

ICS 07.100
C 53



中华人民共和国国家标准

GB 15193.10—2003
代替 GB 15193.10—1994

非程序性 DNA 合成试验

Unscheduled DNA synthesis test

2003-09-24 发布

2004-05-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准全文强制。

本标准代替 GB 15193.10—1994《非程序性 DNA 合成试验》。

本标准与 GB 15193.10—1994 相比主要修改如下：

- 在“范围”中增加了受试物的具体内容：食品生产、加工、保藏、运输和销售过程中所涉及的可能对健康造成危害的化学、生物和物理因素，检验对象包括食品添加剂（含营养强化剂）、食品新资源及其成分、新资源食品、辐照食品、食品容器与包装材料、食品工具、设备、洗涤剂、消毒剂、农药残留、兽药残留、食品工业用微生物等；
- 在“试剂”中，增加了“参考阳性对照物”：7,12-二甲基苯并蒽(7,12-dimethylbenzathracene)，2-乙酰氨基芴(2-acetylaminofluorene)，4-硝基喹啉氧化物(4-nitroquinoline oxide)，N-甲基亚硝酸胺(N-dimethylnitrosamine)；
- 在“UDS 的液体闪烁计数显示法”中：增加“每组(包括对照组)至少做 6 个培养瓶。”
- 在“UDS 的放射自显影显示法”中，增加了“应同时设有阳性对照组和阴性对照组，包括加 S-9 和不加 S-9 两种情况”；
- 增加了“结果判定”内容。

自本标准实施之日起，GB 15193.10—1994 同时废止。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准起草单位：浙江医科大学。

本标准主要起草人：徐应年、丁辰。

本标准于 1994 年首次发布，本次为第一次修订。

非程序性 DNA 合成试验

1 范围

本标准规定了非程序性 DNA 合成试验的基本技术要求。

本标准适用于评价食品生产、加工、保藏、运输和销售过程中所涉及的可能对健康造成危害的化学、生物和物理因素的诱变性和/或致癌性,检验对象包括食品添加剂(含营养强化剂)、食品新资源及其成分、新资源食品、辐照食品、食品容器与包装材料、食品工具、设备、洗涤剂、消毒剂、农药残留、兽药残留、食品工业用微生物等。用这种短期筛选方法可以检测出一些短期体外试验法所不能检出的诱变剂和/或致癌剂。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

非程序性 DNA 合成 **unscheduled DNA synthesis, UDS**

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 原理

正常情况下,于细胞有丝分裂周期中,仅 S 期是 DNA 合成期。当 DNA 受损伤时,损伤修复的 DNA 合成主要在其他细胞周期,称程序外 DNA 合成,即 UDS,因此发现 UDS 增高,即表明 DNA 发生过损伤。

在体外培养细胞中,用 UDS 的测量来显示 DNA 修复合成的主要关键在于如何鉴别很高水平的半保留 DNA 复制和水平较低(充其量只有半保留 DNA 复制的 5%)的 UDS。这可以用同步培养将细胞阻断于 G1 期并用药物(常用羟基脲)抑制残留的半保留 DNA 复制后显示。同步培养可用缺乏必需氨基酸精氨酸的培养基(ADM)使 DNA 合成的始动受阻而使细胞同步于 G1 期。

在这些半保留 DNA 合成明显抑制和阻断了的细胞中,UDS 即可用³H-胸腺嘧啶核苷的掺入增加显示。它可用放射自显影或液体闪烁计数法进行测量。

4 试剂与器材

4.1 试剂

全部试剂除注明外,均为分析纯,试验用水为双蒸水。

4.1.1 参考阳性物对照物:可用 7,12-二甲基苯并蒽(7,12-dimethylbenzanthracene),2-乙酰氨基苊(2-acetylaminofluorene),4-硝基喹啉氧化物(4-nitroquinoline oxide),N-甲基亚硝酸胺(N-dimethylnitrosamine)。

4.1.2 细胞增殖用培养基:Eagle 氏最低要求培养基(Minimal Essential Medium,简称 EMEM)85 份,小牛血清 15 份,加入青霉素、链霉素贮存液 1 份,使青霉素、链霉素的最终浓度分别为 100 单位及 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。

4.1.3 同步用培养基:不含精氨酸之 Eagle 氏 MEM 培养基(ADM)98 份,小牛血清 2 份,青霉素、链霉素浓度同细胞增殖用培养基。