

R. HORVÁTHOVÁ — J. ŠUBÍK

Na inhibíciu alebo inaktiváciu mikroorganizmov sa používajú vhodné anti-mikróbne prostriedky [1, 2]. Predpokladom ich použiteľnosti je splnenie viacerých kritérií, z ktorých na poprednom mieste je zdravotná nezávadnosť.

Mnohé biocídne látky svoj účinok dosahujú vplyvom na genetický materiál bunky — obyčajne jeho poškodením. Zmeny, mutácie, DNK z hľadiska živého organizmu môžu mať ďalekosiahle následky. Mnohé novšie výsledky výskumu poukazujú na pozitívnu koreláciu medzi karcinogenitou a mutagénnym účinkom látok [3]. Preto pri posudzovaní použiteľnosti antimikróbných preparátov sa odporúča sledovať aj ich mutagénny vplyv na organizmy. Pozitívne výsledky testov mutagénnej aktivity upozorňujú na potenciálne genetické nebezpečenstvo bežného použitia mutagénnej látky, najmä ak sa predpokladá jej kontakt aj s ľudským organizmom.

Jednu zo skupín chemicky dobre definovaných zlúčenín vyznačujúcich sa výraznými antibakteriálnymi vlastnosťami tvoria nitrofurány [4]. Mnohé z ich derivátov popri medicíne našli uplatnenie aj ako aditíva do potravín. Boli to nitrofurazón, nitrofurylakrylamid a furylfuramid [AF-2] používané v Japonsku do roku 1974 [5, 6]. Objavenie ich mutagénnych a karcinogénnych vlastností však nevyhnutne viedlo k zákazu ich použitia.

Do skupiny nitrofuránov patrí aj kyselina 3-(5-nitro-2-furyl)akrylová (5NFAK), ktorá bola v ČSSR navrhnutá ako stabilizátor vín a nealkoholických nápojov [7, 8]. Vzhľadom na štruktúrnu podobu s uvedenými nitrofuránovými aditívami sme pokladali za potrebné preskúmať jej genetickú aktivitu na eukaryotických mikroorganizmoch — kvasinkách, ktoré popri baktériách [9] predstavujú vhodný experimentálny model na detekciu mutagénneho účinku rozličných fyzikálnych a chemických faktorov životného prostredia [10].

Získané výsledky, ktoré sú predmetom tejto práce, ukazujú, že kyselina 3-(5-nitro-2-furyl)akrylová je geneticky aktívna zlúčenina indukujúca mitotické rekombinácie i spätné mutácie v definovaných miestach jadrového genómu kvasiniek *S. cerevisiae*.

Materiál a metódy

1. Mikroorganizmy

V práci sa použili modelové kmene kvasiniek: haploidný kmeň *S. cerevisiae* DPI-1B(*zhis* 1 *trp* 1), diploidný prototrofný kmeň kvasiniek *S. cerevisiae* DT XII a diploidné kmene na štúdium mutagénnej aktivity — *Saccharomyces cerevisiae* a/b pripravený Zimmermannom, obsahujúci alely

$\frac{a}{\alpha}$	$\frac{ade\ 2-119}{ade\ 2-40}$	$\frac{trp\ 5a\ cyh\ 2}{trp\ 5b\ +}$	$\frac{ilv\ 1-92}{ilv\ 1-92}$
--------------------	--------------------------------	--------------------------------------	-------------------------------

a diploidný kmeň *Saccharomyces*

cerevisiae SBTD obsahujúci alely

$\frac{a}{\alpha}$	$\frac{thr\ 2-1}{thr\ 2-2}$	$\frac{tyr\ 4}{+}$	$\frac{leu\ 1}{+}$	$\frac{ade\ 5}{+}$	$\frac{ade\ 1}{+}$	$\frac{+}{ade\ 2}$
--------------------	-----------------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------

2. Detekcia mutagénnej aktivity kvasinkami

Analýza mutagénnej aktivity kvasinkami *S. cerevisiae* sa urobila podľa Zimmermanna [10—13].

2.1. Kvalitatívne stanovenie mitotickej génovej konverzie a reverzie

10 skúmaviek s 5 ml inokula (2 % glukóza, 1 % kvasničný extrakt, 2 % peptón) sa naočkovalo na začiatkový počet 200 buniek/ml 24-hodinovou kultúrou kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* a/b a kultivovalo sa na trepačke 48 h pri 30 °C. Potom sa z každej skúmavky vysiali bunky na selektívne médiá (na zistenie najnižšej frekvencie spontánnej mutácie): na pôdu bez tryptofánu na zistenie konverzie v *trp* lokuse a na pôdu bez izoleucínu na zistenie reverzie v *ilv* lokuse. Inokulá sa až do zhodnotenia odložili do chladničky.

Selektívne pôdy sa pripravovali zo syntetického kompletného média vynechaním príslušnej aminokyseliny. Kompletné médium v 1 l obsahovalo: 6,7 g "Yeast nitrogen base without amino acids (DIFCO)", 5 mg adenínsulfátu, 10 mg arginínu, 10 mg histidínu, 60 mg izoleucínu, 10 mg lyzínu, 10 mg metionínu, 10 mg tryptofánu, 30 mg valínu, 10 mg uracilu, 20 g glukózy, 15 g agaru.

Po 3—4 dňoch kultivácie sa z misiek zistilo, ktoré inokulum malo najmenší počet spontánnych konvertantov, resp. revertantov, aby sa používalo v ďalšej práci. Bunky z neho sa trikrát premyli a vysievali na selektívne pôdy v množstve 3×10^6 buniek/misku neobsahujúcu tryptofán a 5×10^7 buniek/misku neobsahujúcu izoleucín. Misky sa nechali sušiť 1 h pri laboratórnej teplote. Uprostred takto pripravených misiek sa uložili sterilné disky filtračného papiera s obsahom rozličných koncentrácií látky alebo jej kryštáliky. Po 3—9 dňoch inkubácie pri 30 °C sa hodnotila veľkosť inhibičnej zóny a tvorba prstenca prototrofných kolónií okolo nej.

2.2. Kvantitatívne stanovenie frekvencie mitotickej génovej rekombinácie

Na 5 misiek s kompletným syntetickým médiom sa vysialo po 200 buniek kvasiniek *S. cerevisiae a/b*. Po 4 dňoch inkubácie pri 30 °C sa z normálne veľkých okrúhlych bielych kolónií odoberali bunky dovtedy, kým sa nevytvorila biela suspenzia. Prípadné zhluky sa odstránili centrifugáciou pri nízkych otáčkach a pre zásobnú suspenziu sa nastavil počet buniek na koncentráciu $2 \times 10^7/\text{ml}$. Do väčších centrifugačných skúmaviek sa napipetovalo 4,5 ml tlmivého roztoku pH 4,6 (0,5 M citrátový tlmivý roztok) alebo 7,0 (0,5 M fosfátový tlmivý roztok) ako médium pre nerastové podmienky. Po vytemperovaní na 30 °C sa pridalo 0,1 ml roztoku skúmanej látky a 0,5 ml zásobnej suspenzie kvasiniek. Kultivácia na trepačke prebiehala pri 30 °C 0—3 h. Na zastavenie účinku skúmanej látky sa suspenzia buniek riedila 1 : 100 v ľadovej sterilnej destilovanej vode a ešte raz 1 : 10, potom sa bunky v objeme 0,1 ml vysiali na pevné kompletné syntetické médium. Po 6—8 dňoch inkubácie pri 30 °C sa hodnotilo percentuálne zastúpenie aberantných farebných kolónií z celkového počtu nájdených kolónií.

2.3. Kvantitatívne stanovenie frekvencie génovej konverzie

Z inokula s najnižšou frekvenciou spontánnej mutácie sa pripravila zásobná suspenzia o hustote 3×10^7 buniek/ml. Väčšie centrifugačné skúmavky s obsahom 4,5 ml príslušného tlmivého roztoku testovanej látky sa po vytemperovaní na 30 °C naočkovali 0,5 ml zásobnej suspenzie kvasiniek. Kultivácia na trepačke pri 30 °C trvala 0—4 h. Na zastavenie účinku látky sa pridalo 10 ml ľadovej sterilnej destilovanej vody. Bunky sa trikrát premyli a nakoniec sa resuspendovali v 5 ml destilovanej vody. Z takto pripravenej suspenzie sa pipetovalo 0,1 ml na selektívne médium bez tryptofánu (5 misiek na jednu koncentráciu), suspenzia sa potom ďalej riedila 1 : 1000 a vysievalo sa po 0,1 ml na kompletné médium na zistenie počtu prežívajúcich buniek. Inkubácia trvala 4—6 dní pri 30 °C. Vyhodnocoval sa počet prototrofných kolónií (konvertantov) vyrastených na selektívnom médiu v pomere k počtu prežívajúcich na kompletnom médiu.

2.4. Kvantitatívne stanovenie frekvencie reverznej mutácie

Z inokula pre ďalšiu prácu s najnižším počtom spontánnych revertantov sa pripravila zásobná suspenzia s obsahom 1×10^8 buniek/ml. Z tejto suspenzie sa pipetovalo po 2 ml do väčších centrifugačných skúmaviek s obsahom 10 ml destilovanej vody. Suspenzia sa centrifugovala 5 min pri 1500 g, supernatant sa zliat a bunky sa resuspendovali v 5 ml vytemperovaného tlmivého roztoku. Pridaním rozličných koncentrácií skúmaných látok sa začala kultivácia, ktorá trvala 0 až 4 h za trepania pri 30 °C. Na zastavenie vplyvu testovanej látky sa pipetovalo 10 ml ľadovej destilovanej vody. Po trojnásobnom premytí sa bunky resuspendovali v 2 ml destilovanej vody. Z tejto suspenzie sa pipetovalo po 0,1 ml na selektívne médium bez izoleucínu. Po riedení 1 : 30 000 sa vysievali bunky na kompletné médium. Po 4—10 dňoch sa spočítali kolónie vyrastené na selektívnom a kompletnom médiu. Hodnotil sa počet revertantov na 10^7 prežívajúcich buniek.

2.5. Kvantitatívne stanovenie frekvencie inter- a intragénovej rekombinácie u diploidného kmeňa *Saccharomyces cerevisiae* *SBTD*

Pri pokuse sa postupovalo podobne ako v postupe 2.4. Použil sa kmeň deficitný na treonín. Bunky sa vysievali na kompletné médium (v riedení 1 : 50 000) a na minimálne médium (1 l pôdy obsahoval: 20 g glukózy, 30 g agaru, 1 g KH_2PO_4 , 0,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 0,5 g KCl, 1,2 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2 g NaNO_3 , 10 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 10 mg inozitolu, 1 mg tiamínu HCl, 0,6 mg pyridoxínu HCl, 0,6 mg kyseliny nikotínovej, 0,6 mg kyseliny *p*-aminobenzoovej, 0,6 mg pantotenanu vápenatého, 0,01 mg biotínu, 0,2 mg riboflavínu). Inkubácia trvala 3—6 dní. Pri intergénovej rekombinácii sa hodnotilo percentuálne zastúpenie farebných aberantných kolónií vyrastených na kompletnom médiu. Intragénová rekombinácia sa hodnotila ako pomer počtu prototrofných kolónií vyrastených na minimálnom médiu bez treonínu k počtu prežívajúcich buniek [14].

2.6. Indukcia respiračno-deficitných mutantov

Tvorba respiračno-deficitných mutantov sa sledovala u haploidného a diploidného kmeňa kvasiniek *S. cerevisiae*. Kvasinky so začiatočnou koncentráciou buniek $1 \times 10^6/\text{ml}$ sa kultivovali na trepačke pri 30 °C v tekutom glukózovom médiu (1 l média obsahuje 20 g glukózy, 10 g peptónu, 10 g kvasničný extrakt a zmes solí) za stálej prítomnosti inhibítora. Pri koncentrácii 200×10^6 buniek/ml sa bunky premyli, zriedili a vysiali v množstve 100 buniek/misku pevného glycerolového média obsahujúce v 1 l: 2 g glukózy, 20 g glycerolu, 20 g agaru, 10 g kvasničného extraktu, 10 g peptónu a zmes solí. Po 3—4 dňoch inkubácie pri 30 °C sa misky preliali roztokom trifenyltetrazólium chloridu (TTC), obsahujúcim v 1 l 15 g agaru, 13,6 g KH_2PO_4 , 1,39 g NaOH a 2 g TTC. Po 2 a 24 hodinách sa hodnotilo percentuálne zastúpenie bielych nedýchajúcich kolónií zodpovedajúcich respiračno-deficitným mutantom [15].

3. Chemikálie

Kyselina 3-(5-nitro-2-furyl)akrylová (5NFAK) ako sodná soľ pochádzala zo Slovakofarmy, n. p., Hlohovec, 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)-akrylamid (AF-2) od dr. T. Matsushima, z univerzity v Tokiu, Japonsko, a Yeast nitrogen base z DIFCO (USA). Ostatné chemikálie boli z Lachemy, Brno a z Imuny, Šarišské Michaľany.

Výsledky

Kvasinky sú eukaryotické mikroorganizmy obsahujúce jadrovú i mitochondriálnu DNK, ktoré sa spoločne zúčastňujú na biogenéze a funkcii mitochondrií [16]. Sú známe mnohé látky indukujúce jadrové alebo cytoplazmatické mutácie vedúce k respiračnej deficiencii [17], ktoré však na rozdiel od živočíšnych buniek nie sú pre kvasinky letálne. Ak bunky haploidného kmeňa

S. cerevisiae *DPI-IB* alebo diploidného kmeňa DT XII rástli v prítomnosti 1—100 µg 5NFAK/ml, frekvencia respiračno-deficitných buniek neprekročila hodnoty stanovené v kontrolnej populácii, čo indikuje, že za daných experimentálnych podmienok sa metabolizmus mitochondriálnej DNK a 5NFAK neovplyvnil.

Interakcia diploidných buniek s mutagénmi nemusí viesť iba k indukcii klasických typov mutácií (bodové mutácie, chromozomálne aberácie, zmeny v počte chromozómov, mutácie v DNK bunkových organel), ale aj k mitotickým rekombináciám.

Tabuľka 1. Indukcia mitotickej génovej konverzie a spätnej mutácie v kmeni *S. cerevisiae* a/b s 5NFAK a AF-2. Kvalitatívny test

Zlúčenina	Dávka (µg/misku)	Konvertanty	Revertanty
		(počet/misku)	
Kontrola	—	10	12
5NFAK	100	10	13
	500	11	7
AF-2	10	13	41
	50	29	46
	100	38	48

Tabuľka 2. Indukcia mitotickej génovej konverzie v diploidnom kmeni *S. cerevisiae* a/b s 5NFAK a AF-2 za rozličných podmienok

Dávka (µg/ml)	Podmienky		Konvertanty/10 ⁵ prežívajúcich <i>trp</i> 5	Prežitie [%]
	[pH]	[h]		
Kontrola	7	0—4	0,8	100
5NFAK 100	7	4	1,0	81,8
500	7	4	1,0	74,5
Kontrola	4,6	0—4	0,66	100
5NFAK 100	4,6	0,5	0,50	77,3
100	4,6	4	1,99	53,1
250	4,6	0,5	1,47	64,6
250	4,6	3	4,70	10,0
500	4,6	0,5	0,70	63,2
500	4,6	1	7,30	13,0
Kontrola	4,6	0—4	0,83	100
5NFAK 250	4,6	0,5	0,67	65,2
250	4,6	1	0,60	56,9
250	4,6	2	1,42	27,5
250	4,6	3	4,32	7,9
Kontrola	4,6	0—4	0,97	100
5NFAK 250	4,6	0,5	1,37	76,0
250	4,6	3	5,11	10,9
500	4,6	0,5	1,13	71,2
500	4,6	1	10,2	9,4
Kontrola	7	0,5	0,8	100
AF-2 50	7	0,5	16,4	105,5
100	7	0,5	25,2	72,1

Mitotické rekombinácie, reciproký crossing-over a nerekiprokú vnútrogénovú rekombináciu zvanú génová konverzia, ako aj reverzné mutácie indukované rozličnými mutagénmi možno vhodne študovať pomocou kmeňa kvasiniek *S. cerevisiae* *a/b* [10—13]. Tento diploidný kmeň obsahuje dve nekomplementujúce alely génového lokusu *trp 5*, dve komplementujúce alely lokusu *ade 2* a dve kópie alely *ilv 1—92*. Ako uvádza tabuľka 1, v postupe kvalitatívneho testu a diskom, 5NFAK na rozdiel od AF-2 neindukovala génovú konverziu ani reverzné mutácie v lokusoch *trp 5*, resp. *ilv 1*. Tieto výsledky ukazujú, že genetická aktivita 5NFAK je u kvasiniek relatívne nižšia ako aktivita štruktúrne podobného nitrofuránového derivátu AF-2 [18—20], čo je v plnom súlade i s výsledkami bakteriálnych testov [21].

Za nerastových podmienok opísaných v materiáloch a metódach sa však účinok 5NFAK ukázal byť mutagénny. Ako uvádzajú výsledky tabuliek 2—4, genetická ako aj fungicídna aktivita 5NFAK boli zjavne závislé od pH reakčnej zmesi a signifikantne vzrastali so zvyšujúcou sa koncentráciou nitrofuránu, ako aj časom jeho interakcie s bunkami. Pri pH 4,6, kde mutagénny účinok 5NFAK bol výraznejší, použitá koncentrácia 500 µg/ml po hodinovej expozícii zvýšila počet tryptofánových konvertantov a izoleucínových revertantov desaťnásobne oproti kontrole. Za tých istých podmienok 5NFAK signifikantne indukovala aj genetické zmeny v lokuse *ade 2* a znižovala prežitie exponovaných buniek. V súlade s výsledkami kvalitatívneho testu (tab. 1) mutagénna aktivita AF-2 [18—20] bola opäť výrazne vyššia ako aktivita 5NFAK.

Tabuľka 3. Indukcia spätnej mutácie v diploidnom kmeni *S. cerevisiae* *a/b* s 5 NFAK a AF-2 za rozličných podmienok

Dávka (µg/ml)	Expozícia		Revertanty/10 ⁷ prežívajúcich <i>ilv 1—92</i>	Prežitie [%]
	[pH]	[h]		
Kontrola	7,00	0,5	0,69	100
5NFAK 100	7,0	0,5	1,32	96,0
500	7,0	0,5	1,18	56,0
Kontrola	7,0	4	0,69	100
5NFAK 100	7,0	4	0,32	86,0
500	7,0	4	1,66	76,0
Kontrola	4,6	0,5	0,69	100
5NFAK 100	4,6	0,5	1,59	79,0
500	4,6	0,5	4,01	20,6
Kontrola	4,6	4	0,69	100,0
5NFAK 100	4,6	4	3,66	28,6
Kontrola	4,6	0	0,67	100
5NFAK 250	4,6	1	6,66	41,5
250	4,6	2	5,53	24,6
500	4,6	0,5	4,25	47,8
500	4,6	1	7,50	20,5
Kontrola	7,0	0,5	0,69	100
AF-2 50	7,0	0,5	3,32	94,0
100	7,0	0,5	7,17	90,0

Tabuľka 4. Indukcia genetických zmien v lokuse *ade 2* diploidného kmeňa *S. cerevisiae* a/b s 5NFAK pri pH 4,6

Dávka ($\mu\text{g/ml}$)	Expozícia [h]	Aberantné kolónie [%]	Prežitie [%]
Kontrola	0	0,09	100
5NFAK 100	0,5	0,24	77,3
100	4	0,18	53,1
250	0,5	0,59	64,6
Kontrola	0	0,15	100,0
5NFAK 100	0,5	0,38	81,2
250	0,5	0,22	68,9
250	3	0,25	20,0
500	1	0,49	21,0
Kontrola	0	< 0,05	100,0
5NFAK 250	0,5	0,07	65,2
250	1	0,08	56,9
250	3	1,22	7,8

Schopnosť 5NFAK indukovať mitotickú rekombináciu sa potvrdila i s iným diploidným kmeňom *S. cerevisiae* SBTD obsahujúcim dve nekomplementujúce alely lokusu *thr 2* a jednu sadu mutovaných alel troch odlišných lokusov *ade* [14]. Bunky tohto kmeňa vyžadujú pre rast treonín a tvoria prototrofy najmä mitotickou konverziou génu. Na druhej strane rekombinácia alebo mutácia v adenínových lokusoch vedie k homozygotným bunkám vyžadujúcim adenín a tvoriacim červený pigment na minimálnom médiu obsahujúcom treonín a nízku koncentráciu adenínu.

Ako uvádza tabuľka 5, 5NFAK v koncentrácii 250—500 $\mu\text{g/ml}$ výrazne

Tabuľka 5. Indukcia rekombinácií v *thr 2* a *ade* lokusoch diploidného kmeňa *S. cerevisiae* SBTD pri pH 4,6

Dávka $\mu\text{g/ml}$	Expozícia [h]	Rekombinanty/ 10^7 prežitých <i>thr</i>	Prežitie [%]
Kontrola	0—3	0,05	100
5NFAK 250	1	0,25	40,9
250	3	0,71	30,2
500	0,5	0,28	81,4
500	0,75	0,66	69,6
500	1	0,94	27,2
Kontrola	0—1	0,16	100
5NFAK 500	0,5	0,39	76,6
500	1	1,08	40,0
Rekombinácia (%) <i>ade</i>			Prežitie [%]
Kontrola	0—3	< 0,008	100
5NFAK 250	3	0,16	30,2
500	1	0,21	27,2

indukovala mitotické rekombinácie v treonínovom i adenínovom lokuse. Genetická aktivita 5NFAK bola závislá od dávky a zvyšovala sa s časom expozície. Za optimálnych podmienok frekvencia genetických zmien indukovaných s 5NFAK bola dvadsaťkrát vyššia ako v kontrolných experimentoch. Uvedené výsledky takto jasne demonštrujú, že 5NFAK je geneticky aktívna zlúčenina schopná indukovať mitotické rekombinácie i reverzné mutácie v diploidných kmeňoch kvasiniek *S. cerevisiae*.

Diskusia

Kyselina 3-(5-nitro-2-furyl)akrylová navrhnutá pôvodne ako stabilizačný prostriedok vín [7, 8] patrí do veľkej skupiny nitrofuránov, ktoré sa vyznačujú pozoruhodnými antimikrobiálnymi vlastnosťami. Skúsenosti, že oproti nim sa vytvára rezistencia mikroorganizmov v menšej miere ako oproti antibiotikám a iným biocídnym látkam, dávali veľkú nádej na ich praktické využitie. Začali sa používať v humánnej a veterinárnej medicíne, na konzervovanie potravín, skúšali sa možnosti využiť ich v ochrane materiálov pred biodeterioráciou a pod. [4—6, 22].

V ostatnom čase však mnohé práce upozornili na potenciálnu mutagenicitu a karcinogenicitu derivátov nitrofuránov [23—25]. Zistilo sa, že nitrofurány interferujú s genetickým materiálom bunky a vykazujú rádiomimetický účinok podobne ako nitrozoguanidín a UV žiarenie [26]. Vyvolávajú mutácie u baktérií, spôsobujú chromozomálne zlomy, indukujú vývin profága v lyzogénnych kultúrach baktérií, majú karcinogénnu aktivitu, zapríčínujú dedičnú stratu chloroplastov u *Eugleny gracilis* a pod. Predpokladá sa, že táto ich aktivita je podmienená samým nitrofuránovým jadrom, pričom substituenty, najmä nitroskupina obzvlášť v polohe 2, ju pozitívne ovplyvňujú [5, 23, 24].

Nitrofurány v podmienkach in vivo sú metabolizované na biologicky aktívne intermediáty, z ktorých 5-nitro-2-furaldehyd má významné postavenie [25]. Niektoré zlúčeniny iba v takejto metabolizovanej forme ukazujú mutagénnu a karcinogénnu aktivitu. Na základe týchto poznatkov sa podarilo odhaliť nebezpečné vlastnosti mnohých nitrofuránov, ktoré sa predtým pokladali za zdravotne neškodné. Bolo to tak aj v prípade nitrofuránových zlúčenín používaných v Japonsku ako konzervačné prostriedky potravín. Ako prvý sa použil nitrofurazón (furacín) roku v 1950, potom nitrofurylakrylamid v rokoch 1954—1965 a ako posledný furylfuramid (AF-2), používaný od roku 1965. Množstvo dôkazov o silnej mutagénnej aktivite niektorých nitrofuránov vyvolalo však živú diskusiu okolo použiteľnosti furylfuramidu ako konzervačného činidla potravín. Dôkazy o schopnosti AF-2 indukovať mutácie u baktérií, kvasiniek a hmyzu [27—29], ako aj pozitívne výsledky testov na kultúrach ľudských lymfocytov a leukocytov [30, 31] viedli k názoru, že AF-2 môže byť mutagénny aj pre ľudský organizmus. Jeho používanie bolo 1. 10. 1974 v Japonsku zakázané [32].

Vzhľadom na to, že kyselina 3-(5-nitro-2-furyl)akrylová vykazovala signifikantnú genetickú aktivitu v eukaryotickom i prokaryotickom systéme [21], aj keď relatívne nižšiu ako AF-2, možno usúdiť, že rozsiahle použitie 5NFAK v praxi by mohlo znamenať zvýšené genetické riziko. Na tomto závere nemení ani to, že 5NFAK neindukuje chromozomálne aberácie v lymfocytoch a že

v dominantne letálnom teste na myšiach dáva negatívne výsledky [33, 34]. Podobne sa totiž správajú i viaceré mutagény, ktoré navyše majú i silný karcinogénny účinok [35—37]. Preto by bolo neuvážené odporúčať použitie 5NFAK ako konzervačné činidlo pre potravinársky priemysel.

Súhrn

Študovala sa mutagénna aktivita kyseliny 3-(5-nitro-2-furyl)akrylovej (5NFAK) s kvasinkami *S. cerevisiae*. Zistilo sa, že 5NFAK je geneticky aktívna zlúčenina schopná indukovať mitotické rekombinácie v treonínovom, adenínovom i tryptofánovom lokuse, ako aj reverzné mutácie v lokuse izoleucínu. V porovnaní s furylfuramidom (AF-2) aktivita 5NFAK bola výrazne nižšia.

Literatúra

1. BLOCK, S. S.: Desinfection, Sterilisation and Preservation. Philadelphia, Lea and Febiger 1977.
2. ŠUBÍK, J.: Bull. VÚP, XVII, 1978, č. 2, s. 35.
3. McCANN, J. — CHOI, E. — IMASAKI, E. — AMES, B. N.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., 72, 1975, s. 5135.
4. PAUL, H. E. — PAUL, M. F.: Exp. Chemother., 4, 1964, s. 521.
5. TAZIMA, Y. — KADA, T. — MURAKAMI, A.: Mutation Res., 32, 1975, s. 55.
6. OKA, S.: Mechanism of antibacterial effect of various food preservatives. In: Microbial Inhibitors in Food. Ed. N. Molin. Uppsala, Almqvist and Wiksell 1964, s. 3.
7. FARKAŠ, J.: Chem. Abstr., 84, 1976, č. 119, s. 900.
8. FARKAŠ, J.: Potravinárska ročenka 1977. Bratislava, Alfa 1976, 187 s.
9. AMES, B. N. — McCANN, J. — YAMASAKI, E.: Mutation Res., 31, 1975, s. 347.
10. ZIMMERMANN, F. K.: Detection of genetically active chemicals using various yeast systems. In: Chemical Mutagens, Principles and Methods for Their Detection. Vol. 3. Ed. A. Mollaender. New York—London, Plenum Press 1973, s. 209.
11. ZIMMERMANN, F. K.: Mutation Res., 11, 1971, s. 327.
12. ZIMMERMANN, F. K.: Mutation Res., 31, 1975, s. 71.
13. ZIMMERMANN, F. K. — KERN, R. — RASENBERG, H.: Mutation Res., 28, 1975, s. 381.
14. PUTRAMENT, A. — BARANOWSKA, H.: Mol. Gen. Genet., 111, 1971, s. 89.
15. OGUR, M. — StJOHN, R. — NAGAI, S.: Science, 125, 1957, s. 98.
16. LLOYD, D.: The Mitochondria of Microorganisms. London, Academic Press 1974.
17. SAGER, R.: Cytoplasmic Genes and Organelles. New York, Academic Press 1972.
18. SHAHIN, M. M. — Von BORSTEL, R. C.: Mutation Res., 38, 1976, s. 215.
19. SHAHIN, M. M. — Von BORSTEL, R. C.: Mutation Res., 53, 1978, s. 1.
20. MURTHY, M. S. S. — SANKARANARAYANAN, N.: Mutation Res., 58, 1978, s. 99.
21. EBRINGER, L. — BENCOVÁ, M.: Folia microbiol., v tlači.
22. KRKOŠKA, P. — EBRINGER, L. — ONDŘÍŠOVÁ, M. — REMENÁR, M.: Cellulose Chem. Technol., 10, 1976, s. 155.
23. McCALLA, D. R. — VOUTSINOS, D.: Mutation Res., 26, 1974, s. 3.
24. BRYAN, G. T.: Carcinogenesis. Vol. 4. Nitrofurans. New York, Raven Press 1978.
25. EBRINGER, L. — JURÁŠEK, A. — KONÍČEK, J. — KONÍČKOVÁ — RADOUCHOVÁ, M.: Antimicrob. Agents Chemother., 9, 1976, s. 682.
26. McCALLA, D. R.: Can. J. Microbiol., 11, 1965, s. 185.
27. KADA, T.: Jap. J. Genet., 48, 1973, s. 301.
28. NAKAI, S. — MACHIDA, I.: Mutation Res., 26, 1974, s. 437.
29. TAZIMA, Y. — ONIMARU, K.: Mutation Res., 26, 1974, s. 440.
30. KONDO, S. — ICHIKAWA, K. — RYO, H.: Jap. J. Genet., 48, 1973, s. 295.
31. TONOMURA, A. — SASAKI, M. S.: Jap. J. Genet., 48, 1973, s. 291.
32. Wld. Hlth. Resolution WHO, 23, 1974, s. 50.

33. ČERNÁ, M. — ŠRÁM, R. J.: Mutation Res., 77, 1980, s. 1.
34. ŠRÁM, R. J. — RÖSSNER, P. — ZHURKOV, V. S. — KODÝTKOVÁ, J.: Mutation Res., 68, 1979, s. 367.
35. VOGEL, E. — SOBELS, F. H.: Biol. Zbl., 95, 1976, s. 405.
36. SUGIMURA, T. — NAGAO, M. — ORADA, Y.: Nature, 210, 1966, s. 962.
37. MATTER, B. E. — GRAUWILLER, J.: Mutation Res., 23, 1974, s. 239.

Хорватова, Р. — Шубик, Й.

Генетическая активность кислоты 3(5-нитро-2-фурил) акриловой у дрожжей

Выводы

Исследовалась мутагенная активность кислоты 3(5-нитро-2-фурил) акриловой с *S. cerevisiae* дрожжами. Было определено, что кислота 3(5-нитро-2-фурил) акриловая — генетически активное соединение, способное индуцировать митотические рекомбинации в треониновом, адениновом и триптофановом локусе как и реверсивные мутации в локусе изолейцина. В сравнении с фурилфурамидом (АФ-2) активность кислоты 3(5-нитро-2-фурил) акриловой была выразительно низшая.

Horváthová, R. — Šubík, J.

The genetic activity of 3(5-nitro-2-furyl)acrylic acid in yeast

Summary

The mutagenic activity of 3(5-nitro-2-furyl) acrylic acid (5NFAA) with *S. cerevisiae* yeast was studied. It has been stated, that the 5NFAA is a genetically active compound able to induce the mitotic recombinations in the threonine, adenine and tryptophan loci as well as the reversing mutations in the isoleucine locus. In comparison with a furyl-furamide(AF-2) the activity of 5NFAA was considerably lower.