

## เอกสารอ้างอิง

- ปราโมทย์ วัฒนชัยนาคม. จุลกายวิภาคเคมี Histochemistry. ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- วิญญา แสงเพชรส่อง และ สุรางค์ ดันดิวนิช. 2539. การวินิจฉัยโรคติดเชื้อทางซีรัมวิทยา. สถาบันพัฒนาการสาธารณสุขอาเซียน มหาวิทยาลัยมหิดล. นครปฐม.
- สมปอง ใจดีเฉย . 2539. การแยกฮอร์โมนที่เพิ่มระดับน้ำตาลในเลือดจากการตาของกุ้งก้ามกราม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.
- วิมล สุขตั้งมั่น . 2538. การผลิตแอนติบอดีที่จำเพาะต่อไวเทตลินเพื่อใช้ทดสอบผลของฮอร์โมนยับยั้งการสะสมไข่แดงของรังไข่ในกุ้งก้ามกราม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.
- วิระวรรณ สิทธิกรฤต , โทสาด สิทธิกรฤต , สันติ เรืองมณีไพฑูรย์ , สุนิศา แสงมงคลพิพัฒน์ และ เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต . 2537. การตรวจหาไวรัสเเพปไทด์ในก้านตาของกุ้งกุลาดำโดยปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกัน. วาริชศาสตร์. 1(1) : 1-19.
- Abramowitz, A.A. , Hisaw, F.L. and Papandrea, D.N. 1944. the Occurrence of a Diabetogenic Factor in the Eystalks of Crustaceans. Biol. Bull. 86 : 1-5.
- Aguilar, M.B. , Quackenbush, L.S. , Hunt, D.T. , Shabanowitz, J. and Huberman , A. 1992. Identification , Purification and Initial Characterization of the Vitellogenesis-Inhibiting Hormone from the Mexican Crayfish , *Procambarus bouvieri* (Ortmann). Comp. Biochem. Physiol. 102B : 491-498.

- Atherton, E. and Sheppard, R.C. 1989. Solid Phase Peptide Synthesis : A Practical Approach. IRL Press. Oxford.
- Bodanszky, M. 1993. Peptide Chemistry : A Practical Textbook. Springer-Verlag. German.
- Catalog and Peptide Synthesis Handbook. 1997/1998. Calbiochem-Novabiochem Corp. California.
- Catty, D. Antibody : a practical approach Volume II . 1989. IRL Press. Oxford.
- Chang, E.S. , Bruce, M.J. and Newcomb, R.W. 1987. Purification and Amino Acid Composition of a Peptide with Molt-Inhibiting Activity from the lobster , *Hormarus americanus*. Gen. Comp. Endocrinol. 65 : 56-64 .
- Dirksen, H. , Webster, S.G. and Keller, R. 1988. Immunocytochemical Demonstration of the Neurosecretory System Contain Putative Moulting-Inhibiting Hormone and Hyperglycemic Hormone in the eyestalk of Brachyuran Crustacean. Cell Tissue Res. 251 : 3-12.
- Fernlund, P. 1976. Structure of a Light-Adapting Hormone from the Shrimp, *Pandalus borealis*. Biochem. Biophys. Acta. 439 : 17-25.
- Hancock, D.C. , O' Reilly, N.J. and Evan, G.I. , 1995. Review : Synthetic Peptide in Biochemical Research. Mol. Biotech. 4 : 73-86.
- Fernlund, P. and Josefsson, L. 1972. Crustacean Color Change Hormone : Amino Acid Sequence and Chemical Synthesis. Science. 177 : 173-175.
- Huberman, A. , Aguilar, M.B. and Brew, K. 1993. Primary Structure of the Major Isomorph of the Crustacean Hyperglycemic Hormone ( CHH-I ) from the Sinus Gland of the Mexican

- Crayfish, *Procambarus bouvieri* (Ortmann) : Interspecies Comparison. Peptides. 14 : 7-16.
- Huberman, A. , Aquilar, M.B. and Quackenbush, L.S. 1995. a Neuropeptide Family from the Simus Gland of the Mexican Crayfish , *Procambarus bouvieri* (Ortmann). Aquaculture. 135 : 149-160
- Jarose, P.P. and Keller, R. 1979. Immunocytochemical Identification of Hyperglycemic Hormone-Producing Cell in the Eyestalk of *Carcinus maenas*. Cell. Tissue Res. 204 : 379-385.
- Kallen, J. and Meusy, J.J. 1989. Do the Hormone VIH (Vitellogenesis Inhibiting Hormone) and CHH (Crustacean Hyperglycemic Hormone) of Crustacean have a Common Precursor ? Immunolocalization of *Homorus americanus*. Invert. Reprod. Dev. 16 : 43-52.
- Kellen, J.L.G. and Voorter, C.E.M. 1984. Secretory Stages of Individual CHH-Producing Cells in the Eyestalk of the crayfish *Astacus leptodactylus*, Determined by Means of Immunocytochemistry. Cell. Tissue. Res. 237 : 291-298.
- Kegel, G. , Reichwein, B. , Weese, S. , Gaus, G. , Katalinic, J.P. and Keller, R. 1989. Amino Acid Sequence of Crustacean Hyperglycemic Hormone (CHH) from the Shore Crab , *Carcinus maenas*. FEBS. Lett. 225(1) : 10-14.
- Kegel, G. , Reichwein, B. , Tensen, C.P. and Keller, R. 1991. Amino Acid Sequence of Crustacean Hyperglycemic Hormone (CHH) from the Crayfish , *Orconectes limosus* : Emergence of a Novel Neuropeptide Family. Peptides. 12 : 909-913.
- Kellen, J.L. and Van Herp, F. 1981. Localization of Crustacean Hyperglycemic Hormone (CHH) in X-organ Simus Gland Complex in the Eyestalk of the Crayfish , *Astacus leptodactylus* (Nordman, 1842). J. Morphology. 170 : 347-355.

- Keller, R. 1992. Crustacean Neuropeptide : Structure Function and Comparative Aspect. Experientia . 48 :439-448.
- Keller, R. , Jaros, P.P. and Kegal, G. 1985. Crustacean Hyperglycemic Neuropeptides. Amer.Zool. 25 : 207-221.
- Keller, R. and Sedlmeier, D. 1988. a Metabolic Hormone in Crustacean : the Hyperglycemic Neuropeptide. In Endocrinology of Selected Invertebrate Type. Vol II (Edited by Laufer , H. and Downer, R.G.H) Alan R. Liss. Inc, NewYork. pp.315-326.
- Klein, J.M. , De Kleijn, D.P.V. Hunemeyer, G. , Keller, G. and Weidemann,W. 1993 . Demonstration of the Cellular Expression of Genes Encoding Molt-Inhibiting Hormone and Crustacean Hyperglycemic Hormone in the Eyestalk of the Shore Crab *Carcinus maenas*. Cell. Tissue Res. 274 : 515-519.
- Kleinholz, L.H. , Rao, K.R. , Riehm, J.P. and Tarr, G.E. 1986. Isolation and Sequence Analysis of a Pigment-Dispersing Hormone from Eyestalks of the Crab, *Cancer magister*. Biol. Bull. 170 : 135-143.
- Kuby, J. Immunology.1994. W.H. Freeman and Company. New York.
- Matin, G. , Sorokine, O. and Van Dorsselaer, A. 1993. Isolation and Molecular Characterization of Hyperglycemic Neuropeptide from the Sinus Gland Terrestrial Isopod *Armadillidium vulgare* (Crustacea). Eur.J.Biochem. 211 :601-607.
- Nagamine, C. , Knight, A.W. , Maggenti, A and Paxman, G. 1980. Effects of Androgenic Gland Ablation on Male Primary and Secondary Sexual Characteristic in the Malaysian Prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) ( Decapod, Palaemonidae) , with First Evidence of

- Induced Feminization in a Nonhermaphroditic Decapod. Gen. Comp. Endocrinol. 41 : 423-441.
- Rolttant, G. , De Kleijn, M. , Charmentier-Daures, M. , Charmantier, G. and Van Herp, F. 1993. Localization of Crustacean Hyperglycemic Hormone (CHH) and Gonad Inhibiting Hormone (GIH) in the Eyestalk of *Homarus gammarus* Larvae by Immunocytochemistry and *in situ* Hybridization. Cell. Tissue Res. 271 : 507-512.
- Roa, K.R. and Riehm, J.P. 1988. Pigment-dispersing Hormone : a Novel Family of Neuropeptides from Arthropods. Peptides. 9 : 153-159.
- Santo, E.A. and Keller, R. 1993. Crustacean Hyperglycemic Hormone (CHH) and the Regulation of Carbohydrate Metabolism : Current Perspectives. Comp. Biochem. Physiol. 106A.(3) : 405-411.
- Shih, T.-W. , Sukuzi, Y. , Nagasawa, H. and Aida, K. 1997. Immunohistochemical Localization Of Crustacean Hyperglycemic Hormone (CHH) and Molt-Inhibiting Hormone (MIH) in the Eyestalk of *Penaeus japonicus*. Proceedings of XIIIth International Congress of Comparative Endocrinology. 13 : 87-91.
- Sigma : Diagnostics Glucose, Procedure No.510. 1984. Sigma Chemical Company. U.S.A.
- Sithigorngul, P. , Cowden, C. Guastella, J. and Stretton, A.O.W. 1989. Generation of Monoclonal Antibodies Against a Nematode Peptide Extract : Another Approach for Identifying Unknown Neuropeptide. J.Comp.Neurol. 284 : 389-397.
- Sithigorngul, P. , Cowden, C. and Stretton. 1996. Heterogeneity of Cholecystokinin/Gastrin-like Immunoreactivity Peptide in the Nervous System of the Nematode *Ascaris suum*. J.Comp.Neurol. 370 : 427-442.

- Sithigorngul, W. , Jaideechoey, S. , Saraithongkum, W. , Longyant, S. and Sithigorngul, P. 1999. Purification and Characterization of an Isoform of Crustacean Hyperglycemic Hormone from the Eyestalk of *Macrobrachium rosenbergii*. J. Exp. Zool. (inpress)
- Sithigorngul, P. , Stretton, A.O.W. and Cowden, C. 1991 . a Versatile Dot-ELISA Method with Femtomole Sentivity for Detecting Small Peptides. J. Immunol. Methods. 141 : 23-32.
- Smullen, R.P. and Bentley, M.G. 1994. Studies on Crustacean Hyperglycemic Hormone of the Norway Lobster *Nephrops norvegicus*(L.). Invertebrate Reproduction and Development. 26(1) : 23-32.
- Soyez, D. , Le Caer, J.P. , Noel, P.Y. and Rossier, J. 1991. Primary Structure of two Isoforms of the Vitellogenesis Inhibiting Hormone from the Lobster, *Homarus americanus*. Neuropeptide. 20: 25-32.
- Tensen, C.P. , Janssen, K.P.C. , Soyoz, D. and Van Herp, F. 1991. Comparative Characterization of Hyperglycemic Neuropeptide from the Lobster, *Homarus americanus*. Peptides. 12 : 241-249.
- Terauchi, A. , Tsutsum, H. , Yang, W. , Aida, K. , Nagasawa, H. and Sonobe, H. 1996. A Novel Neuropeptide with Molt-Inhibiting Activity from the Sinus Gland of the Crayfish , *Procambarus clarkii*. Zool. Sci. 13 :295-298
- Tirayut Vilaivan. 1996. Synthesis and Properties of Novel Nucleopeptides. Ph.D Thesis, Faculty of Physical Science, Oxford University.
- Van Herp, F. and Van Beggenum, H.J.M. 1979. Immunocytochemical Localization of Hyperglycemic Hormone (HGH) in the neurosecretory System of the Crayfish *Astacus leptodactylus*. Experientia. 35 : 1527-1529.

Webster, S.G. 1991. Amino Acid Sequence of Putative Molt-Inhibiting Hormone from the Crab ,  
*Carcinus maenas*. Proc.R.Soc. Lond.B. 224 : 247-252.

Weideman, W. , Gromoll and Keller, R. 1989. Cloning and Sequence Analysis of cDNA for  
Precursor of a Crustacean Hyperglycemic Hormone. FEBS Lett. 257 : 31-34.

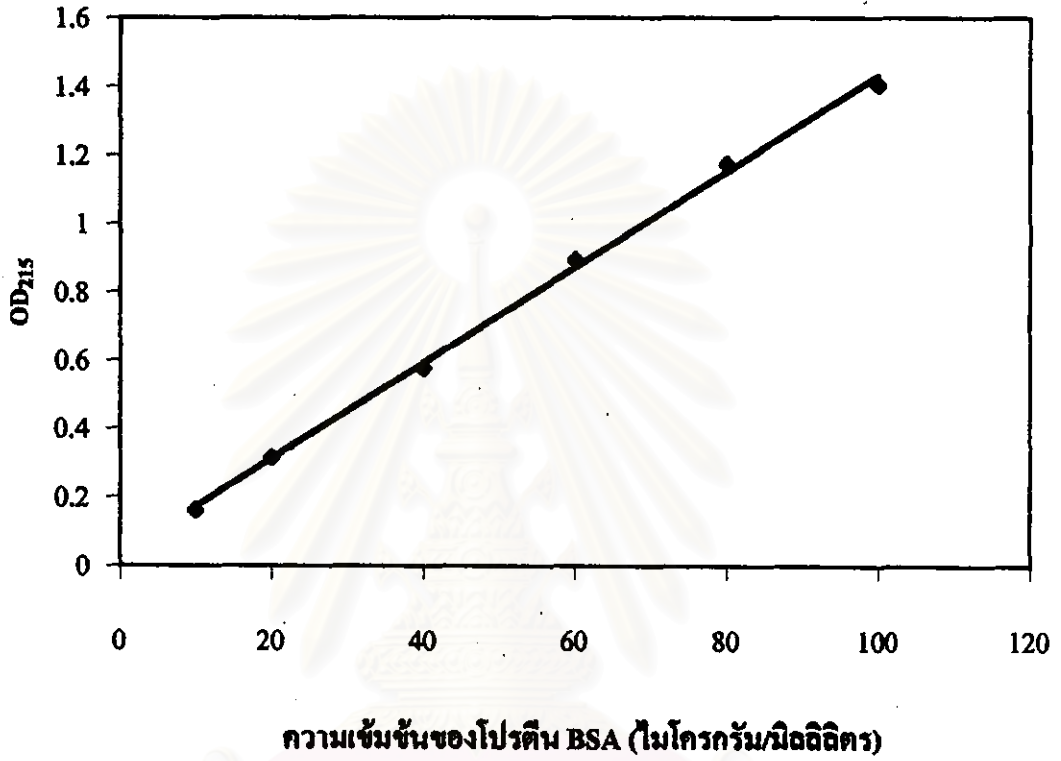
Yang, W. , Aida, K. and Nagasawa, H. 1995. Amino acid Sequence of Hyperglycemic Hormone and  
its Related Peptides from the Kuruma prawn , *Penaeus japonicus*. Aquaculture. 135 : 202-  
215.

Yasuda, A. , Yasuda, Y. , Fujita, T. and Naya, Y. 1994. Characterization of Crustacean  
Hyperglycemic Hormone from the Crayfish (*Procambarus clarkii*) : Mutiple of Molecular  
forms by Sterioinversion and Diverse Function. Gen. Comp. Endocrinol. 95 : 387-398.

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

กราฟมาตรฐานโปรตีน BSA ที่ความยาวคลื่น 215 นาโนเมตร



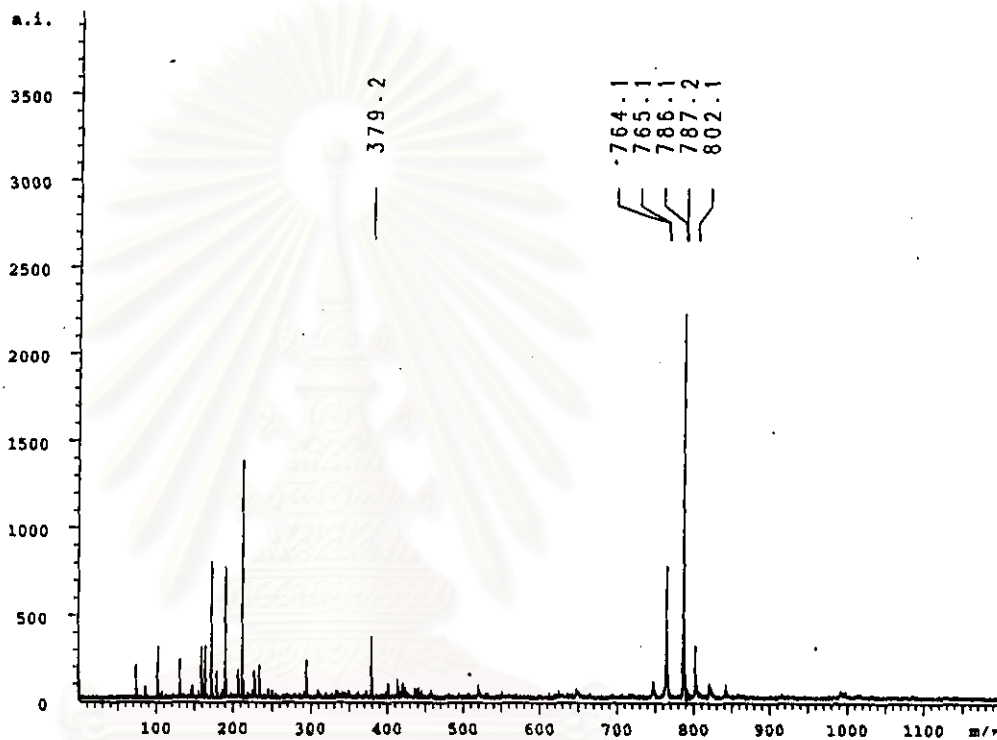
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



