

Amesův test

Bakteriální test genotoxicity

Amesův test

- Základní screeningový test ke sledování genotoxické aktivity testovaných látek
- Detekce bodových mutací zodpovědných za rakovinotvorné bujení
- Test všeobecně uznávaný národními normami

Princip testu

- Test je založen na detekci bodové reverzní mutace geneticky modifikované bakterie (*Salmonella typhimurium* a *Escherichia coli*) neschopné syntézy esenciálních aminokyselin (His a Try)
- Reverzní mutaci způsobenou testovanou látkou v pozitivním případě detekujeme podle schopnosti růstu bakterie na médiu bez esenciálních aminokyselin

Provedení testu

- příprava inokula s mutovanými, His⁻ bakteriemi na médium bez esenciálních AMK
- příprava testované látky ve více koncentracích
- metabolická aktivace, přidání mitochondriální S9 frakce z jater hlodavců pro aktivaci promutagenů
- příprava blanku bez inokula, negativní kontroly pro odhalení spontánních revertních kolonií a kontroly pozitivní s AMK
- inkubace plotny 48-72 hodin při teplotě 37°C

Hodnocení výsledků testu

- Po inkubaci odečteme počet kolonií na jednotlivých plotnách (počet kolonií revertantů je v přímém vztahu k mutagení aktivitě látky)
- Porovnáme počet kolonií s negativní kontrolou
- Významnost odpovědi ve variantě se vzorkem zjistíme statistickým hodnocením pomocí t-testu

Výhody Amesova testu

- Rychlost testu, jednoduchost a finanční nenáročnost
- Použití prokaryota – dobrá průchodnost mutagenu k cílové molekule
- Rozšířenost testu, široká databáze výsledků, srovnání výsledků jiných testů

Nevýhody Amesova testu

- Problém s extrapolací výsledků z prokaryotické buňky na buňku eukaryotickou (odlišná absorpce, metabolismus, chromosomová struktura a reparační mechanismy DNA)

Děkuji za pozornost

<http://www.oecd.org/dataoecd/18/31/1948418.pdf>