



財團法人 食品工業發展研究所
Food Industry Research and Development Institute

新竹市食品路 331 號 <http://www.firdi.org.tw>
331, Shih-Pin Road, Hsinchu 300, Taiwan
TEL:+886-3-5223191 Fax:+886-3-5224172



委託試驗報告
TEST REPORT

委託者： 仲典科技企業有限公司
Applicant

報告書號碼：2013CT068
Report No.

取樣者： 仲典科技企業有限公司
Sampler

收件日期： 2013/03/21
Date Received

物品名稱： 仲典牛樟芝子實體萃取液(市售包裝；有效日期：102年6月
Name of Article 20日)

簽發日期： 2013/04/16
Date Issued

| 試驗項目 (Items) | 結果 (Results) |
|-----------------|-----------------|
|-----------------|-----------------|

腫瘤細胞抑制試驗

本試驗係由委託人提供之樣品，針對肝癌細胞株 (Hep G2) 進行腫瘤細胞抑制試驗，結果顯示該樣品於1280倍稀釋濃度至10倍稀釋濃度間，對肝癌細胞株(Hep G2)之生長具有抑制效應。根據實驗數據計算，該樣品對於Hep G2的半抑制濃度 (50 % Inhibition Concentration, IC50) 為720倍稀釋濃度。
試驗內容，詳如附件。
以下空白

簽發者：

Authorized Representative : _____



備註

Note :

1. 本分析結果，僅對委託者所送樣品負責。

The results in this report are valid only to the sample sent by the applicant.

2. 委託者所送樣品是否適用於人體(接觸、吸入、食用等)，非本試驗之範圍。

Whether the sample sent by the applicant can be applied to human in any way (contact, inhalation, ingestion, etc.) is beyond the scope of this test.

3. 本報告所載事項，僅做參考資料，若貴公司／單位擬做為廣告、公證或商業推銷用途，應經本所同意。

This report is for reference only, if it is used for advertisement, sales promotion, or notarial use, please consult FIRDI first.

委託試驗報告

腫瘤細胞抑制試驗

一、摘要

本試驗係由委託人提供之樣品，針對肝癌細胞株(Hep G2)進行腫瘤細胞抑制試驗，結果顯示該樣品於 1280 倍稀釋濃度至 10 倍稀釋濃度間，對肝癌細胞株(Hep G2)之生長具有抑制效應。根據實驗數據計算，該樣品對於 Hep G2 的半抑制濃度 (50 % Inhibition Concentration, IC50) 為 720 倍稀釋濃度。

二、背景資料

(1)受理編號：2013CT068

(2)樣品名稱：仲典牛樟芝子實體萃取液(市售包裝；有效日期：102 年 6 月 20 日)

(3)樣品處理：

樣品為黃色液體，樣品原液 pH 為 5.0，滲透壓為 124 mOsm/Kg H₂O。樣品之稀釋方式以 D-PBS 進行兩倍序列稀釋，再以 10 倍稀釋方式加入 96 well plate 細胞培養液中進行測試。

(5)試驗方法：肝癌細胞株(Hep G2) 細胞存活率分析:MTT 比色法
-MTT(3- (4,5-cimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)
Assay

將生長狀況良好的肝癌細胞株(Hep G2)接種至 96 微孔平盤，每孔細胞數約 3,000 cells，置於 5% CO₂、37°C 培養箱中培養至隔夜。隔天加入樣品，將濃度樣品以 D-PBS 進行 2 倍的序列稀釋，取稀釋後之樣品及原液加入含細胞之 96 微孔中，最終濃度分別為：40960X、20480X、10240X、5120X、2560X、1280X、640X、320X、160X、80X、40X、20X 及 10X，於 5 % CO₂、37°C 培養箱中培養 72 小時。72 小時後加入 1/10 總體積的 MTT(5 mg/mL)溶液到每個



微孔中，於 5 % CO₂、37 °C 培養箱中作用 4 小時。移除微孔中之混合液體後，加入 100 μL DMSO 於每個微孔，以溶出細胞內藍紫色結晶物(formazan)。將 96 微孔平盤置於 ELISA reader (540 nm) 讀取數據並分析之。

三、 結果及圖表

(1) 該樣品針對肝癌細胞株(Hep G2)進行生長抑制試驗，結果如下：

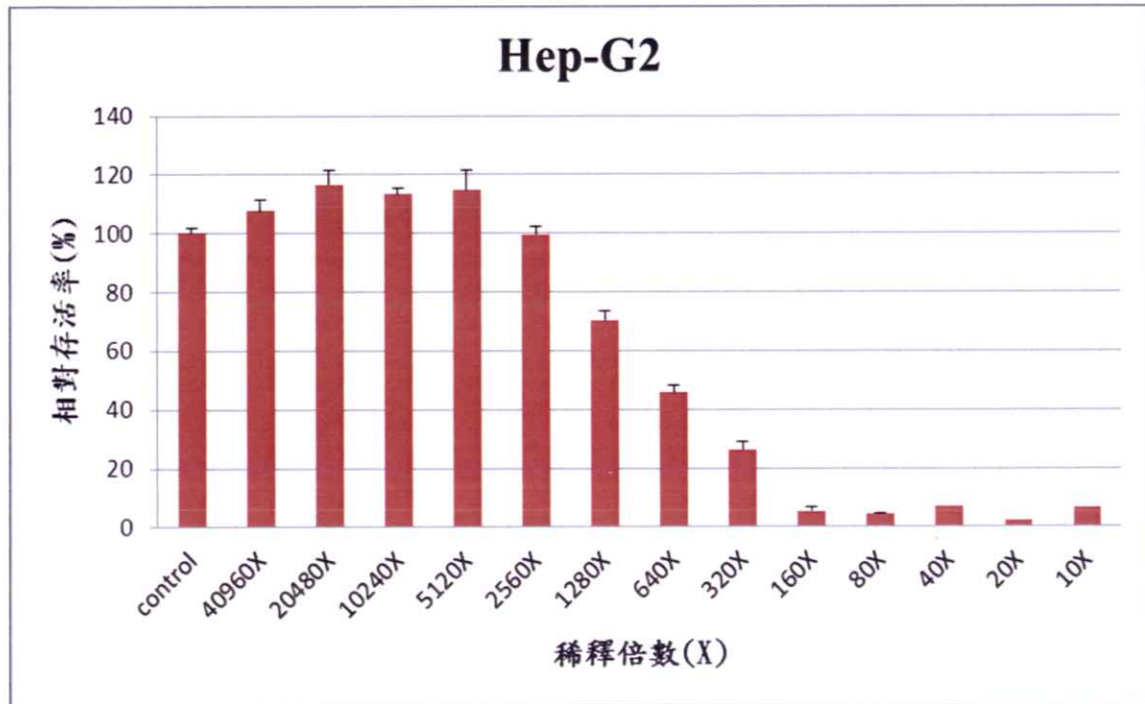
| 樣品濃度 (稀釋倍數 X) | O.D.值(mean ±SD) | 相對存活百分比 (%) (mean ±SD) | 相對抑制百分比 (%) |
|------------------|-----------------|------------------------------|----------------|
| control | 0.654±0.013 | 100.0 ±1.9 | 0 |
| 40960X | 0.703±0.026 | 107.6 ±3.9 | 0 |
| 20480X | 0.762±0.031 | 116.6 ±4.8 | 0 |
| 10240X | 0.741±0.013 | 113.3 ±1.9 | 0 |
| 5120X | 0.749±0.044 | 114.4 ±6.7 | 0 |
| 2560X | 0.651±0.018 | 99.5 ±2.7 | 0.5 |
| 1280X | 0.460±0.019 | 70.4±3.0 | 29.6 |
| 640X | 0.299±0.015 | 45.7 ±2.3 | 54.3 |
| 320X | 0.172±0.016 | 26.3 ±2.5 | 73.7 |
| 160X | 0.034±0.009 | 5.2 ±1.5 | 94.8 |
| 80X | 0.029±0.001 | 4.4 ±0.1 | 95.6 |
| 40X | 0.044±0.005 | 6.8±0.8 | 93.2 |
| 20X | 0.014±0.004 | 2.1 ±0.6 | 97.9 |
| 10X | 0.042±0.011 | 6.4 ±1.8 | 93.6 |

