ต้นฉบับ หน้าขาดหาย

ต้นฉบับ หน้าขาดหาย

ต้นฉบับ หน้าขาดหาย

ต้นฉบับ หน้าขาดหาย

ภาคผนวก

การเตรียมน้ำยา, สารเคมีในงาน ELISA

Buffer และ Solutions

1. **Coating buffer: 0.05 M carbornate-bicarbornate buffer, pH 9.6**

$NaHCO_3$	1.26	g
DW	300	ml

จากนั้นปรับค่า pH ให้ได้เท่ากับ 9.6 ด้วย 0.05M Na_2CO_3

0.05M Na_2CO_3

Na_2CO_3	0.53	g
DW	100	ml

2. **Wasting buffer: 0.05% Tween 20 in 0.01M PBS, pH 7.4**

NaCl	8	g
KH_2PO_4,	0.2	g
Na_2HPO_4	1.15	g
KCl	0.2	g
DW to	1,000	ml
จากนั้นเติมด้วยสาร Tween 20	0.5	g

3. **Blocking Solution: 1% BSA in PBS, pH 7.4**

BSA	1	g
0.01M PBS, pH 7.4	100	ml

4. **Diluent: washing buffer contains 0.1% bromphenol blue**

5. **Substrate buffer: 0.1 M citrate buffer, pH 4.5**

trisodium citrate ($Na_2C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$)	2.94	g
citric acid monohydrate ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$)	2.1	g

จากนั้นปรับค่า pH ให้ได้เท่ากับ 4.5 ด้วย 0.1 N HCl จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุทธิ 100 ml เก็บ buffer ไว้ที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C

6. **Substrate Solution**

ABTS	0.006	g
0.1M citrate buffer	20	ml
H_2O_2 (30%)	20	µl

การเตรียมน้ำยา, สารเคมีในงาน SDS-PAGE

1. **Acrylamide: Bis-acrylamide solution (30% T, 2.6% C)**

   เตรียมสารละลายโดยการทำการละลาย สารเคมีดังต่อไปนี้

acrylamide	30	g
N, N-methylene-bis-acrylamide	0.8	g
DW up to	100	ml

   เติม Whatman No.1 หุ้มด้วยกระดาษแล้วเก็บในขวดทึบแสงที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C

2. **1.5 M Tris-HCl buffer, pH 8.8**

Tris (Hydroxymethyl aminomethane)	18.15	g
DW up to	50	ml

   จากนั้นปรับค่า pH ให้ได้ 8.8 ด้วย 0.1 N HCl จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุทธิ 100 ml ด้วย DW

3. **0.5 M Tris-HCl buffer, pH 6.8**

Tris (Hydroxymethyl aminomethane)	6.05	g
DW up to	50	ml

   จากนั้นปรับค่า pH ให้ได้ 6.8 ด้วย 0.1 N HCl จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุทธิ 100 ml ด้วย DW

4. **10% Sodium dodecyl sulfate (SDS)**

   ละลาย SDS 10 g ให้ได้ปริมาตรสุทธิ 100 ml ด้วย DW แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

5. **10% Aminonium persulfate solution**

aminonium persulfate	1	g
DW up to	50	ml

   เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C

6. **N, N, N', N'-tetra methylene diamine (TEMED) commercially prepared**

Buffers

1. Electrode buffer (Tris-glycine buffer) pH 8.3

Tris	3.03	g
Glycine	14.40	g
SDS	1	g
DW up to	1,000	ml

เก็บที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C

2. Sample buffer หรือ denaturing buffer (3x)

0.5 M Tris-HCl pH 6.8	18.75	g
SDS	6.90	g
2-mercaptoethanol	15	ml
Glycerol	30	ml
0.5% Bromphenol blue	3	ml
DW up to	100	ml

ทำการละลายให้ได้ Sample buffer (1.5x) โดยเจือจางด้วย DW ในปริมาตรที่เท่ากัน

Staining และ Destaining

Coomassie blue R-250

Staining solution

Coomassie blue	2.5	g
Acetic acid	25.00	ml
Methanol	200.00	ml
Glycerol	12.50	ml
DW	250.00	ml

Destaining solution

Acetic acid	50.00	ml
Methanol	300.00	ml
Glycerol	50.00	ml
DW	600.00	ml

การเตรียมน้ำยา, สารเคมีในงาน Western Blot

1. **Transfer buffer, pH 8.3**

Tris	3.03	g
Glycine	14.40	g
Methanol (20%)	200	ml
DW up to	1,000	ml

เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

2. **Washing solution: T-PBS**
3. **Blocking solution**

gelatin	2	g
0.01 M PBS, pH 7.4	100	ml
sodium azide (NaN_3)	0.04	g

4. **Diluent: T-PBS**
5. **Substrate solution**

2, 6-dichlorophenol-indophenol	0.1	g
0.01 M PBS, pH 7.4	50	ml
30% (H_2O_2)	10	µl

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวมัทนียา ภัทรธีรฉัตร เกิดวันที่ 9 พฤษภาคม พ.ศ. 2521 จังหวัดนครราชสีมา สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีจากคณะเทคนิคการแพทย์ สาขา เทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัย ขอนแก่น ในปีการศึกษา 2541 และเข้ารับการศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาปรสิตวิทยาทางการแพทย์ ณ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อภาคการศึกษาต้น ปีการศึกษา 2545