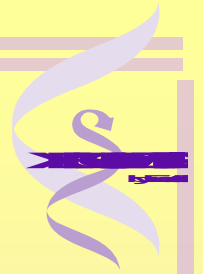




Сравнение продуктов линии Ames MPF™

Тестирование на генотоксичность и мутагенность



Тестирование на генотоксичность и мутагенность



Бактериальные системы:

Сдвиг рамки и замена нуклеотидов :

- Ames MPF™-линия, Ames II (от Xenometrix)
- традиционный Ames, мини Ames (by Moltox/Trinova/Cerep/BioReliance)

Общие механизмы репарации :

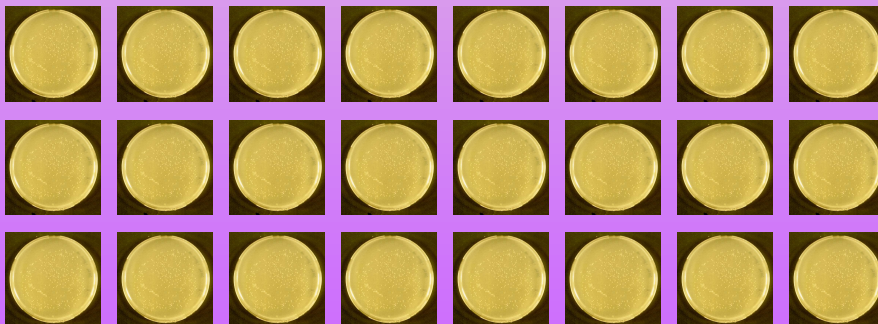
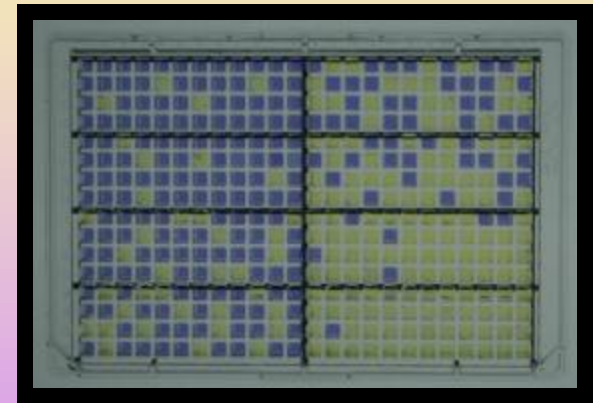
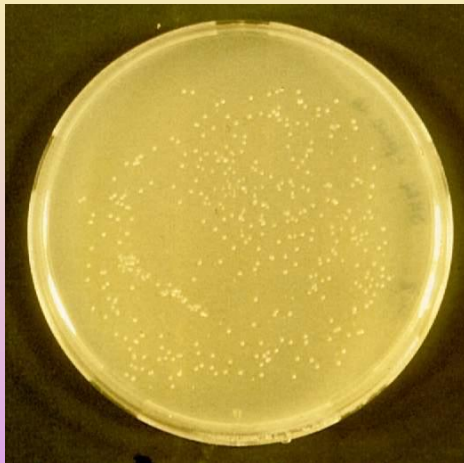
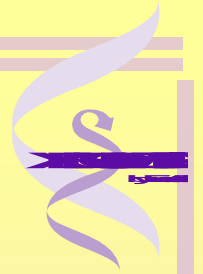
- SOS-Chromotest™ (by EBPI, Ontario)
- Mutatox™ (by EBPI)
- Vitotox™ by Gentaur)
- umuC Test (TA1535-lacZ-штамм)
- ToxAlert™ метод

Клеточные линии

млекопитающих /человеческие :

- GreenScreen™ тесты (BioReliance)
- Микроядерный тест
- тест на хромосомальную абберацию
- „Кометный“-тест -> DNA-strand нарушения
- Yeast-cell-test (RAD54-GFP тест)
- Fish larvae тест
- Hamster клетки
- Человеческие white blood cell тест:
- Человеческие kidney клетки

Традиционный тест Ames v Ames на микропланшете MPF™





Преимущества традиционного теста Ames

- Цена
- Меньше проблем с фоном
- Очень хорошо изучен
- Описан в директиве 471 OECD

Достоинства теста Ames II/Ames MPF™

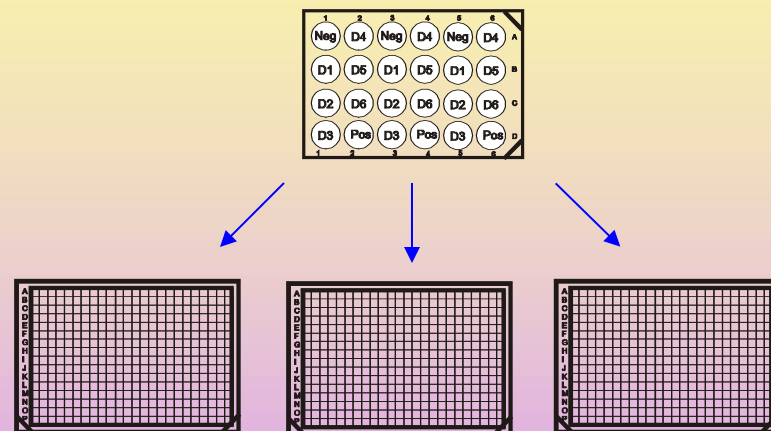
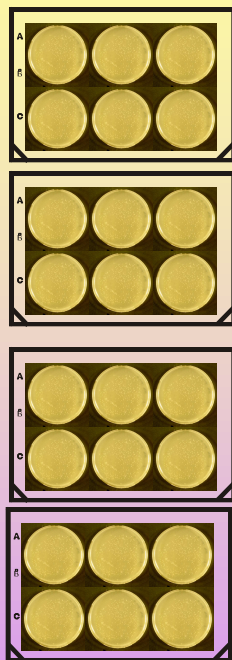
- Значительно низкие количества тестируемого соединения (20мг <-> 60мг на штамм, +/-S9)
- No diffusion of compound into agar
- Готовые к использованию реагенты
- Меньшее время ручного труда
- Хорошо интерпретируемые результаты <-> подсчет колоний на чашках
- Возможность автоматизации для проведения скрининговых программ
- Меньше пластиковой посуды, сниженные затраты на утилизацию отходов
- Штаммы *S.typhimurium* с проверенным контролем и качеством



Мини Ames

vs.

Ames MPF™

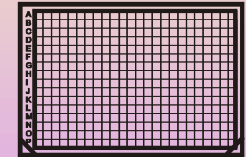
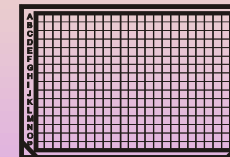
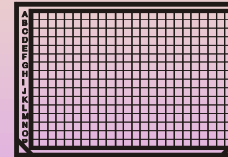
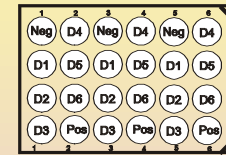
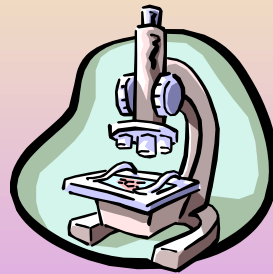
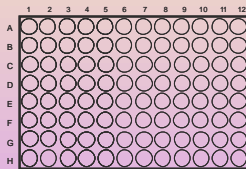
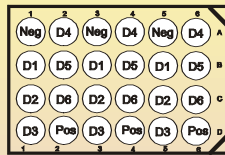


- Небольшого размера чашки (6-well, диаметр .Ø 2 см)
- > возможно использование уменьшенного количества тестируемого соединения
- > Не согласованы с директивами OECD!

Микро Ames

vs.

