

# 中華民國第 56 屆中小學科學展覽會 作品說明書

---

高級中等學校組 動物與醫學學科

052001

黃柏對血癌細胞之影響

學校名稱：國立嘉義高級中學

作者： 高二 林秉萱 高二 許祐綾	指導老師： 賴美杏
-------------------------	--------------

關鍵詞：黃柏、血癌細胞、細胞凋亡

## 摘要

素有十大功勞之稱的黃柏(Mahonia japonica)，在本草綱目裡主治濕熱瀉痢、黃疸、帶下、熱淋、腳氣、痿辟、骨蒸勞熱、盜汗、遺精、瘡瘍腫毒、濕疹瘙癢。在我們的研究中發現黃柏莖切片水萃取的冷凍乾燥粉末確實有誘發血癌細胞 THP-1 及 HL-60 凋亡的現象。顯微鏡下，血癌細胞明顯的有減少及皺縮凋亡的跡象。利用細胞存活率分析 (MTT assay)，發現 HL-60 在 250  $\mu$ g/mL，THP-1 在 1000  $\mu$ g/mL 的濃度下即有過半的細胞死亡率。因此，我們選定以上濃度分別做於 3 小時、6 小時和 24 小時蒐集蛋白質進行西方墨點法實驗，進一步證實水萃取的冷凍乾燥粉末會誘導細胞凋亡蛋白 bax 表現增加，並於 6 小時明顯增加 Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) 斷裂，此結果證實黃柏水萃取的冷凍乾燥粉末可誘導血癌細胞產生細胞凋亡。

## 壹、研究動機

台灣民間傳說可治百病的阿里山十大功勞茶，或許也能對血癌細胞有影響，儘管未能完全將血癌細胞毒殺，也期望能達到抑制的效果。

## 貳、研究目的

- 一、黃柏莖切片萃取液對血癌細胞 THP-1 即 HL-60 形態及存活率之影響
- 二、黃柏莖切片萃取液誘導血癌細胞凋亡及相關蛋白質測定

## 參、研究設備及器材

### 一、黃柏



圖一 黃柏

(一)學名：*Mahonia japonica*

(二)科名：小蘗科 (*Berberidaceae*)、十大功勞屬 (*Mahonia*)

(三)產地：中國華南、台灣、日本等地

(四)別名：華南十大功勞茶、老鼠仔刺、天鼠刺、黃心樹、鐵八卦

二、研究場地：嘉義大學生命科學館研究室

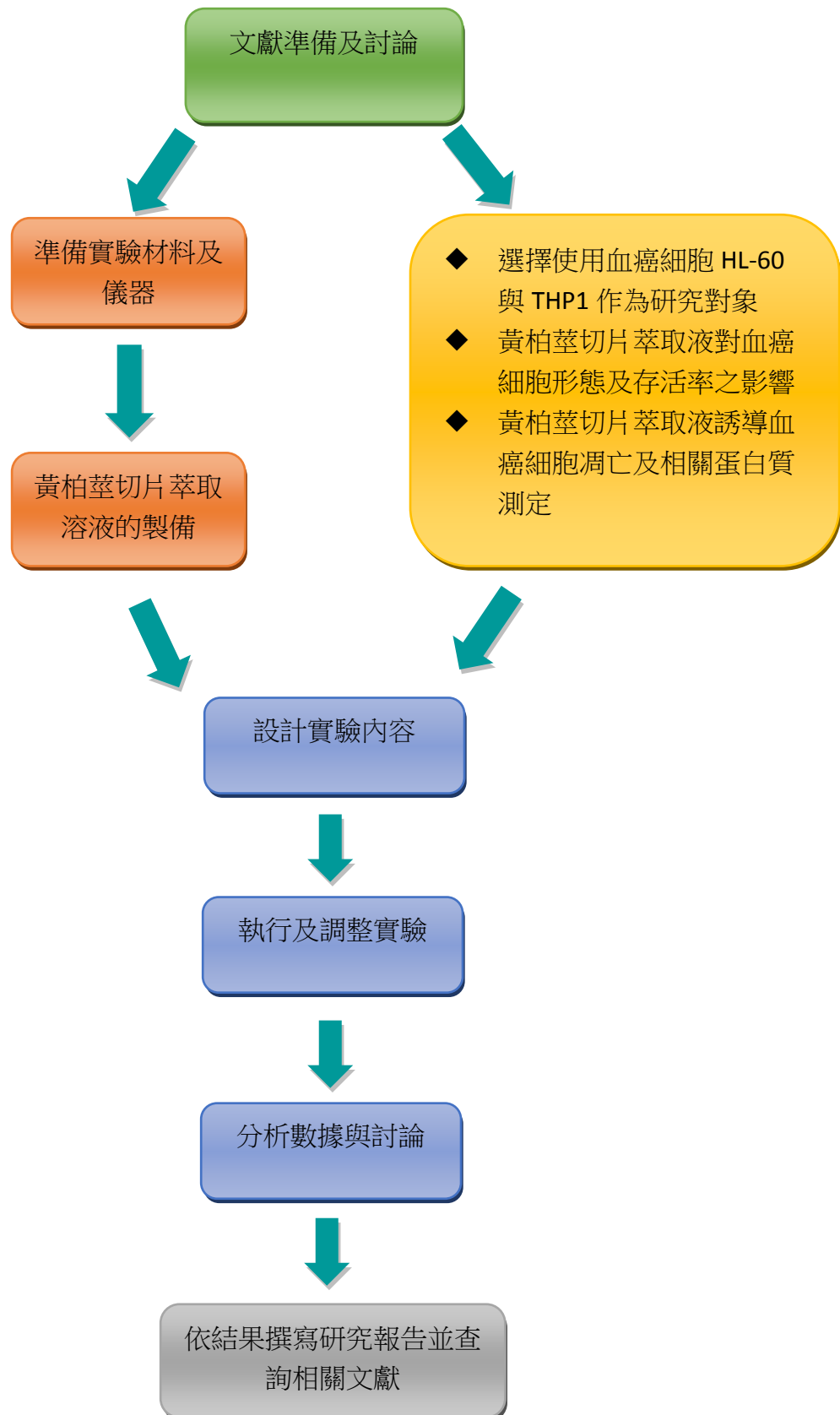
三、化學材料：磷酸緩衝液 (phosphate buffer saline, PBS)、細胞冷凍保存液 (Cell culture freezing medium, DMSO)、Trypan blue 染劑、HL-60 培養液、THP1 培養液、去離子純水、酒精、MTT、Protein Assay、BSA、PBST、sample buffer( contain glycerol、comassie blue、SDS、DTT)、protein marker、抗體、luminol、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、CH<sub>3</sub>OH、lysis buffer、脫脂奶粉、PVDF。

四、實驗儀器：中藥熬煮瓶、電子天秤、桌上型微量離心機、恆溫水浴槽、數位相機、培養箱、顯微鏡、高速離心機、光譜儀、無菌操作臺、冷凍乾燥機。

五、實驗器材：手套、微量吸管分注器 (Pipette)、glass pipette、稱量紙、刮杓、燒杯、細胞培養皿、血球計數器、無菌離心管、無菌過濾膜、倒立式相位差顯微鏡、96well plate、12well plate、10cm dish、6cm dish、無菌過濾膜、針筒。

