

# SN

## 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 2497.4—2010

---

### 进出口危险化学品安全试验方法 第4部分：酿酒酵母有丝分裂重组试验

Test method of import and export dangerous chemicals—  
Part 4: *Saccharomyces cerevisiae* mitotic recombination assay

2010-03-02 发布

2010-09-16 实施

---

中华人民共和国  
国家质量监督检验检疫总局 发布

## 前 言

SN/T 2497《进出口危险化学品安全试验方法》系列标准共分为 29 部分：

- 第 1 部分：体内哺乳动物肝细胞程序外 DNA 合成(UDS)试验；
- 第 2 部分：空斑形成细胞(PFC)试验；
- 第 3 部分：大型蚤繁殖试验；
- 第 4 部分：酿酒酵母有丝分裂重组试验；
- 第 5 部分：睾丸细胞 UDS 试验；
- 第 6 部分：哺乳类动物细胞姐妹染色单体互换体外试验；
- 第 7 部分：小鼠耳肿胀试验；
- 第 8 部分：腮腺淋巴结试验；
- 第 9 部分：血清溶血素测定试验；
- 第 10 部分：T 淋巴细胞增殖功能测定试验；
- 第 11 部分：种系突变试验；
- 第 12 部分：单细胞凝胶电泳分析试验；
- 第 13 部分：荧光原位杂交试验；
- 第 14 部分：SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳试验；
- 第 15 部分：PCR-SSCP 实验；
- 第 16 部分：Western-Blot 实验；
- 第 17 部分：哺乳动物行为毒理学试验；
- 第 18 部分：DNA 加合物的检测方法；
- 第 19 部分：Northern Blot 实验；
- 第 20 部分：Bradford 法测定蛋白质含量；
- 第 21 部分：琼脂糖凝胶电泳试验；
- 第 22 部分：DNA 的  $T_m$  值测定方法；
- 第 23 部分：细胞器的分离实验方法；
- 第 24 部分：细胞免疫功能体外检测方法；
- 第 25 部分：体液免疫功能试验；
- 第 26 部分：巨噬细胞功能试验；
- 第 27 部分：流式细胞术检测凋亡；
- 第 28 部分：穿梭质粒在突变检验中的应用；
- 第 29 部分：生化需氧量(BOD)测定。

本部分为 SN/T 2497 的第 4 部分。

本部分修改采用经济合作与发展组织(OECD)化学品测试指南 NO. 481《酿酒酵母有丝分裂重组试验》，其有关技术内容与上述方法完全一致，在标准文本格式上按 GB/T 1.1—2000 做了编辑性修改。

本部分由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本部分负责起草单位：中华人民共和国天津出入境检验检疫局、中华人民共和国湖南出入境检验检疫局。

本部分主要起草人：熊中强、王利兵、彭梓、张园、赵琢、韩伟。

本部分系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

# 进出口危险化学品安全试验方法

## 第4部分:酿酒酵母有丝分裂重组试验

### 1 范围

SN/T 2497 的本部分规定了进出口危险化学品进行酿酒酵母有丝分裂重组试验的试验原理、试验程序和试验结果。

本部分适用于判定进出口危险化学品能否引起真核微生物酵母的有丝分裂重组。

### 2 术语和定义

下列术语和定义适用于本部分。

#### 2.1

**有丝分裂交换 mitotic crossing-over**

基因之间 DNA 片段的交换(通常在一个基因和其着丝粒之间),导致交互的产物。

#### 2.2

**有丝分裂基因转换 mitotic gene conversion**

在一个基因内序列的信息单向转移,主要导致非交互产物。

### 3 原理

3.1 利用酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)的某些菌株从杂合等位基因变为纯合等位基因时,菌株的一些表现性状及生长特性的改变来检测受试物是否引起了真核微生物酵母的有丝分裂重组。有丝分裂重组可以在酵母基因之间及同一基因内发生,前者称为交换,后者称为转换。

3.2 试验中有丝分裂的交换是通过杂合菌株中产生隐性纯合子的菌落或子菌落证实的;而有丝分裂转换是通过在同样的基因上携有两个不同的缺陷型等位基因的营养缺陷型杂合子菌株中产生原养型恢复体证实的。

3.3 利用二倍体酿酒酵母菌株  $D_4$  在选择性培养基中生长的特性检测有丝分裂基因转换。*ade2-2*, *ade2-1*; *trp5-12* 和 *trp5-27* 是 *ade2* 和 *trp5* 位点上的异点等位基因。这些等位基因进行有丝分裂基因转换,产生携带一个野生型等位基因的原生型菌落,这些菌落能在缺乏色氨酸(*trp*)或腺嘌呤的选择性培养基上生长。

3.4 酵母菌株的有丝分裂交换可通过观察  $D_5$  或  $D_7$  菌株菌落的颜色变化(产生红色或粉色的纯合子有丝分裂交换)或观察  $D_7$  菌株产生放线菌酮抗性(*cyh<sup>r</sup>2*) 在含放线菌酮的培养基上生长来检测。

### 4 试验程序

#### 4.1 试验方法

4.1.1 最常用的菌株为二倍体  $D_5$ 、 $D_7$ 、 $D_4$  和  $JD_1$  菌株,所用的传代的培养菌株的自发有丝分裂重组频率应在可接受的正常范围内。

4.1.2 在试验的不同阶段选用适当的培养基(YEPD, SMM, SCM 及选择性培养基)培养试验菌株,以测定其存活率及有丝分裂重组频率。

4.1.3 细胞应在有和无外源性哺乳动物代谢活化系统的情况下染毒,最常用的代谢活化系统是啮齿类动物肝脏制备的 S9 混合物。