การทดลอง : การศึกษาความสามารถของเซลล์เดี่ยวในการเติบโตและแบ่งตัวจนเกิดเป็นกลุ่มด้วยวิธี clonogenic assay

วัตถุประสงค์ : เพื่อตรวจสอบฤทธิ์ของสารสกัดเคอร่า สามารถยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็ง

วิธีทดสอบ

การทดสอบความสามารถของเซลล์เดี่ยวในการเติบโตและแบ่งตัวจนเกิดเป็นกลุ่มเมื่อได้รับสารสกัดสมุนไพรเคอร่าต่อเซลล์มะเร็งปอดชนิด Adenocarcinoma human alveolar basal epithelial cells (A549)

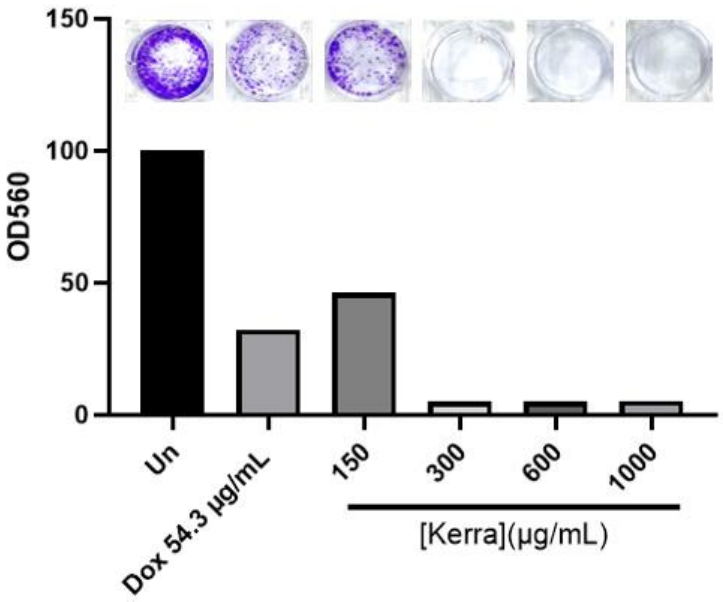
1. เพาะเลี้ยงเซลล์ A549 ในภาชนะเพาะเลี้ยง (6 well cell culture plate) ที่ความหนาแน่นเซลล์ 5×10^5cells/well แล้วทำการบ่มที่สภาวะ 5% CO_2 และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เซลล์ A549 เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) ที่มีซีรัมของตัวอ่อนลูกวัว (Fetal bovine serum) ในปริมาณ 10% และ 1% ยาปฏิชีวนะ (Penicillin/streptomycin)

2. เมื่อเซลล์มีปริมาณมากพอ ทำการเปลี่ยนเป็นอาหารที่มีสาร สกัดเคอร่า ความเข้มข้น 150, 300, 600 และ 1000 µg/mL ตามลำดับ และยา Doxorubicin ความเข้มข้น 54.3 µg/mL แล้วนำเซลล์ไว้ใน สภาวะเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3. พอครบเวลา ทำการเปลี่ยนอาหารเซลล์ แล้วนำเซลล์ไว้ใน สภาวะเพาะเลี้ยง 10 วัน พอครบย้อมด้วย 0.1% Crystal violet ถ่ายภาพ ละลายด้วย 33% Acetic acid และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 560 nm ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (Microplate Reader)

ผลการทดสอบ

ผลการศึกษาความสามารถของเซลล์เดี่ยวในการเติบโตและแบ่งตัวจนเกิดเป็นกลุ่มด้วยวิธี clonogenic assay พบว่า หลังจากเซลล์ได้รับสารสกัดเคอร่า ที่ความเข้มข้น 300-1000 µg/mL ทำให้การเติบโตของเซลล์น้อยกว่า 50% และความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์รอดชีวิต 60% อยู่ที่ความเข้มข้น 150 µg/mL (รูปที่1)



รูปที่ 1 ผลการศึกษาความสามารถของเซลล์เดี่ยวในการเติบโตและแบ่งตัวจนเกิดเป็นกลุ่มด้วยวิธี clonogenic assay

สรุปผลการทดสอบ

การการศึกษาความสามารถของเซลล์เดี่ยวในการเติบโตและแบ่งตัวจนเกิดเป็นกลุ่มด้วยวิธี clonogenic assay จากผลการทดสอบสรุปได้ว่าสารสกัดเคอร่า มีผลทำให้การเติบโตของเซลล์มะเร็ง A549 หยุดการเติบโตเมื่อเซลล์ได้รับสารสกัดเคอร่าในความเข้มข้นที่สูง ดังนั้นตัวอย่างผลิตภัณฑ์ Kerra มีฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตเซลล์มะเร็ง A549 ได้