

یک گام رو به جلو جهت اصلاح روش MTT برای سنجش خواص ضد سرطانی ترکیبات مختلف

امیر توکمچی^۱، مليحه ریکی^{۲*}

^۱ گروه پاتوبیولوژی و کنترل کیفی، پژوهشکده آرتمنیا و آبزیان، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۲ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

E. Mail: malihe.riki@yahoo.com

خلاصه:

هدف از مطالعه حاضر اصلاح روش رایج سنجش خواص ضد سرطانی (MTT) ترکیبات در شرایط آزمایشگاهی بود. لذا رده سرطانی K562 و دیواره سلولی پروبیوتیک‌های لاکتوپاسیلوس کاژئی و لاکتوپاسیلوس پاراکاژئی با داشتن خواص ضد سرطانی استفاده شدند. ابتدا باکتری‌ها در محیط کشت اختصاصی (MRS) در شرایط بی‌هوایی کشت و پس از شستشو با بافر PBS به کمک دستگاه سونیکاتور شکسته و سپس جهت جدا سازی دیواره سلولی از سایر ترکیبات سانتریفیوژ شدند. سپس غلظت ثابت ۴۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر آنها در محیط RPMI تهیه شد. تراکم‌های مختلف سلول K562 در یک میکروپلیت ته صاف ۹۶ خانه‌ای (۵۰۰۰، ۱۰۰۰۰ و ۲۰۰۰۰ سلول در هر خانه) تهیه و با دیواره سلولی باکتری‌ها مجاور و پس از زمان‌های ۱۲، ۲۴ و ۷۲ ساعت ساعت تست MTT انجام شد. نتایج نشان داد که در مورد هر دو باکتری بهترین مقدار سلول برای تست MTT ۵۰۰۰ سلول به ازاء هر خانه می‌باشد. با توجه به روش قبلی که در آن از تعداد ۲۰۰۰۰ سلول به ازاء هر خانه استفاده می‌شد بکار بردن تعداد ۵۰۰۰ سلول هیچگونه تاثیری بر نتیجه نهایی آزمون MTT نخواهد داشت. در ضمن در روش جدید مواد کمتری مصرف شده و زمان لازم برای تهیه سلول نیز صرفه جویی خواهد شد.

لغات کلیدی: MTT، تست K562، اصلاح روش

One step forward to improve the MTT technique for anti tumeric properties of natural compounds

Amir Tukmechi ¹, Malihe Riki ^{2*}

¹ Department of Pathobiology and Quality Control, Artemia and Aquatic Animals Research Institute,
Urmia University, Urmia, Iran

² Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran

E. Mail: malihe.riki@yahoo.com

Abstract:

The aim of current study was to modify the common technique for in vitro anti tumeric assay (MTT) of natural compounds. For this purpose, anti tumeric properties of two extracted cell walls from *L. casei* and *L. paracasei* as natural substances on K562 cell line were assayed. First, bacteria were cultured in special medium (MRS) at anaerobic condition and washed twice with PBS buffer, then the cells were disrupted by Sonicator and finally, each bacteria cell wall separated from others component by centrifugation. Then a constant concentration of each cell wall (4000 µg/ml) was prepared in RPMI. So different amounts of K562 (5000, 1000 and 2000 per well) were prepared in a 96 wells microplate and bacterial cell wall were added to related well and MTT assay was done at different time point (12, 24, 48 and 72 h). Results showed the best amount of K562 cell line for each cell wall is 5000 cell/well. In comparison to the original technique this amount of cell has not any undesired effect on observations. Also, modified technique of MTT was used less amount of materials and saved time for cell preparation.

Key words: K562, MTT technique, Modification