



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 27822—2011

---

## 化学品 黑腹果蝇伴性隐性致死试验方法

Chemicals—Test method of sex-linked recessive lethal in *Drosophila Melanogaster*

2011-12-30 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

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规划起草。

本标准与经济合作与发展组织(OECD)化学品测试方法 No. 477(1984 年)《黑腹果蝇伴性隐性致死试验》(英文版)技术性内容一致。

本标准作了下列结构和编辑性修改：

- 增加了范围一章；
- 将 OECD477 原文中的“参考物质”部分内容作为本标准的第 3 章；
- 将 OECD477 原文中的“试验操作概述”部分内容作为本标准的 5.1；
- 将 OECD477 原文中的“必备资料”部分内容作为本标准的 5.2；
- 计量单位改成我国法定计量单位。

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、天津市疾病预防控制中心、中国化工经济技术发展中心。

本标准主要起草人：吴维皓、李朝林、王延让、王晓兵、杨德一、刘静、刘保峰、张明。

# 化学品 黑腹果蝇伴性隐性致死试验方法

## 1 范围

本标准规定了黑腹果蝇伴性隐性致死试验的术语和定义、参考物质、试验基本原则、试验方法、试验数据和报告。

本标准适用于检测化学品的黑腹果蝇伴性隐性致死试验。

## 2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 2.1

#### 致死突变 lethal mutation

基因组的一种改变,当这组基因表达时引起携带者死亡。

### 2.2

#### 隐性突变 recessive mutation

在纯合子或半合子条件下表达的一种基因组的改变。

### 2.3

#### 伴性基因 sex-linked genes

存在于性染色体(X或Y)上的基因,在本方法中只指位于X染色体上的基因。

## 3 参考物质

可用作阳性对照的物质有:甲磺酸乙酯(ethyl methanesulphonate),N-亚硝基二甲胺(N-nitrosodimethylamine)。

## 4 试验基本原则

伴性隐性致死试验(sex-linked recessive letha, SLRL)利用黑腹果蝇(*Drosophila Melanogaster*)检测在昆虫生殖细胞系中的突变发生率,包括点突变和小的缺失。本方法是一种正向突变分析方法,能够筛选在X染色体上800基因位点的突变,即所有X染色体基因位点的80%。X染色体约占整个基因组的1/5<sup>[1]</sup>。

黑腹果蝇X染色体的突变在携带突变基因的雄性个体中有典型的表型表现。当半合子发生致死性突变时,可通过杂合子雌性个体正常繁殖的两类雄性子代中的一类缺失加以推断。SLRL试验利用了染色体特殊性标记和排列的特性。

## 5 试验方法

### 5.1 试验操作概述

野生型雄性黑腹果蝇染毒后与合适的雌性黑腹果蝇交配。交配得到的雌蝇再与同代的雄性

黑腹果蝇单独进行交配,在他们的下一代中记录每个单独交配后代中的野生型雄性黑腹果蝇的表型。野生型雄性黑腹果蝇表型的缺失显示 P1 雄性黑腹果蝇的生殖细胞已经发生了性伴隐性致死性突变。

## 5.2 必备条件

本试验应必备条件如下:

- 固态、液态、蒸气或气态的受试样品;
- 受试样品的化学识别号码;
- 化学品的纯度(杂质);
- 溶解性;
- 熔点/沸点;
- 酸碱度(可测时);
- 蒸汽压(如已知)。

## 5.3 实验动物

### 5.3.1 动物种属

选用野生型雄性和 Muller-5 雌性黑腹果蝇。其他有适合标记的具有多重反向 X 染色体的雌性品系也可以使用。

### 5.3.2 受试物

受试物应溶解在水中。不溶于水的物质可溶解于或悬浮于合适的赋形剂中(如:乙醇和土温 60 或 80 的混合溶液中),然后在给样前用水或盐水稀释。避免用二甲基亚砜(dimethylsulfoxide, DMSO)作为赋形剂。

## 5.4 试验条件

### 5.4.1 给药途径

可通过口服、注射或暴露于气体或蒸气染毒。经口喂饲的受试物应溶解在蔗糖水中。必要时受试物可溶解在 0.7% 的 NaCl 溶液中,注射到胸腔或腹腔中。

### 5.4.2 剂量水平

对受试物突变进行初步评价时,测试一个最大耐受剂量或者是可能达到的最高剂量。如果为了测定剂量-反应关系时,至少需要设三个剂量组。

### 5.4.3 对照

试验应设置阴性对照组(赋形剂)和阳性对照组。可用于作为阳性对照的物质有:甲磺酸乙酯; N-亚硝基二甲胺。如果有适当的实验室的历史对照数据,可不设对照组。

## 5.5 试验步骤

为检测受试物对生殖细胞不同阶段敏感性,将雄蝇(出生 3 天龄~5 天龄)在接触受试物以后分别相隔 2 d~3 d 与 Muller-5 品系或其他有合适标记(具有多重反向 X 染色体)品系的处女蝇交

配,这些雌性的后代用于评价受试物对成熟精子、中晚期精细胞、早期精细胞、精母细胞和精原细胞的致死效应。

每一指管以一只经处理过的雄蝇按上述程序处女蝇单独交配(即:每个管内放一个雌蝇)。再以所产 F1 代按雄雌 1:1 或 1:2 进行 F1~F2 交配,12 d~14 d 后观察 F2 代,记录子代的致死数。如果一管果蝇中出现的是亲代的 X 基因中带有致死因子的 F 代雌蝇(即未见有携带上述染色体的雄蝇),那么应对那些有相同基因型雌蝇的雌性后代进行检测,以确认这种致死性是否会在下一代中重现。

试验的设计应具有预定的敏感性与测定的能力。每组的果蝇数量应符合试验设计的需要。通过阴性对照组观察自发突变频数,当试验组的突变率接近对照组突变率时,应重复试验进行验证。

试验结果应在独立的重复实验中加以证实。

## 6 试验数据和报告

### 6.1 结果整理

试验数据应以表格的形式显示以下信息:检测的 X 染色体数目,不育雄性个体的数目以及各剂量组下、每个交配期和每个染毒的雄性个体产生的致死染色体的数目。在报告中还应该包括每个雄性不同大小的突变簇(Cluster)的数目。

在评估伴性隐性致死试验时,有多种统计方法可使用。每一雄性个体产生的隐性致死簇都应加以考虑并使用合适的统计方法进行评估。

试验数据列表:包括被试验的染色体数、无生育力的雄蝇数,每一接触浓度、每一只被处理的雄蝇和每一次交配期的致死染色体数。运用适合于试验设计的统计学检验。结果评价时应试验结果将生物学意义和统计学意义同时予以考虑。试验组的观察结果比对照组明显增加,判为阳性,当应用多个剂量时,阳性致死呈现统计学剂量-效应关系时;或至少有一时间点的阳性致死可重复并有统计学意义上的增加,也应判为阳性。

### 6.2 结果评估

有多个标准可用于确定阳性反应,其中之一是有统计学意义的剂量相关的伴隐性致死性突变发生频率的增加。另一个标准是至少一个测试点存在可重复的且有统计学意义的阳性反应。

在此系统中,如果一种受试物既不引起有统计学意义的剂量相关的伴隐性致死性突变发生频率的增加,也不使任何一个测试点存在可重复的且有统计学意义的阳性反应,则被认为是无致突变性的。在评价时应同时考虑生物学意义和统计学意义。

### 6.3 试验报告

6.3.1 品系:所用黑腹果蝇的种群或品系,天龄,受处理的雄蝇数,不育雄蝇数, F2 代培养管数量,没有子代的 F2 代培养管数量,所测的果蝇数,生殖细胞发育各阶段携带致死因子的果蝇数。所用黑腹果蝇的种群或品系,年龄,受处理的雄性个体数,不育雄性个体数, F2 代培养物的数,没有子代的 F2 代培养物的数,所测的染色体数,生殖细胞发育各阶段携带致死因子的染色体数。

6.3.2 试验条件:包括处理与采样方案的详细描述,剂量水平,毒性数据,合适的阴性(溶剂)和阳性对照。

6.3.3 致死性突变的判断标准。

6.3.4 剂量-效应关系,可能的话。

6.3.5 统计学评价。

#### 6.4 结果解释

黑腹果蝇的伴性隐性致死试验阳性结果表明,在该试验条件下受试样品引起黑腹果蝇生殖细胞突变;阴性结果表明在该试验条件下,受试样品不引起黑腹果蝇生殖细胞的突变物。

参 考 文 献

- [1] F. H. Sobels and E. Vogel, *Mutation Res.*, 1976, 41:95-106
- [2] F. E. Würgler, H. Sobels and E. Vogel, in *Handbook of Mutagenicity Test Procedures* (edited by B. J. Kilbey, *et al.* ), Elsevier, Amsterdam, 1977, 335-373
-