## 肆、研究過程或方法

### 一、研究過程方法流程圖



## 二、人類血癌細胞培養

(一)本研究選用人類急性骨髓血癌細胞 THP-1 及 HL-60，其中，THP-1 為人類急性單核球白血病之細胞，HL-60 為人類急性未成熟骨髓芽球性白血病之細胞。

(二)細胞植株來源：食品工業發展研究所生資中心(BCRC)

(三)THP-1 培養基成分：90% RPMI 1640 medium (基礎細胞培養液) with 2mM L-Glutamine (左旋麩醯胺酸) adjusted to contain 1.5g/L sodium bicarbonate (碳酸氫鈉), 4.5g/L glucose (葡萄糖), 10mM HEPES (4-羥乙基哌嗪乙磺酸), and 1.0mM sodium pyruvate (丙酮酸鈉)+ 10% fetal bovine serum(胎牛血清), supplemented with 0.05mM 2-mercaptoethanol (2-巰基乙醇)

(四)HL-60 培養基成分：90% Iscoves' s modified Dulbecco' s medium (基礎細胞培養液) with 4mM L-Glutamine (左旋麩醯胺酸) adjusted to contain 1.5g/L sodium bicarbonate (碳酸氫鈉)+ 10% fetal bovine serum (胎牛血清)

(五)將 THP-1 及 HL-60 培養於各自培養液，然後將血癌細胞置於 5%CO<sub>2</sub> 培養箱中培養(37°C)。每 2-3 天換一次培養液。

(六)繼代培養時，將細胞培養皿內培養液吸入離心管，以 1000rpm，三分鐘離心。倒掉上清液，再打入新的培養液中(約 1×10<sup>5</sup>顆細胞/毫升)。

## 三、黃柏莖切片萃取物製備

(一)秤量黃柏莖切片 100 克。

(二)分裝置四個中藥包內，用棉線綁緊後放入中藥壺內。

(三)取 1.5 公升二次蒸餾水加入中藥壺內。

(四)煮 2 小時。

(五)將剩餘的黃柏粗萃取液共 550 毫升倒入血清瓶冷卻。

(六)分裝置兩個抽氣瓶冷凍萃取至完全乾燥的粉末。

(七)得粉末狀黃柏莖切片萃取物。

(八)將黃柏粉末依 1 毫克/毫升濃度分別配置入 THP-1 及 HL-60 的培養液。



圖二-1 秤量黃柏莖切片此電子天平有效位數至小數點以下三位

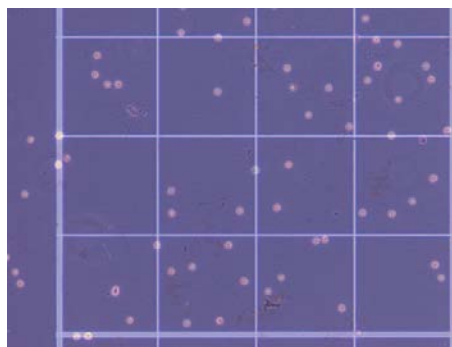


圖二-2 將黃柏莖切片置入中藥袋內後放入中藥壺

#### 四、黃柏莖切片萃取物對人類急性骨髓血癌細胞 THP-1 及 HL-60 的毒殺試驗

##### (一)計數細胞

1. 將培養液吸入 50 mL 離心管，用 glass pipette 稍微混合均勻。  
用微量吸管吸取 20  $\mu$ L 培養液至 1.5mL 微量離心管，再吸取 20  $\mu$ L Trypan Blue 試劑置入同一支離心管，pipette 均勻。
- 2.將混合液均勻置入細胞計數器兩側，放在顯微鏡下觀察，如圖三(此圖為未加入黃柏莖切片萃取液培養的正常 THP-1)。



圖三 在顯微鏡下的正常 THP-1

- 3.概算培養液中所含的總血癌細胞數

##### (二)加入黃柏莖切片萃取物溶液

1. 取一個 12-well 細胞盤，標註 untreated, 125  $\mu$ g / mL, 250  $\mu$ g / mL,

500  $\mu\text{g} / \text{mL}$ , 750  $\mu\text{g} / \text{mL}$ , 1000  $\mu\text{g} / \text{mL}$  , 每個濃度兩個 well 。

2. 每個 well 依上述濃度分別加入培養液及黃柏莖切片的萃取物溶液(共 1000  $\mu\text{L}$ ) 。
3. 每個 well 再種入  $1 \times 10^5$  個血癌細胞(圖四) 。
4. 將細胞盤放入細胞培養箱培養 。
5. 經 24 小時後拍下細胞生長狀況照片 。
6. 再經 24 小時後測定細胞存活率 。



圖四 每個 well 種入  $1 \times 10^5$  個 THP-1 細胞

## 五、人類血癌細胞(THP-1、HL-60)存活率測定(MTT)

### (一)步驟

1. 加藥 48 小時後將加入黃柏莖切片萃取物溶液的血癌細胞從細胞培養箱中取出 。
2. 將每個 well 的培養液分別全部吸入 2 cc 離心管 。
3. 將 MTT 以 PBS 五倍稀釋 。
4. 細胞離心(12000rpm, 5 分鐘)後吸掉上清液 。
5. 每個離心管加入 500  $\mu\text{L}$  稀釋後的 MTT 。
6. 2 cc 離心管打開，用面紙稍微覆蓋，放入細胞培養箱 2 小時 。
7. 離心(12000rpm, 5 分鐘)後抽掉上清液，此時底部有結晶 。
8. 每個離心管加入 500  $\mu\text{L}$  DMSO 以溶解結晶，pipette 均勻 。
9. 每支離心管取 200  $\mu\text{L}$  混合液置入 96-well 細胞盤，平均放入兩格，

因此每個濃度有四格。

10. 利用多功能分光光譜儀，以波長 575nm 測吸光值。

## 六、西方墨點分析法(Western Blotting)

### (一)試劑與藥品

1. Buffer(b): 60.5g Tris 溶到 500mL 的 d2H2O，pH 調至 8.8
2. Buffer(c): 60.5g Tris 溶到 500mL 的 d2H2O，pH 調至 6.8
3. Running buffer: Tris 6.06g, Glycine 28.84g, 20%SDS 10mL 加水至 2L，pH 值調至 8.3
4. 10× PBS: NaCl 80g, Na2HPO4 14.4g, KH2PO4 2.4g, KCl 2g 加水至 1L，pH 值調至 7.3
5. PBST: 10× PBS 200mL 加水至 2L，再加入 1000  $\mu$ L tween 20
6. Running gel(12%): Buffer(a) 2.88mL, Buffer(b)3.6mL, d2H2O 3.12mL, 20%SDS 48  $\mu$ L, 10%AP 31.68  $\mu$ L, TEMED 6.48  $\mu$ L
7. stacking gel: Buffer(a) 298  $\mu$ L, Buffer(c) 298  $\mu$ L, d2H2O 1888  $\mu$ L, 20%SDS 12  $\mu$ L, TEMED 24  $\mu$ L
8. A1 buffer: Tris 1.8g, d2H2O 450mL, MeOH 50mL, pH=10.6, total=500mL
9. A2 buffer: Tris 1.5g, d2H2O 450mL, MeOH 50mL, pH=10.1, total=500mL
10. c buffer: Tris 1.45g, Glycine 7.25g, 20%SDS 1.25mL, MeOH 50mL, pH=8.35
11. 一級抗體：GAPDH、PARP、Bax
12. 二級抗體：rabbit、mouse

