

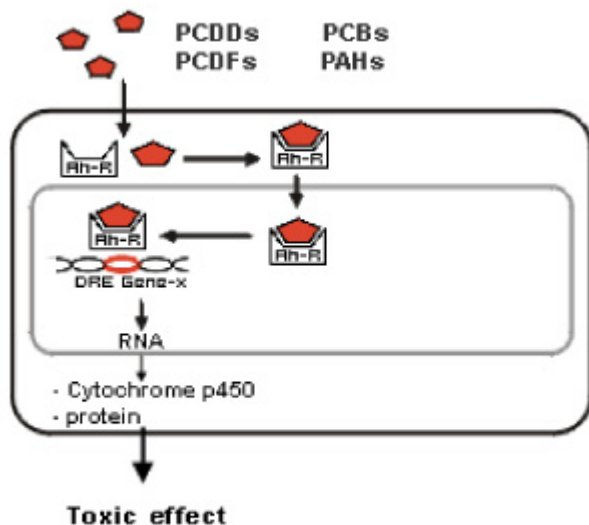
戴奧辛生物快速篩選方法介紹

一、前言

戴奧辛類化合物具有在生物體中長久累積之特性，因此屬於持久性污染物 (persistent pollutants, POPs)，再加上其有致癌性、致突變性等毒害，因此有『世紀之毒』之稱。2002年7月歐盟為減少歐盟人民從食物中攝取過多戴奧辛類化合物，因此，設定許多種食物及飼料中戴奧辛類化合物之標準，相關產品上市前都須檢測戴奧辛含量，所以產生樣品數量急劇增加且須在短時間完成檢測之難題。國內環境介質是否受到戴奧辛污染之問題，一直是受到國人所重視，因此，造成本所也面臨如同歐盟國家所遭遇之相同難題。過去傳統之戴奧辛檢測大都藉由如高解析度質譜儀等化學方法進行，其分析雖相當準確但相對的成本也非常昂貴且耗時，並無法有效解決目前之難題。由於戴奧辛含量可由藉由其對生物產生毒性而推估，因此研發出準確性高之生物快速篩選技術應是可行之道，而目前較成熟之生物快速篩選方法之一就是細胞毒性檢測方法，其中又有以荷蘭BioDetection Systems(BDS)公司開發之Chemically Activated Luciferase Expression (CALUX)細胞檢測方法較常被各國所採用，因此本文以其為例，希望藉由此介紹可讓讀者對戴奧辛之生物快速篩選方法有所初步瞭解。

二、戴奧辛類化合物毒性機制

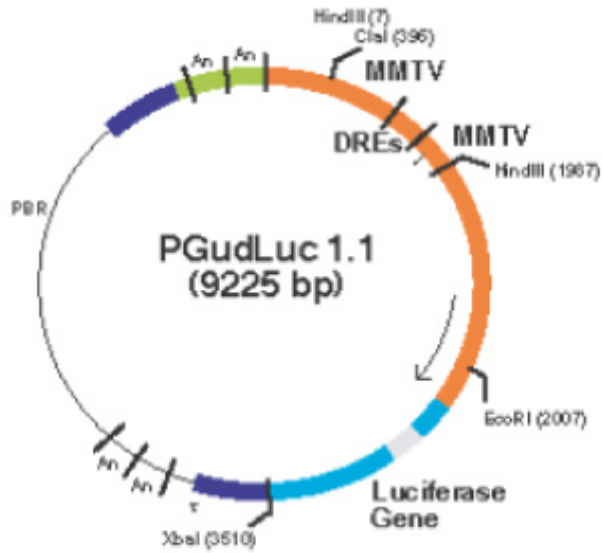
戴奧辛類污染物屬於芳香烴基碳水化合物 (aryl hydrocarbon)，因此進入細胞後會與細胞內的芳香烴基碳水化合物接受器(Ah receptor)接合，接合後進入細胞核內並接在DNA之一段稱為戴奧辛類反應元素 (dioxin responsive elements, DREs)片段基因上，促使此基因啟動而進行轉錄作用形成RNA，之後RNA經轉譯作用在細胞質中產生細胞色素p450(Cytochrome p450)及其他類蛋白質，最後產生毒性(圖一)。



圖一、戴奧辛類化合物毒性機制

三、CALUX 細胞檢測方法

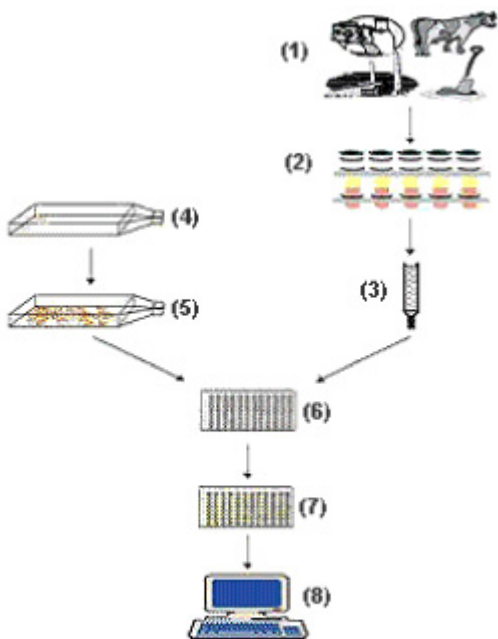
CALUX 是利用戴奧辛類化合物毒性機制而設計出之細胞檢測方法。此細胞屬於基因改造之產品，其將老鼠肝癌H4IIE細胞株(rat-hepatoma H4IIE)中接上人工改造過之具螢火蟲冷光基因(luciferase gene)之質體(plasmid)作為報告基因(reporter)，結構如圖二所示。一旦戴奧辛類化合物啟動上節所述之DREs時，同時也啟動冷光基因，使細胞產生冷光酵素，而冷光酵素催化冷光素發出冷光，最後藉由冷光之強弱與TCDD毒性產生之冷光強度比較即可推算出戴奧辛之含量。



圖二、人工改造過之具螢火蟲之冷光基因之質體 (pGudLuc 1.1)

四、CALUX 細胞檢測方法之操作步驟

CALUX細胞檢測方法之操作步驟如圖三所示。首先收集樣品並從樣品中萃取(extraction)出戴奧辛類化合物，經淨化(clean up)步驟後，將收集液之有機溶劑轉換成DMSO(已知對細胞毒性較低之有機溶劑)備用(圖三1至3)。將培養至定量之CALUX細胞株(H4IIEpGudLuc1.1 cell line)種到96孔細胞培養盤中，似細胞長滿後，將備用樣品逐一加入孔內，暴露一天後，進行細胞溶解(lysation)及加入冷光素(luciferin)步驟，最後利用冷光儀量測冷光量(圖三4至8)，並與TCDD之毒性標準曲線比較後，得知樣品之TEQ值。



圖三、CALUX 操作步驟

五、結語

戴奧辛毒性生物快速篩選方法由於具有快速、準確、操作簡單及節省經費等特性，再加上可檢測之樣品種類極多包括食物、飼料、環境樣品、水樣、生物體等之優點，未來傳統化學檢測可搭配生物快速篩選方法先進行篩選，一但經生物篩選過超出標準之樣品，才再進行化學檢測，如此應可達到準確、快速、省時及節省經費之多重績效。

本網頁於097/06/03編輯發行，最新檢視日期：102/03/01。
【資料內容為已確認之文件，非屬應即時更新之統計資訊】

