

■公開

□密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：010201a132

行政院農業委員會九十七年度科技計畫研究報告

計畫名稱：**牛樟芝子實體之創新固態栽培技術的研發與活性成分之研究 (第2年/全程2年)**

(英文名稱) **Development of novel solid culture techniques and identification of active components of Antrodia cinnamomea**

計畫編號：**97農科-1.2.1-科-a1(32)**

全程計畫期間：**96年1月1日至97年12月31日**

本年計畫期間：**97年1月1日至97年12月31日**

計畫主持人：**張懿欣**

執行機關：**私立中山醫學大學**

合作機關：**私立弘光科技大學、國立嘉義大學**



公開

密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：010201a132

行政院農業委員會九十七年度科技計畫研究報告

計畫名稱：**牛樟芝子實體之創新固態栽培技術的研發與活性成分之研究 (第2年/全程2年)**

(英文名稱) **Development of novel solid culture techniques and identification of active components of Antrodia cinnamomea**

計畫編號：**97農科-1.2.1-科-a1(32)**

全程計畫期間：**96年1月1日至97年12月31日**

本年計畫期間：**97年1月1日至97年12月31日**

計畫主持人：**張懿欣**

執行機關：**私立中山醫學大學**

合作機關：**私立弘光科技大學、國立嘉義大學**

一、中文摘要：

樟芝(*Antrodia cinnamomea*)是台灣特有褐腐菌，只能生長在台灣常綠闊葉樹—牛樟(*Cinnamomum kanehirae*)的內壁。樟芝氣味芳香，味辛苦，子實體富含多醣體與三萜類等成分，有抗B型肝炎與防癌等功效。基於其功效以及野生樟芝子實體數量極少，加上人工栽培不易等因素，所以價格昂貴；業者往往為了採取野生樟芝而大肆盜伐牛樟樹，使臺灣特有珍貴樹種瀕臨滅絕，破壞森林多樣性與生態平衡。本為期兩年之研究計畫將分兩階段進行。第一年以嘉義大學林產科學系與森林暨自然資源學系為主，研發創新之樟芝子實體固態培養技術；研究目標是尋找樟芝最佳之栽培條件，製備成太空包培育子實體，並尋找栽培樟芝的替代經濟樹種。第二年由中山醫學大學和弘光科技大學負責，分析鑑定第一階段實驗室栽培樟芝的生物活性與功效成分；了解提升免疫力與抗腫瘤活性的樟芝成分作用機制，而配合第一階段實驗確立具有高生物活性樟芝子實體的固態培養技術。研究結果顯示，樟芝發酵液抑制癌細胞生長功效較佳；由DNA斷裂分析得知樟芝水萃物與甲醇萃取物則可較有效地誘發癌細胞之細胞自戕作用，而樟芝發酵液與樟芝水萃物則可有效抑制癌細胞在半固態培養基中形成細胞株群落的活性。提升免疫反應方面，樟芝發酵液、人工樟芝水萃物、人工樟芝甲醇萃取物與野生樟芝甲醇萃取物對癌細胞都有影響，惟野生樟芝水萃物對癌細胞的影響無顯著差異。本實驗室之研究成果不但已建立牛樟芝的最佳人工栽培條件與技術，並已證實在實驗室利用人工栽培之牛樟芝具有抗腫瘤細胞生長與誘發細胞自戕作用的活性。

二、英文摘要：

Antrodia cinnamomea is a unique brown-rot fungus species which only parasitizes in the decayed heart wood of stout camphor (*Cinnamomum kanehirae*) in Taiwan. The fruiting body of *A. cinnamomea* contains abundant polysaccharides and terpenes that are proved to have effective anti-viral function and anti-tumor activity. The price of *A. cinnamomea* therefore rocketed in the market and it has become the target of illegal harvesting. Consequently, *C. kanehirae* has become an endangered species in Taiwan due to the illegal felling. The present proposal is a 2-year project that is divided into 2 stages: the first-year project, mainly conducted by professionals from the Department of Forest Products Science and Department of Forestry and Natural Resources in National Chia-Yi University, is aimed to develop novel solid culture techniques for cultivating *A. cinnamomea*. The second-year project is executed by professionals in School of Medical Laboratory and Biotechnology, Chung Shan Medical University, and Division of Basic Medicine of Hung Kuang University. The major theme is to identify the effective and active anti-tumor and immune-promoting component(s) of *A. cinnamomea* which is cultured and provided in Lab. by the first year project. The active components or the ratio of secondary metabolites of *A. cinnamomea* derived from liquid or solid culture will be further compared in the second stage of the project for the establishment of solid culture techniques that can nurture *A. cinnamomea* with high content of active components in large scale. The implementation of this project can not only uncover the mechanism of anti-tumor and immune-promoting components from *A. cinnamomea*, but also establish effective solid culture techniques that can culture *A. cinnamomea* with high content of active components and secondary metabolites in large scale. By establishing the effective solid culture techniques to produce *A. cinnamomea* in large scale, the price of *A. cinnamomea* can not only be decreased, the crisis in which *C. kanehirae* extinction resulted from illegally harvesting *A. cinnamomea* as well as the destroy of forest ecology in Taiwan can also be saved and solved.

三、計畫目的：

樟芝乃屬於高經濟價值的藥用真菌之一，市場上的價格動輒數十萬元不等。但因我國將牛樟列為珍貴稀有樹種之一，所以在菌種之取得更加不易。另外，近來國內生物科技技術興起，培育技術日新月異。目前國內生物科技業者利用大型深層發酵槽來大量培養樟芝菌絲體，所以市場上大多數有關於樟芝的產品皆由深層發酵所得到的菌絲體初級代謝物。本研究已於96年完成試驗室人工樟芝培養之最適性，97年將探討實驗室人工樟芝與野生樟芝的有效成分、抗癌的功能性測試與提升免疫反應試驗。

四、重要工作項目及實施方法：

1.試驗材料: 實驗室人工培養樟芝

- (1) 試驗菌株：由林試所生物組張東柱博士提供樟芝 *Antrodia cinnamomea* Chang T T & W N Chou 菌體(採集於高雄縣六龜鄉)。
- (2) 固態培養基備製：秤取下列MPA+培養基(主要成份為麥芽抽出物30 g/L、蛋白胨5 g/L、瓊脂8 g/L、磷酸二氫鉀3 g/L、維他命B1 10 mg及硫酸鎂1.5 g/L)加入去離子水，將培養液倒入燒瓶，放置於高溫高壓滅菌釜中蒸煮(溫度121°C、壓力1.5 kg/cm²、30分鐘)，進行滅菌。滅菌後將培養液倒入培養皿內(25cc)，待冷卻凝固即完成培養基製備。
- (3) 樟芝栽培：於無菌操作臺中用解剖刀分別將樟芝菌絲體分割為5 mm × 5 mm大小，分別將樟芝菌絲體接種至培養基中心並加以密封，置於生長箱中以30±1°C培養至第七週，作為後續實驗之原料。
- (4) 野生樟芝：購置於台灣樟菇股份有限公司。
- (5) 野生與人工栽培樟芝萃取液製備
以上述在實驗室人工栽培之樟芝與野生樟芝為試驗材料，首先將培養於三角瓶中之樟芝子實體與培養液分開，將所得培養液離心處理(4°C, 8000 rpm 15分鐘)後，取上清液，再以冷凍乾燥機處理為粉末狀態，此及為樟芝發酵液萃取物。樟芝子實體經水洗及冷凍乾燥處理，取10 g以均質機打成碎片，加入2L之去離子水，再以超音波破碎機處理以破碎細胞壁，將處理完之液體裝入三角瓶中，置於震盪箱中以30°C萃取24 hr，以Whatman #2濾紙抽氣過濾，過濾液用冷凍乾燥機處理為粉末狀態，此及為樟芝水萃物。取10 g以均質機打成碎片，加入2 L之99%甲醇，再以超音波破碎機處理以破碎細胞壁，將處理完之液體裝入三角瓶中，置於震盪箱中以30°C萃取24 hr，以Whatman #2濾紙抽氣過濾後，再以減壓濃縮機濃縮至乾，得膏狀物，此及為樟芝甲醇萃取物。
- (6) 癌症細胞株
本實驗將以2005年衛生署癌症死因統計之前三名：肺癌(H1299非小細胞肺癌)、肝癌(HepG2肝癌細胞)與大腸癌(CaCO2結腸腺細胞癌)為實驗細胞模式，探討牛樟芝萃取液的抗癌功效。

2.試驗方法

將上述癌細胞株以含有不同濃度的樟芝萃取物在37°C培養24~72小時後，以下列方式分析牛樟芝蛋白質萃取液的抗癌活性。

(1)細胞生長曲線

將細胞種在含有樟芝萃取物之後，每隔24小時計算總細胞數，並以trypan blue染色計算活細胞數目；紀錄上述數據，作圖了解每種癌細胞株在樟芝條件培養基中的生長情形。

(2)DNA斷裂分析

將細胞置於含有0.5 ml lysis buffer (10 mM Tris buffer pH8.0、100 mM NaCl、0.5% SDS、25 mM EDTA, pH8.0)的試管中，並加入10 µl的proteinase K (10 mg/ml)，置於56°C作用18小時，使細胞完全水解。再以0.5 ml phenol/chloroform/isoamyl alcohol (25:24:1)溶液萃取3次，

取上清液加入1/10倍體積的3 M NaOAc (pH5.2)及2倍體積的ice cold 100 %酒精，將DNA沉澱出，並以1.5% agarose gel電泳法檢測DNA斷裂情形。

(3)半固態培養基上的細胞株落數分析(assay of clonogenicity)
將細胞種在含有樟芝萃取物的半固態培養基上，在37 oC培養14~21天，觀察細胞生長之情形。

(4)cell cycle assay

將細胞種在含有樟芝萃取物的培養基上(10cm dish)，各別收集24、48、72小時的細胞，利用cool PBS將細胞收集下來，加入4 μ g/ml PI + 0.5 mg/ml RNase A 溶於Flow專用PBS Buffer中，包錫箔紙於37°C培養30min，再用filter過濾，上Flow cytometry assay。

3.統計分析及計算

統計分析以SPSS 10.0版本為主，進行變異數分析，並以Duncan s test來檢定不同處理時的顯著差異效果。

五、結果與討論：

1.細胞生長曲線

利用trypan blue測試H1299、HepG2與CaCO₂對樟芝萃取物(發酵液、子實體水萃與甲醇萃)培養於6 well microplate中經24、48、72hr的生長狀況。因為細胞生長速率不同所以選用不同細胞數作為實驗的細胞數。H1299使用30000 cell/ml；HepG2使用75000cell/ml與CaCO₂使用50000cell/ml。結果顯示，H1299、HepG2與CaCO₂對樟芝發酵液1 μ g/ml培養48hr都不會影響細胞存活率；對樟芝發酵液50 μ g/ml培養48hr細胞就有顯著的差異(圖1.2.3)。選用樟芝發酵液50 μ g/ml作為後續實驗的濃度。

H1299、HepG2與CaCO₂對樟芝水萃物100 μ g/ml培養48hr都不會影響細胞存活率；對樟芝水萃物500 μ g/ml培養48hr細胞有顯著的差異(圖4.5.6)。

H1299、HepG2與CaCO₂對樟芝甲醇萃物500 μ g/ml培養48hr細胞有顯著的差異(圖7.8.9)。

2.DNA斷裂分析

將H1299、HepG2與CaCO₂處理樟芝萃取物(發酵液、子實體水萃與甲醇萃)培養於10cm dish經48hr之後，將細胞刮下，利用DNA Ladder方法觀察DNA斷裂的情形。(圖10)H1299細胞處理樟芝發酵液(50 μ g/ml)48hr之後DNA斷裂的情形，N為negative control沒有處理任何藥品，P為positive control利用1 μ M的Dexamethasone誘導細胞凋亡(Brown et al., 1993)，S為處理樟芝發酵液

(50 μ g/ml)。結果顯示，樟芝發酵液(50 μ g/ml)確實會使H1299細胞造成DNA斷裂的情形。HepG2細胞處理樟芝發酵液(50 μ g/ml)48hr之後DNA斷裂的情形。結果顯示，樟芝發酵液(50 μ g/ml)確實會使HepG2細胞造成DNA斷裂的情形。CaCO₂細胞處理樟芝發酵液(50 μ g/ml) 48hr之後DNA斷裂的情形。結果顯示，樟芝發酵液(50 μ g/ml)確實會使CaCO₂細胞造成DNA斷裂的情形。

(圖11)H1299、HepG2、CaCO₂細胞處理樟芝水萃物(700,500,300,100 μ g/ml)與樟芝甲醇萃物(700,500,300,100 μ g/ml)48hr之後DNA斷裂的情形，N為negative control沒有處理任何藥品，P為positive control利用1 μ M的Dexamethasone誘導細胞apoptosis(Brown et al., 1993)，S為處理樟芝水萃物(700,500, 300,100 μ g/ml)與樟芝甲醇萃物(700,500,300,100 μ g/ml)。結果顯示，H1299處理樟芝甲醇萃物之DNA ladder的情形比樟芝水萃物顯著。HepG2處理樟芝水萃物與甲醇萃物都有DNA ladder情形。CaCO₂處理樟芝水萃物700,500 μ g/ml的DNA ladder情形較顯著。

3.半固態培養基上的細胞株落數分析(assay of clonogenicity)

將H1299細胞種在含有樟芝萃取物(發酵液、樟芝水萃與甲醇萃)的半固態培養基上，在37°C培養14~21天，觀察細胞生長之情形。H1299對樟芝萃取物(發酵液、樟芝水萃與甲醇萃)之細胞生長情形(圖12)。結果顯示，H1299培養在不同濃度樟芝發酵液(500,300,100,50,10 μ g/ml)的半固態培養基中，隨樟芝發酵液濃度愈高細胞株群落愈少，在500,300 μ g/ml濃度中H1299幾乎沒有細胞株群落，而10 μ g/ml濃度的細胞株群落與控制組無顯著差異。

H1299培養在不同濃度樟芝水萃物(700,500,300,100 μ g/ml)的半固態培養基中，隨樟芝水萃物濃度愈高細胞株群落愈少，到100 μ g/ml濃度H1299細胞才開

始有細胞株群落的形成。

H1299培養在不同濃度樟芝甲醇萃取物 (700,500,300,100 $\mu\text{g/ml}$)的半固態培養基中，在300,100 $\mu\text{g/ml}$ 濃度H1299細胞株群落明顯較控制組少。

4.cell cycle assay

將H1299、HepG2與CaCO₂處理人工與野生樟芝萃取物(發酵液、子實體水萃與甲醇萃)培養於10cm dish經24,48,72hr之後，將細胞刮下，利用Flow assay方法觀察細胞週期的情形。(圖13~23)

樟芝發酵液方面，對三種癌細胞在50 $\mu\text{g/ml}$ 濃度，就有sub-G1增加的情形，表示誘導細胞凋亡。(圖13.14.15)

人工樟芝水萃物與甲醇萃取物方面，需要500 $\mu\text{g/ml}$ 濃度在癌細胞才有sub-G1增加的情形，兩者以人工樟芝水萃物的效果較好。(圖16~21)

野生樟芝方面，野生樟芝水萃物500ug/ml對癌細胞(H1299與CaCO₂)是沒有影響的。野生樟芝甲醇萃取物50ug/ml對CaCO₂細胞有顯著的影響(圖23)，但是對H1299細胞處理野生樟芝甲醇萃取物100ug/ml卻沒有影響(圖22)。

六、結論

牛樟芝萃取液的抗癌功效與活性方面，針對樟芝發酵液、樟芝水萃物與甲醇萃取物、靈芝水萃物與黑木耳水萃物對肺癌(H1299非小細胞肺癌)、肝癌(HepG2肝癌細胞)與大腸癌(CaCO2結腸腺細胞癌)的生長影響。DNA斷裂分析方面，利用不同濃度之樟芝發酵液、樟芝水萃物與甲醇萃取物培養於H1299、HepG2與CaCO2細胞，觀察是否可以造成DNA斷裂的情形。半固態培養基方面，利用不同濃度之樟芝發酵液、樟芝水萃物與甲醇萃取物培養於H1299細胞，觀察細胞株群落的生長情形。人工與野生樟芝萃取物培養於H1299、HepG2與CaCO2細胞，觀察細胞週期的情形。茲將研究結果整理如下：

1.細胞生長曲線方面

樟芝發酵液(100,50 $\mu\text{g/ml}$)、樟芝水萃物(700,500 $\mu\text{g/ml}$)與樟芝甲醇萃取物(700,500 $\mu\text{g/ml}$)都有抑制H1299、HepG2與CaCO2細胞生長的效果，以樟芝發酵液較具有功效，只需50 $\mu\text{g/ml}$ 濃度就有明顯差異。樟芝水萃物與樟芝甲醇萃取物則需要500 $\mu\text{g/ml}$ 才有效果。靈芝水萃物與黑木耳水萃物500 $\mu\text{g/ml}$ 可以抑制HepG2細胞的生長。兩者在抑制細胞生長上是無顯著差異。以抑制癌細胞生長的比較，樟芝發酵液>樟芝甲醇萃取物>靈芝水萃物>黑木耳水萃物>樟芝水萃物。

2.在DNA斷裂分析方面

樟芝發酵液(50 $\mu\text{g/ml}$)、樟芝水萃物(700,500,300,100 $\mu\text{g/ml}$)與樟芝甲醇萃取物(700,500,300,100 $\mu\text{g/ml}$)都可以使H1299、HepG2與CaCO2細胞造成DNA斷裂的情形。樟芝水萃物與甲醇萃取物700,500 $\mu\text{g/ml}$ 的DNA ladder情形較顯著。推論在細胞生長曲線方面，樟芝發酵液較佳；在DNA斷裂分析方面，樟芝水萃物與甲醇萃取物較佳。

3.半固態培養基分析方面

H1299培養在樟芝發酵液(500,300,100, 50,10 $\mu\text{g/ml}$)、樟芝水萃物與樟芝甲醇萃取(700,500,300,100 $\mu\text{g/ml}$)半固態培養基中，隨樟芝發酵液、樟芝水萃物與樟芝甲醇萃取濃度愈高細胞株群落愈少，樟芝發酵液(500,300 $\mu\text{g/ml}$)幾乎沒有細胞株群落；樟芝水萃物(700,500,300 $\mu\text{g/ml}$)也幾乎沒有細胞株群落，但樟芝甲醇萃取物則無此現象。所以可抑制癌細胞形成細胞株群落。

4.cell cycle assay

樟芝發酵液50 $\mu\text{g/ml}$ 濃度，就可以使H1299、HepG2與CaCO2細胞有sub-G1增加的情形，表示誘導細胞凋亡。人工樟芝水萃物與甲醇萃取物需要500 $\mu\text{g/ml}$ 濃度在癌細胞才有sub-G1增加的情形，兩者以人工樟芝水萃物的效果較好，樟芝水萃物可能含有某成分具有抑制癌細胞生長的功效。野生樟芝方面，野生樟芝水萃物500 $\mu\text{g/ml}$ 對H1299與CaCO2是沒有影響的。野生樟芝甲醇萃取物50 $\mu\text{g/ml}$ 對CaCO2細胞有顯著的影響，但是對H1299細胞處理野生樟芝甲醇萃取物100 $\mu\text{g/ml}$ 卻沒有影響。

七、參考文獻：

- 1.吳昇源、高郁婷、張東柱、張上鎮 (2003) 牛樟抽出物對樟芝菌絲生長影響之初步研究。中華林學季刊36(3):297-306。
- 2.林志遠 (2005) 牛樟芝子實體形成之探討。國立東華大學生物技術研究所碩士論文。
- 3.高郁婷 (2004) 牛樟抽出物及精油對樟芝菌絲及子實體生長之影響。國立台灣大學森林環境暨資源學系研究所碩士論文。
- 4.張東柱、曾顯雄 (2000) 牛樟菇之生物活性物質檢測及其初估條件探討。農委會林務局委託計畫。
- 5.蔡杏怡 (2003) 探討環境因子對紅麴菌生產二次代謝物monacolin K 之影響。朝陽科技大學應用化學系碩士班碩士論文。
6. Brown DG, Sun XM, and Cohen GM: Dexamethasone-induced apoptosis involves cleavage of DNA to large fragments prior to internucleosomal fragmentation. *Journal of Biological Chemistry* 1993;268:3037-3039

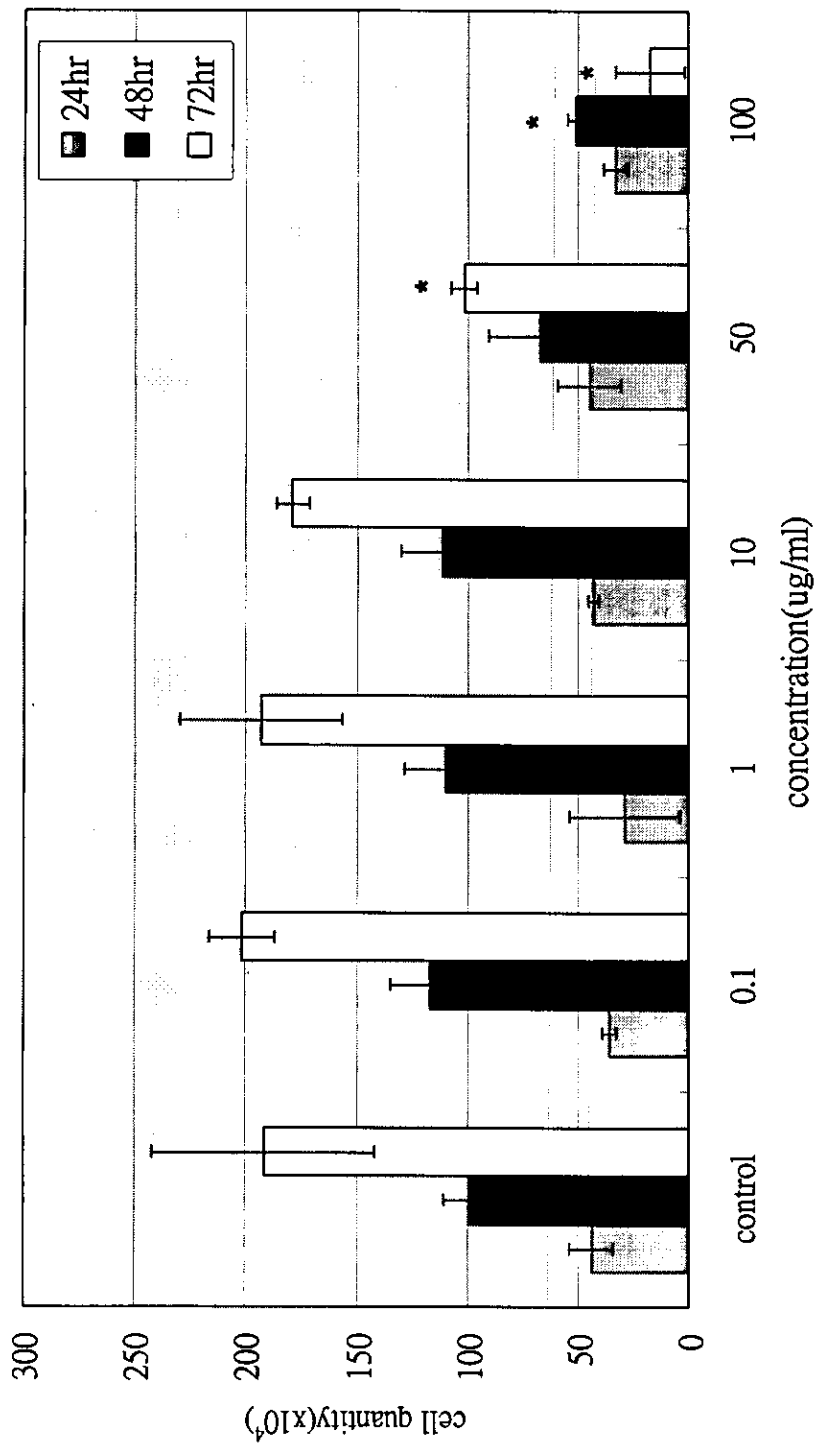


圖1 H1299細胞對樟芝發酵液之生長情形

* P<0.05 one-way ANOVA

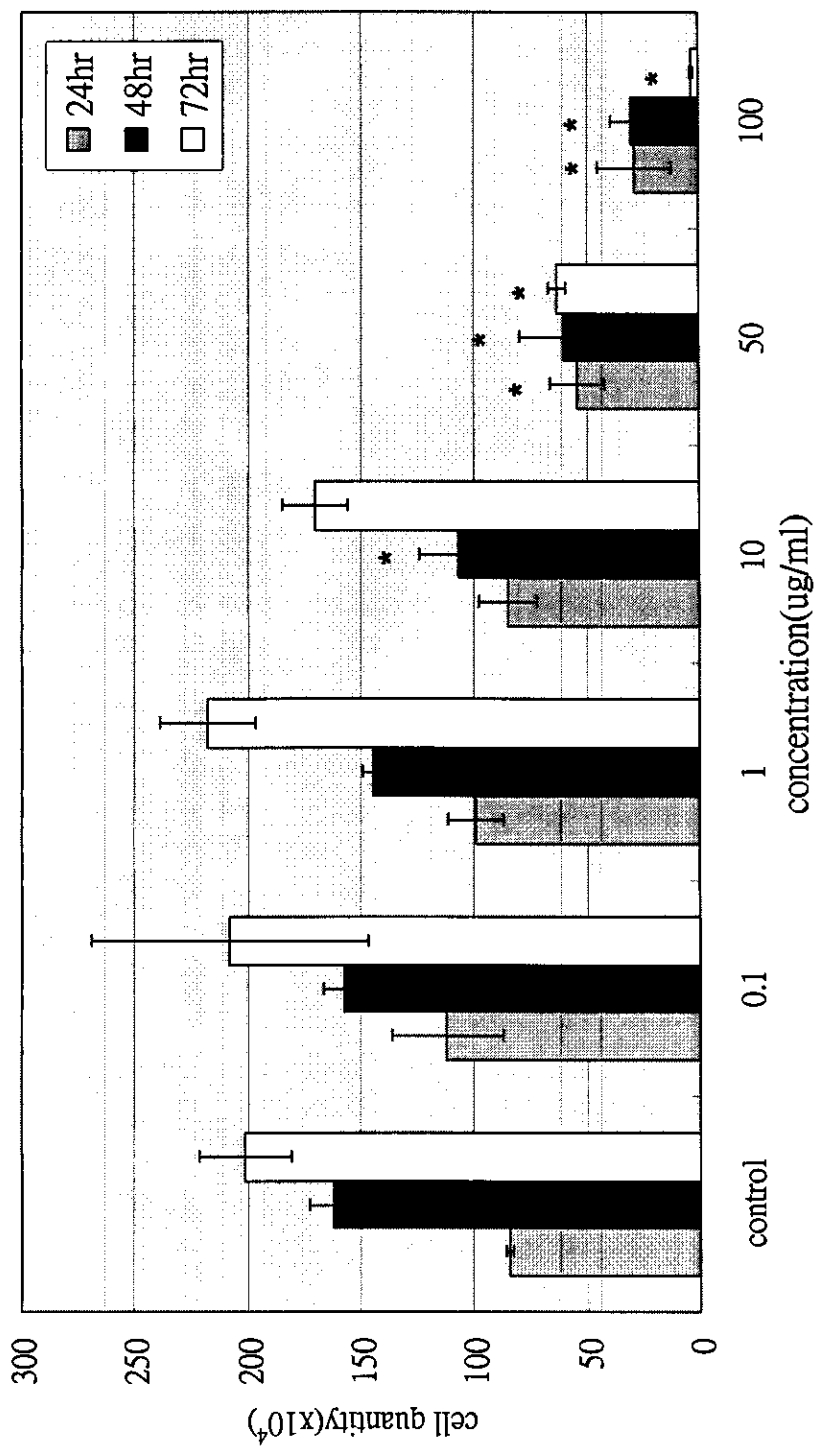


圖2 HepG2細胞對樟芝發酵液之生長情形

* P < 0.05 one-way ANOVA

中山醫學院
醫學院藥理學系

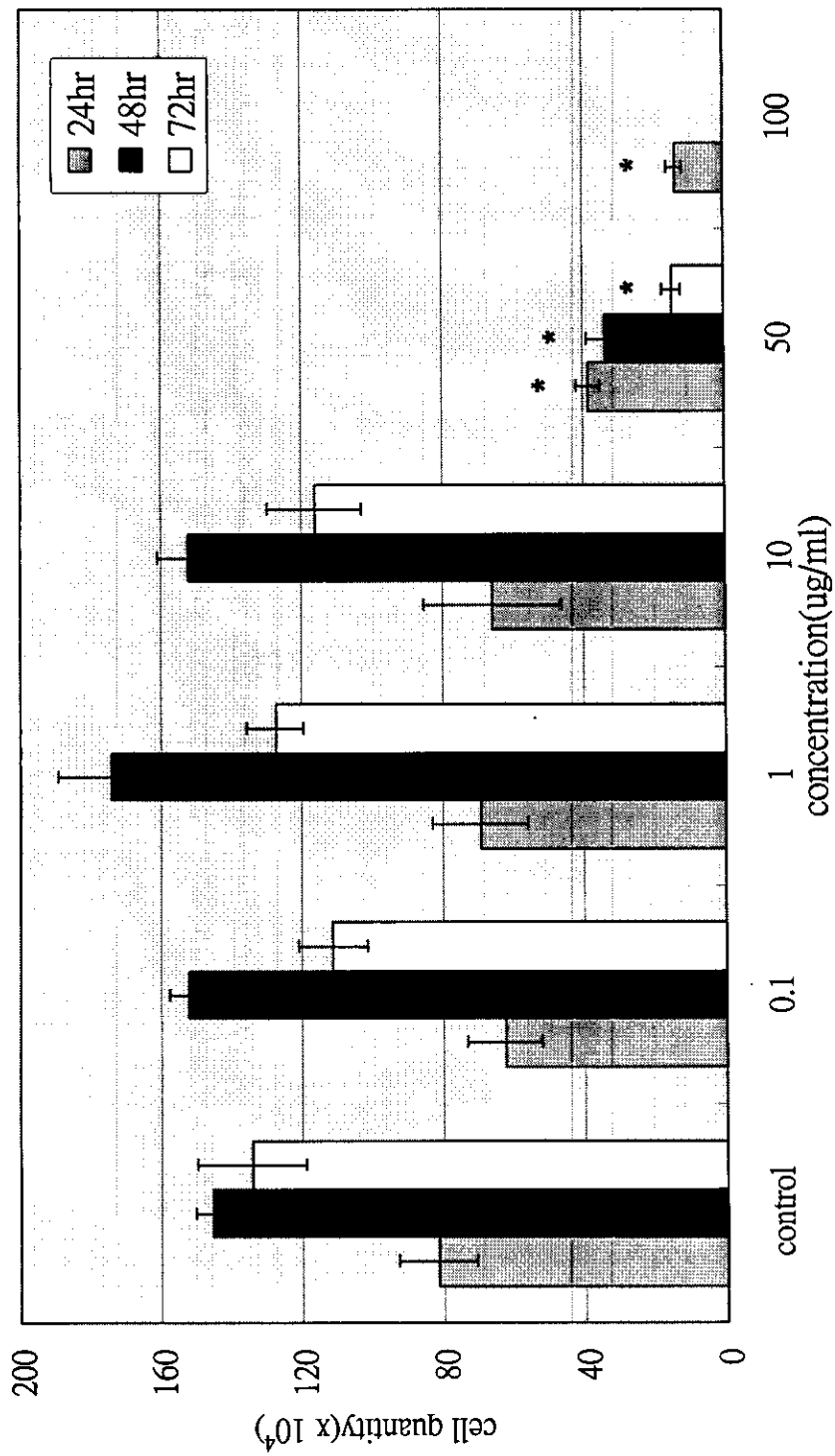


圖3 CaCO₂細胞對樟芝發酵液之生長情形

* P < 0.05 one-way ANOVA

中山醫學院 醫學檢驗系 微生物學

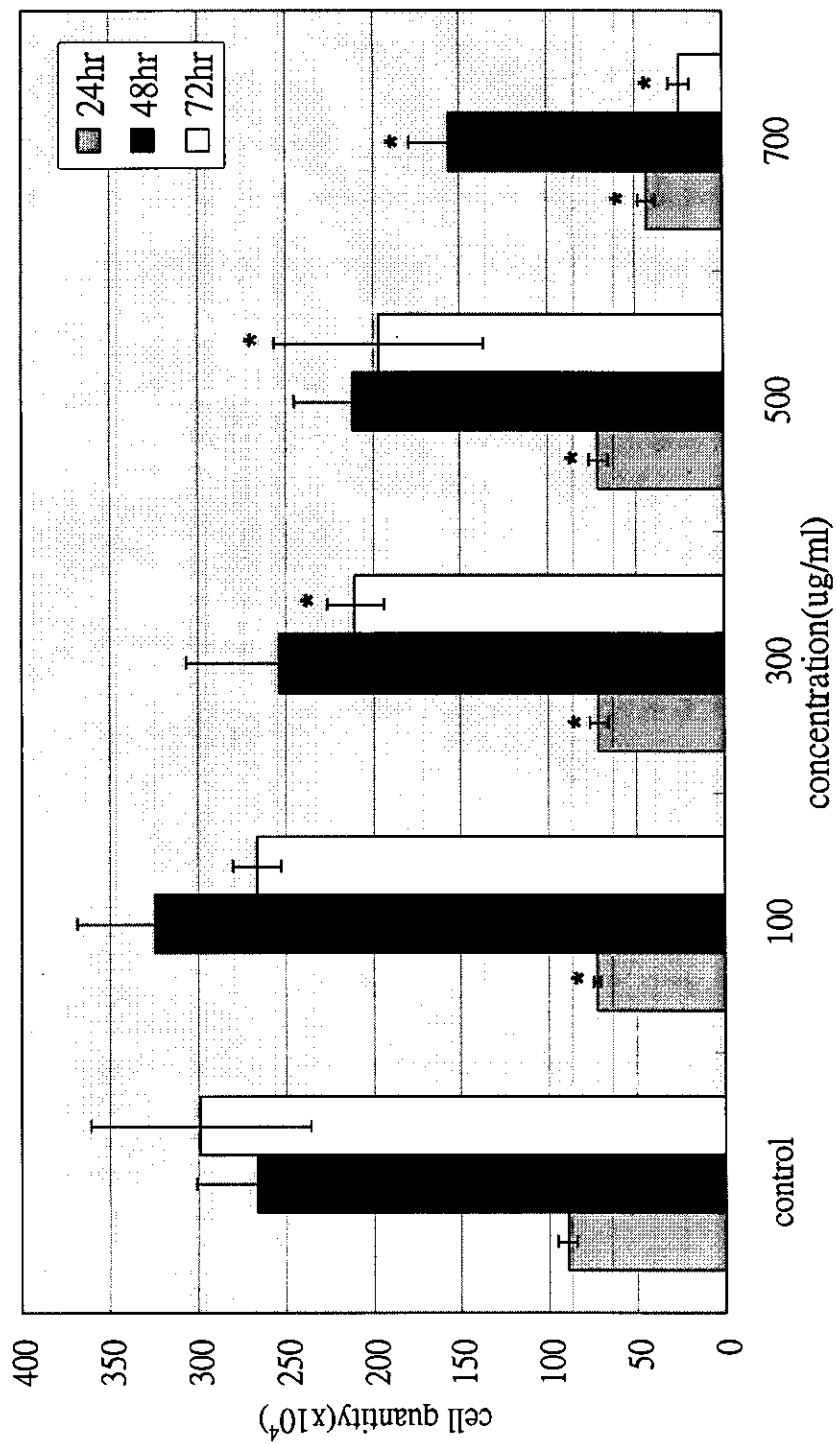


圖4 H1299細胞對樟芝水萃物之生長情形

* P < 0.05 one-way ANOVA

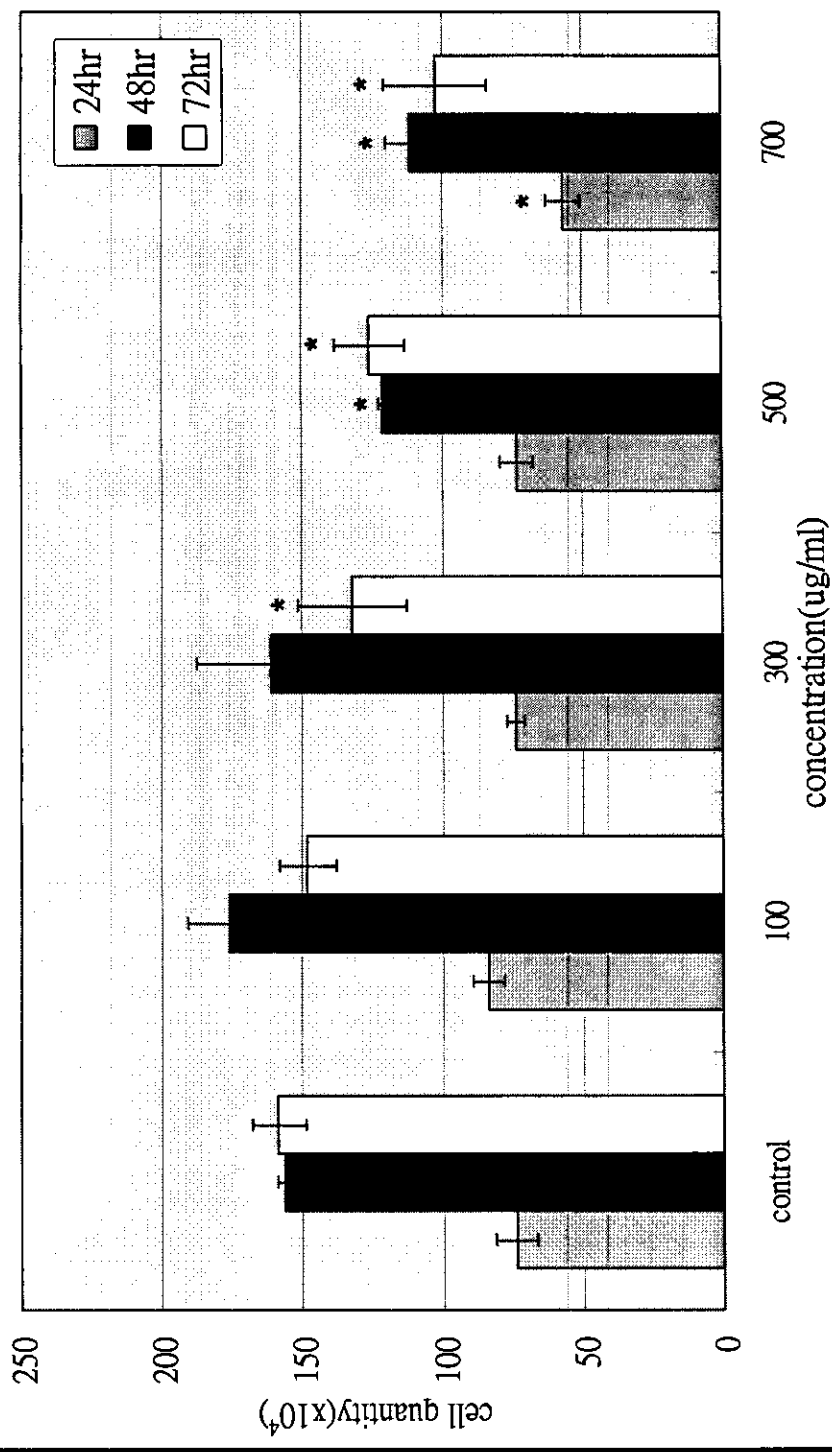


圖5 HepG2細胞對樟芝水萃物之生長情形

* P < 0.05 one-way ANOVA

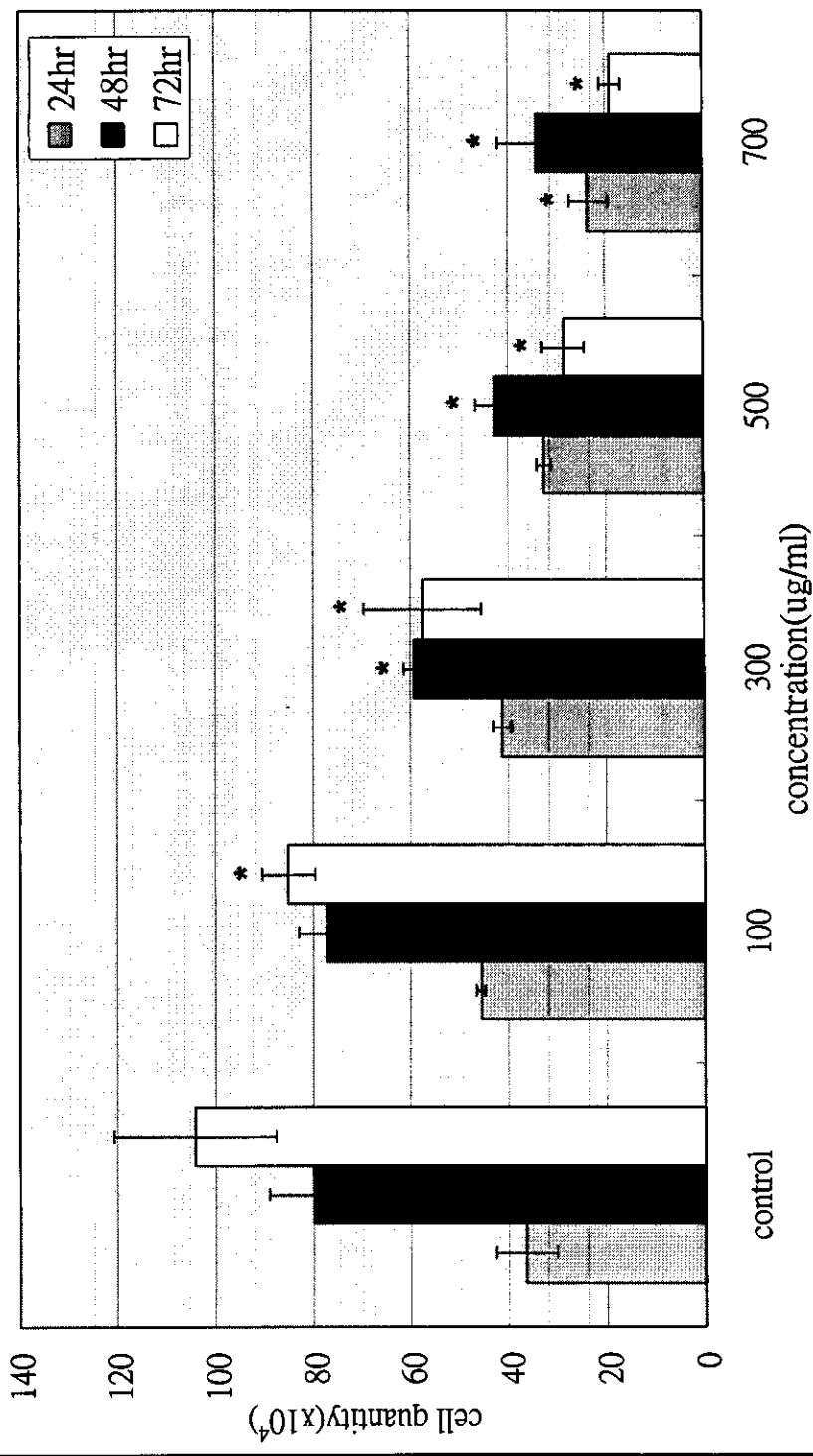


圖6 CaCO₂細胞對樟芝水萃物之生長情形

* P < 0.05 one-way ANOVA

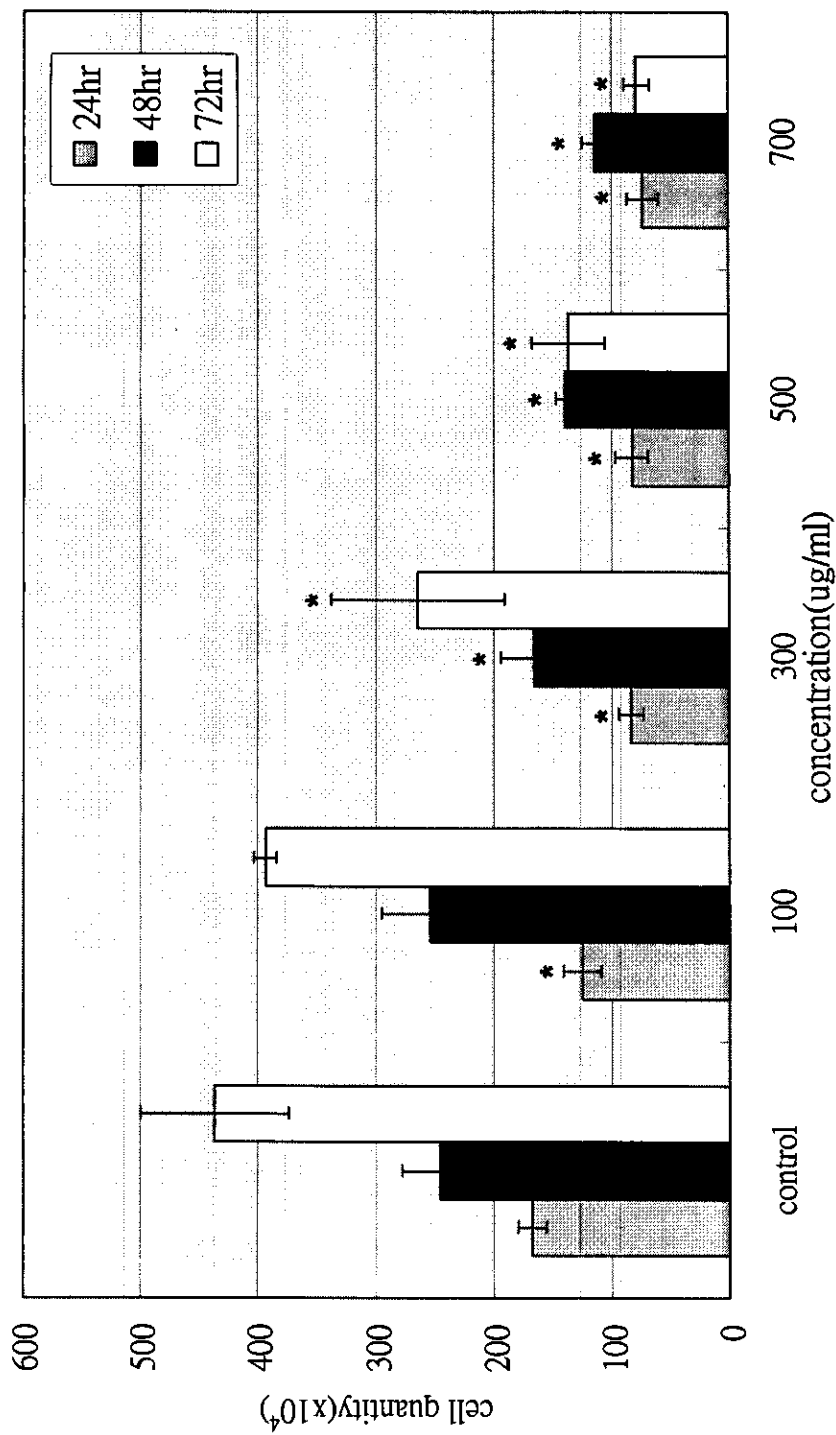


圖7 H1299細胞對樟芝甲醇萃取物之生長情形

* P < 0.05 one-way ANOVA

中山醫藥大學

醫藥檢驗暨生物檢菌學系

Department of Medical Microbiology and Immunology

Yuanpei University of Medical Education

Yuanpei University

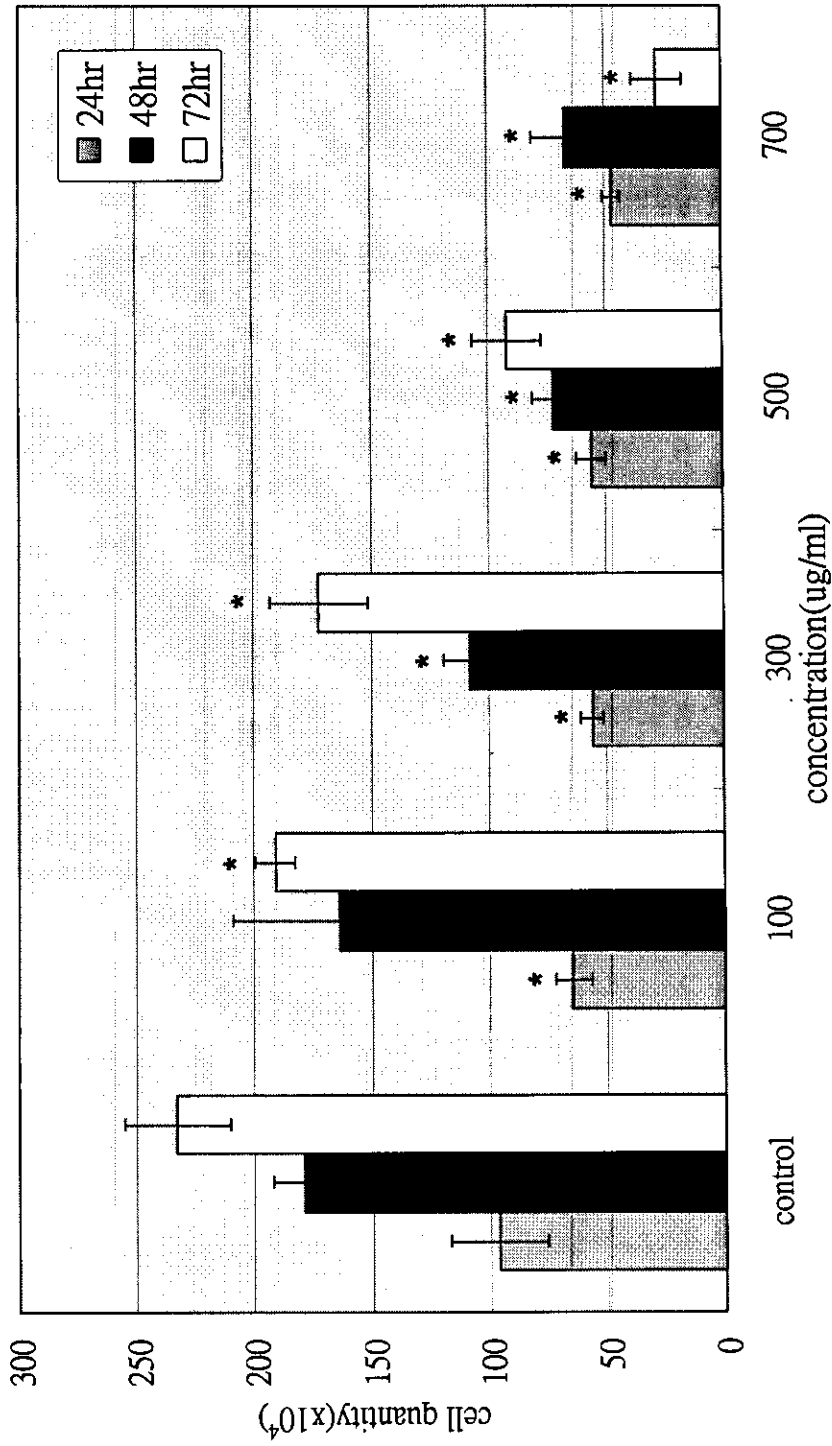


圖8 HepG2細胞對樟芝甲醇萃取物之生長情形

* P < 0.05 one-way ANOVA

中山醫藥大學 醫學檢驗生物學研究所

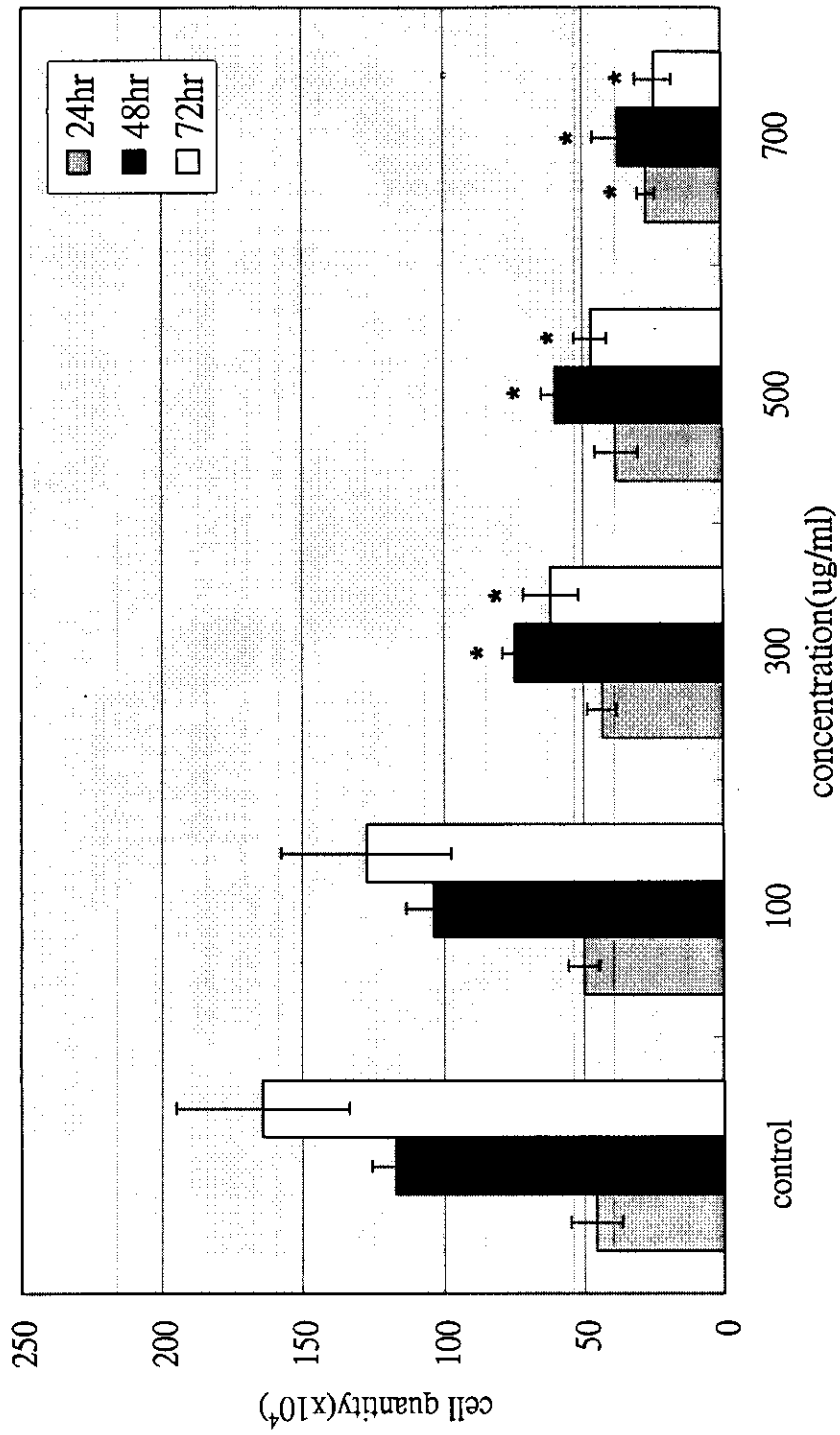


圖9 CaCO₂細胞對樟芝甲醇萃取物之生長情形

* P < 0.05 one-way ANOVA

中山醫學大學

醫學院檢驗室藥物檢驗科

Department of Laboratory, School of Medicine, Chung Shan Medical University

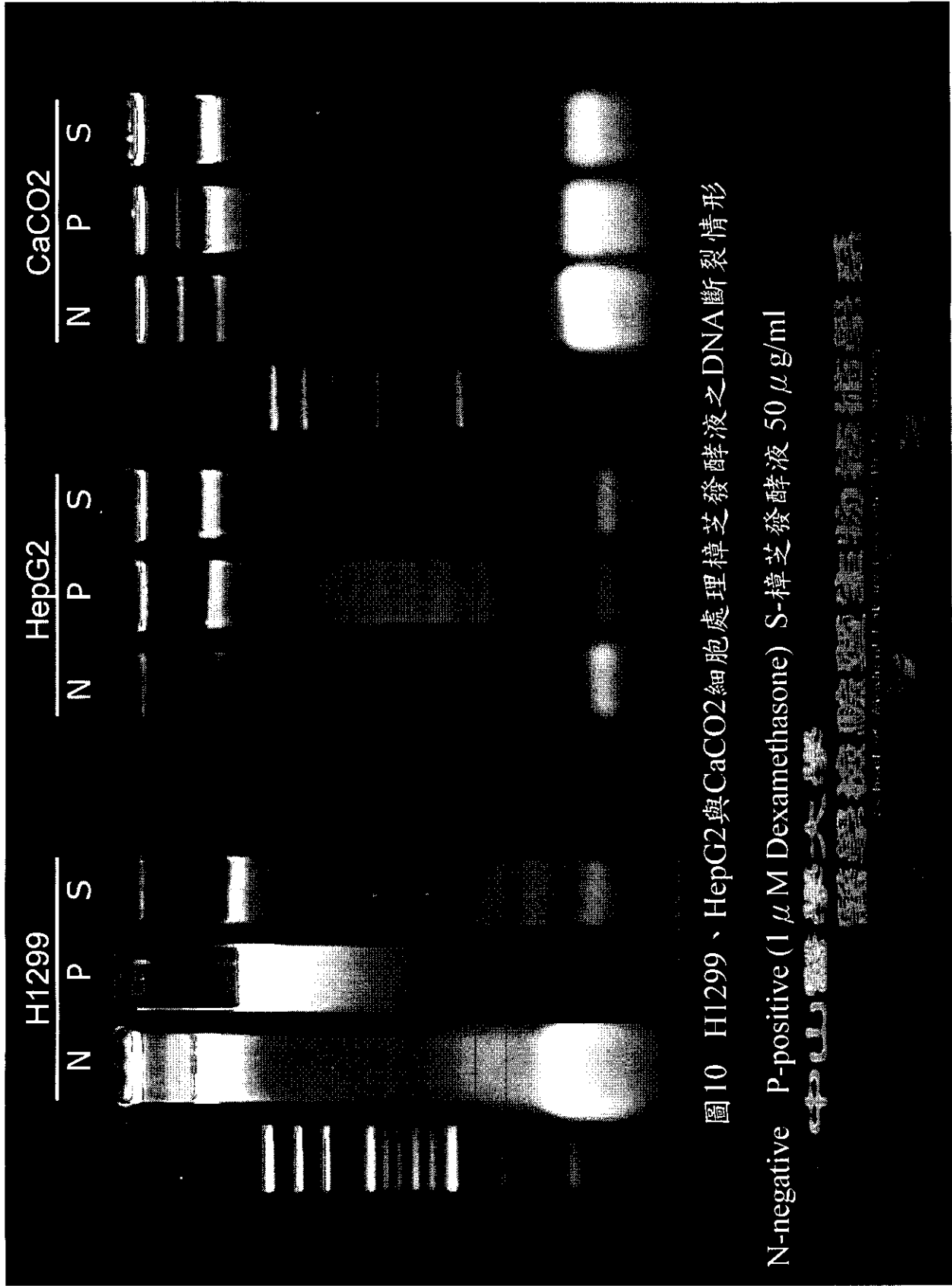


圖10 H1299、HepG2與CaCO2細胞處理樟芝發酵液之DNA斷裂情形
 N-negative P-positive (1 μ M Dexamethasone) S-樟芝發酵液 50 μ g/ml

中山醫學大學
 醫學檢驗暨生物技術學院

H1299

N P W7 W5 W3 W1 M7 M5 M3 M1

HepG2

N

P W7 W5 W3 W1 M7 M5 M3 M1

CaCO2

N P W7 W5 W3 W1 M7 M5 M3 M1

圖11 細胞處理樟芝水萃物與
甲醇萃取物之DNA斷裂情形

N-negative P-positive (1 μM Dexamethasone)
W7~W1-樟芝水萃物 700~100 μg/ml
M7~M1-樟芝甲醇萃取物 700~100 μg/ml

中山醫藥大學
醫藥學院藥理生物藥劑學系

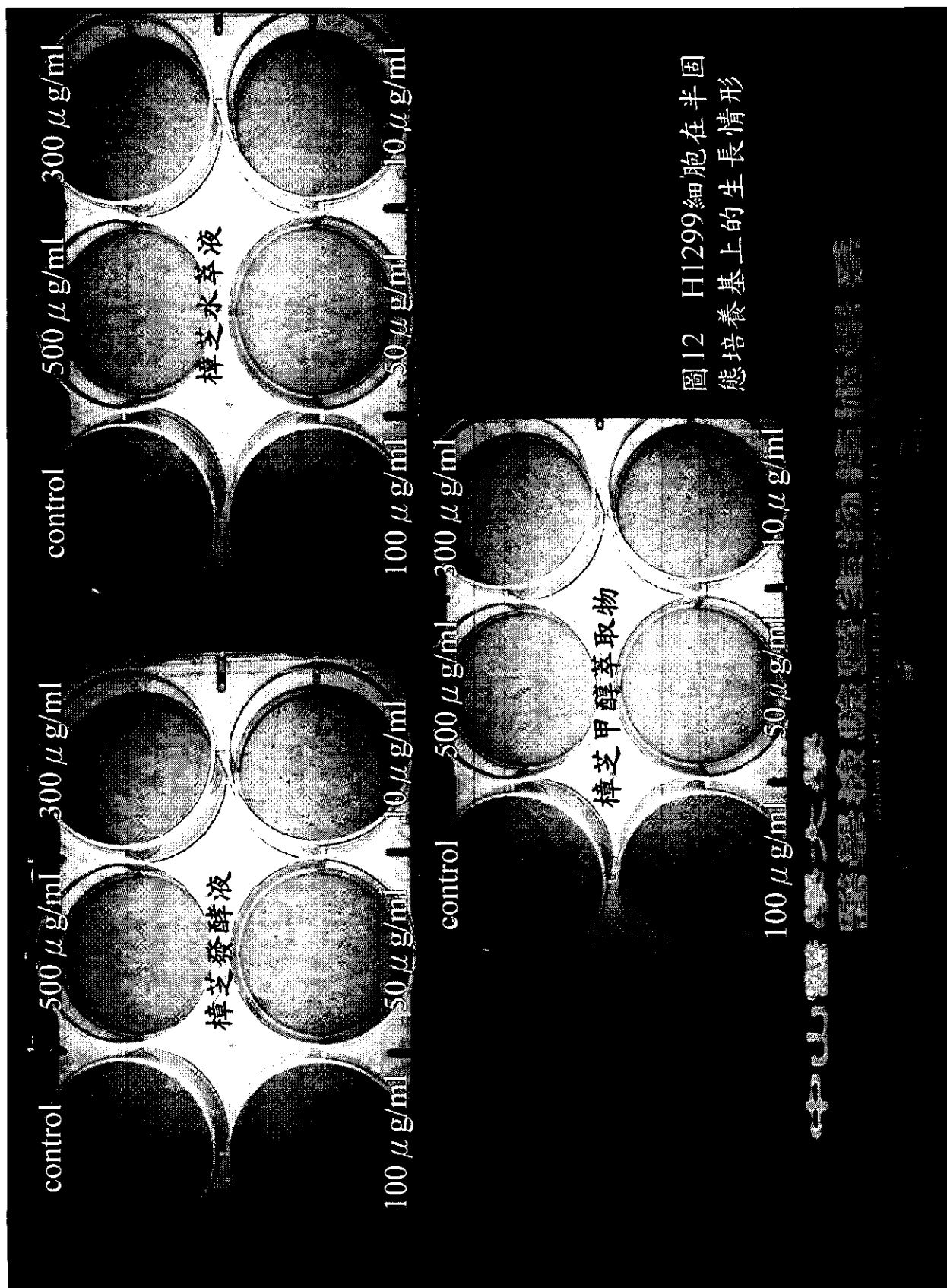
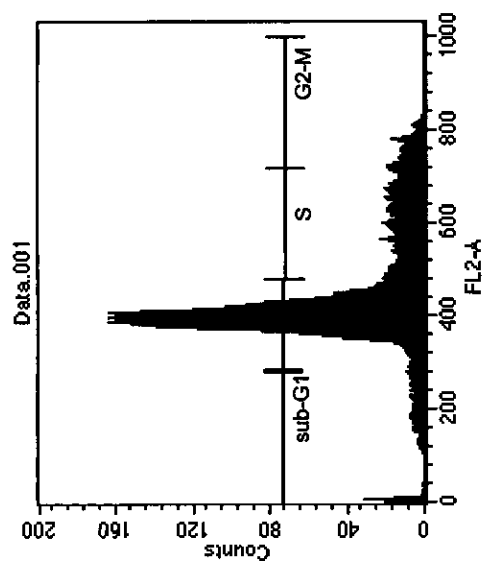
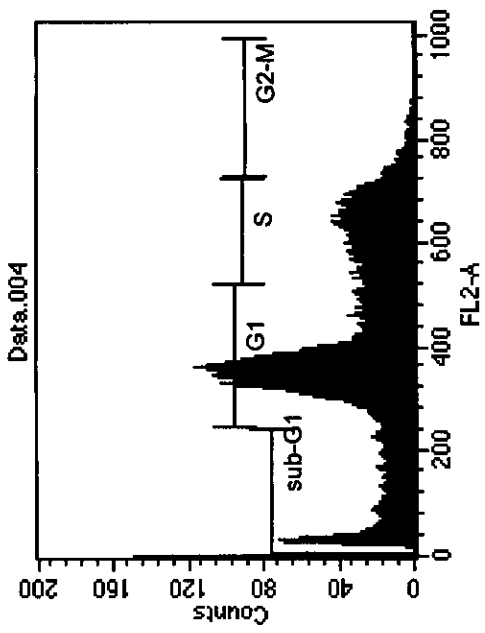
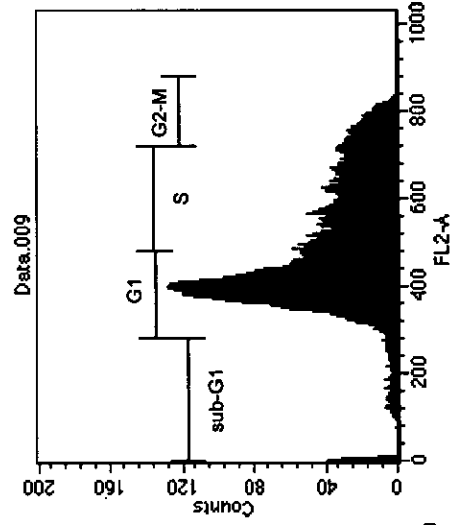
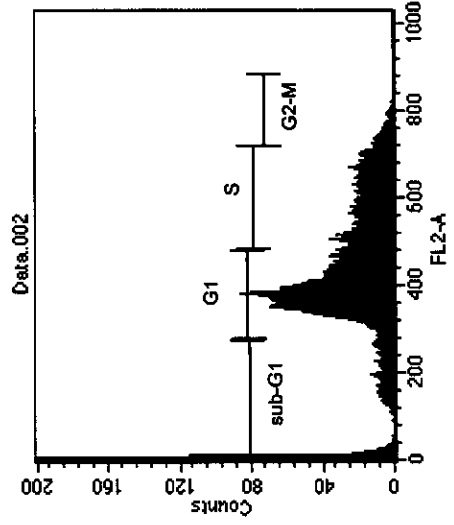


圖12 H1299細胞在半固態培養基上的生長情形

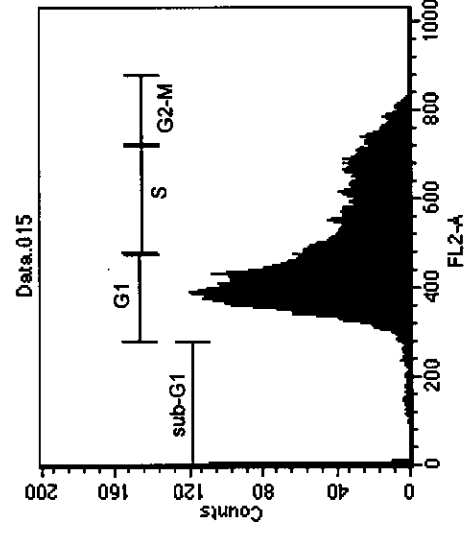
中山醫學院 醫學院 微生物檢驗科



Positive



Control

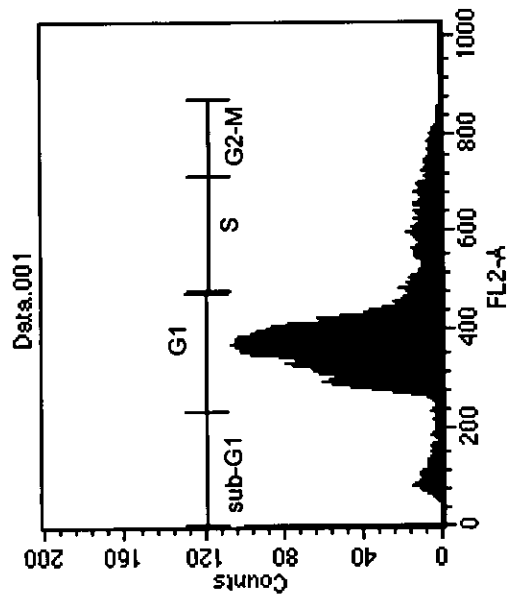


發酵液 50ug/ml 72hr

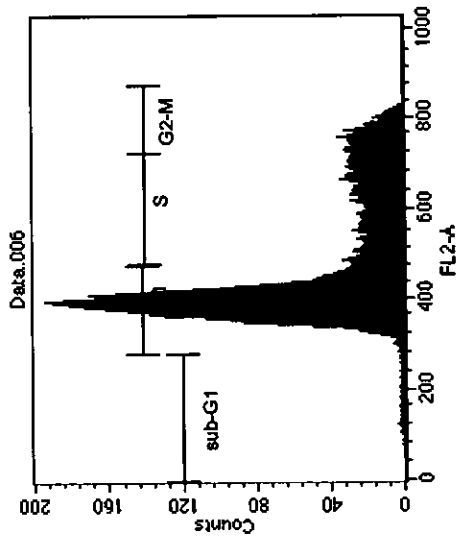
發酵液 50ug/ml 48hr

發酵液 50ug/ml 24hr

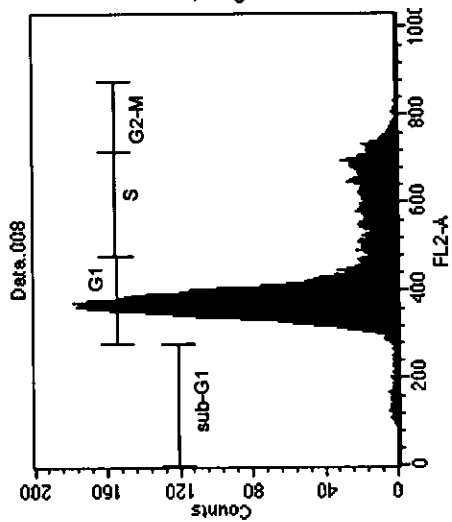
圖13 樟芝發酵液對H1299細胞之細胞週期影響



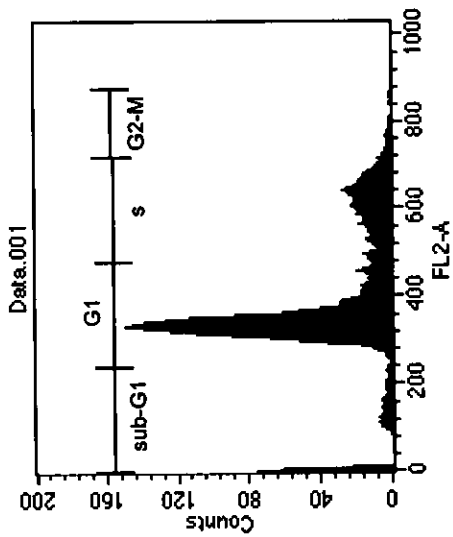
Control



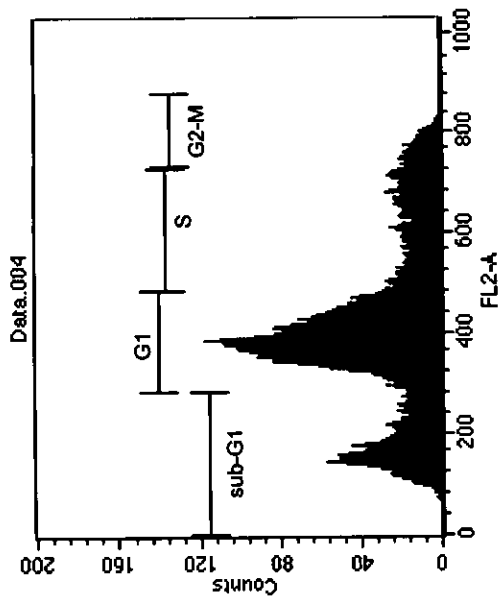
發酵液 50ug/ml 24hr



發酵液 50ug/ml 48hr

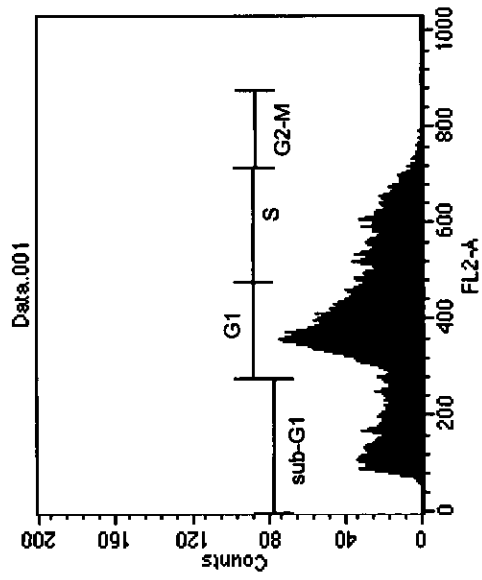


發酵液 50ug/ml 72hr

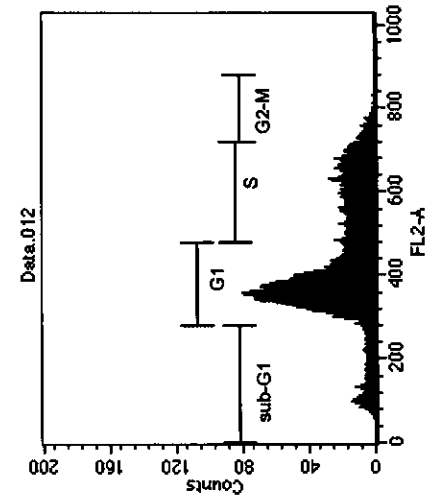


Positive

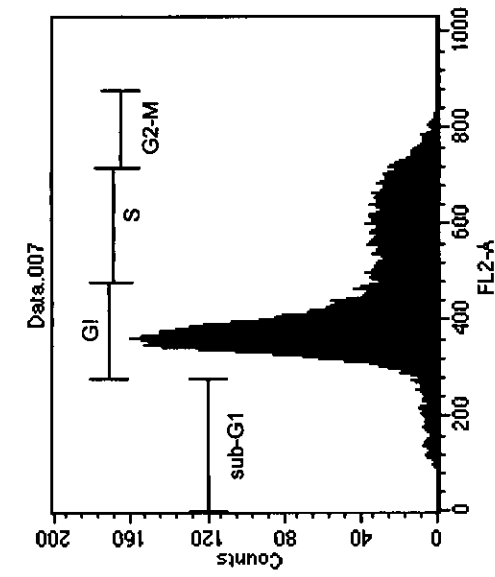
圖14 樟芝發酵液對HepG2細胞之細胞週期影響



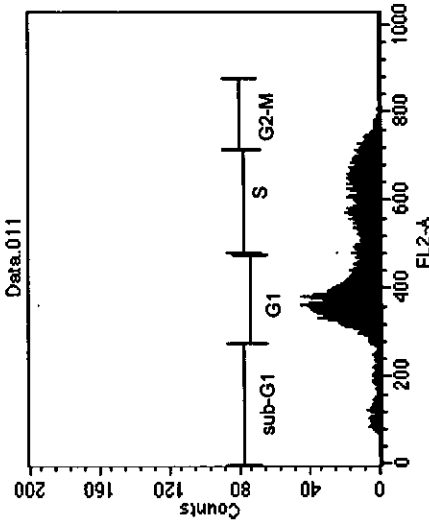
Positive



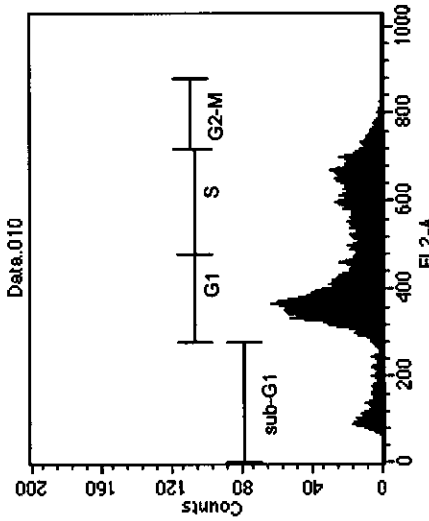
發酵液 50ug/ml 72hr



Control



發酵液 50ug/ml 48hr



發酵液 50ug/ml 24hr

圖15 樟芝發酵液對CaCO₂細胞之細胞週期影響

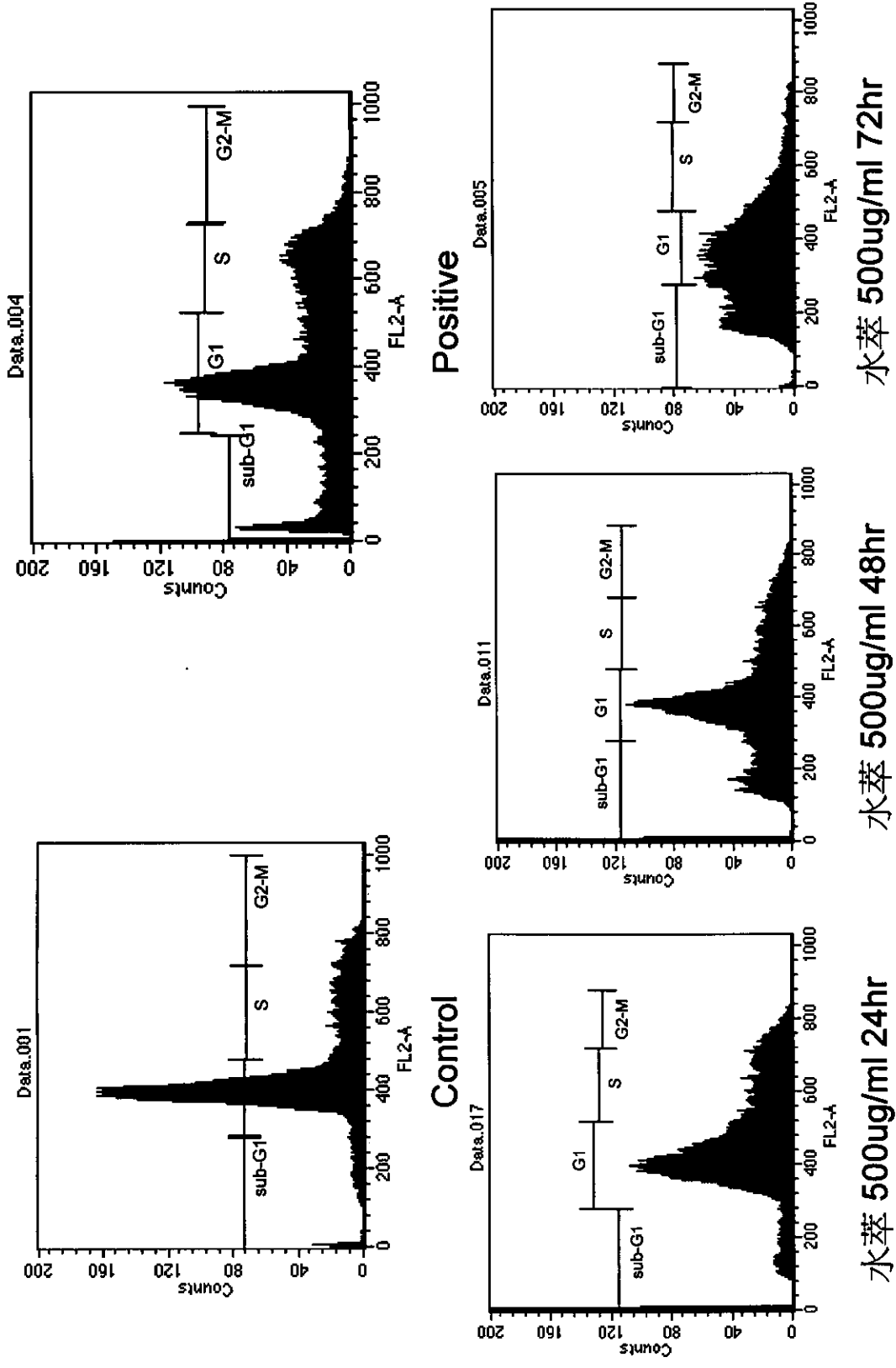
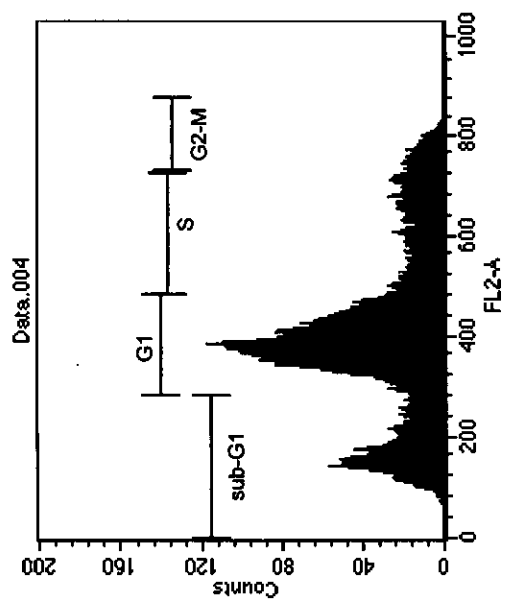
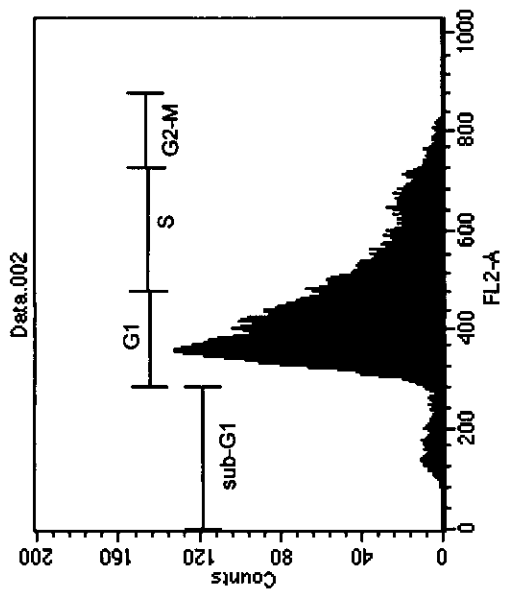
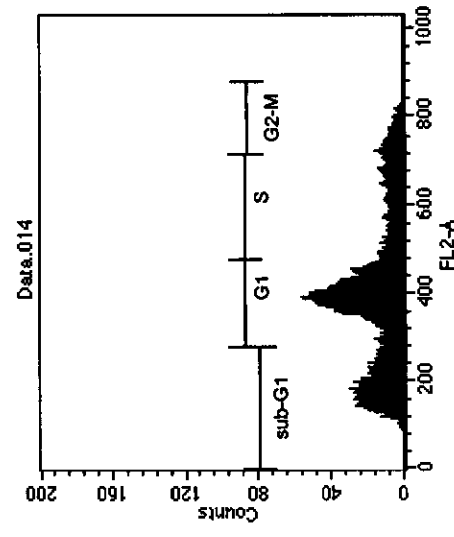
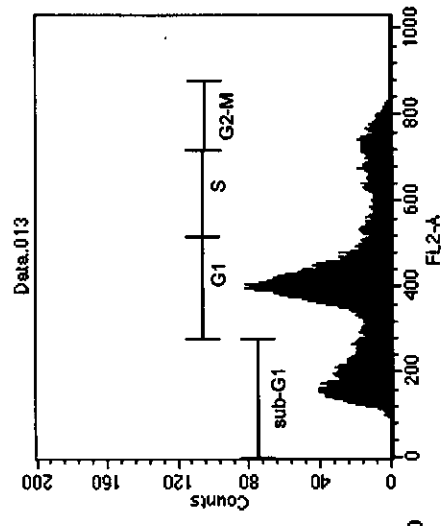


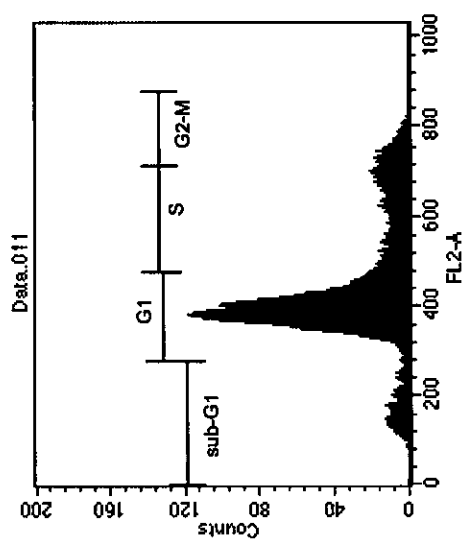
圖 16 樟芝水萃物對H1299細胞之細胞週期影響



Positive



Control

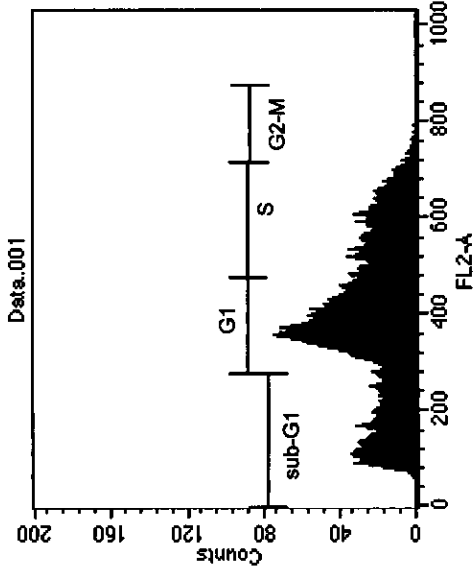
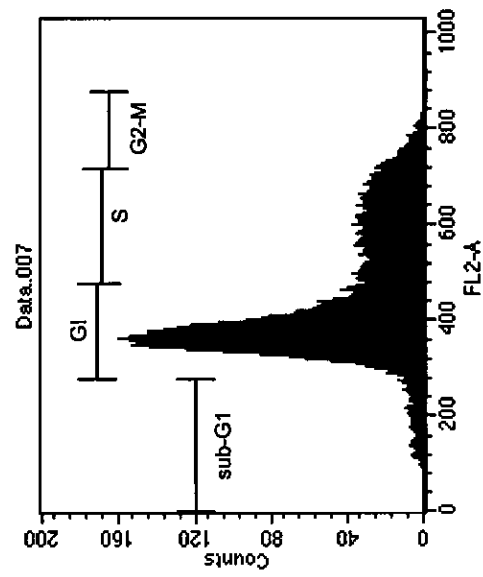


水萃 500ug/ml 72hr

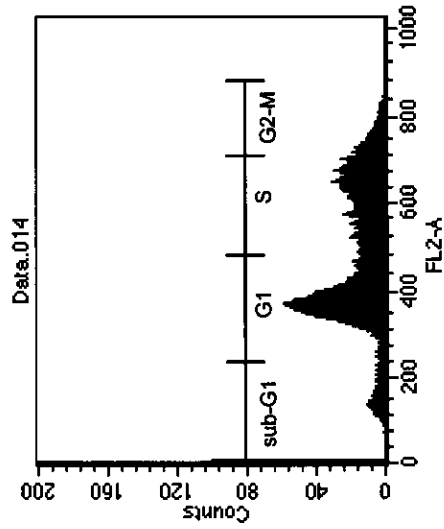
水萃 500ug/ml 48hr

水萃 500ug/ml 24hr

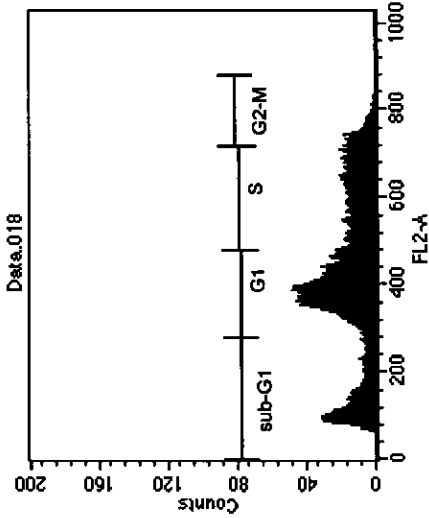
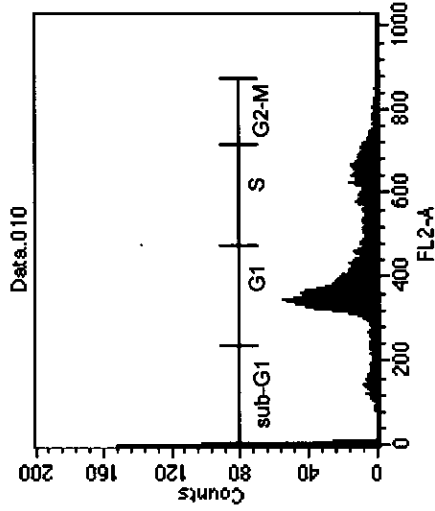
圖17 樟芝水萃物對HepG2細胞之細胞週期影響



Control



Positive

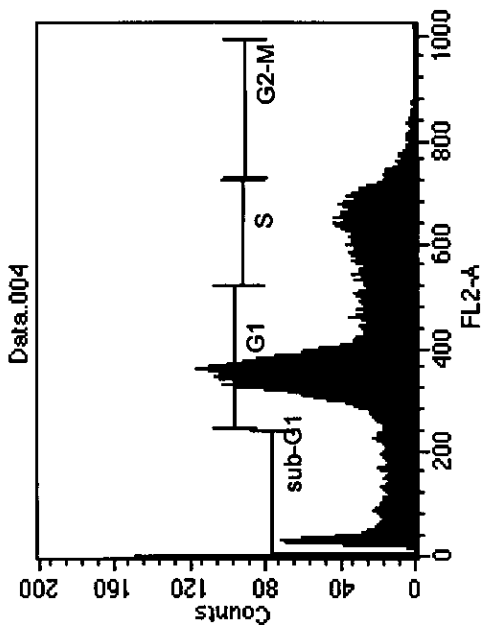
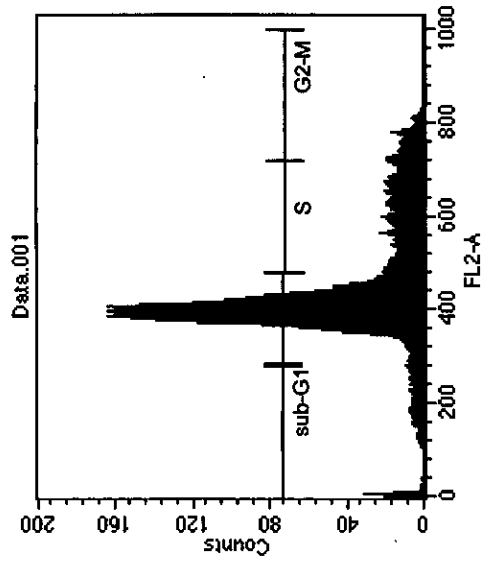


水萃 500ug/ml 24hr

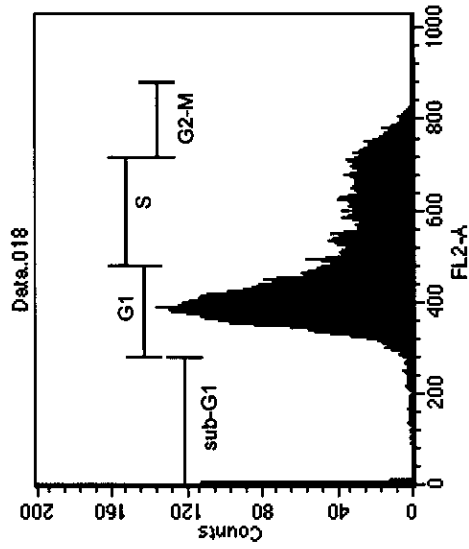
水萃 500ug/ml 48hr

水萃 500ug/ml 72hr

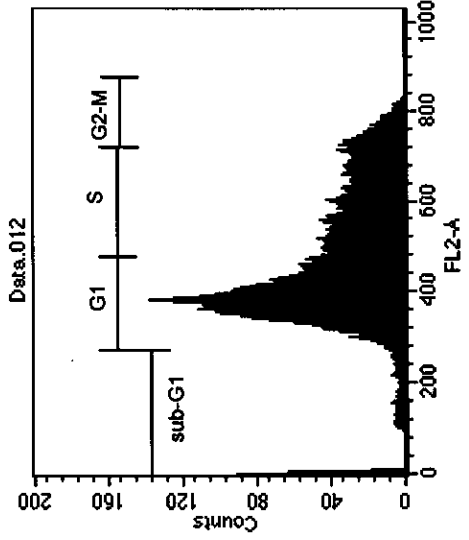
圖18 樟芝水萃物對CaC02細胞之細胞週期影響



Control

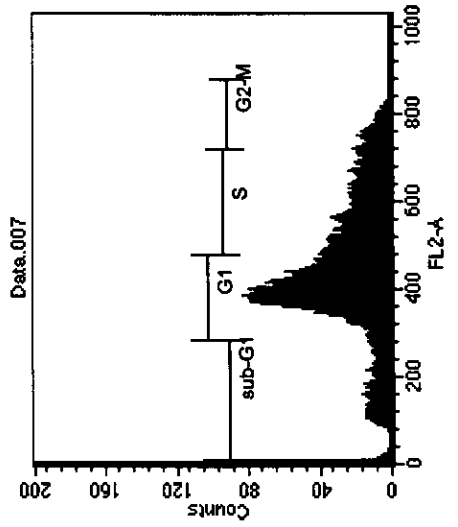


甲醇 500ug/ml 24hr



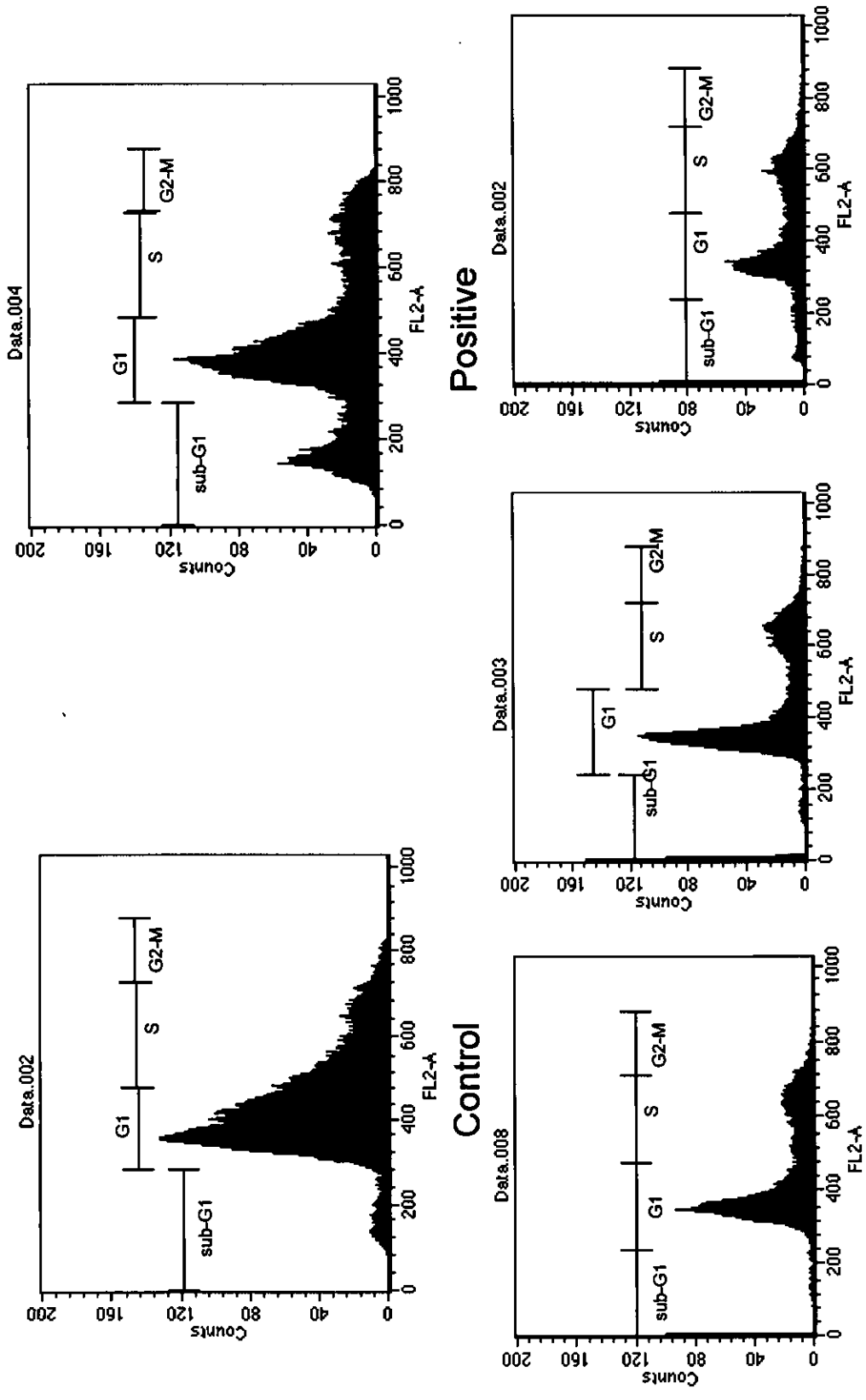
甲醇 500ug/ml 48hr

Positive



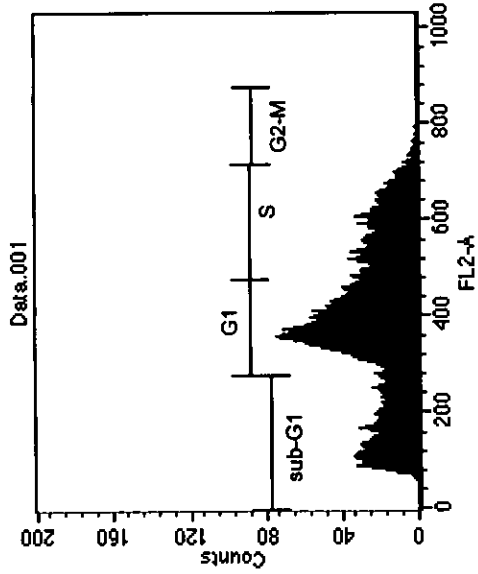
甲醇 500ug/ml 72hr

圖19 樟芝甲醇萃取物對H1299細胞之細胞週期影響

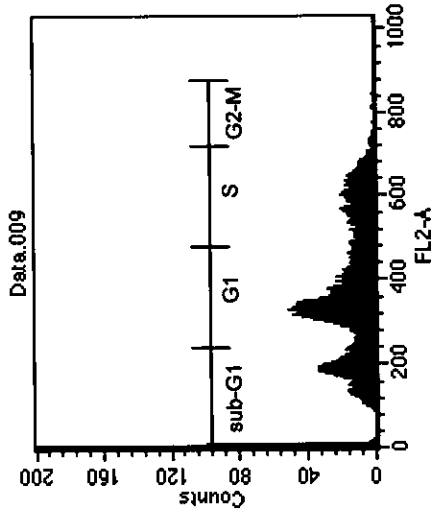


甲醇 500ug/ml 24hr 甲醇 500ug/ml 48hr 甲醇 500ug/ml 72hr

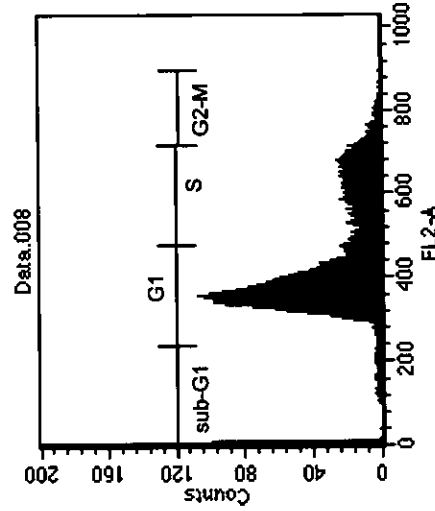
圖20 樟芝甲醇萃取物對HepG2細胞之細胞週期影響



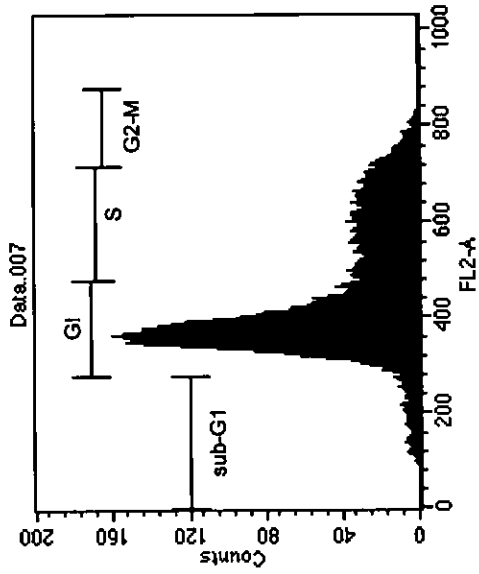
Positive



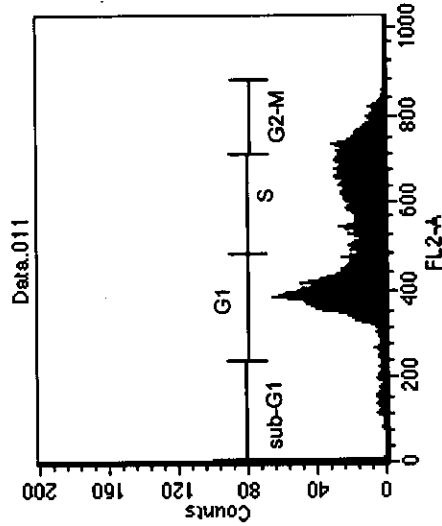
甲醇 500ug/ml 72hr



甲醇 500ug/ml 48hr



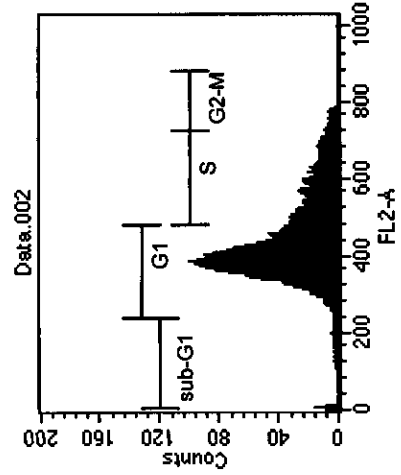
Control



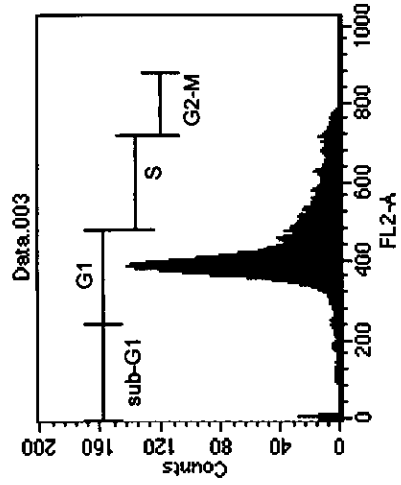
甲醇 500ug/ml 24hr

圖21 樟芝甲醇萃取物對CaCO₂細胞之細胞週期影響

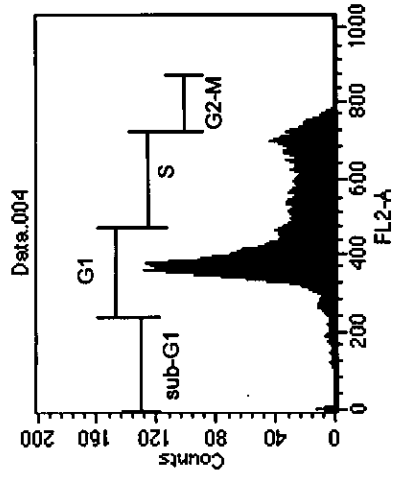
MEOH (0.4%)



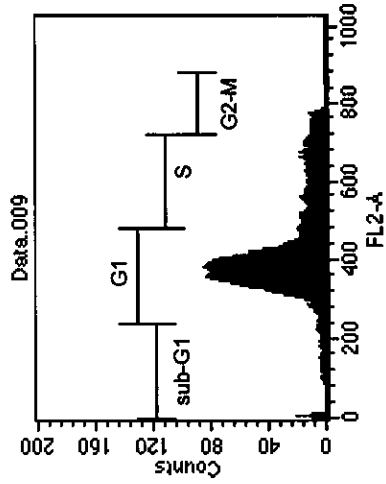
Control + MEOH 24hr



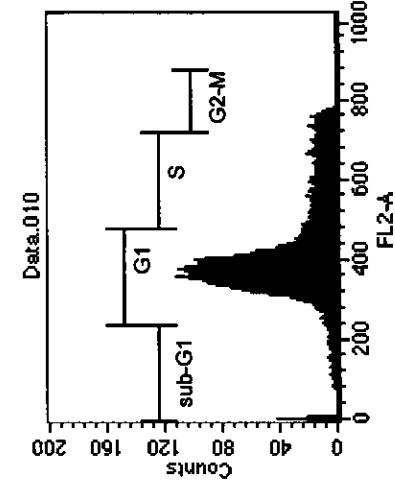
Control + MEOH 48hr



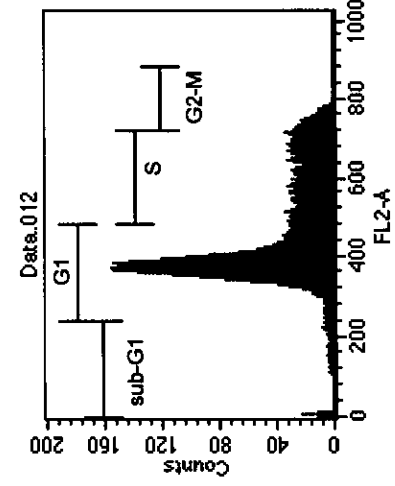
Control + MEOH 72hr



野生甲醇 100ug/ml 24hr



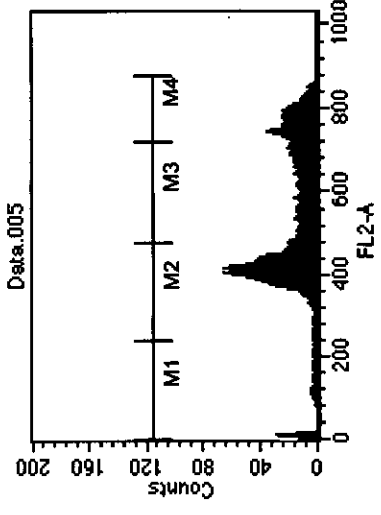
野生甲醇100ug/ml 48hr



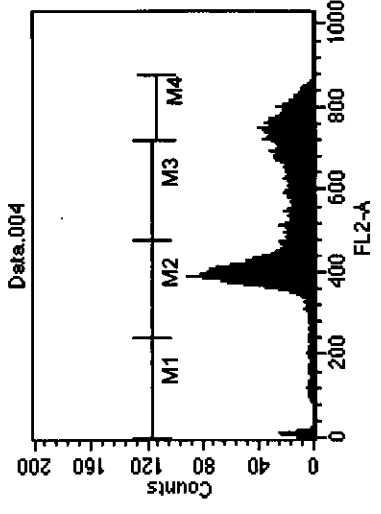
野生甲醇100ug/ml 72hr

圖22 野生樟芝甲醇萃取物對H1299細胞之細胞週期影響

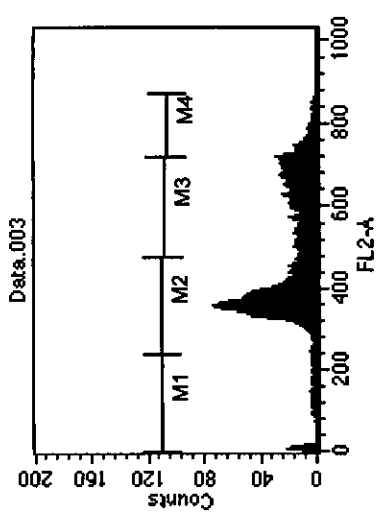
MEOH (0.2%)



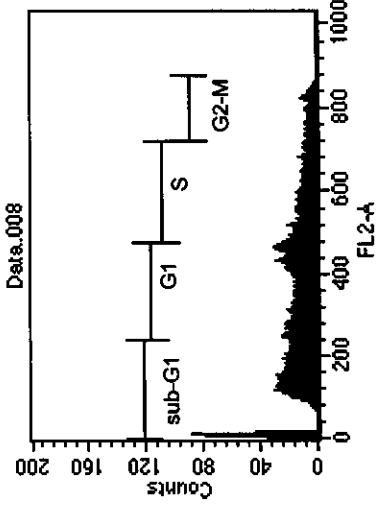
Control + MEOH 72hr



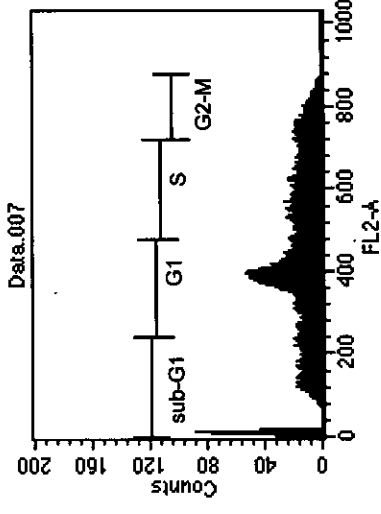
Control + MEOH 48hr



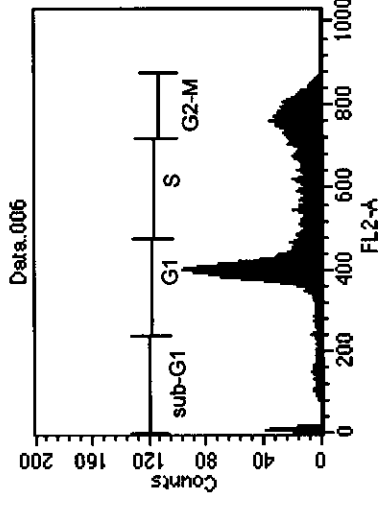
Control + MEOH 24hr



野生甲醇50ug/ml 72hr



野生甲醇50ug/ml 48hr



野生甲醇 50ug/ml 24hr

圖23 野生樟芝甲醇萃取物對CaCO2細胞之細胞週期影響