

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน

เลขที่รายงาน AGRI67/174

หน้า 1/4

ชื่อและที่อยู่

ผลิตภัณฑ์/ตัวอย่าง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารโปร ฟิเอสเค พลัส (Pro PSK⁺)

ลักษณะและสภาพตัวอย่าง

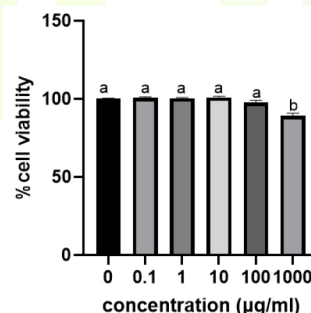
วันที่รับตัวอย่าง

วันที่ทดสอบตัวอย่าง

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร โปร ฟิเอสเค พลัส (Pro PSK⁺) ต่อระบบภูมิคุ้มกัน

มีรายละเอียดการทดสอบดังนี้

1. กระบวนการศึกษาความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร Pro PSK⁺ ต่อเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจของมนุษย์ (Human monocytic cell line; THP-1) ด้วยวิธี MTT assay โดยทดสอบผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร Pro PSK⁺ ที่ความเข้มข้น 0.1, 1, 10, 100, 1000 µg/ml พบว่าที่ความเข้มข้น 0.1 – 10 µg/ml ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ โดยผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร Pro PSK⁺ ที่ความเข้มข้น 0.1 – 10 µg/ml ไม่มีผลทำให้ความมีชีวิตของเซลล์ลดลง (%cell viability= 100±0.58 %) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร Pro PSK⁺ และพบว่าผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร Pro PSK⁺ ที่ความเข้มข้นสูงกว่า 10 µg/ml มีผลทำให้ความมีชีวิตของเซลล์ลดลง อย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเข้มข้น 100 µg/ml มีค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ 97.68±1.29 จึงถือว่าผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร Pro PSK⁺ ที่ความเข้มข้น 0.1-100 µg/ml ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ THP-1 ส่วนที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml มีผลทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ลดลง 89.20 ± 1.49 % อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) จึงถือว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์ THP-1



ภาพที่ 1 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจของมนุษย์ (THP-1) ของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารโปร ฟิเอสเค พลัส ที่ความเข้มข้น 0.1-1000 µg/ml ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่มบ่งบอกถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

นักวิจัย/ผู้เชี่ยวชาญ.....
(กุลณัฐ กันทชาติ)

นักวิจัย/ผู้เชี่ยวชาญ.....
(เจตน์สฤกษ์ หนึ่งหนึ่ง)

ผู้ทวนสอบอนุมัติ.....
(มลลิกา ศุภอักษร)

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 24 มิถุนายน 2567

เลขที่รายงาน AGRI67/174

หน้า 2/4

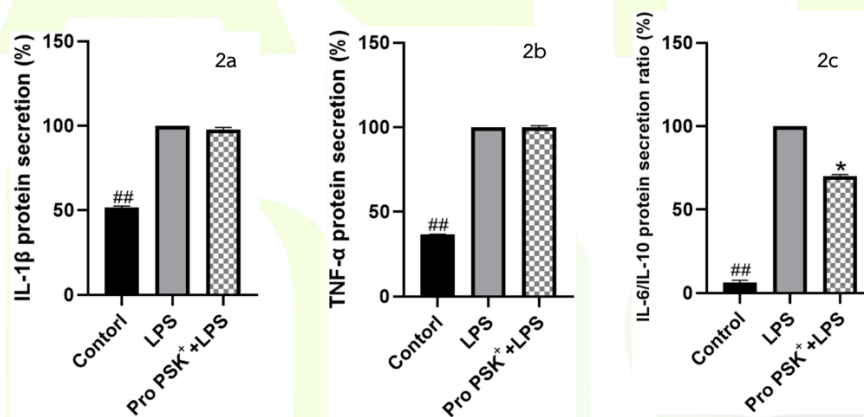
2. กระบวนการศึกษาการปรับสมดุลภาวะการอักเสบ โดยการวัดปริมาณโปรตีนที่ก่อให้เกิดการอักเสบ และโปรตีนด้านการอักเสบ (โปรตีนที่ก่อให้เกิดการอักเสบ ได้แก่ tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin-1beta (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) และโปรตีนที่ทำหน้าที่ต้านกระบวนการอักเสบคือ interleukin-10 (IL-10) ของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร Pro PSK⁺ แบ่งการทดสอบเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 Control คือกลุ่มที่เซลล์ไม่ได้ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบ

กลุ่มที่ 2 LPS คือกลุ่มที่กระตุ้นให้เซลล์เกิดการอักเสบ

กลุ่มที่ 3 Pro PSK⁺ + LPS คือกลุ่มที่กระตุ้นให้เซลล์เกิดการอักเสบ และได้รับผลิตภัณฑ์ Pro PSK⁺ ที่ความเข้มข้น 100 μ g/ml

จากนั้นทำการเลี้ยงเซลล์ต่อ 24 ชั่วโมง จึงเก็บอาหารเลี้ยงเซลล์ (culture medium) มาวิเคราะห์การหลั่งของสารก่อการอักเสบในระดับโปรตีนด้วย ELISA kit (Thermo Fisher Scientific) ผลการทดสอบพบว่าผลิตภัณฑ์เสริมอาหารผลิตภัณฑ์ Pro PSK⁺ ที่ความเข้มข้น 100 μ g/ml สามารถกระตุ้นการปรับสมดุลในภาวะการอักเสบของเซลล์ได้ โดยลดการหลั่งของ Interleukin-6/Interleukin-10 ratio (IL-6/IL-10) ได้ $70.24 \pm 0.87\%$ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) แต่ไม่สามารถลดการหลั่งของ Interleukin-1 beta (IL-1 β) และ Tumour necrosis factor-alpha (TNF- α) แต่หากเพิ่มความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร Pro PSK⁺ ที่ความเข้มข้น 1000 μ g/ml สามารถลดการหลั่งของ IL-1 β , TNF- α และ IL-6/IL-10 ratio ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) (ไม่แสดงกราฟข้อมูล)



ภาพที่ 2 ผลของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร Pro PSK⁺ ต่อการแสดงออกของโปรตีนการอักเสบ; 2a: โปรตีนที่ก่อให้เกิดการอักเสบชนิด

Interleukin-1 beta (IL-1 β), 2b: โปรตีนที่ก่อให้เกิดการอักเสบชนิด Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), 2c: สัดส่วนของโปรตีนการปรับสมดุลในภาวะการอักเสบ (Interleukin-6/Interleukin-10 ratio ;IL-6/IL-10) ของเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจมนุษย์ (THP-1)

* แสดงถึงความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่กระตุ้นให้เกิดการอักเสบ กลุ่ม LPS กับกลุ่ม Pro PSK⁺ + LPS ($p < 0.01$)

แสดงถึงความแตกต่างระหว่างเซลล์ที่ไม่ได้กระตุ้นให้เกิดการอักเสบกับกลุ่มที่กระตุ้นให้เกิดการอักเสบ ($p < 0.01$)

นักวิจัย/ผู้เชี่ยวชาญ.....

(กุลณัฐ กันขัติ)

นักวิจัย/ผู้เชี่ยวชาญ.....

(เจตน์สฤณี หงษ์หนึ่ง)

ผู้ทวนสอบอนุมัติ.....

(มัลลิกา ศุภอักษร)

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 24 มิถุนายน 2567

เลขที่รายงาน AGRI67/174

หน้า 3/4

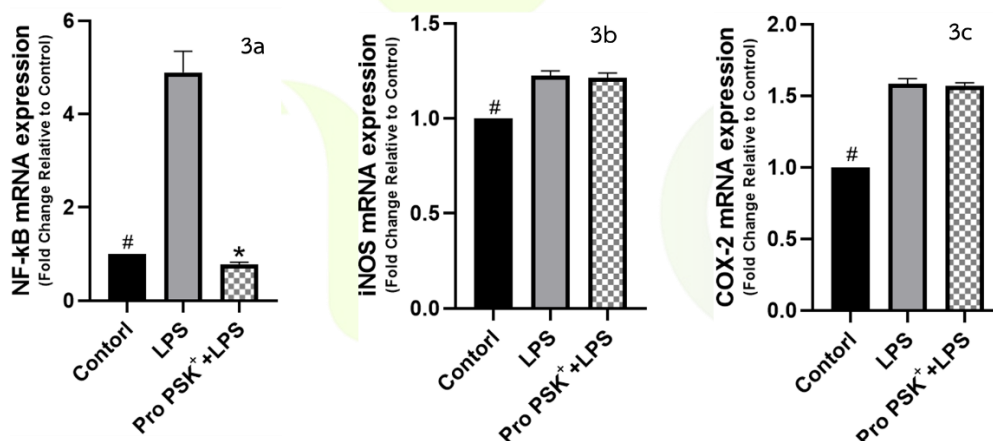
3. การศึกษาผลของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร Pro PSK⁺ ต่อการยับยั้งการแสดงออกของ nuclear Factor-kappa B (NF-**K**B), และยับยั้งการแสดงออกของยีน cyclooxygenase-2 (COX-2) และ inducible nitric oxide synthase (iNOS) โดยตรวจสอบการสังเคราะห์ mRNA ที่เซลล์สร้างขึ้นภายใน ด้วยวิธี Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction; RT-qPCR แบ่งทดสอบเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 Control คือกลุ่มที่เซลล์ไม่ได้ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบ

กลุ่มที่ 2 LPS คือกลุ่มที่กระตุ้นให้เซลล์เกิดการอักเสบ

กลุ่มที่ 3 Pro PSK⁺ + LPS คือกลุ่มที่กระตุ้นให้เซลล์เกิดการอักเสบ และได้รับผลิตภัณฑ์ Pro PSK⁺ ที่ความเข้มข้น 100 µg/ml

จากนั้นทำการเลี้ยงเซลล์ต่อ 24 ชั่วโมง จึงนำสารพันธุกรรม mRNA ไปทดสอบการแสดงออกของยีนก่อการอักเสบโดยวิธี RT-qPCR ผลการทดสอบพบว่าหลังทำการเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วย LPS พบว่ามีการแสดงออกในระดับ mRNA ของยีน Nuclear factor kappa B (NF-**K**B), Inducible nitric oxide synthase (iNOS) และ Cyclooxygenase-2 (COX-2) เพิ่มขึ้น 4.90 ± 0.46 , 1.23 ± 0.03 และ 1.59 ± 0.04 เท่า ตามลำดับเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม หลังจากทดสอบด้วยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารโปร ทีเอสเค พลัส ที่ความเข้มข้น 100 µg/ml สามารถลดการแสดงออกของยีน NF-**K**B ที่ 0.75 ± 0.07 เท่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ไม่สามารถลดการแสดงออกของยีน iNOS และ COX-2 ได้ แต่หากเพิ่มความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร Pro PSK⁺ ที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml สามารถลดการแสดงออกของยีน COX-2 และ NF-**K**B ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ไม่แสดงกราฟข้อมูล)



ภาพที่ 3 ผลของ ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารโปร ทีเอสเค พลัส ต่อการแสดงออกในระดับ mRNA ของยีน; 3a: Nuclear factor kappa B (NF-**K**B), 3b: Inducible nitric oxide synthase (iNOS), 3c: Cyclooxygenase-2 (COX-2), ของเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจอมูซัย (THP-1)

* แสดงถึงความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่กระตุ้นให้เกิดการอักเสบ กลุ่ม LPS กับกลุ่ม Pro PSK⁺ + LPS ($p < 0.05$)

แสดงถึงความแตกต่างระหว่างเซลล์ที่ไม่ได้กระตุ้นให้เกิดการอักเสบกับกลุ่มที่กระตุ้นให้เกิดการอักเสบ ($p < 0.05$)

นักวิจัย/ผู้เชี่ยวชาญ.....
(กุลณัฐ กันขัติ)

นักวิจัย/ผู้เชี่ยวชาญ.....
(เจตน์สฤณี หงษ์หนึ่ง)

ผู้ทวนสอบอนุมัติ.....
(มัลลิกา สุภาอักษร)

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 24 มิถุนายน 2567

เลขที่รายงาน AGRI67/174

หน้า 4/4

สรุปผลการทดลอง

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารผลิตภัณฑ์ Pro PSK⁺ ที่ความเข้มข้น 100 µg/ml สามารถลดการแสดงออกของยีน NF- κ B และสามารถกระตุ้นการปรับสมดุลในภาวะการอักเสบของเซลล์ได้ โดยลดการแสดงออกของ Interleukin-6/Interleukin-10 ratio (IL-6/IL-10) ได้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เกิดการอักเสบในเซลล์ แต่หากเพิ่มความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร Pro PSK⁺ ที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml สามารถลดการแสดงออกของยีน COX-2 และ NF- κ B อีกทั้งยังสามารถลดการหลั่งของ IL-1 β , TNF- α และ IL-6/IL-10 ratio ได้ (ไม่แสดงกราฟข้อมูล) โดยโปรตีนและยีนแสดงออกเหล่านี้ แสดงถึงความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะการอักเสบของร่างกาย และรวมไปถึงการเกิดมะเร็งในมนุษย์ (Gamble et al., 2012)

~End of Report~

ผู้มีอำนาจลงนาม

(รองศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล)
หัวหน้าศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทาง
การเกษตรสำหรับบัณฑิตผู้ประกอบการ

นักวิจัย/ผู้เชี่ยวชาญ.....
(กุลณัฐ กันทขัติ)

นักวิจัย/ผู้เชี่ยวชาญ.....
(เจตน์สฤกษ์ หงษ์หนึ่ง)

ผู้ทวนสอบอนุมัติ.....
(มัลลิกา ศุภอักษร)