8	0.8	10.2
3	35	50	4.5	42	静置	玉米	明暗交替	187.9	1 355.9	5 868.2
4	18	50	9.0	4	静置	小麦	明暗交替	0.0	0.0	1.3
5	35	20	9.0	4	振荡	玉米	连续黑暗	0.6	0.0	1.1
6	35	50	9.0	4	静置	小麦	连续光照	1.2	0.3	13.5
7	18	20	4.5	42	振荡	小麦	连续光照	0.0	0.0	0.0
8	18	50	4.5	4	振荡	小麦	连续黑暗	0.0	2.5	3.4
9	35	20	9.0	42	静置	小麦	连续黑暗	0.0	0.0	3.5
10	18	20	4.5	4	静置	大米	连续黑暗	0.0	0.0	0.0
11	18	50	4.5	42	静置	玉米	连续黑暗	46.7	813.7	1 581.2
12	35	20	4.5	4	静置	大米	连续光照	0.8	0.1	1.7
13	18	20	9.0	4	振荡	玉米	明暗交替	0.0	0.0	0.7
14	18	20	9.0	42	静置	玉米	连续光照	0.0	0.0	2.8
15	35	50	4.5	4	振荡	玉米	连续光照	0.9	0.0	1.2
16	18	20	4.5	4	静置	大米	明暗交替	0.0	0.0	0.0
17	35	50	9.0	42	振荡	大米	连续黑暗	97.7	746.6	2 749.8
18	35	50	9.0	42	振荡	大米	明暗交替	125.0	610.6	2 892.5

注:1. 明暗每 12 h 交替一次;光照时用 36 W 日光灯距离培养物 10 cm 的位置照射;2. 振荡时手动用力拍打培养瓶,每天早晚各一次,每个培养瓶每次拍打约 1 min;3. 连续光照是指整个实验期间培养物白天黑夜持续接受光照照射,连续黑暗是指整个实验期间培养物不接触任何光线;4. 毒素总量为 DON、NIV、ZEN、3-A-DON、15-A-DON、DON-3-G、DAS、HT-2、T-2 和 FX 10 种镰刀菌毒素之和;5. 毒素水平一栏中仅列出了在 $\alpha=0.05$ 水平模型拟合结果有统计学意义的毒素,模型拟合结果无统计学意义的其他毒素未列。

表 2 Plackett-Burman 实验设计

实验编号	温度(℃)	水分含量(%)	初始 pH 值	培养时间(d)	培养基(g)
1	35	90	9.0	49	150
2	20	90	4.5	49	150
3	20	50	9.0	4	150
4	35	50	4.5	49	100
5	20	90	4.5	4	150
6	20	50	9.0	4	100
7	20	50	4.5	49	100
8	35	50	4.5	4	150
9	35	90	4.5	4	100
10	35	90	9.0	4	100
11	20	90	9.0	49	100
12	35	50	9.0	49	150

1.5 统计分析 采用 JMP 7 软件对实验数据进行统计分析。

2 结果

2.1 L18-Hunter 设计实验结果 对 3 株禾谷镰刀菌产毒的回归方程进行方差分析,按 $\alpha=0.05$ 标准,仅菌株 3.4522 产 3-A-DON、15-A-DON 以及 10

种毒素总和的模型拟合结果有统计学意义(模型的 P 值分别为 0.042 5、0.011 8 和 0.040 1),模型 R^2 分别为 0.802 0、0.863 0 和 0.805 4,表明毒素产量 80.20%、86.30% 和 80.54% 的变异分布归咎于模型中的温度、水分含量、初始 pH 值、培养时间、通气量、培养基成分和光照这 7 个因子中的某一个或某几个,亦即其总变异中仅有 19.80%、13.70% 和 19.46% 的变异不能由该模型解释。具体的产毒实验阳性结果见表 1。对上述回归方程系数进行效应检验,结果表明,在可能影响禾谷镰刀菌产毒的温度、水分含量、初始 pH 值、培养时间、通气量、培养基成分、光照等 7 个因子中,仅水分含量(P 值分别为 0.029 3、0.007 4 和 0.018 9)和培养时间(P 值分别为 0.030 2、0.007 4 和 0.018 9)2 个因子差异有统计学意义,即是影响禾谷镰刀菌 3.4522 产 3-A-DON、15-A-DON 及 10 种毒素总量的关键因子。

2.2 PB 模型实验结果(表 3) 对禾谷镰刀菌 3.4522 产毒的回归方程进行方差分析,结果表明,按 $\alpha=0.05$ 标准,当响应值为 DON 浓度绝对值、DON 浓度对数值、ZEN 浓度对数值、DON 及其衍生物浓度的对数值、B 类单端孢霉烯族化合物浓度对数值、毒素总量浓度绝对值及对数值时模型拟合结

果有统计学意义 (P 值分别为 0.034 5、0.002 2、0.002 9、0.006 8、0.006 7、0.014 8 和 0.000 6), 模型 R^2 分别为 0.812 4、0.928 7、0.921 6、0.894 5、0.895 1、0.861 6 和 0.954 3, 表明毒素产量 81.24%、92.87%、92.16%、89.45%、89.51%、86.16% 和 95.43% 的变异分布在模型的温度、水分含量、初始 pH 值、培养时间和培养基量这 5 个因子中的某一个或某几个, 亦即其总变异中有 18.76%、7.13%、7.84%、10.55%、10.49%、13.84% 和 4.57% 不能由该模型解释。对上述回归方程系数进行显著性检验, 结果表明, 在可能影响禾谷镰刀菌产毒的温度、水分含量、初始 pH 值、培养时间和培养基量等 5 个

因子中, 培养时间是影响禾谷镰刀菌 3.4522 产 DON 的关键因子 ($P = 0.006 0$); 对 DON 对数值而言, 培养时间和温度是影响禾谷镰刀菌 3.4522 产 DON 的关键因子 (P 值分别为 0.000 2 和 0.021 2); 对 ZEN、DON 及其衍生物浓度对数值、B 类单端孢霉烯族化合物浓度对数值和 10 种毒素总量浓度绝对值而言, 培养时间是影响禾谷镰刀菌 3.4522 产上述毒素的关键因子 (P 值分别为 0.000 2、0.000 6、0.000 6 和 0.001 8); 对 10 种毒素总量对数值而言, 培养时间和初始 pH 值是影响禾谷镰刀菌菌株 3.4522 产 10 种毒素总量的关键因子 ($P < 0.000 1$ 和 $P = 0.033 4$)。

表 3 PB 模型拟合阳性结果

实验编号	温度 (°C)	水分含量	初始 pH	培养时间 (d)	培养基量 (g)	毒素水平						
						DON 绝对值	DON 对数值	ZEN 对数值	DON 及其衍生物对数值	B 类单端孢霉烯族化合物对数值	毒素总量	
											绝对值	对数值
1	35	0.9	9.0	49	150	757.71	2.88	1.44	2.94	2.95	917.07	2.96
2	18	0.9	4.5	49	150	569.78	2.76	3.66	2.95	2.96	5 508.40	3.74
3	18	0.5	9.0	4	150	16.69	1.22	-0.21	1.56	1.56	36.52	1.56
4	35	0.5	4.5	49	100	1 104.77	3.04	3.73	3.18	3.20	6 896.17	3.84
5	18	0.9	4.5	4	150	48.46	1.69	0.72	2.00	2.03	111.37	2.05
6	18	0.5	9.0	4	100	16.41	1.22	0.44	1.38	1.38	27.05	1.43
7	18	0.5	4.5	49	100	644.25	2.81	3.41	3.40	3.40	5 069.87	3.70
8	35	0.5	4.5	4	150	54.21	1.73	0.84	2.02	2.02	110.91	2.04
9	35	0.9	4.5	4	100	56.80	1.75	0.61	2.14	2.14	140.82	2.15
10	35	0.9	9.0	4	100	81.07	1.91	0.52	2.12	2.13	137.97	2.14
11	18	0.9	9.0	49	100	121.39	2.08	3.27	2.37	2.39	2 091.87	3.32
12	35	0.5	9.0	49	150	1 769.14	3.25	3.07	3.45	3.46	4 092.87	3.61

注: 毒素绝对值即为检测值 (单位为 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 对数值是绝对值的常用对数。

3 讨论

预测微生物学是一门基于微生物学、数学、统计学和应用计算机科学的新兴学科, 其核心是建立完善的预测微生物学模型, 通过模型描述一定条件下微生物的生长情况^[11]。预测微生物学是食品微生物学的重要组成部分, 在食品安全领域发挥着越来越重要的作用。

由于 L18-Hunter 模型仅对 2 个禾谷镰刀菌产毒株中的 1 株菌 (禾谷镰刀菌 3.4522) 有意义, 对另一产毒株禾谷镰刀菌 3.4521 无意义, 且 7 个影响因子中仅有 2 个有意义, 因此需要探寻其他的适宜模型, 或对实验参数进行调整, 以准确预测禾谷镰刀菌产毒的影响因素。根据 L18-Hunter 模型的实验结果, 通气量、培养基成分、光照等分类变量对产毒影响不明显, 且水分含量为 20% 时产毒量很少或基本上不产毒, 因此采用经 L18-Hunter 模型拟合为阳性

的禾谷镰刀菌菌株 3.4522 为实验菌株, 以禾谷镰刀菌最易生长繁殖的玉米为基质, 以前次 L18-Hunter 设计所得结果为基础并改进, 提高水分含量, 去掉通气量、培养基成分、光照等对产毒影响不显著的分类变量, 选择温度、水分含量、初始 pH 值、培养时间再加上培养基量作为自变量, 毒素产量作为响应值, 进行 PB 模型研究。在 L18-Hunter 模型中, 基质水分含量是影响镰刀菌产毒的关键因子, 而在 PB 模型中, 由于基质水分含量由原来的 L18-Hunter 设计的 20% 和 50% 调整到 50% 和 90%, 导致基质水分含量未成为关键因子。是因为基质水分含量在一定范围内增加时, 毒素产量也会增加, 而当超过一定范围时, 毒素产量不会随着基质水分含量的增加而增加, 同理, 当基质水分含量低于一定水平时, 禾谷镰刀菌不生长、生长不良、产毒很少或基本上不产毒。因此基质水分含量在一定范围 (20% ~ 50%) 内是影响毒素产生的关键因子。且在 PB 模型设计中温度和

基质初始 pH 值也成为关键因子,可见同一菌株不同实验条件下的毒素产量对关键因子的筛选起主导作用。此外,由于响应值选用毒素产量的对数值时模型拟合度较好且能筛选出更多的关键因子,因此当毒素产量不为零时最好使用其浓度的对数值作为响应值进行模型的拟合。

本研究通过对禾谷镰刀菌产毒预测微生物学的研究,可快速地了解禾谷镰刀菌的生长特性及在一定条件下的产毒情况,从而实现了对食品品质的预测,并以此为依据优化粮食生产、运输和储存的最佳条件。实验结果表明,基质水分含量比温度对真菌生长的影响更大,因此可作为小麦、玉米和大米中镰刀菌生长和产毒的良好预报器,同时可作为小麦、玉米和大米中霉菌生长和毒素产生其他模型研究的参考参数。进一步的工作重点将在实验室内建立的模型在田间粮食作物上进行验证,以观察镰刀菌实际生长及产毒情况。

参考文献

[1] 孙武长,刘桂华,杨红,等. 粮食中真菌及真菌毒素污染调查

[J]. 中国公共卫生,2005,21(12):1532.

[2] 陆鸣,王裕中,陈怀谷,等. 禾谷镰刀菌产毒素培养条件及粗毒素提取法[J]. 江苏农业学报,1992,8(1):30-34.

[3] 石晓燕,邓福友. 禾谷镰刀菌液体培养产毒条件研究初报[J]. 河北农业大学学报,1992,15(4):34-38.

[4] 鲍文生,李群伟. 镰刀菌的培养及其毒素的分离和提纯[J]. 中国地方病防治杂志,2002,17(1):32-34.

[5] 王裕中, J. D. 米勒. 中国小麦赤霉病菌优势种—禾谷镰刀菌产毒素能力的研究[J]. 真菌学报,1994,13(3):229-234.

[6] 李群伟,李德安,孟宪清. 影响镰刀菌生长与产毒的基本因素的研究[J]. 中国地方病学杂志,1998,17(6):355-358.

[7] 于钊钊,邵兵,李凤琴,等. 粮食中隐蔽型脱氧雪腐镰刀菌烯醇等多组分真菌毒素协同检测技术[J]. 中华预防医学杂志,2010,44(8):736-740.

[8] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009.22-2003 食品中黄曲霉毒素 B1 的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2003.

[9] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009.3-2003 食品中水分的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2003.

[10] Miller A, Sitter RR. Using the folded-over 12-run Plackett-Burman design to consider interactions[J]. Technometrics,2001,3:44-54.

[11] Whiting RC. Microbial modeling in foods[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition,1995,35(6):467-494.

收稿日期: 2011-08-02

(韩仰欢编辑 张翠校对)

· 实验研究 ·

PCB153 对 INS-1 细胞毒性作用及机制*

何平^{1,2}, 阮晓倩¹, 丁晶莹¹, 金喜¹, 曹亦菲¹, 谭晓华¹, 孙鹂¹, 杨磊¹

摘要:目的 探讨 2,2',4,4',5,5'-六氯联苯(PCB153)对体外培养胰岛 β 细胞株(INS-1)细胞毒性作用及机制。方法 PCB153 设 3 个剂量组(1,3,6 μmol/L),二甲基亚砜(DMSO)为溶剂对照组,染毒 INS-1 细胞 24 h 后,检测细胞存活率、凋亡、活性氧(ROS)水平、Caspase 3 和 Caspase 12 等凋亡相关基因表达水平。结果 3、6 μmol/L PCB153 剂量组细胞存活率分别为(80.9 ± 8.7)% 和(42.2 ± 4.3)%,与对照组比较均有下降(P < 0.05);3 μmol/L PCB153 剂量组 ROS 为(9.2 ± 0.4)、凋亡率为(30.7 ± 3.4)%,6 μmol/L PCB153 剂量组 ROS 为(13.7 ± 1.6)、凋亡率为(40.4 ± 1.3)%,与对照组比较,ROS 水平和细胞凋亡率均增加(P < 0.05);与对照组比较,3 μmol/L PCB153 剂量组 Caspase 3 及 3,6 μmol/L PCB153 剂量组 Caspase 12 基因表达水平均有增加(P < 0.05)。结论 PCB153 可诱导 INS-1 细胞凋亡,氧化应激和内质网信号通路可能参与 PCB153 对 INS-1 细胞的毒性作用。

关键词:2,2',4,4',5,5'-六氯联苯(PCB153);INS-1 细胞;细胞凋亡;活性氧

中图分类号:R 181.2+4

文献标志码:A

文章编号:1001-0580(2013)01-0076-03

Toxic effect and its mechanism of PCB153 on INS-1 cells

HE Ping*, RUAN Xiao-qian, DING Jing-ying, et al (*Municipal Key Discipline and Specialties for Occupational and Environmental Health, School of Health Management, Hangzhou Normal University, Hangzhou, Zhejiang Province 310036, China)

Abstract: Objective To assess the toxic effect and its mechanism of 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl(PCB153) on pancreatic β-cell line(INS-1) cells. Methods INS-1 cells were exposed to PCB153(1,3, and 6 μmol/L) in vitro. Dimethyl sulfoxide(DMSO) was used as solvent control. After 24 hours, the rate of cellular survivors, percentage of apoptosis, intracellular reactive oxygen species(ROS) level, and expression levels of caspase 3 and caspase 12 genes were

* 基金项目:浙江省教育厅新苗计划项目(2011R421035);杭州师范大学科研启动基金(HSQK0061)

作者单位:1. 杭州师范大学健康管理学院 劳动卫生与环境卫生学市重点学科,浙江 杭州 310036; 2. 新疆自治区职业病防治院

作者简介:何平(1975-),男,四川西充人,讲师,博士,研究方向:环境毒理学。