



中华人民共和国国家标准

GB 15193.20—2014

食品安全国家标准

体外哺乳类细胞 TK 基因突变试验

2014-12-24 发布

2015-05-01 实施

中华人民共和国
国家卫生和计划生育委员会 发布

前 言

本标准代替 GB 15193.20—2003《TK 基因突变试验》。

本标准与 GB 15193.20—2003 相比,主要变化如下:

- 标准名称修改为“食品安全国家标准 体外哺乳类细胞 TK 基因突变试验”;
- 修改了范围;
- 增加了术语和定义;
- 修改了试验目的和原理;
- 增加了代谢活化系统;
- 增加了 THMG 和 THG 选择培养基的配制方法;
- 增加了 CHAT 和 CHT 选择培养基的配制方法;
- 增加了三氟胸苷的配制方法;
- 增加了磷酸盐缓冲液的配制方法;
- 修改了受试物剂量设定的要求;
- 修改了对照的设定;
- 增加了备选细胞系及相应的试验方法及数据处理;
- 增加了试验报告的要求;
- 增加了试验的解释的要求。

食品安全国家标准

体外哺乳类细胞 TK 基因突变试验

1 范围

本标准规定了体外哺乳类胸苷激酶(thymidine kinase, TK)基因突变试验的基本试验方法与技术要求。

本标准适用于评价受试物的致突变作用。

2 术语和定义

2.1 TK 基因

哺乳类动物的胸苷激酶基因。人类的 TK 基因定位于 17 号染色体长臂远端;小鼠的则定位于 11 号染色体。

2.2 突变频率

在某种细胞系中,某一特定基因突变型的细胞(集落)占细胞(集落)总数的比例(单位通常为 10^{-6})。

3 试验目的和原理

TK 基因突变试验的检测终点是 TK 基因的突变。TK 基因突变属于常染色体基因突变。

TK 基因的产物胸苷激酶在体内催化从脱氧胸苷(TdR)生成胸苷酸(TMP)的反应。在正常情况下,此反应并非生命所必需,原因是体内的 TMP 主要来自于脱氧尿嘧啶核苷酸(dUMP),即由胸苷酸合成酶催化的 dUMP 甲基化反应生成 TMP。但如在细胞培养物中加入胸苷类似物(如三氟胸苷,即 trifluorothymidine, TFT),则 TFT 在胸苷激酶的催化下可生成三氟胸苷酸,进而掺入 DNA,造成致死性突变,故细胞不能存活。若 TK 基因发生突变,导致胸苷激酶缺陷,则 TFT 不能磷酸化,亦不能掺入 DNA,故突变细胞在含有 TFT 的培养基中能够生长,即表现出对 TFT 的抗性。根据突变集落形成数,可计算突变频率,从而推断受试物的致突变性。在 TK 基因突变试验结果观察中可发现两类明显不同的集落,即大/小集落(L5178Y 细胞)或正常生长/缓慢生长集落(TK6 细胞),有研究表明,大集落/正常生长集落主要由点突变或较小范围的缺失等引起,而小集落/缓慢生长集落主要由较大范围的染色体畸变,或由涉及调控细胞增殖的基因缺失引起。

4 仪器和试剂

4.1 仪器

实验室常用设备、低温冰箱($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$)或液氮罐、生物安全柜、细胞培养箱、倒置显微镜、离心机。