

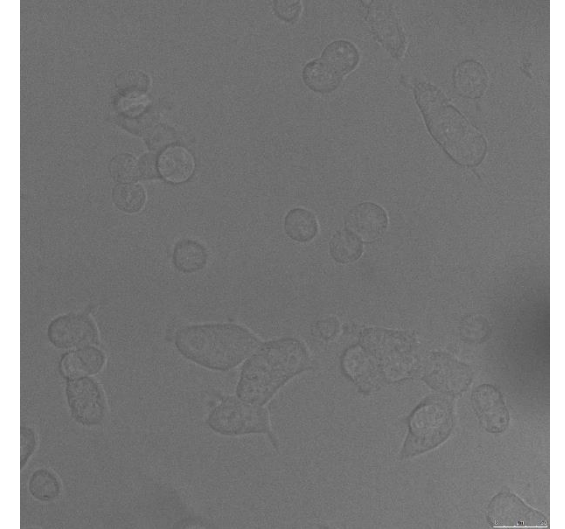
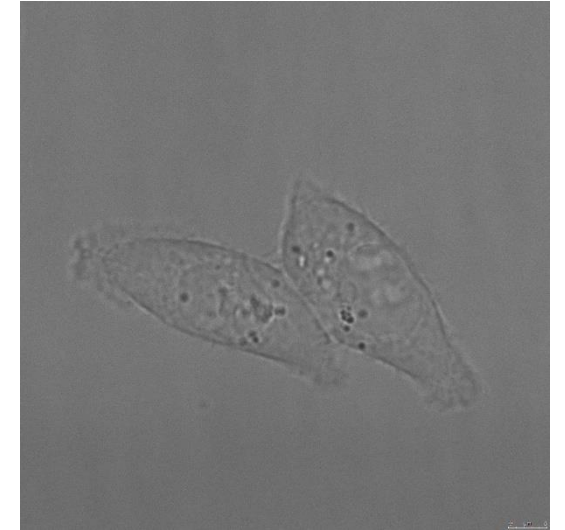
Testy viability

Zuzana Soldánová



Testy viability

- nádorové buněčné linie
- využití
 - testování chemosenzitivity nádorových buněk
 - stanovení cytotoxického efektu léčiv
 - stanovení statického efektu léčiv
 - stanovení proapoptického efektu léčiv



IC50

– IC50

- měření síly inhibice (biologické nebo biochemické)
- half maximal inhibitory concentration
 - polovina maximální inhibující koncentrace
- kolik inhibitoru je třeba k inhibici určitého biologického procesu na polovinu
- použití
 - ve farmakologickém výzkumu

Testy viability

- Klonogenní testy
- Testy metabolické aktivity buněk
- Testy změn integrity membrán

Klonogenní testy

- HTCA (human tumor colony-forming assay)
- podobný testům mikroorganismů
- polotekutý agar
- 2 – 3 týdny
- porovnání počtu kolonií

Testy metabolické aktivity

– MTT

- pozitivně nabitá
- snadno proniká do živých eukaryotických buněk

– MTS, WST1

- negativně nabité
- špatně pronikají do buněk

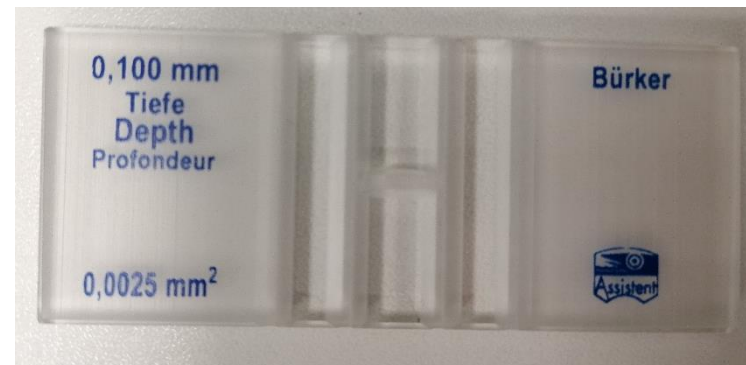
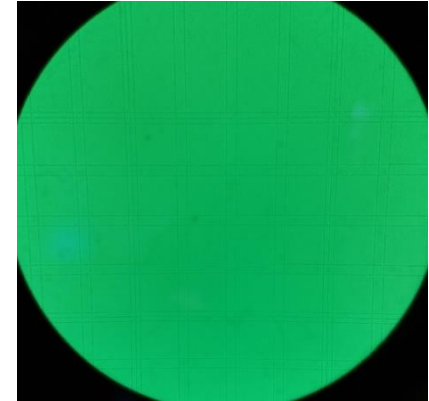
– redukce tetrazoliové soli za vzniku barevných produktů

