

论著

体外微核高内涵筛选法在食品毒理学遗传毒性评价中应用研究

孙静秋,洪新宇,肖萍,帅怡,王彦琴,郑卫东,李晨,陶功华
(上海市疾病预防控制中心,上海 200336)

摘要:目的 探讨基于高内涵筛选(high-content screening, HCS)技术的体外微核(*in vitro* micronucleus, IVMN)检测方法应用于食品毒理学遗传毒性评价的可行性。方法 采用 IVMN 和 HCS 法,分别对 10 种化合物进行遗传毒性评价,其中 5 种已知遗传毒性化合物(染色体断裂剂和非整倍体诱发剂)、1 种已知非遗传毒性化合物以及 4 种食品原料,每个受试物至少设置 3 个剂量组,每个剂量组设 2 个复孔,同时设置阴性对照组(无血清最小必需培养基)和阳性对照组(+S9 为环磷酰胺 20 μg/ml、-S9 为丝裂霉素 C 1.0 μg/ml)。以中国仓鼠肺细胞为细胞模型,在有和/或无代谢活化系统条件下,依次对上述受试物采用短时处理(4 h)后进行微核检测,并分析微核细胞率。结果 经 IVMN 和 HCS 法得到的 IVMN 试验结果显示:2.5~10 μg/ml 苯并芘[B(a)P]、5~20 μg/ml 甲磺酸甲酯(MMS)、0.01~0.04 μg/ml 4-硝基喹啉-*N*-氧化物(4NQO)、0.25~1.0 μg/ml 秋水仙碱(COL)和 0.5~2.0 μg/ml 硫酸长春碱(VB)在各自浓度范围内,在有或无代谢活化系统的条件下,诱导产生的微核细胞率随着受试物浓度的升高而增加,呈明显剂量-反应关系,且微核细胞率与阴性对照组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),试验结果为阳性;1 250~5 000 μg/ml 氯化钠(NaCl)、1 250~5 000 μg/ml 食品原料 A、1 250~5 000 μg/ml 食品原料 B、312.5~1 250 μg/ml 食品原料 C 和 156.25~625 μg/ml 食品原料 D 在各自浓度范围内,在有和无代谢活化系统的条件下,微核细胞率虽呈现一定的剂量依赖性增加趋势,但均维持在较低的水平,且与阴性对照组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),试验结果为阴性。结论 本试验条件下,两种方法对 10 种物质的检测结果均一致,提示将 IVMN HCS 法应用于食品毒理学遗传毒性评价具有一定的可行性。

关键词:食品毒理;遗传毒性;体外微核;高内涵筛选

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2020)02-0124-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2020.02.003

Genotoxicity assessment of food ingredients using high-content screening
in vitro micronucleus assay

SUN Jingqiu, HONG Xinyu, XIAO Ping, SHUAI Yi, WANG Yanqin,
ZHENG Weidong, LI Chen, TAO Gonghua

(Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

Abstract: **Objective** To validate the feasibility of genotoxicity assessment of food ingredients using high-content screening (HCS) *in vitro* micronucleus (IVMN) assays. **Methods** Two IVMN methods were used to evaluate the genotoxicity of ten compounds, including five known genotoxic compounds (clastogens and aneugens), one known non-genotoxic compound and four food ingredients. At least three concentrations of each compound and two parallels were set. No serum minimum essential medium (MEM) was treated as negative control. 20 μg/ml cyclophosphamide and 1.0 μg/ml mitomycin C was treated as positive controls. With and without metabolic activation, Chinese hamster lung (CHL) cells were treated with ten test compounds for 4 h. And the frequency of micronuclei was analyzed. **Results** The frequencies of micronuclei, which were obtained by conventional IVMN and HCS IVMN assay, induced by benzo (a) pyrene (dose range from 2.5 to 10 μg/ml), methyl methanesulphonate (dose range from 5 to 20 μg/ml), 4-nitroquinoline-*N*-oxide (dose range from 0.01 to 0.04 μg/ml), colchicine (dose range from 0.25 to 1.0 μg/ml), and vinblastine sulfate (dose range from 0.5 to 2.0 μg/ml) were significantly different with negative controls ($P<0.05$), and there was a obvious dose-response relationship. The frequencies of micronuclei induced by sodium chloride (dose range

收稿日期:2020-03-06

基金项目:上海市卫生和计划生育委员会科研课题资助项目(201540208);上海市制修订地方标准项目(DB31-E4-16082);上海市第四轮公共卫生三年行动计划“高端海外研修团队培养计划”(GWTD2015S03);上海市卫生和计划生育委员会地方标准预研制项目

作者简介:孙静秋 女 主管技师 研究方向为遗传毒性安全性评价 E-mail:sunjingqiu@scdc.sh.cn

通信作者:陶功华 男 副主任医师 研究方向为卫生毒理学 E-mail:taogonghua@scdc.sh.cn

from 1 250 to 5 000 $\mu\text{g/ml}$), food ingredient A (dose range from 1 250 to 5 000 $\mu\text{g/ml}$), food ingredient B (dose range from 1 250 to 5 000 $\mu\text{g/ml}$), food ingredient C (dose range from 312.5 to 1 250 $\mu\text{g/ml}$), and food ingredient D (dose range from 156.25 to 625 $\mu\text{g/ml}$) showed a gradual upward trend in dose-response curve. Compared with negative controls, the differences of the result were not statistically significant ($P>0.05$). **Conclusion** In this study, the result of HCS IVMN assays were accordance to that of traditional IVMN assay. It was revealed that the genotoxicity assessment of food ingredients using HCS IVMN method was feasible.

Key words: Food toxicology; genotoxicity; *in vitro* micronucleus; high-content screening

随着中国经济的快速发展和人民生活水平的不断提高,近些年国内食品市场发展非常迅速,为确保食品的安全性,我国相关食品安全法律法规^[1-2]明确要求对于食品及其原料、食品添加剂、新食品原料、辐照食品、食品相关产品甚至食品污染物需开展包括遗传毒性在内的安全性评估。微核试验作为遗传毒性评价中最常用和有效的方法之一^[3],主要通过检测染色体损伤判断受试物的遗传毒性,在国内外食品、化妆品、新药、农药等毒理安全性评价广泛使用。但由于目前对微核的检测方法仍主要以人工镜检为主,检验效率受到制约。

近年来,随着分子生物学技术的飞跃发展和新型毒性测试策略的逐渐转变,基于体外细胞模型开展的微核试验技术得到了快速的发展与应用^[4]。由于体外微核(*in vitro* micronucleus, IVMN)试验是以微核为遗传检测终点,可通过染色技术配合计算机自动化识别实现高通量检测。高内涵筛选(high-content screening, HCS)^[5-7]正是这种集微孔板读数、荧光成像、流式细胞术、生物信息学于一体的综合性技术,它以细胞为检测对象,通过设置多个波长荧光通道[如 4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)、异硫氰酸酯(FITC)等]记录细胞图像,并通过软件进一步分析扫描图像以此来解析细胞的相关信息,比如细胞核直径大小、核荧光强度、核与核之间的距离、微核直径大小、细胞核数目及微核数目等。本研究拟采用 IVMN 常规方法以及基于 HCS 的高通量方法,分别对 6 个已知有/无遗传毒性化合物以及 4 个未知遗传毒性食品原料进行分析,以期建立基于 HCS 法的微量、高效 IVMN 检测体系,为进一步将该体系应用于食品毒理学遗传毒性风险评估提供数据基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞模型

中国仓鼠肺细胞(CHL,中科院上海细胞所)。

1.1.2 主要仪器与试剂

高内涵细胞成像分析仪(ImageXpress Micro 4, 美国 MD)。MEM 培养液、胎牛血清、胰酶、双抗均

购自美国 Gibco;大鼠肝微粒体酶(S9,美国 MOLTOX);环磷酰胺(CP)、丝裂霉素 C(MMC)、苯并(a)芘[B(a)P]、甲磺酸甲酯(MMS)、4-硝基喹啉-*N*-氧化物(4NQO)、秋水仙碱(COL)、硫酸长春碱(VB)、氯化钠(NaCl)、二甲基亚砷(DMSO)、4%多聚甲醛、DAPI、细胞松弛素 B(CytoB)、Giemsa 染液均购自美国 Sigma;食品原料 A、食品原料 B、食品原料 C、食品原料 D 均来自于实验室委托检测样品。

1.2 方法

1.2.1 受试物及相关试剂的配制

S9 混合液(S9mix)含 10% S9 组分,补充辅助因子,作为本试验体外代谢活化系统。CP(+S9)、4NQO(-S9)、MMS(-S9)、B(a)P(+S9)均选择 DMSO 作为溶剂(终浓度不超过 0.5%);MMC(-S9)、VB(-S9)、COL(-S9)、NaCl(+S9/-S9)均选择无血清最小必需培养基(MEM)培养液作为溶剂;食品原料 A(+S9/-S9)、食品原料 B(+S9/-S9)、食品原料 C(+S9/-S9)、食品原料 D(+S9/-S9)均为粉末状固体,且易溶于水,故选择无血清 MEM 培养液作为溶剂。除阳性对照物 CP 为 20 $\mu\text{g/ml}$ 、MMC 为 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 外,其余受试物均各自配制成梯度浓度:0.005~0.08 $\mu\text{g/ml}$ 4NQO、2.5~40 $\mu\text{g/ml}$ MMS、1.25~20 $\mu\text{g/ml}$ B(a)P、0.25~4.0 $\mu\text{g/ml}$ VB、0.125~2.0 $\mu\text{g/ml}$ COL、1 250~5 000 $\mu\text{g/ml}$ NaCl、1 250~5 000 $\mu\text{g/ml}$ 食品原料 A、1 250~5 000 $\mu\text{g/ml}$ 食品原料 B、312.5~5 000 $\mu\text{g/ml}$ 食品原料 C、156.25~5 000 $\mu\text{g/ml}$ 食品原料 D。

1.2.2 细胞培养

将 CHL 细胞用含 10%胎牛血清的 MEM 培养液在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂、饱和湿度的环境下培养。取对数生长期细胞用于试验。

1.2.3 染毒方法

取对数生长期的 CHL 细胞,0.25%胰酶消化后,用 IVMN 法的细胞接种于 6 孔板(细胞密度为 4×10⁵/孔),用 HCS 法的细胞接种于 96 孔板(细胞密度为 8×10³/孔)。细胞于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂、饱和湿度条件下培养 24 h。除去原培养液,加入系列浓度的受试物处理细胞 4 h,试验在有和/或无 S9 条件下进行,每个受试物至少设置 3 个剂量组,每个剂量组

设 2 个复孔,同时设置阴性对照组(无血清 MEM 培养液)和阳性对照组[CP(+S9)20 μg/ml、MMC(-S9)1.0 μg/ml]。

1.2.4 细胞毒性检测

采用显微镜 40×物镜人工阅片,受试物组的每个浓度分别计数至少 500 个细胞(包括单核、双核、多核细胞),并计算复制指数(replication index, RI)及细胞毒性,再根据细胞毒性确定受试物的最高剂量,公式如下;同时每个浓度至少选 2 000 个双核细胞进行分析,记录含微核的双核细胞数,并计算微核细胞率(%)。

$$RI = \frac{(\text{双核细胞数} + 2 \times \text{多核细胞数}) / \text{细胞总数}_T}{(\text{双核细胞数} + 2 \times \text{多核细胞数}) / \text{细胞总数}_C} \times 100,$$
$$\text{细胞毒性} = 100 - RI$$

式中,T 为受试物组,C 为阴性对照组。

1.2.5 镜检前的细胞处理

IVMN 法:染毒结束后,除去受试物,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤,加入含 CytoB(终浓度为 3 μg/ml)的培养液,37 ℃ 培养 24 h。培养结束后,0.25%胰酶消化并收集细胞,按常规方法低渗、固定、制片、Giemsa 染色,最后人工镜检。

HCS 法:染毒结束后,除去受试物,无血清培养液洗 2 次,加入含 CytoB(终浓度为 3 μg/ml)的培养液,37 ℃ 培养 24 h。培养结束后,PBS 洗板两次,4%多聚甲醛室温固定 10~15 min,PBS 洗板两次,1 μg/ml DAPI 室温染色 10 min,PBS 洗板两次(每次处理 3~5 min),最后上 HCS 选择 DAPI 荧光通道对细胞用 20×物镜每孔 25 个视野进行扫描并获取图片。使用 HCS MD ImageXpress Micro 4 软件中的 Micronuclei(微核模块)设定统一标准后,对阴性对照组、阳性对照组和各受试物组的图片进行分析,得到每孔的双核细胞数以及具有微核的双核细胞数。

1.2.6 结果判断

微核的判断标准:微核一般为圆形或椭圆形,其直径一般不超过主核的 1/3;与主核的颜色、结构特征及折光性一致;可以与主核之间没有核物质相连,也可以和主核有边界的重叠,但能看清各自的核膜;一个细胞中有多个微核的按一个计。

结果判定:受试物诱发的微核细胞率与阴性对照组比较,差异有统计学意义,且呈现剂量-反应关系,则判定该受试物试验结果为阳性。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析,组间差异的比较采用χ² 检验,检验水准 α=0.05,P<0.05 为差异有统计学意义。

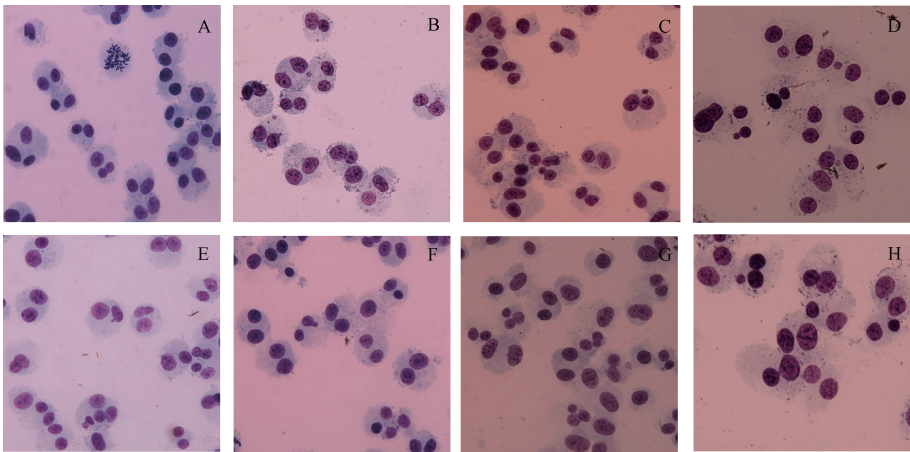
2 结果

2.1 细胞毒性检测结果

各剂量组分别计数 500 个细胞,根据得到的双核及多核细胞数来计算 RI 值及细胞毒性,结果显示,B(a)P、MMS、4NQO、COL、VB、食品原料 C 及食品原料 D 对细胞生长有明显抑制作用,具有一定的细胞毒性,因此它们的高剂量依次为 10、20、0.04、1.0、2.0、1 250 和 625 μg/ml;NaCl、食品原料 A 和食品原料 B 的 RI 值均在 80 以上,几乎没有细胞毒性,因此它们的高剂量设定为极限最高浓度,即 5 000 μg/ml。

2.2 IVMN 法检测结果

每个剂量组对 2 000 个双核细胞进行人工镜检分析(图 1),IVMN 法结果见表 1。随着受试物染毒浓度的增加,B(a)P、MMS、4NQO、COL、VB 各剂量组的微核细胞率呈现明显的剂量依赖性增加;NaCl、食品原料 A、食品原料 B、食品原料 C 以及食品原料 D 各剂量组虽呈现一定的剂量依赖性增加趋势,但



注:A:CON;B:CP;C:COL;D:VB;E:食品原料 A;F:食品原料 B;G:食品原料 C;H:食品原料 D

图 1 IVMN 法的镜检图(400×)

Figure 1 Microscopic examination of IVMN assay

表 1 IVMN 和 HCS 法的检测结果($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Results of IVMN and HCS assay

组别	终浓度 /($\mu\text{g/ml}$)	IVMN 法						HCS 法			
		细胞毒性		微核细胞率/%		微核细胞率倍数		微核细胞率/%		微核细胞率倍数	
		+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9
阴性对照组	—	0.0	0.0	1.0	1.1	—	—	0.67±0.27	0.81±0.30	—	—
阳性对照组	—	49.0	44.5	10.4 *	15.5 *	10.4	14.1	8.85±0.40 *	12.30±2.46 *	13.21	15.19
B(a)P	2.5	8.5	—	2.7 *	—	2.7	—	1.79±0.71 *	—	2.99	—
	5	27.6	—	4.1 *	—	4.1	—	3.91±0.55 *	—	5.84	—
	10	52.8	—	6.9 *	—	6.9	—	4.42±0.62 *	—	7.36	—
	5	—	11.8	—	4.3 *	—	3.9	—	3.86±1.91 *	—	4.77
MMS	10	—	30.5	—	6.3 *	—	5.7	—	5.05±0.83 *	—	6.23
	20	—	48.1	—	7.2 *	—	6.5	—	5.75±0.59 *	—	7.10
4NQO	0.01	—	10.4	—	3.2 *	—	2.9	—	2.47±1.06 *	—	3.05
	0.02	—	19.2	—	4.8 *	—	4.4	—	4.90±0.74 *	—	6.05
	0.04	—	44.5	—	6.2 *	—	5.6	—	5.35±1.07 *	—	6.60
COL	0.25	—	18.1	—	1.8	—	1.6	—	2.13±0.61 *	—	2.63
	0.5	—	32.9	—	8.7 *	—	7.9	—	7.08±0.55 *	—	8.74
	1.0	—	47.2	—	12.2 *	—	11.1	—	14.53±2.19 *	—	17.94
VB	0.5	—	14.9	—	5.3 *	—	4.8	—	4.55±0.44 *	—	5.62
	1.0	—	38.2	—	9.5 *	—	8.6	—	7.07±0.75 *	—	8.73
	2.0	—	56.5	—	9.2 *	—	8.4	—	7.32±0.27 *	—	9.04
NaCl	1 250	0.0	0.0	0.6	0.8	0.6	0.7	0.53±0.06	0.64±0.14	0.79	0.79
	2 500	0.0	0.0	0.5	1.1	0.5	1.0	0.72±0.14	0.79±0.24	1.07	0.98
	5 000	0.0	0.0	0.8	1.3	0.8	1.2	0.65±0.08	1.10±0.07	0.97	1.36
食品原料 A	1 250	0.0	3.6	0.8	1.1	0.8	1.0	0.61±0.17	0.53±0.17	0.91	0.66
	2 500	5.6	5.8	1.0	1.8	1.0	1.6	0.60±0.03	0.51±0.03	0.90	0.63
	5 000	14.5	11.8	1.4	2.0	1.4	1.8	0.79±0.10	0.62±0.10	1.18	0.77
食品原料 B	1 250	0.0	9.5	1.5	2.0	1.5	1.8	0.64±0.10	0.65±0.18	0.95	0.80
	2500	5.4	15.7	1.7	1.8	1.7	1.6	0.55±0.18	1.01±0.40	0.82	1.25
	5 000	20.0	15.9	1.9	2.1	1.9	1.9	0.91±0.25	0.92±0.18	1.36	1.14
食品原料 C	312.5	0.0	2.5	1.3	1.3	1.3	1.2	0.71±0.27	0.67±0.07	1.06	0.83
	625	11.5	28.5	1.6	1.5	1.6	1.4	1.06±0.11	1.18±0.42	1.58	1.46
	1 250	48.6	54.8	1.5	1.8	1.5	1.6	0.92±0.16	1.29±0.11	1.37	1.59
食品原料 D	156.25	0.0	8.4	0.7	1.0	0.7	0.9	0.53±0.14	0.79±0.33	0.79	0.98
	312.5	8.4	12.3	1.4	1.2	1.4	1.1	0.66±0.07	0.87±0.24	0.99	1.07
	625	45.8	53.7	1.5	1.9	1.5	1.7	0.85±0.13	1.23±0.37	1.27	1.52

