เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

ปริญญา รัตนพิมาน , การผลิตสารที่มีฤทธิ์ต่อต้านมะเร็งของเห็ดหมื่นปี (*Ganoderma lucidum*) วิทยานิพนธ์สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,2535

ปรีชา กลิ่นเกสร , เห็ดสกุล *Ganoderma lucidum* ในประเทศไทย, บทคัดย่อการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 13,มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

พิสิษฐ์ พันธุมจินดา , เอกสารการประชุมเชิงปฏิบัติการ เรื่องเคมีกับมะเร็ง. (2532):1-12

มานพ แกล้วกล้า ,สัญฐานวิทยา สรีรวิทยา และวัสดุเพาะของเห็ดหมื่นปี *Ganoderma lucidum* (W.Curt.:Fr.)Karst.บางสายพันธุ์.วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ,2533.

สุภาพ บุณยะรัตเวช , จุดหลอมเหลว. ปฏิบัติการเคมีอินทรีย์, ไทยวัฒนาพานิช, พิมพ์ครั้งที่ 4 , กรุงเทพ, หน้า 9-12 , 2527.

สุทธพรรณ ตรีรัตน์ , เห็ดหมื่นปี . วรสารวิทยาศาสตร์ . 42(2) (2531):69-74.

หรรษา ปุณณพยัคฆ์ และ สุทธพรรณ ตรีรัตน์ . การเพาะเห็ดบางชนิดโดยใช้วัสดุเหลือใช้จากป่านศรนารายณ์. รายงานผลการวิจัยทุนรัฐดาภิเษกสมโภชน์ .2533.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล , ดรุณี รัตนประภา,กัญจนา ริบีะเงิน,วิรัตน์ ชูบำรุง,และประสิทธิ์ ธนากลาง เห็ดบางชนิดในสกุล Ganoderma และสกุลใกล้เคียง , วารสารวิชาการเกษตร , ฉบับที่ 3 , หน้า 119-123 . กรุงเทพมหานคร , 2528

ภาษาอังกฤษ

Adaskaveg, J.E., Gilbertson, R.L. ,"Cultural Studies and Genetic of *Ganoderma lucidum* and *G. tsugae* in Relation to the Taxonomy of the *G. lucidum* Complex", Mycologia , 78(5) , pp 694-705, 1986.

Alexopoulos, C.J., and Mims, C.W.,"Introductory Mycology" , John Wiley

& Son, New York , 3rd. ed., 1979.

Ando, K., Peter, I.J. , Iiunter N., Jinnouchi, K., and Matsumuto T. "Inhibition of Artifitial and Spontaneous Lung Metastasis by Preirridation of Abdomen II.Targetorgam and Mechanism."British J. Cancer , 4:73-79 , 1983.

_____, Koike, S., Shikita, M., Hayata,I., Otsu, H, and Satoh, S . "Radiosensitivity of Late Recurrences Following Radiotherapy of Murine Fibrosarcomas " Radiation Research. 113,334-345,1988

Bergsagel , D.E. and Park, C.H. " The Improvement of the Animal Tumor Model" Cancer Research . 29, 2334-2338 , December 1969.

Bermeyer, H.U. and Bernt, E. (1974) in Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H.U., Hrsg.), 3. Aufl., Bd.2, S.1221-1224; Verlag Chemie ,Weinheim, ed., vol. 3, p. 1176-1179, Verlag Chemie Weinheim, Academic Press, inc., New York and London.

_____ , and Bernt, E. "Determination with Glucose Oxidase and Peroxidase ,"Method of Enzymatic Analysis" , pp. 123-130 , Academic Press, New York , 1965.

Cheng, H.H., Hsieh, K.H. , Tung, Y.C. , and Tung , T.C. " Effect of *Ganoderma lucidum* Extract on Interleukin-2 Production in mice, J. Chinese Oncol Soc , 4, pp 73-82, 1988.

Chang, S.T., and Hayes, W.A. The Biology and Cultivation of Edible Mushroom . New York : Acadimic Press., 1978.

Chang, T.T.,and Chen, T. "Studies on Nuclear Behavior, Mating Type and Heterokaryosis of Several Species of Ganoderma in Thiwan.

Plant Prot. Bull. 28(3)(1986):231-240.

Chen, Q., Lingzhi,In "Pharmacology and Applications of Chinese Materia" (H.M. Chang and P.P.But.,eds) Vol.1.pp 642-653., World Sci.Publ. ,Co., Singapore

Chicora, G., Maeda, Y., Hamuro, G., Sasaki, T., and Fukuoka, F. Inhibition of Mouse Sarcoma 180 by Polysaccharides from *Lentinus edodes (Berk) Sing.* Nature. 1969:222-689.

Eagle, H. "Propagation in a Fluid Medium of Human Epidermoid Carcinoma Strain KB "Pro Soc Exp Biol Med. 89:362-364, 1955.

Geran, R.I., Greenberg, N.H., Macdonald, M.M., Schumacher, A.M. and Abbott, B.J. "Cell Culture Screen , KB " Cancer Chemotherapy Reports part 3 Vol.3, No.2, September 1972.

Giovanella, B.C., Stehlin, J.S., and Williams, L.J. "Heterotransplantation of Human Malignant Tumor in "nude" Thymusless Mice. II. Malignant Tumor in Duced by Injection of Cell Cultures Derived from Human Solid Tumors. J. natl Cancer Inst. 52: 921-930 (1974)

Hamuro, T., Maed, Y., Fukuka, F., and Chihara, G. "Antitumor Polysaccharides, Lentinan and Pachymaran as Immunopotentiaturs. Mushroom Science IX(I)(1976):p.477.

Hikino, H., Kono,C., Mirin, Y., and Hayashi, T. Isolation and " Hypoglycemic activity of Ganoderans A and B , Glycans of *Ganoderma lucidum* Fruit-bodies " . Planta Med. 10(4) (1985) : 339-340.

Hwang, H.H., Liu, K.J.,Kuan, Y.H.,Tung, K.S., Su, C.H., and Tung, T.C. "The Inhibitory Effect on Artificial Pulmonary Metastasis of Murine S-180 Sarcoma Cells by Orally Administered *Ganoderma lucidum* Culture Broth",J. Chinese Oncol Soc. 5,pp 10-15 ,1989.

Kac , D., Barbieri, G., Falco, M.R., Selder, A.M., and Gros, E.G. the Major Sterols from three Species of Polysaccharide. Phytochemistry. 23(11)(1984):2686-2687.

Kanmatsuse, K., Kajiwara, N., Hayashi, K., Shimogaichi, S., Fukinbara, I.,Ishikawa, H., and Tamura, T. Studies on *Ganoderma lucidum*:I Efficacy Agent Hypertension and Side Effects. Yakugaku zasshi. 105(10)(1985):942-947.

Kikuchi, T., Kanomi, S., Murai,Y., Katoda, S., Tsubono, K. ,and Ogita, Z.I. " Constituents of the Fungus *Ganoderma lucidum* II. Structures of Ganoderic acids F, G, and H, Lucideric acid D2 and E2, and Related Compounds . Chem. Pharm. Bull. 34 (10) (1986):4018-4029.

Kim, B.K., Chung, H.S. , Cheung, K.S., and Yang, M.S. Antineoplastic Components of Korean Basidiomycetes. Korean J. Mycol. 8(2) (1981):107-114.

Kiyama,T., Onda,M., Tokunaga,A., Nishi,K., Mizutani, T., Yoshiyuki,T., Shimizu,Y.,Matsukura,N., Tanaka,N. and Asano, G. "Changes in Serum and Tissue Carcinoembryonic Antigen with Growth of a Human Gastric Cancer Xenograft in Nude Mice" J.Cancer Res. 81, 58-62, January 1990.

Kohda, H., Tokumoto, E., Sakumoto, K., Fujii, M., Harai, Y., Tamasaki, Y., Nakamura, H., Ishihara, S., and Ushida, M. "The Biologically Active Constitvents of *Ganoderma lucidum:* Histamine Release-inhibitory Triterpenes. Chem. Pharm. Bull. 33(4)(1985) :1367-1374.

Lee, S.S., Chen, F.D., Wei, S.C., Liu, Y.H., Chen, C.F. , Wei, R.D. , Chen, K.Y., and Han, W. " In vivo Antitumor Effect of Crude Extract from the Mycelium of *Ganoderma lucidum* , _____ , 5(3), pp 22-28, 1984.

Lieu, C.W., Lee, S.S. and Wang, S.Y. " The Effect of *Ganoderma lucidum* on Induction of Differentiation in Leukemic U937 cells " Anticancer Research , 12, pp 1211-1216, 1992.

Lilly, V.W.,and Barnett, H.L. Physiology of Fungi.London:Mc. Graw-Hill Book Company, 1951.

Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J.,Farr, A.L. and Randall, R.J. " Protein Determination with the Phenol Reagent " . J. Biol. Chem. , pp. 265-275 . 1951.

Luna, G.L. Manual of Histologic Straining. London: Mc. Graw Hill Book Company, 1968.

Mallonga, A.C. Root ROT of Philippine Forest tree caused by *Ganoderma lucidum* (Leyss.) Karsten. Philippine Jour. Forest. 4(1)(1941) :1-13.

Maruyama, H., Yamazaki, K., Murofushi, S., Konda, C., and Ikekawa, T. "Antitumor Activity of *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. ITO and

Ganoderma lucidum (FR.) Karst." J. Pharmacobio-Dyn , 12,pp 118 -123 , 1989.

Miyazaki, T. and Nishijima, M. " Studies on Fungal Polysaccharides XXVII Structural Examination of a Water-Soluble Antitumor Polysaccharidof *Ganoderma lucidum*" Chem. Pharm. Bull. ,29(12), pp 3611-3616, 1981.

Mizuno, T., Suzuki, E., Maki, and Tamaki, H. " Fraction Chemical Modification and Antitumor Activity of Water-Insoluble Polysaccharides of the Fruiting Body of *Ganoderma lucidum* " , Nippon Nogrigaku Kaishi, 59(11) , pp.1143-1151 , 1985.

_____, Kato, N., Totsuka, A., Takenaka, K. , and Shinizu , M. " Fraction Structural Features and Antitumor Activity of Water-Soluble Polysaccharide from "Reishi"The Fruit Body of *Ganoderma lucidum* , Nippon Nogeikagaku Kaishi , 58(9)(1984), pp.871-880.

Morigima, A., Kitabatake, K., Fugimoto, Y., and Ikekawa, N. " Angiotensin Converting Enzyme-inhibitory Triterpenes from *Ganoderma lucidum* . Chem. Pharm. Bull. 34(7) (1986):3025-3028.

Murayama, H., Yamazaki, K., Murofushi, S., and Ikekawa, T. " Antitumor Activity of *Sarcodon aspratus* (Berk) S. Ito. and *Ganoderma lucidum*; VII Anti-allergic effect. Yakugaku Zusshi. 106(7) (1986):600-604

Nogami, M., Ito, M., Kubo, M., Takabashi, M., Kimura, H., and Matsuike , Y. "Studies on *Ganoderma lucidum* ; VII Anti-allergic effect. Yakugaku Zusshi. 106(7) (1986):600-604.

Quimio, T.H. Culturing ganoderma the "pleurotus-way". Mushroom Newsletter for the Tropics. (1986): 12-13.

Raaska, L. "Production of *Lentinula edodes* Mycelia in Liqiud media: Improvement of Mycelial Growth by Medium Modification" Mush. J. Tropics. 10,79-92, 1990.

Skipper, H.E. " Improvement of the Model Systems" Cancer Research .29, 2329-2333, December 1969.

Sone, Y., Okuda, R., Wada, N.,Kishida, E., and Misaki, A." Structures and Antitumor Activity of the Polysaccharides Isolated from Fruiting body and the Growing Culture of Mycelium of *Ganoderma lucidum* ", Agric. Biol. Chem. , 49(9) , pp. 2641-2653, 1985.

Takeshita, M., Kobori, T., Sudo, E., Miyamoto, Y., and Izuo, M. " Preparative Immunochemotherapy for Gastric Cancer Paients Immunomodulating Effect of Levamisole and Ientinan on Cell-mediated Immunity and Requgnal Lymph nod . Gen. To Kaqaku Ryoho (6T8) . (1982): 1102-1107.

Tseng, T.C., Shieh, M.S., Sheh,Y.S. and Hao, Y.Y."Studies on *Ganoderma lucidum* Liquid Culture and Chemical Composition of Myceluim " Bol. Bull. Academia Sinica , 25, pp. 149-157, 1984.

Tomada, M., Conda, R., Kasahara, Y., and Hikino, H." Glycan Structures of Ganoderans B and C , Hyperglycemic Glycans of *Ganoderma lucidum* Fruit bodies". Phytochemistry. 25(2)(1986): 2817-2820.

Triratana, S., and Gawgla, M. Physiological Studies on the Mycelial Growth of *Ganoderma lucidum*(Fr.)Karst. International Symposium

on Murhroom Biotechnology China, 1989.

_____, S., Thaithtgoon, S.,and Gawgla,M. "Cultivation of *Ganoderma lucidum* in Sawdust bags. Science and Cultivation of Edible Fungi (1991):567-571.

Wang, G.,Zhang,J.,Mizuno, T.,Zhuang,C.,Ito,H., Mayuzumi,H., Okamoto,H. and Li, J. "Antitumor Active Polysaccharides from the Chinese Mushroom Songshan Lingzhi,the Fruiting Body of *Ganoderma tsuge* Biosci.Biotech.Biochem., 57(6),894-900,1993.

Yao, Y.Q. Medical Mushroom in China . Abst. XIIth. International Congress on Science Cultivation of Edible Fungi Braunschweig, 1987.

Zhang, C.,Mizuno, T.,Shimada, A.,Ito, H.,Suzuki, C.,Mayuzumi, Y., Okamoto, H.,Ma. Y. and Li, J. "Antitumor Protein-containing Polysaccharides from a Chinese Mushroom *Fengweigen* or *Houbitake, Pleurotus sajor-caju* (fr.)Sings ". Biosci. Biotech. Biochem., 57(6),901-906,1993.

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Potato Dextrose (PD) (w/v)

มันฝรั่ง	20-60 %
กลูโคส	2-6 %

2. Yeast Malt Extract (YME) (w/v)

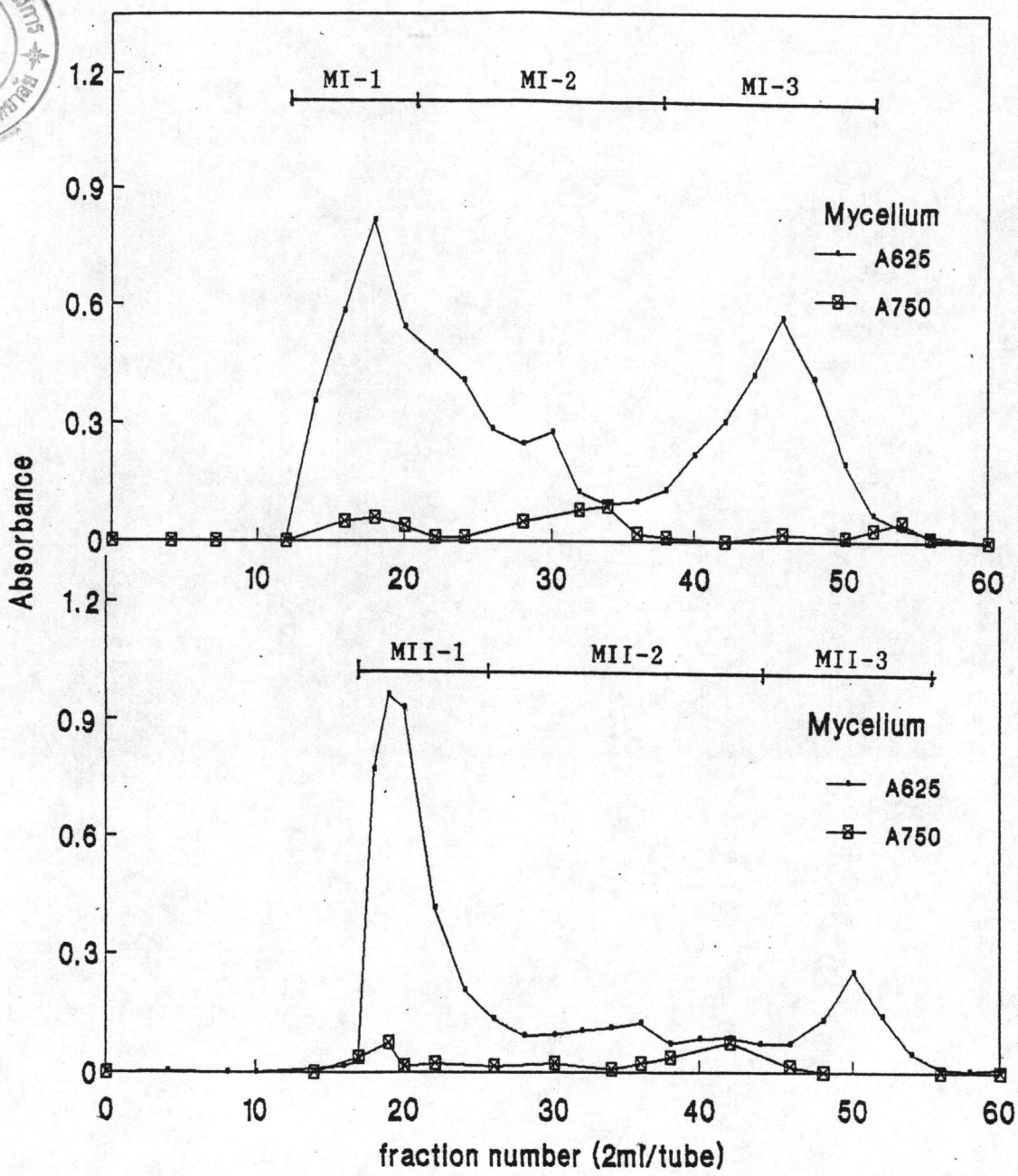
Yeast Extract	0.3-1.0 %
Malt Extract	0.3 %
KH_2PO_4	0.05 %
K_2HPO_4	0.05 %
$MgSO_4.7H_2O$	0.05-0.2 %
กลูโคส	2-15 %

หมายเหตุ การเตรียมอาหารแข็ง ทำโดยวิธีเพิ่มวุ้น 1.5-2.0 % ลงไปด้วย

3. Molass % (v/v)

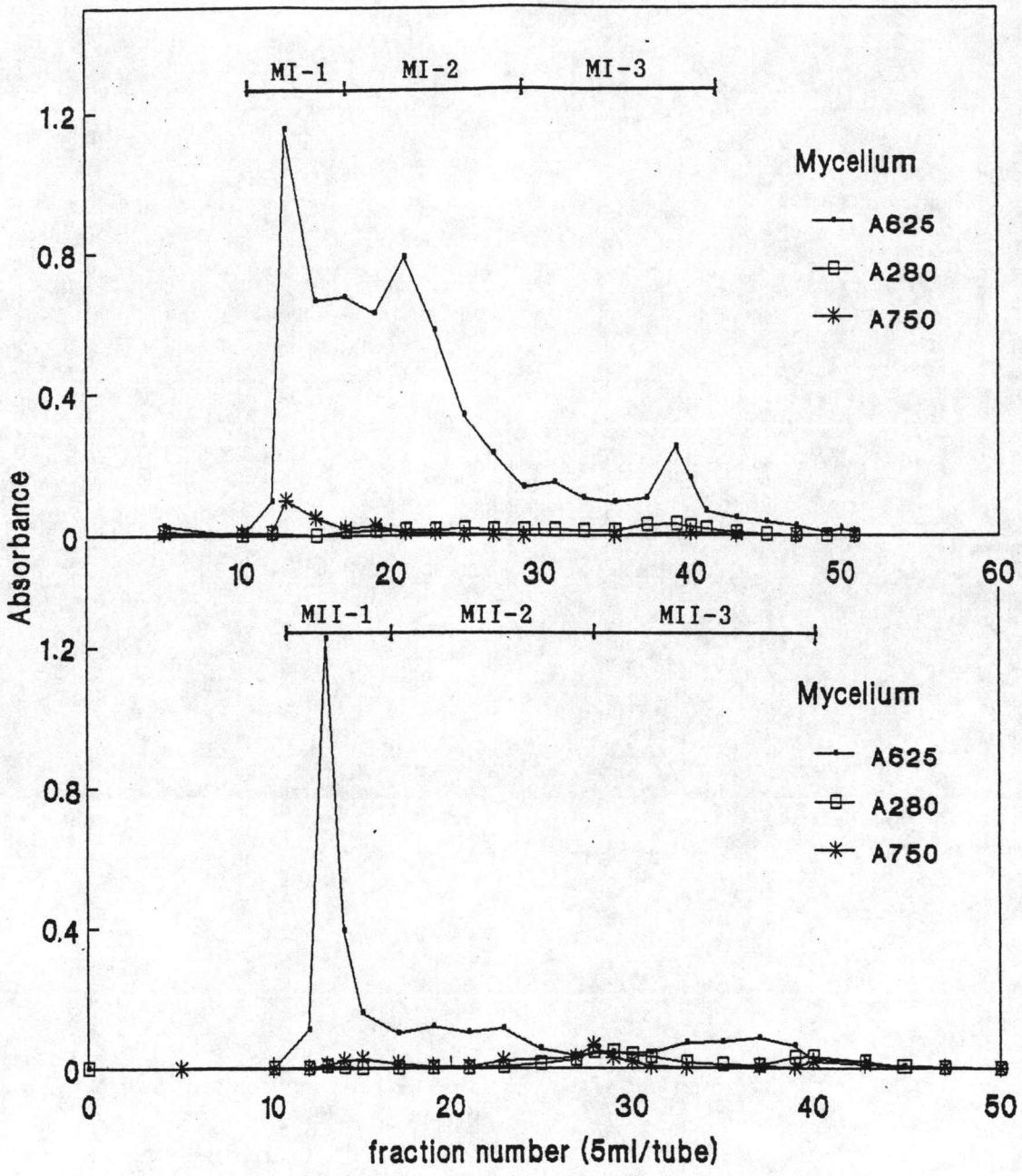
กลูโคส	2-6 %

ภาคผนวกที่ 2



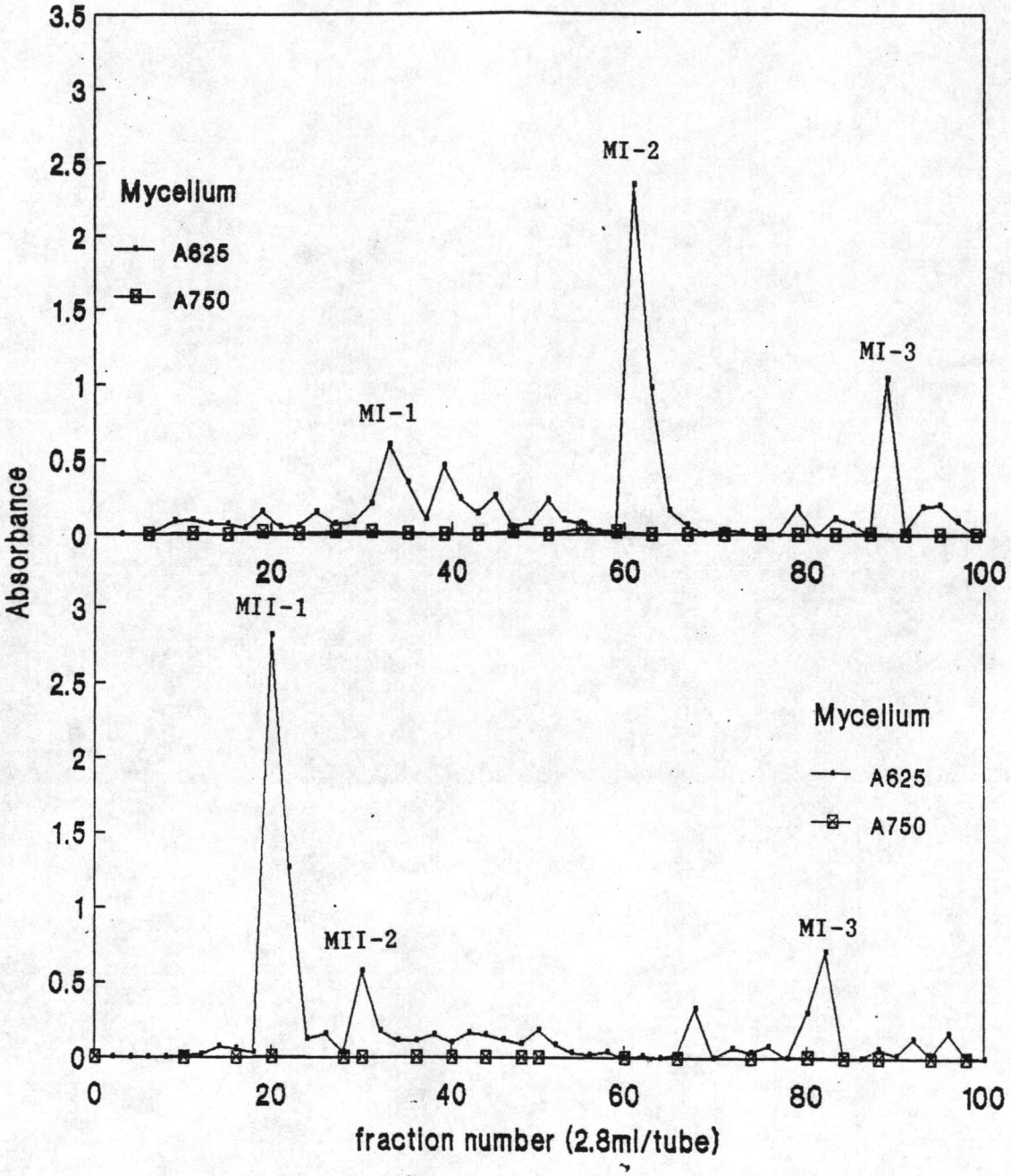
กราฟแสดงการแยกสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ จากเส้นใยของเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ที่สกัดแยกด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอทธานอล ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์ DEAE-cellulose และนำสารที่เก็บรวบรวมได้จากพีคที่ 1 และ2 ไปผ่านอลัมน์ Sepharose 4B ขนาด 1.8 x 90 ซม. ชะด้วยน้ำกลั่นอัตราการไหล 20 มล./ชม. เก็บแฟรกชั่นละ 2.0 มล.

ภาคผนวกที่ 3



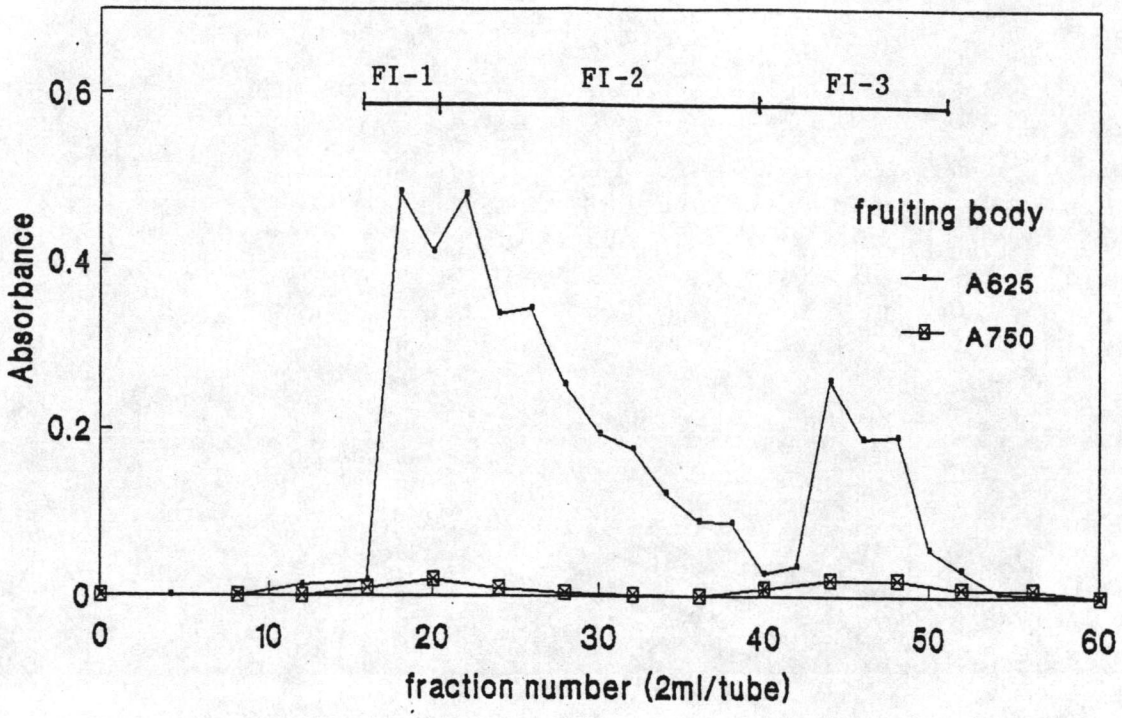
กราฟแสดงการแยกสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ จากเส้นใยของเห็ดหมื่นปี(*G. lucidum*) ที่สกัดแยกด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอทธานอล ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์ DEAE-cellulose และนำสารที่เก็บรวบรวมได้จากพีคที่ 1 และ2 ไปผ่านอลัมน์ Sephadex G75 ขนาด 1.8 x 90 ซม. ชะด้วยน้ำกลั่นอัตราการไหล 20 มล./ชม. เก็บแฟรกชั่นละ 5.0 มล.

ภาคผนวกที่ 4



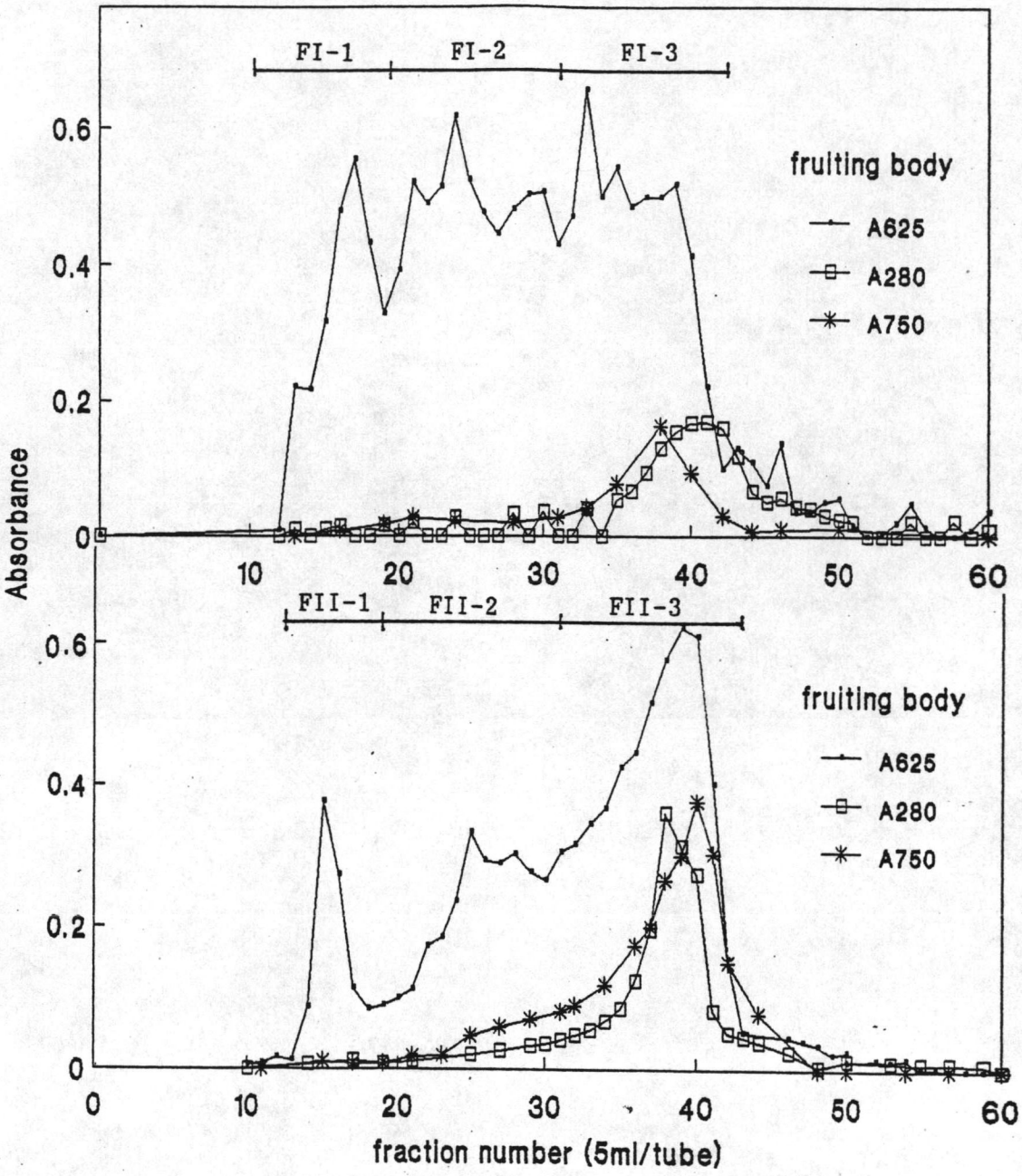
กราฟแสดงการแยกสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ จากเส้นใยของเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ที่สกัดแยกด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอทธานอล ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์ DEAE-cellulose และนำสารที่เก็บรวบรวมได้จากพีคที่ 1 และ2 ไปผ่านอลัมน์ Sephadex G200 ขนาด 1.8 x 90 ซม. ชะด้วยน้ำกลั่นอัตราการไหล 20 มล./ชม. เก็บแฟรกชั่นละ 2.8 มล.

ภาคผนวกที่ 5



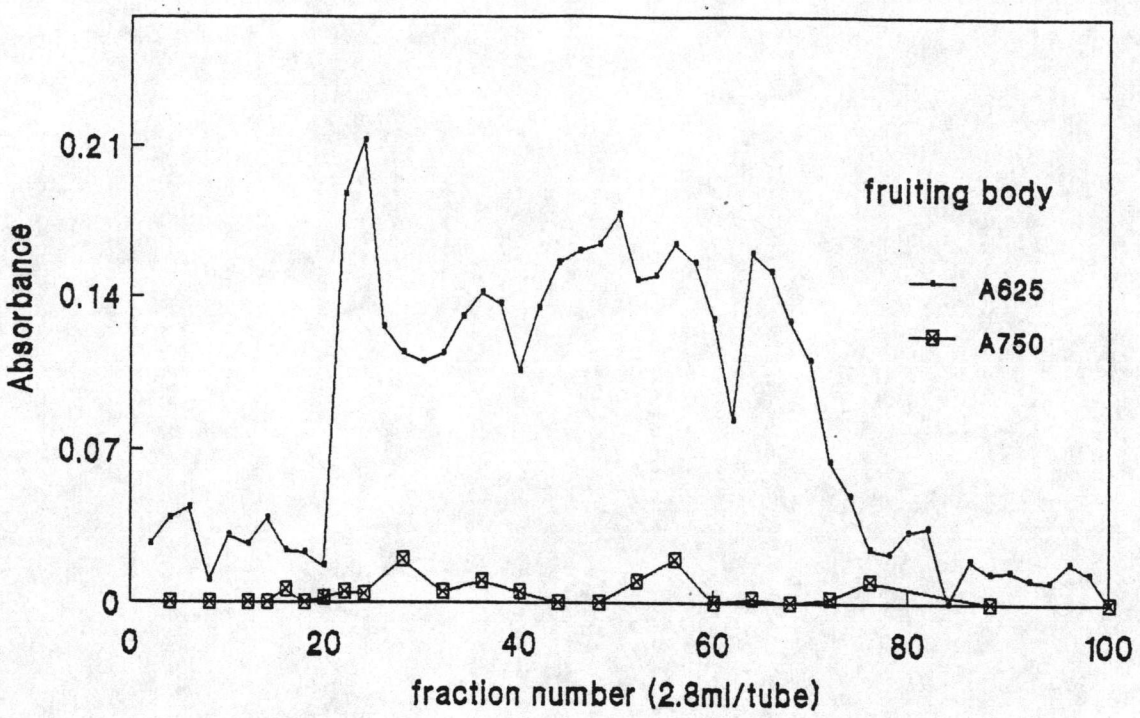
กราฟแสดงการแยกสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ จากดอกของเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ที่สกัดแยกด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอทธานอล ทำให้บริสุทธิ์ดยใช้คอลัมม์ DEAE-cellulose และนำสารที่เก็บรวบรวมได้จากพีคที่ 1 ไปผ่านอลัมม์ Sepharose 4B ขนาด 1.8 x 90 ซม. ชะด้วยน้ำกลั่นอัตราการไหล 20 มล./ชม. เก็บแฟรกชั่นละ 2.0 มล.

ภาคผนวกที่ 6



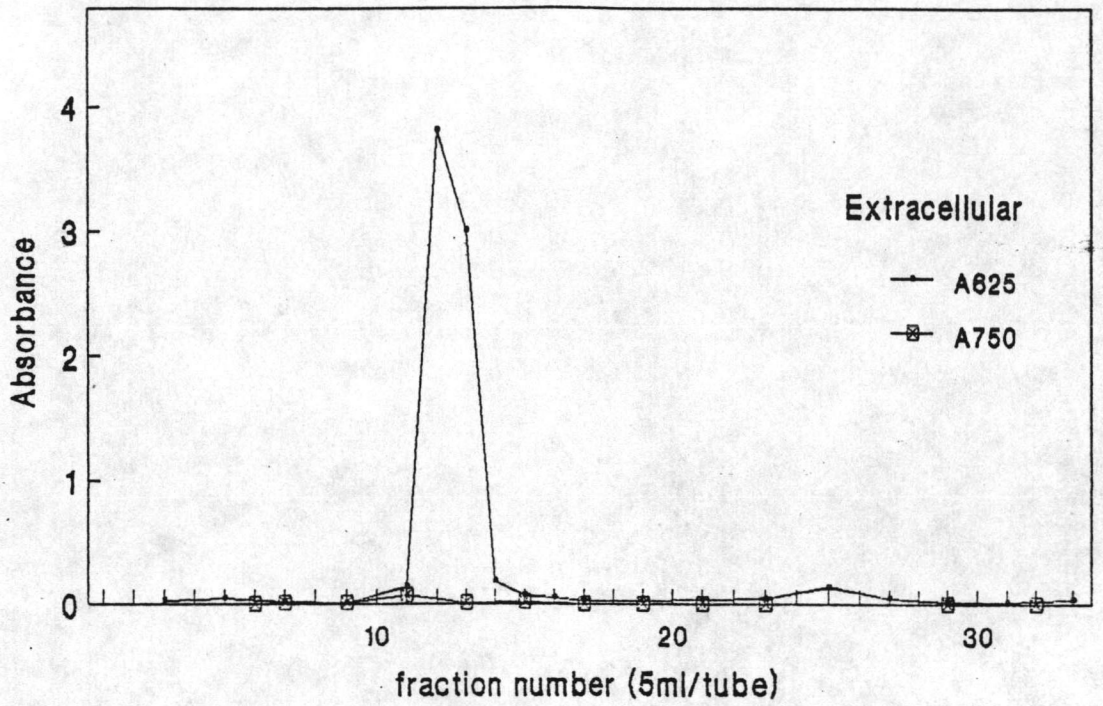
กราฟแสดงการแยกสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ จากดอกของเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ที่สกัดแยกด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอทธานอล ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์ DEAE-cellulose และนำสารที่เก็บรวบรวมได้จากพีคที่ 1 และ2 ไปผ่านอลัมน์ Sephadex G75 ขนาด 1.8 x 90 ซม. ชะด้วยน้ำกลั่นอัตราการไหล 20 มล./ชม. เก็บแฟรกชั่นละ 5.0 มล.

ภาคผนวกที่ 7



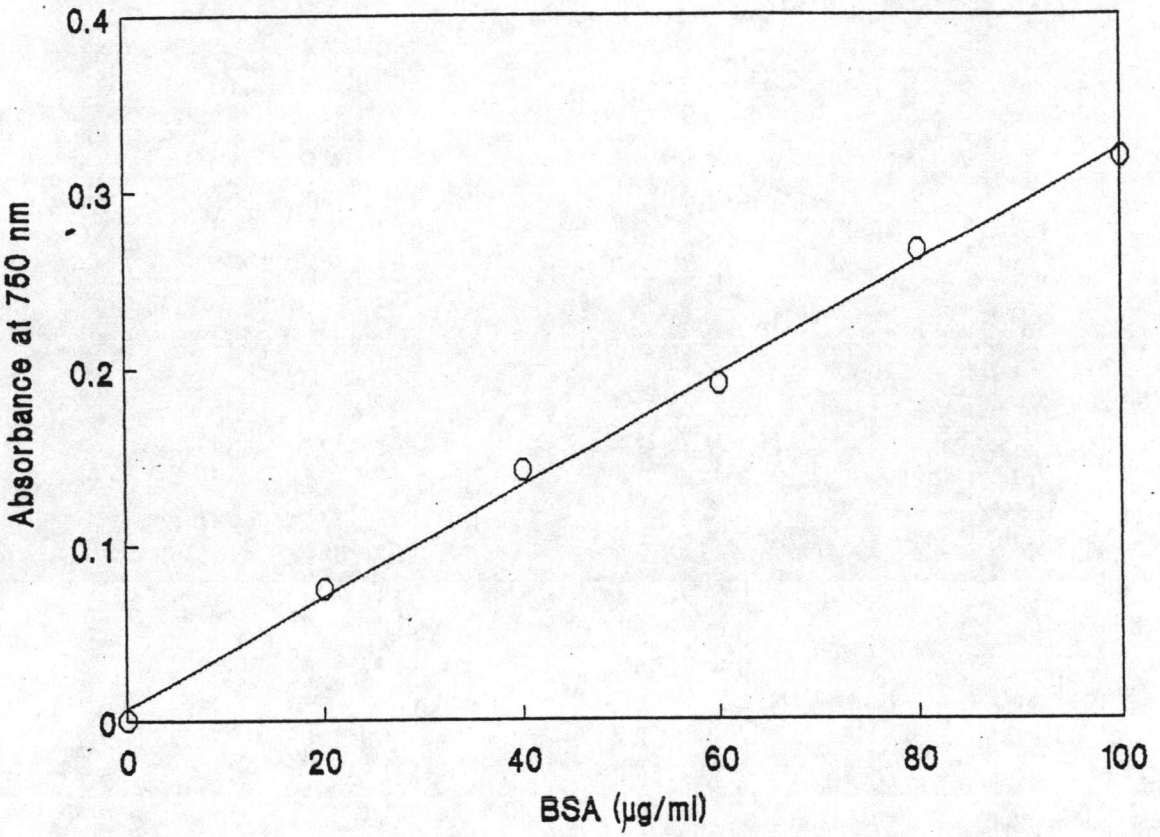
กราฟแสดงการแยกสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ จากดอกของเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ที่สกัดแยกด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอทธานอล ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์ DEAE-cellulose และนำสารที่เก็บรวบรวมได้จากพีคที่ 2 ไปผ่านอลัมน์ Sephadex G200 ขนาด 1.8 x 90 ซม. ชะด้วยน้ำกลั่นอัตราการไหล 20 มล./ชม. เก็บแฟรกชั่นละ 2.8 มล.

ภาคผนวกที่ 8



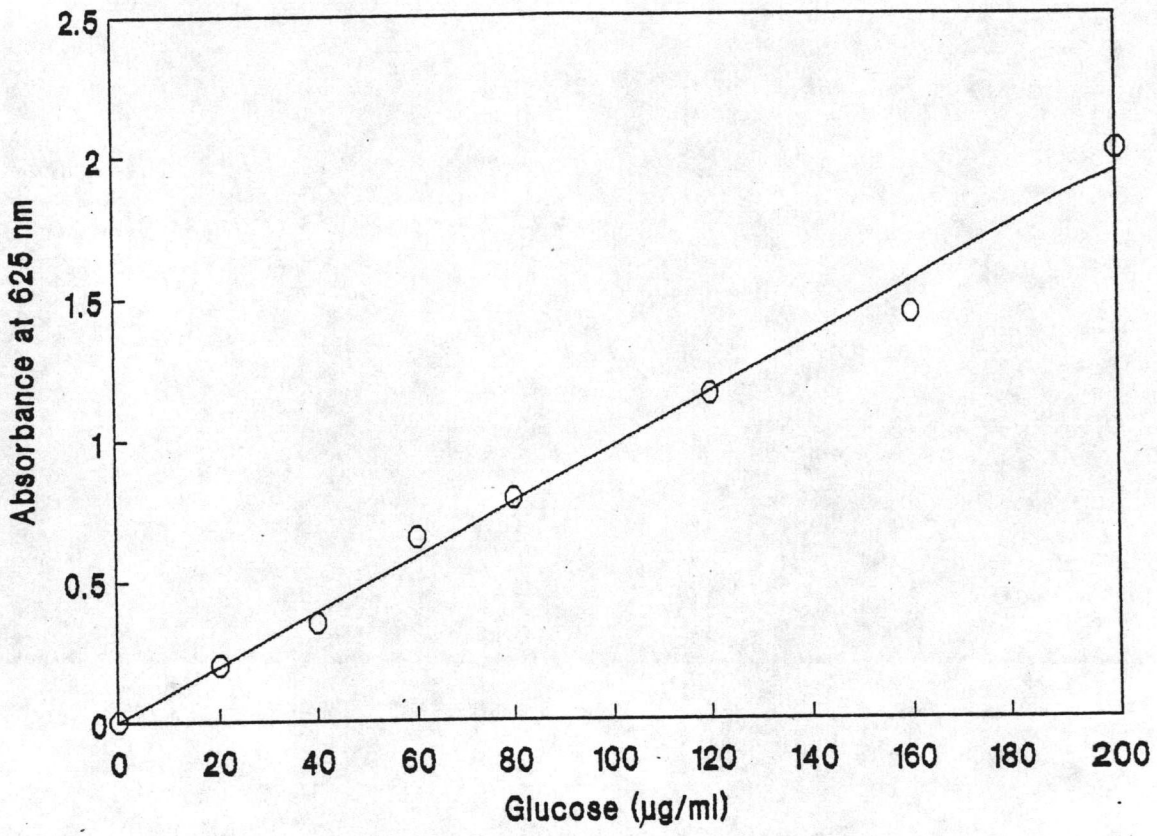
กราฟแสดงการแยกสารสกัดโพลิแซคคาไรด์ จากอาหารเลี้ยงเส้นใยของเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ที่สกัดแยกด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอทธานอล ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์ DEAE-cellulose และนำสารที่เก็บรวบรวมได้จากพีคที่ 2 ไปผ่านอลัมน์ Sepharose 4B ขนาด 1.8 x 90 ซม. ชะด้วยน้ำกลั่นอัตราการไหล 20 มล./ชม. เก็บแฟรกชั่นละ 2.0 มล.

ภาคผนวกที่ 9



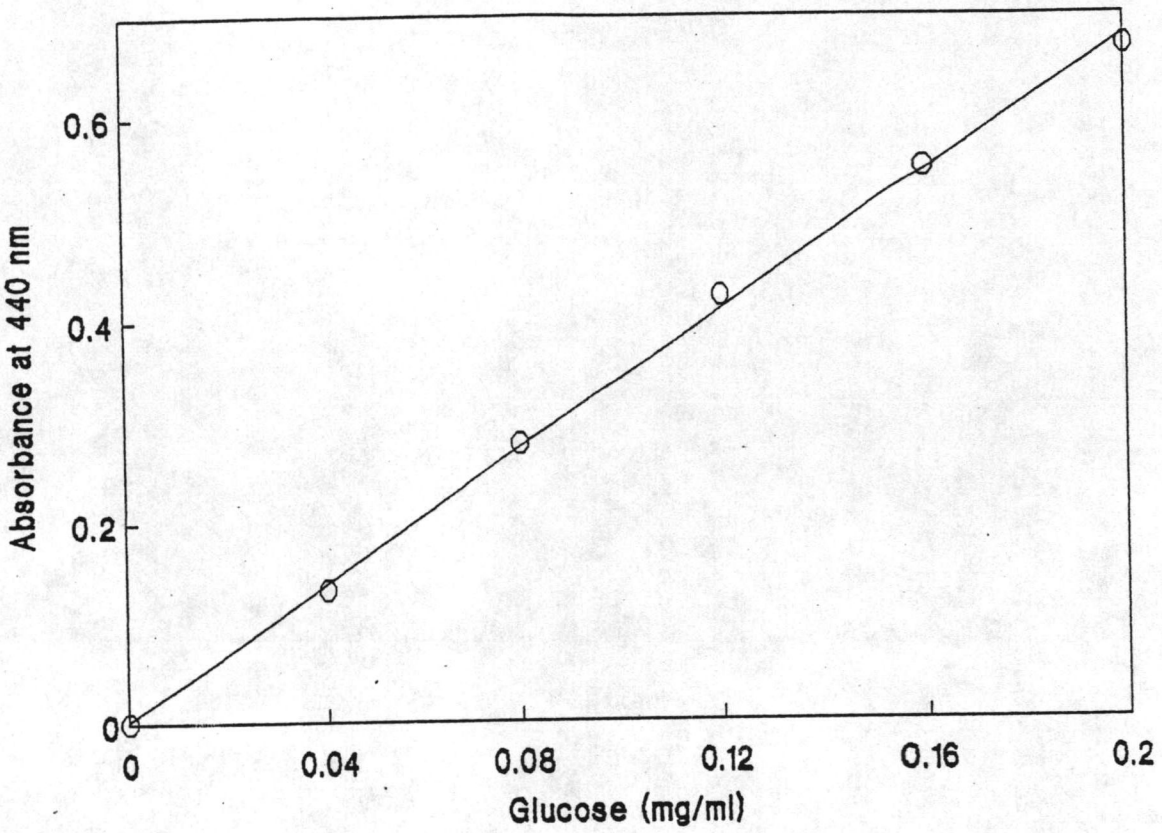
กราฟมาตราฐานวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry's (Lowry และคณะ,1951)

ภาคผนวกที่ 1o



กราฟมาตราฐานการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสโดยวิธี Anthrone

ภาคผนวกที่ 11



กราฟมาตราฐานวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส (Bergmeyer และคณะ,1965)

ภาคผนวกที่ 12

องค์ประกอบบางส่วนของกากน้ำตาล

(Composition of Cane Molasses)

Molass	ความเข้มข้น	80° Brix , pH 5.0
Reducing sugar		21.46 % (w/w)
- D-glucose		3.76 %
- D-fructrose		17.70 %
Sucrose		39.00 %
Total sugars		60.46 %

Mineral	ปริมาณ (ppm)	หมายเหตุ
Na	15.2	Method
K	396	Air-C_2H_2 Flame Atomic
Ca	21.2	Absorption Spectrometer
Cu	0.05	Instrument
Fe	0.30	AA Varian model
Mg	1.69	Spectrometer
Mn	0.26	AA-300 STREC
Zn	0.35	

ภาคผนวกที่ 13

การเตรียมชิ้นเนื้อในการทำ slide (Luna, 1968)

1. Fixation

ตัด specimen ให้มีขนาดประมาณ 0.5x0.5 ซม. หนา 0.5 ซม. แช่ใน 10 % formalin solution ในอัตราส่วน specimen 1 ส่วน ต่อน้ำยา 20 ส่วน แช่ทิ้งไว้ประมาณ 2 ชั่วโมง

2. Dehydration

หลังจากผ่านขบวนการ fixation แล้ว นำ specimen มาขจัดน้ำออกด้วย ethyl alcohol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน คือ

ขั้นที่	เอธิลแอลกอฮอล์	เวลา
1	80 %	1 ชม. 30 นาที
2	95 %	1 ชม. 30 นาที
3	95 %	1 ชม. 30 นาที
4	100 %	1 ชม. 30 นาที
5	100 %	1 ชม.
6	100 %	1 ชม.

3. Clearing

ทำเพื่อขจัดสาร dehydrant ออกจาก specimen โดยนำ specimen ที่ผ่านขั้นตอน dehydration แล้วมาแช่ใน xylene 3 ครั้งๆ ละ 1 ชม. 30 นาที 2 ครั้ง และ 1 ชม. อีก 1 ครั้ง

4. Impregnation

นำ specimen จาก xylene มาแช่ใน paraffin อุ่นที่อุณหภูมิ 56-58 ^{o}ซ. บน hot plate 2 ครั้ง ๆละ 2 ชม.

5. Embedding in paraffin

การเตรียมสีย้อม

1. Mayer's hematoxylin

1.1 Hematoxylin crystals	1.0 g.
1.2 distilled water	1,000 ml.
1.3 Sodium iodate	0.2 g.
1.4 Ammonium or potassium alum	50.0 g.
1.5 Citric acid	1.0 g.
1.6 Chloral hydrate	50.0 g.

วิธีเตรียม

เติม ammonium ลงในน้ำกลั่นก่อนแล้วค่อยใส่ hematocylin ลงไป คน ประมาณ 10 นาที เติม sodium iodate ลงไปคนต่อเรื่อย ๆ ให้ครบ 5 นาที เติม citric acid และ chlo hydrate คนต่อไปเรื่อย ๆ จนกว่าสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน หรือจะใช้หยดลงในน้ำแล้วจะออกสี reddish violet เก็บไว้ 1 เดือนจึงนำมาใช้ได้

2. 1 % stock alcoholic eosin

2.1 Eosin Y, water soluble	1.0 g.
2.2 Distilled water soluble	20 ml

Dissolve and add.

Alcohol, 95%	80 ml

Working eosin solution

eosin stock solution	1 part
Alcohol, 80%	3 parts

ทำให้ก้อน paraffin แข็งตัวโดยแช่ลงในน้ำเย็น

6. Preparation of section

ทำได้โดยตัด specimen ที่ฝังอยู่ในชิ้นเนื้อด้วย microtome ให้ได้ขนาดตามที่ต้องการ (ประมาณ 0.25 มม.) นำไปติดบน slide โดยหยด mayer'adhesive (เตรียมจากไข่ขาวกับกลีเซอรีนในอัตรา 1:1) เกลี่ยให้คลุมผิว slide จากนั้นหยด 5 % formalin และนำ specimen มาลอยบน formalin อุ่นที่อุณหภูมิ 40-43 °ซ. บน hot plate รอจนแผ่น specimen เหยียดตรงยก slide ออกซับ formalin ออกให้แห้ง ผึ่งไว้ 2 ชั่วโมง จึงนำไปย้อมสี

7. Staining procedure

ทำการย้อมสี specimen ด้วยวิธี H & E (Hematoxylin and Eosin stain) ตามขั้นตอนดังนี้

7.1 ย้อมด้วย Mayer's hematocylin เป็นเวลา 15 นาที

7.2 ล้างสีออกโดยการให้น้ำไหลผ่าน 20 นาที

7.3 ย้อมด้วย eosin เป็นเวลา 15 วินาที ถึง 2 นาที

7.4 dehydrate ใน 95 % และ absolute alcohol ครั้งละ 2 นาที หรือจนกว่าจะขจัด eosin ออกจนหมด

7.5 ล้างใน xylene 2 ครั้งๆ ละ 2 นาที

7.6 mount ใน Permount หรือ Histoclad

ผลของการย้อม Nuclei จะติดสีน้ำเงิน

Cytoplasm จะติดสีชมพู

ภาคผนวกที่ 14

การเตรียมสีย้อม count cell 0.4 % Trypan blue

วิธีเตรียม:

1.	Trypan blue	0.4	กรัม
2.	NaCl	0.81	กรัม
3.	KH_2PO_4	0.06	กรัม
4.	น้ำกลั่น	95	มล.

ผสม 1-4 ให้เข้ากัน ให้ความร้อนโดยการต้มตั้งทิ้งไว้ให้เย็น จึงปรับ pH เป็น 7.2-7.3 แล้วเติมน้ำจนมีปริมาตร 100 มล.

ประวัติผู้เขียน

นางสาว สิริลักษณ์ ชัยจารัส สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ในปีการศึกษา 2531 เข้าศึกษาระดับปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2534 และได้รับทุนอุดหนุนการศึกษาจากโครงการผลิตและพัฒนาอาจารย์ (U.D.C.)