註： 相對存活百分比(%)：sample O.D 值 / blank O.D.值 X 100 %

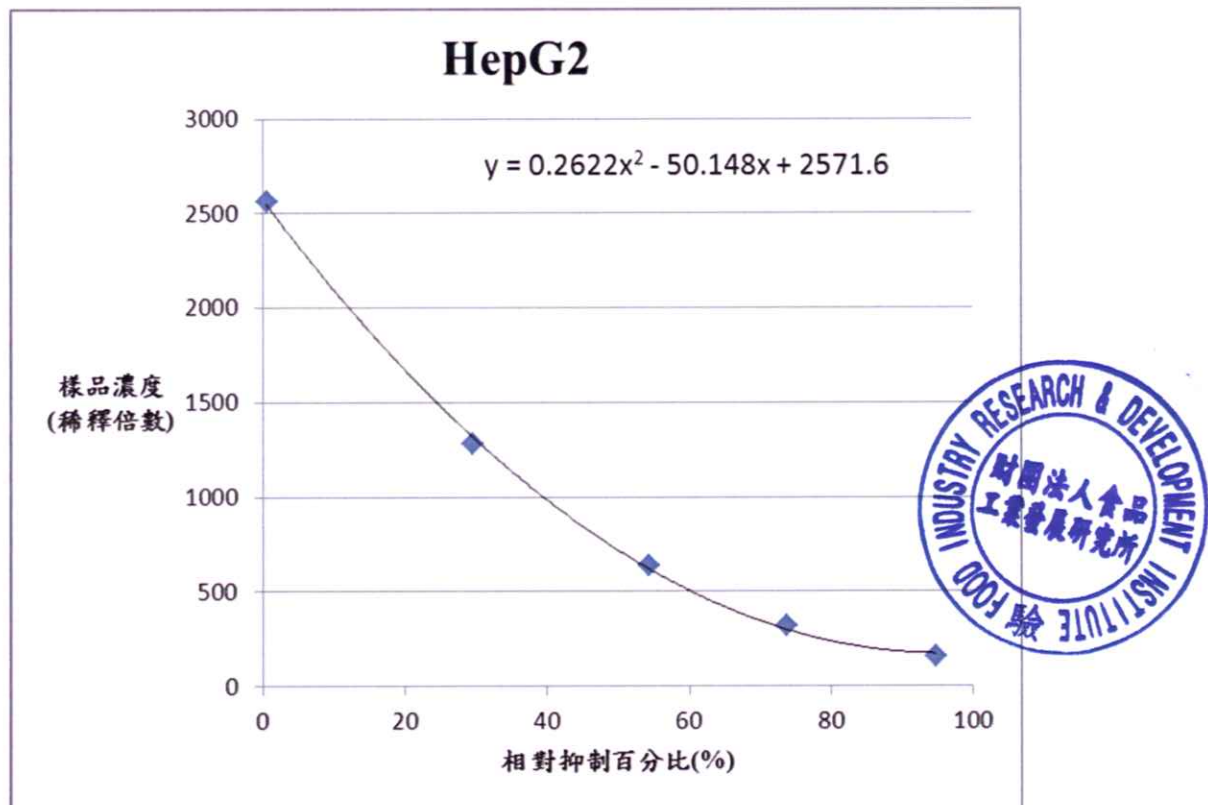
相對抑制百分比(%)：100 % - 相對存活百分比(若相減為負值

則為 0，表示樣品無抑制生長作用)

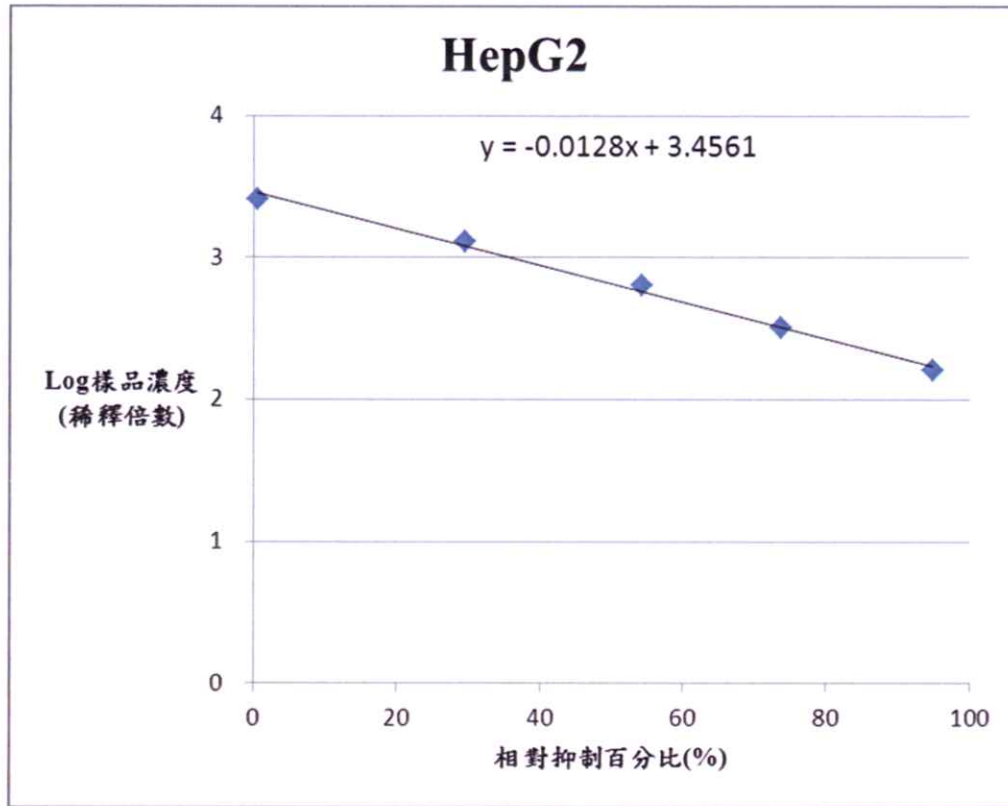




圖二、肝癌細胞株(Hep G2)以不同濃度樣品處理 72 小時後，以 MTT assay 分析之細胞相對百分存活率關係圖。



圖三、根據樣品濃度(Y 軸)，與其相對應之抑制百分比 (X 軸)。利用統計軟體(如 Excel)繪出二維線性迴歸曲線圖。



圖六、將樣品稀釋倍數取 log 值後，與其相對應之抑制百分比(X 軸)。利用統計軟體(如 Excel)繪出線性圖。

根據樣品濃度(Y 軸)，與其相對應之抑制百分比 (X 軸) 之數據以二維線性回歸分析及對數(log)線性圖後各可得到二維回歸公式及一維公式，分別為： $Y = 0.2622 X^2 - 50.148X + 2571.6$ 及 $Y = -0.0128X + 3.4561$ ，將 $X = 50$ 分別帶入迴歸及線性公式計算各得 $Y = 720$ 及 718 ，利用線性公式所求得與二維線性回歸公式計算結果相近。該值即為樣品對於 Hep G2 的半抑制濃度 (50 % Inhibition Concentration, IC_{50}) 約為 720 倍稀釋濃度。

