

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารละลาย

การเตรียม 200 mM EDTA

ละลาย ethylenediamine tetraacetate (disodiumsalt) 14.89 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร

0.75% Low melting agarose (LMA)

ละลายผง low melting agarose 0.075 กรัม ด้วย phosphate buffer saline (1xPBS) จำนวน 10 มิลลิลิตร นำไปละลายด้วยความร้อน โดยใช้ hot plate หรือ microwave oven

1.0% Normal melting agarose (NMA)

ละลายผง normal melting agarose 0.1 กรัม ด้วย phosphate buffer saline (1xPBS) จำนวน 10 มิลลิลิตร นำไปละลายด้วยความร้อน โดยใช้ hot plate หรือ microwave oven

RPMI 1640 for comet assay

ประกอบด้วย	RPMI 1640 powder	10.42	กรัม
	Sodiumbicarbonate (NaHCO_3)	2.0	กรัม
	Streptomycin	100	มิลลิกรัม
	Ampicillin	30	มิลลิกรัม
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

นำส่วนผสมสารละลายมาคนด้วย magnetic stirrer ปรับ pH ให้ได้ประมาณ 7.2 แล้วกรองด้วย sterilized filter แบ่งใส่ขวดที่ปราศจากเชื้อ เก็บในตู้เย็น ที่ 4°C

Phosphate buffer saline solution (1xPBS) for comet assay

Sodium chloride (NaCl)	8	กรัม
Potassium chloride (KCl)	0.2	กรัม
Di-sodiumhydrogenphosphate dibasic	1.15	กรัม
Potassium dihydrogen phosphate	0.2	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

นำส่วนผสมสารละลายผสมด้วย magnetic stirrer แล้วนำไปกรองด้วย sterilized filter
เก็บไว้ในขวดที่ปราศจากเชื้อ ที่ 4°C

ภาคผนวก ข

ตัวอย่างการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธี one-way Analysis of Variance (one-way ANOVA)

จาก ตารางที่ 1 แสดงจำนวนความผิดปกติของโครโมโซมที่ตรวจพบจากแต่ละหลอดทดลอง

สารที่เติม	จำนวนโครโมโซมที่ตรวจ	Exp 1	Exp 2	Exp 3	Exp 4	Exp 5	Total
1. Negative control (น้ำกลั่น)	23,000	5	1	1	1	2	10
2. Solvent control (DMSO)	23,000	2	2	1	2	2	9
3. Positive control(MMC 0.5µg/ml)	23,000	93	77	73	94	43	380***
4. Lannate 100 µg/ml	23,000	3	8	4	7	0	22
5. Lannate 400 µg/ml	23,000	5	4	10	12	4	35
6. Lannate 800 µg/ml	23,000	12	14	12	16	14	68*
7. Lannate 1,600 µg/ml	23,000	11	17	18	30	22	98*
8. Tamaron 100 µg/ml	23,000	4	7	3	3	5	22
9. Tamaron 400 µg/ml	23,000	1	8	5	6	10	30
10. Tamaron 800 µg/ml	23,000	6	4	10	7	4	31
11. Furadan 50 µg/ml	23,000	4	0	1	4	1	10
12. Furadan 100 µg/ml	23,000	6	6	4	4	10	30*
13. Furadan 150 µg/ml	23,000	2	4	1	5	5	17

* $p < 0.05$ *** $p < 0.001$ เมื่อเปรียบเทียบกับ negative control

สูตรการวิเคราะห์ one-way ANOVA

source of variation	df	Sum of square(SS)	Mean Square (MS)	F
Between groups	k-1	$SS_B = \frac{\sum_{j=1}^k T_j^2}{n_j} - \frac{T^2}{N}$	$MS_B = \frac{SS_B}{k-1}$	$F = \frac{MS_B}{MS_W}$
Within groups	k(n-1)	$SS_W = SS_T - SS_B$	$MS_W = \frac{SS_W}{k(n-1)}$	
Total	nk-1	$SS_T = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} X_{ij}^2 - \frac{T^2}{N}$		

ตัวอย่างการคำนวณ one-way ANOVA ในกลุ่มที่เติมแลนเนท แอล

ผลแสดงดังตาราง A

	sum of square	df	mean square	F	sig
Between Groups	1035.840	4	258.960	16.307	0.000
Within Groups	317.600	20	15.880		
Total	1353.440	24			

การทดสอบโดยวิธี Scheffe' test

$$\text{สูตร } S = \sqrt{\frac{2(k-1)(\text{tabled } F)(MS_w)}{n}}$$

ตัวอย่างเปรียบเทียบจำนวนความผิดปกติเชิงโครงสร้างของโครโมโซมระหว่างหลอดที่เติมน้ำกลั่น(negative control) กับหลอดที่เติมแลนเนท-แอล ความเข้มข้น 800 µg/ml จากข้อมูลในตาราง A

$$k = 5$$

$$\text{table } F = 2.87$$

$$MS_w = 15.88$$

$$n = 5$$

แทนค่าในสูตร

$$S = \sqrt{\frac{2(5-1)(2.87)(15.88)}{5}} = 8.54$$

ค่าผลต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างหลอด negative control กับ หลอดที่เติมแลนเนท แอล ความเข้มข้น 800 µg/ml ได้ 17.6 ซึ่งมากกว่า ค่า S ที่คำนวณได้ แสดงว่าค่าเฉลี่ยคู่นั้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

การทดสอบ Dunnett test

$$\text{สูตรที่ใช้ในการทดสอบ } d = \text{tabled } t \sqrt{\frac{2(MS_w)}{n}}$$

ถ้าค่าเฉลี่ยคู่นั้นมากกว่าหรือเท่ากับ d แสดงว่าค่าเฉลี่ยคู่นั้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ α

การทดสอบ Kruskal-Wallis one-way analysis of variance

$$\text{สูตรการคำนวณ } H = \frac{12}{n(n+1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} - 3(n+1) = 12$$

k คือ จำนวนกลุ่ม

R_i คือ ผลรวมของอันดับ n_i ค่าที่กำหนดให้สำหรับแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

n_i คือ จำนวนข้อมูลในแต่ละกลุ่ม

n คือ ผลรวมของจำนวนข้อมูลทั้งหมด = $n_1 + n_2 + \dots + n_k$

กรณีที่มีการซ้ำของอันดับ ต้องมีการปรับค่า H โดยการหารด้วย $1 - \frac{\sum T}{n^3 - n}$

$$T = t^3 - t$$

t = จำนวนซ้ำ

$$\sum T = \sum t^3 - \sum t = \sum (t^3 - t)$$

ตัวอย่างการทดสอบค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางส่วนหัวของเซลล์ในกลุ่มฟูราดาน 3% จี
มีค่า sum rank ดังนี้

	sum rank
solvent control	732100
Furadan 50 µg/ml	526050
Furadan 100 µg/ml	384535
Furadan 150 µg/ml	358360

$$H = \frac{12}{2000(2000+1)} (2,177,859,004) - 3(2000+1) = 527$$

จากตารางที่ $\alpha = 0.005$, $df = 4-1=3$, X^2 ตาราง = 12.838 sig=0.000

ค่า H = 527 $H > X^2$ สรุปได้ว่า ปฏิเสธ H_0 แสดงว่าค่าเฉลี่ยทั้ง 4 กลุ่มแตกต่างกันอย่างมีนัย
สำคัญ

การทดสอบ Mann-Whitney test

สูตรที่ใช้ในการทดสอบ
$$Z = \frac{U - (n_1 n_2) / 2}{\sqrt{\left[\frac{n_1 n_2}{N(N-1)} \right] \left[\frac{N^3 - N}{12} - \sum T \right]}}$$

$$U = n_1 n_2 + \frac{n_2 (n_1 + 1)}{2} + \sum R$$

$$T = \frac{t^3 - t}{12}$$

$$N = n_1 + n_2$$

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ และ ชื่อสกุล	นาง ชนิพร ปวนอินตา	
วัน เดือน ปีเกิด	30 พฤษภาคม 2508	
ประวัติการศึกษา		
วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีการศึกษาที่จบ
ประกาศนียบัตรมัธยมศึกษาตอนต้น	โรงเรียนสุนรรีวิทยา จังหวัดนครราชสีมา	2524
ประกาศนียบัตรมัธยมศึกษาตอนปลาย	โรงเรียนสตรีวิทยา 2 จังหวัดกรุงเทพมหานคร	2526
วิทยาศาสตรบัณฑิต(เทคนิคการแพทย์)	มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดกรุงเทพมหานคร	2530