

**การทดลอง :** การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเคอร์ราเหนียวทำให้เกิด Apoptosis ในเซลล์มะเร็งปอด A549 ด้วยวิธี Apoptosis assay

**วัตถุประสงค์ :** เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดเคอร์ราเหนียวทำให้เกิด Apoptosis

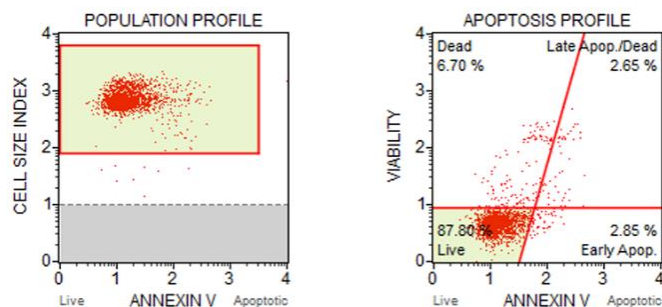
### วิธีการทดลอง

#### 1. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเคอร์ราเหนียวทำให้เกิด Apoptosis ในเซลล์มะเร็งปอด A549

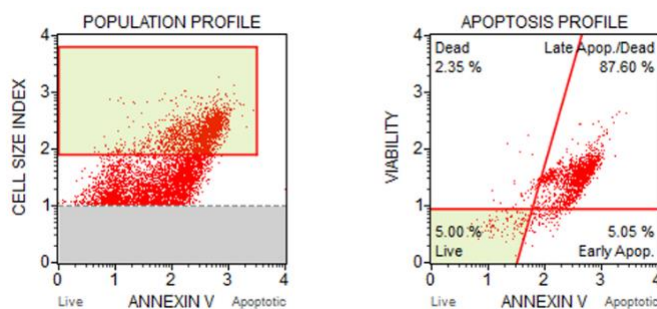
การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเคอร์ราเหนียวทำให้เกิด Apoptosis ต่อเซลล์มะเร็งปอดชนิด Adenocarcinoma human alveolar basal epithelial cells (A549) โดยเฉพาะเลี้ยงเซลล์ในภาชนะเพาะเลี้ยง (25 cm<sup>2</sup> cell culture flasks) ที่สภาวะ 5% CO<sub>2</sub> และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เซลล์ A549 เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) ที่มีซีรัมของตัวอ่อนลูกวัว (Fetal bovine serum) ในปริมาณ 10% และ 1% ยาปฏิชีวนะ (Penicillin/streptomycin) เมื่อเซลล์ มีปริมาณมากพอ ทำการแยกเซลล์ให้หลุดออกจากกันและหลุดจากพื้นผิวของภาชนะที่ใช้เลี้ยง เซลล์ด้วยเอนไซม์ทริปซิน (trypsinization) ที่มีกรดเอทิลีนไดเอมีนเตตระแอสีติก (trypsin-EDTA) และนับเซลล์ให้ได้ปริมาณ 35,000 เซลล์ต่อหลุม เพื่อทดสอบการเหนียวทำให้เกิด Apoptosis เซลล์ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในถาด 24 หลุม เปลี่ยนอาหารที่มีสารสกัดเคอร์รา ความเข้มข้น 150, 300, 600 และ 1000 µg/mL ตามลำดับ และยา Doxorubicin ความเข้มข้น 3 µM แล้วนำเซลล์ไว้ใน สภาวะเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกเซลล์ให้หลุดออกจากกันและหลุดจากพื้นผิวของภาชนะที่ใช้เลี้ยง เซลล์ด้วยเอนไซม์ทริปซิน (trypsinization) ที่มีกรดเอทิลีนไดเอมีนเตตระแอสีติก (trypsin-EDTA) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,000 rpm 5 นาที เท supernatant ที่ทิ้ง แล้วเติมชุดน้ำยา Annexin V 100 µl บ่มอุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

## ผลการทดลอง

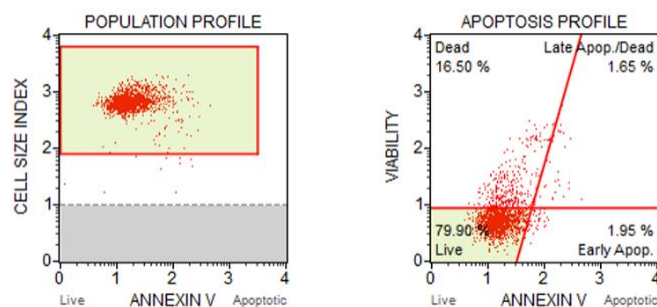
ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเคอร์วี่เหี่ยวนำไปให้เกิด Apoptosis ในเซลล์มะเร็งปอด A549



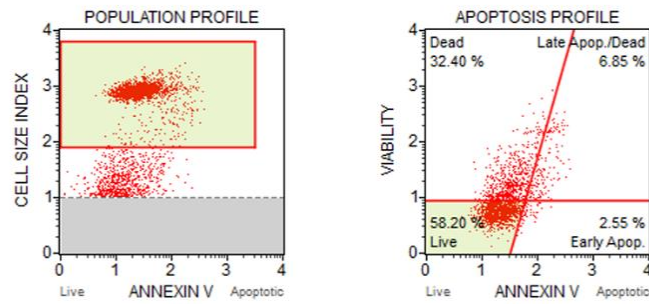
รูปที่ 1 เซลล์มะเร็งปอด A549 ที่ไม่ได้รับการทดสอบ



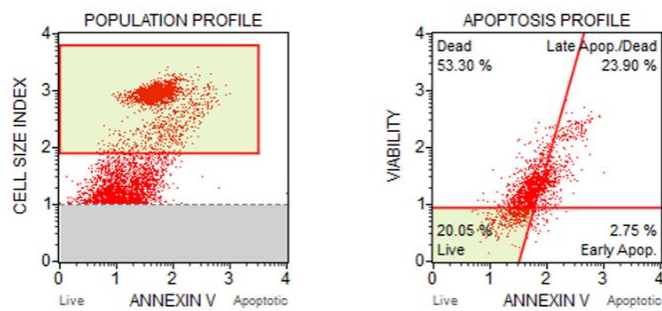
รูปที่ 2 เซลล์มะเร็งปอด A549 ที่ได้รับการทดสอบด้วยยา Doxorubicin



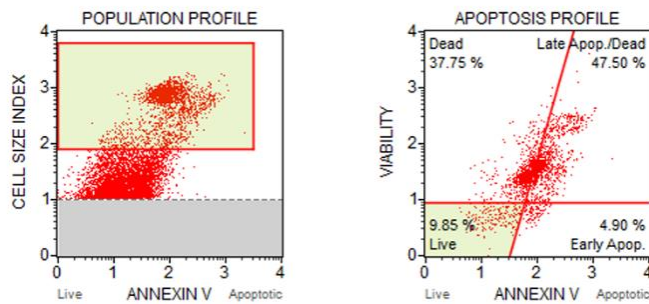
รูปที่ 3 เซลล์มะเร็งปอด A549 ที่ได้รับการทดสอบด้วยสารสกัดเคอร์วี่ที่ความเข้มข้น 150 µg/mL



รูปที่ 4 เซลล์มะเร็งปอด A549 ที่ได้รับการทดสอบด้วยสารสกัดเคอร์ราที่ความเข้มข้น 300 µg/mL



รูปที่ 5 เซลล์มะเร็งปอด A549 ที่ได้รับการทดสอบด้วยสารสกัดเคอร์ราที่ความเข้มข้น 600 µg/mL



รูปที่ 6 เซลล์มะเร็งปอด A549 ที่ได้รับการทดสอบด้วยสารสกัดเคอร์ราที่ความเข้มข้น 1000 µg/mL

ผลจากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดเคอร์ราเหนี่ยวนำให้เกิด Apoptosis ในเซลล์มะเร็งปอด A549 ด้วยวิธี Apoptosis assays หลังจากเซลล์ได้รับสารสกัดเคอร์ราที่ความเข้มข้น 600-1000 µg/mL พบว่า สารสกัดเคอร์ราเหนี่ยวนำให้เซลล์เกิดสถานะ Apoptosis เมื่อเทียบกับความเข้มข้น 150-300 µg/mL แสดงให้เห็นว่า สารสกัดเคอร์ราในความเข้มข้นที่สูงเหนี่ยวนำทำให้เซลล์มะเร็งปอด A549 เกิดสถานะ Apoptosis