### (二)黃柏莖切片萃取物溶液處理的血癌細胞樣品

1. 將血癌細胞(THP-1 及 HL-60)培養於 6 公分細胞培養皿(每個約  $1 \times 10^6$  cells 共 4mL)，再加入配置好的黃柏莖切片萃取物溶液(THP-1 調整濃度為 1000  $\mu$ g /mL，HL-60 調整濃度為 250  $\mu$ g /mL)。
2. 三小時及六小時的血癌細胞各培養兩盤：二十四小時的血癌細胞培養三



盤，再加上兩盤不加藥的對照組，總共是九盤細胞。

3. 將細胞盤放入細胞培養箱中。
4. 分別於三小時、六小時、二十四小時後取出細胞盤。

### (三)細胞蛋白質萃取

1. 細胞取出後離心，倒掉上清液。
2. 加入 lysis buffer 使細胞內蛋白質溶解出來。
3. 利用試管燒瓶震盪器高速震盪將細胞徹底打破。
4. 高速離心(12000rpm，15 分鐘)。
5. 吸取上清液即為總蛋白質萃取物。

### (四)蛋白質定量分析

1. 取 96 well plate，依蛋白質定量表配置不同濃度之牛血清白蛋白(BSA)標準品作為預測定蛋白質濃度對照標準。
2. 將預測定蛋白質稀釋成適當濃度。
3. 加入 200  $\mu$ L protein assay，充分混合。
4. 暗室靜置 5 分鐘後，以多功能分光光譜儀測波長 595nm 之吸光值。
5. 利用牛血清蛋白標準品算出來的回歸曲線計算出預測定之蛋白質溶液的濃度。

### (五)製膠、電泳

1. 將 Running gel 加入電泳玻片，待凝膠完全後加入 stacking gel。
2. 插入齒梳。
3. 電泳槽內倒入 running buffer，將電泳玻片浸泡其中。
4. 依定量後蛋白質濃度將蛋白質樣品(各 50mg)及 protein marker 注入各個電泳膠片槽溝中，兩邊多餘槽溝用 sample buffer 填滿。
5. 先以 250V, 15mA/片，跑 60 分鐘(圖五)，再以 250V, 30mA/片電泳。
6. 依所需抗體的 kDa 決定需要的範圍，再停止電泳。

### (六)蛋白質轉漬

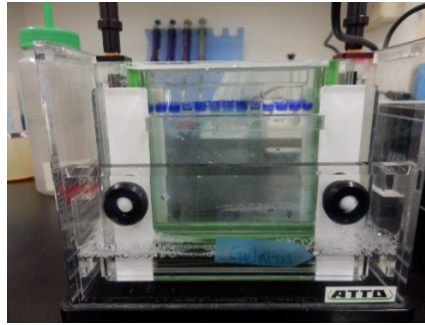
1. 活化 PVDF 膜
  - (1) 用酒精浸泡震盪 30 秒。
  - (2) 用 d<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O 震盪清洗 2 分鐘，做兩次。
  - (3) 加入 A2 buffer 震盪至電泳停止。
2. 電泳停止後取出膠，切掉 marker 以外部分，留下需要的範圍。
3. 取 A1 box 加 A1 buffer，c box 加 c buffer。
4. 各放兩張濾紙潤濕。
5. 取一張濾紙用 A2 buffer 潤濕。
6. 取出電極板，由下往上依次為：經 A1 buffer 潤過的濾紙、經 A2 buffer 潤過的濾紙、PVDF 膜、膠、c buffer 潤過的濾紙。
7. 用 tube 輕滾趕走氣泡後蓋上電極板，放重物壓。
8. 70V, 200mA transfer 60 分鐘。

#### (七)免疫抗體點墨

1. 配 blocking buffer (0.3g 脫脂奶粉加 10mL PBS)，震盪至 transfer 完成。
2. transfer 完成時將 blocking buffer 倒入盒子，再將轉漬蛋白質 PVDF 膜泡入 blocking buffer，搖晃 1 小時，50rpm。
3. 用 PBST 搖晃清洗 blocking 完成的 PVDF 膜 3 次，10 分鐘/次。
4. 將一級抗體用 PBS 稀釋(皆為 1:1000)後加入 PVDF 膜。
5. 放到 4°C 冰箱過夜(放在水平式旋轉器上搖晃 6rpm)。
6. 同步驟 3 清洗 3 次。
7. 依一級抗體來源配製 5mL 二級抗體溶液(GAPDH 及 PARP 加入 rabbit 的二抗，稀釋比例為 1:8000；Bax 用 mouse 作為二抗，稀釋比例為 1:5000)。
8. 將二抗加入盒子，搖晃 1 小時，50rpm。
9. 同步驟 3 清洗 3 次。

## (八)照膠

1. 將 luminol 與 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 以 1:1 混合加入盒子內。
2. 將 PVDF 膜用塑膠夾夾起放在塑膠片上。
3. 放入凝膠成像儀，依不同抗體的螢光強度決定曝光時間。
4. 檢視細胞內各個蛋白的變化。

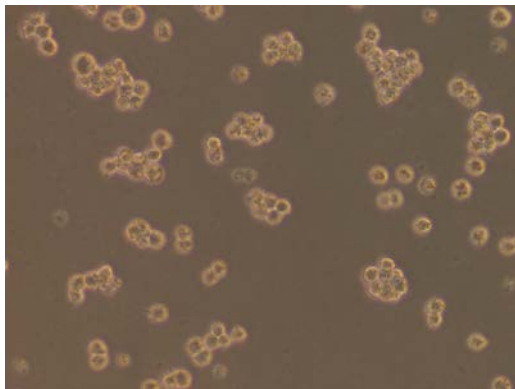


圖五 stacking

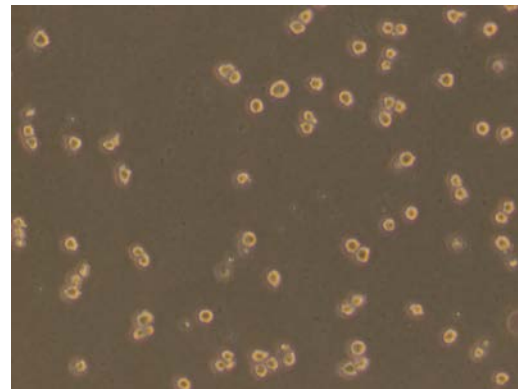
## 伍、研究結果

### 一、於加入黃柏經切片萃取物 24 小時後顯微鏡下細胞生長現象

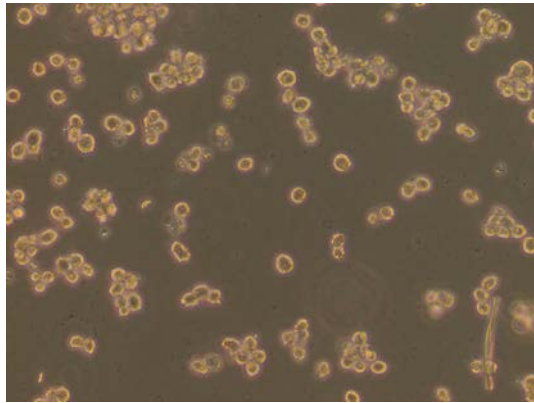
#### (一)THP-1



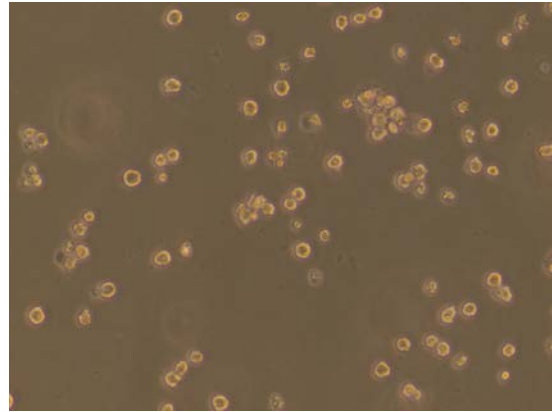
圖六-1 未經過黃柏莖切片萃取物處理  
的 THP-1



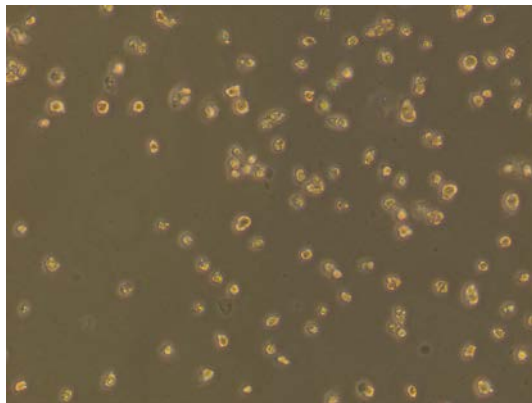
圖六-2 加入 125 μg / mL 黃柏莖切片  
萃取物的 THP-1



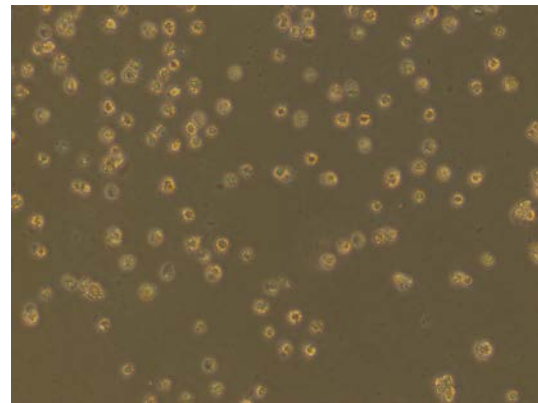
圖六-3 加入  $250 \mu\text{g}/\text{mL}$  黃柏莖切片  
萃取物的 THP-1



圖六-4 加入  $500 \mu\text{g}/\text{mL}$  黃柏莖切片  
萃取物的 THP-1



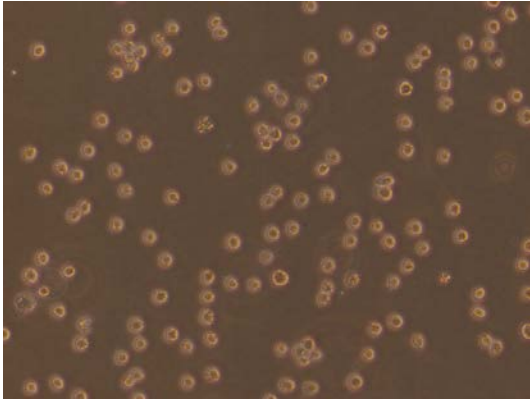
圖六-5 加入  $750 \mu\text{g}/\text{mL}$  黃柏莖切片  
萃取物的 THP-1



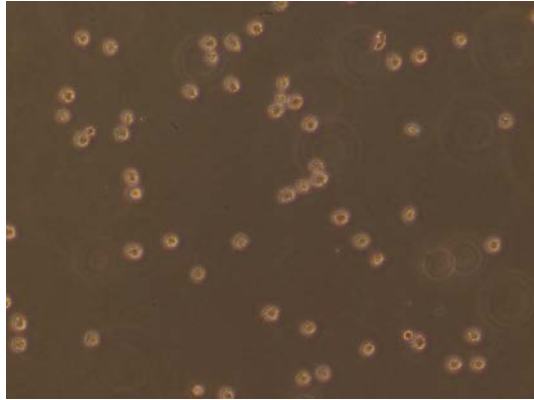
圖六-6 加入  $1000 \mu\text{g}/\text{mL}$  黃柏莖切片  
萃取物的 THP-1

註：以上所有圖之放大倍率皆為  $200\times$

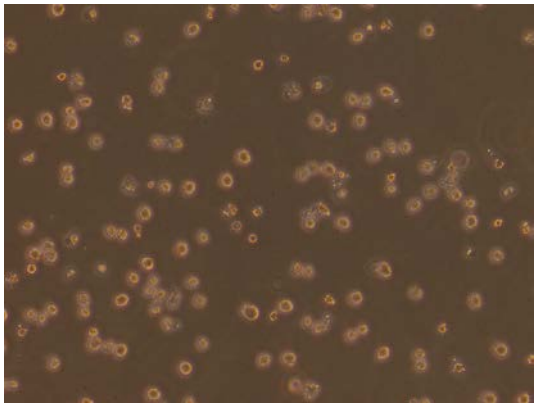
(二)HL-60



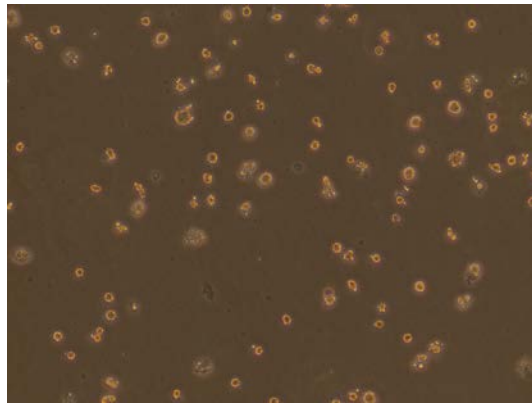
圖七-1 未經過黃柏莖切片萃取物處理的 HL-60



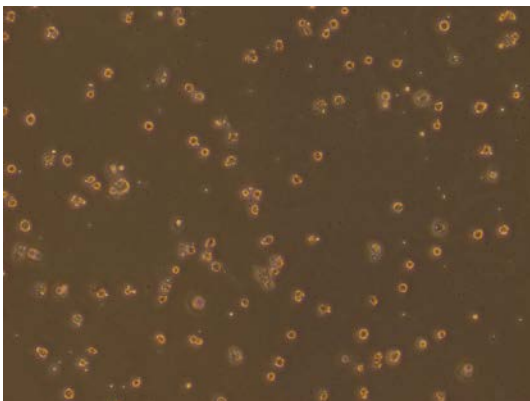
圖七-2 加入 125 µg / mL 黃柏莖切片萃取物的 HL-60



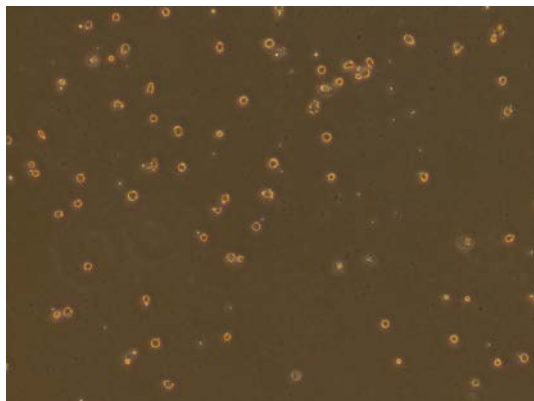
圖七-3 加入 250 µg / mL 黃柏莖切片萃取物的 HL-60



圖七-4 加入 500 µg / mL 黃柏莖切片萃取物的 HL-60



圖七-5 加入 750 µg / mL 黃柏莖切片萃取物的 HL-60



圖七-6 加入 1000 µg / mL 黃柏莖切片萃取物的 HL-60

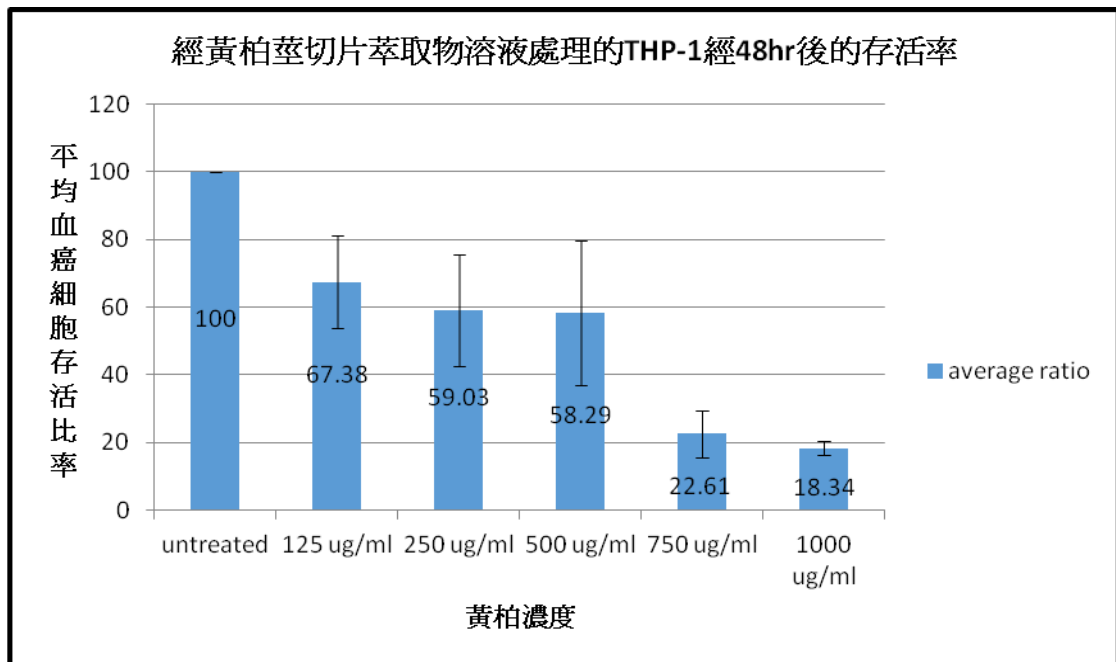
註：以上所有圖之放大倍率皆為 200×

(三) 藉由倒立式相位差顯微鏡觀察細胞型態發現，相對於對照組，THP-1 在加入  $750 \mu\text{g} / \text{mL}$  黃柏莖切片的萃取物溶液，HL-60 加入  $250 \mu\text{g} / \text{mL}$  黃柏莖切片的萃取物溶液時，大量細胞即有型態不完整、細胞膜皺縮及空泡化的現象。

## 二、血癌細胞植株 THP-1 之 MTT 吸光值(波長 575nm)

(一) 此 MTT 實驗做了三次，將各濃度三次的 ratio 四捨五入至小數點以下第二位後繪製成下圖(圖八)

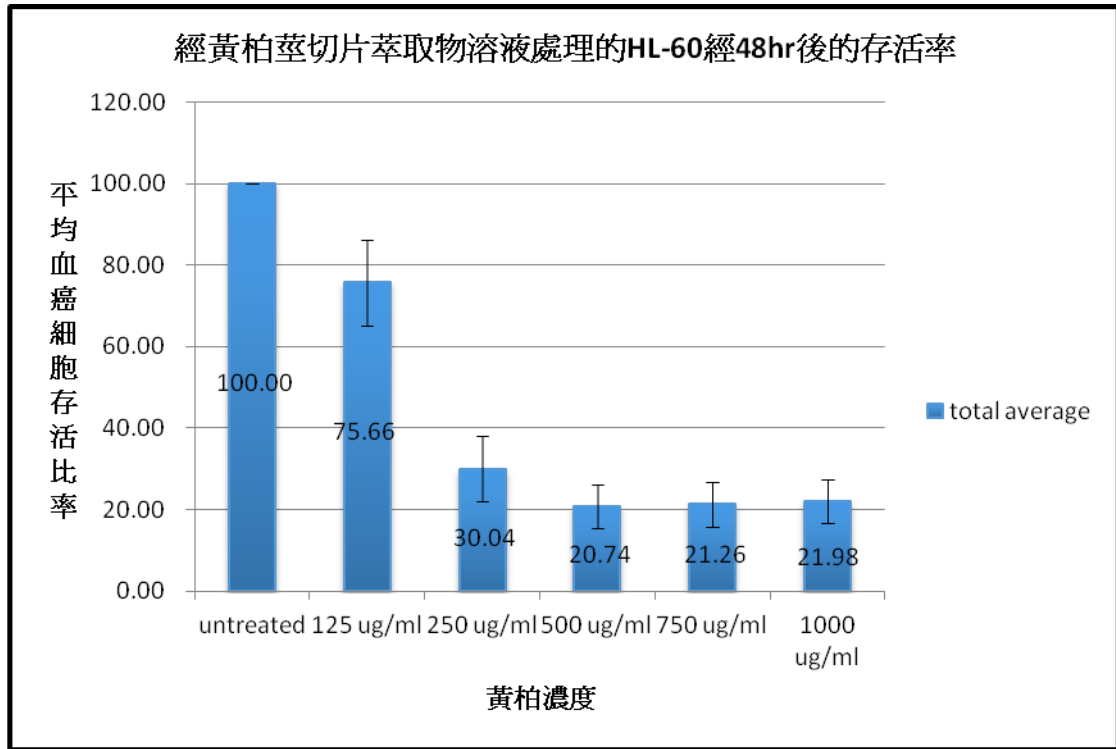
(二) 相對於 control 組之 MTT 數值比例越大，活細胞數量越多。



圖八

### 三、血癌細胞植株 HL-60 之 MTT 吸光值

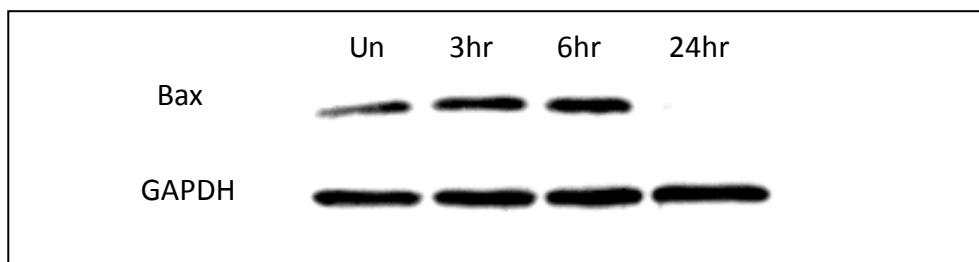
(一) 此 MTT 實驗做了三次，將各濃度三次的 ratio 四捨五入制小數點以下第二位後繪製成下圖(圖九)。



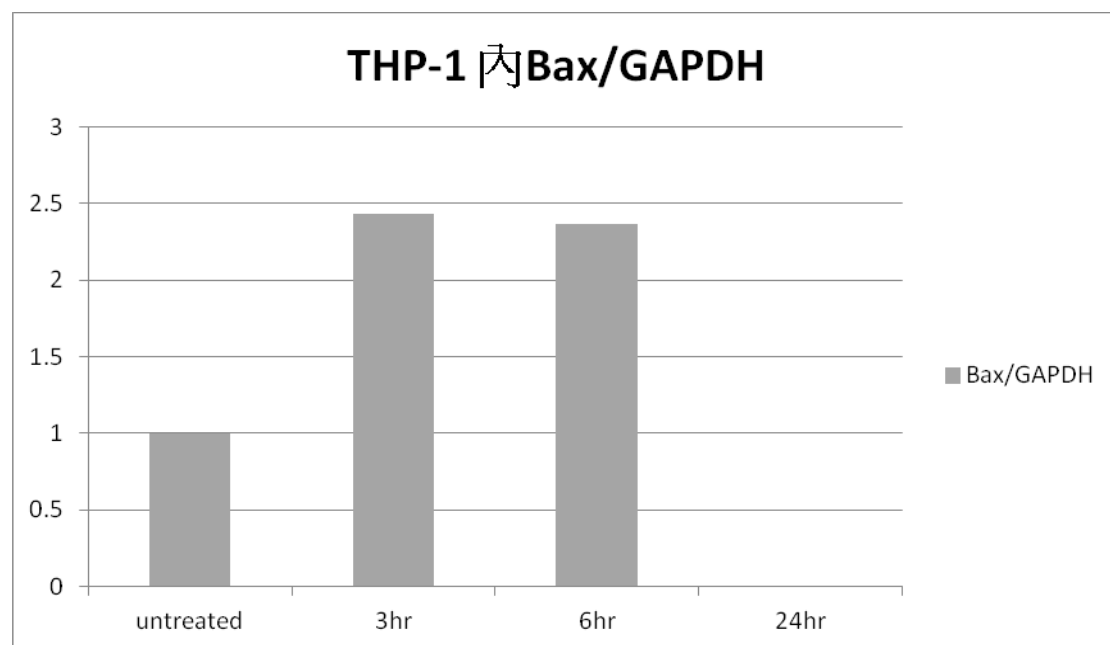
圖九

四、經不同濃度黃柏莖切片萃取物溶液處理的血癌細胞 THP-1 和 HL-60，經 48 小時後，測定細胞存活率(MTT)，發現不論是 THP-1 或 HL-60，隨著劑量的增加，細胞存活率都呈現下降趨勢。THP-1 在加入 500  $\mu\text{g} / \text{mL}$  黃柏莖切片萃取物溶液後，細胞存活率尚有約 60%，相對於加入 250  $\mu\text{g} / \text{mL}$  萃取物即有 70% 死亡率的 HL-60，黃柏莖切片萃取物溶液對 THP-1 之抑制效果較差。

五、黃柏莖切片萃取物溶液對血癌細胞 THP-1 之 Bax、PARP 基因表現之影響



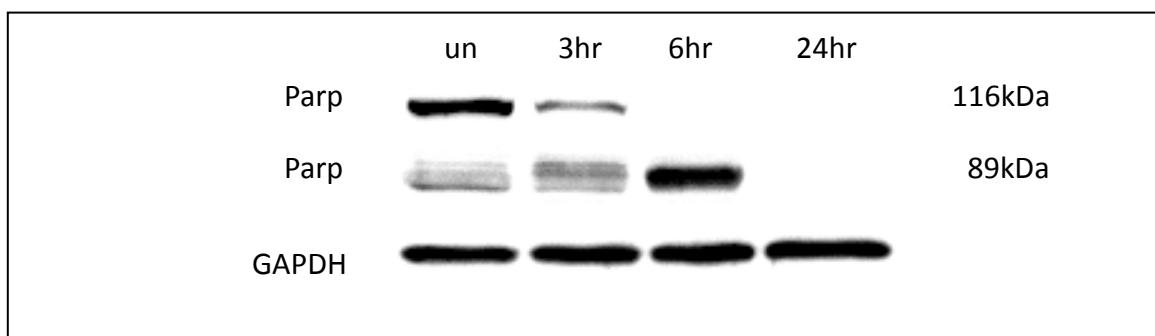
圖十 黃柏莖切片萃取物溶液對血癌細胞 THP-1 內 Bax 基因表現之影響(GAPDH 為細胞內恆定蛋白質，在此做為對照基準來比較)



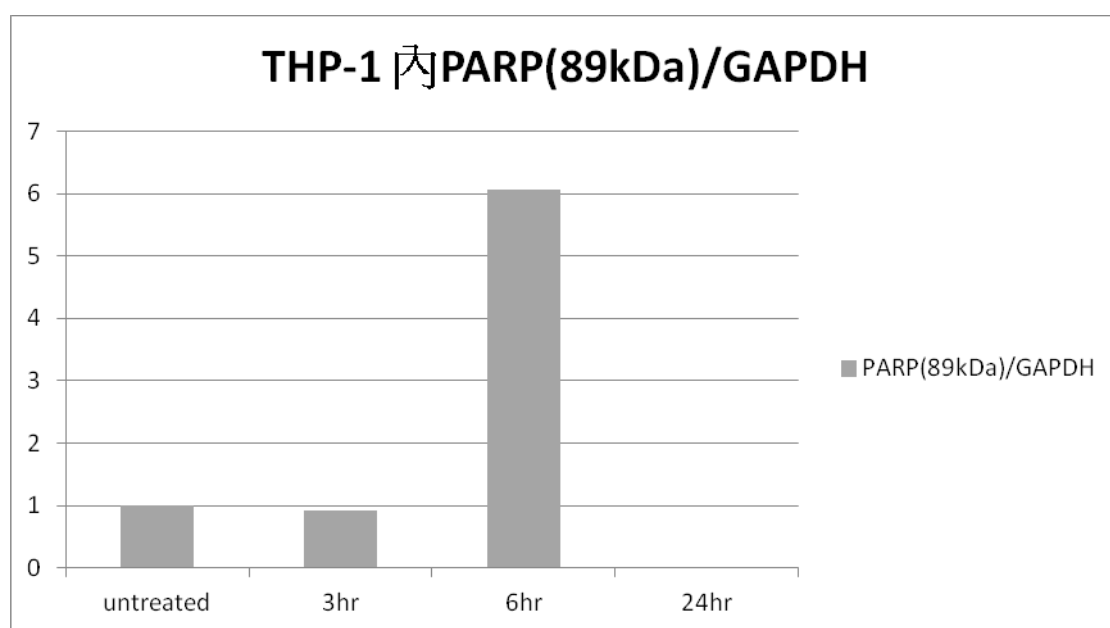
圖十一 將對照組 Bax/GAPDH 的含量訂為 1，實驗組的含量再依比例推算。

由圖得知，隨著時間增加，Bax 在細胞內含量隨著增加，至 24 小時完全無蛋白質表現。



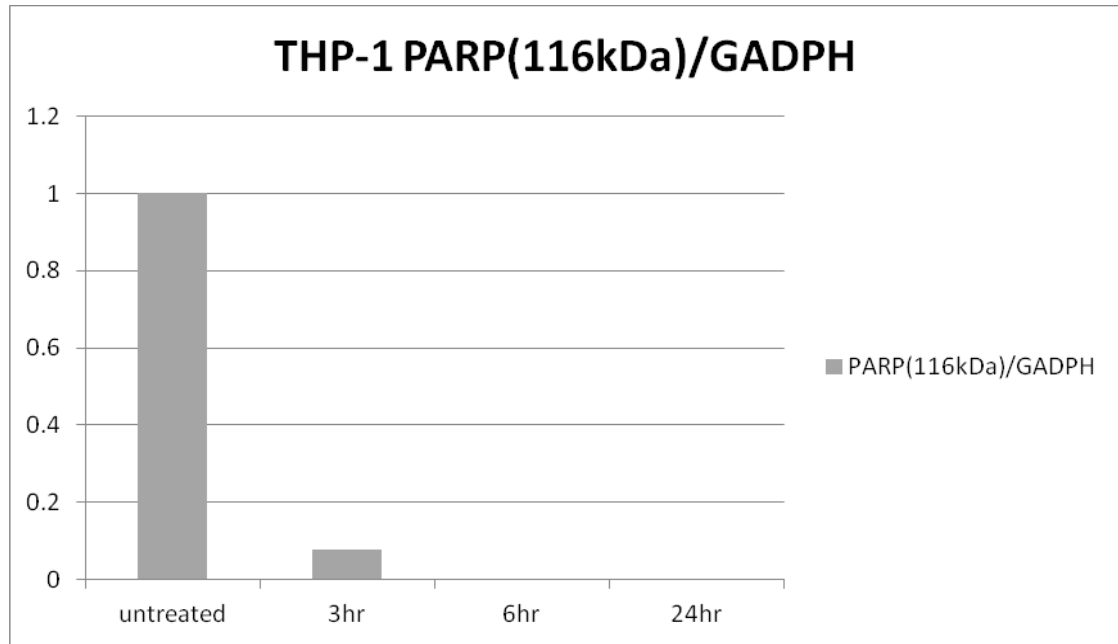


圖十二 黃柏莖切片萃取物溶液對血癌細胞 THP-1 PARP(89kDa)基因表現之影響  
(GAPDH 為細胞內恆定蛋白質，在此做為對照基準來比較)



圖十三 將對照組 PARP(89kDa)/GAPDH 的含量訂為 1，實驗組的含量再依比例推算。

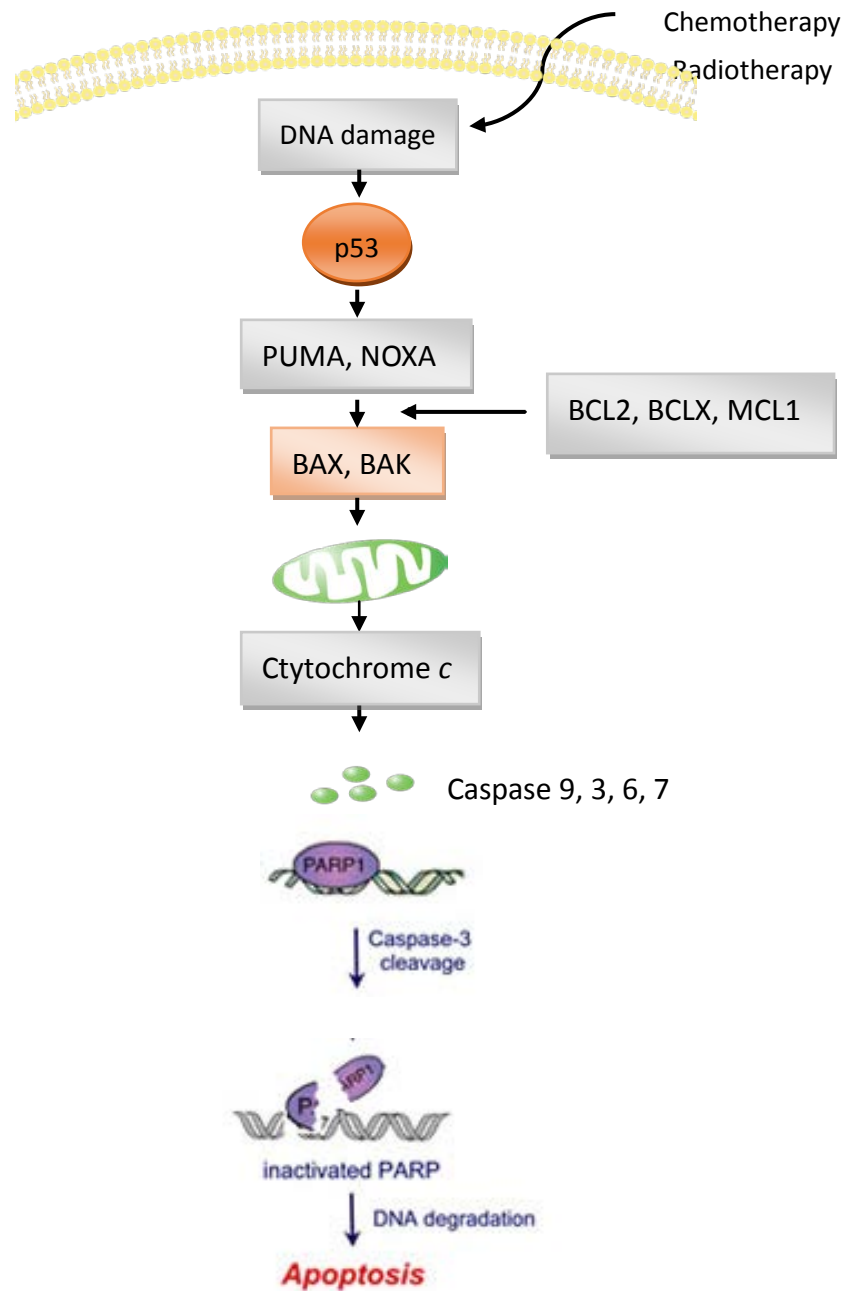
由圖得知，隨著時間增加，分子量為 89kDa 的 PARP 在細胞內含量隨著增加，至 24 小時完全無蛋白質表現量。



圖十四 將對照組 PARP(116kDa)/GAPDH 的含量訂為 1，實驗組的含量再依比例推算。

由圖得知，隨著時間增加，分子量為 116kDa 的 PARP 在細胞內含量隨著減少，至 6 小時即及 24 小時完全無蛋白質表現。

## 陸、討論



圖二十 細胞凋亡過程示意圖(參考自 LiuLabStudy of Poly(ADP-ribose) Polymerase-1, Ashkenazi A. Nat Rev Cancer 2002;2:420 - 430.)

由於時間掌控不佳，因此只有 THP-1 進一步用西方墨點法測定細胞內各個控制細胞凋亡的關鍵基因含量。

GAPDH 為細胞內糖解作用的產物，也是細胞內維持恆定的蛋白質，因此我們拿它來做為基準。Bax 為細胞內啟動凋亡的因子，隨著加藥時間的增加，細胞

內 Bax 的含量也隨之增加。PARP 為一種 DNA 聚合酶，經由 BAX 等一連串的活化，會導致分子量為 116kDa 的 PARP 斷裂為分子量為 89kDa，雖然 HL-60 並未經過西方墨點法的測試，但 MTT 的實驗結果顯示黃柏莖的萃取物對 HL-60 的毒殺效果優於 THP-1，因此我們或許可以推論 HL-60 西方墨點法的實驗結果應會比 THP-1 更好。

二、在西方墨點法的實驗結果顯示，THP-1 在經過黃柏莖切片溶液處理後六小時，THP-1 內的 PARP(116kDa)已完全消失，且實驗結果也顯示極高含量的 PARP(89kDa)，推測是完全斷裂為 89kDa 的 PARP；24 小時後 THP-1 內完全無 Bax 及 PARP 的蛋白質表現，推測可能是黃柏莖切片的萃取物或細胞內的蛋白酶體將之分解，但根據過去研究，細胞內的蛋白酶體若被抑制則會誘導細胞凋亡，而本實驗結果也確實顯示莖切片萃取物會導致 THP-1 凋亡，故 Bax 及 PARP 消失的原因應與黃柏莖切片萃取物有關，而非蛋白酶體將之降解。

三、根據文獻資料，黃柏中有一種稱為小檗鹼的化學物質，小檗鹼(Berberine)為異奎啉(isoquinoline)類的生物鹼，雖然我們並未分離出黃柏內真正導致細胞凋亡現象的物質為何，但過去研究報告指出小檗鹼具有抗菌、降血壓、抗發炎反應與抗癌等生物活性，如小檗鹼降低 COX-2 蛋白的表現也抑制了口腔癌細胞生長，並具有抗發炎效果。又如小檗鹼可使肝腫瘤 HepG2 細胞存活率下降至 50%。以及抑制肺癌細胞的生長等等。因此我們認為可能是黃柏中的小檗鹼抑制 THP-1 及 HL-60。

四、目前治療 急性骨髓性白血病 (包含急性未成熟骨髓芽球性白血病(HL-60)及急性單核球性白血病(THP-1))首選的藥物是 Arabinoside cytosine (Ara-c) 加上 Daunorubicin。但上述幾種藥物治療運用的原理與抑制癌細胞分裂較為有關，鮮少著重於直接讓血癌細胞凋亡，而血癌較少需要手術治療(風險較高，年長及年幼者不建議)。或許已有醫學研究發現直接讓癌細胞凋亡並無法有效益或有效率的減緩病情，然而被稱為十大功勞茶的黃柏在血癌的療程中，也許搭配其他藥物的使用，還是可以是一個莫大的助益。

## 柒、結論

本研究為探討所謂有十大功勞茶之稱的黃柏對血癌細胞(THP-1 及 HL-60)是否有抑制或毒殺效果。利用觀察細胞型態、數細胞、細胞存活率測定(MTT)等初步實驗發現細胞有凋亡的現象、明顯減少及存活率下降，顯示黃柏對血癌細胞確實有抑制效果，經過西方墨點法發現 Bax 及 PARP 的含量隨反應時間增加明顯下降，證實了黃柏莖的萃取物會引發細胞凋亡，然而這些只是最初步的研究結果，而且本實驗並未探討黃柏莖的萃取物是否也會傷害人體正常細胞，因此黃柏在對抗血癌細胞 THP-1 及 HL-60 的功效或許有發展為抗癌藥物的潛力，但仍須經過更多深入的研究及動物實驗方可確認。

## 捌、參考資料及其他

- 一、許芷瑄(2015)．“癌”究—小花蔓澤蘭
- 二、小檗鹼抗癌．IUEM 國際超磁能生命科學研究中心．取自 [http://www.prowin.net.tw/iume/main.php?mod=adv\\_custom\\_page&func=show\\_page&site\\_id=0&page\\_id=14](http://www.prowin.net.tw/iume/main.php?mod=adv_custom_page&func=show_page&site_id=0&page_id=14)
- 三、黃柏功用．中藥三七健康網．取自 [http://www.sanqi.com.tw/chinese\\_pages/chinese\\_herb\\_introduction/recognizing\\_chinese\\_herb/HuangPo/health-huangpo.htm](http://www.sanqi.com.tw/chinese_pages/chinese_herb_introduction/recognizing_chinese_herb/HuangPo/health-huangpo.htm)
- 四、陳偉銘(2012)．小檗鹼抗癌的作用及其可能之機制．台中：中山醫學大學
- 五、吳孟修、趙瑞益(2011)．Securin 與 p53 調控蛋白酶體抑制劑所誘發之大腸癌細胞的凋亡．新竹：國立交通大學
- 六、Scott H. Kaufmann<sup>2</sup>, Serge Desnoyers, Yvonne Ottaviano, Nancy E. Davidson, and Guy G. Poirier(1993). American Association for Cancer Research: An overview[Abstract]. *Specific Proteolytic Cleavage of Poly(ADP-ribose) Polymerase: An*

*Early Marker of Chemotherapy-induced Apoptosis*<sup>4</sup>,from

<http://cancerres.aacrjournals.org/content/53/17/3976.short>

七、(圖二十)細胞凋亡過程示意(參考自 LiuLab Study of Poly(ADP-ribose)

Polymerase-1, Ashkenazi A. Nat Rev Cancer 2002;2:420 - 430.)

八、蕭宇倫 · 中華民國第53屆中小學科學展覽會作品說明書-斑馬魚上的CAG重複序列疾病模式研究

九、郭啟利(2009.10.22) · 國立陽明大學藥理學研究所 · 小檗鹼抑制 COX-2 表現及誘發口腔癌細胞進行凋亡之機轉研究

十、溫曉薇(2009) · 國立中興大學 · 黃連及鹽酸小檗鹼奈米微脂體的抗人類肝癌細胞作用之分析與細胞凋亡機制之探討

十一、梁峰賓 (1992) · 中國醫藥學院藥學研究所 · 小檗鹼對肺癌細胞生長抑制之研究

十二、台灣癌症基金會 · 取自

<http://www.canceraway.org.tw/cancerpageshow.asp?IDno=529>

十三、心血管保健諮詢網 · 取自

[http://www.allergen.com.tw/Leukemia\\_med.php](http://www.allergen.com.tw/Leukemia_med.php)

## 【評語】 052001

利用黃柏的萃取物，加到血癌細胞上，看到其影響細胞的存活，並且用西方墨點方法探討細胞凋亡蛋白質的變化，高中生能有研究的深度，相當難得，但因時間關係，實驗重覆次數不夠多。作者也知道他們所用的萃取物劑量太高，應要同時研究如此高劑量的萃取物是否也會影響正常細胞的存活。