

เอกสารอ้างอิง

- Abel, H., Stolley, P., Dreyer, G. Walther, I., Seidel, B., Handschack, W., Schwarz, K., Globel, C., Karsten, U., and Micheal, B. 1987. Hybridoma technique by means of electrofusion. Studia. Biophys. 119 (1-3), 67-68.
- Bangero, C., and Teissie, J. (1985). Ionic modulation of electrically-induced fusion of mamalian cells. J. Membrane Biol. 86, 247-253.
- Bate, G. W., and Hasenkampf, C. A. (1985). Culture of plant somatic hybrids following electric fusion. Theor. Appl. Genet. 70, 227-233.
- _____, Gaynor, J. J., and Shekhawat, N. S. (1983). The fusion of plant protoplasts by electric fields. Plant cell Physio. 72, 1110-1113.
- Bertsche, U., Mader, A., and Zimmermann, U. (1988). Nuclear membrane fusion in electrofuse mamalian cells. Biochem. Biophys. Acta. 939, 509-522.
- Bischoff, R., Eisert, R. M., Schedel, I., Vienken, J., and Zimmermann, U. (1982). Human hybridoma cells produced by electrofusion, FEBS Lett. 147, 64-68.
- Buschl, R., Ringsdorf, H., and Zimmermann, U. (1982). Electric field-induced fusion of large liposomes from natural and polymerizable lipids. FEBS Lett. 150, 38-42.
- Chang, D. C. (1989). Cell poration and cell fusion using an oscillating electric field. Biophys J. 56, 641-652.
- _____, (1992). Design of protocols for electroporation and electrofusion: selection of electrical parameters. In. Chang, D. C., Chassy, B. M., Saunders, J. A., and Sower, A. E. (eds) Guide to electroporation and electrofusion. 431-455. Sandiego, California: Academic Press.

- Chapel, M., Teissie, J., and Alibert, G. (1984). Electrofusion of spermine-treated plant protoplasts. FEBS Lett. 173, 331-336.
- Daumler, R. and Zimmermann, U. (1989). High yields of stable transformants by hypo-osmolar plasmid electro-injection. J. Imm. Methods. 122, 203-210
- Eigel, L., Olemiller, R., and Koop, H. U. (1991). Transfer of defined number of chloroplast into albino protoplasts using an improved subprotoplast/protoplast microfusion procedure: Transfer of only two chloroplast leads to variegated progeny. Mol. Gen. Genet. 227, 446-451.
- Finaz, C., Lefevre, A., and Teissie, J. (1984). Electrofusion: a new, highly efficient technique for generating somatic cell hybrids. Exp. Cell. Res. 150, 477-482.
- Foung, S. K. H., and Perkins, S. (1989). Electric field-induced cell fusion and human monoclonal antibody. J. Imm. Methods. 116, 117-122.
- _____, Perkin, S., Kafadar, K., Gessner, P., and Zimmermann, U. (1990). Development of microfusion techniques to generate human hybridomas. J. Imm. Methods. 134, 35-42.
- Gerhard, D., Schudt, C., and Gratzl, M. (1978). Fusion of isolated myoblast plasma membranes an approach to the mechanism. Biochim. Biophys. Acta. 514, 405-116.
- Glassy, M. C., and Hofmann, G. (1985). Optimization of electro-cell fusion parameters in generating human-human hybrids with UC729-6. Hybridoma. 4, 61-66.
- Grasso, S., Heller, R., Cooley, J. C., and Haller, E. M. (1989). Electrofusion of individual animal cells directly to intact corneal epithelial tissue. Biochem. Biophys. Acta. 980, 9-14.

- Hamlyn, P. E. And C. (1979). Recombination studies with *Cephalosporium acremonium*. In. O. K. Sebek, and A. I. LAskin (eds.), Genetics of industrial microbiology, pp 185. Washington : American Society of Microbiology.
- Jacob, H. E., Siegemund, F., Bauer, E., Muhlig, P., and Berg, H. (1983). Fusion of plant protoplasts by electrophoresis and electro-field-pulse technique. Stud. Biophys. 94, 99-100.
- Jones, M. (1988). Fusion plant protoplast. TIBTECH. 6, 153-158
- Kadish, J. L., and Wenc, K. M. (1983). Contamination of polyethylene glycol with aldehydes: implication for hybridoma fusion. Hybridoma. 2(1), 87-89
- Karsten, U., Papsdorf, G., Stolley, P., Abel, H., Walther, I., and Weiss, H. (1985). Monoclonal anti-cytokeratin antibody from a hybridoma clone generated by electrofusion. Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 21, 733-740.
- Kinosita, K. Jr., and Tsong, T. Y. (1977). Voltage-induce pore formation and hemolysis of human erythrocytes. Biochim. Biophys. Acta. 554, 479-497.
- _____, Hibino, M., Itoh, H., Shigemori, M., Hirano, K., Kirino, Y., and Hayakawa, T. (1992). Event of membrane electroperation visualized on a time scale from microsecond to seconds _In. Chang, D. C., Chassy, B. M., Saunders, J. A., and Sower, A. E.(eds) Guide to electroperation and electrofusion. 431-455. Sandiego, California: Academic Press
- Knuton, S. (1980). Studies of membrane fusion : mechanism of the membrane fusion and cell swelling atages of sendai virus-mediated cell fusion. J. Cell. Sci. 43, 103-118.
- Kohn, H., Schieder, R., and schieder, O. (1985). Somatic hybrids in tobacco mediated by electrofusion. Plant Sci. 38, 121-128.

- Koop, H. U., Dirk, J., Wolff, D., and Schweiger, H. G. (1983). Somatic hybridization of two selected single cells. Cell. Biol. Int. Rep. 7, 1123-1127.
- Kubiak, J. Z., and Tarkowski, A. K. (1985). Electrofusion of mouse blastomeres. Exp. Cell. Res. 157, 561-566.
- Lo, M. M. S., Tsong, T. Y., Conrad, M. K., Strittmatter, S. M., Heater, L. H., and Snyder, S. H. (1984). Monoclonal antibody production by receptor-mediated electrically induced cell fusion. Nature. 310, 792-794.
- Naton, B., Mehrle, W., Hampp, R., and Zimmermann, U. (1986). Mass electrofusion and mass selection of functional hybrids from vacuolate x evacuated protoplasts. Plant Cell Report. 5, 419-422.
- Nota, K., Tokawa, Y., and Yamada, Y. (1990). Quantification of physiological conditions for the electrofusion of *saccharomyces cerevisiae*. Agric. Biol. Chem. 54(8), 2023-2028.
- Okada, Y., Ohno-Shosaku, T., and Oiki, S. (1984). Ca^{2+} is prerequisite for cell fusion induced by electric pulses. Biomed. Res. 6, 511-516.
- Ohnishi, K., Chiba, J., Goto, Y., and Tokunaka, T. (1987). Improvement in the basic technology of electrofusion for the generation of antibody-producing hybridoma. J. Imm. Methods. 100, 181-183.
- Ohno-Shosaku, T., Hama-Inaba, H., and Okada, Y. (1984). Somatic hybridization between human and mouse lymphoblast cells produced by an electric pulse-induced fusion technique. Cell Structure Function. 9, 193-196.
- _____ and Okada, Y. (1984). Facilitation of electrofusion of mouse myeloma cells by proteolytic action of protease. Biochem. Biophys. Res. Commun. 120, 138-143.

- Pilwat, G., Richter, H. P., and Zimmermann, U. (1981). Giant culture cells by electric field-induced fusion. FEBS Lett. 133, 169-174.
- Pohl, H. A., and Crane, J. S. (1972). Dielectrophoretic force. J. Theor. Biol. 37, 1-13.
- Podesta, E. J., Solano, A. R., Molina, Y., Vedia, L., Paladini, A. Jr., and Sanchez, M. L. (1984). Production of steroid hormone and cyclic AMP in hybrids of adrenal and Leydig cells generated by electrofusion. Eur. J. Biochem. 145, 329-332.
- Ruthe, H. J., and alder, J. (1985). Fusion of bacterial spheroplasts by electric fields. Biochim. Biophys. Acta. 819, 105-113.
- Sale, A. J. H., and Hamilton, W. A. (1967). Effect of high electric fields on microorganisms. I. Killing of bacteria and yeast. II. Mechanism of action of the lethal effect. Biochim. Biophys. Acta. 148, 781-800.
- _____, (1968). Effect of high electric fields on microorganisms. III. Lysis of erythrocytes and protoplasts. Biochim. Biophys. Acta. 163, 37-43.
- Schnettler, R., Zimmermann, U., and Emeis, C. C. (1984). Large scale production of yeast *Saccharomyces cerevisiae* hybrids by electrofusion. FEMS Lett. 24, 81-85.
- Sower, A. E. (1984). Characterization of electric field-induced fusion in erythrocyte ghost membranes. J. Cell. Biol. 99, 1989-1996.
- _____, (1988). Fusion events and nonfusion contents mixing events induced in erythrocyte ghosts by an electric pulse. Biophys. J. 54, 619-625.
- _____, (1989) Electrofusion of dissimilar membrane fusion partners depends on additive contributions from each of the two different membranes. Biochim. Biophys. Acta. 985, 339-342.
- _____, (1990). Low concentration of macromolecular solutes significantly affect electrofusion yield in erythrocyte ghosts. Biochim. Biophys. Acta

1025, 247-251.

_____, (1992). Mechanism of electroporation and electrofusion. In: Chang, D.C., Chassy, B. M., Saunders, J. A., and Sower, A. E. (eds) Guide to Electroporation and Electrofusion. pp 125-127. Sandiego, California: Academic Press.

Takahashi, Y., Suzuki, K., Niimura, T., Kano, T., and Takashima, S. (1991). A production of monoclonal antibodies by a simple electrofusion technique induced by AC pulses. Biotech. Bioenerg. 37, 790-794.

Teissie, J., Hnutson, V. P., Tsong, T. Y., and Lane, M. D. (1982). Electric pulse- induced fusion of 3T3 cells in monolayer culture. Science. 216, 537-538.

Tempelaar, M. J., Diyst, A. S., Devlas, Y., Krol, G., Symmonds, C., and Jones, M. G. K. (1987). Modulation and direction of the electrofusion response in plant protoplasts. Plant Science. 48 99-105.

Tsong, T. Y. (1992). Time sequence of molecular events in electroporation. In: Chang, D. C., Chassy, B. M., Saunders, J. A., and Sower, A. E. (eds) Guide to Electroporation and Electrofusion. pp 48-49. Sandiego, California: Academic Press.

Vienken, (1985). An improved electrofusion technique for production of mouse hybridoma cells. FEBS Lett. 182, 278-280.

_____ and Zimmermann, U. (1982). An improved electrofusion technique induced fusion: electrohydraulic procedure for production of heterokaryon cells in high yield. FEBS Lett. 137, 11-13.

_____, Zimmermann, U., Fouchard, M., and Zagury, D. (1983). Electrofusion of myeloma cells on the single cell level. FEBS Lett. 163, 54-56.

- Vondrejs, V., Pavlicek, I., Kothera, M., and Palkova. (1980). Electrofusion of oriented *Schizosaccharomyces pombe* cells through apical protoplast protuberances. Biochim. Biophys. Res. Comm. 116(1), 113-118.
- Vos, J., Ahkong, Q. F., Botham, G. M., Quirk, S. J., and Lucy, J. A. (1976). Changes in the distribution of intra membranous particles on hen erythrocyte during cell fusion induced by the bivalent-cation ionophore A23187. Biochim. J. 158, 651-653.
- Walts, J. W., and King, J. M. (1984). A simple method of large-scale electrofusion and culture of plant protoplasts. Biosci. Rep. 4, 335-342.
- Zimmermann, U., Gressner, P., Schnettler, R., Perkins, S., and Fong S. K. H. (1990). J. Imm. Methods. 139, 43-50.
- _____ and Scheurich, P. (1981). High frequency fusion of plant protoplasts by electric fields. Planta. 151, 26-32.
- _____ and Pilwat, G. (1982). Electric field-mediated cell fusion. J. Biol. Phys. 10, 43-50.
- Zheng, Q., Wu, Y., Cai, G. P. and Zhao, N. M. (1988). Electrofusion between protoplasts of cabbage and Chinese cabbage. Acta Biophys Sinica. 4, 134-139.
- _____ and Zhao, N. M. (1989). Electrofusion of IBRS2 cells and the study of their fusion process. Science in China series B. 32 (3), 303-313.

ภาคผนวก ก

การเตรียมสาร

สารละลายสำหรับหลอมเซลล์

1. สารละลายซอร์บิทอล 350 mM(Fluka Chemical, Germany) เตรียมโดยซังซอร์บิทอล 6.38 กรัม(g)(น้ำหนักโมเลกุล 182.2) ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 50 มิลลิลิตร(ml) ในฟลาสก์ตวงปริมาตร 100 ml เติมน้ำกลั่นจน ปริมาตรครบ 100 ml
2. สารละลายซอร์บิทอล 280 mM เตรียมโดยซังซอร์บิทอล 5.1 g ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 50 ml ในฟลาสก์ตวงปริมาตร 100 ml เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรจนครบ 100 ml
3. สารละลายซอร์บิทอล 140 mM เตรียมโดยนำสารในข้อ 2 มา 30 ml เติมน้ำกลั่นอีก 30 ml
4. สารละลายซอร์บิทอล 70 mM เตรียมโดยนำสารในข้อ 3 มา 10 ml เติมน้ำกลั่นอีก 10 ml
5. สารละลายซอร์บิทอล 35 mM เตรียมโดยนำสารในข้อ 4 มา 5 ml เติมน้ำกลั่นอีก 5 ml
6. สารละลายแคลเซียมอะซิเตท 2 mM (Fluka Chemical, Germany)(น้ำหนักโมเลกุล 176.19) เตรียมโดยซังแคลเซียมอะซิเตท 0.035 g ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 50 ml ในฟลาสก์ตวงปริมาตร 100 ml เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรครบ 100 ml หลังจากนั้นนำสารในข้อ 6 ไปเตรียมสารในข้อ 6.1 - 6.5 ดังนี้
 - 6.1 สารละลายแคลเซียมอะซิเตท 1 mM เตรียมโดยนำสารในข้อ 6 มา 20 ml เติมน้ำกลั่นลงไปอีก 20 ml
 - 6.2 สารละลายแคลเซียมอะซิเตท 0.5 mM เตรียมโดยนำสารในข้อ 6.1 มา 10 ml เติมน้ำกลั่นลงไปอีก 10 ml

6.3 สารละลายแคลเซียมอะซิเตท 0.25 mM เตรียมโดยนำสารในข้อ 6.2 มา 5 ml เติมน้ำกลั่นลงไปอีก 5 ml

6.4 สารละลายแคลเซียมอะซิเตท 0.1 mM เตรียมโดยนำสารในข้อ 6.1 มา 1 ml เติมน้ำกลั่นลงไปอีก 9 ml

7. สารละลายแมกนีเซียมอะซิเตท 2 mM (Fluka Chemical, Germany) (น้ำหนักโมเลกุล 214.4) เตรียมโดยชั่งแมกนีเซียมอะซิเตท 0.043 g ละลายในน้ำกลั่น ประมาณ 50 ml ในฟลาสก์ตวงปริมาตร 100 ml เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรครบ 100 ml หลังจากนั้นนำสารในข้อ 7 ไปเตรียมสาร 7.1 - 7.5 ดังนี้

7.1 สารละลายแมกนีเซียมอะซิเตท 1 mM เตรียมโดยนำสารในข้อ 7 มา 20 ml เติมน้ำกลั่นลงไปอีก 20 ml

7.2 สารละลายแมกนีเซียมอะซิเตท 0.5 mM เตรียมโดยนำสารในข้อ 7.1 มา 10 ml เติมน้ำกลั่นลงไปอีก 10 ml

7.3 สารละลายแมกนีเซียมอะซิเตท 0.25 mM เตรียมโดยนำสารในข้อ 7.2 มา 5 ml เติมน้ำกลั่นลงไปอีก 5 ml

7.4 สารละลายแมกนีเซียมอะซิเตท 0.1 mM เตรียมโดยนำสารในข้อ 7.1 มา 1 ml เติมน้ำกลั่นลงไปอีก 9 ml

8. สารละลายซอร์บิทอล 70 mM + แคลเซียมอะซิเตทความเข้มข้นต่าง ๆ

เตรียมตามตาราง 8.1 โดยเตรียมจากสารละลายซอร์บิทอล 140 mM กับสารละลายแคลเซียมอะซิเตทอัตราส่วนเท่ากับ 1:1 โดยปริมาตร แสดงการเตรียมในตารางที่ ก.1

ตารางที่ ก.1 ความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนในสารละลายสำหรับหลอมเซลล์

สารละลายซอร์บิทอล (mM)	สารละลายแคลเซียมอะซิเตท (mM)	ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลาย ซอร์บิทอลและแคลเซียมอะซิเตท (mM)
140	2	70 + 1
140	1	70 + 0.5
140	0.5	70 + 0.25
140	0.2	70 + 0.1
140	0.1	70 + 0.05

9. สารละลาย ซอร์บิทอล 70 mM + แมกนีเซียมอะซิเตทความเข้มข้นต่าง ๆ

โดยใช้สารละลายซอร์บิทอล 140 mM กับสารละลายแมกนีเซียมอะซิเตทอัตราส่วนเท่ากับ 1:1
โดยปริมาตร แสดงการเตรียมในตารางที่ ก.2

ตารางที่ ก.2 ความเข้มข้นของแมกนีเซียมไอออนในสารละลายสำหรับหลอมเซลล์

สารละลาย ซอร์บิทอล (mM)	สารละลายแมกนีเซียมอะซิเตท (mM)	ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลาย ซอร์บิทอล+แมกนีเซียมอะซิเตท (mM)
140	2	70 + 1
140	1	70 + 0.5
140	0.5	70 + 0.25
140	0.2	70 + 0.1
140	0.1	70 + 0.05

10. สารละลายซอร์บิทอล 70 mM + แคลเซียมอะซิเตท 0.25 mM ที่แปรความเข้มข้น
แมกนีเซียมอะซิเตท โดยเตรียมจากสารละลายซอร์บิทอล 280 mM 50 ml และเตรียม
แคลเซียมอะซิเตท 1 mM มา 50 ml จะได้สารละลายซอร์บิทอล 140 mM + แคลเซียม
อะซิเตท 0.5 mM นำสารละลายที่เตรียมได้มาผสมกับสารละลายแคลเซียมอะซิเตทความเข้ม
เข้มข้นต่าง ๆ ด้วยอัตราส่วน 1:1 แสดงการเตรียมในตารางที่ ก.3

ตารางที่ ก.3 ความเข้มข้นของอออนผสมในสารละลายสำหรับหลอมเซลล์ที่แปรความเข้มข้นของแคลเซียมอออน

สารละลายซอร์บิทอล+ แคลเซียมอะซิเตท (mM)	สารละลาย แมกนีเซียมอะซิเตท (mM)	ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายซอร์บิทอล +แคลเซียมอะซิเตท + แมกนีเซียมอะซิเตท (mM)
140 + 0.5	2.0	70 + 0.25 + 1.0
140 + 0.5	1.0	70 + 0.25 + 0.5
140 + 0.5	0.5	70 + 0.25 + 0.25
140 + 0.5	0.2	70 + 0.25 + 0.1
140 + 0.5	0.1	70 + 0.25 + 0.05

11. สารละลายซอร์บิทอล 70 mM + แมกนีเซียมอะซิเตท 0.5 mM + แคลเซียมอะซิเตท ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยเตรียมจากสารละลายซอร์บิทอล 280 mM กับสารละลายแมกนีเซียมอะซิเตท 2 mM ตวงมาอย่างละ 50 ml จะได้สารละลายซอร์บิทอล 140 mM + แมกนีเซียมอะซิเตท 1 mM นำสารละลายที่เตรียมได้มาผสมกับสารละลายแมกนีเซียมอะซิเตทความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยอัตราส่วน 1: 1 แสดงการเตรียมในตารางที่ ก.4

ตารางที่ ก.4 ความเข้มข้นของอออนผสมในสารละลายสำหรับหลอมเซลล์ที่แปรความเข้มข้นของแมกนีเซียมอออน

สารละลายซอร์บิทอล +แมกนีเซียมอะซิเตท (mM)	สารละลายแคลเซียมอะซิเตท (mM)	ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายซอร์บิทอล +แมกนีเซียมอะซิเตท + แคลเซียมอะซิเตท(mM)
140 + 1.0	2.0	70 + 0.5 + 1.0
140 + 1.0	1.0	70 + 0.5 + 0.5
140 + 1.0	0.5	70 + 0.5 + 0.25
140 + 1.0	0.2	70 + 0.5 + 0.1
140 + 1.0	0.1	70 + 0.5 + 0.05

12. สารละลายซอร์บิทอล 85 mM + แคลเซียมอะซิเตท 0.25 mM + แมกนีเซียมอะซิเตท 0.5 mM เตรียมโดยชั่งซอร์บิทอล 1.55 g แคลเซียมอะซิเตท 0.004 g และ

แมกนีเซียมอะซีเตท 0.01 g ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 50 ml โดยใช้ฟลาสก์ตวงปริมาตร 100 ml เติมน้ำกลั่นจนครบ 100 ml

13. สารละลายซอร์บิทอล 100 mM + แคลเซียมอะซีเตท 0.25 mM + แมกนีเซียมอะซีเตท 0.5 mM เตรียมโดยชั่งซอร์บิทอล 1.82 g แคลเซียมอะซีเตท 0.004 g และแมกนีเซียมอะซีเตท 0.01 g ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 50 ml โดยใช้ฟลาสก์ตวงปริมาตร 100 ml เติมน้ำกลั่นจนครบ 100 ml

สารละลายกัก (Echant)

1. สารละลายที่ใช้กักกระจก (สารละลายกรดไฮโดรเจนฟลูออไรด์ 10 %) เตรียมโดยตวงกรดไฮโดรเจนฟลูออไรด์เข้มข้น (Carloerba, Italia) มา 10 ml โดยใช้กระบอกลงปริมาตร ใส่ลงไปในน้ำปลอดอิออน 90 ml

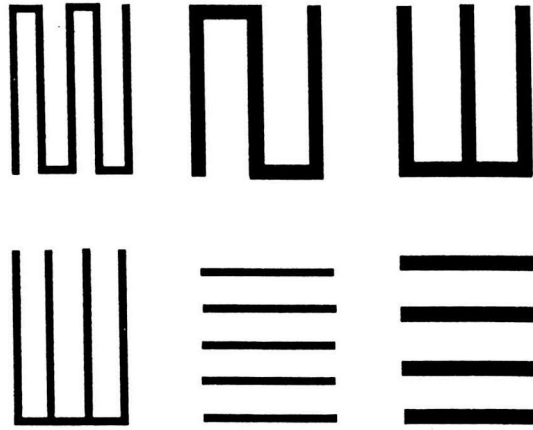
2. สารละลายที่ใช้กัดแผ่นลายวงจร เตรียมโดยตวงน้ำปลอดอิออน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Baker analyzed, J. T. Baker USA) และกรดไฮโดรคลอริก (Analar, BHD laboratory England) ด้วยอัตราส่วน 3:1:1 โดยปริมาตร (เตรียมก่อนใช้ทุกครั้ง)

ภาคผนวก ข

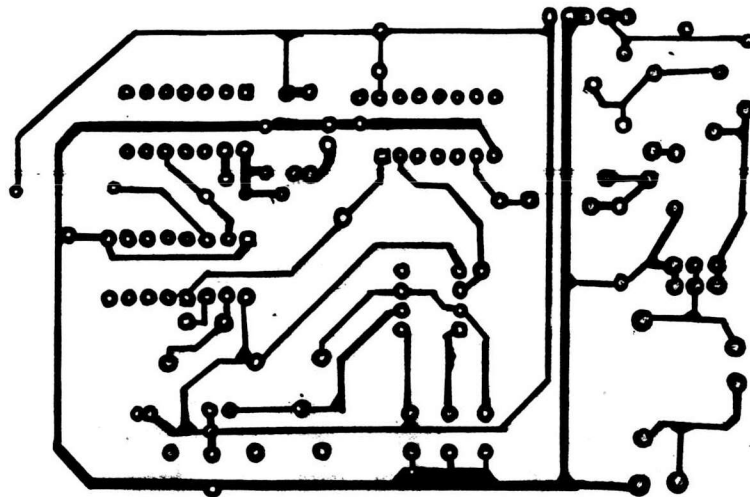
การทำหน้ากาก

การทำแบบหน้ากากโดยใช้ฟิล์มโพไตรซิส โดยฟิล์มโพไตรซิสที่ใช้เป็นแบบเนกาทีฟ (Morton, USA) มีคุณสมบัติไวต่อแสง สำหรับงานวิจัยได้ใช้เป็นหน้ากากของกระจกที่ใช้ทำห้องบรรจุเซลล์และแผ่นทองแดงที่ใช้ทำสายวงจรถ่ายพิมพ์ มีขั้นตอนการทำดังนี้

- ขั้นตอนที่ 1 ลอกแผ่นพลาสติก (Cover sheet) ที่อยู่กับแผ่นฟิล์มโพไตรซิสด้านใดด้านหนึ่ง ออกแล้วนำไปติดกับแผ่นกระจกหรือแผ่นทองแดงที่เตรียมไว้ (ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ)
- ขั้นตอนที่ 2 ใช้ผ้าวางทับบนแผ่นกระจก จากนั้นนำเตารีดไฟฟ้าปรับความร้อนปานกลาง หรือประมาณ 110 C รีดทับบนผ้าให้ทั่ว (ระวังอย่าให้ความร้อนสูงเกินไป เพราะจะทำให้โพไตรซิสละลายได้) ถ้ามีฟองอากาศแทรกอยู่ใช้เข็มปลายแหลมเจาะเอาฟองอากาศออกแล้วไล่เอาฟองอากาศออกโดยใช้เตารีดรีดทับอีกครั้งหนึ่ง (ฟองอากาศนี้จะทำให้ โพไตรซิสไม่เกาะติดกับแผ่นกระจกและจะทำให้โพไตรซิสหลุดได้)
- ขั้นตอนที่ 3 เมื่อได้กระจกที่ติดโพไตรซิสเรียบร้อยแล้วนำแผ่นอาร์ตเวิร์กแบบเนกาทีฟที่ใช้เป็นแบบสำหรับร่องของกระจกหรือสายวงจรถ่ายพิมพ์รูป ข1 และ ข2 มาวางทับและนำกระดาษวางทับอีกชั้น นำไปฉายแสงอัลตราไวโอเล็ต 60 วินาที
- ขั้นตอนที่ 4 ลอกแผ่นพลาสติก (Cover sheet) ที่ติดอยู่บนแผ่นพลาสติกอีกด้านหนึ่งออกแล้วนำไปล้างส่วนที่ไม่ถูกแสงออกโดยใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 10-20 g/l ใช้เวลาประมาณ 60-100 วินาที จะเห็นลายปรากฏขึ้น นำไปล้างด้วยน้ำปลอดอไอออน กระจกที่ผ่านการทำฟิล์มหน้ากากจะนำไปกัดร่องและระเหยโลหะ ส่วนแผ่นทองแดงนำไปกัดลายวงจรถต่อไป



รูปที่ ข1 แบบลอกสายกระจกเพื่อใช้เป็นหน้ากากสำหรับร่องของห้องบรรจุเซลล์



รูปที่ ข2 แบบลายวงจรสำหรับวงจรกำเนิดพัลส์

ภาคผนวก ค

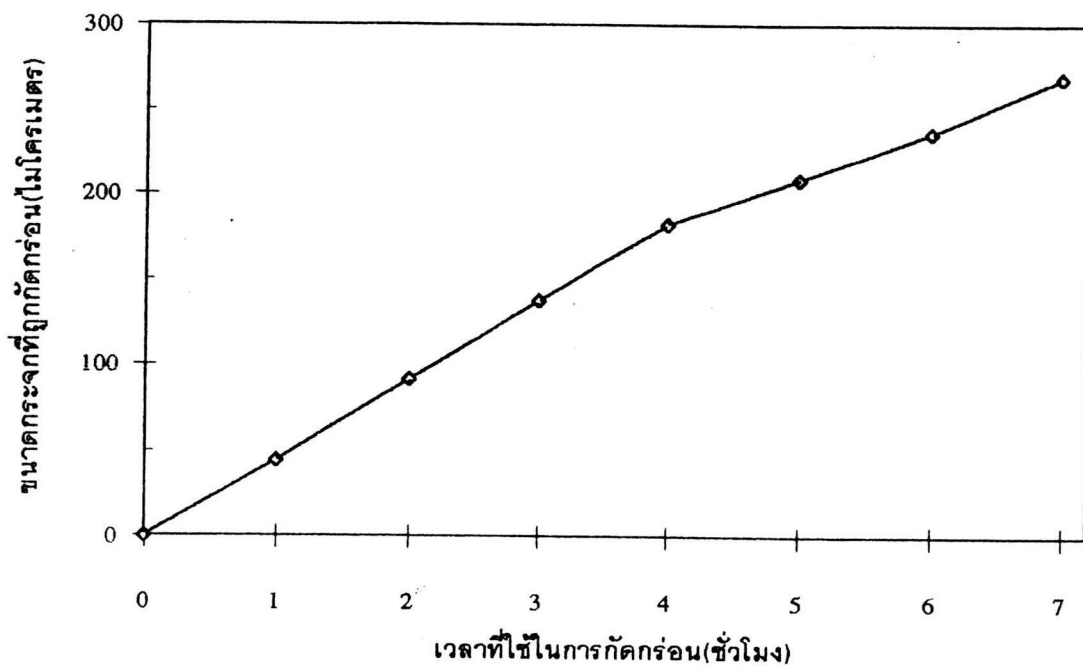
อัตราการกัดกร่อน

ในงานวิจัยได้ใช้สารละลาย 10 % ไฮโดรเจนฟลูออไรด์เป็นสารกัดเพื่อทำร่องของห้องบรรจุเซลล์ ใช้กระจกสไลด์จำนวน 12 แผ่น จำนวน 5 จุด วัดด้วยเครื่องวัดทุกชั่วโมงเป็นเวลา 7 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ ง1 และกราฟรูปที่ ง1

ตารางที่ ง1 อัตราการกัดกร่อนของสารละลาย 10 % ไฮโดรเจนฟลูออไรด์

ชั่วโมงที่	จำนวนครั้ง การวัด	ปริมาณการกัด (μm)		อัตราการกัดเฉลี่ย($\mu\text{m}/\text{hrs}$)	
		ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	60	43.8	16.92	43.8	10.87
2	60	91.13	19.57	47.33	12.15
3	59	137.35	21.25	48.66	7.38
4	60	181.82	24.25	38.15	14.94
5	60	208.38	26.23	30.43	5.40
6	59	235.66	26.25	31.75	5.78
7	55	268.64	25.61	31.67	8.71

จากการคำนวณของค่าเฉลี่ยการกัดในแต่ละชั่วโมงของสารละลายไฮโดรเจนฟลูออไรด์ 10 % พบว่าสามารถกัดกร่อนได้เท่ากับ 38.83 ไมโครเมตรต่อชั่วโมง โดยประมาณ



รูปที่ ค1 อัตราการกักตักระจุยสไลด์ด้วยไฮโดรเจนฟลูออไรด์ 10 %

ประวัติผู้เขียน

นางสาวอัญชนา จินานุพันธ์ เกิดวันที่ 26 พฤศจิกายน พ.ศ. 2510 ที่จังหวัดเชียงราย สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในปีการศึกษา 2533 เข้าทำงานในสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ (NIH) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในปี 2533 และ สถาบันวิจัยศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในปี 2534 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา พ.ศ.2535