– aktivita mitochondriální dehydrogenázy

- funkční pouze u živých buněk

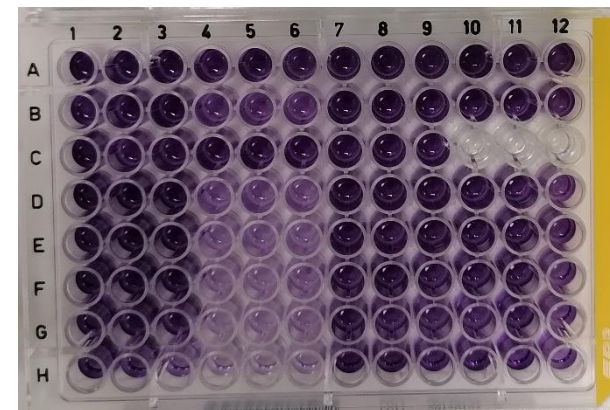
Testy změn integrity membrán

- barviva
 - vnikají do živých buněk
 - vnikají do mrtvých buněk
- prostupují narušenou plazmatickou membránou do buněk
 - obarvení mrtvých buněk
 - trypanová modř
 - eosin
- počítání na Bürkerově komůrce



MTT

- základní test pro určení procenta životaschopných buněk
- výhody
 - snadno použitelné
 - bezpečné
 - vysoká reprodukovatelnost
- získání hodnot IC_{50}

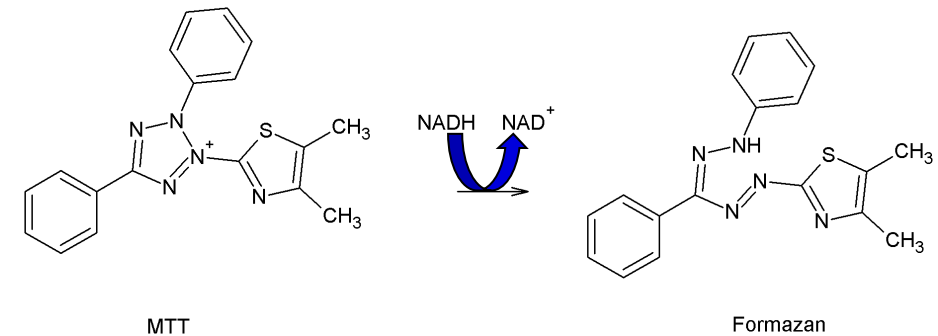


MTT

Protokol

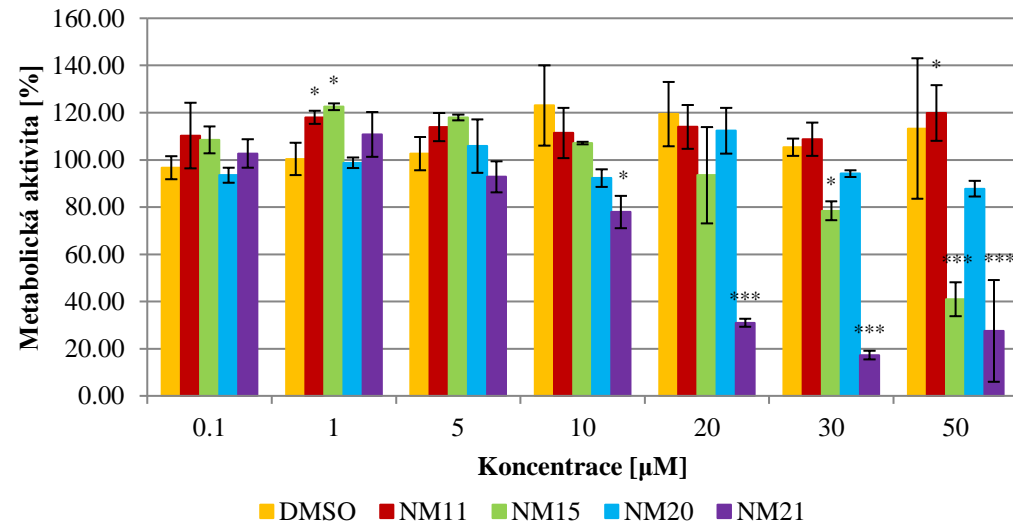
- 0. den
 - příprava buněk
- 1. den
 - vysévání určitého počtu buněk na destičku
- 2. den
 - přidávání testovaných látek
- 3. den
 - přidávání MTT roztoku
 - přidávání MTT solventu
 - měření absorbance

Princip reakce



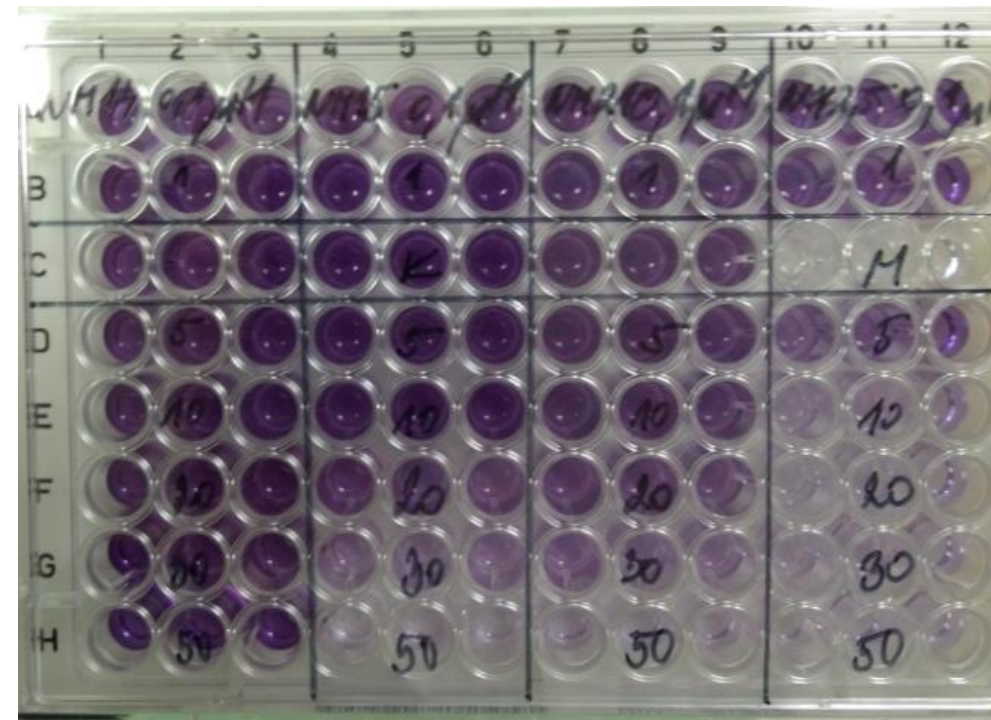
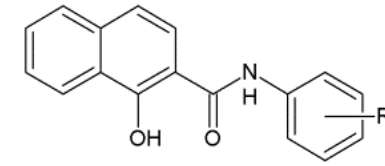
MTT - výsledky

HCT116 p53^{+/+} 24 hodin



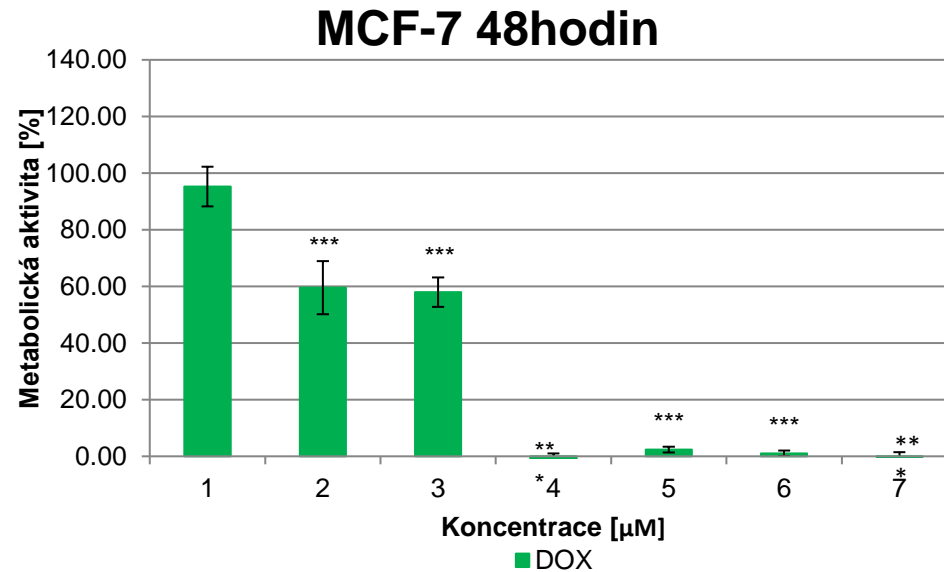
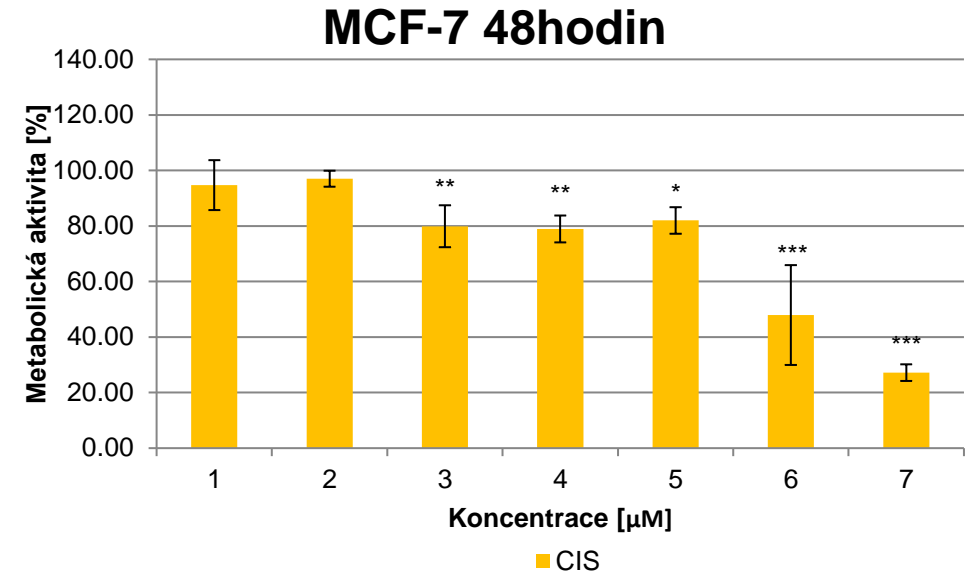
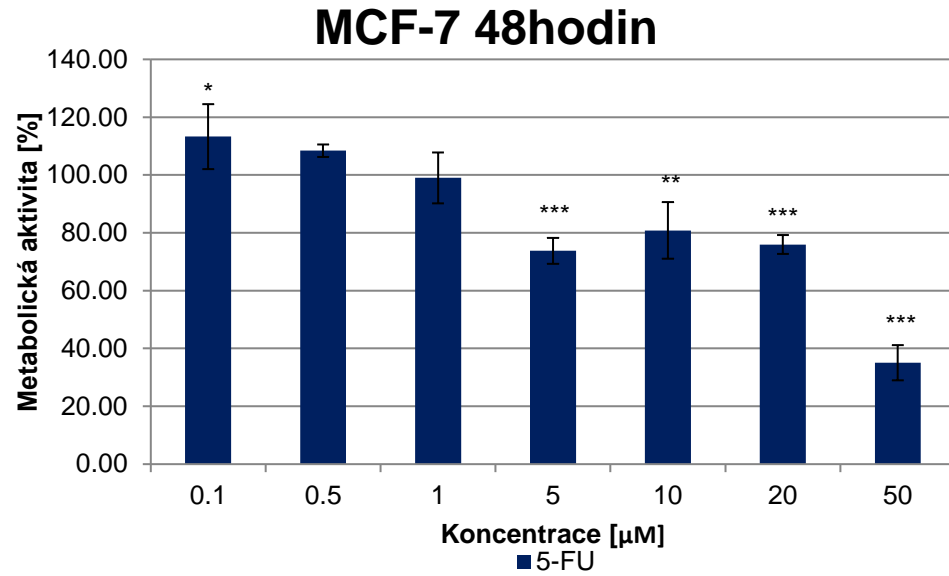
Statistické vyhodnocení

- * P < 0,05
- ** P < 0,01
- *** P < 0,001



Látka	Substituent	IC ₅₀ [μM]
NM11	2-F	> 50
NM15	3-Cl	44,63 ± 1,09
NM20	2-CF ₃	> 50
NM21	3-CF ₃	16,11 ± 1,10
DMSO	–	> 50
Doxorubicin	–	1,98 ± 1,11

MTT - výsledky



Statistické vyhodnocení

- * $P < 0,05$
- ** $P < 0,01$
- *** $P < 0,001$

MUNI
PHARM

Děkuji za pozornost

SoldanovaZ@pharm.muni.cz

