

การตรวจวัดความสามารถในการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูก (Osteoblast)

ตัวอย่างสาร: สารสกัด Vitalplus

รายละเอียดของตัวอย่าง: พงหนึยวสิน้ำตาลเข้ม

วันที่ทดสอบตัวอย่าง: 27 ธันวาคม 2567

วิธีทดสอบ : Cell Proliferation

ขั้นตอนการเตรียมสารทดสอบ

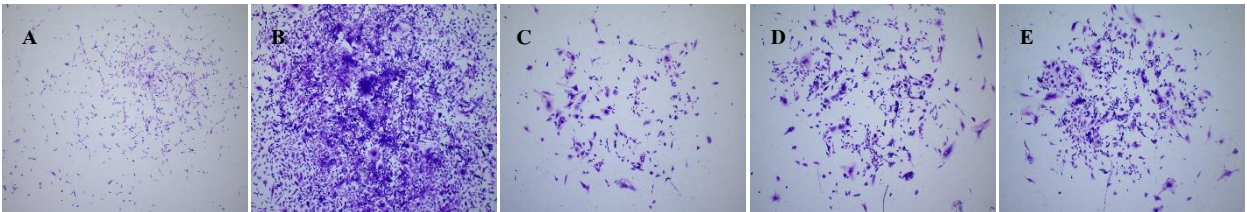
ชั่งตัวอย่างทดสอบปริมาณ 100 mg จากนั้นเติมตัวทำละลาย DMSO ปริมาตร 1 mL ปั่นให้เข้ากันและกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 mm เพื่อให้ได้สารทดสอบที่ความเข้มข้น 100 mg/mL

ขั้นตอนการทดสอบ

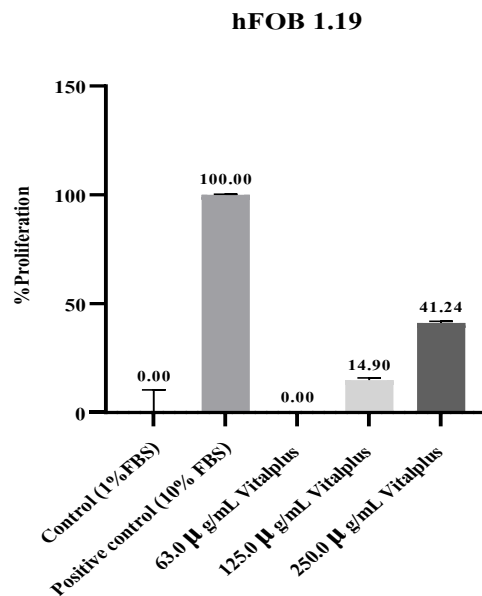
1. ทำการเลี้ยงเซลล์สร้างกระดูก (hFOB 1.19) ใน 24-well plate ที่ความหนาแน่นเซลล์ 5×10^3 cells/well แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. งดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแล้วทำการล้างเซลล์ในหลุมด้วย PBS 1 ครั้ง จากนั้นทำการบ่มด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารทดสอบที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีความปลอดภัยต่อเซลล์มากกว่า 80% และทำการเจือจางลง 2 เท่าเป็นจำนวน 3 ความเข้มข้น
3. ทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 5 วัน
4. ทำการดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกมาและล้างทำความสะอาดเซลล์ด้วย PBS จำนวน 3 ครั้ง จากนั้นเติม 4% Paraformaldehyde จนคลุมบริเวณพื้นที่เซลล์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทำการตรึงเซลล์
5. ดูด 4% Paraformaldehyde ออกจากนั้นเติมสี Crystal violet จนคลุมบริเวณพื้นที่ แล้วบ่มเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการย้อมสีที่พื้นผิวเซลล์
6. ล้างทำความสะอาดเซลล์ด้วยน้ำ จำนวน 3 ครั้ง เพื่อล้างสีส่วนเกินออก
7. ละลายสีด้วย Acidic alcohol (เอทานอล 50% + กรดอะซิติก 1%) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร
8. ทำการวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 570 nm โดยความเข้มข้นของสีม่วงที่เกิดขึ้นจะแปรผันตามจำนวนของเซลล์

ผลการทดสอบ

การตรวจวัดความสามารถในการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูก (Osteoblast) ภายหลังจากทดสอบด้วยสารทดสอบ Vitalplus ที่ และผลการทดสอบพบว่า สารทดสอบ Vitalplus สามารถเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูกได้ในลักษณะที่ขึ้นกับขนาดยา (Dose dependent manner) โดยสารทดสอบ Vitalplus ที่ความเข้มข้น 125 และ 250 $\mu\text{g/mL}$ มีศักยภาพในการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างกระดูกอยู่ที่ 14.90 ± 1.06 และ 41.24 ± 0.66 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ในขณะที่สารทดสอบ Vitalplus ที่ความเข้มข้น 63 $\mu\text{g/mL}$ ไม่พบฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงในรูปที่ 1A-E และกราฟที่ 1



รูปที่ 1 แสดงปริมาณของเซลล์สร้างกระดูก (hFOB 1.19) ภายหลังจากบ่มด้วยสารทดสอบเป็นเวลา 5 วัน ได้แก่ กลุ่มควบคุมที่บ่มด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มี 1% FBS (A), กลุ่มควบคุมเชิงบวกที่บ่มด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มี 10% FBS (B), กลุ่มทดสอบที่บ่มด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนของสารทดสอบ Vitalplus ที่ความเข้มข้น 63, 125 และ 250 $\mu\text{g/mL}$ (C-E)



กราฟที่ 1 แสดงร้อยละการเพิ่มจำนวน (%Proliferation) ของเซลล์สร้างกระดูก (hFOB 1.19) ภายหลังจากทดสอบด้วยสารทดสอบ Vitalplus ที่ความเข้มข้น 63, 125 และ 250 $\mu\text{g/mL}$

สรุปผลการทดสอบ

สารทดสอบ Vitalplus มีศักยภาพในการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูก (hFOB 1.19) ซึ่งมีโอกาสในการเสริมสร้างของแข็งแรงของกระดูก