

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

ชื่อตัวอย่าง : Plumax
รูปแบบผลิตภัณฑ์ : ขวดสีชา
ลักษณะทางกายภาพ : น้ำหมัก
วันที่รับตัวอย่าง : -
วันที่ทดสอบ : 15 พฤศจิกายน 2567
ผู้ทำการทดลอง : วิชชุดา ทองเผือก



รูปตัวอย่างผลิตภัณฑ์

ขั้นตอนการทดสอบ

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 เตรียมตัวอย่างสาร Plumax ที่มี Solid content อยู่ 3% ที่ปรับค่า pH เป็นกลาง (6.0-7.0) แล้ว เจือจางในอาหารเลี้ยงเซลล์และกรองตัวอย่างด้วย 0.22 μ m syringe filter

2. การทดสอบความเป็นพิษของสารทดสอบด้วยวิธี MTT assay

2.1 ทำการเลี้ยงเซลล์มะเร็ง ลงใน 96 well plate หลังจากนั้นทำการบ่มในตู้ที่อุณหภูมิ 37°C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.2 เปลี่ยนอาหาร โดยเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารทดสอบที่อัตราส่วน 1:1 (15 mg/mL) และทำการเจือจาง 2 เท่า ทั้งหมด 7 ความเข้มข้น และทำการบ่มในตู้ที่อุณหภูมิ 37°C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

2.3 เติมสารละลาย MTT แล้วบ่มในตู้ที่อุณหภูมิ 37°C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อให้เอนไซม์ succinate dehydrogenase ของเซลล์ที่มีชีวิตอยู่เปลี่ยน MTT ไปเป็นผลึกฟอร์มาซาน (Formazan)

2.4 เมื่อครบกำหนดเวลาทำการละลายผลึกฟอร์มาซานด้วย DMSO และวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 570 และ 630 nm โดยค่าการดูดกลืนแสงจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของผลึกฟอร์มาซานซึ่งจะแปรผันโดยตรงกับจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิต

ผลการทดลอง

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสาร Plumax ด้วยเทคนิค MTT assay โดยความเข้มข้นของสารตั้งต้นในอัตราส่วน 1:1 (15 mg/mL) โดยดูดสาร Plumax 50 μ l ลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ 50 μ l/mL ต่อหลุม (ปริมาตรต่อหลุม 100 μ l) ทั้งหมด 3 ซ้ำ และทำการเจือจาง 2 เท่า ทั้งหมด 7 ความเข้มข้น พบว่าสาร Plumax มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7), เซลล์มะเร็งปอด (A549), เซลล์มะเร็งลำไส้ (HCT-116) และเซลล์มะเร็งผิวหนัง (A431) โดยมีค่า IC₅₀ ดังแสดงในรูปที่ 1 และตารางที่ 1 นำมาคำนวณ จากสูตร

$$C1V1 = C2V2$$

C1= ความเข้มข้นเริ่มต้น

C2=ความเข้มข้นที่ต้องการ

V1=ปริมาตรเริ่มต้น

V2=ปริมาตรที่ต้องการ

ฉะนั้น ในสาร Plumax ที่มี Solid content อยู่ 3% = 3 g ใน 100 μ l = 30 mg ใน 1000 μ l

$$C1V1 = C2V2$$

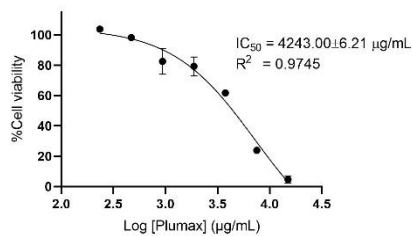
$$30 \text{ mg/mL}(50 \mu\text{l}) = C2(100 \mu\text{l})$$

$$C2 = 15 \text{ mg/mL}$$

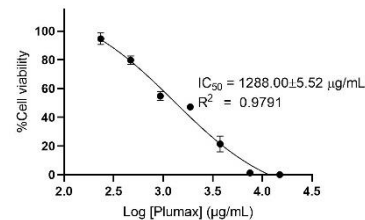
เพราะฉะนั้น สาร Plumax ที่อัตราส่วน 1:1 มีความเข้มข้น เท่ากับ 15 mg/mL

หมายเหตุ : กลุ่มควบคุม (control) คือ สาร Plumax 50 μ l เจือจางใน H₂O 50 μ l ต่อ well ทั้งหมด 3 ซ้ำ

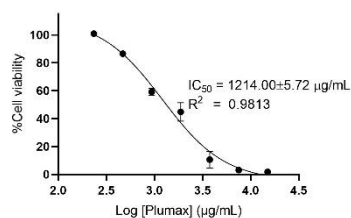
: กลุ่มควบคุมแบบบวก (Positive) คือ สาร Plumax 90 μ l เจือจางใน 100%DMSO 10 μ l ต่อ well ทั้งหมด 3 ซ้ำ



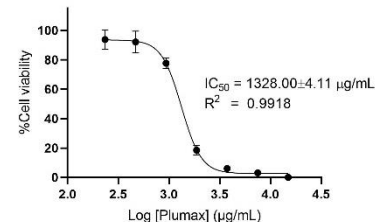
(a)



(b)



(c)



(d)

รูปที่ 1 อัตราการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7)(a) , เซลล์มะเร็งปอด (A549) (b), เซลล์มะเร็งลำไส้ (HCT-116) (c) และเซลล์มะเร็งผิวหนัง (A431) หลังบ่มด้วยสาร Plumax เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 1 แสดงค่า IC₅₀ ของสารสมุนไพรสำหรับทดสอบมะเร็งเต้านม

No.	Cancer name	IC ₅₀ (µg/mL)
1	MCF-7	4243.00±6.21
2	A549	1288.00±5.52
3	HCT-116	1214.00±5.72
4	A431	1328.00±4.11

สรุปผลการทดลอง

สาร Plumax ที่ความเข้มข้น 15 mg/mL ผลการทดสอบพบว่า สาร Plumax มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7), เซลล์มะเร็งปอด (A549) และเซลล์มะเร็งลำไส้ (HCT-116) ที่ความเข้มข้นสูงๆ