

参 考 文 献

[1] S. A. Latt, J. W. Allen, S. E. Bloom, A. Carrano, E. Falke, D. Kram, E. Schneider, R. Schreck, R. Tice, B. Whitfield and S. Wolff, Sister Chromatid Exchanges, in Report of the Gene-Tox Program, *Mutation Res.* 1981;87:17-62

[2] P. Perry, L. Henderson and D. Kirkland, Sister Chromatid Exchange in Cultured Cells, in Report of the UKEMS Subcommittee on Guidelines for Mutagenicity Testing, Part II, 1984:89-122

[3] P. E. Perry and E. J. Thomson, The Methodology of Sister Chromatid Exchange, in *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*, 2nd Edition (edited by B. J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols and C. Ramel), Elsevier Scientific, Amsterdam, 1984:495-530

[4] P. E. Perry, Chemical Mutagens and Sister Chromatid Exchange, in *Chemical Mutagens*, Vol. 6 (edited by F. J. de Serres and A. Hollaender), Plenum Publishing Co., New York, 1980:1-39

[5] S. Takehisa, Induction of Sister Chromatid Exchange by Chemical Agents, in *Sister Chromatid Exchange* (edited by S. Wolff et al.), John Wiley & Sons, New York, 1982:87-147

GB/T 27820—2011

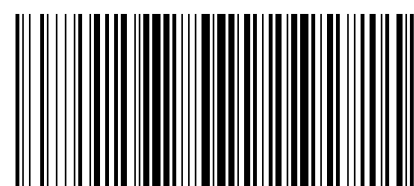


中华人民共和国国家标准

GB/T 27820—2011

化学品 体外哺乳动物细胞姊妹染色 单体交换试验方法

Chemicals—Test method of *in vitro* mammalian cells sister chromatid exchange



GB/T 27820-2011

版权专有 侵权必究

*

书号:155066·1-44571

定价: 14.00 元

2011-11-30 发布

2012-08-01 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

照组自发交换频率的情况而变化。玻片在分析前应编号。人血淋巴细胞,只分析含 46 个着丝粒的中期分裂相细胞;对于建系的细胞系,仅分析含有 ± 2 条着丝粒的中期分裂相细胞。无论交换是否带着丝粒均记为一次 SCE。试验的结果需要独立的试验验证。

5 试验数据和报告

5.1 数据处理

结果以表格形式表示。应列出染毒组和对照组每个中期分裂相细胞的 SCEs 数、染色体数和每条染色体 SCEs 平均数。使用合适的统计学方法统计处理。

5.2 结果评价

阳性结果的判断标准:每个中期分裂相细胞 SCEs 平均数随着染毒剂量增高而显著增加;或是至少在一个检测点 SCEs 有可重复的、有统计学意义的增高。

阴性结果的判断标准:单个细胞 SCEs 平均数与染毒浓度间未观察到有统计学意义的相关关系,也不存在在某个检测点出现 SCEs 有可重复的、有统计学意义的增高。

5.3 试验报告

试验报告应包括以下内容:

- 使用的细胞、细胞培养方法;
- 测试条件,包括培养基成分、CO₂ 浓度、受试物浓度、溶剂、培养温度、染毒时间、纺锤体抑制剂、纺锤体抑制剂浓度和作用时间、使用的哺乳动物代谢活化系统类型、阳性和阴性对照、BrdU 浓度;
- 每个试验点培养细胞的数量;
- 玻片制备的详细技术描述;
- 列出分析的中期相细胞数(每个培养皿);
- 列出每个细胞和染色体 SCEs 平均数(每个培养皿);
- SCEs 计数的标准;
- 染毒浓度设置的原则;
- 剂量-反应关系(如可能);
- 统计学评价;
- 结果的讨论;
- 结果的解释。

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
化 学 品 体 外 哺 乳 动 物 细 胞 姊 妹 染 色
单 体 交 换 试 验 方 法
GB/T 27820—2011
*
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 0.5 字 数 9 千 字
2012 年 5 月 第 一 版 2012 年 5 月 第 一 次 印 刷
*
书 号:155066·1-44571 定 价 14.00 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

乳动物肝细胞。

4.2 试验条件

4.2.1 染毒浓度

至少使用三个剂量差别足够大的受试物浓度。最高浓度应能引起明显的毒性效应,但应同时保证有足够多的细胞进行复制。对于相对不溶于水的受试物,应选择合适的方法提高溶解性,使用其最大浓度试验;对于溶于水且无细胞毒性的受试物,其最高浓度依情况而定。

4.2.2 培养数量

每个试验点至少有双份平行操作的培养标本。

4.2.3 对照组

每一剂量组均应设有直接断裂剂和间接断裂剂的阳性对照。还应设溶剂对照。阳性对照物可以选择以下物质:

- 甲磺酸乙酯(ethylmethanesulphonate, EMS)、丝裂霉素 C(mitomycin C)(直接断裂剂);
- 环磷酰胺(cyclophosphamide)(间接断裂剂)。

4.3 操作方法

4.3.1 试验细胞培养准备

对于建系的细胞可以从培养好的细胞中获得(通过胰酶消化或吹打),按适宜的密度接种于培养皿中,37℃培养。对于单层培养细胞,接种的密度应使细胞在收获时不出现融合。也可以使用悬浮培养细胞,如从人血液中分离的淋巴细胞,经合适的处理后,于37℃培养。

4.3.2 染毒

应在细胞指数增长期给予细胞受试物染毒。作用时间1 h~2 h,但有时可能要延长到两个完整的细胞周期。在某些情况下,在无血清的培养基中染毒更有效。细胞应分别在加入代谢活化系统和不加入代谢活化系统的条件下染毒。染毒结束时,洗脱受试物,在新培养基中加入BrdU,继续培养两个细胞复制周期。也可选择在同时含有受试物和BrdU的培养基中培养细胞两个完整的细胞周期。

人血淋巴细胞应当在细胞处于半同步状态下染毒。

应在染毒开始后细胞的第二个有丝分裂期分析,以保证细胞在最敏感细胞周期内接触到受试物。

所有加入BrdU的培养皿在细胞收获前应尽量减少光照,以降低掺入BrdU的脱氧核糖核酸(DNA)光解。

4.3.3 收获细胞

在收获细胞前1 h~4 h,用纺锤体抑制剂(如秋水仙碱)处理细胞,分别收获和处理各剂量组细胞、制备染色体。

4.3.4 染色体制备和染色

用标准细胞遗传学技术方法制备染色体标本,可采用几种技术染色显示SCEs,如荧光加吉姆萨法染色。

4.3.5 染色体分析

一般每个培养皿至少分析25个染色体分散良好的中期分裂相细胞,但分析细胞的数量也可根据对

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准与联合国经济合作与发展组织(OECD)化学品测试指南 No. 479(1986)《体外哺乳动物细胞姊妹染色单体交换试验》(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:

- 增加了范围一章;
- 将 OECD479 原文中的“简介”部分内容作为本标准的“引言”;
- 将 OECD479 原文中的“必备资料”部分内容,作为本标准“4.1.1”;
- 计量单位统一改为我国法定计量单位。

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、江苏出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:曲波、林铮、李雪飞、白羽、杨挺、汤礼军。