

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

กรรณิการ์ พรพัฒน์กุล การตรวจหามะเร็งตับแต่เริ่มแรก วิทยุณาการในโรกระบบทางเดินอาหาร

ครั้งที่ 1 (2529) : 175-181

จงวิทย์ เพิ่มมงคล และ เพชรินทร์ ศรีวัฒนกุล การศึกษาเกี่ยวกับ Alpha-fetoprotein ในผู้ป่วย

มะเร็งตับ วารสารโรคมะเร็ง 5 (2522) : 213-21

### ภาษาอังกฤษ

Alpert , E. , Drysdale , J. W. , Isselbacher , K. J. , and Schur , P. H. Human  $\alpha$ -fetoprotein isolation , characterization , and demonstration of microheterogeneity. J. Biol. Chem.

247 (1972) : 3792-3798 .

Aoyagi , Y. , Ikenaka , T. , and Ichida , F. Comparative chemical structures of human  $\alpha$ -fetoprotein from fetal serum and from ascites fluid of a patient with hepatoma.

Cancer Res. 37 (1977) : 3663-3667 .

Awgati , W. A. , Gordon , Y.B. , and Chard , T. A. Simple and reliable method for purification of human alphafetoprotein (AFP) from amniotic fluid and fetal livers.

Clin. Chem. Acta 89 (1978) : 173 - 182 .

- Bellet , D . , Wands , J. R . , Isselbacher , K. J., and Bohuon , C. Serum  $\alpha$ -fetoprotein levels in human disease : Perspective from a highly specific monoclonal radioimmunoassay. Proc Natl. Acad. Sci. USA 81 (1984) : 3869-3873 .
- Birkenmeier , G . , Usbeck , E. Saro , L. . and Kopperschlager , G. Triazine dye binding of human  $\alpha$ -fetoprotein and albumin. J. Chromatogr. 265 (1983) : 27-35 .
- Bradford , M. M. A. Rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dry binding. Anal. Biochem. 72 (1976) : 248-254
- Buamah , P. K . , Cornell , C. and Skellen , A. W. Affinity chromatography used in distinguishing alpha-fetoprotein in serum from patients with tumors of hepatic parenchyma and germ cells. Clin. Chem. 30 (1984) : 1257-1258 .
- Chan , D . , W. . , and Miao , Y. C. Affinity chromatographic separation of alpha-fetoprotein variants : Development of a mini-column procedure and application to cancer patients. Clin. Chem. 32 (1986) : 2143-2146 .
- Chen , D. S. And others . Serum alpha-fetoprotein in the early stage of human hepatocellular carcinoma. Gastroenterology 86 (1984) : 1404-1409 .

- Chudy , D. , and Zizkovsky , V. A simple and rapid method for the isolation of human alpha-fetoprotein from human cord serum. Neoplasma 34 (1987) : 491-495 .
- Gitlin , D. , and Boesman , M. Serum  $\alpha$ -fetoprotein , albumin , and G-Globulin in the human conceptus. J. Clin. Invest. 45 (1966) : 1826-1837 .
- \_\_\_\_\_ , Ferricelli , A. , and Gitlin , G. M. Synthesis of  $\alpha$ -fetoprotein by liver , yolk sac and gastrointestinal tract of the human conceptus. Cancer Res. 32 ( 1972) : 979-982
- Govindarajan , S. , Fong , T. L. , and Ashcavai , M. Concanavalin A affinity of  $\alpha$ -fetoprotein. A.I.C.P. 88 (1987) : 722-724 .
- Hudson , L. , and Hay , F. Molecular weights and special properties immunoglobulins and antigens immunological interest. Practical immunology Blackwell Scientific Publications , London 1980 : 347 .
- Huse , K. , Himmel , M. , Birkenmeier , G., Bonla , M. , and Kopperschlager , G. A novel purification procedure for human  $\alpha$ -fetoprotein by application off immobilised cibacron blue F3G-A as affinity ligand. Clin. Chem. Acta. 133 (1983) : 335-340 .
- Johnstone , A. , and Thorpe , R. Ultra - violet absorption. Immunochemistry in practice Blackwell Scientific Publication , London 1987 : 1-3 .

