

苏州药明康德新药开发有限公司



检测报告

样品名称: 核酸凝胶电泳试剂（蓝光）

生产单位: 苏州优逸兰迪生物科技有限公司

检验项目: Mini-Ames 试验

发出日期: 2021-09-15



样品名称: 核酸凝胶电泳试剂 (蓝光)
批号: HS1009 样品数量: 2.0 mL
检验项目: Mini-Ames 试验 收样时间: 2021-02-24
生产单位: 苏州优逸兰迪生物科技有限公司
联系电话: 18013768787
检验时间: 2021-03-05 完成报告时间: 2021-08-11

核酸凝胶电泳试剂 (蓝光): Mini-Ames 试验

小结

在加和不加外源性代谢活化系统 (Aroclor 1254 诱导的大鼠肝脏 S9) 的条件下, 受测样品核酸凝胶电泳试剂 (蓝光) 在溶媒为二甲基亚砜 (DMSO) 时, 各测试菌株在核酸凝胶电泳试剂 (蓝光) 各剂量下均未见平均回复突变菌落数显著增加 (与阴性/溶媒对照组相比, TA98、TA100 和 WP2 *uvrA* (pKM101) 未超过 2 倍, TA1535 和 TA1537 未超过 3 倍), 也未见剂量依赖性增加。本次试验结果表明, 受检样品核酸凝胶电泳试剂 (蓝光) 的细菌回复突变试验结果为阴性, 即在本试验条件下, 样品核酸凝胶电泳试剂 (蓝光) 在各剂量下均不具有致突变能力。

一、 检验目的

检测供试品核酸凝胶电泳试剂 (蓝光) 在加和不加外源性代谢活化系统 (Aroclor 1254 诱导的大鼠肝脏 S9) 的条件下, 诱导组氨酸缺陷型的鼠伤寒沙门氏菌 (TA98、TA100、TA1535 和 TA1537) 和色氨酸缺陷型的大肠杆菌 WP2 *uvrA* (pKM101) 产生回复突变的能力, 以评价其潜在的致突变能力。

二、 受检样品性质和配制

受检样品核酸凝胶电泳试剂 (蓝光) 为液体, 室温避光保存。试验时, 核酸凝胶电泳试剂 (蓝光) 用二甲基亚砜 (DMSO) 配制成不同浓度的溶液。

三、 测试菌株

组氨酸营养缺陷型的鼠伤寒沙门氏菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537 和色氨酸营养缺陷型的大肠杆菌 WP2 *uvrA* (pKM101) 的菌种购于美国 Molecular Toxicology (Boone, NC) 公司。本试验中, 对所有测试菌株特性进行了鉴定, 符合试验标准。

四、 主要试验试剂

阳性对照: 2-氨基蒽 (2-AA) [CAS: 613-13-8], 2-硝基蒽 (2-NF) [CAS: 607-57-8], 叠氮钠 (SA) [CAS: 26628-22-8], 吡啶突变剂 (ICR-191) [CAS: 17070-45-0], N-甲基-N-硝基-N-亚硝基胍 (MNNG) [CAS: 70-25-7]。

S9 匀浆: 购自美国 Molecular Toxicology (Boone, NC) 公司, 使用前储存在 -80°C 冰箱。

五、 剂量设计

机密

表 I 阴性/溶媒对照组

处理	S9 活化系统	菌株	给药体积
二甲基亚砜 (DMSO)	±	TA98、TA100、TA1535、TA1537 和 WP2 <i>uvrA</i> (pKM101)	20 µL/孔

表 II 阳性对照组

处理	S9 活化系统	菌株	制剂浓度	给药剂量
2-氨基蒽	+	TA98、TA100、 TA1535 和 TA1537	20 µg/mL	0.4 µg/孔
2-氨基蒽	+	WP2 <i>uvrA</i> (pKM101)	100 µg/mL	2.0 µg/孔
2-硝基苄	-	TA98	100 µg/mL	2.0 µg/孔
叠氮钠	-	TA100 和 TA1535	10 µg/mL	0.2 µg/孔
吖啶突变剂 ICR-191	-	TA1537	10 µg/mL	0.2 µg/孔
N-甲基-N-硝基- N-亚硝基胍	-	WP2 <i>uvrA</i> (pKM101)	10 µg/mL	0.2 µg/孔

表 III 供试品剂量组

处理	S9 活化系统	菌株	制剂浓度	给药剂量
核酸凝胶电泳 试剂（蓝光）	±	TA98、TA100、 TA1535、TA1537 和 WP2 <i>uvrA</i> (pKM101)	50、20、8、3.2、 1.25、0.5、0.2 和 0.075 mg/mL	1000、400、160、 64、25、10、4 和 1.5 µg/孔

六、 实验系统处理

按每100 mL添加10 mL的比例，将0.5 mM L-组氨酸/生物素溶液或0.5 mM L-色氨酸溶液加入到事先融化的含有0.6%琼脂和0.5% NaCl的顶层琼脂中，然后按照每管1.6 mL的量进行分装并保温在45° C±2° C干浴器中。将80 µL阴性/溶媒对照物或供试品制剂或阳性对照物、400 µL S9混合物或PBS缓冲液以及80 µL测试菌株隔夜培养液分别加入到1.6 mL融化的顶层琼脂中，迅速在震荡器上混匀，按照每孔540 µL的量铺入到事先浇注好的六孔板底层培养基上（5 mL/孔），底层培养基除了含有V-B液外，还含有1.5%的琼脂、2%的葡萄糖。

除了阴性/溶媒对照组平行处理六孔，其他处理组均平行处理三孔。

待琼脂凝固后，将六孔板转移至细菌培养箱（37° C±2° C）孵育了约68小时。

七、 试验结果的判定标准

在确保Mini-Ames试验的有效性的前提下，根据以下标准评估试验结果。除下面的标准外，应考虑试验结果的生物学意义，例如与阴性对照的历史值范围进行比较，以及不同试验（如适用）和不同浓度的响应的一致性，最终对试验结果作出科学的评判。



阳性

供试品至少在一个菌株中的至少 2 个递增剂量诱导出回复突变菌落均数剂量依赖性增加，且符合以下标准：

- ◆ 菌株 TA98、TA100 和 WP2 *uvrA* (pKM101)

给药组的回复突变菌落平均数峰值大于等于阴性/溶媒对照组的 2 倍，则判为阳性。

- ◆ 菌株 TA1535 和 TA1537

给药组回复突变菌落均数峰值大于等于阴性/溶媒对照组的3倍，则判为阳性。

可疑

回复突变菌落具有生物学意义上的增加，只部分满足阳性判断标准时可判断时为可疑结果。即结果呈现出剂量效应关系，但是平均回复突变菌落数达不到相应的阈值，或者平均回复突变菌落数等于或高于相应的阈值，但是没有呈现出相应的剂量效应关系。

阴性

若以上两个判断标准都不符合，则判定结果为阴性。

八、 试验结果

受测样品核酸凝胶电泳试剂（蓝光）在溶媒为二甲基亚砜（DMSO）时，各测试菌株在核酸凝胶电泳试剂（蓝光）各剂量下均未见平均回复突变菌落数显著增加（与阴性/溶媒对照组相比，TA98、TA100和WP2 *uvrA* (pKM101)未超过2倍，TA1535和TA1537未超过3倍），也未见剂量依赖性增加。

九、 结论

本次试验结果表明，受检样品核酸凝胶电泳试剂（蓝光）的细菌回复突变试验结果为阴性，即在本试验条件下，样品核酸凝胶电泳试剂（蓝光）在各剂量下均不具有致突变能力。