

บรรณานุกรม

- งานทะเบียนมะเร็ง ศูนย์มะเร็ง ลำปาง. 2551. สถิติโรคมะเร็ง ศูนย์มะเร็ง ลำปาง ปี พ.ศ.2550 เล่มที่ 8 (Hospital-Based Cancer Registry, 2007 Vol.VIII). กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จดพล ศรีสมบูรณ์. 2553. ความรู้เกี่ยวกับมะเร็งปากมดลูก. [Online]. http://www.rtcog.or.th/html/articles_details.php?id=13 [08 December 2010]
- จันทพงษ์ ะสี และประเสริฐ ทองเจริญ. 2535. การตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสทางห้องปฏิบัติการ. ใน รวงผึ้ง สุทธเนตร์ และจันทพงษ์ ะสี (บก.). การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการไวรัส. คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.
- จันทพงษ์ ะสี, ประเสริฐ ทองเจริญ, พิไลพันธ์ พุชวัฒน์, อุไรวรรณ โขมิตานนท์, สุดา ลุยศิริโรจนกุล, เลอสรวง ชวนิชย์, สนทนา ศิริคันติกร, สุวรรณ ไวณอมสัจจ์ และปรเมศวร์ ชัยประสิทธิ์กุล. 2530. ไวรัสวิทยาการแพทย์. กรุงเทพฯ. สาขาไวรัสวิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล, โรงพิมพ์อักษรสมัย.
- จันทพงษ์ ะสี. 2540. General properties of viruses. ไวรัสวิทยา. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.
- จารุวรรณ วิจิตรวงศ์วาน. 2552. การยับยั้งเชื้อไวรัสก่อโรคเรื้อรังชนิดที่ 2 โดยสารสกัดจากโพรพอลิส. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่
- ชัชฎ์ พันธุ์เจริญ, จดพล ศรีสมบูรณ์, อุษา ทิศยากร และสมศักดิ์ โล่เลขา. 2549. คู่กันเรื่อง มะเร็งปากมดลูก และการป้องกันด้วยวัคซีนเฮซพีวี. สมาคมกุมารแพทย์แห่งประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร.
- ชนันัญญา ทองตัน. 2549. การตายของเซลล์ (Cell Death and Apoptosis). ใน สิทธิศักดิ์ หารณาเวก และชัชวรัตน์ สว่างคง (บก.). เซลล์ชีววิทยาทางการแพทย์ 2 กลไกการทำงานของเซลล์และเนื้อเยื่อ. ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ประเสริฐ ทองเจริญ. 2528. เริม. สำนักพิมพ์เมดาร์ท จำกัด. กรุงเทพมหานคร.