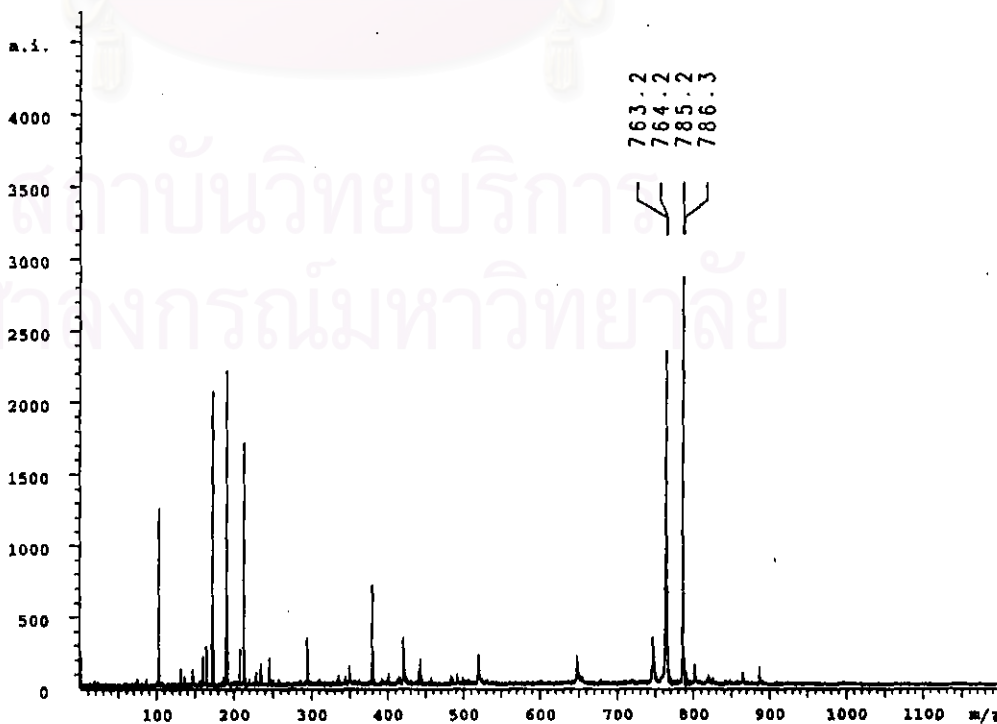
ภาคผนวก ข

MALDI-TOF สเปกตรัมของแฟรคชันต่างๆ ของเพปไทด์ T- ที่ได้จากการสังเคราะห์โดยวิธี  
solid phase peptide sythesis

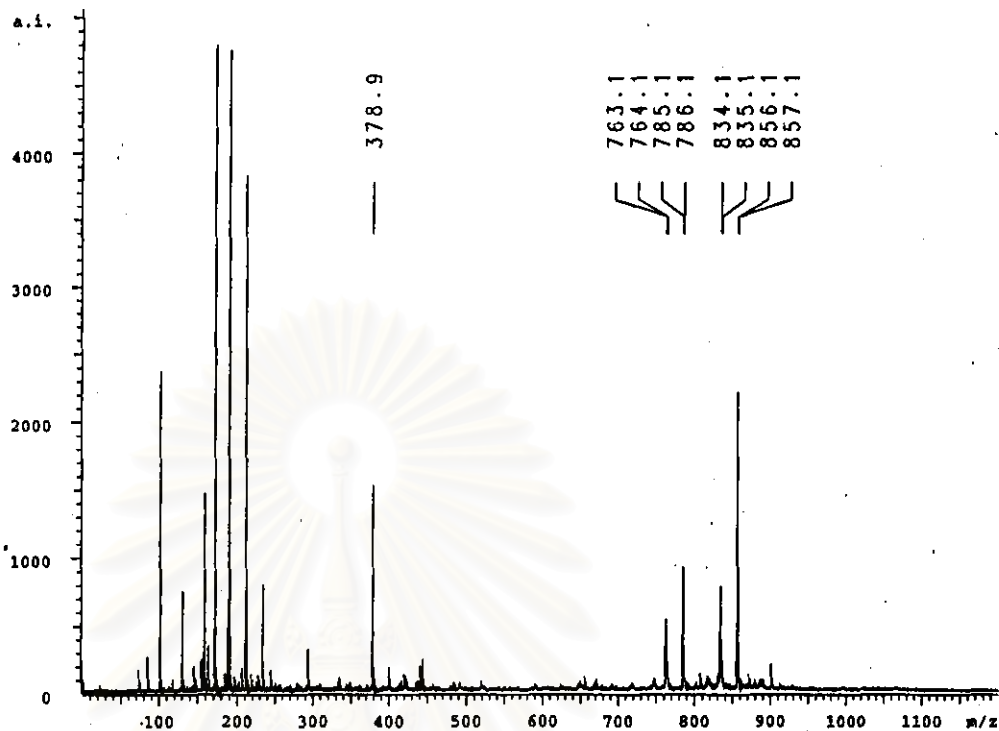
แฟรคชันที่ 23



แฟรคชันที่ 24



แพรคชันที่ 25



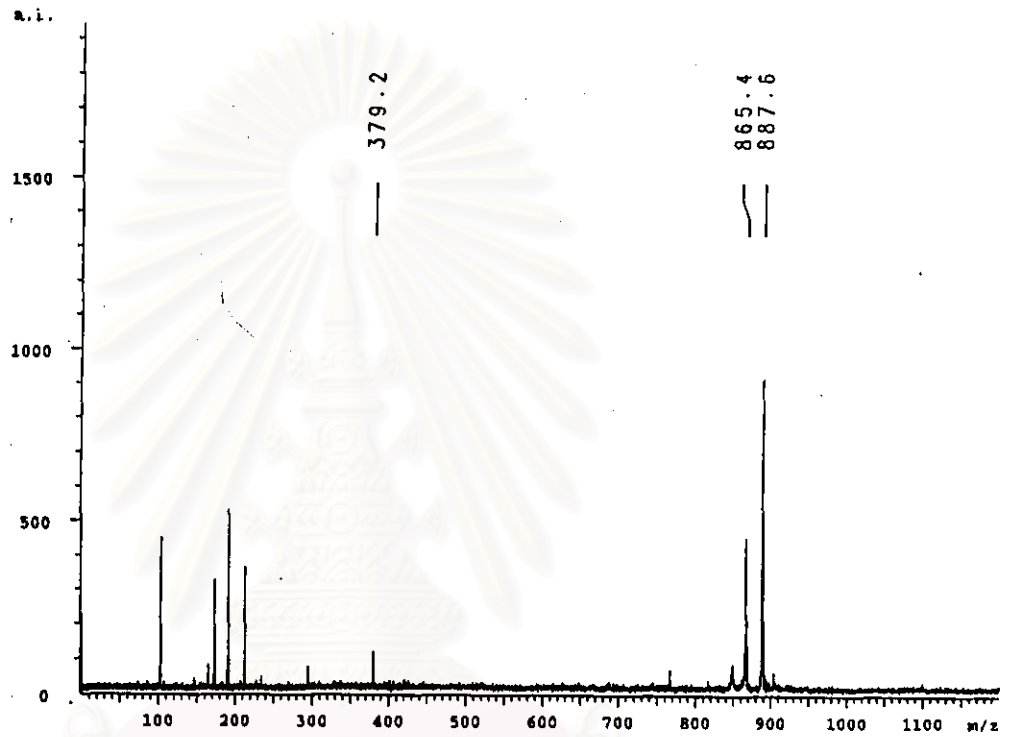
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก

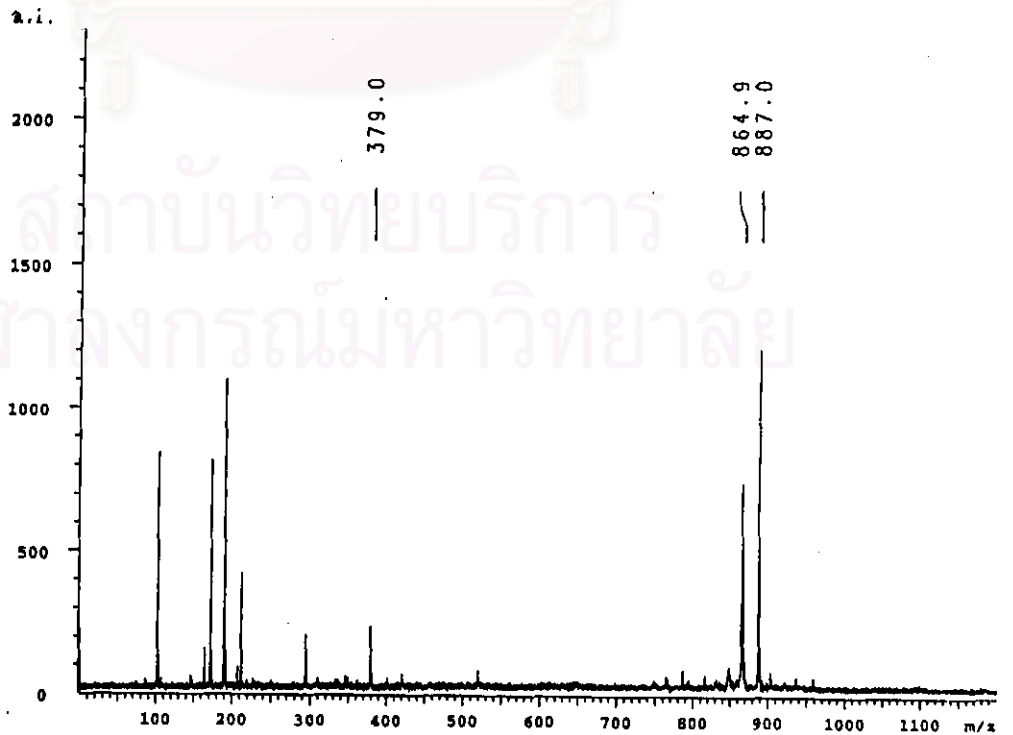
MALDI-TOF สเปกตรัมของแฟรคชันต่างๆ ของเพปไทด์ T+ ที่ได้จากการสังเคราะห์โดยวิธี

solid phase peptide synthesis

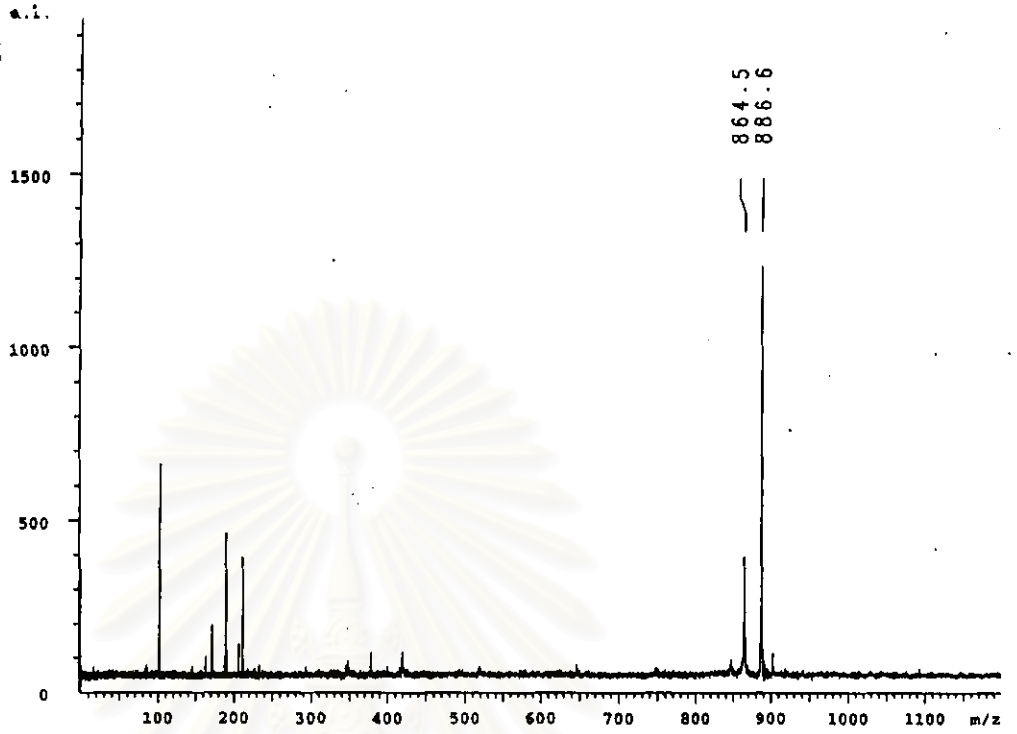
แฟรคชันที่ 22



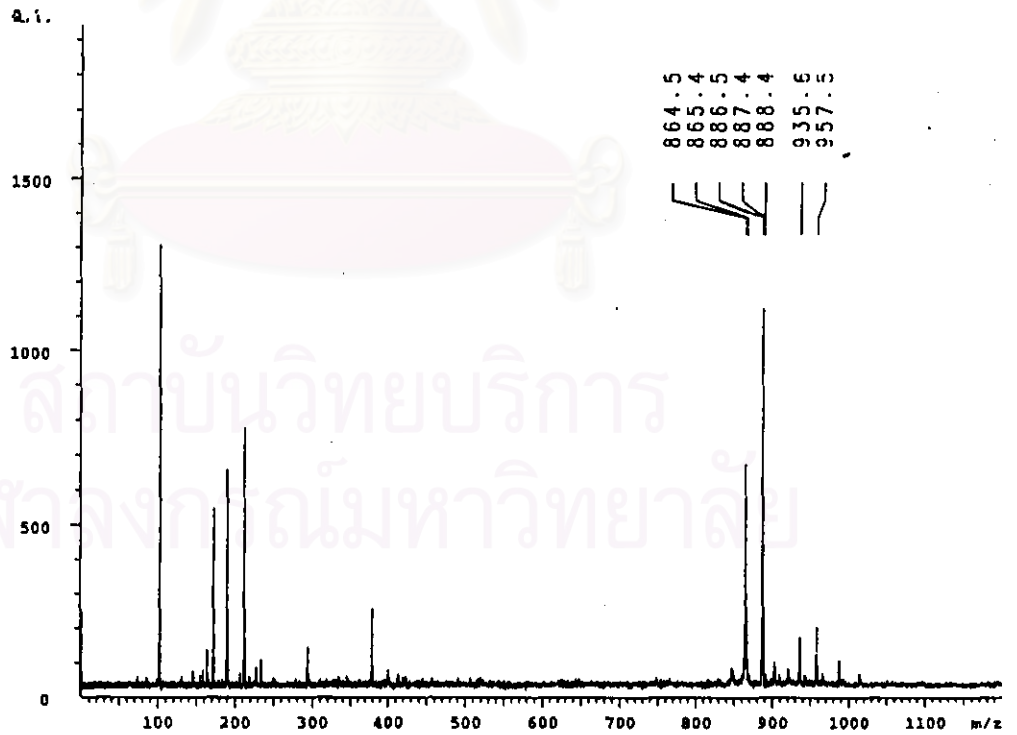
แฟรคชันที่ 23



แพรคชั่นที่ 24



แพรคชั่นที่ 25



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ง

## การเตรียมสารเคมี

## Phosphate Buffered Saline (PBS) 0.15 M , pH 7.2

NaCl	8.00	กรัม
KCl	0.20	กรัม
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0.20	กรัม
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.15	กรัม
น้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น	1000.00	มิลลิลิตร

## สารละลาย blotto 5%

นมพร่องมันเนย	5	กรัม
PBS	100.00	มิลลิลิตร
สารละลายเมอร์ไซ โอเรด 1 %	1	มิลลิลิตร
Triton X-100	0.1	มิลลิลิตร

สารละลายแอนติบอดีต่อเพปไทด์ T- หรือ T+ ที่เจือจางในอัตราส่วน 1 : 100 ใน BSA-Gly เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

แอนติบอดีต่อเพปไทด์ T- หรือ T+	10	ไมโครลิตร
สารละลาย BSA-Gly เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	990	ไมโครลิตร

สารละลายแอนติบอดีต่อเพปไทด์ T- หรือ T+ ที่เจือจางในอัตราส่วน 1 : 40,000 ใน blotto 5% ที่มี BSA-Gly เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรละลายอยู่

แอนติบอดีต่อเพปไทด์ T- หรือ T+	50	ไมโครลิตร
เจือจาง 1:100		
สารละลาย BSA-Gly เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	4.95	มิลลิลิตร

สารละลาย blotto 5 %	5.00	มิลลิลิตร
<b>Citrate Buffered 0.1 M, pH 4.5</b>		
Sodium Citrate	29.40	กรัม
สารละลายเมอร์ไรโอเทค 1 %	10.00	มิลลิลิตร
น้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น	1000.00	มิลลิลิตร
ปรับ pH ด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 M หรือกรดไฮโดรคลอริก 0.1 M		
<b>สารละลาย Calf Serum 10 % (P<sub>1</sub>+) </b>		
Calf serum	10.00	มิลลิลิตร
PBS	100.00	มิลลิลิตร
<b>สารละลาย Bouin's fixative</b>		
กรดอะซิติค	5.00	มิลลิลิตร
formaldehyde 40 %	25.00	มิลลิลิตร
Picric acid	75.00	มิลลิลิตร
(saturated aqueous solution)		
<b>Eosin Y 0.1 % ในเอทานอล 95 %</b>		
Eosin Y	0.1	กรัม
เอทานอล 95 %	100.00	มิลลิลิตร
<b>สารละลาย TFA 1 %</b>		
TFA	1	
น้ำกลั่น	100.00	มิลลิลิตร
<b>สารละลาย TFA 0.1 %</b>		
TFA 1 %	10.00	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	90.00	มิลลิลิตร

สารละลาย 80% acetonitrile ใน 0.1% TFA

acetonitrile ( HPLC grade )	80.00	มิลลิลิตร
1% TFA	10.00	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น 3 ครั้ง	10.00	มิลลิลิตร

สารละลาย 10% acetonitrile ใน 0.1% TFA

acetonitrile ( HPLC grade )	10.00	มิลลิลิตร
1% TFA	10.00	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น 3 ครั้ง	80.00	มิลลิลิตร

น้ำเกลือสำหรับกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii* - isotonic physiological saline pH 7.6 , Nagamine et al. 1980 )

NaCl	11.00	กรัม
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	1.91	กรัม
Kcl	0.52	กรัม
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2.47	กรัม
NaHCO <sub>3</sub>	0.17	กรัม
น้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น	1000.00	มิลลิลิตร

สารละลายเอนไซม์และดี (Glucose Oxidase, Peroxidase, *o*-Dianisidine -PGO , Sigma diagnostic Kit)

PGO	1	แคปซูล
<i>o</i> -Dianisidine	1.60	มิลลิลิตร
น้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น	100.00	มิลลิลิตร

## ประวัติผู้เขียน

นางสาวนันทิกา ปานจันทร์ เกิดวันที่ 22 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2517 ที่กรุงเทพฯ สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต (ชีวเคมีและชีวเคมีเทคโนโลยี) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในปีการศึกษา 2538 และได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2539



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย