

第 2 屆大專校院綠色化學創意競賽 創意說明書

一、主題

藉由電腦預測模式及斑馬魚胚胎發展生態毒理替代測試策略

二、動機

直至今日，化學物質的毒性研究依然是重要議題，國際組織、國際公約和國際化學品貿易的相關規範中都有提到化學品交易中需盡可能檢附完整的毒性資訊，相較於傳統毒理學而言，生態毒理學的物質資訊完整性，是較為匱乏，並且具有化學品資料填補的迫切性。而這些化學品的毒理資訊大多來自於動物實驗。有別於使用傳統動物實驗來研究物質的毒性及生態毒性，在 21 世紀，國際上已推行「21 世紀的毒理學計畫」，目標是盡可能的減量動物實驗，發展合適的替代測試。於近十年來，毒理學和生態毒理學家發現有些不需要使用動物的實驗方法，可以獲得和動物實驗相同的毒性趨勢，也因此目前認為有足夠的證據顯示，非動物方法將有機會可以做為動物實驗的替代方法，減少實驗動物的使用。因此本研究希望藉由非動物方法的應用，減少過多的資源浪費，並且減少動物的犧牲，進而達成綠色化學其一的目標。因此本研究將致力於研發具有高效率及能應用於法規毒理學的生態毒理學替代測試方法。

三、目的

傳統的魚類急毒性試驗會使用大量的動物進行試驗，因此本研究將著重於驗證電腦預測模式以及斑馬魚胚胎兩種替代測試方法，並且為提升替代方法的效率，本研究將結合兩種替代方法，發展並驗證整合型策略。

四、設計大綱

(一)、文字大綱：

在研究中，我們藉由電腦預測模式及斑馬魚胚胎兩種替代測試方法，整合成整合型測試策略，並且探討其可行性。

(1) 驗證實驗方法：

首先我們先驗證個別電腦預測模式及斑馬魚胚胎的可行性及有效性。電腦預測法是近年來在 21 世紀毒理學所提倡的概念，有許多證據顯示，藉由 QSAR 模型進行預測化學物質的魚類急毒性結果顯示為中度相關性，並且具有快速篩選大量

化學物質的優勢。也因此本研究中將藉由電腦預測方法來發展整合型測試策略，本研究選用的電腦預測法是由經濟合作暨發展組織(Organization for economic cooperation and development, OECD)OECD 所發展的免費毒理學預測軟體：QSAR Toolbox，其結合多種電腦預測模型包含：定量結構活性關係模型 (QSAR model) 和交互比對 (Read-across)，這個軟體能有效率篩選及具有多種概念進行化學品毒性預測。

而在本研究中，會藉由「斑馬魚胚胎急毒性試驗」作為體外測試方法。近十年來，已有多種證據顯示斑馬魚胚胎急毒性試驗以及魚類急毒性試驗之間具有統計學意義的高度相關性。針對斑馬魚胚胎急毒性試驗我們是遵循經濟合作暨發展組織(Organization for economic cooperation and development, OECD) 所公告第 236 號標準測試指引 (OECD TG236)。

為得知是否電腦預測模式以及斑馬魚胚胎是否能夠精準預測成魚急毒性，我們將透過 30 種已知化學物質進行驗證兩種替代測試方法的有效性。

(2)整合型測試策略：

替代測試的概念就是盡量以最低成本和最少化動物使用來取代完整動物實驗之測試終點。因此，我們將藉由電腦預測模式及斑馬魚胚胎替代測試方法以有效率方式試圖統整出整合型測試策略。在整合型測試策略中，我們以 100 mg/L 做為判斷物質是否有毒性風險的分界。

生態毒性有定義， $LC_{50} \leq 1$ mg/L 屬於劇毒物質、 $1 < LC_{50} \leq 10$ mg/L 屬於有毒物質、 $10 < LC_{50} \leq 100$ mg/L 屬於有害物質和 $LC_{50} > 100$ mg/L 屬於相對無害的物質。首先，先以電腦預測法做為第一次驗證和預測生態毒性，若預測之測試終點顯示對魚類有毒的物質 ($LC_{50} \leq 100$ mg/L)，則將這些物質視為有**毒性風險**的物質。接著，若電腦預測結果為對魚類低毒性的物質 ($LC_{50} > 100$ mg/L)，則進入第二次驗證，使用斑馬魚胚胎急毒性試驗進行物質的生態毒性研究。若研究結果顯示對魚類有毒的物質，則有兩次研究證據顯示，該物質是有毒性的。當實驗結果為對魚類低毒性的物質，亦有兩次研究證據顯示該物質是低毒性的。

透過電腦預測模式及斑馬魚胚胎兩種替代測試方法的整合型策略，可以結合兩種模式的優點，在符合動物福祉的前提下，也能有效率的達到快速篩選化學物質生態毒性的目的，我們預期能夠符合國際上認可的法規毒理學，並以此推出的**整合型測試策略**作為未來報告魚類急毒性試驗測試終點可用的替代方法。整合型測試策略如下圖所示。

(二)、圖形大綱：

整合型測試策略須經由以下流程，首先是未知魚類急毒性之測試終點的物質，經由 QSAR Toolbox 電腦模式驗證，較有風險的物質歸類在「對魚類可能有毒性」，較無風險的物質再經由斑馬魚胚胎急毒性試驗測試，進行第二次驗證，若此時顯示為較有風險的物質，則歸類在「對魚類可能有毒性」，較無風險的物質才會被認為「對魚類低毒性」。