注：* 为与阴性对照组比较 $P<0.05$ ；—为无终浓度或未检测

各组微核细胞率均维持在较低的水平。

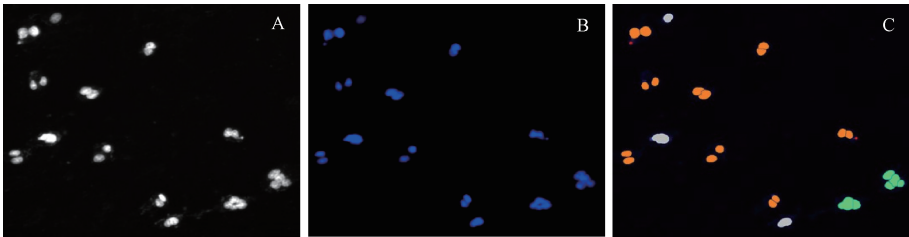
2.3 HCS 法检测结果

受试物各剂量组设计参照常规方法的剂量,每个剂量组至少分析 2 000 个细胞(图 2~3),HCS 法结果见表 1。随着受试物染毒浓度的增加,B(a)P、MMS、4NQO、COL、VB 可引起微核细胞率呈剂量依赖性升高;NaCl、食品原料 A、食品原料 B、食品原料

C 以及食品原料 D 各剂量组的微核细胞率均维持在较低水平。

2.4 两种试验方法的结果一致性比较

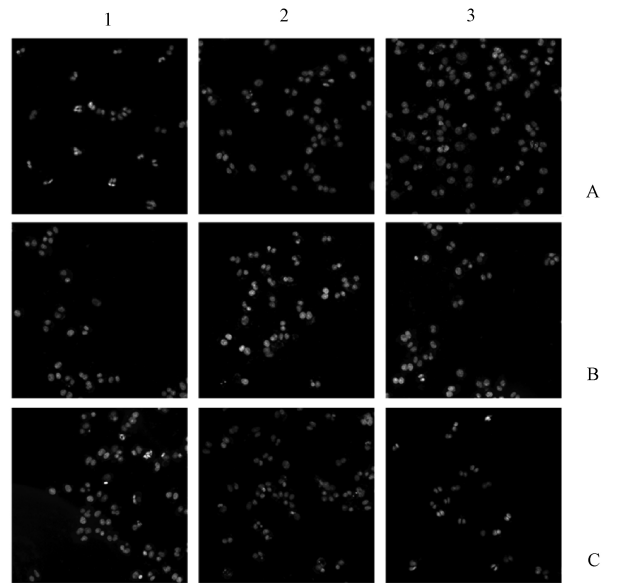
将 IVMN 和 HCS 法对 B(a)P、MMS、4NQO、COL、VB、NaCl、食品原料 A、食品原料 B、食品原料 C 和食品原料 D 诱导细胞产生的微核细胞率进行结果比较(表 1)。其中 B(a)P、MMS、4NQO、COL



注:A 为标记前的原图;B 为 DAPI 荧光通道分析图;C 为软件标记后分析图(其中白色为单核细胞、桔色为双核细胞、绿色为多核细胞、红色为微核)

图 2 HCS 通过软件标记前后的分析示意图(40×)

Figure 2 Representative images of the micronucleus image-analysis software



注:A1~3 分别为 CON、CP、MMC;B1~3 分别为 B(a)P、4NQO、MMS;C1~3 分别为 COL、VB、NaCl

图 3 HCS 微核成像分析软件示意图(40×)

Figure 3 Representative images of the software for the HCS to analyze micronuclei

以及 VB 各剂量组的微核细胞率与阴性对照组比较,除常规人工阅片的 COL 低剂量组以外,均差异有统计学意义($P<0.05$),试验结果均为阳性;NaCl、食品原料 A、食品原料 B、食品原料 C 以及食品原料 D 各剂量组的微核细胞率与阴性对照组比较,均差异无统计学意义($P>0.05$),试验结果均为阴性。10 份样品经两种检测方法得到的体外微核试验结果一致,见表 2。

