

بررسی جهش زایی و سرطان‌زایی نانوذرات بیسموت با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم TA100 و میکروزوم کبد موش (S9)

بهار شمس کیلانی¹، صدیقه مهرابیان²، فرزانه حسینی³

1- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشکده علوم پایه، دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، تهران، ایران. bahar.sh66@yahoo.com

2- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشکده علوم پایه، استاد گروه میکروبیولوژی، تهران، ایران.

3- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشکده علوم پایه، استادیار گروه میکروبیولوژی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: 92/7/29 تاریخ پذیرش: 92/9/15

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از نانو ذرات به علت ارزانی، مفید بودن و خاصیت ضد میکروبی بالای آن‌ها، در زمینه‌های مختلف رو به افزایش است. بنابر این باید به مضرات احتمالی آن‌ها نیز توجه شود و در غلظتی استفاده شوند که جهش‌زا و سرطان‌زا نباشد. لذا تحقیق حاضر با هدف بررسی اثرات جهش‌زایی و سرطان‌زایی نانوذرات بیسموت با سایز 56 nm و در سه غلظت 78/1، 39/1 ppm، انجام گرفت.

روش کار: در ابتدا جهش‌زایی ماده آزمون ایمز با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم TA100 سنجش و سرطان‌زایی این جداگانه به میکروزوم کبدی موش S9 افزوده و کلنی‌های برگشتی در تمام محیط شمارش شدند. نتایج حاصل از این آزمایش به کمک نرم افزار SPSS و روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در حضور میکروزوم کبد موش تعداد کلنی‌های برگشتی در مقایسه با عدم حضور این آنزیم، کاهش یافته و این بدین معنی است که اثر جهش‌زایی و سرطان‌زایی با حضور این آنزیم کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج پژوهش حاضر نانوذرات بیسموت فعالیت جهش‌زایی و سرطان‌زایی از خود نشان نداد.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات بیسموت، سالمونلا تیفی موریوم TA100، تست ایمز، میکروزوم کبدی موش S9

مقدمه

باکتری‌ها، امکان گسترش سوبه‌های خاص حساس به محدوده وسیعی از موتاژن‌ها به آسانی میسر می‌باشد (12). در سال 1964، Ames تحقیقات اولیه در مورد فعالیت جهش‌زایی را بر روی بیولوژی مولکولی باکتری سالمونلا انجام داد. او بررسی کرد که چگونه ژن‌ها در پاسخ به حضور اسید آمینه هیستیدین روشن و خاموش می‌شوند و مواد جهش‌زا چگونه کنترل این مکانیسم را مختل می‌کنند (12). سالمونلا باسیل گرم منفی، با ابعاد $5-2 \times 1/5 - 0/7$ میکرون، هوازی و بی‌هوازی اختیاری و شیمیوارگانوتروف است و درجه حرارت بهینه برای رشد این باکتری 37 درجه سانتی‌گراد می‌باشد (6). بهترین و متداول‌ترین روش برای تعیین پتانسیل جهش

محیط اطراف ما، مملو از مواد سرطان‌زاست. این عوامل قادرند با تغییر در توالی اسیدهای نوکلئیک DNA باعث القا موتاسیون و بروز سرطان شوند. شناسایی مواد یا عوامل القاکننده جهش نقش مهمی را تعیین سلامت، ایفا می‌نماید، زیرا این عوامل جهش‌زا، گاهی سبب ایجاد آسیب به سلول‌های پایه جنینی و موتاسیون قابل توارث از نسلی به نسل دیگر می‌شوند. بدیهی است که، دسترسی به روش ارزان، آسان و سریع، برای شناسایی مواد جهش‌زا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (16). یکی از روش‌های ساده و مهم، بررسی موتاسیون زایی ترکیبات شیمیایی، استفاده از باکتری هاست. به دلیل تکثیر سریع و شناسایی ویژگی‌های بیوشیمیایی و ژنتیک

موتاسیون کاهشی در ژن بیوتین، باکتری را نیازمند به اسید آمینه بیوتین می سازد.

❖ موتاسیون rfa در تمام سویه ها سبب ایجاد یک لایه لیپولی ساکارییدی ناقص (LPS) در سطح باکتری شده و باکتری را نسبت به مواد شیمیایی درشت (بزرگ) که از دیواره سلول طبیعی عبور نمی کنند، نفوذپذیرتر می سازد.

❖ وجود پلاسمید pkm 101 در سویه های TA102، TA100، TA97، TA98، TA104 سبب افزایش موتاسیون زایی شیمیایی یا الفایی توسط اشعه UV شده و این پلاسمید، باکتری را نسبت به آمپی سیلین مقاوم می سازد.

سویه TA100 علاوه بر پلاسمید pkm101 دارای یک پلاسمید چند نسخه ای 1 pAQ است که حامل ژن hisG428 بوده که یک ژن مقاوم به تتراسایکلین است. سویه های واجد پلاسمیدهای فوق را سویه های R-factor نامند (14، 12). ویژگی منحصر به فرد این ژن، استفاده از میکروزوم کبدی (S9) برای فعال کردن برخی مواد جهش زا و سرطان زا است. زیرا، بسیاری از این ترکیبات برای بروز ویژگی های جهش زایی یا سرطان زایی باید از نظر متابولیسی (اکسیداتیو یا احیایی) فعال شوند و از آنجا که باکتری سالمونلا قادر به انجام این فعالیت نیست، لذا یک عصاره استریل میکروزومی از بافت پستانداران را می توان به تست جهش زایی اضافه نمود. میکروزوم ها حفره های غشایی کوچکی هستند که در یاخته های زنده و سالم دیده نشده و نتیجه تکه تکه شدن قسمت هایی از سیستم غشایی درون یاخته ای و نیز شکسته شدن لوله ها و کیسه های شبکه های آندوپلاسمی می باشند (1، 2، 3، 5، 7، 9، 13).

Ames و همکارانش ارتباط بین سرطان زایی و جهش زایی را حدود 83% گزارش نمودند (13). بیسموت عنصر شیمیایی با عدد اتمی 83، فلز ضعیف 3 ظرفیتی، سفید

زایی و سرطان زایی مواد شیمیایی و داروهای جدید شناسایی موتاسیون برگشتی در سالمونلا تیفی موریوم، به کمک تست ایمز است. این روش، یک تست باکتریایی کم هزینه، کوتاه مدت و آسان است که در دهه 1970 توسط Ames و همکارانش پایه گذاری شد. در سال 1982، مطالعاتی در ارتباط با این آزمون، بر روی بیش از 5000 نوع ماده شیمیایی، از سوی مرکز مطالعات و تحقیقات جهش زایی محیط زیست انجام گرفت (6). در تست ایمز از سوش های مختلف باکتری سالمونلا تیفی موریوم استفاده می شود. هر کدام از این سوش ها، دارای یک موتاسیون انتخابی در اپرون هیستیدین خود می باشند. این موتاسیون مانع از انجام یک فعالیت متابولیک ضروری می شود. در صورتی که سویه وحشی یا پروتوتروف (فنوتیپ His⁺) قادر است با استفاده از نیتروژن غیر آلی (فسفات آمونیوم) و در حضور منبع کربن مناسب (گلوکز)، این اسید آمینه ضروری را بسازد (4). سوش های سالمونلا تیفی موریوم در تست ایمز، اگر تروف His⁻ بوده و زمانی که سویه های آزمایشی بر روی پلیت های آگار حداقل حاوی مقدار ناچیزی His و در حضور ماده مورد آزمایش رشد داده می شوند، فقط آن دسته از باکتری ها که جهش برگشتی یافته اند، قادر به رشد و تشکیل کلنی خواهند بود. به همین دلیل این تست اکثراً به عنوان بررسی برگشت موتاسیون، بیان می گردد (12). تمام سویه ها با ایجاد یک موتاسیون خاص، در اپرون His خود به تنهایی قادر به سنتز این اسید آمینه نیستند. تغییرات ژنتیکی با موتاسیون های دیگری که حساسیت سویه ها را نسبت به مواد موتاژن افزایش می دهند عبارتند از:

❖ یک موتاسیون کاهشی در ژن bio-uvrB در تمام سویه ها (به جز سویه TA102). موتاسیون کاهشی uvrB سبب حذف مکانیسم سیستم ترمیم برشی (Exition reparaire) و آسیب به DNA می شود.

هیستیدین جهت تایید نیازمندی به هیستیدین و عدم قدرت رشد در محیط فاقد اسید آمینه بیوتین تاییدی بر نیازمندی TA100 به بیوتین بود. برای تهیه S9، موش ها به مدت 24 ساعت گرسنگی داده شدند تا ترشح آنزیم های کبدی به واسطه گرسنگی تحریک شوند و افزایش یابند، سپس با گردن زدن، حیوان را کشته و کبد با یک پنس استریل خارج گردید. سپس کبد ها در کلرید پتاسیم سرد 0/15 مولار استریل و تازه تهیه شده، چندین بار شستشو داده شدند تا گلبول های قرمز که مانع از فعالیت آنزیم های سیتوکروم P450 می گردند و خارج می شوند. پس از شستشو، کبد ها در یک هاون چینی استریل با قیچی استریل خرد و کاملاً له شدند. سپس به ازای هر گرم کبد موش 3 cc از کلرید پتاسیم (0/15 مولار) به کبدها اضافه کرده و وقتی مخلوط هموزنی بدست آمد، در داخل لوله های سانتریفوژ استریل توزیع و به مدت 10 دقیقه با دور 8700 rpm (9000g) و دمای 4 درجه سانتی گراد سانتریفوژ شدند. بدین ترتیب گلبول های قرمز جدا و مایع رویی شیری رنگ، قابل استفاده شد. سپس طبق دستورالعمل ایمز، با کوفاکتورهای لازم در دمای 4 درجه سانتی گراد مخلوط گردید (11).

آزمون جهش زایی با استفاده از سالمونلا تیفی موربوم TA100

از هر یک از رقت های تهیه شده جهت مطالعه جهش زایی نانوذرات بیسموت (غلظتی که باکتری جهش را نکشد) که توسط آزمون MIC و MBC این غلظت ها 1ppm، 39/1، 78/1، 156/25 به دست آمدند، استفاده گردید. مراحل کار بدین صورت بود که از رقت های مذکور نانوذرات بیسموت توسط سمپلر استریل مقدار 100 میلی لیتر به لوله های حاوی 2 میلی لیتر تاپ آگار و 0/2 میلی لیتر محلول هیستیدین-بیوتین و 0/1 میلی لیتر کشت تازه شبانه سوش TA100 افزوده شد. سپس محتویات لوله ها، پس از 3 ثانیه تکان دهی توسط شیکر

بلورین، سنگین و شکننده ای است که اثر خفیفی از رنگ صورتی در آن وجود دارد و از نظر شیمیایی شبیه آرسنیک و آنتیموان است. بیسموت از تمامی فلزات سنگین تر است و به جز جیوه از تمامی عناصر خاصیت هدایت حرارتی کمتری دارد. از ترکیبات بیسموت که فاقد سرب باشند، در ساخت لوازم آرایشی و بهداشتی و اهداف پزشکی استفاده می شود. هم چنین بیسموت به صورت قرص های خوراکی جهت درمان ناراحتی های گوارشی ناشی از هلیکوباکتریلوری استفاده می گردد (10). با توجه به استفاده روز افزون از نانوذرات در عرصه های مختلف پزشکی، دندانپزشکی تحقیق حاضر با هدف بررسی خاصیت جهش زایی و سرطان زایی نانوذرات بیسموت با استفاده از سالمونلا تیفی موربوم TA 100 و میکروزوم کبدی موش (S9) انجام گردید. در تحقیقات انجام شده در داخل و خارج کشور، مطالعه مشابهی که به بررسی خاصیت جهش زایی و سرطان زایی نانوذرات بیسموت پردازد، به دست نیامد. لذا این بررسی نخستین تحقیق با این اهداف است.

مواد و روش ها

این تحقیق به روش آزمایشگاهی انجام شد. سوبیه باکتری در این پژوهش، سوش TA 100 مورد تایید قرار گرفت (6، 12) و نتیجه کار با این سوش دنبال شد. سوش مذکور وارد محیط کشت نوترینت براث شده و جهت احیاسازی، به مدت 24 ساعت در انکوباتور 37 درجه سانتی گراد قرار داده شد و سپس به مدت 24 ساعت، بر روی محیط کشت نوترین آگار در حرارت 37 درجه سانتی گراد گرماگذاری شد (6، 12). آزمون های تایید ژنوتیپ سوش TA100، حساسیت به کریستال ویوله جهت تایید جهش tfa، حساسیت به پرتو uv جهت تایید جهش uvrB، حساسیت یا مقاومت به آنتی بیوتیک پنی سیلین جهت تایید وجود یا عدم وجود پلاسمید (R-factor)، عدم قدرت رشد در محیط فاقد اسید آمینه

نانوذرات بیسموت، به 2 میلی لیتر محیط تاپ آگار، 0/5 میلی لیتر از مخلوط S9 تازه تهیه شده نیز به لوله ها اضافه گردید و پس از 3 ثانیه تکان دهی، محتویات لوله ها بر روی سطح پلیت های گلوکز آگار حداقل توزیع و پس از بسته شدن محیط، پلیت ها به مدت 48 تا 72 ساعت در 37 درجه سانتی گراد گرماگذاری شدند. به عنوان کنترل مثبت از آزید سدیم (100 میلی لیتر) و به عنوان کنترل منفی از آب مقطر استریل (100 میلی لیتر) طبق روش گفته شده در بالا استفاده شد. لازم به ذکر است، همه آزمایشات در سه تکرار همزمان انجام شدند (8، 6).

تحلیل آماری

در این تحقیق، اطلاعات بدست آمده توسط نرم افزار SPSS و Anova مورد آزمون قرار گرفت و نتایج به صورت جداول و نمودارهای میله ای و جعبه ای مورد تحلیل قرار گرفتند. مرز معنی داری روی $P \leq 0/05$ قرار داده شد.

نتایج

در تایید ژنوتیپ سوش سالمونلا تیفی موریوم TA100، سویه جهش یافته به علت فقدان نسبی سد لیپوپلی ساکارید در پوشش سطح باکتری، رنگ کریستال و بوله به داخل دیواره نفوذ کرده و باعث مرگ باکتری ها و تشکیل هاله 14 میلی متر شد. مقاومت به آمپی سیلین به علت وجود پلاسمید R-factor در سویه مورد آزمایش مشاهده شد. عدم رشد در ناحیه پرتو دیده مشاهده گردید که نشان دهنده جهش UVrB می باشد (جدول 1).

به طور یکنواخت در سطح پلیت های گلوکز آگار حداقل گسترده شدند. بعد از سفت شدن آگار، پلیت ها را وارونه کرده و به مدت 48 تا 72 ساعت در انکوباتور 37 درجه سانتی گراد قرار داده شدند. هم چنین کنترل های مثبت و منفی نیز در این آزمون در نظر گرفته شدند. کنترل منفی شامل 0/2 میلی لیتر محلول هیستیدین - بیوتین، 100 میلی لیتر آب مقطر استریل و 2 میلی لیتر تاپ آگار و 0/1 میلی لیتر سوش تازه شبانه TA100 می باشد که پس از 3 ثانیه تکان دهی بر روی پلیت های گلوکز آگار حداقل توزیع و در انکوباتور 37 درجه سانتی گراد به مدت 48 تا 72 ساعت گرماگذاری شدند (۱۲، ۶). حضور کنترل منفی برای نشان دادن تعداد باکتری هایی که جهش برگشتی خود به خودی می یابند، ضروری است. کنترل مثبت این آزمون برای مقایسه نتایج شامل 100 میلی لیتر محلول آزید سدیم به عنوان یک ماده جهش زای قوی، 0/1 میلی لیتر کشت تازه شبانه سوش آزمایشی همراه با 0/2 میلی لیتر محلول هیستیدین - بیوتین در درون 2 میلی لیتر محیط تاپ آگار در دمای 45 درجه سانتی گراد بود. پس از پایان دوره گرماگذاری پلیت ها از انکوباتور خارج شده و تعداد کلنی های برگشتی در پلیت های آزمایشی و کنترلی شمارش گردید (۱۲، ۶).

آزمون سرطان زایی با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم TA100 و میکروزوم کبد موش S9

در این آزمون علاوه بر افزودن 0/1 میلی لیتر کشت تازه شبانه سالمونلا تیفی موریوم TA100، 0/2 میلی لیتر محلول هیستیدین - بیوتین و غلظت مورد نظر از

جدول 1- مشخصات ژنوتیپی سالمونلا تیفی موریوم سویه TA100

سویه مورد آزمایش	جهش Rfa	پلاسمید R-Factor	جهش UVrb
سالمونلا تیفی موریوم TA100	+	+	+

میزان MR یا پتانسیل موتاسیون زایی برای غلظت های مورد آزمایش به ترتیب 1/01، 1/09، 1/1 می باشد که مطابق فرمول محاسبه MR کمتر از 2 برابر بوده و بنابر این هیچ کدام از غلظت های بکار رفته سرطان زا نمی باشد. در حالی که MR برای شاهد مثبت 6/6 بوده که دلیل بر سرطان زایی آزید سدیم می باشد (جدول 2، نمودار 1 و 2).

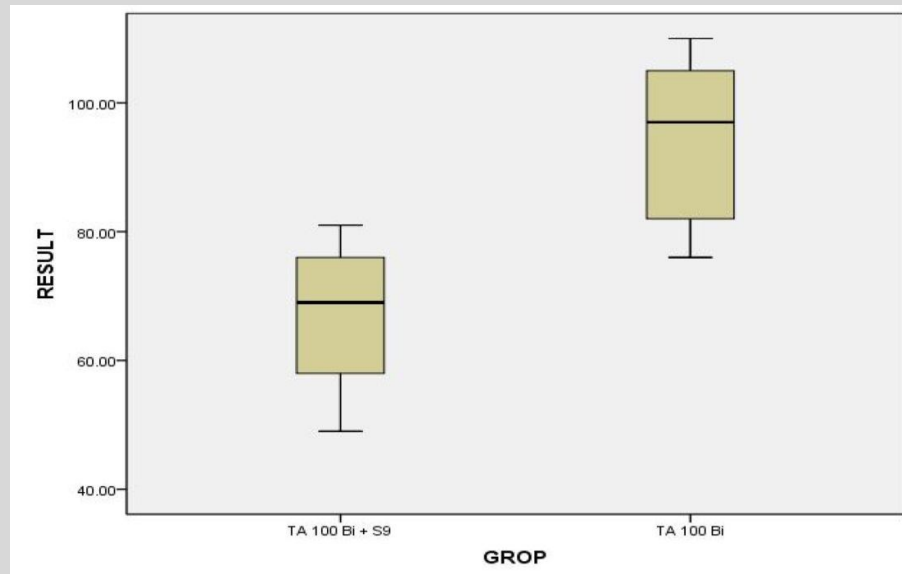
بحث و نتیجه گیری

در قرن حاضر یکی از عوامل مرگ و میر در جوامع صنعتی و پیشرفته سرطان می باشد. در دو دهه گذشته انواع متفاوتی از مواد جهش زا و سرطان زای شیمیایی شناخته شده اند. امروزه دانشمندان بر این عقیده اند که آسیب ها و تغییرات ژنتیکی اعم از تغییرات تغییرات ایجاد شده در توالی و انسجام DNA بروز جهش یا موتاسیون در ژن ها و دیگر تغییرات ژنتیکی در ساختار کروموزومی در سرطان زایی نقش بسزایی دارند. از این جهت طراحی روش هایی برای مشخص نمودن سرطان زایی مواد بسیار با اهمیت می باشد. امروزه روش ایمز جهت غربالگری و شناسایی مواد جهش زا و ضد جهشی از روشهای متداول است (1). کاربرد روش ایمز در این تحقیق به عنوان آزمون استاندارد و دقیق جهت شناسایی جهش زایی نانو ذرات بیسموت می باشد.

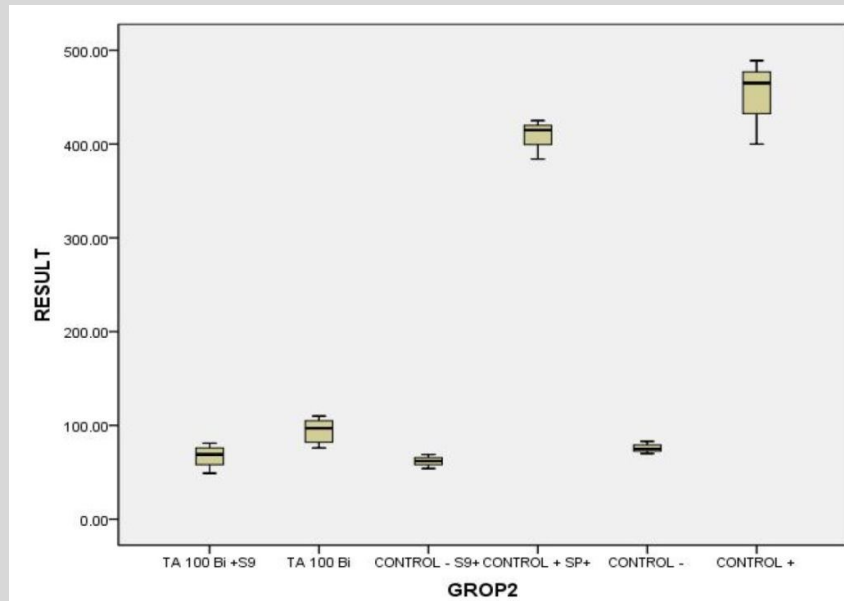
جدول 2- تعداد کلنی های برگشتی در حضور سالمونلا تیفی موربوم TA100 و میکروزوم کبد موش (S9)

تعداد کلنی سالمونلا تیفی موربوم TA100 موربوم (+S9)	تعداد کلنی سالمونلا تیفی موربوم TA100 موربوم (- S9)	نمونه مورد آزمایش
میانگین تعداد کلنی برگشتی	میانگین تعداد کلنی برگشتی	کنترل مثبت
408±21/37	451±6/56	کنترل منفی
61/67±7/5	76±6/5	بیسموت
67±11/34	94/55±12/02	

نتایج آزمایش با باکتری سالمونلا تیفی موربوم TA100 نشان می دهد که با افزایش غلظت نانو ذرات بیسموت تعداد کلنی های برگشتی افزایش می یابد. تعداد کلنی های برگشتی در کمترین غلظت 84 و به ترتیب 95 و 104 می باشد که در مقایسه با تعداد کلنی های برگشتی شاهد منفی که 76 می باشد، تقریباً برابر و یا کمی افزایش نشان می دهد و به دو برابر نرسیده است. پس نانو ذرات بیسموت در این غلظت ها اثرات جهش زایی ندارد. با محاسبه MR نیز نسبت موتاژنیسته یا پتانسیل جهش زایی در سه نمونه مورد آزمایش به ترتیب 1/1، 1/2، 1/3 می باشد که هیچ یک مطابق فرمول به دو برابر نرسیده است. از طرف دیگر پتانسیل جهش زایی در شاهد مثبت 5/9 بوده است که از دو برابر بیشتر است و تاییدی بر سرطان زایی آزید سدیم می باشد. در مرحله دوم از آزمایش که در حضور S9 میکروزوم کبد موش انجام شده است نتایج آزمایش نشان می دهد میانگین تعداد کلنی های برگشتی شاهد مثبت 408 می باشد که نشان دهنده سرطان زایی این ماده (آزید سدیم) است. میانگین تعداد کلنی های برگشتی شاهد منفی 61 می باشد و تعداد کلنی های برگشتی نمونه مورد آزمایش در مقایسه با شاهد منفی اندکی افزایش دارد که دلیل بر عدم سرطان زایی نانو ذرات بیسموت در غلظت های مورد استفاده می باشد.



نمودار 1- مقایسه میانگین کلنی های برگشتی نانو ذرات بیسموت در حضور سالمونلا تیفی موریوم و میکروزوم کبد موش



نمودار 2- مقایسه میانگین کلنی های برگشتی نانوذرات بیسموت، کنترل مثبت و منفی در حضور سالمونلا تیفی موریوم و میکروزوم کبد موش (S9)

باشد(12).به دنبال نتایج حاصل از پژوهش های M.Kranendonk و همکارانش سوش های سالمونلا تیفی موریوم TA100،TA97،TA104 و نیز سوش *E.coli* K12 جهت سنجش جهش زایی و سرطان زایی برخی از مواد شیمیایی مناسب هستند.آن ها با بررسی بر

بررسی مقایسه ای که E.zeiger و همکارانش بر روی روش های مختلف سنجش جهش زایی مواد شیمیایی انجام دادند، مشخص نمود که حدود 76-71٪ از نتایج جهش زایی مواد شیمیایی با استفاده از سوش های مختلف جهش یافته سالمونلا در آزمون ها می

بدست آمده از این تحقیق با توجه به جدول با این تئوری همسویی و مطابقت داشت (9). در سال 2004، Wakabayashi و همکارانش عنوان نمودند ترکیبات مختلف را می توان براساس تعدا کلنی های برگشتی به 4 گروه تقسیم کرد: جهش زای ضعیف (500 کلنی برگشتی)، جهش زای متوسط (2500-500 کلنی برگشتی)، جهش زای قوی (5000-2500 کلنی برگشتی) و جهش زای بسیار قوی (بیش از 5000 کلنی برگشتی) (15). Green و Muriel در سال 1976، معادله زیر را برای محاسبه فرکانس موتاسیون (MR) ارائه نمودند (8).

orative Program, Progress in Mutation Research. Elsevier, 181-197.

8. Green, M., Muriel, W. (1976). Mutagen testing using Trp+ reversion in *Escherichia Coli*. Muta- tion Res, 38; 3-32.

9. Hekura, A., Shimada, H., Nakajima, M. (2005). Salmonella/human S9 mutagenicity test: a collaborative study With 58 compounds. Oxford journals, 20; 217-228.

10. Kaplan, C., Diril, N., Sahin, S. (2007). Mutagenic potentials of dental cements as detected by the Salmonella/microsome test. Department of prosthodontics, 4019-4027.

11. Mccann, J., Choi, E., Yamasaki, E., Ames, B.N. (1975). Detection of carcinogens in the Salmo- nella/ microsome test. Assay of 300 chemicals. Proc.NatL.Acad.Sci.U.S.A, 72; 5135-5139.

12. Mortelmans, K., Zeiger, E. (2000). The Ames salmonella / microsome mutagenicity assay, Mutat .Res, 455; 29-60.

13. Hernandez- Delgado, R., Velasco-Arias, Diaz Katiushka, D. (2011). Zerovalent bismuth nanoparticles inhibit *Streptococcus mutans* growth and formation of biofilm. Available at: www. Ncbi .nlm.nih.gov /pubmed/ 22619547 .

14. Spingarn, N. E., Mccann, J., Kabori, J., Ames, B.N. (1975). Detection of carcinogens as mutagens: bacterial tester strains with R- factor plasmid , Proc.NatL.Acad.Sci.U.S.A, 7; 979-983.

15. Wakabayashi, K., Watanabe, T., Ohe, T. (2004). Mutagens in surface water: a review. Muta- sion Research, 567; 109-149 .

روی نقش آنزیم های ویژه در فعال سازی کارسینوژن ها و نیز فعال سازی ظرفیت هایشان اهمیت بسیار زیادی دارند (6). در این پژوهش، جهش یافتگی سالمونلا تیفی موریوم TA100 با جدول پروفیسور ایمز که در سال 1994 براساس آخرین تحقیقات ارائه داده شده است، همسویی نشان داده و سوش ها تایید شدند. برطبق نتایج که ایمز و همکارانش با بررسی بر روی بیش از 300 نوع ماده شیمیایی داشتند، این تئوری بیان گردید که در صورتی که تعداد کلنی ها بر روی محیط کشت 2 برابر شاهد منفی باشند ماده جهش زا محسوب می گردد. نتایج

منابع

1- امتیاز جو، م. 1386. بررسی اثرات جهش زایی و سرطان زایی سه ترکیب افزودنی به نفت خام میدان سیری (واقع در خلیج فارس) توسط باکتری سالمونلا تیفی موریوم . Ames test. علوم و تکنولوژی محیط زیست.

2- مهربان، ص. 1383. بررسی اثر جهش زایی و سرطان زایی پلی اتیلن سنگین و سبک با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم TA 100، TA 104 و میکروزوم. مجله علمی و پژوهشی حکیم.

3. Bathini, M., Goto, S., Tian, H., Ando, F., Fukuhara, M., Watanabe, I. (2002). Mutagenicity of 1,3-Butadiene, 1,4-Pentadiene -3- ol, Isoprene, 2,4-Hexadiene, cis and trans- piprylene, Envi- ron. Health Perspect, 3; 73-78.

4. Blackburn, G. R., Deitch, R. A., Schreiner, C. A., Mehlman, M. A., Mackerer, C. R. (1984). Estima- tion of the dermal carcinogenic activity of petro- leum fractions using a modified Ames assay. Cell Bio Toxicol, 1(1); 67-80.

5. Czygan, P. (1988). Microsomal metabolism of dimethyl hitrosamine and the cytochrome P450 dependency of its activation to a mutagen. Cancer Res, 33;2982-2986.

6. Dorothy, M., Ames, B. N. (1983). Revised meth- ods for the salmonella mutagenicity test. Mu- tat.Res, 113 ;173-216.

7. Fluckiger, S.I., Baumeister, M., Braun, K. (2004). Assessment of the performance of the Ames assay: a collaborative study with 19 coded compounds. Report of the International Collab-

mutagens, See information in:
<http://www.zoo.utoronto.ca/able>, 1-16.

16.Wessner, D.R., Maiorano, P.C., Kenyon, J., Pillsbury, R., Campbell, A.M. (2000). Spot-over-lay Ames test of potential

