



Die Sulforhodamien B Seltellingsmetode in vergelyking met drie algemene seltellingsmetodes vir sitotoksisiteitstoetse

Authors:

A. van Tonder¹

A. Joubert¹

A.D. Cromarty¹

Affiliations:

¹Department of Pharmacology, University of Pretoria, South Africa

Correspondence to:

A. van Tonder

Email:

alet.vantonder@up.ac.za

Postal address:

Private Bag X11, Arcadia 0007, South Africa

How to cite this article:

Van Tonder, A., Joubert, A. & Cromarty, A.D., 2014, 'Die Sulforhodamien B Seltellingsmetode in vergelyking met drie algemene seltellingsmetodes vir sitotoksisiteitstoetse', *Suid-Afrikaanse Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie* 33(1), Art. #1216, 1 page. <http://dx.doi.org/10.4102/satnt.v33i1.1216>

Note:

This paper was initially delivered at the School of Environmental Sciences and Development of the North-West University, Potchefstroom Campus, South Africa on 05 October 2012.

Copyright:

© 2014. The Authors.

Licensee: AOSIS

OpenJournals. This work is licensed under the Creative Commons Attribution License.

Read online:


Scan this QR code with your smart phone or mobile device to read online.

The Sulforhodamine B Assay in comparison with three commonly used cytotoxicity assays. The sulforhodamine B (SRB) assay was compared to the MTT assay, the neutral red uptake assay and the resazurin reduction assay with regards to sensitivity, interference with glycolysis inhibitors, reproducibility and cost-effectiveness. The SRB assay outperformed the other assays on all accounts.

Om te verseker dat die resultate van aanvanklike voor-kliniese studies betroubaar en akkuraat is, is dit noodsaaklik om die metodes wat aangewend word versigtig te kies. Die beperkings van 'n sitotoksisiteitstoets, soos sensitiwiteit, herhaalbaarheid en koste, moet in gedagte gehou word. Verskeie verslae impliseer dat sekere tipes verbindings, insluitende glikolise inhibeerders (GI), met seltellingsmetodes inmeng. Die sulforhodamien B-toets (SRB) word deur die Nasionale Instituut vir Kanker in die VSA gebruik om groot volumes nuwe verbindings te toets vir aktiwiteit teen 'n wye reeks kancersellyne. Om te bevestig dat die SRB-metode die betroubaarste metode is, selfs in die Universiteitsopset, is hierdie metode met drie ander algemene seltellingsmetodes vergelyk in terme van sensitiwiteit, moontlike inmenging met glikolise inhibeerders, herhaalbaarheid, en koste. Die drie seltellingsmetodes waarmee die SRB-metode vergelyk is, is die tetrasodiumgebaseerde MTT-metode (MTT), die resazurinreduksiemetode (RES) en die 'neutral red'-opnamemetode (NR). Drie borskellyne is gebruik (MCF-7 en MDA-MB-231 borskankersellyne, en MCF-12A normaleborskultuur) teen selkonsentrasies wat van 500 tot 100 000 selle per putjie wissel. Inkubasieperiodes van 24 h of 72 h is gebruik, met 'n bykomende 24 h hegtingsperiode waar die glikolise inhibeerders, 3-bromopirovaat, Ionidamine en 2-deoksieglikose, gebruik is. Selvrye eksperimente is gebruik om te bepaal of die GI en seltellingsmetodes met mekaar inmeng. Die herhaalbaarheid van elke metode is bepaal deur die variasie tussen die 50% inhiberende konsentrasie (IC_{50}) van elke GI te vergelyk na 'n vasgestelde aantal eksperimente. Die koste van elke metode is bereken aan die hand van Sigma-Aldrich- en Merck-pryslyste.

Resultate dui daarop dat die SRB-metode die beste is wat akkuraatheid en sensitiwiteit betref ($r^2 = 0.991$). Die sensitiwiteit van die NR- en RES-metodes is soortgelyk ($r^2 = 0.937$ en $r^2 = 0.934$, onderskeidelik). Die MTT-metode het die swakste gevaar ($r^2 = 0.864$). In selvrye eksperimente het die MTT-metode 'n toename in absorbansie getoon met al drie GI-verbindings, wat aandui dat kleurvorming deur die GI-verbindings veroorsaak is. Die IC_{50} -konsentrasies wat met die SRB-metode verkry is, toon die kleinste variasie oor 'n vasgestelde aantal eksperimente. Die MTT- en RES-metodes het die grootste variasie getoon. Die MTT-metode was die duurste teen R12.56 per plaat, en die RES die goedkoopste teen 'n minimale R0.13/plaat. Die koste van die SRB-metode beloop R4.33 per plaat.

Hierdie studie het beoog om die beste seltellingsmetode vir sitotoksisiteitsbepalings te identifiseer. Dit is van kardinale belang om te verseker dat die seltellingsmetode wat vir 'n studie gebruik word gepas, herhaalbaar en bekostigbaar is. Die sensitiwiteitsbeperkings van 'n metode moet ook in ag geneem word om te verseker dat akkurate en betroubare resultate verkry word. Die resultate van hierdie studie dui daarop dat die SRB-metode sensitief genoeg is om verskille in selgetalle selfs teen lae selkonsentrasies waar te neem. Geen steurings is opgemerk tussen die SRB-metode en die GI-verbindings nie. Die metode het ook die minste variasie na 'n vasgestelde aantal eksperimente getoon. Hierdie verskynsel kan verduidelik word deur die fiksasiestap aan die begin van die metode wat selverlies tydens wasstappe verminder. Alhoewel die SRB-metode nie die goedkoopste metode is nie, sal minder eksperimentele herhalings nodig wees as met die ander metodes om voldoende resultate te bekom wat in die langtermyn meer koste-effektief sal wees. Die studie het dus bewys dat die SRB-metode wel die akkuraatste en betroubaarste sitotoksisiteitsmetode is. Die SRB-metode word dus aanbeveel vir aanvanklike *in vitro*-toetse.