

葡萄糖-组胺美拉德产物的生成及对 HL-7702 细胞生长抑制和细胞周期的影响

张 萌¹, 倪孔巍¹, 邹祖全², 张进杰¹, 杨文鸽^{*1}

(1. 宁波大学 海洋学院, 宁波 315211; 2. 宁波大学 医学院, 宁波 315211)

摘要: 探讨了葡萄糖-组胺美拉德产物 (MRPs) 和组胺 (Histamine) 对人正常肝细胞 (HL-7702) 生长抑制和细胞周期可能的作用和影响。用不同剂量的葡萄糖-组胺美拉德产物和组胺处理 HL-7702 细胞, 用 MTT 方法分别检测美拉德产物和组胺对 HL-7702 细胞的生长抑制效果; 用 Annexin 检测法, 在流式细胞仪下观察两种药物对 HL-7702 细胞周期分布的影响。MRPs 和组胺作用于 HL-7702 细胞 24、48、72 h 后, 对细胞均有生长抑制作用, 其抑制作用呈现剂量和时间依赖性。但组胺对 HL-7702 细胞的生长抑制作用明显强于 MRPs; MRPs 产物和组胺两种药物作用于细胞 72 h 后对细胞周期都有一定的影响, 其中组胺的作用明显强于 MRPs。葡萄糖和组胺生成的产物能显著消减组胺对 HL-7702 细胞的杀伤作用。

关键词: 葡萄糖-组胺美拉德产物; 组胺; 人正常肝细胞 (HL-7702); 细胞生长抑制; 细胞周期

中图分类号: TS 254 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2015)07—0704—08

Maillard Reaction Between Glucose and Histamine and Its Inhibition on Cell Proliferation and Effect on Cell Cycle of Human Hepatic Cell Line (HL7702)

ZHANG Meng¹, NI Kongwei¹, ZOU Zuquan², ZHANG Jinjie¹, YANG Wenge^{*1}

(1. School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China; 2. Medical School of Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: The effects of Maillard reaction products (MRPs) and histamine on the inhibition of cell proliferation and cell cycle of human HL7702 were investigated. Human HL 7702 cells were respectively treated by MRPs and histamine with different concentrations for 24, 48 and 72 h, i.e., 0.2 mg/mL, 0.4 mg/mL, 0.6 mg/mL, 0.8 mg/mL, 1 mg/mL for MRPs, and 0.047 mg/mL, 0.094 mg/mL, 0.141 mg/mL, 0.188 mg/mL, 0.235 mg/mL for histamine. The inhibition of cell proliferation induced by MRPs and histamine was detected by MTT assay. The effects of MRPs and histamine on the cell cycle distribution in human HL7702 were detected with flow cytometry using Annexin assay. The inhibition of cell proliferation induced by MRPs and histamine was dependent on the treatment concentration and duration, in which the inhibition was observed after 24 h, 48 h, 72 h treatment in

收稿日期: 2014-05-19

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31201284, 81102121); 宁波市农业创新创业重点项目 (2012C92016); 海洋公益性行业科研专项 (201305013); 浙江省省级公益性技术应用研究计划项目 (2013C32109)。

*** 通信作者:** 杨文鸽 (1966—), 女, 浙江诸暨人, 工学博士, 教授, 主要从事水产品加工研究。E-mail: yangwenge@nbu.edu.cn

human HL7702. Histamine was a stronger inhibitor compared with MRPs. The cell cycle arrest was affected by both MRPs and histamine, while histamine was more effective. In conclusion, MRPs could significantly reduce the histamine-induced cytotoxicity of human HL-7702 cells.

Keywords: Maillard reaction products (MRPs), histamine, human hepatic cell line (HL7702), inhibition on cell proliferation, cell cycle

生物胺(biogenic amine, BA)是一类具有生物活性的含氮脂肪族或杂环类低分子化合物的总称,部分生物胺在体内发挥着重要的生理功能:它是激素、生物碱、核酸和蛋白质合成的前体物质^[1],同时还可以促进生长和代谢、增强肠道系统免疫活性,并在神经系统中发挥活性,如控制血压等^[2]。一定量的单胺类化合物对精神活动和大脑皮层有着重要的调节作用,对血管和肌肉有明显的收缩和舒张作用;多胺类在生物体的生长过程中能促进 DNA、RNA 和蛋白质的合成,以及加速生物体的生长发育等。虽然它在生命体中具有重要的生理功能,但是如果人体摄入过量时,会引起头痛、恶心、心悸、呼吸紊乱等过敏反应,严重的甚至还会危及生命^[3]。

常见生物胺中组胺对人类健康的影响最大^[4],它的含量主要取决于食品的特性和微生物的种类。水产品富含蛋白质,在加工和贮藏过程中会产生多肽和氨基酸,这些小分子物质容易进一步转化为生物胺。在水产品加工的过程中,为了降低生物胺的含量,通过物理方法进行消减,如通过超高压、辐照等^[5-6];化学方法如添加剂的使用,如 NaCl、保鲜剂、还原糖等。添加还原糖主要是依据美拉德反应原理:美拉德反应主要是指还原糖与氨基酸、肽类和蛋白质之间的复杂反应^[7-8],其中羰基主要来自于还原糖或油脂氧化酸败产生的醛或酮,氨基来源于氨基酸、胺、肽和蛋白质等物质^[9]。还原糖和胺类物质在一定的条件下可以进行羰氨缩合反应,既可以降低水产品中生物胺的含量,同时又可以提高产物的抗氧化等特性^[10-11]。有研究表明美拉德原料的差异会导致反应产物的差异,对细胞生长、增殖均有不同作用^[12]。

作者以体外培养的肝细胞(HL-7702)为模型,研究了组胺和葡萄糖-组胺美拉德反应产物对 HL-7702 细胞生长抑制和细胞周期的影响,探究基于美拉德反应消减组胺后的毒性作用,为合理应用美

拉德反应这一方法消食品中组胺提供理论基础。

1 实验材料

1.1 主要材料与药品

人正常肝细胞系(HL-7702):购于中国科学院上海细胞库;RPMI 1640 培养基:购于 Gibco 公司;胰蛋白酶消化液、青霉素和链霉素:购于上海碧云天生物技术有限公司;新生小牛血清:购于杭州四季青公司;葡萄糖:购于国药公司;组胺:购于生物生工公司;噻唑蓝[3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四唑溴蓝 MTT]、二甲基亚砜(DMSO):均购于美国 Sigma 公司;Cell Cycle Staining Kit:购于联科生物公司;其他试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器与设备

CO₂ 培养箱:美国 Thermo 公司产品;SW-CJ-2FD 型双人单面净化工作台:苏州苏洁净化设备有限公司产品;不锈钢新型电热恒温水槽:宁波江南仪器厂产品;TS-1(数显)脱色摇床:上海洪纪仪器设备有限公司产品;KHB ST-360 自动多功能酶标仪:上海科华生物工程有限公司;流式细胞仪:美国 BD 公司产品。

2 实验方法

2.1 葡萄糖-组胺美拉德产物的制备^[13]

分别取 0.01 mol 组胺和 0.02 mol 葡萄糖溶于 200 mL 超纯水中(氨基与葡萄糖的羰基的物质量之比为 1:2),用(5 mol/L NaOH 或 1M HCl)溶液调节 pH 为 10。分装溶液至螺口玻璃管中,充氮气 2 min,密封。在 120 ℃条件下,保持 60 min,油浴加热。加热结束,冰水浴迅速冷却以使反应停止。冷却后经冷冻干燥机干燥后称量,密封处理,待用。

2.2 细胞培养与传代

HL-7702 细胞用含 10% 小牛血清的 RPMI

1640(含体积分数为 1%的青霉素和链霉素)培养基于 37 ℃、体积分数 5% CO₂ 的无菌培养箱中培养,待细胞平铺融合后,用胰蛋白酶消化液进行消化传代。观察细胞生长情况,选取对数生长期的细胞用于实验研究。

2.3 MTT 法检测美拉德产物、组胺和葡萄糖对 HL-7702 细胞的生长抑制作用^[14-15]

收集对数期细胞,制成细胞悬液,96 孔板中每孔接种 5 000 个细胞,24 h 后进行加药处理。本实验葡萄糖-组胺美拉德产物加药浓度设置为 5 个梯度,分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1 mg/mL,同时设定产物消减前对应的组胺浓度分别为 0.047、0.094、0.141、0.188、0.235 mg/mL 以及产物消减前对应的葡萄糖浓度分别为 0.158、0.306、0.474、0.612、0.790 mg/mL。一个浓度设置 5 个复孔,同时设置对照组和调零组。对照组只加入细胞和培养基,调零组分别加入相同浓度梯度的上述美拉德产物、组胺及葡萄糖。在 37 ℃、CO₂ 体积分数为 5%的条件下,分别处理 24、48、72 h 后,每孔加入 5 mg/mL MTT 溶液 20 μL,继续培养 4 h。

吸净孔内培养基,在避光的条件下,每孔加入 150 μL DMSO,置于常温摇床上震荡 10 min,使结晶物充分溶解。在酶联免疫检测仪测定波长为 490 nm 时各孔的吸光值,并按下面公式计算细胞生长抑制率(%):

$$\text{细胞生长抑制率}/\% = \frac{(A_{\text{对照组}} - A_{\text{实验组}})}{(A_{\text{对照组}} - A_{\text{调零组}})} \times 100$$

2.4 流式细胞仪检测细胞周期

HL-7702 细胞加药处理 72 h 后,收集各浓度的细胞,制成细胞悬液。在 1 000 r/min 下离心 5 min,弃上清。加入预冷的 PBS 溶液吹散细胞后再离心,弃上清,重复 2~3 次后,得到细胞沉淀。用 4 ℃下预冷的体积分数 70%乙醇固定,4 ℃保存,固定 24 h 以上。取细胞悬液用 PBS 洗 3 次后,在避光条件下加入 1 mL 碘化丙锭染液并于 37 ℃孵育 30 min^[16-17],采用流式分析仪检测细胞周期。

2.5 统计学分析

采用 SAS 8.0 软件对实验数据进行统计 One-Way ANOVE 分析,每个实验重复 3 次,实验结果均以平均值±标准差表示, $P < 0.05$ 表明差异显著, $P < 0.01$ 表明差异极显著。

3 实验结果

3.1 葡萄糖-组胺美拉德产物、组胺和葡萄糖对 HL-7702 细胞的生长抑制作用

为了表述方便,将 3 种物质对应质量浓度用字母表示序号,见表 1。

表 1 MRP_s Histamine Glucose 对应浓度代表字母

Table 1 Letters represented the different concentrations of MRP_s and Histamine

序号	质量浓度/(mg/mL)		
	MRP _s	Histamine	Glucose
a	0.2	0.047	0.158
b	0.4	0.094	0.306
c	0.6	0.141	0.474
d	0.8	0.188	0.612
e	1.0	0.235	0.790

MTT 法检测结果如表 2~4 所示,结果表明不同浓度的美拉德产物和组胺对 HL-7702 细胞具有明显的生长抑制作用,葡萄糖对 HL-7702 细胞生长抑制作用不显著。同时葡萄糖-组胺美拉德产物又在一定程度上消减了组胺的毒性。

表 2 葡萄糖-组胺美拉德产物、组胺和葡萄糖对 HL-7702 的细胞生长抑制率(24 h)

Table 2 Growth inhibition rate of HL-7702 cell affected by histamine and MRP_s(24 h)

序号	细胞生长抑制率/%		
	Histamine	MRP _s	Glucose
a	13.25±0.063	2.00±0.45**	0.21±0.05**
b	13.58±0.69	9.60±0.53**	0.19±0.04**
c	20.20±1.02	10.60±0.58**	0.18±0.09**
d	25.82±1.24	11.26±0.61**	0.11±0.06**
e	30.13±1.29	12.91±0.59**	0.17±0.09**

表 3 葡萄糖-组胺美拉德产物、组胺和葡萄糖对 HL-7702 的细胞生长抑制率(48 h)

Table 3 Growth inhibition rate of HL-7702 cell affected by histamine and MRP_s(48 h)

序号	细胞生长抑制率/%		
	Histamine	MRP _s	Glucose
a	17.17±0.82	2.15±0.69**	0.28±0.09**

续表 3

序号	细胞生长抑制率/%		
	Histamine	MRPs	Glucose
b	17.81±0.87	4.51±0.76**	0.23±0.05**
c	19.96±1.03	5.58±0.81**	0.25±0.08**
d	22.96±1.21	10.94±0.94**	0.21±0.07**
e	40.13±1.44	24.25±1.17**	0.19±0.08**

表 4 葡萄糖-组胺美拉德产物、组胺和葡萄糖对 HL-7702 的细胞生长抑制率(72 h)

Table 4 Growth inhibition rate of HL-7702 cell affected by histamine and MRPs(72 h)

序号	细胞生长抑制率/%		
	Histamine	MRPs	Glucose
a	27.87±1.19	2.20±0.12**	0.33±0.09**
b	29.76±1.24	8.66±0.41**	0.30±0.12**
c	37.80±1.59	17.17±0.887**	0.29±0.15**
d	38.43±1.72	25.98±1.36**	0.26±0.12**
e	44.09±2.17	30.55±1.68**	0.21±0.11**

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, $n=3$, 平均值±标准差。

从表 2~4 中可以看出,MRPs 和组胺对细胞 HL-7702 生长均有抑制作用,且在实验浓度范围内抑制作用均呈现剂量依赖性,随着样品质量浓度的增大,HL-7702 细胞的生长抑制率增加,而葡萄糖对 HL-7702 细胞的生长抑制作用不显著,对细胞几乎没有影响。当 MRPs 和组胺对应序号为 a 时,24 h 细胞生长抑制率分别为 2.00 % 和 13.25% ,48 h 后为 2.15% 和 17.17%,72 h 后分别增大到 2.20 % 和 27.87%,由此可以看出 MRPs 对组胺的消减作用与时间呈正相关。经统计分析,不同剂量的 MRPs 和组胺对 HL-7702 细胞的生长抑制率存在极显著差异 ($P<0.01$),其中组胺对 HL-7702 对细胞有较强的抑制效果。样品在浓度 a~c 范围内时差异更为显著。

综上所述,MRPs 与组胺相比,在抑制 HL-7702 细胞生长上存在明显差异。表明葡萄糖的添加极显著地降低了组胺的细胞毒性。

3.2 细胞周期动力学检测结果

通过 MTT 实验得出,MRPs 和组胺作用于 HL-7702 细胞后其生长抑制率与时间成正相关,并且

a、b、c 3 个序号可以看出,MRPs 毒性显著低于组胺的毒性,结果见图 1。因此,分别以 0.2、0.4、0.6 mg/mL 的 MRPs 和 0.047、0.094、0.141 mg/mL 的组胺作用于 HL-7702 细胞 72 h。

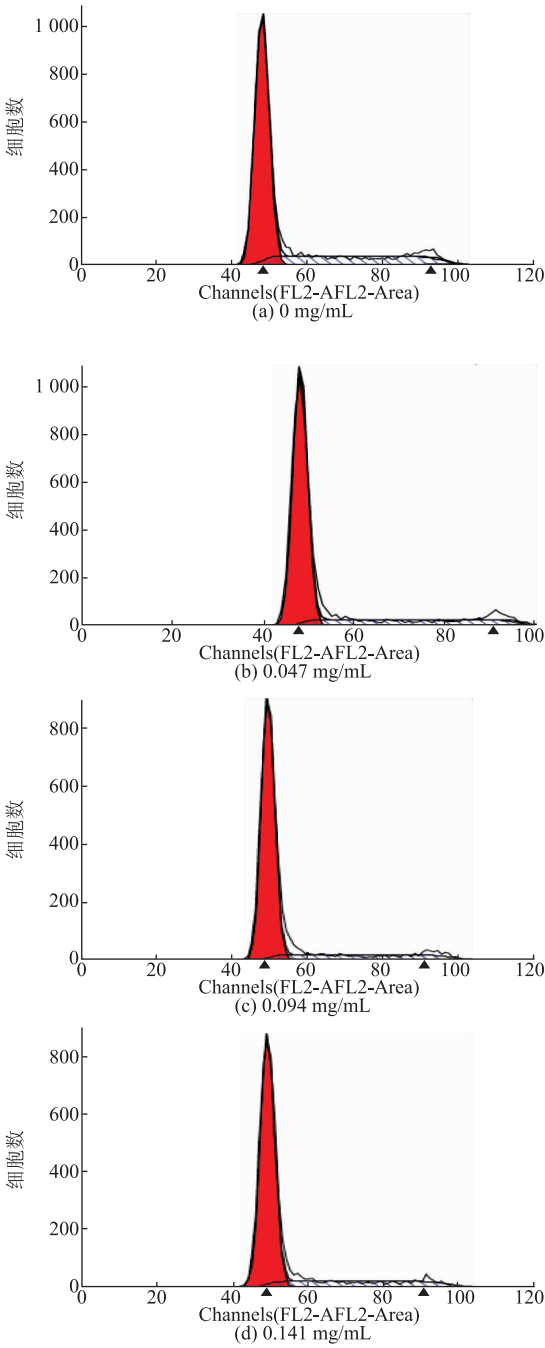


图 1 不同质量浓度组胺作用 72 h 后 HL-7702 细胞周期的作用

Fig. 1 Effects of different concentration of histamine on HL-7702 cell cycle

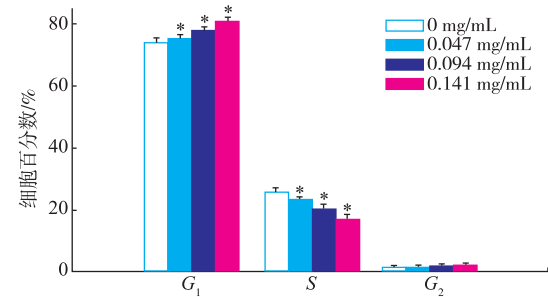


图 2 流式细胞仪测得组胺作用 72 h 对 HL-7702 细胞周期分布的变化情况

Fig. 2 Effects on the distribution of HL-7702 cell cycle measured by Histamine for 72 h

由表 4 可以看出：当组胺浓度分别为 0.047、0.094、0.141 mg/mL 时，G₁ 期所占比例分别为 75.93%、77.85% 和 80.67%，即随着加药浓度的增大 G₁ 期所占比例逐渐增大。与空白对照组相比可知，MRPs 将 HL-7702 细胞阻滞在 G₁ 期，并且其阻滞强度呈现剂量依赖性，具有统计学意义。

表 4 流式细胞仪测得组胺对 HL-7702 细胞周期分布的变化情况

Table 4 Effects on the distribution of HL-7702 cell cycle measured by Histamine

组别/(mg/mL)	G ₁ /%	S/%	G ₂ /%
空白对照	73.76±0.51	25.87±0.24	1.46±0.07
0.047	75.93±0.37*	23.31±0.60*	1.68±0.05
0.094	77.85±0.56*	20.56±0.91*	1.91±0.12
0.141	80.67±0.72*	17.09±1.04*	2.22±0.15

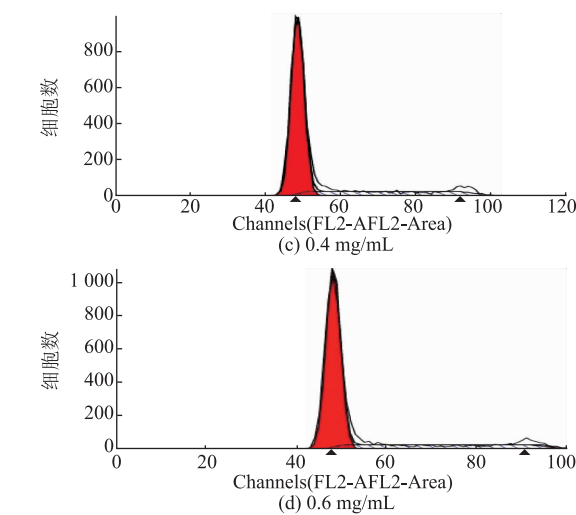
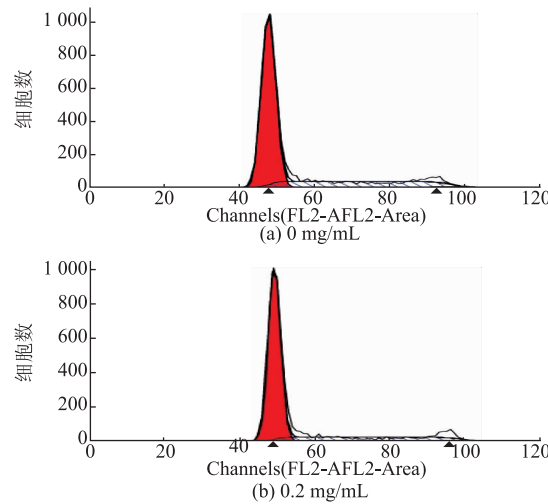


图 3 不同质量浓度 MRPs 作用 72 h 后 HL-7702 细胞周期的作用

Fig. 3 Effects of different concentration of MRPs on HL-7702 cell cycle

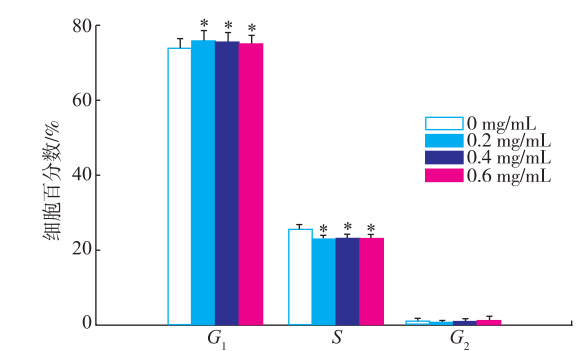


图 4 流式细胞仪测得 MRPs 作用 72 h 后对 HL-7702 细胞周期分布的变化情况

Fig. 4 Effects on the distribution of HL-7702 cell cycle measured by MRPs

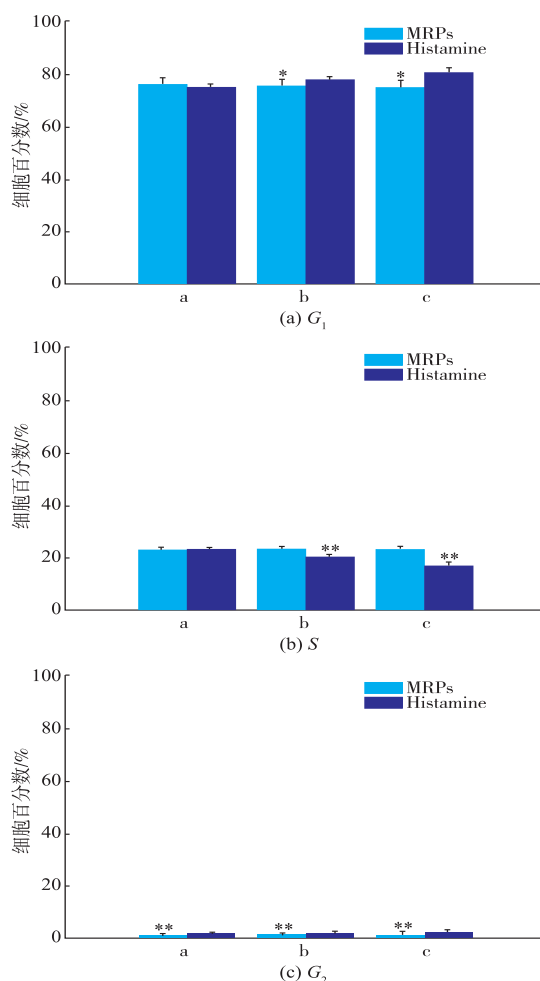
表 5 流式细胞仪测得 MRPs 对 HL-7702 细胞周期分布的变化情况

Table 5 Effects on the distribution of HL-7702 cell cycle measured by MRPs

组别/(mg/mL)	G ₁ /%	S/%	G ₂ /%
空白对照组	73.76±0.51	25.87±0.24	1.46±0.07
0.2	75.84±0.57*	23.14±0.13*	1.06±0.07
0.4	75.55±0.73*	23.30±0.38*	1.16±0.14
0.6	75.19±0.12*	23.37±0.37*	1.36±0.06

由表 5 可以看出：当 MRPs 质量浓度分别为 0.2、0.4、0.6 mg/mL 时，G₁ 期所占比例分别为 75.84%、75.55% 和 75.19%。与空白对照组相比，MRPs 处理

细胞后 G_1 期比例轻微增大,即 MRPs 将 HL-7702 细胞阻滞在 G_1 期,但是对 HL-7702 细胞影响不大。



注: * $P<0.05$, $P<0.01$, $n=3$, 平均值 $\pm$ 标准差。

图 5 MRPs 和组胺对 HL-7702 细胞周期作用对比图

Fig. 5 Area chart of HL-7702 cell cycle measured by MRPs and Histamine

通过 MRPs 和组胺相应浓度的对比 (图 5), 当 HL-7702 细胞处于 G_1 期时, a 、 b 、 c 3 个浓度下 MRPs 对 G_1 的影响都显著低于组胺, 分别为 75.84% 和 75.93%, 75.55% 和 77.85%, 75.19% 和 80.76%。经过分析, 发现组胺对 HL-7702 细胞周期阻滞作用显著强于 MRPs, 可以说明葡萄糖的添加在一定程度上减少了组胺对细胞的周期阻滞作用。

参考文献:

[1] 赵利, 苏伟, 刘建涛, 等. 水产品中生物胺的研究进展[J]. 水产学报, 2006, 30(2): 272-273.

ZHAO Li, SU Wei, LIU Jian-tao, et al. Research progress of biogenic amine in aquatic product [J]. Journal of Fisheries of China, 2006, 30(2): 272-273. (in Chinese)

4 结果与讨论

目前, 大多数食品发酵生产都离不开微生物的参与, 这样就难免产生生物胺。而生物胺在体内的大量积累会导致生物体的不良反应, 因此控制食品中生物胺的含量亟不可待。作者研究了 MRPs 和组胺对人正常肝细胞株 HL-7702 细胞的生长抑制和细胞周期阻滞的影响, 结果发现 MRPs 产物和组胺都可抑制细胞生长, 并且在抑制细胞生长方面还存在浓度和时间依赖性。组胺能够明显阻滞 HL-7702 细胞周期, MRPs 作用效果并不明显。

MTT 实验结果显示组胺对 HL-7702 细胞具有很强的细胞毒性作用, 作用时间相同, 相应浓度下 MRPs 极显著地降低了对细胞的生长抑制效果, 说明葡萄糖和组胺生成的产物能显著消减组胺对 HL-7702 细胞的杀伤作用。

作者采用流式细胞仪对 HL-7702 细胞周期进行分析后得出, MRPs 产物和组胺作用于细胞 72 h 后对细胞都有一定的影响: MRPs 将细胞阻滞在 G_1 期, 当 MRPs 质量浓度分别为 0.2、0.4、0.6 mg/mL 时, S 期所占比例分别为 75.84%、75.55% 和 75.19%, 但对细胞影响不大。组胺作用后细胞明显阻滞在 G_1 期, a 、 b 、 c 3 个序号下 MRPs 对 G_1 的影响都显著低于组胺, 分别为 75.84% 和 75.93%, 75.55% 和 77.85%, 75.19% 和 80.76%, 与 MRPs 存在显著差异, 造成这种现象可能是由于一些影响核酸合成的因素造成 DNA 复制不完全, 使细胞无法正常复制^[18-20], 具体原因有待于进一步研究。

通过 MRPs 和组胺对 HL-7702 细胞周期结果的分析, 得知组胺对 HL-7702 细胞的阻滞效果明显强于 MRPs, 并结合 MRPs 和组胺对 HL-7702 细胞的生长抑制作用结果, 可以说明葡萄糖与组胺发生美拉德反应, 能有效减少组胺对细胞的杀伤和阻滞作用。利用葡萄糖与食品中生物胺发生美拉德反应, 能起到降低组胺毒性的作用, 为应用美拉德反应这一方法消减食品中生物胺的应用可行性提供一定的理论基础。

- [2] Cinqunia A, Caly A, Longo F, et al. Determination of biogenic amines in fish by ion-exchange chromatography with conductivity detection[J]. **Journal of Chromatography A**, 2004, 1032: 73-77.
- [3] RUSSO P, SPANO G, ARENA M P, et al. Are consumers aware of the risks related to biogenic amines in food [C]. MENDEZ-VILASA. Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology, Spain, 2010; 1087-1095.
- [4] 刘景, 任婧, 孙克杰. 食品中生物胺的安全性研究进展[J]. 食品科学, 2013, 34(5): 322-326.
LIU Jing, REN Jing, SUN Kejie. Safety of biogenic amines in foods[J]. **Food Science**, 2013, 34(5): 322-326. (in Chinese)
- [5] 李平兰, 沈清武. 干发酵香肠中生物胺的产生与控制[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(11): 59-64.
LI Pinglan, SHEN Wuqing. The production and the methods to control of biogenic amines in dry fermented sausages [J]. **Food and Fermentation Industries**, 2004, 30(11): 59-64. (in Chinese)
- [6] Kim J H, Ahn H J, Lee J W, et al. Effects of gamma irradiation on the biogenic amines in pepperoni with different packaging conditions[J]. **Food Chemistry**, 2005, 89(2): 199-205.
- [7] Waller G R, Feather M S. The Maillard Reaction in Foods and Nutrition. Washington D C, USA: ACS, 1983.
- [8] Fujimaki M. Namiki, M, Kato H. Developments in Food Science, V. 13: Amino-Carbonyl Reaction in Food and Biological Systems. Amsterdam: Elsevier. 1986.
- [9] 张凌燕, 李倩, 尹姿, 等. 3 种氨基酸和葡萄糖美拉德产物的物理化学特性及抗氧化活性的研究[J]. 中国食品学报, 2008, 6, 8(3): 12-22.
ZHANG Lingyan, LI Qian, YIN Zi, et al. Physiochemical properties and antioxidant activity of three glucose-amino acid model maillard reaction products[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**, 2008, 6, 8(3): 12-22. (in Chinese)
- [10] Xiu-Min Chen, David D. Kitts. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Maillard Reaction Products Isolated from Sugar Amino Acid Model Systems[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2011, 59: 1294-1303.
- [11] David D. Kitts, Xiu-Min Chen. Demonstration of Antioxidant and Anti-inflammatory Bioactivities from Sugar- Amino Acid Maillard Reaction Products[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2012, 60: 6718-6727.
- [12] 周小理, 张晓菁, 唐文, 等. 几种美拉德反应产物对人脐静脉内皮细胞增殖的影响[J]. 食品科学, 2011, 32(15): 281-284.
ZHOU Xiaoli, ZHANG Xiaojing, Tang Wen, et al. Effects of several kinds of maillard reaction products on the proliferation of human umbilical vein endothelial cells[J]. **Food Science**, 2011, 32(15): 281-284. (in Chinese)
- [13] 周冬香, 王惠英, 孙涛, 等. 三周 L- 赖氨酸与葡萄糖美拉德反应产物的抗氧化性能[J]. 食品科技, 2010, 34(4): 224-227.
ZHOU Dongxiang, WANG Huiying, SUN Tao, et al. Antioxidant activity of three maillard reaction products of L-lysine and glucose[J]. **Food Science and Technology**, 2010, 34(4): 224-227. (in Chinese)
- [14] 张永奎, 李建民, 王东隶, 等. 大蒜素对体外人骨肉瘤细胞周期和细胞凋亡的影响[J]. 肿瘤, 2013, 3, 33(3): 214-222.
ZHANG Yongkui, LI Jianmin, WANG Dongli, et al. Effects of diallyl trisulfide on cell cycle and apoptosis of human osteosarcoma cell line Saso-2[J]. **Tumor**, 2013, 3, 33(3): 214-222. (in Chinese)
- [15] Fernanda Faiao-Flores, Paulo Rogerio Pinto Coelho, Joao Dias Toledo Arruda-Neto. Cell cycle arrest, extracellular matrix changes and intrinsic apoptosis in human melanoma cells are induced by Boron Neutron Capture Therapy [J]. **Toxicology in Vitro**, 2013, 27: 1196-1204.
- [16] Daotong Li, Yaqiong Ye, Shaoqing Lin. Evaluation of deoxynivalenol-induced toxic effects on DF-1 cells in vitro; Cell-cycle arrest, oxidative stress, and apoptosis[J]. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 2014, 37: 141-149.
- [17] 郭利华, 邵晓娜, 朱华佗, 等. $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 通过阻滞细胞周期抑制胃癌细胞系增殖[J]. 基础医学与临床, 2014, 2, 34(2): 201-205.
GUO Lihua, SHAO Xiaona, ZHU Huatuo, et al. $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inhibits proliferation of gastric cancer cell line by arresting cell cycle[J]. **Basic and Clinical Medicine**, 2014, 2, 34(2): 201-205. (in Chinese)
- [18] Dayang Hazwani Abang Ishak, Kah Kooi Ooi, Kok-Pian Ang. A bismuth diethyldithiocarbamate compound promotes apoptosis in HepG2 carcinoma, cell cycle arrest and inhibits cell invasion through modulation of the NF-kB activation pathway[J]. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 2014, 130: 38-51.
- [19] 黄幼生, 苏琦, 周秀田, 等. 二烯丙基二硫对人结肠癌 HT-29 细胞 G1 期的阻滞作用[J]. 中国药理学通报, 2005, 9, 21(9): 1128-32.

- HUANG Yousheng, Su Qi, ZHOU Xiutian, et al. Effects of diallyl disulfide on G1 arrest in human colon cancer cell [J]. **Chinese Pharmacological Bulletin**, 2005, 9, 21(9): 1128-32. (in Chinese)
- [20] 廖刚, 王子卫, 张能, 等. 人表皮生长因子受体显性负性突变体诱导胃癌细胞发生 G0/G1 期阻滞[J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(3): 430-435.
- LIAO Gang, WANG Ziwei, ZHANG Neng, et al. Dominant negative human epidermal growth factor receptor induces G0/G1 arrest in human gastric cancer cells[J]. **Chinese Journal of Pathophysiology**, 2013, 29(3): 430-435. (in Chinese)

科 技 信 息

欧盟批准 3 种视黄醇酯作为饲料添加剂

2015 年 5 月 6 日欧盟发布(EU)2015/724 号法规, 批准 3 种视黄醇酯用做饲料添加剂。该法规自公布 20 日起生效。

这 3 种酯类物质分别为视黄醇乙酸酯(retinyl acetate)、视黄醇棕榈酸酯(retinyl palmitate)和视黄醇丙酸酯(retinyl propionate)。

新法规将 3 种酯类物质纳入“营养添加剂”, 在功能分组当中属于“维生素、维生素原以及有类似效应化学性质定义良好物质”范畴, 不能用于水中。

[信息来源] 食品伙伴网. 欧盟批准三种视黄醇酯作为饲料添加剂 [EB/OL]. (2015-5-22). <http://news.foodmate.net/2015/05/310485.html>

加拿大批准从枯草芽孢杆菌 MOL2940 提取的天冬酰胺酶作为食品酶制剂

2015 年 5 月 26 日, 加拿大卫生部发布 G/SPS/N/CAN/795/Add.1 号通报, 公布加拿大卫生部食品司已完成了一份详细的有关申请要求将从枯草芽孢杆菌 MOL2940 提取的天冬酰胺酶作为允许使用的食品添加剂用于面包, 面粉, 全麦面粉, 未标准化食品和生咖啡中的安全评估。

天冬酰胺酶用于食品中可减少丙烯酰胺的用量, 其它生物来源的天冬酰胺酶早已允许用于上述食品中。通过评估, 并未发现任何其它相关的不安全因素, 食品司已通过文件通知允许其作为食品添加剂使用并更新了食品酶允许使用列表, 生效日期为 2015 年 5 月 12 日。该通报的目的, 是公布卫生部的意向, 为任何咨询或希望提交有关该食品添加剂安全性科学新信息的人士提供适当的联系方式, 加拿大卫生部食品司将对食品添加剂的安全使用科学新信息(包括从枯草芽孢杆菌 MOL2940 提取的天冬酰胺酶)进行审核, 所有想提交有关该食品添加剂使用科学新信息或咨询的人士可通过书面、普通邮件或电子邮件的方式进行。

[信息来源] 厦门 WTO 工作站. 加拿大批准从枯草芽孢杆菌 MOL2940 提取的天冬酰胺酶作为食品酶制剂 [EB/OL]. (2015-5-27). <http://www.xmtbt-sps.gov.cn/detail.asp?id=49042>