- \_\_\_\_\_, and Thorpe, R. Diffusion techniques. Immunochimistry in practice Blackwell Scientific Publication, London 1987 : 133-135 .
- Morinaga, T., Sakai, M., Wegmann, T.G., and Tamaoki, T. Primary structures of human  $\alpha$ -fetoprotein and its mRNA. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80 (1983) : 4604-4608 .
- Nishi, S. Isolation and characterization of a human fetal  $\delta$ -globulin from the sera of fetuses and hepatoma patient. Cancer Res. 30 (1970) : 2507-2513 .
- Oers, N. S. C., Cohen, B. L., and Murgita, R. A. Isolation and characterization of a distinct immunoregulatory isoform of  $\alpha$ -fetoprotein produced by the normal fetus. I. Exp. Med. 170 (1989) : 811-825 .
- \_\_\_\_\_, Roismenu, R., Cohen, B. L., and Murgita, R. A. Analytical and preparative-scale separation of molecular variants of  $\alpha$ -fetoprotein by anion exchange chromatography on Monobead resins. J. Chromatogr. 525 (1990) : 59-69 .
- Page, M.  $\alpha$ -fetoprotein : Purification on sepharose-linked Concanavalin-A. Can. J. Biochem. 51 (1973) : 1213-1215 .
- Ruoslahti, E., and Engvall, E. Immunological crossreaction between alpha-fetoprotein and albumin. Natl. Acad. Sci. USA, 73 (1976) : 4641-4644 .

- \_\_\_\_\_, and Pihko, H. Effect of chemical modification on the immunogenicity of homologous  $\alpha$ -fetoprotein. Ann. N. Y. Acad. Sci. 259(1975) : 85-93.
- \_\_\_\_\_, and Seppola, M. Studies of carcino-fetal proteins : physical and chemical properties of human  $\alpha$ -fetoprotein. Int. J. Cancer 7 (1971) : 218-225 .
- \_\_\_\_\_, E., and Seppola, M.  $\alpha$ -fetoprotein in cancer and fetal development. Adv. Cancer Res. 29 (1979) : 276-327 .
- \_\_\_\_\_, and Terry, W.D.  $\alpha$ -fetoprotein and serum albumin show sequence homology. Nature, 260 (1976) : 804-805 .
- Sato, Y., and others . The search for the ultimate screening test for hepatocellular carcinoma continues. Hepatology 19 (1994) : 255-257 .
- Sell, S. Cancer-associated carbohydrates identified by monoclonal antibodies. Human Pathology 21 (1990) : 1003-1019 .
- Smith, C. J., and Kelleher, P. C.  $\alpha$ -fetoprotein : Separation of two molecular variants by affinity chromatography with concanavalin-A agarose. Biochem. Biophys. ACTA 317 (1973) : 231-235 .

- \_\_\_\_\_, Morris, H.P., and Kellcher, P.C. Concanavalin-A affinity molecular variants of  $\alpha$ -fetoprotein in neonatal rat serum and in the serum of rats bearing hepatomas. Cancer Res. 37 (1977) : 2651-2656 .
- Travis, J., Bowen, J., Tewksbury, D., Johnson, D., and Pannell, R. Isolation of albumin from whole human plasma and fractionation of albumin-depleted plasma. Biochem. J. 157 (1976) : 301-306 .
- Twomey, S. L., and Sweet, R. V. Purification of  $\alpha$ -fetoprotein. Clin. Chem. 22 (1976) : 1306 - 1309 .
- Wanatabe, Y., Adachi, T., Ito, Y., Hirano, K., and Sugiura, M. A simple purification procedure for  $\alpha$ -fetoprotein by Immunoabsorbent column chromatography. Chem. Pharm. Bull. 30 (1982) : 3284-3287 .
- Wong, L. I. Xu, Z. J. Simple purification procedure of rat  $\alpha$ -fetoprotein by a combination of Cibacron blue gel affinity chromatography and anion-exchange high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. 338 (1985) : 410-416 .

Yoshimoto, T., and others. A primary lung carcinoma producing alpha-fetoprotein, carcinoembryonic antigen, and human chorionic gonadotrophin immunohistochemical and biochemical studies. *Cancer* 1 (1987) : 2744-2750.

Yong, J. L., Reid, R. G., and Crawford, J. W. Purification and Radioimmunoassay of human alpha-1-fetoprotein: the effect of aggregates on the radioimmunoassay.

*Clinica Chimica Acta* 69 (1976) : 11-20.

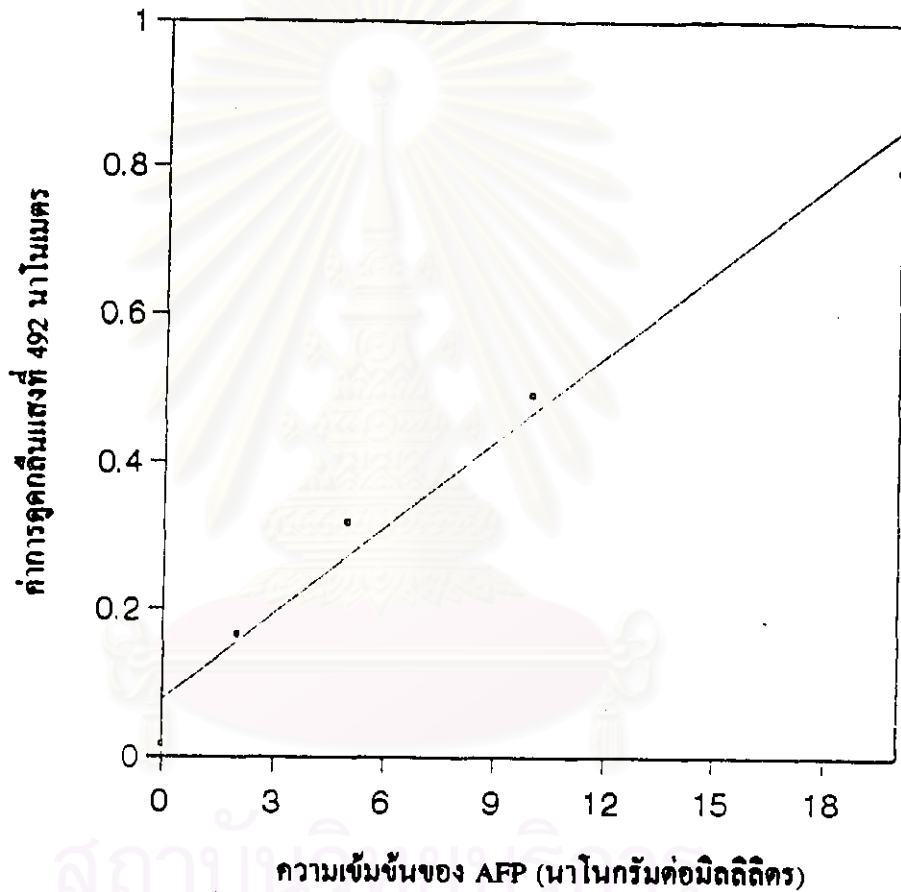
\_\_\_\_\_, and Webb, B. A. Two methods for the separation of human  $\alpha$ -fetoprotein and albumin. *Anal. Biochem.* 88 (1978) : 619-623.



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ AFP  
กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร โดยวิธี Abbott-BIA



ค่าความเข้มข้นของ AFP  
(นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร)

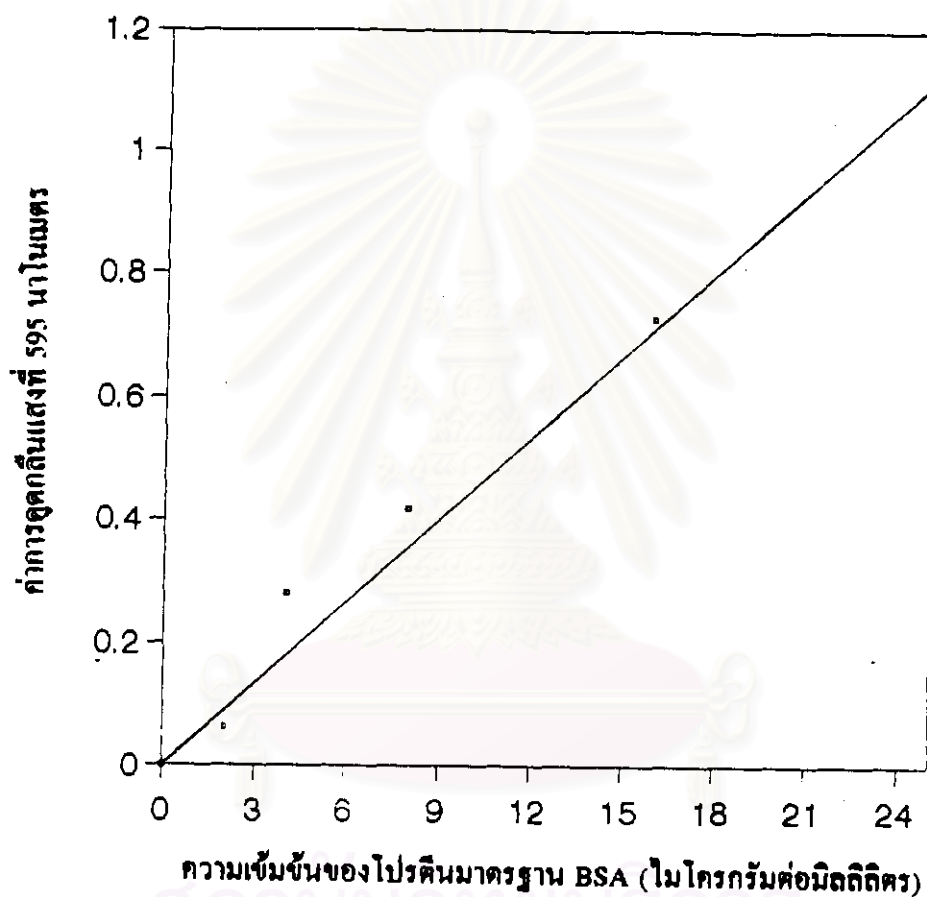
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร

0	0.018
2	0.166
5	0.318
10	0.491
20	0.795



## ภาคผนวก ข

กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโปรตีน BSA กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร โดยวิธีวัดโปรตีนปริมาณน้อย (Micro assay) ด้วยสี้อมไบโอเรด

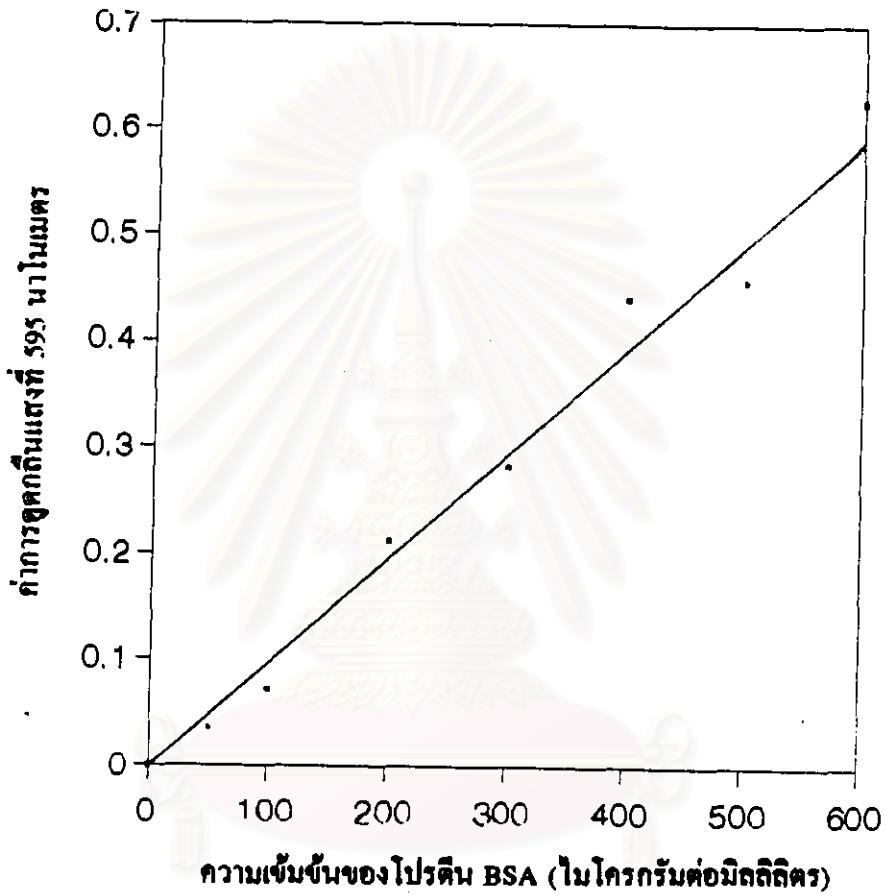


ความเข้มข้นของโปรตีนมาตรฐาน BSA      ค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร  
(ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม)

2	0.062
4	0.280
8	0.420
16	0.728
25	1.035

ภาคผนวก ก

กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโปรตีน BSA กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร โดยวิธีมาตรฐาน (standard assay) ด้วยสีเชื่อมไบโอแมค

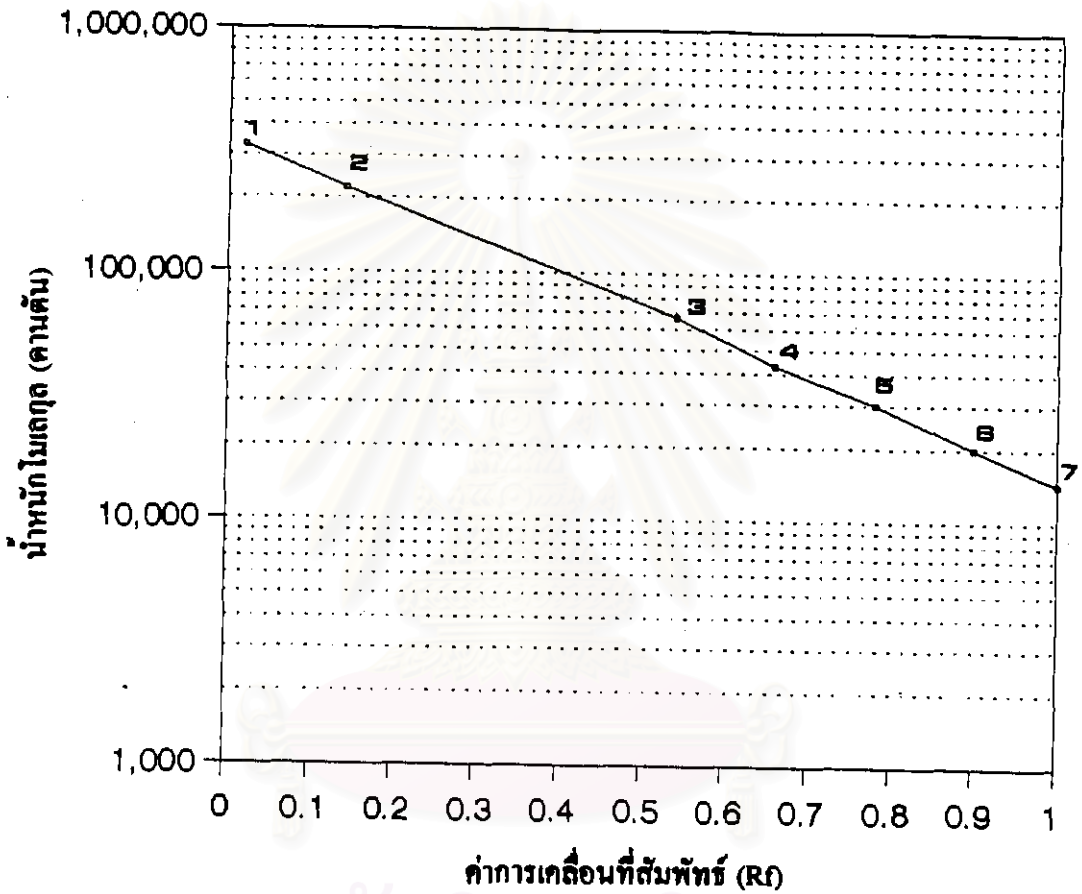


ความเข้มข้นของโปรตีนมาตรฐาน BSA      ค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร  
(ไมโครกรัมต่อมิลลิตร)

50	0.036
100	0.072
200	0.212
300	0.283
400	0.440
500	0.457
600	0.627

ภาคผนวก ง

ความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (relative mobility) กับน้ำหนักโมเลกุลของ  
โปรตีนมาตรฐาน โดยวิธีโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโทรโฟรีซิส แบบเฮตคิเอต



ชนิดของ โปรตีนมาตรฐาน	น้ำหนักโมเลกุล (ดาลตัน)	ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rf)
1 ไทโรโกลบูลิน	330,000	0.02
2 เฟอริติน	220,000	0.14
3 อัลบูมิน	67,000	0.54
4 โอวัลบูมิน	43,000	0.66
5 คาร์บอนิก แอนไฮเดรต	30,000	0.78
6 ทริปซิน อินฮิบิเตอร์	21,000	0.90
7 แอลฟา-แลคตัลบูมิน	14,400	1.00

## ภาคผนวก จ

## การเตรียมสารละลาย

## 1) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (0.2 โมลาร์)

ซึ่ง  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  28.39 กรัม และ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  35.59 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นชนิดละ 1 ลิตร จากนั้นค่อยๆ หยดสารละลาย  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ลงในสารละลาย  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  จนกระทั่งได้สารละลายที่มี pH 7.4

## 2) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาไลน์ (PBS) (0.01 โมลาร์)

ซึ่งโซเดียมคลอไรด์ 8.76 กรัม ละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.2 โมลาร์ pH 7.4 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร

## 3) สารยับยั้งเอนไซม์โปรติเอส (protease inhibitor)

ซึ่งเบนซามิดีน 1.56 กรัม กรดเซฟซีลอนอะมิโนคาร์โบริก 1.31 กรัม เบนซิลเมทิลซัลโฟนิลฟลูออไรด์ 1.74 กรัม ละลายในเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาใช้เจือจางในอัตราส่วน 1 ส่วนต่อสารละลายตัวอย่าง 10 ส่วนโดยปริมาตร

## 4) สารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว

ซึ่งแอมโมเนียมซัลเฟต 100 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องข้ามคืน นำมาปรับ pH ให้เป็น 7.2 ด้วยสารละลายแอมโมเนีย

## 5) อะคริละไมด์ 30 เปอร์เซ็นต์

ซึ่งอะคริละไมด์ 30 กรัม เมทิลทรินบิสอะคริละไมด์ 0.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร คนสารในที่มืด กรองและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

- 6) Separating gel ชนิดที่มีอะคริลาไมด์เข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20

มิลลิลิตร

ได้จากการผสมสาร

สารละลายอะคริลาไมด์เข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

สารละลายทริส-ไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 1.5 โมลาร์ pH 8.8 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

สารละลายเอสซีเอสเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร

สารละลายแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟตเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100

ไมโครลิตร

น้ำกลั่น ปริมาตร 9.7 มิลลิลิตร

TEMED ปริมาตร 10 ไมโครลิตร

- 7) Stacking gel ชนิดที่มีอะคริลาไมด์เข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ได้จากการผสม

สารละลายอะคริลาไมด์เข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1.35 มิลลิลิตร

สารละลาย ทริส-ไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 0.5 โมลาร์ pH 6.8 ปริมาตร 2.5

มิลลิลิตร

สารละลาย เอสซีเอสเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร

สารละลายแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟตเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50

ไมโครลิตร

น้ำกลั่น ปริมาตร 6 มิลลิลิตร

TEMED ปริมาตร 10 ไมโครลิตร

## 8) ทริส-เฮตคิเอสไกลูซีต pH 8.3 (running buffer)

ชั่งทริส-เพต 1.5 กรัม ไกลูซีต 14.4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น เดิม เฮตคิเอส เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 8.3 ด้วย HCl เข้มข้น 1 โมลาร์ จากนั้น เดิมน้ำกลั่นจนปริมาตรครบ 1 ลิตร

## 9) Sample buffer

ชั่งโบรโมฟินอลบลู 0.005 กรัม ละลายใน ทริส-ไฮโดรคลอริก เข้มข้น 0.5 โมลาร์ pH 6.8 ปริมาตร 12.5 มิลลิลิตร เดิมไกลูซีต ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เฮตคิเอส เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เดิมน้ำจนปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

## 10) สีย้อมโปรตีน (staining solution)

ชั่งคูแมสซี บริดเจียนท์ บลู อาร์ 250 5 กรัม ละลายใน เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 450 มิลลิลิตร กรดอะซิติก 100 มิลลิลิตร เดิมน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

## 11) น้ำยาล้างสีย้อมโปรตีน (destaining solution )

ผสม เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร กรดอะซิติก ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เดิมน้ำกลั่นปริมาตร 450 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

## 12) สารละลายฟอสเฟตซีเตรทบัฟเฟอร์ (0.15 โมลาร์ pH 5.0)

ชั่งกรดซิตริก 31.5 กรัม และ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  21.3 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นชนิดละ 1 ลิตร จากนั้นหยดกรดซิตริก ลงใน  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  จนกระทั่งได้ pH 5.0

## 13) สารละลายตัวเสตรท OPD

ชั่งตัวเสตรท OPD 0.04 กรัม ละลายในฟอสเฟตทรีคราทบัฟเฟอร์ (0.15 โมลาร์ pH 5.0) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ก่อนใช้เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน เติมน้ำในขวดสีชา



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### ประวัติผู้เขียน

นางทรงจันทร์ กุ๋ทอง เกิดเมื่อวันที่ 13 กรกฎาคม 2507 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานครสำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา (ศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน) ในปีการศึกษา 2529 เข้าทำงานในโรงพยาบาลรามาริชคดี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ในปี 2529 และ สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี 2534 เข้าศึกษาคณะหลักสูตร วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2536



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย