

## การทดสอบความเป็นพิษของสารทดสอบด้วยวิธี MTT assay ต่อเซลล์มะเร็งตับ HepG2

ตัวอย่างสาร: Vitalis

รายละเอียดของตัวอย่าง: ผง

วันที่ทดสอบตัวอย่าง: 10 เมษายน 2568

วิธีทดสอบ: MTT

### 1. การทดสอบความเป็นพิษของสารทดสอบด้วยวิธี MTT assay

1.1 ทำการเลี้ยงเซลล์ HepG2 ใน 96 well plate ที่ความหนาแน่นเซลล์  $1 \times 10^4$  cells/well แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO<sub>2</sub> เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

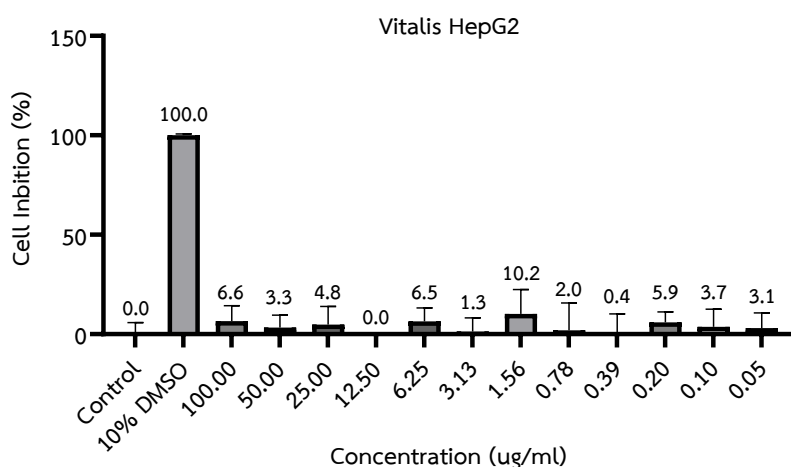
1.2 เติมน้ำอาหารที่เลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารทดสอบตามความเข้มข้น 500, 250, 125, 62.5, 31.3, 1.56, 0.78, 0.39, 0.20, 0.10 และ 0.05 µg/mL จากนั้นทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO<sub>2</sub> เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

1.3 ทำการเติมสารละลาย 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO<sub>2</sub> เป็นเวลา 3 ชั่วโมงเพื่อให้เอนไซม์ succinate dehydrogenase ในไมโทคอนเดรียของเซลล์ที่มีชีวิตอยู่เปลี่ยน MTT ไปเป็นผลิตภัณฑ์ฟอร์มาซาน (Formazan)

1.4 เมื่อครบกำหนดเวลาทำการละลายผลิตภัณฑ์ฟอร์มาซานด้วย DMSO และวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 570/630 nm โดยค่าการดูดกลืนแสงจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของผลิตภัณฑ์ฟอร์มาซานซึ่งจะแปรผันโดยตรงกับจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิต

### ผลการทดสอบ (ครั้งที่ 1)

จากผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารทดสอบด้วยเทคนิค MTT assay โดยความเข้มข้นของสารทดสอบ Vitalis ที่ 1000 และ 500 µg/mL และผลการทดสอบพบว่า Vitalis ที่ความเข้มข้น 100 – 0.05 µg/mL มีอัตราการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ 0% - 10% ดัง(รูปที่ 1)



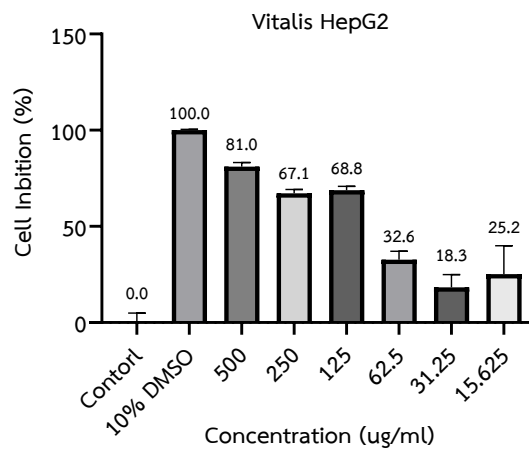
รูปที่ 1 แสดงอัตราการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ (Cell inhibition) ภายหลังจากบ่มด้วย Vitalis เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

## สรุปผลการทดลอง

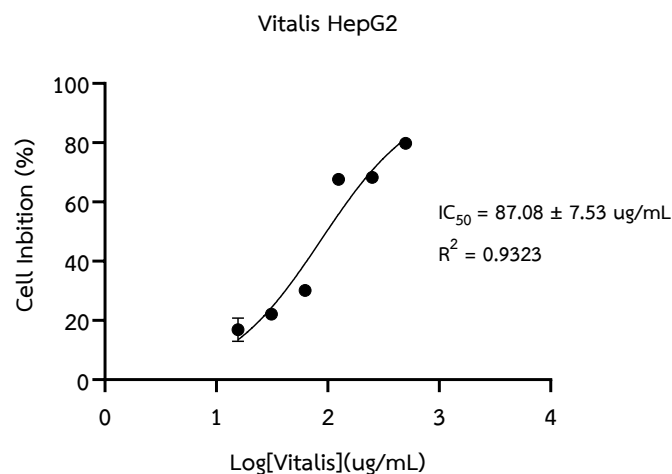
จากผลการทดลองพบว่ายังไม่มีความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ 50% จึงต้องทำการทดลองเพิ่มเติม

### ผลการทดสอบ (ครั้งที่ 2)

จากผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารทดสอบด้วยเทคนิค MTT assay โดยความเข้มข้นของสารทดสอบ Vitalis เริ่มต้นที่ 500, 250, 125, 62.5, 31.25 และ 15.625  $\mu\text{g/mL}$  ผลการทดสอบพบว่า Vitalis ที่ความเข้มข้น 500 – 125  $\mu\text{g/mL}$  มีอัตราการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ 60% - 85% และผลการทดสอบพบว่าตรีผลาที่ความเข้มข้น 62.5 – 15.625  $\mu\text{g/mL}$  มีอัตราการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ 40% - 20% ดัง(รูปที่ 2) โดยค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ร้อยละ 50 ( $\text{IC}_{50}$ ) เท่ากับ  $87.8 \pm 7.53 \mu\text{g/mL}$  (รูปที่ 3)



รูปที่ 2 แสดงอัตราการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ (Cell inhibition) ภายหลังจากบ่มด้วย Vitalis เป็นเวลา 48 ชั่วโมง



รูปที่ 3 แสดงค่าความเข้มข้นของสารที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ 50% ( $\text{IC}_{50}$ )