



中华人民共和国国家标准

GB 15193.10—2014

食品安全国家标准

体外哺乳类细胞 DNA 损伤修复 (非程序性 DNA 合成) 试验

2014-12-24 发布

2015-05-01 实施

中华人民共和国
国家卫生和计划生育委员会 发布

前 言

本标准代替 GB 15193.10—2003《非程序性 DNA 合成试验》。

本标准与 GB 15193.10—2003 相比,主要变化如下:

——标准名称修改为“食品安全国家标准 体外哺乳类细胞 DNA 损伤修复(非程序性 DNA 合成)试验”;

——修改了试验目的和原理;

——修改了试验方法;

——修改了数据处理;

——修改了结果评价。

食品安全国家标准

体外哺乳类细胞 DNA 损伤修复 (非程序性 DNA 合成) 试验

1 范围

本标准规定了体外哺乳类细胞 DNA 损伤修复(非程序性 DNA 合成)试验的基本试验方法和技术要求。

本标准适用于评价受试物的诱变性和(或)致癌性。

2 术语和定义

2.1 非程序性 DNA 合成

当 DNA 受损伤时,损伤修复的 DNA 合成主要在 S 期以外的其他细胞周期,称非程序性 DNA 合成。

3 试验目的和原理

在正常情况下,DNA 合成仅在细胞有丝分裂周期的 S 期进行。当化学或物理因素诱发 DNA 损伤后,细胞启动非程序性 DNA 合成程序以修复损伤的 DNA 区域。在非 S 期分离培养的原代哺乳动物细胞或连续细胞系中,加入³H-胸腺嘧啶核苷(³H-TDR),通过 DNA 放射自显影技术或液体闪烁计数(LSC)法检测染毒细胞中³H-TDR 掺入 DNA 的量,可说明受损 DNA 的修复合成的程度。

在体外培养细胞中,用缺乏半必需氨基酸精氨酸的培养基(ADM)进行同步培养,DNA 合成的始动受阻,使细胞同步于 G1 期;并用药物(常用羟基脲)抑制残留的半保留 DNA 复制后,通过³H-TDR 掺入可显示非程序性 DNA 合成(UDS)。

4 试剂和材料

4.1 试剂

注:全部试剂除注明外,均为分析纯,试验用水为双蒸水或超纯水。

4.1.1 细胞增殖用培养基

Eagle 氏最低要求培养基(Eagle's Minimal Essential Medium,EMEM),加入 10% 小牛血清、青霉素、链霉素贮存液,使青霉素的最终浓度为 100 单位,链霉素的最终浓度为 100 μg/mL。EMEM 培养基可选用各种商品供应之粉末培养基按生产厂商提供资料配制并除菌。4℃ 冰箱贮存。

4.1.2 细胞同步用培养基

不含精氨酸之 EMEM 培养基(ADM),加入小牛血清、青霉素、链霉素浓度同细胞增殖用培养基。