

เอกสารอ้างอิง

- Bauminger, S., and M. Wilchek, "The use of carbodiimides in the preparation of immunizing conjugates," Methods in Enzymology., 70, 1970.
- Balasubramaniam, K., D. Eaker and E. Karlsson, "An attempt to identify amino groups of Naja naja siamensis neurotoxin that interact with acetylcholine receptor by a comparison of their reactivities in free and receptor-bound neurotoxin," Toxicon., 21(2), 219-229, 1983.
- Beiser, S.M., V.P. Butler, Jr., and B.F. Erlanger, "Hapten-protein conjugates: methodology and application," Textbook of Immunopathology (Miescher, P.A. and H.J. Muller-Eberhard eds.), Vol. 1, pp. 15-23, Grune & Stratton, Inc., New York, 1968.
- Chang C.C., "Immunological studies on fluorescein-thiocarbamylated and reduced S-carboxymethylated cobrotoxin," J. Biochem., 67, 343-352, 1970.
- Condrea, E., and A. De Vries, "Hemolysis and splitting of human erythrocyte phospholipids by snake venoms," Biochim. Biophys. Acta., 84, 60-73, 1964.
- Condrea, E., Z. Mammon, S. Aloof and A. De Vries, "Susceptibility of erythrocytes of various animal species to the hemolytic and phospholipid splitting action of snake venom," Biochim. Biophys. Acta., 84, 365-375, 1964.
- Cherdchu, C., J. Viriyakijja, and K. Ratanabanangkoon, "Concentration and Desalting of Snake Venom Components by Membrane Ultrafiltration," Toxicon., 16, 201-202, 1978

- Devi, A., The Protein and Nonprotein Constituents of Snake Venoms, "Venomous Animals and their Venoms (Biicher, W. and E.E. Buckley, eds.) Vol.1, pp. 119-160, Academic Press, New York, 1968.
- Da Silva, M.H. and O.G. Bier, "Titration of antiserum to South American rattle snake (Crotalus durissus terrificus) venom by inhibition of phospholipase A<sub>2</sub> activity, Toxicon, 20, 563, 1982
- Fletcher J.E., and F.H. Lizzo, "Contracture induction by snake venom cardiotoxin in skeletal muscle from humans and rats," Toxicon, 25(9), 1003-1010, 1987.
- Fryklund, L., and D. Eaker, "The complete amino acid sequence of a cardiotoxin from the venom of Naja naja (Cambodian cobra)," Biochemistry, 14(13), 1975.
- Goodfriend, T.L., L. Levine, and G.D. Fasman, "Antibodies to Bradykinin and Angiotensin: A use of carbodiimides in immunology," Science, 144, 1344-1346, 1964.
- Hanashiro, M.A., Da Silva, M.H. and O.G. Bier, "Neutralization of crotoxin and crude venom by rabbit antiserum to Crotalus durissus terrificus phospholipase A<sub>2</sub>," Immunochemistry, 15, 745, 1978.
- Habermann, E. and H. Breithaupt, "The crotoxin complex-an example of biochemical and pharmacological protein complementation," Toxicon, 16, 19, 1978.
- Hunter, W.M., "Preparation and assessment of radioactive tracers," Br. Med Bull., 30(1), 18-23, 1974.
- Harvey, A.L., R.J. Marshall and E. Karlsson, "Effects of purified cardiotoxins from the Thailand cobra (Naja naja siamensis) on isolated skeletal and cardiac muscle preparations," Toxicon, 20(2), 379-396, 1982.

- Jaffe, B.M., W.T. Newton, and J.E. McGuigan, "The Effect of Carriers on the Production of Antibodies to the Gastrin tetrapeptide," Immunochemistry., 7, 715-725, 1970.
- Karber, K.L., Arch. exper. Path. u. Pharmacol., 162, 480, 1931.
- Karlsson, E., H. Arnberg and D. Eaker, "Isolation of the principal neurotoxins of two Naja naja subspecies," Eur. J. Biochem., 21.1-16, 1971.
- Karlsson, E., and D. Eaker, "Isolation of the Principal Neurotoxins of Naja naja subspecies from the Asian Mainland," Toxicon., 10, 217-225, 1972.
- Lee, C.Y., C.C. Chang, T.H. Chiu, T.C. Tseng, and S.Y. Lee, "Pharmacological Properties of Cardiotoxin Isolated from Formosan Cobra Venom," Naunyn-Schmiedeberg's Arch. u. exp. Path., 259, 360-374, 1968.
- Lester, H.A., "Postsynaptic Action of Cobra Toxin at the Myoneural Junction," Nature., 227, 727-728, 1970. (a)
- Lester, H.A., "Blockade of acetylcholine receptors by cobra toxin: electrophysiological studies," Molecular pharmacology., 6, 623-631, 1972. (b)
- Louw, A.I., and L. Visser, "The synergism of cardiotoxin and phospholipase A<sub>2</sub> in hemolysis," Biochimica et Biophysica Acta., 512, 163-171, 1978.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. "Protein Measurement with the Folin Phenol reagent." J. Biol. Chem., 193, 265-275, 1951.
- Louw, A.I., and L. Visser, "The kinetics of erythrocyte lysis by snake venom cardiotoxins," Biochim. Biophys. Acta., 498, 143-153, 1977.

- Moroz-Perlmutter C, Goldblum N, de Vries A. "Preparation of Vipera palestinae antineurotoxin using carboxymethyl-cellulose bound neurotoxin as antigen., Nature, 200, 697-698, 1963.
- Makela, O., and I. J. T. Seppala, "Hapten and carriers," Hand book of Experimental Immunology (Weir, D. M., eds, L. A. Herzenberg, C. Blackwell, co-eds.), Vol. 1, chapter 3, Blackwell Scientific Publications, 1986.
- Roitt, I. M., Essential Immunology. 3rd ed., pp 47-100, Blackwell Scientific Publication, 1977.
- Russell, F. E., Snake Venom Poisoning, pp. 169-179, Great Neck Scholium International, New York, 2nd ed., 1983.
- Reisfield, R. A., Lewis, U. J., and Williams, D. E., "Disk Electrophoresis of Basic Protein and Peptides on Polyacrylamides Gels" Nature, 195, 281-283, 1962.
- Raz, A., M. Schwartzman, R. Kenig-Wakshal, and E. Perl, "The specificity of antisera to conjugates of prostaglandins E with serum albumin and thyroglobulin," Eur. J. Biochem., 53, 145-150, 1975.
- Santos, M. C., C. R. Diniz, M. A. Whitaker Pacheco, and W. Dias Da Silva, "Phospholipase A<sub>2</sub> Injection in Mice Induces Immunity Against the Lethal Effects of Crotalus durissus terrificus Venom," Toxicon, 26, 207-213, 1988.
- Sivamogstham, P., and P. Tejasen, "Pharmacological identification of cardiotoxin and neurotoxin of cobra venom from Thailand (Naja naja siamensis)," เชียงใหม่เวชสาร., ปีที่ 12, ฉบับที่ 3 กรกฎาคม 2516.

- Sivamogstham,P., and P.Tejasen,"The action of cobra venom and its active components on heart," เขียนหม่เวชสาร.,ปีที่ 13,ฉบับที่ 2 เมษายน 2517.
- Sarkar,N.K,"Action mechanism of cobra venom,cardiotoxin and allied substance on muscle contraction," Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 78,469-471,1951.
- Skowsky,W.R. and Fisher,D.A., "The Use of Thyroglobulin to Induce Antigenicity to small Molecules,"J.Lab.Clin.Med. ,80,134-144,1972.
- Theakston,R.D.G.,"The application of Immunoassay Techniques, Including Enzyme-Linked Immunosorbent Assay(ELISA), to snake Venom Research," Toxicon,21(3),341-352,1983.
- Viravan,C., U.Veeravat,M.J.Warrell,R.D.G.Theakston, and D.A. Warrell,"ELISA Confirmation of Acute and past Envenoming by the Monocellate Thai Cobra(Naja kaouthia), "Am.J.Trop.Med.hyg.,35(1),173-181,1986.
- Zusman,N., N.Cafmeyer, and R.A.Hudson," Use of erythrocytes hemolysis kinetics in the purification of complex cardiotoxin mixtures," Toxicon,20(2), 517-520,1982.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก

1. การวัดปริมาณโปรตีน1.1 การเตรียมสารละลายสำหรับใช้วัดปริมาณโปรตีนมาตรฐานด้วยวิธีของLowry

1.1.1 สารละลายโปรตีนมาตรฐาน ที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร ละลายซีรัมอัลบูมิน (Bovine serum albumin) 100 มิลลิกรัมในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรทั้งหมดเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

1.1.2 สารละลายฟีนอล (Phenol reagent)

ละลายโซเดียมทังสเตท 100 กรัมและโซเดียมโมลิบเดต 25 กรัมในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติมกรดฟอสฟอริก ความเข้มข้น 85 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 50 มิลลิลิตร และกรดเกลือ ความเข้มข้น 100 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ (reflux) ด้วยไฟอ่อนๆ ในขวดที่กลมประมาณ 10 ชั่วโมง แล้วเติมลิเทียมซิลเฟต 150 กรัม น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และน้ำโบรมีน 2-3 หยด ต้มไลโบรมีนทิ้งมากเกินไปพอประมาณ 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นจึงเติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรครบ 1 ลิตร เก็บในขวดสีชาป้องกันแสงที่อุณหภูมิห้องก่อนใช้ เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1

1.1.3 สารละลาย A

ละลายโซเดียมคาร์บอเนต 2 กรัม และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.4 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรของสารละลายให้เป็น 100 มิลลิลิตร

1.1.4 สารละลาย B

ละลายคอปเปอร์ซิลเฟต 1 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรของสารละลายให้เป็น 100 มิลลิลิตร

1.1.5 สารละลาย C

ละลายโซเดียมโปแตสเซียมตาร์เทรต 2 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรของสารละลายให้เป็น 100 มิลลิลิตร

1.1.6 สารละลายแอลคาไลน์คอปเปอร์

ผสมสารละลาย A (ข้อ 1.1.3) สารละลาย B (ข้อ 1.1.4) และสารละลาย C (ข้อ 1.1.5) ในอัตราส่วน 1:1:100

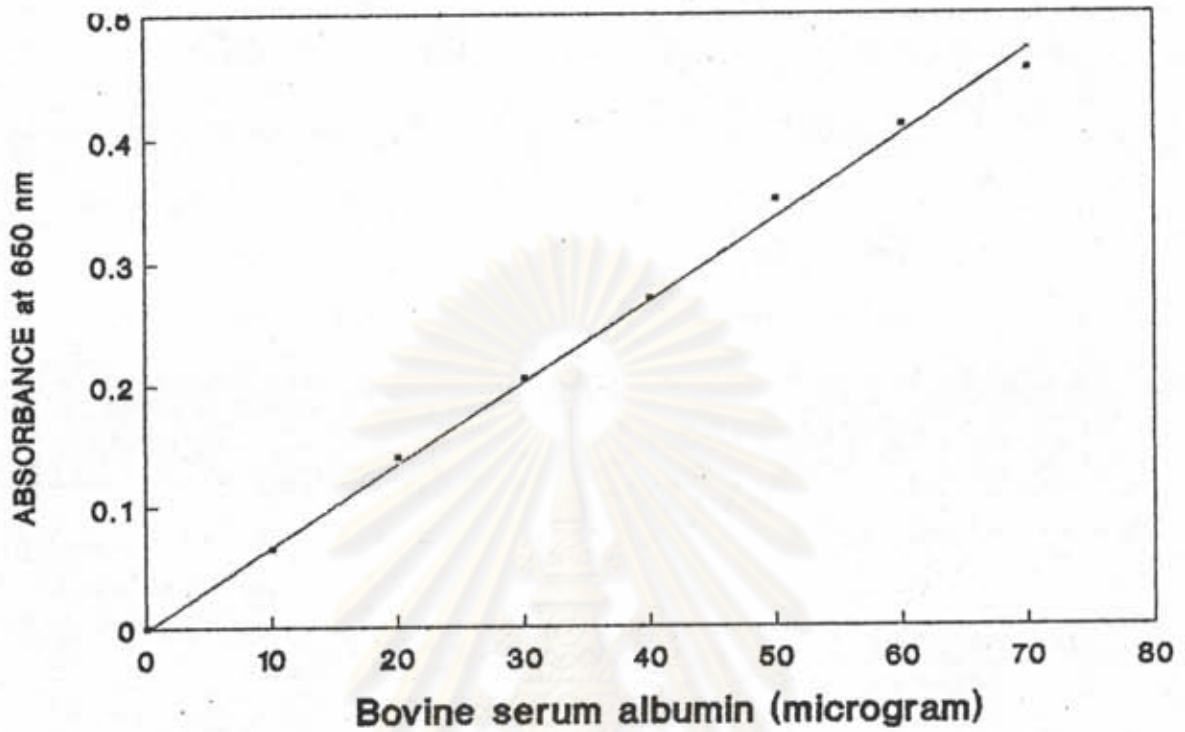
### 1.2 การวัดปริมาณโปรตีนด้วยวิธีของ Lowry

นำสารละลายโปรตีนมาตรฐาน (ข้อ 1.1.1) ความเข้มข้น 0 ถึง 70 ไมโครกรัม ต่อ 0.1 มิลลิลิตร และสารละลายตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณโปรตีน 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับ สารแอลคาไลน์คอปเปอร์ (ข้อ 1.1.6) 3 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที หลังจากเติมสารละลายนิลอล (ข้อ 1.1.2) 0.3 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เกิดสีที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที หลอดที่เป็นแบลนด์ (blank) เตรียมได้ทำนองเดียวกันแต่ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายโปรตีนมาตรฐาน วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร เทียบกับหลอดที่เป็นแบลนด์ นำค่าที่วัดได้ไป ชี้นกราฟ (แกนตั้ง) กับความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน (แกนนอน) อ่านค่าปริมาณโปรตีนในสารละลายตัวอย่างจากกราฟมาตรฐาน



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 22 กราฟมาตรฐานของโปรตีน



ศูนย์วิทยุทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ประวัติผู้เขียน

นางสาวนันทดี สุวรรณบุญย์ เกิดวันที่ 21 มีนาคม พ.ศ. 2506 สำเร็จการ  
ศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
เมื่อปี พ.ศ. 2528



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย