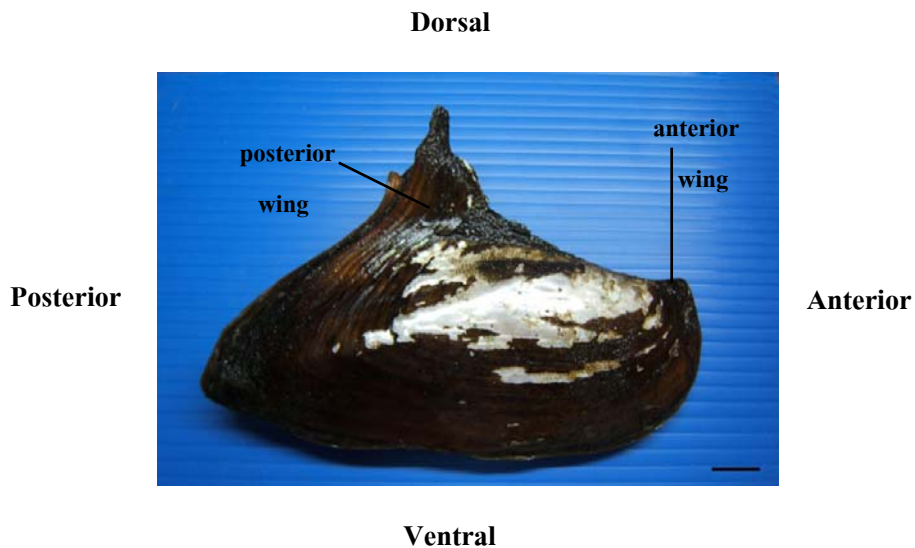
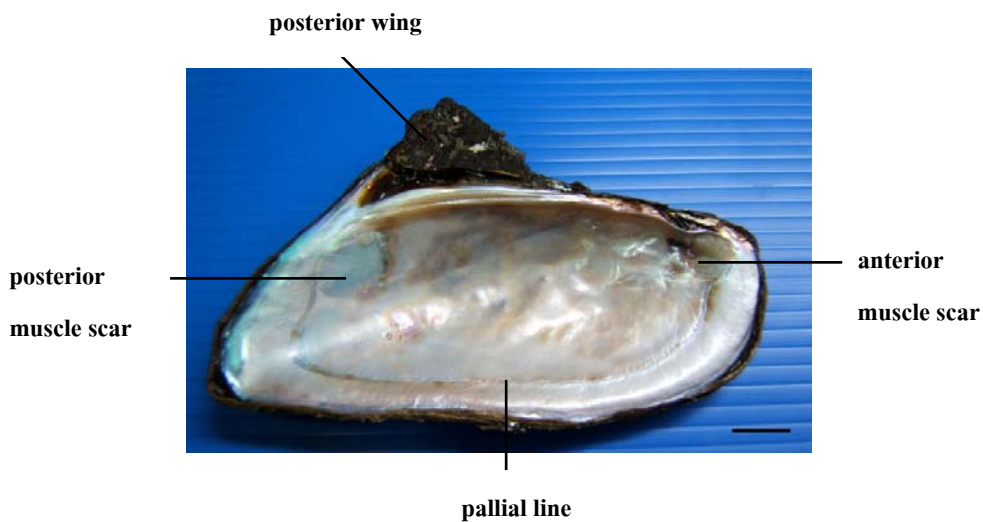


ภาคผนวก

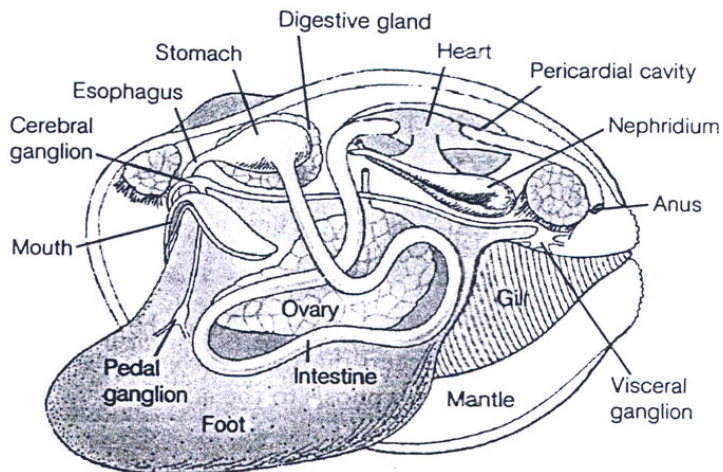
ภาคผนวก ก
(ภาพประกอบ)



ภาพผนวกที่ ก1 ลักษณะเปลือกด้านนอกของหอยสองฝาน้ำจืด *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus*
(bar = 1 cm)

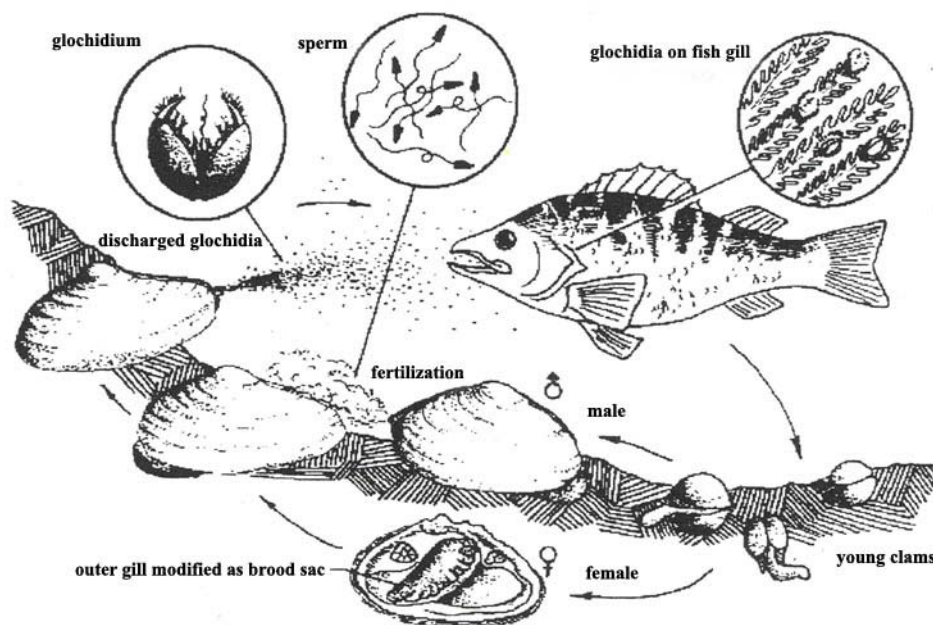


ภาพผนวกที่ ก2 ลักษณะเปลือกด้านในของหอยสองฝาน้ำจืด *H. (H.) bialatus*
(bar = 1 cm)



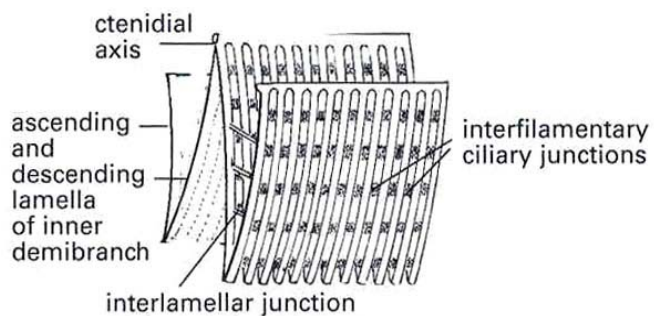
ภาพผนวกที่ ก3 ไตอะแกรมลักษณะกายวิภาคของหอยสองฝา

ที่มา: Miller and Harlry (1994)



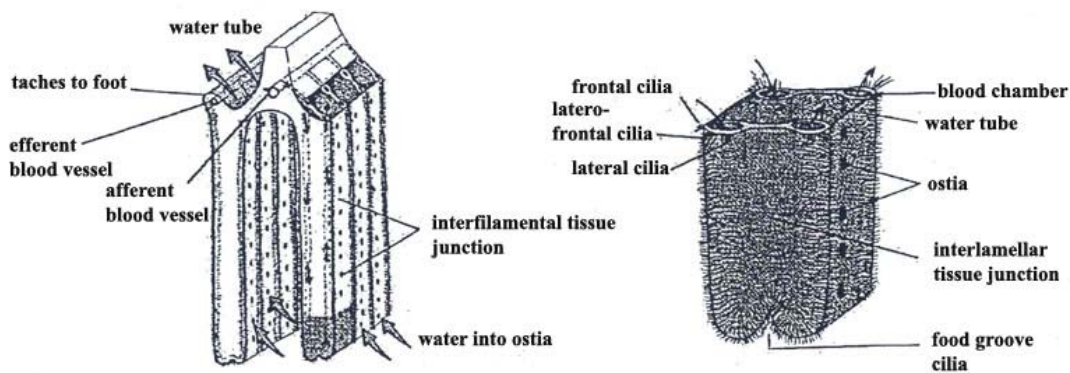
ภาพผนวกที่ ก4 วงชีวิตของหอยสองฝาน้ำจืด

ที่มา: Wisconsin (2003)



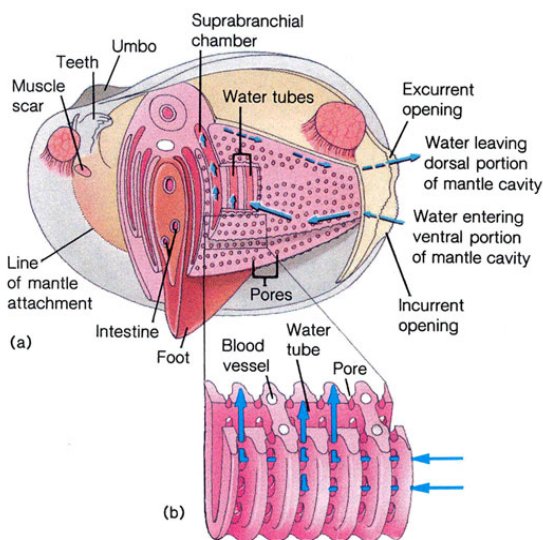
ภาพผนวกที่ ก5 แสดงเหงือกของหอยสองฝาแบบ eulamellibranch โดยมีลักษณะคล้ายอักษรรูป “w”

ที่มา: Anderson (2001)



ภาพผนวกที่ ก6 ลักษณะของเหงือก (eulamellibranch gill) ในหอยสองฝา Mercenaria mercenaria และแสดงรายละเอียดโครงสร้างพื้นฐานรูปแบบของซีเลียของแต่ละ demibranch

ที่มา: Pechenik (1996)

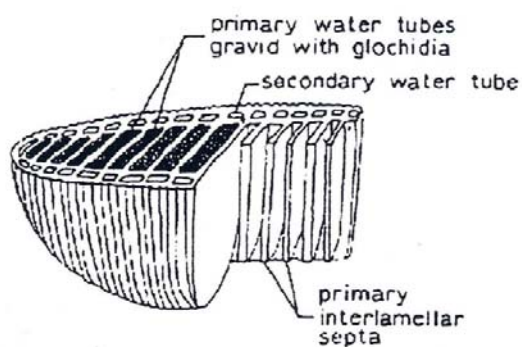


ภาพผนวกที่ ก7 เหงือกแบบ lamellibranch ของหอยสองฝา

A. แสดงการไหลของน้ำเข้าและออกในเหงือก โดยเหงือกทำหน้าที่กรองอาหาร

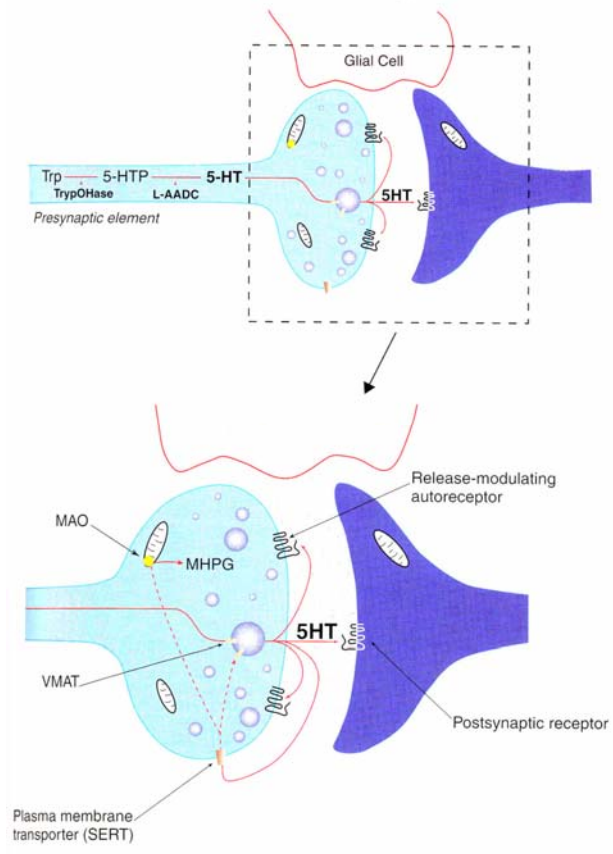
B. แสดง horizontal section ของเหงือก ซึ่งทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนแก๊ส

ที่มา: Miller and Harlry (1994)



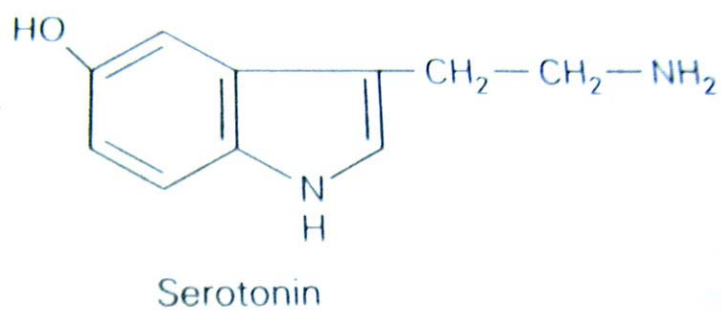
ภาพผนวกที่ ก8 โครงสร้างของ marsupia ของหอยกลุ่ม Unionacea แบบ tripatite organization ของหอยสกุล *Anodonta*

ที่มา: Tompa *et al.* (1984)



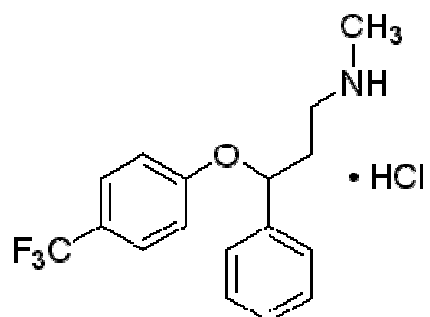
ภาพผนวกที่ ๙ การสร้าง 5-HT และการปล่อย 5-HT ไปยังอวัยวะเป้าหมาย โดยมี 5-HT บางส่วนถูกดูดกลับด้วย 5-HT transporter (SERT)

ที่มา: Squire *et al.* (2003)



ภาพผนวกที่ ๑๐ สูตรโครงสร้างของซีโรโทนิน

ที่มา: Kandel *et al.* (2000)



ภาพผนวกที่ ก11 สูตรโครงสร้างของ fluoxetine

ที่มา: <http://www.sigmaaldrich.com>

ภาคผนวก ข
(การเตรียมสารเคมีและตู้เชื่อม)

การเตรียมสารเคมีและวิธีการย้อมสีพาราฟินเทคนิค

1. น้ำยาคงสภาพ 10 % Buffered neutral formalin

| | | |
|---------------------|-----|----|
| Picric acid (sat.) | 750 | ml |
| 37-40 %Formaldehyde | 250 | ml |
| Gracial acitic acid | 50 | ml |

2. สีย้อม Harris's hematoxylin และ eosin

2.1 Harris's hematoxylin

| | | |
|------------------------------|------|----|
| Hematoxylin crystal | 5 | g |
| Absolute alcohol | 50 | g |
| Ammonium หรือ Potassium alum | 100 | g |
| Mercuric oxide (red) | 2.5 | g |
| Distilled water | 1000 | ml |

ต้มน้ำกลั่นในปีกเกอร์ขนาด 1,500 ml ให้เดือด เติม ammonium หรือ potassium alum คนให้ละลาย ละลายผง hematoxylin ใน absolute ethanol ในปีกเกอร์ขนาด 100 ml แล้วเติมลงในสารละลายของ ammonium หรือ potassium alum ที่กำลังเดือด คนให้เข้ากัน ต้มต่อไปอีก 30 วินาที ยกแช่ลงในน้ำเย็นและเติม Mercuric oxide ลงไปอย่างช้าๆทีละน้อย ไม่ควรเติมทีเดียวหมดเพราะจะกระเด็นซึ่งอาจเกิดอันตรายได้เนื่องจากปฏิกิริยารุนแรงคนสารละลายให้เข้ากันจนได้สารละลายสีม่วงน้ำเงินเข้ม ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเทใส่ขวดสีน้ำตาลเก็บไว้ได้นาน 1 สัปดาห์ แต่ถ้ามีความจำเป็นต้องรีบใช้ทันที ก็ใช้ได้เลยหลังจากที่สารละลายเย็นแล้ว สารละลายนี้เก็บไว้ได้นานประมาณ 6 เดือนในที่มืด

การตรวจว่าสารละลายหมดอายุนั้นทำได้โดยหยดสารละลาย 3-5 หยดในน้ำประมาณ 200 ml ถ้าได้สารละลายสีน้ำตาลแสดงว่าสารละลายหมดอายุแล้วให้ทิ้ง สารละลายที่เก็บไว้ ก่อนใช้ให้เติม glacial acid 2-4 ml ลงในสารละลาย 100 ml เพื่อช่วยให้ hematoxylin เปลี่ยนเป็น hermatein อย่างช้าๆ และทำให้เกิดการติดสีนิวเคลียสดีขึ้น

2.2 Eosin – phloxine solution

2.2.1 Stock eosin

| | | |
|-----------------|-----|----|
| Eosin Y | 1 | g |
| Distilled water | 100 | ml |

2.2.2 Stock phloxine

| | | |
|-----------------|-----|----|
| Phloxine B | 1 | g |
| Distilled water | 100 | ml |

2.2.3 Working solution

| | | |
|---------------------|-----|----|
| Stock eosin | 100 | ml |
| Stock phloxine | 10 | ml |
| 95 % ethanol | 780 | ml |
| Glacial acetic acid | 4 | ml |

เติม glacial acetic acid 0.5 ml ต่อ 100 ml ของ working solution

2.3 Acid alcohol, 1%

| | | |
|-------------------|-----|----|
| 70 % ethanol | 100 | ml |
| Hydrochloric acid | 10 | ml |

2.4 Ammonium water 0.2 %

| | | |
|------------------------|------|----|
| Tap water | 1000 | ml |
| Ammonium hydroxide 28% | 2 | ml |

3. วิธีการย้อมสี Harris's hematoxylin-Eosin

นำ paraffin section ผ่านขั้นตอนการย้อมสีดังนี้

3.1 xylene 2 ครั้งๆ ละ 5 นาที

- 3.2 absolute, 95 % และ 70 % ethanol ตามลำดับ ขึ้นตอนละ 2 นาที
- 3.3 น้ำกลั่น 5 นาที
- 3.4 Harris's hematoxylin ประมาณ 7-10 นาที
- 3.5 ล้างในน้ำประปาที่ไหลประมาณ 5 นาที
- 3.6 differentiate ใน 1% acid alcohol โดยจุ่ม(dip) 3 ครั้ง
- 3.7 ล้างในน้ำประปาที่ไหลประมาณ 5 นาที
- 3.8 แช่ใน ammonium water solution 1 นาที
- 3.9 ล้างในน้ำประปาที่ไหลประมาณ 5 นาที
- 3.10 70 % ethanol 2 นาที
- 3.11 eosin working solution 30 วินาที
- 3.12 95 % และ absolute ethanol ขึ้นตอนละ 2 ครั้งๆ ละ 2 นาที
- 3.13 xylene 2 ครั้งๆ ละ 5 นาที
- 3.14 mount ด้วย permount

ผล : นิวเคลียสย้อมติดสีม่วงน้ำเงิน หรือน้ำเงิน
ไซโทพลาซึมติดสีชมพูถึงส้มแดง

4. สีย้อม Gomori's Paraldehyde-fuchsin staining (PAF)

4.1 Cameron and Steele Method (1959)

4.1.1 Potassium permanganate, 0.3 %

| | | |
|-----------------------------|-----|----|
| Potassium permanganate | 0.3 | g |
| Distilled water | 100 | ml |
| Sulfuric acid, concentrated | 0.3 | ml |

4.1.2 Sodium bisulfate, 2.5 %

| | | |
|------------------|-----|----|
| Sodium bisulfate | 2.5 | g |
| Distilled water | 100 | ml |

4.2 Halmi mixture (1952)

| | |
|--|--------|
| Distilled water | 100 ml |
| Light green SF, yellowish (C.I. 42095) | 0.2 g |
| Orange G (C.I. 16230) | 1 g |
| Chromotrope 2R (C.I. 16570) | 0.5 g |

ชั่ง basis fuchsin (C.I. 42500) มา 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ต้มเดือด 200 ml แล้วต้มต่ออีก 1 นาที ทิ้งให้เย็นและกรอง เติมกรดเกลือ 2 ml และเติม paraldehyde 2 ml คนให้เข้ากันทิ้งไว้ 3-4 วัน จนกว่าสีจะกลายเป็นสีม่วงน้ำเงิน กรองและเก็บตะกอนไว้และตากไว้จนกว่าจะแห้ง เมื่อแห้งแล้วจึงเก็บใส่ขวดสีด้าเก็บไว้ ถ้าต้องการใช้ให้นำตะกอนมาละลายใน 70% แอลกอฮอล์ โดยชั่งมา 0.2 กรัม ใส่ลงในภาชนะที่มี 70% แอลกอฮอล์ ปริมาตร 50 ml เก็บไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ จึงนำมาใช้ได้

5. วิธีการย้อมสี PAF

1. Deparaffinize และแช่ใน 100% 95% 80% 70% ความเข้มข้นละ 2 นาที หลังจากนั้นจึงนำไปลงน้ำ 5 นาที
2. แช่สไลด์ใน Potassium permanganate 1 นาที
3. ล้างในน้ำกลั่น 5 นาที
4. ล้างใน bisulfate จนไม่มีสีออกมา
5. ล้างใน running water 5 นาที
6. ย้ายไปแช่ใน 70 %แอลกอฮอล์ 2 นาที
7. ย้อมสีใน aldehyde-fuchsin: 2-10 minutes.
8. เช็ดด้านหลังของสไลด์ และ แช่ใน 95 % แอลกอฮอล์ 2 นาที
9. นำไปแช่ใน 95 % แอลกอฮอล์ อีกภาชนะหนึ่ง 2 นาที จนกว่าจะไม่มีสี aldehyde-fuchsin ออกมา
10. ย้ายไปใส่ใน 70 % แอลกอฮอล์ 2 นาที
11. ล้างในน้ำกลั่น 1 นาที
12. ย้อมสีใน Halmi mixture 45 วินาที
13. เช็ดด้านหลังสไลด์ และนำไปแช่ใน 95 % แอลกอฮอล์ ที่ใส่ 0.2 % acetic acid 2-3 นาที
14. ล้างใน 95 % แอลกอฮอล์ที่เตรียมใหม่

15. Dehydrate ใน absolute alcohol และ mount.

ผล: เซลล์จะมีสีน้ำเงินในไซโตพลาสซึม

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

| | |
|--------------------------------|--|
| ชื่อ –นามสกุล | นางสาวเพ็ญจันทร์ มีชนกิจ |
| วัน เดือน ปี ที่เกิด | วันที่ 14 มิถุนายน 2511 |
| สถานที่เกิด | จังหวัด กรุงเทพมหานคร |
| ประวัติการศึกษา | ระดับปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์ วิชาเอก ชีววิทยา มหาวิทยาลัยรามคำแหง |
| ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน | นักวิทยาศาสตร์ 6 |
| สถานที่ทำงานปัจจุบัน | ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล |
| ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ | - |
| ทุนการศึกษาที่ได้รับ | โครงการทุนวิจัยมหับัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และทุนบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ |