

# 中华人民共和国国家标准化指导性技术文件

GB/Z 42246—2022

## 纳米技术 纳米材料遗传毒性 试验方法指南

Nanotechnologies—Guideline on genotoxicity test methods  
for nanomaterials

2022-12-30 发布

2023-07-01 实施

国家市场监督管理总局 发布  
国家标准化管理委员会



目 次

前言 ..... III

引言 ..... IV

1 范围 ..... 1

2 规范性引用文件 ..... 1

3 术语和定义 ..... 1

4 缩略语 ..... 2

5 纳米材料遗传毒性试验方法的选择 ..... 2

    5.1 纳米材料遗传毒性作用机制 ..... 2

    5.2 样品制备和表征 ..... 2

    5.3 试验方法选择策略 ..... 3

附录 A（资料性） 纳米材料体外遗传毒性试验的适用性 ..... 6

附录 B（资料性） 纳米材料体内遗传毒性试验的适用性 ..... 8

附录 C（规范性） 纳米材料遗传毒性试验优化组合 ..... 9

参考文献 ..... 10



## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国科学院提出。

本文件由全国纳米技术标准化技术委员会(SAC/TC 279)归口。

本文件起草单位：中国食品药品检定研究院、国家纳米科学中心。

本文件主要起草人：文海若、陈亮、邵安良、徐丽明、吴晓春。

## 引 言

随着纳米技术的飞速发展和大量纳米材料的涌现,人体与纳米材料接触的机会日益增加,纳米材料的安全性评价成为科学界和各国监管部门高度关注的热点。遗传毒性试验是非临床安全性评价的重要内容,通过一系列试验评估试验样品是否有遗传毒性,对试验样品的致癌性进行预测,从而降低其对人群的危害风险<sup>[5]</sup>。纳米材料有可能进入细胞,与细胞遗传物质(DNA 或染色体)产生直接或间接的相互作用,通过氧化应激或炎症等作用机制诱发 DNA 或染色体损伤<sup>[20],[24-26]</sup>。目前,纳米材料的遗传毒性研究已发展为一个专门的亚分支研究领域“纳米遗传毒理学”。

美国食品药品监督管理局(FDA)及经济合作与发展组织(OECD)等国家与国际监管机构已经认识到当前的标准遗传毒性组合试验应用于纳米材料的遗传毒性风险评价时存在的局限性<sup>[17]</sup>。OECD 纳米材料产品工作组(WPMN)于 2014 年在纳米材料产品安全性系列文件第 43 号《纳米材料产品遗传毒性:OECD 专家专题研讨会报告》(以下简称“43 号文件”)<sup>[15]</sup>中就纳米材料遗传毒性评价中的共性问题达成 7 项共识。本文件基于纳米材料遗传毒性试验研究成果并参考国际相关遗传毒性指导原则及 OECD 的 43 号文件等起草,是经全国纳米技术和遗传毒理研究领域专家、纳米材料及相关产品的研发机构代表讨论后达成的共识。

本文件为含纳米材料药物及医疗器械的研发、安全性评价及监管提供参考。

# 纳米技术 纳米材料遗传毒性 试验方法指南

## 1 范围

本文件提供了纳米材料遗传毒性作用机制、样品制备和表征以及体外和体内试验方法选择策略。  
本文件适用于纳米材料、含纳米材料的药物(纳米药物)及医疗器械产品的潜在遗传毒性评价。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 16886.3—2019 医疗器械生物学评价 第3部分:遗传毒性、致癌性和生殖毒性试验  
GB/T 16886.12—2017 医疗器械生物学评价 第12部分:样品制备与参照材料  
GB/T 30544.4—2019 纳米科技 术语 第4部分:纳米结构材料  
GB/T 32269—2015 纳米科技 纳米物体的术语和定义 纳米颗粒、纳米纤维和纳米片  
GB/T 39261 纳米技术 纳米材料毒理学评价前理化性质表征指南  
GB/T 41316—2022 分散体系稳定性表征指导原则

## 3 术语和定义

GB/T 16886.3—2019、GB/T 16886.12—2017、GB/T 30544.4—2019、GB/T 32269—2015 和 GB/T 41316—2022 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

#### 遗传毒性试验 genotoxicity test

采用哺乳动物细胞或非哺乳动物细胞、细菌、酵母菌、真菌或整体动物测定试验样品是否会引起基因突变、染色体结构畸变以及其他 DNA 或基因变化的试验。

[来源:GB/T 16886.3—2019,3.3]

### 3.2

#### 纳米材料 nanomaterial

任一外部维度、内部或表面结构处于纳米尺度的材料。

注:本通用术语包括纳米物体和纳米结构材料。

[来源:GB/T 30544.4—2019,2.3]

### 3.3

#### 沉降 sedimentation

由于分散相密度高于连续相密度产生的分散相的向下移动沉淀(分离)的现象。

注:如果液态分散相(乳浊液)的密度大于连续相的密度,液滴会沉降,如油包水乳剂。

[来源:GB/T 41316—2022,3.13,有修改]

3.4

试验样品 test sample

用于生物学或化学试验或评价的医疗器械、组件或材料(或用相同方法生产和加工的具有代表性的样品),或其浸提液。

[来源:GB/T 16886.12—2017,3.16,有修改]

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件:

- 3R: 替代、减少和优化(replacement, reduction, refinement)
- CHO 细胞: 中国仓鼠卵巢细胞 (Chinese hamster ovary cell)
- CHL 细胞: 中国仓鼠肺细胞 (Chinese hamster lung cell)
- CytoB: 细胞松弛素 B (Cytochalasins B)
- DNA: 脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid)
- MLA: 小鼠淋巴瘤试验 (mouse lymphoma assay)
- SBF: 模拟体液 (simulated body fluid)

5 纳米材料遗传毒性试验方法的选择

5.1 纳米材料遗传毒性作用机制

纳米材料遗传毒性可能的作用机制主要包括两方面<sup>[22]</sup>:一是未进入细胞核,通过诱导大量活性氧或炎症因子的生成间接导致遗传物质损伤;二是通过扩散、穿越核孔复合体和细胞有丝分裂或减数分裂过程中被核膜包裹三种途径进入细胞核,直接作用于 DNA 导致遗传物质损伤。

5.2 样品制备和表征

5.2.1 通则

不同来源的纳米材料的理化性质和稳定性往往差异较大。体相材料尺寸减小到纳米尺度后,其在生物体内的分布、蓄积及代谢动力学等特征可能会发生显著改变。纳米材料的毒性与其粒径、表面修饰和表面电荷等理化性质密切相关<sup>[26],[33]</sup>。纳米材料在理化性质上的微小差别可能直接导致其安全性和毒性靶器官的不同。因此安全性评价需要强调对纳米材料的理化性质进行充分表征。

拟评价的医用纳米材料的生产工艺及产品质量宜与临床试验用样品或上市后样品基本一致。对不同产品进行评价时遵循“具体案例具体分析”的原则。

5.2.2 试验样品制备方法

5.2.2.1 试验样品制备的总体原则是最大程度模拟试验样品与人体实际接触的方式。分散介质可能影响纳米材料的尺寸,从而影响试验样品的沉降、团聚、细胞暴露、细胞毒性、剂量选择和遗传毒性试验结果。单纯的纳米材料试验样品,需充分考虑其在分散介质中的分散性,选择合适的介质,确保分散均匀,减少团聚<sup>[14]</sup>。

5.2.2.2 含纳米材料的医疗器械(含纳米材料的基质类固体产品)按照 GB/T 16886.3—2019 和 GB/T 16886.12—2017, 或根据含纳米材料产品预期临床使用的微环境和纳米材料的释放特征选择合适的浸提介质。具体如下:

- a) 在通常情况下,含纳米材料固体产品的表面积/质量和浸提液体积之比(以平方厘米每毫升,

即  $\text{cm}^2/\text{mL}$ ，或毫克每毫升，即  $\text{mg}/\text{mL}$  表示)宜尽可能高；

- b) 宜对浸提液中的纳米材料进行必要的表征，如颗粒物尺寸、分散性、表面电荷等。必要时测定浸提液中纳米材料的浓度，以便对结果进行量-效关系的分析；
- c) 宜选择不易吸附纳米材料的浸提容器(如低吸附的聚四氟乙烯材质的容器)；
- d) 浸提温度、时间等其他内容按照 GB/T 16886.3—2019 中样品准备的相关条款执行；
- e) 金属纳米材料可能会释放金属离子，需考虑所释放的金属离子可能与分散介质中的其他离子发生反应。如纳米银可能会释放带正电荷的银离子，在含氯化钠的浸提液或者 SBF 中，当银离子的浓度足够高时可与分散介质中的氯离子形成氯化银颗粒物。此时，宜采取相应措施避免颗粒物形成，并充分评价非纳米材料颗粒物对试验体系和结果的影响。

5.2.2.3 由于有些纳米材料具有极强的吸附特性，特别是对蛋白成分的吸附，因此在样品制备时如采用含有机成分的生理介质，宜评价纳米材料对介质中有机成分的吸附，及其对试验体系和试验结果解释的影响。

### 5.2.3 表征

5.2.3.1 开展遗传毒性试验之前，按照 GB/T 39261 并参考纳米材料产品安全性系列文件第 63 号《物理化学参数：与纳米材料监管相关的测量和方法》<sup>[16]</sup> 等纳米材料表征的相关标准检测纳米材料的理化性质(包括粒径、形状、长径比、粒径分布、团聚及沉降状态、结晶度、表面积、分散性、纯度及稳定性等)。相同组分的纳米材料，如果理化性质不同，其潜在的遗传毒性风险可能不同，宜单独进行评价。

5.2.3.2 试验样品为可溶性纳米材料时，参考国际人用药品注册技术协调会《人用药物遗传毒性试验和结果分析指导原则》ICH S2(R1)<sup>[5]</sup> 进行常规的遗传毒性评价。因制备受试液的介质，特别是生物介质及温度等试验条件可能对纳米材料的理化性质及稳定性产生影响，宜对试验体系中的可溶性纳米材料进行全面的表征。

5.2.3.3 为保证纳米材料在体外试验系统中的生物和物理环境状态与体内应用时的微环境状态有可比性，宜使用现有的方法对给药处理前和给药处理结束后的体内外评价系统中的纳米材料进行必要表征。

## 5.3 试验方法选择策略

### 5.3.1 通则

纳米材料的遗传毒性试验目的是评价人体接触纳米材料的潜在遗传毒性风险。为全面考察试验样品的潜在遗传毒性风险，通常需开展一系列机制上互相补充的试验(即标准试验组合)来进行综合性评价，且标准试验组合的选择宜针对不同的遗传毒性终点<sup>[5]</sup>。遗传毒性试验方法根据试验系统不同可分为体外和体内试验；主要的遗传毒性评价终点包括基因突变、DNA 损伤和染色体损伤。考虑到动物实验替代、减少和优化的 3R 原则，当含纳米材料的试验样品需要进行遗传毒性评价时，优先开展体外遗传毒性试验。体内研究通常在体外研究基础上开展，并以靶器官相关毒性研究为前提。

### 5.3.2 体外遗传毒性试验方法的适用性

#### 5.3.2.1 概述

不针对纳米材料，不同的体外遗传毒性试验评价方法的适用性分析见附录 A，具体包括细菌试验体系和细胞试验体系。

#### 5.3.2.2 细菌试验体系

纳米材料不易与细菌的遗传物质充分接触，因此传统的细菌回复突变试验体系存在一些局限<sup>[17]</sup>。此外，部分纳米材料(如纳米银及其释放的银离子等)具有一定的抑菌作用。因此，采用细菌回复突变试

验评价纳米材料的致突变风险可能得到假阴性结果。在采用细菌试验体系时,宜提供研究所用试验条件下细菌对该纳米材料的摄取、纳米材料的分散情况及是否具有抑菌作用的相关数据。

### 5.3.2.3 细胞试验体系

宜使用可摄取纳米材料、遗传物质稳定的细胞系开展体外研究,如 CHO 细胞、CHL 细胞等。此外,使用人抑癌基因(p53)功能完整的细胞系[如人淋巴母细胞(TK6)]开展试验,可减少假阴性结果。

细胞对纳米材料的摄取能力是解释试验结果的关键因素。在开展体外遗传毒性试验时,宜同时对细胞摄取能力进行分析(参考纳米材料产品安全性系列文件第 36 号《合成纳米材料安全性测试样品制备和剂量测定指南》<sup>[14]</sup>),如哺乳动物细胞对某种纳米材料摄取能力有限,从直接遗传毒性的角度可认为该纳米材料对哺乳动物细胞的遗传毒性风险较低。

对于体外染色体畸变试验和体外微核试验,宜根据细胞增殖和细胞毒性试验结果选择最高试验样品处理浓度。最高浓度所产生的细胞毒性宜控制在 50% 左右。通过相对群体倍增数(relative population doubling, RPD)和/或相对细胞增长数(relative increase in cell count, RICC)来评估哺乳动物细胞的细胞毒性;对培养的人外周血淋巴细胞,可通过有丝分裂指数(mitotic index, MI)的降低来反映细胞毒性。某些情况下(如试验样品细胞毒性较大)可考虑增加浓度组并采用大于标准范围( $\sqrt{10}$  倍)的浓度间隔,测试浓度范围宜包括无毒性或低毒性、中等毒性至约 50% 细胞毒性的浓度。必要时,可进行重复试验以保证获得较好的量效关系。

因纳米材料进入细胞发挥作用的时间较长,体外染色体畸变试验和体外微核试验中试验样品处理时间宜包括短期处理组(3 h~6 h)和长期处理组(染色体畸变试验为 1.5 个细胞倍增时间,微核试验为 2 个细胞倍增时间),长期处理宜不低于 24 h,以保证纳米材料与遗传物质(直接或间接)充分地接触。

胞质分裂阻断法微核试验中,添加 CytoB 可能干扰细胞骨架的形成,从而影响细胞对纳米材料的内吞作用。CytoB 的给药方法可采用后处理(细胞与试验样品处理一段时间后,更换含 CytoB 的培养基)或延迟的共同处理(细胞与试验样品处理一段时间后,更换同时含试验样品与 CytoB 的培养基)的方法,从而保证纳米材料与细胞培养系统在无 CytoB 的情况下充分暴露。

### 5.3.3 体内遗传毒性试验方法的适用性

#### 5.3.3.1 通则

针对纳米材料,不同体内遗传毒性试验的适用性分析见附录 B,具体宜考虑取样组织和给药方式。

#### 5.3.3.2 取样组织

开展体内遗传毒性研究前,需确定纳米材料在遗传毒性试验检测组织中的含量水平,必要时需开展毒代动力学和/或组织分布研究。如纳米材料在遗传毒性试验检测组织中含量较低,则相应试验方法可能不适用于直接遗传毒性的评价。

#### 5.3.3.3 给药方式

体内研究中,当前没有足够的证据支持某种给药方式优于另一种给药方式。试验的给药方式需根据人最常见的暴露途径选择<sup>[28]</sup>。如果拟评价试验样品为医用纳米材料或者含纳米材料产品,给药方式宜根据材料/产品的实际使用方式确定。

### 5.3.4 遗传毒性试验优化组合

#### 5.3.4.1 通则

由于纳米材料特殊的纳米尺度效应和理化特性,使用传统遗传毒性试验方法评价纳米材料的遗传毒性时可能存在一定的局限性。纳米材料的遗传毒性评价宜尽量全面,以提供充分数据对纳米材料的

致癌性进行预测,降低接触人群的危害风险。

本文件按照 GB/T 16886.3—2019 并参考 ICH S2(R1)<sup>[5]</sup>,在常规药物和医疗器械遗传毒性标准试验组合原则的基础上,给出了纳米药物和含纳米材料医疗器械的遗传毒性试验优化组合方案的考量。

#### 5.3.4.2 细菌回复突变试验

细菌回复突变试验是首选的遗传毒性评价方法。虽然传统细菌回复突变试验不是研究纳米材料遗传毒性的推荐方法<sup>[17]</sup>,但作为对啮齿类动物肿瘤发生率预测效果最好的遗传毒性试验方法,不宜将其完全排除在现阶段纳米材料遗传毒性评价组合之外。宜在提供研究所用试验条件下细菌对该纳米材料摄取能力以及纳米材料分散性证据的基础上,考虑是否选择细菌回复突变试验,或者作为结果判定的参考。

#### 5.3.4.3 小鼠淋巴瘤 *tk* 基因突变试验

小鼠淋巴瘤 *tk* 基因突变试验涵盖了基因突变和染色体断裂等检测终点,是推荐的第二项纳米材料潜在致突变能力检测方法<sup>[32]</sup>。在提供该研究相应数据的同时,宜提供研究所用试验条件下细胞对该纳米材料摄取能力以及纳米材料分散性的证据,作为试验结果判定的参考。

#### 5.3.4.4 体外微核试验或染色体畸变试验

检测致断裂剂的体外微核试验或染色体畸变试验在检测终点上与细菌回复突变试验和小鼠淋巴瘤 *tk* 基因突变试验互补,可任选一项作为第三项遗传毒性评价方法。在提供相应研究数据的同时,宜提供研究所用试验条件下细胞对该纳米材料摄取能力以及纳米材料分散性的证据,作为试验结果判定的参考。

#### 5.3.4.5 体内试验

可在啮齿类动物红细胞微核试验或哺乳动物骨髓染色体畸变试验或啮齿类动物体内彗星试验等中任选 1 项~2 项作为体内试验。

#### 5.3.4.6 分阶段研究策略

遗传毒性试验优化组合中,5.3.4.2~5.3.4.5 的 4 项试验内容可分阶段开展。

- a) 纳米药物的遗传毒性评价宜包括 3 项体外研究(即细菌回复突变试验、小鼠淋巴瘤 *tk* 基因突变试验和体外微核试验或染色体畸变试验)和 1 项~2 项体内研究,并优先开展体外研究。
  - 如 4 项试验结果均为阴性,认为其遗传毒性试验结果为阴性;
  - 如在充分考虑试验体系的适宜性的前提下,任一项体外研究结果为阳性,参考 ICH S2(R1)<sup>[5]</sup>进一步开展与检出阳性结果的评价终点一致的体内试验,并针对靶器官(组织)进行研究;
  - 如体外遗传毒性试验结果为阳性,相应检测终点的体内遗传毒性试验结果为阴性,需参考证据权重原则,对其人体应用的风险进行评估;
  - 如体外试验结果均为阴性,而体内试验结果为阳性,认为试验样品存在遗传毒性风险,可进一步进行研究。

纳米药物遗传毒性试验组合试验应按照附录 C 的图 C.1 规定的步骤开展。

- b) 含纳米材料医疗器械的遗传毒性评价宜包括 3 项体外研究,试验项目选择同纳米药物。
    - 如 3 项试验结果均为阴性,认为其遗传毒性试验结果为阴性,无需进一步试验;
    - 如在充分考虑试验体系适宜性的前提下,任一项体外研究结果为阳性,可参考纳米药物的要求进一步开展体内试验进行验证,并需参考证据权重原则对其人体遗传毒性风险进行评估。
- 含纳米材料医疗器械遗传毒性试验组合试验应按照附录 C 的图 C.2 规定的步骤开展。

附 录 A  
(资料性)

纳米材料体外遗传毒性试验的适用性

纳米材料体外遗传毒性试验的适用性评估,包括:拟评价的遗传毒性终点、现有的评价方法、是否推荐用于检测纳米材料的遗传毒性、适用或不适用的理由及参考文献/引用文件,详见表 A.1。

表 A.1 纳米材料体外遗传毒性试验的适用性评估

遗传毒性 终点	现有的评价方法	是否推荐用于 检测纳米材料	适用或不适用的理由	参考文献/引用文件
基因突变	细菌回复突变 试验	否,因细菌对纳米材 料的摄取能力有限, 传统细菌回复突变 试验不是判断纳米 材料致突变性风险 的推荐试验	a) 革兰氏阴性菌的菌壁限制了 纳米材料的摄取; b) 固态且带大量负电荷的培养 条件限制细菌与纳米材料充 分接触; c) 部分纳米材料有抑菌性	OECD TG 471 <sup>[6]</sup>
	体外哺乳动物 细胞基因突变试验 ( <i>hprt</i> 或 <i>tk</i> 基因突 变试验, <i>Pig-a</i> 基因 突变试验)	a) <i>hprt</i> 或 <i>tk</i> 基因 突变试验推荐; b) <i>Pig-a</i> 基因突变 试验暂不明确	a) <i>hprt</i> 或 <i>tk</i> 基因突变试验多用于 安全性评价,文献数据 较少; b) <i>Pig-a</i> 基因突变试验文献数据 不足	OECD TG 490 <sup>[13]</sup> ; Kimoto et al., 2016 <sup>[22]</sup> ; 王亚楠等,2019 <sup>[32]</sup>
染色体 损伤	体外哺乳动物 细胞染色体 畸变试验	是	a) 宜使用可摄取纳米材料且遗 传物质稳定的细胞系; b) 宜延长纳米材料与细胞作用 时间,保证充分暴露; c) 纳米级颗粒物可沉积在细胞 表面,对镜检细胞核结构产生 干扰;采用荧光试剂(如吖啶 橙)染色效果可能优于吉姆萨 染色	OECD TG 473 <sup>[7]</sup> ; GB/T 21794 <sup>[3]</sup>
	体外哺乳动物 细胞微核试验	是(需做调整)	a) 宜使用可摄取纳米材料且遗 传物质稳定的细胞系; b) 宜延长纳米材料与细胞作用 时间,保证充分暴露; c) 细胞松弛素 B 可干扰细胞骨 架形成,影响颗粒物内吞,宜 与给药处理分别开展; d) 添加血清可能影响细胞对颗 粒物的摄取能力	OECD TG 487 <sup>[11]</sup> ; GB/T 28646 <sup>[4]</sup> ; 文海若等,2018 <sup>[33]</sup> ; Wang et al. 2020 <sup>[29]</sup>

表 A.1 纳米材料体外遗传毒性试验的适用性评估（续）

遗传毒性 终点	现有的评价方法	是否推荐用于 检测纳米材料	适用或不适用的理由	参考文献/引用文件
DNA 损伤 及修复	体外彗星试验	是	可额外开展针对检测与氧化损伤导致的 DNA 断裂(与 8-羟基鸟嘌呤有关)的体外彗星试验(样本裂解后经细菌甲酰嘧啶 DNA 糖基化酶(FGP)预处理)	Dušnský et al., 1996 <sup>[18]</sup> ; El Yamani et al., 2017 <sup>[19]</sup> ; 郭雅娟等,2018 <sup>[31]</sup> ; Wang et al. 2020 <sup>[29]</sup>
	γ-H2AX 试验	是	—	Ismail et al., 2007 <sup>[21]</sup>

附 录 B  
(资料性)

纳米材料体内遗传毒性试验的适用性

纳米材料体内遗传毒性试验的适用性评估,包括:拟评价的遗传毒性终点、现有的评价方法、是否推荐用于检测纳米材料的遗传毒性、适用或不适用的理由及参考文献/引用文件,详见表 B.1。

表 B.1 纳米材料体内遗传毒性试验的适用性评估

遗传毒性 终点	现有的评价方法	是否推荐用于 检测纳米材料	适用或不适用的理由	参考文献/引用文件
基因突变	体内 <i>Pig-a</i> 基因 突变试验	不明确	文献数据缺乏	Krüger et al., 2015 <sup>[23]</sup> ; Piberger et al., 2017 <sup>[27]</sup> ; Wang et al., 2018 <sup>[28]</sup>
染色体损伤	哺乳动物红细胞 微核试验	是	纳米级颗粒物可沉积在细胞 表面,对镜检细胞核结构产生 干扰;采用荧光试剂(如吖啶 橙)染色效果可能优于吉姆萨 染色	OECD TG 474 <sup>[8]</sup> ; GB/T 21773 <sup>[2]</sup> ; Wang et al., 2018 <sup>[28]</sup>
	哺乳动物骨髓染色 体畸变试验	是	纳米级颗粒物可沉积在细胞 表面,对镜检细胞核结构产生 干扰;采用荧光试剂(如吖啶 橙)染色效果可能优于吉姆萨 染色	OECD TG 475 <sup>[9]</sup> ; GB 15193.6 <sup>[1]</sup> ; Wen et al., 2017 <sup>[30]</sup>
DNA 损伤 及修复	体内彗星试验	是	—	OECD TG 489 <sup>[12]</sup> Wang et al., 2018 <sup>[28]</sup>
	$\gamma$ -H2AX 试验	是	—	Ismail et al., 2007 <sup>[21]</sup>
	体内哺乳动物 肝细胞非程序性 DNA 合成试验	是	可用于纳米材料在动物肝组 织中 DNA 损伤风险评估,但 因使用放射性试剂 <sup>3</sup> H-TdR 标 记,可开展的机构受限	OECD 486 <sup>[10]</sup>

附 录 C  
(规范性)

纳米材料遗传毒性试验优化组合

纳米材料遗传毒性试验优化组合中的 4 项试验内容,可分阶段开展,并优先开展体外研究。基于已有研究结果考虑进一步试验策略,详见图 C.1 和图 C.2。

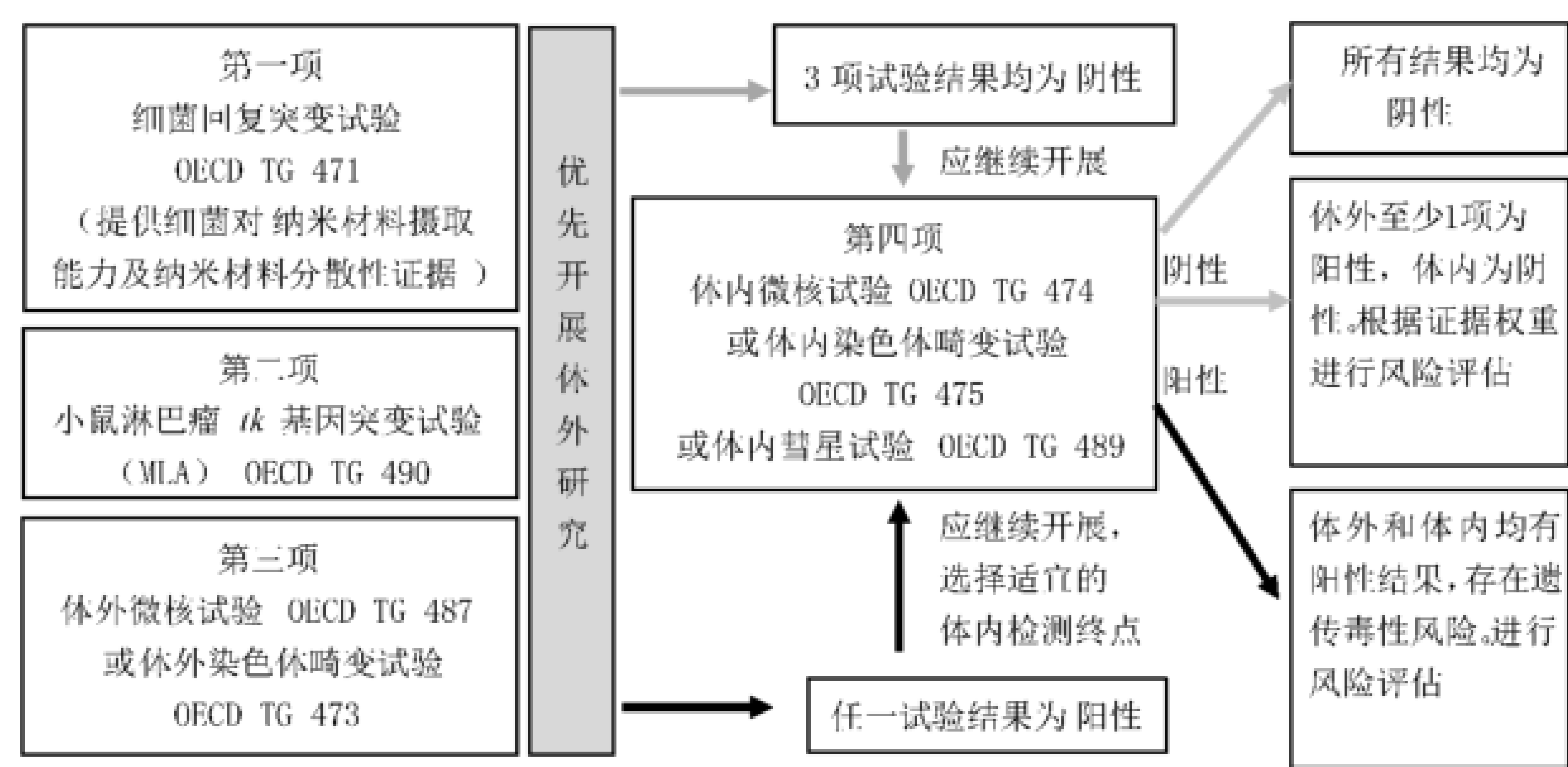


图 C.1 纳米药物遗传毒性试验组合策略示意图

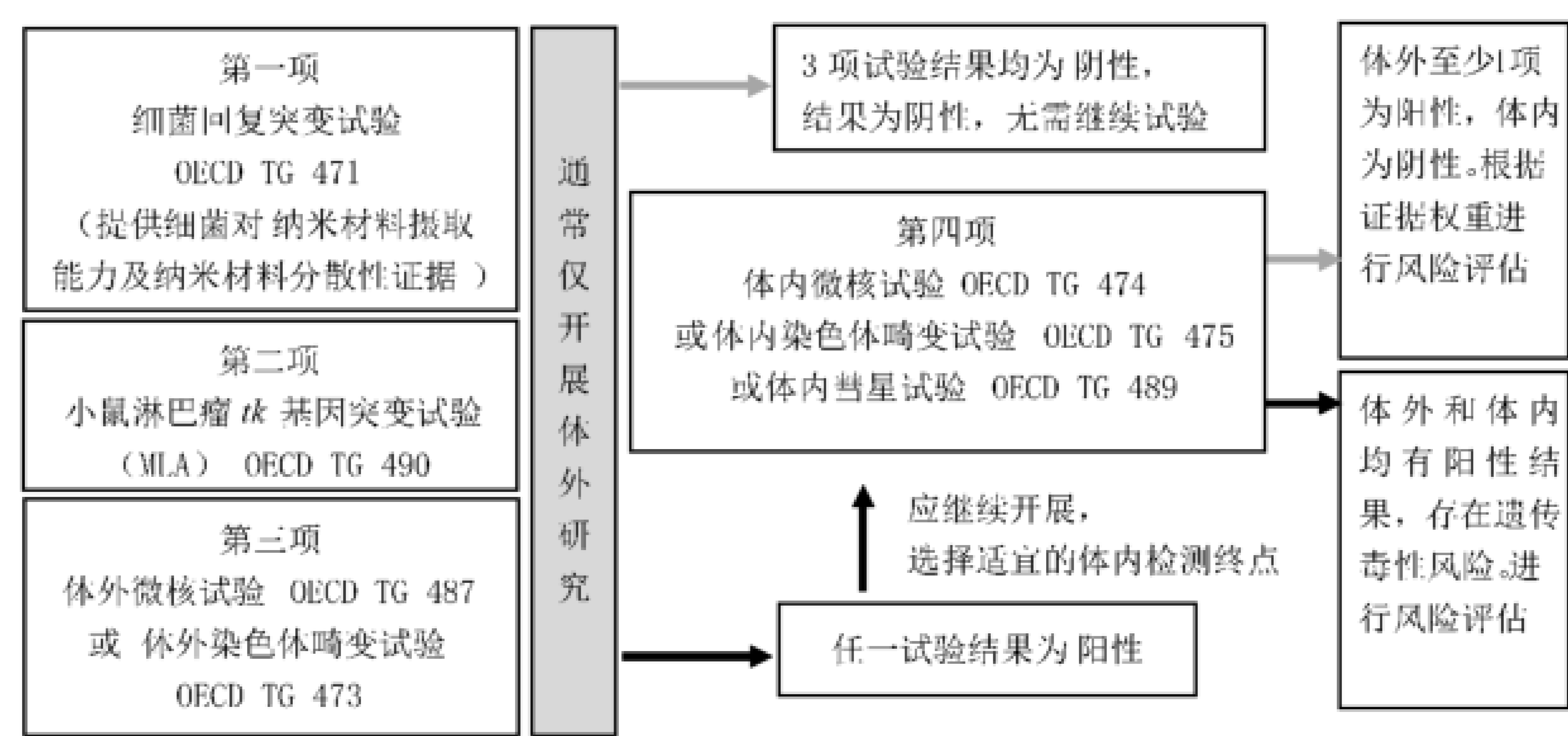


图 C.2 含纳米材料医疗器械遗传毒性试验组合策略示意图

## 参 考 文 献

[1] GB 15193.6 食品安全国家标准 哺乳动物骨髓细胞染色体畸变试验

[2] GB/T 21773 化学品 体内哺乳动物红细胞微核试验方法

[3] GB/T 21794 化学品 体外哺乳动物细胞染色体畸变试验方法

[4] GB/T 28646 化学品 体外哺乳动物细胞微核试验方法

[5] International Conference on Harmonization (ICH). Guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use S2(R1)

此文件以 PDF 电子文件格式存放于网页 (WEB) 上 ([https://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Safety/S2\\_R1/Step4/S2R1\\_Step4.pdf](https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S2_R1/Step4/S2R1_Step4.pdf))

[6] OECD Guidelines for the Testing of Chemicals TG 471: Bacterial reverse mutation test

此文件以 PDF 电子文件格式存放于网页 (WEB) 上 (<https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264071247-en.pdf?expires=1649746780&id=id&accname=guest&checksum=9690B9E5199765C908F826792D6F87D4>)

[7] OECD Guidelines for the Testing of Chemicals TG 473: In vitro mammalian chromosomal aberration test

此文件以 PDF 电子文件格式存放于网页 (WEB) 上 (<https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264264649-en.pdf?expires=1649746887&id=id&accname=guest&checksum=A3FA62F0BCC4877D309030FC7CB04232>)

[8] OECD Guideline for the Testing of Chemicals TG 474: Mammalian erythrocyte micronucleus test

此文件以 PDF 电子文件格式存放于网页 (WEB) 上 ([https://www.oecd-ilibrary.org/test-no-474-mammalian-erythrocyte-micronucleus-test\\_5jlsq2g5kn7b.pdf?itemId=%2Fcontent%2Fpublication%2F9789264264762-en&mimeType=pdf](https://www.oecd-ilibrary.org/test-no-474-mammalian-erythrocyte-micronucleus-test_5jlsq2g5kn7b.pdf?itemId=%2Fcontent%2Fpublication%2F9789264264762-en&mimeType=pdf))

[9] OECD Guideline for the Testing of Chemicals TG 475: Mammalian bone marrow chromosomal aberration test

此文件以 PDF 电子文件格式存放于网页 (WEB) 上 (<https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264264786-en.pdf?expires=1649747259&id=id&accname=guest&checksum=470BC539DD638CFD8CDD2594D3ACAA24>)

[10] OECD Guideline for the Testing of Chemicals TG 486: Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test with Mammalian Liver Cells in vivo

此文件以 PDF 电子文件格式存放于网页 (WEB) 上 (<https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264071520-en.pdf?expires=1651760722&id=id&accname=guest&checksum=9AE1A115DD3E943C2DC2CAADD5C94B55>)

[11] OECD Guidelines for the Testing of Chemicals TG 487: In vitro mammalian cell micronucleus test

此文件以 PDF 电子文件格式存放于网页 (WEB) 上 (<https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264264861-en.pdf?expires=1649747346&id=id&accname=guest&checksum=1126029DC678CB7BA8A1E311535D183E>)

[12] OECD Guideline for the Testing of Chemicals TG 489: In vivo mammalian alkaline comet assay

此文件以 PDF 电子文件格式存放于网页 (WEB) 上 (<https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/>

9789264264885-en. pdf? expires = 1649747393&id = id&accname = guest&checksum = 37940AA24AA95E5C39AF9AF997480830)

[13] OECD Guidelines for the Testing of Chemicals TG 490; In vitro mammalian cell gene mutation tests using the thymidine kinase gene

此文件以 PDF 电子文件格式存放于网页 (WEB) 上 ([https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264264908-en. pdf? expires = 1649747456&id = id&accname = guest&checksum = 88AC37EDB693DFF5D4C8407E3C336F14](https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264264908-en.pdf?expires=1649747456&id=id&accname=guest&checksum=88AC37EDB693DFF5D4C8407E3C336F14))

[14] OECD Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials No. 36. Guidance on sample preparation and dosimetry for the safety testing of manufactured nanomaterials

此文件以 PDF 电子文件格式存放于网页 (WEB) 上 ([https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/? cote=env/jm/mono%282012%2940&doclanguage=en](https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono%282012%2940&doclanguage=en))

[15] OECD Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials No. 43. Genotoxicity of manufactured nanomaterials; Report of the OECD expert meeting

此文件以 PDF 电子文件格式存放于网页 (WEB) 上 ([https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/? cote=env/jm/mono\(2014\)34&doclanguage=en](https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2014)34&doclanguage=en))

[16] OECD Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials No. 63. Physical-chemical parameters; measurements and methods relevant for the regulation of nanomaterials

此文件以 PDF 电子文件格式存放于网页 (WEB) 上 ([https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/? cote=env/jm/mono\(2016\)2&doclanguage=en](https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2016)2&doclanguage=en))

[17] Doak SH, Manshian B, Jenkins GJ, et al. In vitro genotoxicity testing strategy for nanomaterials and the adaptation of current OECD guidelines. *Mutat Res*, 2012, 745(1 - 2):104-111

[18] Dušinská M, Collins A R. Detection of Oxidized Purines and UV-Induced Photoproducts in DNA of Single Cells, by Inclusion of Lesion-Specific Enzymes in the Comet Assay. *Alternatives to Laboratory Animals:Atla*, 1996, 24(3):405-411

[19] El Yamani N, Collins A R, Rundénpran E, et al. In vitro genotoxicity testing of four reference metal nanomaterials, titanium dioxide, zinc oxide, cerium oxide and silver; towards reliable hazard assessment. *Mutagenesis*, 2017, 32(1):117-126

[20] Gosens I, Cassee F R, Zanella M, et al. Organ burden and pulmonary toxicity of nano-sized copper (II) oxide particles after short-term inhalation exposure. *Nanotoxicology*, 2016, 10(8):1084-1095

[21] Ismail I H, Wadhra T I, Hammarsten O. An optimized method for detecting gamma-H2AX in blood cells reveals a significant interindividual variation in the gamma-H2AX response among humans. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(5):e36

[22] Kimoto T, Horibata K, Miura D, et al. The PIGRET assay, a method for measuring Pig-a gene mutation in reticulocytes, is reliable as a short-term in vivo genotoxicity test; Summary of the MMS/JEMS-collaborative study across 16 laboratories using 24 chemicals. *Mutat Res*, 2016, 811:3-15

[23] Krüger C T, Hofmann M, Hartwig A. The in vitro PIG-A gene mutation assay; mutagenicity testing via flow cytometry based on the glycosylphosphatidylinositol (GPI) status of TK6 cells. *Arch Toxicol*, 2015, 89(12):2429-2443

[24] Magdolenova Z, Collins A, Kumar A, et al. Mechanisms of genotoxicity. A review of in vitro and in vivo studies with engineered nanoparticles. *Nanotoxicology*, 2014, 8(3):233-278

[25] Manickam V, Velusamy R K, Lochana R, et al. Applications and genotoxicity of nanoma-

terials in the food industry. *Environ Chem Lett*, 2017, 15(3):1-14

[26] Møller P, Jensen DM, Wils RS, et al. Assessment of evidence for nanosized titanium dioxide-generated DNA strand breaks and oxidatively damaged DNA in cells and animal models. *Nanotoxicology*, 2017, 11(9-10):1237-1256

[27] Piberger AL, Krüger CT, Strauch BM, et al. BPDE-induced genotoxicity: relationship between DNA adducts, mutagenicity in the in vitro PIG-A assay, and the transcriptional response to DNA damage in TK6 cells. *Arch Toxicol*, 2018, 92(1):541-551

[28] Wang D, Dan M, Ji Y, et al. Single-dosed genotoxicity study of gold nanorod core/silver shell nanostructures by Pig-a, micronucleus, and comet assays. *J Biomed Nanotechnol*, 2018, 14(11):1953-1964

[29] Wang D, Dan M, Ji Y, et al. Roles of ROS and cell cycle arrest in the genotoxicity induced by gold nanorod core/silver shell nanostructure. *Nanoscale Res Lett*, 2020, 15(1):224

[30] Wen H, Dan M, Ji Y, et al. Acute toxicity and genotoxicity of silver nanoparticle in rats. *PloS ONE*, 2017, 12(9): e0185554.

[31] 郭雅娟, 文海若, 淡墨, 等. 纳米氧化铁颗粒对 A549 和 MRC-5 细胞的氧化损伤及 DNA 损伤毒性评价. *中国新药杂志*, 2018, 27(22):2673-2680

[32] 王亚楠, 郭雅娟, 宋捷, 等. 纳米氧化铁颗粒 *tk* 及 *hprt* 基因突变试验比较研究, 药物评价研究, 2019, 42(10):1975-1980

[33] 文海若, 郭雅娟, 黄芝瑛, 等. 不同表面修饰的氧化铁纳米颗粒对 A549 细胞的毒性及 DNA 损伤. *癌变·畸变·突变*, 2018, 30(6):413-421

