

试指导,以家蚕(菁松×皓月)为试验物种,采用浸叶法评估呋虫胺对家蚕(菁松×皓月)的急性毒性,为进一步的环境毒理研究提供基础毒性数据。**方法** 正式试验设置暴露浓度为 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2 及 6.4 ai mg·L⁻¹,同时设置空白对照组。空白对照组和试验组均设 3 个平行,每个平行 20 头家蚕。试验采用浸叶法进行。不同浓度的暴露组采用不同浓度的呋虫胺溶液完全浸渍桑叶,空白对照组利用试验用水浸渍,10 s 后取出,晾干后供蚕食用。整个试验期间饲喂处理桑叶,并观察在 24, 48 和 72 h、至三龄起,每个平行中受试家蚕(菁松×皓月)的中毒症状和死亡情况,应用美国环境保护署剂量-反应机率值分析软件(EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES Version 1.5)计算半致死浓度 LC₅₀值。**结果** 72 h 时,实验家蚕达到 3 龄,试验结束。整个实验期间,空白对照组的家蚕死亡数为 0,满足本次测试指导要求的空白对照组的死亡率不超过 10% 的要求。在 24 h,各暴露组的家蚕均没出现死亡;在 72 h,3.2 和 6.4 ai mg·L⁻¹的暴露组家蚕全部死亡。在本次试验过程中,暴露组家蚕(菁松×皓月)出现了吐水、侧卧、拒食、昂头、身体缩短、扭曲挣扎、摄食减少等中毒症状。根据本次试验中家蚕(菁松×皓月)的死亡数统计分析得出:呋虫胺对家蚕(菁松×皓月)的 24 h-LC₅₀>6.4 ai mg·L⁻¹; 48 h-LC₅₀为 1.774 ai mg·L⁻¹,其 95% 置信区间为 1.530~2.067 ai mg·L⁻¹; 72 h-LC₅₀为 0.867 ai mg·L⁻¹,其 95% 置信区间为 0.783~0.959 ai mg·L⁻¹。**结论** 呋虫胺对家蚕(菁松×皓月)的毒性等级为高毒。

E-mail: lishuang@szxszk.com

T2.60 鸟类日粮毒性实验之分析方法验证

高 航, 邹品田, 马陶钧, 陈 珊

(苏州西山中科药物研究开发有限公司, 江苏 苏州 215104)

摘要: 目的 建立并验证鸟类的日粮毒性实验中样品丁硫克百威的分析方法,以确保该方法适用于后续的分析测试。**方法** 根据条件摸索,对丁硫克百威的高效液相色谱分析方法的专属性、标准曲线线性、检出限(LOD)和定量限(LOQ)、精密度、准确度、回收率、样品溶液稳定性、全流程日间精密度进行了验证。**结果** 专属性:空白基质对样品峰无干扰,专属性良好;线性:丁硫克百威样品溶液在 10.18~254.50 mg·L⁻¹ 的浓度范围线性关系良好,相关系数(*r*)为 0.9999; LOD, LOQ: 试验测得 10.18 mg·L⁻¹ 样品的信噪比 *s/n*=255, 计算得到 LOD=0.13 mg·L⁻¹, LOQ=0.43 mg·L⁻¹。精密度:六针系统精密度重现性样品峰面积的 RSD 为 0.62%, 6 份方法精密度浓度的 RSD 为 0.32%, 均满足要求,表明方法的重现性良好;准确度:试验中各浓度下样品的准确度均满足要求,表明该方法的准确度良好;回收率:试验测得 2 份浓度为 50.50 mg·L⁻¹ 饲料有机相萃取样品回收率分别为 102.37% 和 103.38%, 满足回收率要求,表明该方法回收率良好;样品溶液稳定性:24 h 后样品溶液的浓度为 0 h 的 102.32%, 说明样品溶液 24 h 内稳定性良好。全流程日间精密度:24 h 后 2 份浓度为 50.45 mg·L⁻¹ 实测浓度平均值用计算得到的回收率校正后除以名义浓度得到精密度为 98.26%, 说明分析方法的全流程日间精密度良好。**结论** 本实验建立了样品丁硫克百威的超高效液相色谱分析方法,结果表明该方法的各项考查指标均符合要求,适用于后续鸟类日粮毒性实验中样品丁硫克百威的分析。

E-mail: gaohang@szxszk.com

T2.61 样品 A 对羊角月牙藻的生长抑制实验

李 双, 张小艳, 吴 倩, 盛俊杰

(苏州西山中科药物研究开发有限公司, 江苏 苏州 215014)

摘要: 目的 本研究项目参考 OECD 201 测试指导,以羊角月牙藻作为实验物种,通过样品 A 对羊角

月牙藻 72 h 的生长抑制实验来评价样品 A 对藻类的短期暴露效应。方法 样品 A 几乎不溶于水,很难测定溶解度,因此实验采用分散悬浮液。将一定量的样品 A 加入到 OECD 培养基中,超声辐射搅拌 30 min,磁力搅拌器搅拌约 48 h,用玻璃纤维过滤器过滤,制备样品 A 的储备液。根据预实验结果,正式实验设定一个供试品分散悬浮液滤液的暴露组(名义浓度 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),同时设置一个空白组,每组 6 个平行。暴露周期 72 h。在暴露开始后的 24, 48 和 72 h 分别测定各组的藻细胞浓度,统计 72 h 时暴露组的生长抑制率。在实验开始和结束时测定各组的样品 A 浓度。结果 p 实验开始时,分散悬浮液(滤液)的样品 A 的实测浓度为 $0.13 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;实验结束时,样品 A 的实测浓度为 $0.11 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。实验期间,温度控制在 $22.5^\circ\text{C} \sim 23.2^\circ\text{C}$;空白组 pH 的变化为 0.19,暴露组的 pH 变化为 0.22;光照强度的范围为 $5.10 \sim 5.70 \text{ Klux}$,均满足测试要求。在 72 h 的试验周期内,空白组的藻类生物量最少增加到了 39.14 倍,相对应的生长率为 1.22 d,满足测试指导要求的空白组的藻类生物量至少增加 16 倍,相对应的生长率为 0.92 d;空白组阶段性平均生长率(对 72 h 试验来说是 0 ~ 1, 1 ~ 2, 2 ~ 3 d)变异系数平均值为 8.07%,没有超过测试指导规定的 35%;整个实验周期内,空白组每个平行的平均生长率变异系数为 2.02%,没有超过测试指导规定的 7%;因此本次实验的有效性是符合的。实验结束时,样品 A 对羊角月牙藻的生长抑制率为 $-1.21\% \sim 4.18\%$,平均为 0.93%,均低于 50%。因此,样品 A 在本次实验中对羊角月牙藻的 72 h - $\text{ErC}_{50} > 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (以名义浓度计算)。结论 在本次实验条件下,样品 A 对羊角月牙藻在分散悬浮液(滤液)的暴露水平上没有观察到不良影响,对羊角月牙藻没有急性毒性,样品 A 对羊角月牙藻的 72 h - $\text{ErC}_{50} > 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (以名义浓度计算)。

E-mail: lishuang@szxszk.com

T2.62 基于 iTRAQ 技术筛选食管鳞状细胞癌相关蛋白质

彭 媛, 刘 冉, 浦跃朴, 尹立红

(东南大学公共卫生学院环境医学工程教育部重点实验室, 江苏 南京 210009)

摘要:目的 筛选食管鳞状细胞癌(ESCC)血浆相关蛋白质,识别相关标志物用于食管癌的早期发现与诊断。方法 选取病理或内镜诊断明确的原发性 ESCC 患者血浆样品 28 例,按 1:1 配对原则,选取性别相同、年龄相差 ± 5 岁、除消化系统疾病以外,同地区非肿瘤人群血浆样品 28 例作为对照。将血浆样品按样品来源 7 个一组混合成 8 例样品,利用安捷伦 MARS 系统去除样品中的 14 种高丰度蛋白后,采用 GE 公司的 2-D 定量试剂盒对其进行蛋白定量。封闭、酶解后用同位素相对标记与绝对定量(iTRAQ)技术对 8 例样品进行标记,ESCC 组分别标记为 113, 114, 115, 116;健康对照组分别标记为 117, 118, 119, 121。采用强阳离子交换色谱(SCX 色谱)对样品进行分离纯化,液相色谱-串联质谱进行检测分析。运用 ProteinPilot 软件对数据进行分析处理,对 Swiss-Prot protein 数据库进行检索查询,对所得肽段进行分析鉴定及相应的统计学分析,利用 MS/MS 中同一肽段不同报告基团的比值来进行相对定量,从而进行差异蛋白的筛选。对比查询 gene ontology 数据库和 KEGG pathway 数据库,对差异蛋白进行 GO 分析和 pathway 分析。结果 利用 iTRAQ 技术与串联质谱相结合的分析方法筛选得到 ESCC 与健康对照蛋白质共 237 个,在 ESCC 组和健康对照组差异表达的蛋白质为 19 个,其中在 ESCC 中上调的蛋白质为 4 个,分别为细胞外基质蛋白 1、抗凝血酶因子 3、软骨寡聚基质蛋白、白蛋白;在 ESCC 中下调的蛋白质为 15 个,分别为人类补体因子 H 相关蛋白 1、间-胰蛋白酶抑制因子重链 H4、C4 补体结合蛋白、丛生蛋白、基膜聚糖、载脂蛋白 2、果糖二磷酸醛缩酶及 IGHA2、IGLC2、IGHA1、IGKC、Ig heavy chain V-III region BRO、Ig kappa chain V-II region TEW、Ig kappa chain V-I region Walke、Ig heavy chain V-I region V35 等。GO 分析与 PATHWAY 分析结果提示,19 个差异表达蛋白质主要参与免疫、细胞粘附、代谢、应激反应、细胞凋亡等过程。其中 COMP, ECM-1 和 LUM 这三个细胞外基质蛋白被多项研究证实其与肿瘤的发生发展进程及预后关系密切,本研究发现 ESCC 患者血浆中这些蛋白表达异常,可能通过参与粘着斑通路、TGF- β 信号通路、ECM 受体通路等过程的调控参与食管癌的发生发展。结论 利用蛋白质组学技术初步获得食管鳞状细胞癌血浆相关蛋白质谱,可能成为候选蛋白标志物用于食管癌的早期发现与诊断。