สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

1. แผนภูมิแสดงกรอบแนวคิดของแผนงานวิจัยฯ 13

โครงการวิจัยย่อยที่ 1 : การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย

ภาพที่

1 ตัวอย่างจากเลือดจระเข้พันธุ์ไทย2 แบบ คือ (1) ส่วนซีรัมจระเข้ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C (S) และผ่านการทำ Freeze dry (SF) (2) ส่วนเม็ดเลือดจระเข้ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C (B) ที่นำมาผ่านการทำ Freeze dry (BF) 39

2 **ภาพที่ 2** รูปแบบของโปรตีนจากจระเข้พันธุ์ไทย ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 (ก) และที่ผ่านกระบวนการทำระเหิดแห้ง (ข) โดยเป็นส่วนของซีรัม S, SF (1,2) และส่วนของเม็ดเลือด B, BF (3) เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) โดยที่ Lane M แสดงโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker, Mr) 39

3 รูปแบบของโปรตีนจากส่วนซีรัมจระเข้ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C (S) และซีรัมที่ผ่านการทำ Freeze dry (SF) เมื่อ 1) เป็นซีรัมก่อนการคัดแยกโปรตีน 2) โปรตีนที่ได้จากการกำจัด Albumin และ Ig G ออกจากซีรัม 3) โปรตีนจากการล้างโปรตีนที่จับกับคอลัมภ์ บน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) โดย Mr คือโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker) ซึ่งแสดงน้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) 40

4 รูปแบบโปรตีนที่พบจากผล Two dimensional gel electrophoresis ของซีรัมจระเข้พันธุ์ไทย โดยใช้400 ug ของซีรัมโปรตีน ดำเนินการแยกโปรตีนในระนาบแรกด้วย IEF .ใช้ strip ขนาด 7 เซนติเมตร (pH 3 – 10) ตามด้วยการแยกโปรตีนในระนาบสองด้วย 10% SDS-PAGE ย้อมสีด้วย Coomassie Brilliant Blue (CBB) จุดโปรตีนต่างๆ จากเจลที่ถูกย้อมสีถูกตัดออกไป และถูกย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซิน เพื่อทำการวิเคราห์หาชนิดของโปรตีนโดย MALDI-TOF/MS 41

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 : การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต

ภาพที่ หน้า

1 คัดเลือกจระเข้ในบ่อเพาะเลี้ยงและจัดกลุ่มจระเข้ 63

2 ก. จระเข้น้ำจืดพันธ์ไทยอายุ 4-5 ปี ที่มีสุขภาพดี ที่นำมาคัดเพื่อจำแนกเข้ากลุ่มทดลอง ข. จระเข้ที่ได้เลือกเข้ากลุ่มทดลองและทำเครื่องหมายติดหางจระเข้ (ลูกศร) 63

3 ลักษณะของบ่อจระเข้ที่ใช้ในการศึกษาวิจัย 64

4 การเจาะเลือดจระเข้โดยใช้กระบอกเจาะเก็บเลือด 64

5 การเจาะเลือดจระเข้โดยใช้ หัวเข็มประดิษฐ์ ด้านหนึ่งต่อกับเข็มเจาะเลือด เบอร์ 16 อีกด้านหนึ่งต่อกับท่อยางซิลิโคน และใช้เครื่องปั้มแบบบีบรัด ปั้มเลือดเข้าขวดเก็บเลือด จำนวน 150 มิลลิลิตร 65

6	เครื่องวัดอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ ในบ่อทดลอง	66
7	แผนภูมิอุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส) บริเวณบ่อเลี้ยงในช่วงสัปดาห์ที่ 3 ถึงสัปดาห์ที่ 12	69
8	แผนภูมิความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย (เปอร์เซ็นต์) บริเวณบ่อเลี้ยงในช่วงสัปดาห์ที่ 3 ถึงสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง	69
9	ก) พฤติกรรม อาบแดด และ ข) พฤติกรรมลงเล่นน้ำ ของจระเข้น้ำจืดพันธ์ไทยในบ่อทดลอง	70
10	แผนภูมิแสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินหลังจากการเจาะเก็บเลือด150 มิลลิลิตร (กลุ่ม 2) เทียบกับกลุ่มควบคุม	73

โครงการวิจัยย่อยที่ 7 : การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง และฤทธิ์ต้านเชื้อ HIV จากเลือดจระเข้

ภาพที่

1	ส่วนของ Whole blood, Serum และ PE ละลายในตัวทำละลาย DMSO	95
2	ส่วนของ Whole blood, Serum และ PE ละลายในตัวทำละลาย 1 M HCl	96
3	ส่วนของ Whole blood, Serum และ PE ละลายในตัวทำละลาย Absolute Ethanol	96
	แผนภูมิที่ 1 แสดง การละลายสารตัวอย่าง	97
4	แสดง 96 well plate ที่ทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ด้วยวิธี SRB assay	98
	กราฟที่ 1 เปรียบเทียบค่า % การยับยั้งความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ที่ความเข้มข้น 50 µg/ml ของตัวอย่างเลือดจระเข้ ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7), เซลล์มะเร็งปอด (COR-L23), เซลล์มะเร็งตับ (HepG2) และมะเร็งปากมดลูก (Hela) (n=2)	101
	กราฟที่ 2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย % การยับยั้งความเป็นพิษต่อเซลล์ ที่ความเข้มข้น 100 และ 200 µg/ml ของตัวอย่างเลือดจระเข้ละลายด้วยตัวทำละลาย PBS ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) โดย Activate และ Inactivate ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (n=3)	106

โครงการวิจัยย่อยที่ 8 : ผลของเลือดจระเข้ต่อการงอกของเซลล์ประสาท และปกป้องการทำลายเซลล์ จากอนุมูลอิสระ

ภาพที่

	<u>กราฟ 1</u> แสดงร้อยละจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต 1 = control media , 2- 11= ซีรัมเลือดจระเข้ตัวที่ 1-10 (N= 3)	141
	<u>กราฟ 2</u> แสดงร้อยละจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต 1 = control media , 2- 11= ซีรัมเลือดจระเข้ตัวที่ 1-10 (N= 3)	141
	<u>กราฟ 3</u> แสดงร้อยละจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต 1 = control media , 2- 11= ซีรัมเลือดจระเข้ตัวที่ 1-10 (N= 3)	142
	<u>กราฟ 4</u> แสดงร้อยละจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต 1 = control media , 2- 11= ซีรัมเลือดจระเข้ตัวที่ 1-10 (N= 3)	142

กราฟ 5 แสดงร้อยละจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต แท่งที่ 1 = control media ; 2 = hydrogen peroxide 400 µM ; 3 = vit E 10 mM ; 4 = ซีรัม 4.25, mg/ml ; 5 =ซีรัม 2.15 mg/ml ; 6 =ซีรัม 0.425 mg/ml ; 7 = พลาสม่า4.25, mg/ml ; 8 = พลาสม่า 2.15 mg/ml ; 9 =พลาสม่า 0.425, mg/ml ; 10 = heparin; การทดลองที่ 3-10ใส่ซีรัม/พลาสม่า 24 ชั่วโมง แล้วจึงใส่ H_2O_2 143

กราฟ6 แสดงผลร้อยละจำนวนเซลล์ที่งอกใยประสาท เพาะเลี้ยงเซลล์ในอาหารทดลองต่างกัน กราฟแท่ง 1 = กลุ่มควบคุมใช้ DMEM + NGF 2 ng/ml ; กราฟแท่ง 2, 3,4 = ใช้ซีรัมเลือดจระเข้ขนาดความเข้มข้น 0.4, 2, 4 mg/ml + differentiated media + NGF 2 ng/ml; กราฟแท่ง 5 = ใช้ differentiated media + NGF 50 ng/ml 144

1 แสดง ผลของ ngf 2ng/ml (a,b) , ngf 50 ng/ml (c,d), ซีรัม 4 mg/ml (d,e) ต่อการงอกของเซลล์ PC12 เลี้ยงใน differentiative media ในเวลา 2 วัน 144

2 แสดง ผลของ ngf 50 ng/ml (f, g) ต่อการงอกของเซลล์ PC12 เลี้ยงใน differentiative media ในเวลา 4 วัน 145

กราฟ7 แสดงผลปริมาณโปรตีน MEK 1 เป็นร้อยละเทียบกับกลุ่มควบคุม เพาะเลี้ยงเซลล์ในอาหารทดลองต่างกัน กราฟแท่ง 1 = กลุ่มควบคุมใช้ DMEM + NGF 2 ng/ml ; กราฟแท่ง 2, 3,4 = ใช้ซีรัมเลือดจระเข้ขนาดความเข้มข้น 0.4, 2 , 4 mg/ml + differentiated media + NGF 2 ng/ml; กราฟแท่ง 5 = ใช้ differentiated media + NGF 50 ng/ml 145

โครงการวิจัยย่อยที่ 9 : การพัฒนาไส้กรอกไขมันต่ำเสริมใยอาหารที่มีสารยับยั้งเอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพจากเลือดจระเข้ไทย

ภาพที่

1 เครื่องบดเนื้อ 161

2 เครื่องสับละเอียด 162

3 ลักษณะการเกิดอิมัลชั่นในผลิตภัณฑ์เนื้อ 163

4 โครงสร้างของ Inulin 175

5 ACE inhibitor บางชนิดที่ใช้กันแพร่หลายในปัจจุบัน 180

6 Gel filtration chromatography ของ hemoglobin ของเลือดหมูที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Pepsin 182

7 ขั้นตอนการผลิตและคัดเลือกสูตรมาตรฐาน 185-186