

Test di Ames miniaturizzato. MicroAmes24 98/100 - Ames Test in piastre agar a 24 pozzetti.

PRINCIPIO DEL TEST

Il principio del saggio di Ames miniaturizzato è identico all'Ames Test agar based OECD 471. Vengono apportate mutazioni puntiformi nell'operone istidina (*Salmonella typhimurium*) o triptofano (*Escherichia coli*), rendendo i batteri incapaci di produrre l'amminoacido corrispondente e incapaci di crescere senza His o Trp.

Il potenziale mutageno di un campione di prova viene valutato esponendo questi organismi, che richiedono amminoacidi, a concentrazioni variabili di campione e viene selezionato l'evento di reversione. Per questa selezione vengono utilizzati terreni privi di istidina o triptofano che consentono solo a quelle cellule che hanno subito la reversione alla prototrofia di istidina / triptofano di sopravvivere e crescere. Un evento mutageno (che causa sostituzioni di basi o mutazioni frameshift) all'interno del gene può causare un ritorno alla prototrofia degli aminoacidi. Questi batteri regrediti cresceranno quindi in terreni carenti di istidina o triptofano, rispettivamente, mentre i batteri non regrediti non saranno in grado di crescere. I terreni durante la fase di crescita possono essere liquidi o a base di agar.

LE DIVERSE FORME DI AMES TEST MINIATURIZZATI

1. Ames Test miniaturizzato "Ames MPF™" basato sulla tecnologia della micropiastra liquida – 55 mg di campione per 5 ceppi, +/- S9. Newsletter A1 – Primi passi.
2. Ames Test miniaturizzato "MicroAmes24" sulla base di una piastra di agar da 24 pozzetti – 30 mg di campione per 5 ceppi, +/- S9
3. Ames Test Ultra-miniaturizzato "NanoAmes™" basato su piastre di agar da 25 pozzetti quadrati – 35 ug di campione per 5 ceppi, +/- S9
4. Ames Test Ultra-miniaturizzato "NanoAmes™ MPF" basato sulla tecnologia della micropiastra liquida *in produzione*.

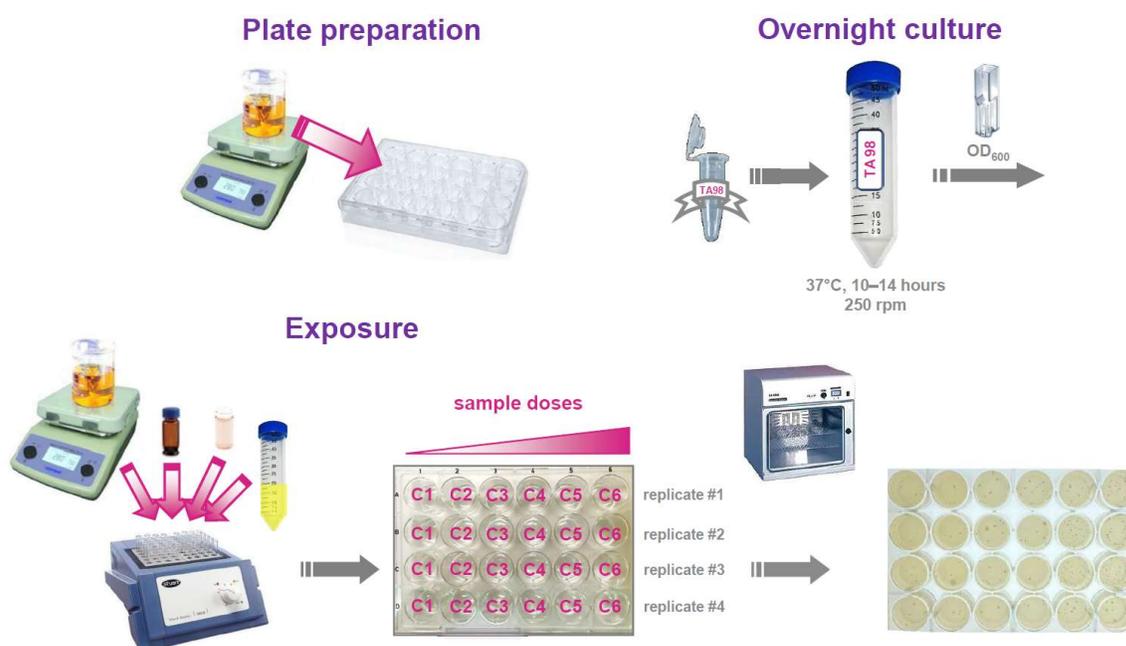
I TEST DI AMES MINIATURIZZATI IN PIASTRE AGAR – DESCRIZIONE DEI KIT

Nella Newsletter A1 – Primi passi - abbiamo descritto il Kit miniaturizzato di Ames MPF basato sulla tecnologia della micropiastra liquida.

In questo numero, descriveremo gli altri due kit miniaturizzati basati sulla tecnologia delle piastre agar.

2. MicroAmes24

MicroAmes24 è un kit pronto all'uso che include ceppi, terreni, ampicillina e soluzione booster per eseguire il test di Ames in un formato miniaturizzato. I controlli positivi e le preparazioni di fegato di ratto S9 possono essere scelti separatamente.



I batteri sono esposti a diverse e basse concentrazioni di un campione di prova, 6 mg/ceppo, nonché un controllo positivo e negativo in un terreno contenente quantità limitate di istidina (*S. typhimurium*) per supportare circa due divisioni cellulari.

Dopo l'esposizione, le colture in ciascuna condizione (controllo negativo, campioni di test e controlli positivi) vengono versate in piastre da 24 pozzetti.

L'esposizione viene eseguita in assenza e in presenza di S9 che imita l'effetto della sostanza chimica dopo la metabolizzazione con la frazione S9 post mitocondriale di fegato di ratto.

Entro tre giorni, le cellule che hanno subito la reversione alla prototrofia degli aminoacidi cresceranno e formeranno colonie il cui conteggio sarà confrontato con quelli cresciuti nei pozzetti di controllo del solvente (negativo).

Un aumento significativo e dose-dipendente del numero di colonie revertanti dopo l'esposizione al campione in esame rispetto ai controlli del solvente indicherà che il campione è mutageno.

CARATTERISTICHE

- Prodotti di qualità controllata: tutti i prodotti del kit e in aggiunta al kit
- Certificato di analisi: fornito Materiale sufficiente per elaborare i ceppi singolarmente, +/- S9
- Spedito a temperatura ambiente da stoccaggio esterno in Germania
- 4 volte meno composto di prova rispetto al test di Ames su piastra di agar da 10 cm
- Meno interventi pratici ed elaborazione simultanea di più repliche
- 3Rs - 12 volte meno consumo di fegato di ratto S9, meno test sugli animali
- Rifiuti - Significativamente meno rifiuti di plastica e quindi ridotti rifiuti contaminati nell'ambiente



GLP Ames Agar Plate Test
according to OECD 471



Miniaturized Agar Plate Test
6 Well
24 Well
25 Square Well
according to ICH M7

MicroAmes24 - Ames Test in 24 Well Agar Plate - TA98, TA100

Cod. Art. D05-210 – Kit per 5 campioni, se testato in 2 ceppi (TA98, TA100), 4 replicati, 6 dosi, +/- S9, controlli negativi, positivi, controllo di sterilità.

Non inclusi nel kit: fegato di ratto S9 (5 x 1 ml), controlli (4-NQO, 2-NF, 2-AA), micropiastre.

Storage	Product	Article No.	Quantity	Note
≤-70°C	<i>S. typhimurium</i> TA98	PSS-0110	0.05 mL	^{a,b}
	<i>S. typhimurium</i> TA100	PSS-0111	0.05 mL	^{a,b}
-20°C	Ampicillin	PAM-0002	0.12 mL	^c
2 – 8°C	Exposure Medium	PMN-EXM10	10 mL	–
	Buffer A	PMN-BUA45	45 mL	–
18 – 24°C	Growth Medium	PMM-GM00	50 mL	^c
	Mix A	PMM-MGA54	5.4 g	^c
	Mix B	PMM-HGA25	25.2 mL	^c
	Mix C	PMM-MSA11	1.1 g	^c

^a: semi-solid format; ^b: upon reconstitution, volume is 0.25 mL; ^c: protect from light

Kit is configured for tests with both strains (+/-S9) to be run simultaneously for one test item.

Per completare il kit, aggiungere:

Fegato di ratto liofilizzato S9 Fenobarbital/ β -naphthoflavone indotto, 1 ml (Art.No PRS-PB01)

2-Nitrofluorene (2-NF), 20 μ g, (Art.No PPC-NF00)

Aminoantracene (2-AA), 100 μ g, (Art.No PPC-AA01)

4-Nitrochinolina-N-ossido (4-NQO), 50 μ g, (Art.No PPC-NQ02)

S9 Kit cofattore per la preparazione di S9 Mix (Art.No. PCO-0800)

$\leq -70^{\circ}\text{C}$	PB/N-induced lyophilized rat liver S9	PRS-PB01	1 mL	–
2 – 8 $^{\circ}$ C	2-Nitrofluorene	PPC-NF00	20 μ g	^d
	4-Nitroquinoline N-oxide	PPC-NQ02	50 μ g	^d
	2-Aminoanthracene	PPC-AA01	100 μ g	^d
<i>various</i>	S9 Cofactor kit	PCO-0800	–	^e

^d: once dissolved, store at -20°C ; ^e: store Buffer Salts at $2-8^{\circ}\text{C}$, store G-6-P and NADP at -20°C .