Ames MPF™

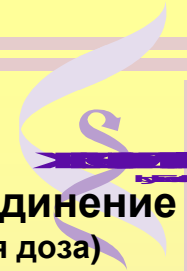


- > колонии считаются под микроскопом
- > уменьшенное количество соединения
- > очень неточный



Другие бактериальные тесты на генотоксичность

**Системы для детекции
повреждений/восстановлений в ДНК**



тест	штаммы	измерение	Detectable mutagens	тестовое соединение (5 мг/мл высокая доза)
SOS-хромотест	E.Coli PQ37	-жидкий формат -colorimetric -инкубирование: 2 – 24ч	только агенты включая SOS ответ на SOS регулирование	~10 мг
Vitotox	TA104recn2-4, TA104pr1	- жидкий формат - люминесценция - инкубирование : 3ч	только агенты включая SOS ответ на recN ген	~10 мг
UmuC-тест	TA1535-lacZ	- жидкий формат, - колориметрия - инкубирование : 4-5 ч -ISO13829	только агенты включая SOS ответ на umuDC гены	~10 мг
Mutatox	V. fisheri	- жидкий формат - приборное измерения люминисценции - инкубирование:17 – 25ч - ревертированные темные мутанты	только агенты включая неизвестные SOS-подобные механизмы в lux-гене регулирования	?
ToxAlert10	V.fischeri	-люминесценция подавляется мутагеном	подобно Mutatox	?



Бактериальные тесты на генотоксичность (тесты на повреждение ДНК):

Достоинства

- Быстро
- Приемлемые цены
- Удобно для прескрининга
- Возможность анализа большого количества образцов
- Возможна метаболическая активация S9 (как тест Ames) стандарте“ Ames

Недостатки

- нет OECD директив
- только DNA-нарушение/SOS ответ
- Небольшая база данных по тесту Ames
- нет прямой корреляцией с мутагенными свойствами , подобно Ames
- заниженное значение, чем в „золотом стандарте“ Ames
- небольшая техническая поддержка



Генотоксичность с использованием клеточных линий Mammalian/Human



Методы:

- Микроядерный тест
- Тест на хромосомальную aberrацию
- Human white blood клеточный тест
- „Comet“-тест -> DNA-двухцепочечные разрывы
- GreenScreen™ HC метод (коммерческий тест)
- Дрожжевой –клеточный тест (RAD54-GFP тест)
- Fish larvae тест
- Hamster клетки
- Human embryonic клетки печени
- ...



Микроядерный метод

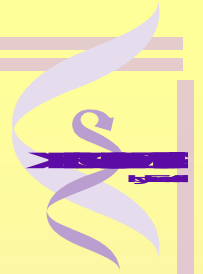
- Хромасомальные фрагменты включенные в микронуклеии -> флуоресцентный метод анализа
- ДНК нарушения в митозе
- Возможно только тестировать на клетках млекопитающих
- Хорошо известный тест
- Прескрининг вместо теста на хромосомную аберацию
- Возможна S9-активация
- Поставляется компанией CEREP (Франция)
- 10-50 мг тестируемого соединения необходимо
- Необходимость в использовании флуоресцентного микроскопа



GreenScreen™ HC метод

- Коммерческий набор BioReliance (продают Ames II и GreenScreen™ HC)
- Человеческий ген GADD45а связан с GFP (зеленый флуоресцентный белок).
- DNA повреждение ↑ -> флуоресценция ↑
- Микропланшетный анализ
- Необходимо 1мг или 1мг/мл тестируемого соединения
но: They also claim 1-10mg for their Ames II
- Два результата:
слабый рост-> токсичный
флуоресцентная-> генотоксическая

GreenScreen™ HC метод



Достоинства

- Простота использования набора
- Небольшое количество ложно положительных сигналов
- Человеческие клетки

Недостатки

- Животные клетки более сложны в работе, чем бактериальные штаммы
- Необходимо использовать флуоресцентный ридер
- Необходимость нормализации клеток по OD
- Является только дополнительным тестом по отношению к тесту Ames
- Невозможно отличить мутацию в последовательности от сдвига рамки
- Менее известный, чем тест Ames



Тесты на Mammalian/human клеточных линиях

Общие факторы:

Достоинства

- ДНК репарация в клетках млекопитающих
- азид натрия не перерабатывается в o-acetylserine(thio)lase, как в бактериях
- азот-содержащие соединения не показывают ложно-положительных сигналов

Недостатки

- Нет необходимости в тестировании S9 (с большинством тестов)
- Не так много доступно данных, как для тестов Ames
- OECD директивы

