

ITEST DI MUTAGENESI

RISULTATI E COMMENTI

Dr. Gaia CV Viola
Dr.ssa Elisabetta Ceretti

Parma, 27 aprile 2018



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI BRESCIA



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PARMA

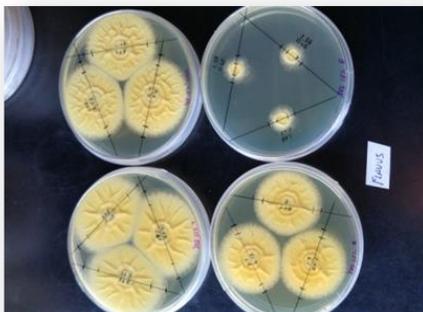
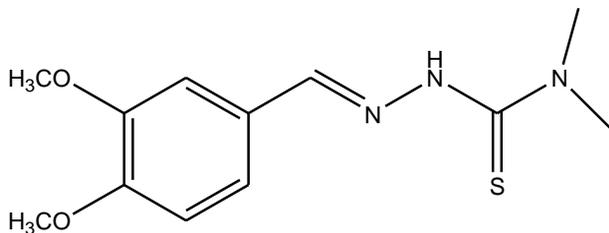


fondazione
cariplo

I



ATTIVITÀ
ANTIFUNGINA



II

VALUTAZIONE
ATTIVITÀ MUTAGENO-GENOTOSSICA
SU

BATTERI → TEST DI AMES = MUTAZIONI
GENICHE

VEGETALI → TEST DELL'
ALLIUM CEPA = MUTAZIONI
CROMOSOMICHE

CELLULE UMANE

TEST DI AMES

- Rileva **mutazioni puntiformi** in batteri
- ceppi mutati di *Salmonella typhimurium* auxotrofi per l'istidina (crescita solo in presenza di istidina)

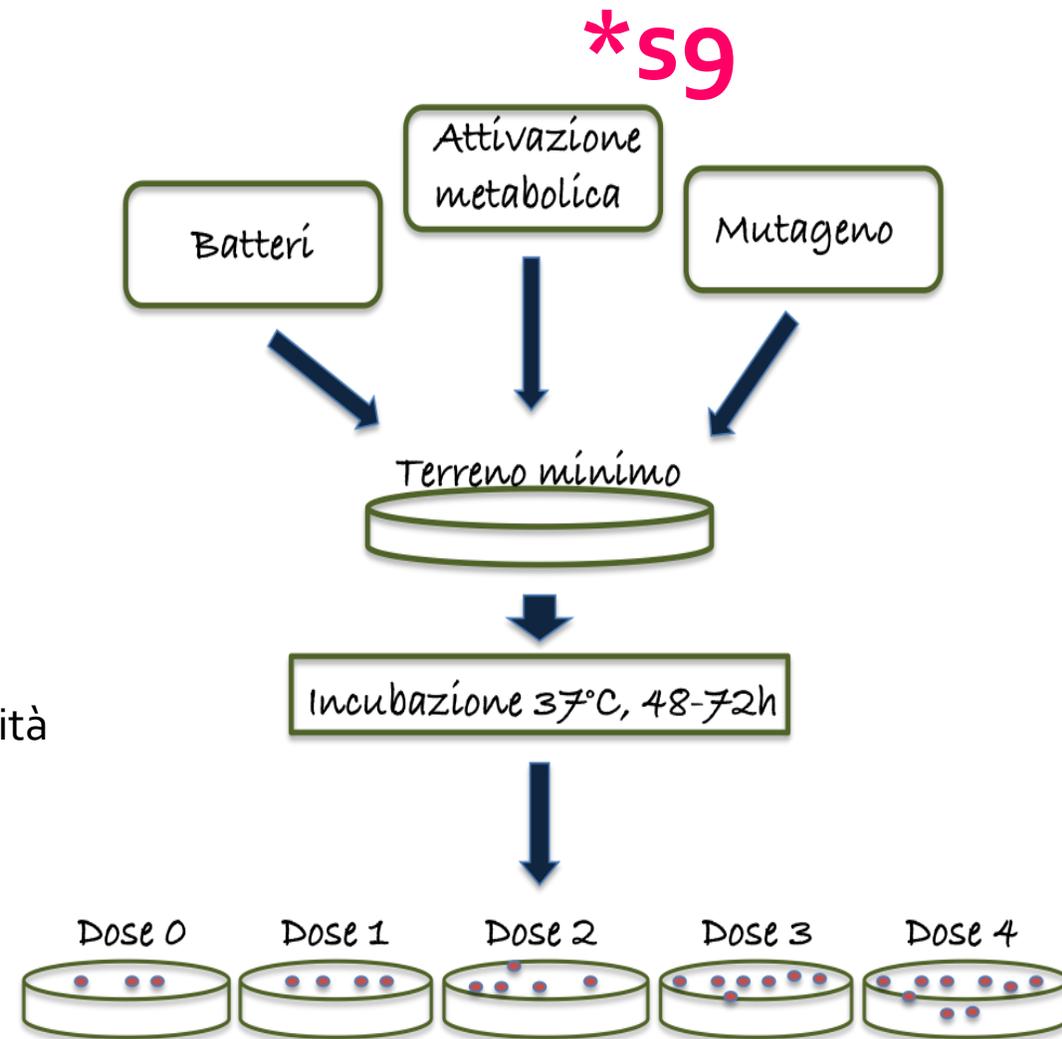
Ceppo **TA98** ⇒ mutazioni frameshift

Ceppo **TA100** ⇒ mutazioni per sostituzione di basi

- L'attività mutagena viene misurata saggiando la capacità del composto di indurre **MUTAZIONI DI RITORNO (retromutazioni)** nei geni dell'istidina

↳ Crescita in assenza di istidina (terreno minimo)

* miscela enzimi epatici ⇒ pro-mutageni



POSITIVITÀ

Linee Guida pubblicate sugli **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater** (1998)

- ✓ almeno due dosi consecutive mostrano una *evidente relazione dose-risposta*
- ✓ con un numero di **colonie revertenti almeno doppio** rispetto al controllo negativo del solvente e
- ✓ la più alta dose non tossica evidenzia una risposta almeno *due volte superiore* a quella del controllo negativo del solvente.

Sinteticamente si usa
il **RAPPORTO DI
MUTAGENICITÀ
(RM)**

$$\frac{\text{n° di revertenti/piastra campione}}{\text{n° di revertenti/piastra controllo}}$$

→ 0 = tox

≥ 2 = effetto
mutageno

MOLECOLE TESTATE

NESSUN
EFFETTO
MUTAGENO

JB20

JB24

F20

F31

F36

F57

F61

F62

F66

DEBOLE ATTIVITÀ
MUTAGENA

F37

F46

F51

TEST DELL'*Allium cepa*

Fase 1: TOSSICITÀ

- ✓ I BULBI SONO MESSI A CONTATTO CON **SOLUZIONI A CONCENTRAZIONE CRESCENTE DELLA SOSTANZA DA TESTARE**; un gruppo di bulbi (C-) viene fatto crescere solo in presenza del solvente*
- ✓ VALUTAZIONE DELL'**ALLUNGAMENTO RADICALE DOPO 72/96h** ED ESAME DI CARATTERISTICHE MACROSCOPICHE QUALI: colore, consistenza delle radici, presenza di tumori apicali, uncini)
- ✓ CALCOLO DELLA **EC₅₀** per conduzione del test di Genotossicità (**dose massima**)



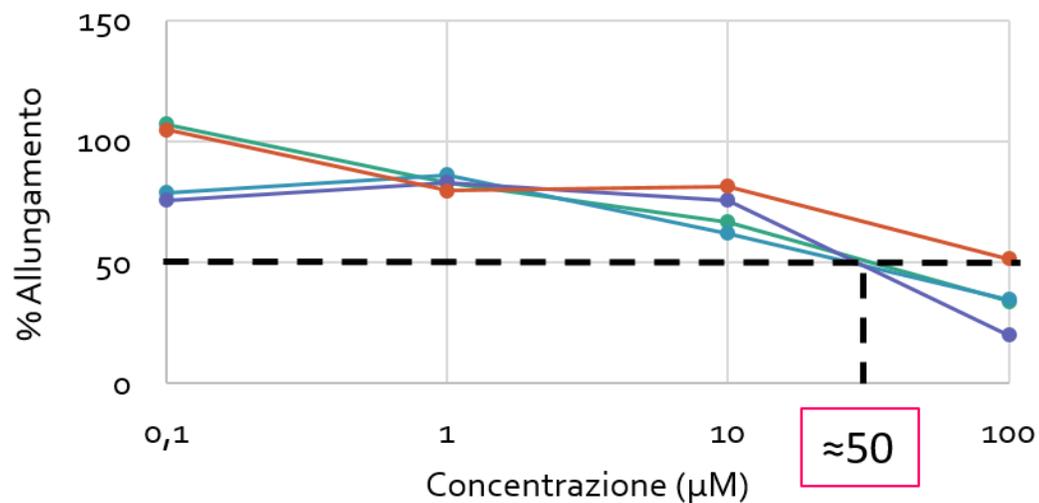
72/96h
di esposizione

* DMSO 100μM RANK SOL

media radici (cm)									
Dose μM	F66	F61	F57	F51	F46	F37	F36	F31	F20
0,1	2,22	2,07	1,92	1,63	2,13	1,57	1,84	1,90	2,17
1	1,72	1,98	1,75	1,78	1,90	1,72	2,07	2,03	1,65
10	1,38	1,80	1,50	1,28	1,62	1,57	1,63	1,78	1,68
100	0,70	1,25	1,22	0,72	1,57	0,42	1,87	1,78	1,07
C- (DMSO)	2,07	2,07	2,07	2,07	2,07	2,07	2,07	2,07	2,07



50% allungamento = 1,04 cm



Esposizione	72h
Bulbi/campione	6
Dosi (μM)	0,1; 1; 10; 100

CAMPIONE	DOSE EC ₅₀
F66, F51, F37	50 μM
F20	100 μM
F61, F57, F46, F36, F31	>100 μM
JB20, JB24	100 μM

Sulla base del test di tossicità e delle precedenti esposizioni



F66- F51-F37 50 μM = dose max sia per AC che per MN

F20 e restanti 50 μM = dose max per MN
100 μM = dose max per AC

TEST DELL'*Allium cepa*

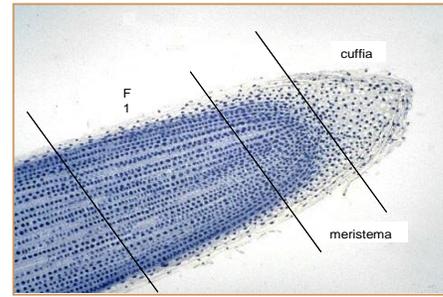
Fase 2: GENOTOSSICITÀ

ABERRAZIONI CROMOSOMICHE

✓ Esposizione **24h**

dosi (μM): 10, 25, 50, 100
C- (DMSO): 100

- ✓ Taglio radici e fissazione in Carnoy
- ✓ Trasferimento in alcol 70%
- ✓ Colorazione apici con Carminio acetico
- ✓ Microscopio ottico (1000X)

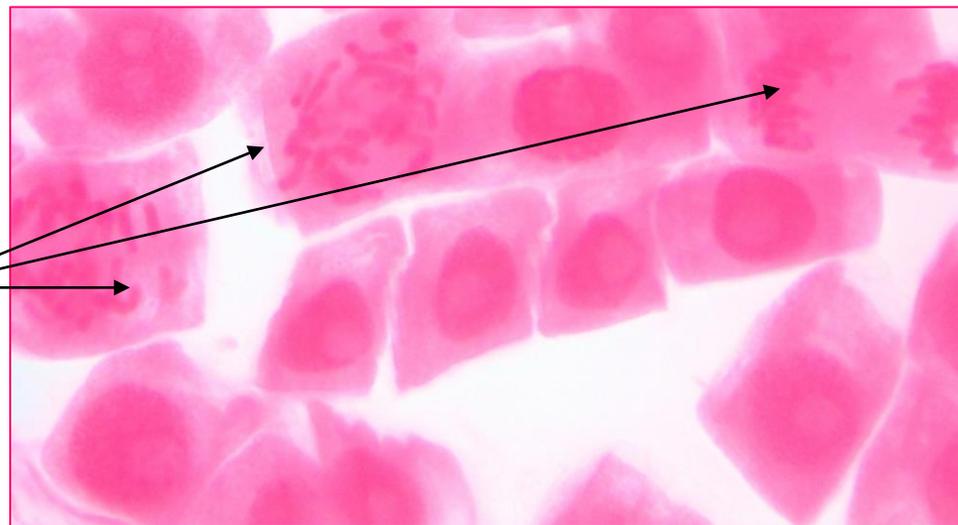


MICRONUCLEI

✓ Esposizione **24h** + recovery time **44h**

dosi (μM): 10, 25, 50
C- (DMSO): 10, 25, 50

1000 cellule/campione
in fase **MITOTICA**



5000 cellule/campione
in **INTERFASE**



I RISULTATI SONO STATI
VOLUTAMENTE OMESSI POICHE'
SARANNO OGGETTO DI
PUBBLICAZIONE