

**THE EFFECT OF *CLINACANTHUS NUTANS*
ROOT EXTRACTS ON THE EXPRESSION OF
APOPTOTIC GENES**

GRACE P. KALING



PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**A DISSERTATION SUBMITTED IN PARTIAL
FULFILMENT FOR THE DEGREE OF MASTER
OF SCIENCE (MOLECULAR BIOLOGY)**

**BIOTECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
2014**

ABSTRACT

Breast cancer is one of the most common cancers worldwide and the leading cause of cancer death in women. Currently, increasing number of patients has developed resistance toward anticancer drug. Hence, it is necessary to discover more effective yet less toxic anticancer drugs which are achievable through studying various plants with known medicinal properties. The ability to induce apoptosis in cancer cells is the key success of plant products as anticancer agent and is a highly desirable goal of treatment strategy for cancer control. *Clinacanthus nutans* is a type of medicinal plants and belongs to family Acanthaceae, it has been traditionally used in treatment of various diseases. This study was carried out to investigate the ability of *Clinacanthus nutans* root extracts to inhibit MCF-7 breast cancer cell line growth via apoptotic pathway. Previous MTT assay showed that the growth of treated MCF-7 cancer cells with *C. nutans* methanol and ethyl acetate root extracts were inhibited at concentrations of 35 µg/ml and 30 µg/ml respectively. Therefore, cultured MCF-7 cancer cells were treated with methanol and ethyl acetate root extracts of *C. nutans* with their respective concentrations. DNA fragmentation assay was performed to determine the apoptotic activity of the extracts since DNA fragmentation is a biochemical characteristic of apoptotic cells. This was done by extracting DNA from the treated cells through phenol chloroform method followed by agarose gel electrophoresis. Subsequently reverse transcription PCR was performed to evaluate the expression of two apoptotic related genes which are *BCL-2* and *BAX*. Result obtained shows absence of DNA fragmentation or laddering pattern. On the other hand, RT-PCR results revealed that the *BCL-2* expression in the treated samples has been decreased while *BAX* expression was not altered in either control or treated sample. In conclusion, the result obtained from this study indicates that the *C. nutans* root extract might have a potential in regulating apoptosis pathway in breast cancer cells. However, a more comprehensive study should be conducted in the future to further establish the effect of *C. nutans* root extracts in mediating apoptosis.

ABSTRAK

KESAN EKSTRAK AKAR *CLINACANTHUS NUTANS* TERHADAP EKSPRESI GEN-GEN APOPTOTIK

Kanser payudara adalah salah satu kanser yang umum di seluruh dunia dan merupakan punca utama kematian kanser di kalangan wanita. Keupayaan untuk mengaruh apoptosis pada sel kanser adalah kunci utama kejayaan produk tumbuhan sebagai agen antikanser dan merupakan matlamat yang diingini dalam strategi rawatan untuk pengawalan kanser. *Clinacanthus nutans* adalah sejenis tumbuhan ubatan dan tergolong dalam keluarga Acanthaceae, ia telah digunakan secara tradisional dalam merawat pelbagai jenis penyakit. Kajian ini dijalankan untuk menyiasat keupayaan ekstrak akar *Clinacanthus nutans* untuk merencat pertumbuhan sel garis kanser payudara MCF-7 melalui aruhan apoptosis. Ujian MTT terdahulu menunjukkan rencatan pada pertumbuhan sel-sel kanser MCF-7 yang dirawat dengan ekstrak akar metanol dan etil asetat *C. nutans* masing-masing adalah pada kepekatan 35 µg/ml dan 30 µg/ml. Oleh yang demikian, kultur sel-sel kanser MCF-7 telah dirawat dengan menggunakan ekstrak akar metanol dan etil asetat *C. nutans* berdasarkan pada kepekatan masing-masing. Ujian fragmentasi DNA dijalankan untuk menentukan aktiviti apoptotik ekstrak tersebut memandangkan fragmentasi DNA adalah ciri-ciri biokimia utama sel apoptotik. Ini dilakukan dengan mengekstrak DNA daripada sel-sel kanser yang telah dirawat melalui kaedah fenol kloroform dan diikuti dengan elektroforesis gel agarosa. Selepas itu, tindakbalas rantai polimerase transkripsi berbalik (RT-PCR) telah dilakukan untuk menilai ekspresi dua gen yang berkaitan dengan apoptosis iaitu BCL-2 dan BAX. Keputusan yang diperolehi menunjukkan tiada fragmentasi DNA terbentuk. Sebaliknya, keputusan RT-PCR menunjukkan bahawa ekspresi BCL-2 pada sampel yang dirawat telah menurun manakala tiada perubahan pada ekspresi BAX pada sampel kawalan mahupun sampel yang dirawat. Kesimpulannya, keputusan yang diperolehi daripada kajian ini menunjukkan bahawa ekstrak akar *C. nutans* berpotensi untuk mengawal-selia laluan apoptosis dalam sel-sel kanser payudara. Walaubagaimanapun, kajian yang lebih menyeluruh perlu dijalankan pada masa akan datang bagi mengukuhkan lagi maklumat mengenai kesan ekstrak akar *C. nutans* dalam mengaruh apoptosis.