# บทที่ 3

## วัสดุและอุปกรณ์

1. เชื้อมาลาเรียชนิด ***P.vivax*** จำนวน 15 ไอโซเลต ได้แก่ TD403, TD414, TD424, TD425, TD430, TD438, TD439, TD452, TD458, TD183, TD201 และ TD207 ได้จากผู้ป่วยมาลาเรีย จังหวัดตราด T117 และ T128 ได้จากผู้ป่วยมาลาเรียจังหวัดตาก และ V100 ได้จากผู้ป่วยที่มาตรวจรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

2. ***Escherichia coli*** สายพันธุ์มาตรฐาน JM109 ซึ่งมีลักษณะทางพันธุกรรมดังนี้ *rec* A1 *sup* E44 *end* A1 *hsd* R17 *gyr* A96 *rel* A1 *thi* Δ(*lac-pro* AB)

3. **Phagemid Vector (pUC119)**

4. เครื่องมือ

4.1 วัสดุ

กระจกสไลด์ (glass slide) ขนาด 2.5 X 7.5 cm

กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 3

กระบอกฉีดน้ำ

กระบอกฉีดยาและเข็มฉีดยาขนาด 3 ml

กระบอกตวง ขนาด 10 ml, 50 ml, 100 ml และ 1,000 ml (Pyrex)

กล่องพลาสติก

เข็มเขี่ยเชื้อ

ขวดแก้วสำหรับใส่สารเคมี ขนาด 300 ml, 500 ml 1,000 ml (Duran)

ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask, Pyrex)

จานสำหรับเลี้ยงเชื้อ (culture plate, Falcon) ขนาด 60 X

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

10 mm
ตะเกียงแอลกอฮอล์
ถุงพลาสติก
ถุงมือยาง (latex gloves)
ที่วางหลอดทดลอง สำหรับหลอดขนาด 0.5 ml และ 1.5 ml
เทปพลาสติกสำหรับปิดกระจก (electrical tape, 3M)
แท่งแก้วสำหรับคน
เทอร์โมมิเตอร์
บีกเกอร์ ขนาด 10 ml, 50 ml, 100 ml, 200 ml, 500 ml, 1,000 ml และ 4,000 ml (Pyrex)
ปิเปตต์ทิพ (pipette tip) ขนาด 10 µl, 100 µl และ 1,000 µl
ปิเปตต์วัดปริมาณ ขนาด 1, 5, 10 และ 100 ml
แผ่นพลาสติกอย่างบาง (plastic wrap)
พาราฟิล์ม (parafilm)
พาสเจอร์ปิเปตต์
ฟิล์มโพลารอยด์ (polaroid film)
ฟิล์ม X-ray
ไม้จิ้มฟัน
ลูกยาง
สายยาง
สำลี
หลอดทดลอง ขนาด 15 ml
หลอดทดลองขนาดเล็กชนิดมีฝาปิด(microtube) ขนาดความจุ 0.5 ml
และ 1.5 ml

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2 อุปกรณ์

กล่องไฟสำหรับล้างฟิล์ม

กล่องไฟสำหรับอ่านฟิล์ม

กล้องจุลทรรศน์

เครื่องกำเนิดไฟฟ้าขนาดแรงเคลื่อนไฟฟ้า 250 และ 3,000 V (BioRad)

เครื่องเขย่าสารความเร็วสูง (vortex, Scientific Industry)

เครื่องควบคุมอุณหภูมิและเวลาอัตโนมัติ (autometic thermal cycler, Techne)

เครื่องดูดสุญญากาศ (vacuum pump, BioRad) พร้อมอุปกรณ์ดักไอระเหย (vapor trap, BioRad)

เครื่องชั่งละเอียดอ่านได้ทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Bosch)

เครื่องทำให้ gel แห้ง (gel dryer, BioRad)

เครื่องปั่นความเร็วสูงที่ควบคุมอุณหภูมิได้ (high speed refrigerated microcentrifuge, Tomy)

เครื่องแยกแถบ DNA โดยกระแสไฟฟ้า (submarine electrophoresis chamber, CBS)

เครื่องวัดความเป็นกรด ด่าง (pH meter, Corning)

ชุดอุปกรณ์สำหรับการขนถ่ายดีเอ็นเอ (Vacuum blotter & Vacuum pump, BioRad)

ชุดอุปกรณ์สำหรับแยกแถบ DNA ด้วยกระแสไฟฟ้า

ตู้ปลอดเชื้อ (biological safety cabinet, NuAire)

ตู้เย็น 4 °C (Hitachi)

ตู้เย็น -20 °C (Puffer Hubbard)

ตู้เย็น -80 °C (Forma Scientific)

ตู้เลี้ยงเชื้อพร้อมเครื่องเขย่า (shaker incubator, Taitec)

ตู้อบสำหรับเพาะเชื้อ (incubator, Precision)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตู้อบแห้ง (hot air oven, Memmert)

ถาดล้างฟิล์ม

ไมโครปิเปตต์อัตโนมัติ(automatic adjustable micropipette, Eppendorf) ขนาดใช้ตวงปริมาณ 1 ถึง 10 µl, 10 ถึง 100 µl และขนาด 100 ถึง 1,000 µl

หน้ากากกันแสงอุลตร้าไวโอเล็ต (UV-absorbing face shield)

หม้อนึ่งปลอดเชื้อภายใต้ความดันและอุณหภูมิสูง (autoclave, Hirayama)

แหล่งกำเนิดแสงอุลตร้าไวโอเล็ตความยาวคลื่น 312 nm (UV transilluminator, Spectroline)

อุปกรณ์ชุดถ่ายภาพโพลารอยด์ (polaroid camera, MP-4 land camera)

**5. สารเคมี**

5.1 สารเคมีทั่วไป

absolute ethanol (Merck)

absolute methanol (Merck)

acetic acid (Merck)

acrylamide (BioRad)

agarose (Nuseive)

agarose, low gelling temperature (Nuseive)

ammonium persulfate (BioRad)

ampicillin (Takeda)

bacto agar (Difco)

bacto tryptone (Difco)

bis-acrylamide (BioRad)

boric acid (Sigma)

5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galactoside (X-gal)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(Amresco)

bromophenol blue (Promega)

calcium chloride (Sigma)

chloroform (Amresco)

developer for X-ray film (Kodak)

disodium ethylenediamine tetracetic acid (EDTA)
(Sigma)

double distilled water

ethidium bromide (Sigma)

ficoll, type 400 (Promega)

fixer for X-ray film (Kodak)

giemsa stain (Merck)

glucose (Sigma)

glycerol (Sigma)

hydrochloric acid (Merck)

isoamyl alcohol (Amresco)

isopropylthio-β-D-galactoside (IPTG)(Promega)

mineral oil (Sigma)

N,N,N',N'-Tetra-methylethylenediamine (TEMED)
(BioRad)

phenol, saturated (Amresco)

polyethylene glycol, M.W. 6,000 (Sigma)

potassium chloride (Sigma)

potassium dihydrogen phosphate (Merck)

sodium acetate (Sigma)

sodium bicarbonate (Merck)

sodium chloride (Sigma)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

sodium dodecyl sulfate (sigma)

sodium hydroxide (Sigma)

sodium phosphate (Sigma)

saponin (Sigma)

sigmacote (Sigma)

tris hydroxymethyl aminomethane (Sigma)

urea (BioRad)

xylene cyanol FF (Promega)

yeast extract (Difco)

5.2 สารเคมีที่เป็น Reagent Kit

ECL-oligonucleotide labelling system (Amersham)

fmole™ DNA sequencing system (Promega)

Gene Clean II kit (BIO 101)

PCR kit (Perkin Elmer Cetus)

Sequenase kit version 2.0 (USB)

5.3 เอ็นไซม์

*Bam*H I (Promega)

*Bcl* I (Promega)

*Hind* III (Promega)

lysozyme (Sigma)

proteinase K (Amresco)

ribonuclease (Promega)

*Taq* polymerase (Perkin Elmer)

T4 DNA ligase (Promega)

**6. สารกัมมันตภาพรังสี**

$^{35}S$ $\alpha$ dATP, >1,000 Ci/mmole (Amersham)

$^{32}P$ $\gamma$ dATP, >1,000 Ci/mmole (Amersham)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย