กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่สนับสนุนทุนวิจัยในส่วนของเงินงบประมาณประจำปี 2555 และสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ และอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือต่างๆ ในการวิจัย

และขอขอบคุณคุณวินัย สมประสงค์ กลุ่มวิจัยเพื่อการคุ้มครองพันธุ์พืช กองคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างบางส่วน และจัดจำแนกและระบุสปีชีส์พืชตัวอย่างร่วมกัน ดร. พรทิพา ทิชา งานวิจัยสารบำบัดมะเร็ง สถาบันมะเร็งแห่งชาติ และศูนย์เครื่องมือ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์เซลล์ไลน์ รวมทั้งลูกศิษย์ทุกคนที่ร่วมในการวิจัย ครอบครัวที่กำลังใจ และทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องทำให้งานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ จึงขอขอบคุณมา ณ ที่นี้

สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		III
กิตติกรรมประกาศ		V
สารบัญ		VI
สารบัญตาราง		IX
สารบัญรูป		XI
บทที่ 1	**บทนำ**	1
	1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย	1
	1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
	1.3 ขอบเขตการวิจัย	3
	1.4 ทฤษฎีและกรอบแนวคิดของการวิจัย	3
	1.5 คำสำคัญของการวิจัย	3
	1.6 ประโยชน์ที่คาดจะได้รับ	3
บทที่ 2	**ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	5
	2.1 พืชในวงศ์ Acanthaceae	5
	2.2 พืชสกุลอังกาบ	7
	2.3 ตัวอย่างพืชในสกุล *Barleria*	10
	2.3.1 อังกาบ (*Barleria cristata* L.)	10
	2.3.2 เสลดพังพอนตัวผู้ (*Barleria lupulina* L.)	11
	2.3.3 อังกาบหนู (*Barleria prionitis* L.)	12
	2.3.2 สังกรณี (*Barleria strigosa* Willd.)	13
	2.4 เทคนิคที่ใช้ในการวิจัย	13
	2.4.1 เทคนิคการหาลำดับนิวคลีโอไทด์	13
	2.4.2 การหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม	14
	2.4.3 เทคนิคอาร์เอพีดี	15
	2.5 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์	15
	2.5.1 ชนิดของเซลล์ไลน์	15
	2.5.2 การวิเคราะห์ด้วยวิธี MTT	17
	2.6 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี paper disc diffusion	18
	2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
บทที่ 3	**วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง**	22
	3.1 วัสดุ อุปกรณ์	22
	3.1.1 แหล่งที่มาของตัวอย่าง	22
	3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิจัย	22
	3.1.3 เซลล์ไลน์ที่ใช้ในการวิจัย	22
	3.1.4 เครื่องแก้ว อุปกรณ์ และเครื่องมือ	23
	3.1.5 วัสดุ และสารเคมี	24
	3.2 วิธีการทดลองระดับโมเลกุล	25
	3.2.1 วิธีการสกัดดีเอ็นเอ	25
	3.2.2 การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสง	26
	3.2.3 การวิเคราะห์ขนาดชิ้นดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส	27
	3.2.4 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์	27
	3.2.5 การทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์	28
	3.2.6 การศึกษาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลำดับนิวคลีโอไทด์	28
	3.2.7 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคอาร์เอพีดี	29
	3.2.8 การศึกษาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากเทคนิคอาร์เอพีดี	29
	3.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	30
	3.3.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากใบอังกาบ	30
	3.3.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบต่อเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี paper disc diffusion	31
	3.3.3 การเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์	32
	3.3.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ด้วยวิธี MTT assay	33
บทที่ 4	**ผล และอภิปรายผลการทดลอง**	35
	4.1 แหล่งที่มาของตัวอย่าง	35
	4.2 ผลการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคระดับโมเลกุล	35
	4.2.1 ผลการตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอ	35
	4.2.2 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์	35
	4.2.3 ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์	38
	4.2.4 ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี	42
	4.3 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี	46
	4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบ	47

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.5 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์	49
4.5.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษของ mitomycin C ต่อเซลล์ไลน์	49
4.5.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบต่อเซลล์ไลน์	52
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	56
เอกสารอ้างอิง	58
ผลงานตีพิมพ์จากงานวิจัย	63