

眼刺激性测试的标准操作规范

固体原料

模型：SkinEthic™ HCE人类角膜模型

描述

接收角膜模型：将组织从凝胶固体培养基中转移至维持培养基中孵育过夜(37°C)



处理：每个条件需2个复孔

阴性对照：30±2微升不含钙镁离子的PBS

阳性对照：30±2微升乙酸甲酯

待测化学物：30±1微升PBS- 和 30±2毫克待测物



转移组织至含有新鲜培养基的6孔板中



处理期：孵育4小时±5分钟(37°C)



用PBS-冲洗 (25毫升：2毫升/次)



后浸没培养：将组织浸没在含4毫升新鲜维持培养基的12孔板中

后浸没培养期：室温孵育30±2分钟



转移组织至含有新鲜培养基的6孔板中



后孵育阶段：孵育18小时 (37°C)



细胞活性：将组织移入MTT溶液 (1毫克/毫升)



孵育组织3小时 (37°C)



萃取：用1.5毫升异丙醇浸没组织



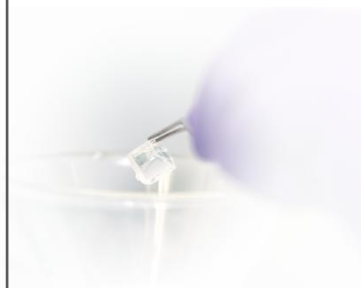
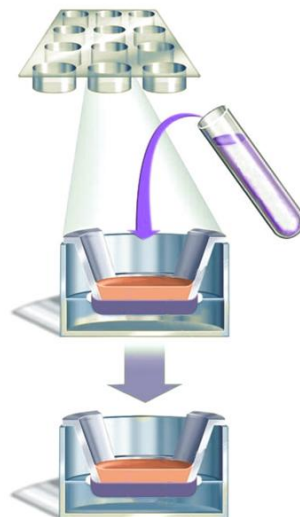
室温下震荡至少2小时



打穿模型，混匀提取物



用酶标仪在570 纳米波长处读取光密度值



预测指标

体外测试结果	分类 (体内测试)
平均组织活性 >50%	无分类, 非刺激
平均组织活性 ≤50%	具有潜在风险, 类别1/2, 刺激性