表 2 IVMN 和 HCS 试验方法的结果一致性比较

Table 2 Comparison of results of IVMN and HCS assay

组别	IVMN 法 分析结果	HCS 法 分析结果	作用机制
B(a)P	有遗传毒性	有遗传毒性	染色体断裂剂
MMS	有遗传毒性	有遗传毒性	染色体断裂剂
4NQO	有遗传毒性	有遗传毒性	染色体断裂剂
COL	有遗传毒性	有遗传毒性	非整倍体诱发剂
VB	有遗传毒性	有遗传毒性	非整倍体诱发剂
NaCl	无遗传毒性	无遗传毒性	非遗传毒性化合物
食品原料 A	无遗传毒性	无遗传毒性	未知
食品原料 B	无遗传毒性	无遗传毒性	未知
食品原料 C	无遗传毒性	无遗传毒性	未知
食品原料 D	无遗传毒性	无遗传毒性	未知

3 讨论

根据 2015 年修订的 GB 15193—2014《食品安全国家标准 食品毒理学安全性评价程序和方法》^[1]中规定,食品及其相关产品安全性评估的审查需要提交包括遗传毒性研究资料(三项致突变试验)在内的毒理学安全性评价资料。目前,食品毒理学评

价程序中遗传毒性试验项目包括细菌回复突变试验、小鼠骨髓细胞微核试验、小鼠骨髓细胞染色体畸变试验、小鼠精原细胞或精母细胞染色体畸变试验、体外细胞染色体畸变试验、体外哺乳类细胞(HGPRT)和体外哺乳类细胞(TK)基因突变试验等,上述主要以体内试验方法为主。随着毒理学技术的发展,体外替代技术的应用逐渐成为关注焦点,更多的体外遗传毒性方法在检验领域得到应用,其中就包括近两年国家相关部门积极推动的 IVMN 试验方法体系标准化工作。本实验室前期参与《食品安全国家标准 体外哺乳类细胞微核试验(征求意见稿)》标准制定的实验室间验证工作,相关工作已取得进展,将为后续建立适合我国国情的体外替代方法体系,完善现有的食品安全标准和规范提供技术支持。

常规 IVMN 试验与动物试验比较,虽然已经做到取材方便、操作简单、提高微核的识别度、排除动物个体差异干扰等,但是仍存在一些不足之处,例如样品每个浓度需要人工镜检 2 000 个双核细胞(费时费力)、镜检前的细胞制片有一定的技术难度(要求保留细胞膜用以判断双核细胞)、染色时容易将染料中的颗粒或杂质带入(造成微核识别混淆);同时,随着日益增长的食品、食品原料及新食品原料需要开展毒理学安全性评价的现实需求,目前的常规试验方法仍然无法满足,难以做到 IVMN 快速高效地筛选。本研究建立的基于 HCS 的 IVMN 方法通过荧光染色甚至多通道染色,不仅可以实现对细胞核及微核的自动化计数并统一自动化识别标准,还将原先人工阅片的时间大大缩短。目前,国内外学者将 HCS 法主要应用于化学品遗传毒性效应的研究,其中周飞等^[8]对 8 种常用的遗传毒性阳性物质进行检测,有 7 种呈现阳性结果;WESTERINK 等^[9]对 20 种有遗传毒性的化合物及 42 种非遗传毒性的化合物进行检测,敏感性达到 80%,特异性则达到 88%,这些研究结果表明该方法具有较高的预测性。此外还有研究^[10]将该方法应用于化学原料的遗传毒性评价,然而在食品及食品原料的安全性评价领域则鲜有应用。

本研究结果显示,IVMN 和 HCS 法在有和/或无 S9 条件下,受试化合物的 IVMN 试验结果均一致,即 6 个验证化合物中 5 个已知遗传毒性化合物 B(a)P、MMS、4NQO、COL 及 VB 的试验结果均为阳性,1 个已知非遗传毒性化合物 NaCl 的试验结果为阴性,测试结果也与化合物已知的结果遗传毒性相一致,进一步验证了本次试验结果的准确

性。在此基础上得到 4 个食品原料 A、食品原料 B、食品原料 C 和食品原料 D 的阴性试验结果的准确度具有可信性。此外本研究还发现,HCS 法得到的微核细胞率倍数高于 IVMN 法,尤其是具有潜在遗传毒性的化合物,这一方面可能与 96 孔板试验体系小且对微量上样的灵敏度更高有关,另一方面也与 HCS 法相较于传统方法更敏感有关。同时也不排除假阳性率增加的可能性,本实验室后续将扩大样品量的研究,并进一步对 HCS 法的准确性和敏感性进行分析,希望能更加客观地评价将该检测方法用于筛选受试物诱导细胞产生的微核细胞率。

综上所述,HCS 法的灵敏性较好,在对平板质量、细胞接种密度、细胞生长状态等要求均得到保证的前提下,将 HCS 法应用于食品毒理学进行大量、快速、高效的遗传毒性筛选及安全性评价具有一定的可行性。本研究结果也可为将 HCS 技术纳入食品遗传毒性评价相关标准提供数据支持。

参考文献

[1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.食品安全国家标准 食品安全性毒理学评价程序: GB 15193. 1—2014 [S]. 北京:中国标准出版社,2014.

[2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 新食品原料安全性审查管理办法[Z]. 2013-10-01.

[3] 陈思,鲁克庆,马兴铭.微核试验方法及应用研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26(2): 83-86.

[4] OECD. Guideline for the testing of chemicals (No.487): *in vitro* mammalian cell micronucleus test [EB/OL]. 2016 [2019-12-20]. <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264264861-en.pdf>.

[5] LI S Z, XIA M H. Review of high-content screening applications in toxicology[J]. Arch Toxicol, 2019, 93(12): 3387-3396.

[6] DONATO M T, GOMEZ-LECHON M J, TOLOSA L. Using high-content screening technology for studying drug-induced hepatotoxicity in preclinical studies [J]. Expert Opini Drug Discov, 2017, 12(2): 201-211.

[7] PERSSON M, HORNBERG J J. Advances in predictive toxicology for discovery safety through high content screening[J]. Chem Res Toxicol, 2016, 29(12): 1998-2007.

[8] 周飞,林海霞,常艳. CHO 细胞体外微核高内涵筛选方法的建立及应用[J]. 癌变·畸变·突变, 2010, 23(1): 31-34.

[9] WESTERINK W M A, SCHIRRIS T J J, HORBACH G J, et al. Development and validation of a high-content screening *in vitro* micronucleus assay in CHO-k1 and HepG2 cells[J]. Mutat Res, 2011, 724(1/2): 7-21.

[10] HUANG Z H, LI N, RAO K F, et al. *In vitro* cytotoxicity and genotoxicity analysis of ten tannery chemicals using SOS/umu tests and high-content *in vitro* micronucleus tests[J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2018, 21(4): 262-270.

· 新型冠状病毒肺炎科普知识 ·

疫情期间去商场超市如何做好防护？

中国疾控中心环境所所长 施小明

- 去商场、超市购物,做好个人防护非常有必要。主要关注以下四个方面:
- 第一,购物的时间尽量避开商场、超市的客流高峰期,比如选择非周末时间或者是早晨刚营业的时候,这样减少与其他人接触的机会。
- 第二,乘坐电梯时,如果是到楼层比较低的地方购物,推荐走楼梯。如果到楼层比较高的地方购物,建议优先使用扶梯。如果必须乘坐厢式电梯,电梯人多的时候可以等候下一趟电梯。乘坐电梯时要佩戴口罩,而且与其他人员保持一定的安全距离。
- 第三,要全程正确佩戴口罩。
- 第四,做好手卫生。

(来源 国家卫生健康委员会,相关链接: <http://www.nhc.gov.cn/xcs/kpzs/202003/1b7be126b5c74c5f90aafcc6c6e5212c.shtml>)