

附录 B  
(资料性附录)  
试剂和培养液制备

## B.1 磷酸盐缓冲液

NaCl	8.5 g
KCl	0.2 g
磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )	2.85 g
磷酸二氢钾( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	0.27 g

溶于1 000 mL蒸馏水中,调pH为7.4,0.103 MPa 20 min灭菌或滤菌。4℃保存。

## B.2 二甲基亚砜(DMSO)

光谱纯,0.103 MPa 20 min灭菌。

## B.3 THG 溶液(100倍)

胸腺嘧啶核苷	30 mg
次黄嘌呤	50 mg
甘氨酸	75 mg

以上成分用100 mL无血清RPMI 1640培养基溶解后过滤除菌, -20℃保存。

## B.4 THMG 溶液(100倍)

按下列步骤配制:

- 配制氨甲喋呤溶液(1 000倍):向避光的容器中加入3.0 mg氨甲喋呤、19.45 mL质量浓度9 g/L的氯化钠溶液、1 mol/L氢氧化钠溶液0.35 mL,溶解后加入1 mol/L盐酸溶液0.2 mL;
- 配制THMG溶液(100倍):取上述氨甲喋呤溶液0.55 mL,加入按B.3制备的THG溶液4.95 mL。过滤除菌。



# 中华人民共和国医药行业标准

YY/T 0870.3—2013

## 医疗器械遗传毒性试验 第3部分:用小鼠淋巴瘤细胞 进行的体外哺乳动物细胞基因突变试验

Test for genotoxicity of medical devices—  
Part 3: In vitro mammalian cell gene mutation test using mouse lymphoma cells



YY/T 0870.3—2013

版权专有 侵权必究

\*

书号:155066·2-26369

定价: 18.00 元

2013-10-21 发布

2014-10-01 实施

国家食品药品监督管理总局 发布

氯化镁溶液(0.4 mol/L)	0.2 mL
葡萄糖-6-磷酸盐溶液(0.05 mol/L)	1.0 mL
辅酶-II 溶液(0.025 mol/L)	1.6 mL
肝 S9 液	1.0 mL

临用时新鲜无菌配制,混匀,置冰浴中待用。

中华人民共和国医药  
行业标准  
医疗器械遗传毒性试验  
第3部分:用小鼠淋巴瘤细胞  
进行的体外哺乳动物细胞基因突变试验

YY/T 0870.3—2013

\*

中国标准出版社出版发行  
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100013)  
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

\*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 18 千字

2014年2月第一版 2014年2月第一次印刷

\*

书号:155066·2-26369 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68510107

**附录 A**  
(资料性附录)  
**S9 和 S9 混合液制备**

**A.1 大鼠肝 S9 液**

**A.1.1** 选健康雄性成年 SD 或 Wistar 大白鼠,体重 150 g 左右,约 5~6 周龄。将多氯联苯(Aroclor 1254)溶于玉米油中,浓度为 200 mg/mL,按 500 mg/kg(体重)无菌操作一次腹腔注射。

注:也可采用苯巴比妥和  $\beta$ -萘黄酮联合诱导。

**A.1.2** 第 6 天用颈动脉放血法处死动物,打开腹腔,用 20 mL 新鲜冷至 4 °C 的 0.15 mol/L 氯化钾溶液进行肝门静脉灌注后,小心分离并将肝脏完整取出。取出肝脏称重后,用 0.15 mol/L 氯化钾溶液连续冲洗数次,以便除去能抑制微粒体酶活性的血红蛋白。每克肝(湿重)加 0.1 mol/L 氯化钾溶液 3 mL,连同烧杯移入冰浴中,用灭菌剪刀剪碎肝脏,在玻璃匀浆器(低于 4 000 r/min,往复 1 min~2 min),或组织匀浆器(20 000 r/min,1 min)中制成肝匀浆。以上操作需注意无菌和局部冷环境(4 °C)。

**A.1.3** 将制成的肝匀浆在低温(0 °C~4 °C)高速离心机上,以 9 000g 离心 10 min,吸出上清液为肝 S9 液。

**A.1.4** S9 制成后,经无菌检查,测定蛋白含量(Lowry 法),每毫升蛋白含量宜不超过 40 mg,并经间接致癌物(诱变剂)鉴定其生物活性合格后,分装于无菌冷冻管或安瓿中,每安瓿 2 mL 左右,用液氮或干冰速冻后置-80 °C 低温保存,保存期不超过 1 年。

**A.2 S9 混合液辅助因子**

**A.2.1** 0.4 mol/L 氯化镁( $MgCl_2$ )溶液:称取 3.8 g,加蒸馏水稀释至 100 mL。灭菌或滤菌。4 °C 保存。

**A.2.2** 1.65 mol/L 氯化钾(KCl)溶液:称取 12.3 g,加蒸馏水稀释至 100 mL。灭菌或滤菌。4 °C 保存。

**A.2.3** 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH7.4),每 500 mL 由以下成分组成:

磷酸氢二钠( $Na_2HPO_4$ )(14.2 g/500 mL)	440 mL
磷酸二氢钠( $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ )(13.8 g/500 mL)	60 mL

调 pH 为 7.4,0.103 MPa 20 min 灭菌或滤菌。4 °C 保存。

**A.2.4** 辅酶-II(氧化型)溶液:准确称取辅酶-II,用无菌蒸馏水溶解配制成 0.025 mol/L 溶液,低温保存(-20 °C 以下)。

**A.2.5** 葡萄糖-6-磷酸钠盐溶液:称取葡萄糖-6-磷酸钠盐,用无菌蒸馏水溶解配制成 0.05 mol/L,低温保存(-20 °C 以下)。

**A.3 10% S9 混合液**

每 10 mL 由以下成分组成:

磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L, pH7.4)	6.0 mL
氯化钾溶液(1.65 mol/L)	0.2 mL

**前 言**

YY/T 0870 的总标题是《医疗器械遗传毒性试验》,包括以下部分:

- 第 1 部分:细菌回复突变试验;
- 第 2 部分:体外哺乳动物细胞染色体畸变试验;
- 第 3 部分:用小鼠淋巴瘤细胞进行的体外哺乳动物细胞基因突变试验;
- 第 4 部分:哺乳动物骨髓红细胞微核试验;
- 第 5 部分:哺乳动物骨髓染色体畸变试验。

有关其他方面的遗传毒性试验将有其他部分的标准。

本部分为 YY/T 0870 的第 3 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

YY/T 0870 的本部分是参考 OECD No.476(1997)《体外哺乳动物细胞基因突变试验》并结合医疗器械/材料自身特点制定的。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本部分由国家食品药品监督管理总局提出。

本部分由全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会(SAC/TC 248)归口。

本部分主要起草单位:国家食品药品监督管理局济南医疗器械质量监督检验中心。

本部分参加起草单位:国家食品药品监督管理局北京医疗器械质量监督检验中心、国家食品药品监督管理局天津医疗器械质量监督检验中心。

本部分主要起草人:曾冬明、刘成虎、王昕、王蕊、袁博。