- พงษ์พิทักษ์ ศุภกิจเจริญกุล, ศรีนทร์ กอเจริญกุล และสรัญญา ชวนพงษ์พานิช. 2541. การพัฒนารูปยาเตรียมจาก propolis โดยการทำเป็นยาเม็ดอมชนิด Lozenges และ Hard candy และการประเมินคุณภาพ. ปัญหาพิเศษเภสัชศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- พิไลพันธ์ พุชวิฒนะ และชโลบล อยู่สุข. 2538. Human herpesviruses. สาขาจุลชีววิทยา ปรสดีวิทยา และอิมมิวโนวิทยา มหาวิทยาลัยมหิดล.
- พิไลพันธ์ พุชวิฒนะ, ชโลบล อยู่สุข, บุญยศ เรืองสกุลราช และวรรณิ กณฐกมลากล. 2540. ไวรัสวิทยา, ฉบับพิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์อักษรสมัย. กรุงเทพมหานคร.
- พิไลพันธ์ พุชวิฒนะ และรวงผึ้ง สุทเชนทร์. 2540. Pathogenesis of viral infection. ไวรัสวิทยา. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.
- รวงผึ้ง สุทเชนทร์ และจันทพงษ์ วะสี. 2535. วิธีการศึกษาทางห้องปฏิบัติการไวรัส. ใน รวงผึ้ง สุทเชนทร์ และจันทพงษ์ วะสี (บก.). การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการไวรัส. คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.
- ศฤกพรธณ วิไลลักษณ์. 2541. มะเร็งปากมดลูกสาระนั้นรู้สำหรับประชาชนทั่วไป ญาติและผู้ป่วย. โรงพิมพ์เยียร์บุ๊คพับลิชเชอร์. กรุงเทพมหานคร.
- อรพรรณ มาตังคสมบัติ. 2538. ยารักษาโรคติดเชื้อ Herpesviruses. ในพิไลพันธ์ พุชวิฒนะ และชโลบลอยู่สุข (บก.). Human Herpesviruses. หน้า 15.1-15.9. โรงพิมพ์อักษรสมัย. กรุงเทพมหานคร.
- อำไพ จารุวัชรพานิชกุล, ชวพรพรรณ จันทร์ประสิทธิ์, วราภรณ์ เลิศพูนวิไลกุล และสุชาวี เหล่ารักษ์พงษ์. 2546. ทักษะทางเพศในสตรีที่เป็นมะเร็งนรีเวช. คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ศิริวรรณ อธิคมกุลชัย. 2008. โพรพอลิส: ของขวัญจากธรรมชาติ. *13th year of Srinakharinwirot Journal of Pharmaceutical Science*. 3(2): 286-295.
- American Institutes for Biological and Nutritional Sciences. 2005. Cell Apoptosis. [Online]. <http://www.aibnsus.org/AcdamicEmblem.html> [21 December 2010]
- Amoros, M., Sauvager, F., Girre, L., Cormier, M. 1992. *In vitro* antiviral activity of propolis. *Journal of Apidologie*. 23; 231-240.

- Awale, S., Li, F., Onozuka, H., Esumi, H., Tezuka, Y. and Kadota, S. 2008. Constituents of Brazilian red propolis and their preferential cytotoxic activity against human pancreatic PANC-1 cancer cell line in nutrient-deprived condition. *Journal of Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 16: 181-189.
- Balfour, H.H. 1999. Antiviral Drugs. *Massachusetts Medical Society*. 340: 1255-1268.
- Bankova, V.S., Popov, S.S. and Marekov, N.L. 1982. High-performance liquid chromatographic analysis of flavonoids from propolis. *Journal of Chromatography*. 242: 135-143.
- Banskota, A.H., Nagaoka, T., Sumioka, L.Y., Tezuka, Y., Awale, S., Midorikawa, K. and Kadota, S. 2002. Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines. *Journal of Ethnopharmacology*. 80: 67-73.
- Cardoso, R.L., Maboni, F., Machado, G., Alves, S.H. and Vargas, A.C. 2010. Antimicrobial activity of propolis extract against *Staphylococcus* coagulase positive and *Malassezia pachydermatis* of canine otitis. *Journal of Veterinary Microbiology*. 142: 432-434.
- Chang, L-Y., Ali, AR. M., Hassan, S.S. and AbuBaker, S. 2006. Quantitative estimation of Nipah virus replication kinetics *in vitro*. *Journal of Virology*. 3: 47.
- Cheng, H.Y., Lin, T.C., Yang, C.M., Wang, K.C. and Lin, C.C. 2004. Mechanism of action of the suppression of herpes simplex virus type 2 replication by pterocarnin A. *Journal of Microbes and Infection*. 6 : 738-744.
- Chen, C-N., Wu, C-L. and Lin, J-K. 2007. Apoptosis of human melanoma cells induced by the novel compound propolin A and propolin B from Taiwanese propolis. *Journal of Cancer Litters*. 245: 218-231.
- Chen, C-R., Lee, Y-N., Lee, M-R. and Chang, C-M.J. 2009. Supercritical fluids extraction of cinnamic acid derivatives from Brazilian propolis and the effect on growth inhibition of colon cancer cells. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 40: 130-135
- Cirasino, L., Pisati, A. and Fasani, F. 1987. Contact dermatitis from propolis. *Journal of Contact Dermatitis*. 16: 110-111.
- Epstein, M.A. 1961. Some unusual features of fine structure observed in HeLa cells. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*. 10 (2): 153-162.

- Gekker, G., Hu, S., Spivak, M., Lokensgard, J.R. and Peterson, P.K. 2005. Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4(+) lymphocyte and microglial cell cultures. *Journal of Ethnopharmacology*. 102: 158–163.
- Ghavami, S., Hashemi, M., Ande, S.R., Yeganeh, B., Xiao, W., Eshraghi, M. Bus, C.J., Kadkhoda, K., Wiechec, E., Halayko, A.J. and Los, M. 2009. Apoptosis and cancer: mutations within caspase genes. *Journal of Medical Genetics*. 46: 497-510.
- Gibthai Training Center. 2011. Workshop 2011 The apoptosis assay using assay using asymmetry membrane detection. Gibthai Training Center.
- Grunberger, D., Bannerjee, R., Eisinger K, et al. 1988. Referential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. *Journal of Experientia*. 44: 230-232.
- Han, C-P., Tsao, Y-P., Sun, C-A., Ng, H-T. and Chen, S-L. 1997. Human papillomavirus, cytomegalovirus and herpes simplex virus infections for cervical cancer in Taiwan. *Journal of Cancer Letters*. 120: 217-221.
- Hildesheim, A., Mann, V., Brinton, L.A., Szklo, M., Reeves, W.C. and Rawls, W.E. 1991. Herpes simplex type 2: A possible interaction with human papillomavirus type 16/18 in the development of invasive cervical cancer. *International Journal of Cancer*. 49 (3): 335-340.
- Hu, F., Hepburn, H.R., Li, Y., Chen, M., Radloff, S.E. and Daya, S. 2005. Effects of ethanol and water extracts of propolis (bee glue) on acute inflammatory animal models. *Journal of Ethnopharmacology*. 100: 276–283.
- Huleihel, M. and Isanu, V. 2002. Anti-Herpes Simplex Virus Effect of an Aqueous Extract of Propolis. *Journal of Israel Medical Association*. 4(suppl): 923-927.
- Huleihel, M. and Isanu, V. 2004. Effect of propolis extract on malignant cell transformation by moloney murine sarcoma virus. *Journal of Arch Virol*. 146 (8): 1517-1526.
- Kaul, T.N., Middleton, E. and Ogra, P.L. 1985. Antiviral effect of flavonoids on human viruses. *Journal of Medical Virology*. 15: 71-79.
- Khayyal, M.T., El-Ghazaly, M.A. and El-Khatib, A.S. 1993. Mechanisms involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Drugs under Experimental and Clinical Research*. 19: 192–203.

- Kosalec, I., Pepeljnjak, S., Bakmaz, M. and Vladimir-Knezevic, S. 2005. Flavonoid analysis and antimicrobial activity of commercially available propolis products. *Journal of Acta Pharm.* 55(4): 423-430.
- Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Yu., Bankova, V., Christov, R. and Popov, S. 1999. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of Ethnopharmacology.* 64: 235-240.
- Libério, S.A., Pereira, A.L., Araújo, M.J., Dutra, R.P., Nascimento, F.R., Monteiro-Neto, V., Ribeiro, M.N., Gonçalves, A.G. and Guerra, R.N. 2009. The potential use of propolis as a cariostatic agent and its action on mutans group streptococci. *Journal of Ethnopharmacology.* 125: 1–9.
- Lu, L-C., Chen, Y-W. and Chou, C-C. 2005. Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology.* 102: 213-220.
- Matsushige, K., Kusumoto, I.T., Yamamoto, Y., Kadota, S., and Namba, T. 1995. Quality evaluation of propolis. I A comparative study on radical scavenging effects of propolis and vespaie nidus. *Journal of Tradition Medicine.* 12: 45-53.
- Matsushige, K., Basnet, P., Kadota, S. and Namba, T. 1996. Potent free radical scavenging activity of dicaffeoyl quinic acid derivatives from propolis. *Journal of Tradition Medicine.* 13: 217-228.
- Matsushige, K., Basnet, P., Hase, K., Kadota, S., Tanaka, K. and Namba, T. 1996b. Propolis protects pancreatic b-cells against toxicity of streptozotocin (STZ). *Journal of Phytomedicine.* 3: 203-209.
- Mirzoeva, O.K. and Calder, P.C. 1996. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during inflammatory response. *Prostaglandins, Leukotrienes Essent Fatty Acids* 55:441-449.
- Missima, F., Pagliarone, A.C., Orsatti, C.L. and Sforcin, J.M. 2009. The effect of propolis on pro-inflammatory cytokines produced by melanoma-bearing mice submitted to chronic stress. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science.* 1: 11–15.
- Missima, F., Pagliarone, A.C., Orsatti, C.L., Araújo Jr., J.P. and Sforcin, J.M. 2010. Propolis effect on Th1/Th2 cytokines' expression and production by melanoma-bearing mice submitted to stress. *Journal of Phytotherapy Research.* 24: 1501–1507.

- Miyataka, H., Nishiki, M., Matsumoto, H., Fujimoto, T., Matsuka, M. and Satoh, T. 1997. Evaluation of propolis I. Evaluation of Brazilian and Chinese propolis by enzymatic and physic-chemical methods. *Journal of Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 20: 496–501.
- Monti, M., Berti, E., Carminati, G. and Cusini, M. 1983. Occupational and cosmetic dermatitis from propolis. *Journal of Contact Dermatitis*. 9: 163.
- Motomura, M., Kwon, K.M., Suh, S-J., Lee, Y-C., Kim, Y-K., Lee, I-S., Kim, M-S., Kwon, D.Y., Suzuki, I. and Kim, C-H. 2008. Propolis induces cell cycle arrest and apoptosis in human leukemic U937 cells through Bcl-2/Bax regulation. *Journal of Environmental Toxicology and Pharmacology*. 26: 61-67.
- Mucsi, I., Beladi, I., Puszai, R. and Gabor, M. 1977. Antiviral effect of flavonoids. *Proceedings of the 5th. Hungarian Bioflavonoid Symposium*. 401-409.
- Natarajan, K., Singh, S., Burke, T.R., Grunberger, D., and Aggarwal, B.B. 1996. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation on nuclear transcription factor NF- κ B. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 93:9090-9095.
- Nolkemper, S., Reichling, J., Sensch, K. H. and Schnitzler, P. 2010. Mechanism of herpes simplex virus type 2 suppression by propolis extracts. *Journal of Phytomedicine*. 17: 132-138.
- Orsatti, C.L., Missima, F., Pagliarone, A.C. and Sforzin, J.M. 2010. Th1/Th2 cytokines expression and production by propolis-treated mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 129: 314–318.
- Paulino, N., Teixeira, C., Martins, R., Scremin, A., Dirsch, V.M., Vollmar, A.M., Abreu, S.R., De Castro, S.L. and Marcucci, M.C. 2006. Evaluation of the analgesic and antiinflammatory effects of a Brazilian green propolis. *Journal of Planta Medica*. 72: 899–906.
- Reed, J. and Muench, H. 1938. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *American Journal of Hygiene*. 27, 493-497.

- Sá-Nunes, A., Faccioli, L.H. and Sforcin, J.M. 2003. Propolis: lymphocyte proliferation and IFN- γ production. *Journal of Ethnopharmacology*. 87: 93-97.
- Serkedjieva, J. and Manolova, N. 1992. Anti-Influenza virus effect of some propolis constituents and their analogues (esters of substituted cinnamic acids). *Journal of Natural Products*. 55(3): 294-297.
- Sforcin, J.M. and Bankova, V. 2010. Propolis: Is there potential for the development of new drug?. *Journal of Ethnopharmacology*.
- Sforcin, J. M., Fernandes, Jr., Lopes, C. A. M., Bankova, V. and Funari, S. R. C. 2000. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 73 : 243-249.
- Sforcin, J. M., Fernandes Jr., Lopes, C. A. M., Funari, S.R.C. and Bankova, V. 2001. Seasonal effect of Brazilian propolis on *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *Journal of Venomous Animals and Toxins*. 7: 139–144.
- Sforcin, J.M., Fernandes Jr.,A., Lopes,C.A.M.,Bankova,V. and Funari, S.R.C. 2000. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 73: 243–249.
- Sforcin, J.M., Kaneno, R. and Funari, S.R.C. 2002. Absence of seasonal effect on the immunomodulatory action of Brazilian propolis on natural killer activity. *Journal of Venomous Animals and Toxins*. 8: 19–29.
- Silici, S. and Kutluca, S. 2005. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*. 99 : 69-73.
- Tangkeangsirisin. W. 2011. Principle of Apoptosis. Biopharmacy Department Faculty of Pharmacy Silpakorn University.
- Toda, K. 2006. Ken Todar's Microbial World. The Microbial World Home Page [Online] Available:<http://bioinfo.bact.wisc.edu/themicrobialworld/AnimalViruses.html> [2010, Aug.9].
- Valente. M.J., Baltazar. A.F., Henrique. R., Estevinho. L. and Carvalho. M. 2011. Biological activities of Portuguese propolis: Protection against free radical-induced erythrocyte



damage and inhibition of human renal cancer cell growth *in vitro*. *Journal of food and Chemical Toxicology*. 49: 86-92.

Vatansever. H.S., Sorkun. K., Gurhan. S.I.D., Ozdal-Kurt. F., Turkoz. Elgin., Omur. G. and Salih.

B. 2010. Propolis from Turkey induces apoptosis through activating caspases in human breast carcinoma cell line. *Journal of Acta histochemica*. 112: 546-556.

Wu, J-J., Shen, C-T., Jong, T-T., Young, C-C., Yang, H-L., Hsu, S-L., Chang, C-m. J. and Shieh,

C-J. 2009. Supercritical carbon dioxide anti-solvent process for purification of micronized propolis particulates and associated anti-cancer activity. *Journa of Separation and Purification Technology*. 70 : 190-198.

ภาคผนวก



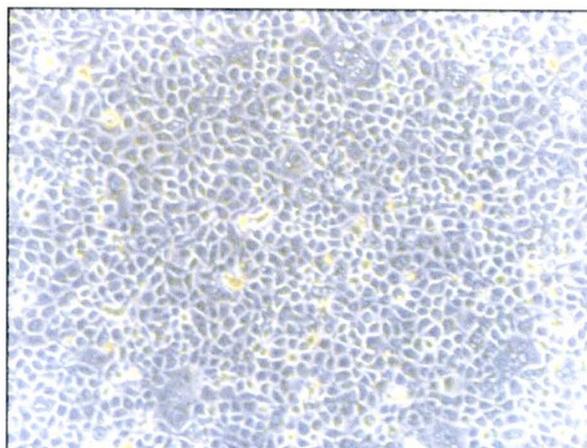
ภาคผนวก ก เซลล์เพาะเลี้ยง

Cell culture คือ เซลล์เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่เซลล์เหล่านั้นไม่สามารถกลับมาเรียงตัวหรือ organized เป็น tissue ได้อีก โดยจะสูญเสียคุณสมบัติและหน้าที่เดิมของ tissue ไป เซลล์เพาะเลี้ยง สามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิด

1. Primary cell line เป็นเซลล์ที่แยกได้จากสิ่งมีชีวิต หรืออวัยวะของสิ่งมีชีวิตโดยตรง มีคุณสมบัติเหมือนเซลล์ที่อยู่ในสิ่งมีชีวิต คือ มีรูปร่าง โครโมโซม เหมือนอวัยวะต้นกำเนิดทุกประการ เช่น fibroblast cell และ epithelial cell เซลล์ชนิดนี้มีข้อเสียคือ สามารถเพาะเลี้ยงได้ไม่นานนัก และมักตายหลังมีการ subculture

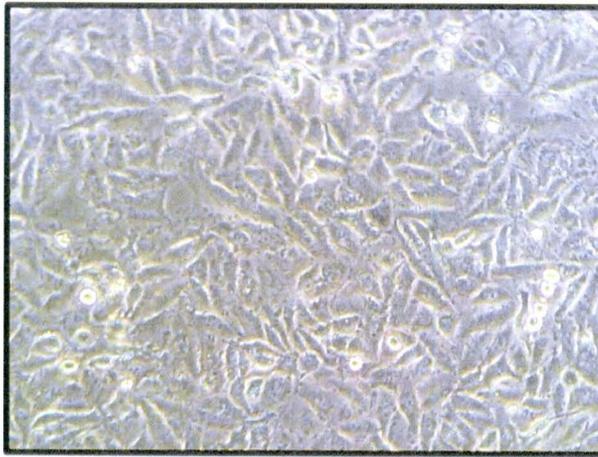
2. Diploid cell line มีต้นกำเนิดจาก primary cell line เช่น MRC-5 (Medical Research Council 5) จาก Human embryonic lung เป็นเซลล์ที่มีความไวในการแยกเชื้อสูง เหมาะกับการใช้เตรียมวัคซีน มีข้อเสียคือ สามารถ subculture ได้ 50-100 ครั้ง จากนั้นเซลล์จะตาย

3. Continuous cell line เป็นเซลล์ที่มีคุณสมบัติแบ่งตัวได้ไม่มีสิ้นสุด สามารถ subculture ได้หลายร้อยครั้ง ซึ่งมีต้นกำเนิดจากการเปลี่ยนแปลงของ diploid cell line ไปเป็นเซลล์มะเร็ง ซึ่งเซลล์นี้จะมีข้อเสียคือ เป็นเซลล์ที่มักกลายพันธุ์ไปจากเซลล์ปกติ ทำให้เซลล์มีคุณสมบัติที่เปลี่ยนไป ทำให้ความไวในการแยกเชื้อลดลง และเนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นเซลล์มะเร็งจึงไม่นิยมนำเซลล์ชนิดนี้มาใช้ในการเตรียมวัคซีน เช่น Vero cell, HeLa cell (ภาพ 21, 22)



ภาพ 21 Vero cells

Vero cells มีต้นกำเนิดจากเซลล์ไตลิง (African green monkey cercopithecus aethiops kidney cells) จัดเป็นเซลล์เพาะเลี้ยงแบบ established cell lines มีความสามารถเพาะเลี้ยงได้ไม่จำกัดหรือหลายช่วงอายุ ลักษณะเซลล์แบบ epithelial cell เป็นเซลล์แบบยึดเกาะชั้นเดียว (monolayer) มีจำนวนโครโมโซมเป็น heteroploid เซลล์ประเภทนี้นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการไวรัส (จันทพงษ์ และคณะ, 2530)



ภาพ 22 HeLa cell

HeLa cell เป็นเซลล์มะเร็งปากมดลูก ที่ได้มาจาก Henrietta Lacks ซึ่งเสียชีวิตด้วยโรคมะเร็ง เป็นเซลล์ และเนื่องจาก HeLa cell เป็นเซลล์มะเร็งจึงสามารถเจริญพัฒนา ได้อย่างไม่สิ้นสุดหากมีการควบคุมสภาวะแวดล้อมอย่างเหมาะสมและมีอาหารหล่อเลี้ยงเพียงพอ (Epstein, 1961)

ภาคผนวก ข
อาหารและสารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์

1. Dulbecco' s Modified Eagle's Medium (DMEM)

DMEM**	13.4	g
NaHCO ₃	0.8	g
Penicillin Streptomycin	10	ml
น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ	1000	ml

ผสม DMEM กับน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ เขย่าให้ละลาย เติม NaHCO₃ จึงนำไปกรองด้วยแผ่นกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.2 µm ที่ฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นเติม Penicillin Streptomycin (GIBCO®)

- **DMEM มีส่วนประกอบดังนี้
- 4.0 mM L-Glutamine
 - 4,500 mg/L Glucose
 - without Sodium Pyruvate
 - without Sodium Bicarbonate

2. Minimum Essential Medium (MEM)

MEM*	9.5	g
NaHCO ₃	0.8	g
Gentamycin	1000	µl
น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ	1000	ml

ผสม MEM กับน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ เขย่าให้ละลาย เติม NaHCO₃ จึงนำไปกรองด้วยแผ่นกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.2 µm ที่ฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นจึงเติม gentamycin

- *MEM มีส่วนประกอบดังนี้
- Earle's Balanced Salts
 - 2.0 mM L-glutamine
 - without sodium bicarbonate

3. MEM Growth medium

MEM	90	ml
Inactivated serum	10	ml

เตรียมด้วยวิธีไร้เชื้อ โดยผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

4. DMEM Growth medium

DMEM	89	ml
L-Glutamine	1	ml
Inactivated serum	10	ml

เตรียมด้วยวิธีไร้เชื้อ โดยผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

5. Maintenance medium

MEM	20	ml
Inactivated serum	0.4	ml

เตรียมด้วยวิธีไร้เชื้อ โดยผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

6. Overlay medium

Sodium Carboxy Methylcellulose, 1.5% (W/V)	3.5	ml
Growth medium	10.5	ml
NaHCO ₃	50	μl

นำส่วนผสมแต่ละส่วนไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ นำส่วนผสมที่ฆ่าเชื้อแล้วทั้งสามส่วนมาผสมกันก่อนใช้งาน เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

5. Inactivated serum

นำ bovine calf serum มาทำการ inactivate โดยนำไปแช่ใน waterbath ที่อุณหภูมิ 56 °C นาน 30 นาที ระยะเวลาแบ่งออกใช้เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C ส่วน stock ที่เหลือเก็บที่อุณหภูมิ -20 °C

ภาคผนวก ก
สารเคมีและสีย้อม

1. Phosphate Buffered Saline (PBS, 10X)

NaCl	40	g
KCl	1	g
NaHCO ₃	5.75	g
KH ₂ PO ₄	1	g
น้ำกลั่น	500	ml

ผสมให้เข้ากันดี แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที เก็บที่อุณหภูมิห้อง

2. Trypsin, 1% (W/V)

Trypsin	1	g
PBS, 1X	100	ml

กรองด้วยแผ่นกรองที่มี pore size 0.45 µm เก็บที่อุณหภูมิ -20 °C

3. 1% ethylenediamine tetra- acetic acid (EDTA)

EDTA	1	g
ปรับปริมาตรด้วย PBS (1X)	100	ml

ผสมให้เข้ากันดี แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

4. NaHCO₃, 10% (W/V)

NaHCO ₃	10	g
น้ำกลั่น	100	ml

ผสมให้เข้ากันดี แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

5. Sodium Carboxy Methylcellulose, 1.5% (W/V)

Sodium carboxy methylcellulose	1.5	g
น้ำกลั่น	100	ml

ผสมให้เข้ากันดี แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

6. Crystal Violet, 1% (W/V) ใน 1% ethanol

Crystal violet	1	g
95% Ethanol	10	ml
น้ำกลั่น	990	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดจนเข้ากัน แล้วเก็บไว้ในขวดสีชา

7. Trypsin-EDTA, 1% (W/V)

Trypsin-EDTA, 1% (W/V)	10	ml
EDTA, 1% (W/V)	10	ml
PBS (1X)	80	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดจนเข้ากัน เก็บที่อุณหภูมิ 4°C

8. 70% alcohol

95% alcohol	148	ml
น้ำกลั่นเติมจนปริมาตรเป็น	200	ml

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ - สกุล

นางสาวศิรินาฏ มุสิเอก

วัน เดือน ปีเกิด

19 พฤศจิกายน 2529

ประวัติการศึกษา

สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนจักรคำ
คณาทร จังหวัดลำพูน ปีการศึกษา 2547

สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา
จุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ปีการศึกษา 2551

ประสบการณ์

เสนอผลงานในรูปแบบ oral presentation ในงานประชุมวิชาการ
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 3 “การพัฒนา
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในยุคเศรษฐกิจสร้างสรรค์” ประจำปี
2553

เสนอผลงานในรูปแบบ oral presentation ในงานประชุมวิชาการ
โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยี ครั้งที่ 5 ประจำปี 2554



