



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 28646—2012

---

## 化学品 体外哺乳动物细胞微核试验方法

Chemicals—Test method of mammalian cell micronucleus in vitro

2012-07-31 发布

2012-12-01 实施

---

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会 发布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准同经济合作与发展组织(OECD)化学品测试导则 No. 487(2010)《体外哺乳动物细胞微核试验》(英文版)技术性内容一致。

本标准做了下列结构和编辑性修改：

- 将 OECD487 原文中的“简介”和“初步考虑”部分内容作为本标准的“引言”；
- 将 OECD487 原文中“附录：定义”中的部分内容作为本标准中的“2 术语和定义”；
- 增加了范围一章。

本标准由全国危险化学品管理标准化技术委员会(SAC/TC 251)提出并归口。

本标准起草单位：中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所、辽宁省职业病防治院、中国化工经济技术发展中心、中国检验检疫科学研究院。

本标准主要起草人：孙金秀、曲波、林铮、李雪飞、白羽、王晓兵、李晞。

## 引 言

本试验的目的是通过检测处于间期细胞的胞质中微核(micronuclei, MN)形成的频率,评价受试物的遗传毒性。微核可来源于无着丝粒的染色体断片或在细胞有丝分裂后期不能迁往细胞两极的整条染色体。该试验用于检测在细胞暴露受试物期间或暴露后受试物对经历过分裂的细胞诱发断裂和非整倍体作用的活性<sup>[1-2]</sup>。本标准规定在制定的操作规范中允许使用和不使用细胞胞浆移动阻断剂——松胞素 B(cytochalasin B, cyto B)两种方式进行试验。在细胞有丝分裂期前加入 cyto B,可阻断细胞质分裂,使细胞为双核细胞<sup>[3-4]</sup>,从而可在完成了一次细胞分裂的细胞中进行微核的识别以及微核发生率的选择性分析。如能提供所分析的细胞群发生了有丝分裂的证据时,可按不使用 cyto B 进行试验操作。

另外,使用本方法除了可以鉴定化学物诱发微核外,还可应用胞浆移动阻断剂、着丝点免疫标记、和着丝粒/末端着丝粒探针杂交技术(原位免疫荧光杂交技术, fluorescence in situ hybridisation, FISH),提供染色体损伤和微核形成机制的信息<sup>[5-16]</sup>。在观察到微核形成增加,并希望确定这种增加是断裂作用还是诱发非整倍体作用,可应用标记和杂交的技术进行操作。

微核损伤是可以传递到子细胞的,而分裂中期细胞出现的染色体畸变是不能传递到下一代细胞;由于所检测到的间期细胞微核是比较客观的,因此试验人员只需要测定细胞是否经过了分裂,以及含微核的细胞有多少。所以,标本的制备、分析记录相对比较迅速,而且也能实现自动化分析;这使原来只能对每个处理组计数分析数百个细胞增加到数千个细胞,从而增加了试验方法的检测效力。最后,如果微核来源于滞后的整条染色体,本方法可对使用传统的染色体畸变分析(OECD 473)存在困难的诱发非整倍体作用的化学物进行检测分析<sup>[17]</sup>。但是,如果不使用 FISH 等特异性技术,体外微核试验是不能鉴别化学物是诱发多倍体剂还是断裂剂。

体外微核试验是在试管内体外条件下使用培养的人体或啮齿类细胞进行的试验。由于本试验同时能检测到非整倍体剂作用和断裂剂作用,因此可为探讨体外条件下染色体的潜在损伤作用提供综合基础。

体外试验通常需要使用外源性代谢活化系统。外源性代谢活化系统不能完全模拟体内代谢条件。应注意避免存在影响化学物固有的致突变活性的因素,如 pH 值、或渗透压的明显改变、或者是在高浓度下引起严重细胞毒性的条件进行试验,以免发生假阳性结果。

为了分析诱发微核作用,最关键的是处理组和对照组培养物的细胞核必需已经经历过或完成了核分裂。计数微核最有利的时期是受试物处理期间或处理后细胞已经完成一个有丝分裂的阶段。

体外微核试验应用多种细胞类型进行试验都是非常有效的,无论是在用或不用 cyto B 处理的情况下;如已经有大量的研究资料表明体外微核试验应用各种啮齿类细胞株(CHO、V79、CHL/IU 和 L5178Y)和人体淋巴细胞都被确认是非常有效的<sup>[8,19-31]</sup>。其中包括,特别是由遗传毒性技术科学委员会(Société Française de Toxicologie Génétique, SFTG)主持的国际有效性合作研究<sup>[8,19-22]</sup>和国际遗传毒性试验工作组的报告。

已有欧盟替代方法有效性<sup>[4,16]</sup>的欧洲中心(European Centre for the Validation of Alternative Methods, ECVAM)一项权重证据回顾性的有效性研究所作的再评价的资料<sup>[2,33-34]</sup>,并且该组织的专家顾问委员会(ECVAM Scientific Advisory Committee, ESAC)认为体外微核试验是科学有效的。已经有使用 TK6 类成淋巴细胞系<sup>[5]</sup>、HepG2 细胞株<sup>[36-37]</sup>和叙利亚地鼠胚胎细胞的报告<sup>[38]</sup>,尽管这些细胞尚未进行有效性研究。

# 化学品

## 体外哺乳动物细胞微核试验方法

### 1 范围

本标准规定了化学品体外哺乳动物细胞微核试验方法的术语和定义、试验原理、试验方法、试验数据和报告。

本标准适用于化学品体外哺乳动物细胞微核试验。

### 2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 2.1

**非整倍体诱导(剂) aneugen**

通过与细胞有丝分裂和减数分裂周期相关的成分相互作用,引起细胞或生物体非整倍染色体形成的任何物质(非整倍体诱导剂)或过程。

#### 2.2

**非整倍体 aneuploidy**

染色体数与正常二倍体(或单倍体)染色体数不同,其数目或是单条或多条的染色体的增多或减少,而不是整套染色体的偏移,整套染色体的改变为多倍体。

#### 2.3

**细胞凋亡 apoptosis**

是细胞的程序化死亡,其特点是细胞经一系列连续的崩解步骤变成被膜包围的微粒,然后被吞噬细胞吞噬或脱落排除。

#### 2.4

**细胞增殖 cell proliferation**

作为细胞有丝分裂的结果,细胞的数量增加。

#### 2.5

**着丝粒 centromere**

一条染色单体内的两条染色单体连接在一起的脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic acid,DNA)区域。

#### 2.6

**断裂(剂) clastogen**

能够引起细胞群或生物体的染色体结构畸变的任何物质或过程。

#### 2.7

**细胞浆分裂 cytokinesis**

细胞核在有丝分裂或减数分裂后形成两个子细胞的胞浆分离过程。

#### 2.8

**胞浆移动阻断增殖指数 cytokinesis-block proliferation index, CBPI**

胞浆移动阻断剂处理组的细胞群的激发分裂细胞数与未处理的细胞群对照的比率。