体外哺乳动物细胞染色体畸变试验

产品名称	体外哺乳动物细胞染色体畸变试验
公司名称	苏州瑞琪尔技术服务有限公司
价格	.00/个
规格参数	
公司地址	苏州市工业园区旺墩路135号
联系电话	19941877686

产品详情

一、材料

1.受试样品固体受试样品应溶解或悬浮于适合的溶剂中，并稀释至一定浓度。液体受试样品可直接使用或予以稀释。受试样品应在使用前新鲜配制，否则必须证实储存不影响其稳定性。

2.阳性对照可根据受试样品的性质和结构选择适宜的阳性对照物，应是已知的断裂剂，能引起可检出的、并可重复的阳性结果。当不存在外源性代谢活化系统时，可使用的阳性对照物有甲磺酸甲酯(methyl methanesulphonate, MMS)、甲磺酸乙脂（ethyl methanesulphonate, EMS)、(mytomycin C)、乙基亚(ethyl nitrosourea, ENU)、硝基喹啉-N-氧化物（4-nitro quinoline-N-
oxide）等。当存在外源性活化系统时，可使的阳性对照物有苯并（a)芘（benzo (a) pyrene，BaP)、环磷酰胺（cyclophosphamide）等。

3.阴性对照水或水溶性溶剂，亦可使用二甲基亚砜(DMSO)，但浓度不应大于0.5%。

4.细胞株可选用中国地鼠肺（CHL)细胞株或卵巢（CHO）细胞株、人或其他哺乳动物外周血淋巴细胞。

5.肝混合功能氧化酶混合液（S9混合液）。

6.0.04%秋水仙素溶液。取40mg秋水仙素溶解于100m1无菌0.85%氯化钠溶液中，过滤除菌。

7.0.075mol/L溶液

8.固定液甲醇：冰醋酸=3:1，临用前配制。

9.吉姆萨染液取吉姆萨染料3.8g，置玛瑙乳钵中，加少量甲醇研磨。逐渐加甲醇至375 ml，待完全溶解后，再加125 ml甘油，放入37°C温箱中保温48小时。保温期间振摇数次，使充分溶解。取出过滤,2周后使用，作为吉姆萨染液原液。使用时，取1份吉姆萨染液原液，与9份1/15mol/L磷酸盐缓冲液（pH 6.8)混合。

10.磷酸盐缓冲液（1/15mol/L, pH 6.8)。使用时，取1份吉姆萨染液原液，与9份1/15mo1/L磷酸盐缓冲液（pH 6.8)混合，配成其应用液。

二、方法

1.细胞培养与染毒。试验需在加入和不加入S9的条件下进行。将一定数量的细胞接种于培养皿（瓶）中，放C02培养箱内培养。试验时吸去培养皿（瓶）中的培养液，加入一定浓度的受试样品、S9混合液（不加s9混合液时，需用培养液补足）以及一定量不含血清的培养液，放培养箱中，根据细胞周期决定处理2～6小时。结束后，吸去含受试样品的培养液，用Hanks液洗细胞3次，加入含10%胎牛血清的培养液，放回培养箱，于24小时内收获细胞。于收获前2～4小时，加入细胞分裂中期阻断剂（如用秋水仙素，作用时间为4小时，终浓度为1ug/ml)。

2.用0.25%胰蛋白酶溶液消化细胞，待细胞脱落后，加入含10%胎牛或小牛血清的培养液终止胰蛋白酶的作用，混匀，放入离心管以1000～1200r/min的速度离心5～7分钟，弃去上清液。

3.加入0.075mol/L KCl溶液7ml，用滴管将细胞轻轻地混匀，放入37°C水浴中低渗处理7分钟，加入2ml固定液（甲醇：冰醋酸3：1)混匀，以1500r/min速度离心5～7分钟，弃去上清液。

4.加入7 ml固定液，混匀后固定7分钟，以1500r/min速度离心7分钟，弃去上清液。用同法再固定1～2次，弃去上清液。

5.加入数滴新鲜固定液，混匀。用混悬液滴片，自然干燥。用吉姆萨染液染色。

6.选择 100个分散良好的中期分裂象，在显微镜油镜下进行读片。在读片时应记录每一观察细胞的染色体数目，对于畸变细胞还应记录显微镜视标位置及畸变类型。所有处理组、阳性和阴性对照组均需测定有丝分裂指数。每一剂量组应分析不少于500个分散良好的中期分裂象。