

วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมี

3.1 ตัวอย่างเลือด

ตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยที่มีการเจริญเติบโตช้าผิดปกติจากการขาดฮอร์โมนเติบโตจำนวน 19 ราย สมาชิกครอบครัวผู้ป่วย 20 รายและคนปกติอีก 10 ราย จำนวนรวมทั้งสิ้น 49 รายๆ ละ 10 มิลลิลิตร

(12 ครอบครัว เป็น ชาย 19 คน หญิง 20 คน และคนปกติ 10 คน)

3.2 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	ชื่อบริษัท
absolute ethanol	Merck
acrylamide	Sigma
agarose	Sigma
ammonium acetate	Sigma
ammonium persulfate (APS)	Sigma
boric acid	amresco
bromophenol blue	Sigma
chloroform	Merck
dNTPs	pharmacia
ethidium bromide	Sigma
ethylenediamine tetra-acetic acid	Sigma
glycerol	Sigma
guanidine HCl	Sigma
isopropanol	Sigma
magnesium chloride	Sigma
mineral oil (molecular grade)	Sigma
γ -P ³²	Amersham

SDS (sodium dodecylsulfate)	Gibco BRL
TEMED (N, N, N', N' - tetramethyl ethylene diamine)	Sigma
Trisma-base (tris (hydroxymethyl) amine methane)	Sigma
Xylene cyanol	Sigma

3.3 เอ็นไซม์

ชื่อเอ็นไซม์	ชื่อบริษัท
Proteinase K	Amersco
Taq DNA polymerase	Gibco BRL
<i>Bgl</i> I	Bio Labs
<i>Fok</i> I	Bio Labs
<i>Hae</i> II	Bio Labs
<i>Sma</i> I	Bio Labs

3.4 molecular weight DNA marker

- λ *Hind* III
- ϕ X 174 RF *Hae* III
- 10 kb marker
- 100 bp ladder

3.5 อุปกรณ์

- กระดาษพาราฟิล์ม
- หลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร
- auto pipette (p2 - p1000)
- steriled tip pipette
- ปีกเกอร์
- rack ใส่หลอดทดลอง
- ถุงมือยาง

- หลอด microfuge ขนาด 1.5 และ 0.5 มิลลิลิตร
- pipette ปลอดเชื้อ ขนาด 5 - 10 มิลลิลิตร
- 3 MM paper (Whatman)
- Polaroid 667 film
- X-ray film
- กลักฟิล์ม (cassette)

3.6 เครื่องมือ

ชื่อเครื่องมือ	ชื่อบริษัท
Acrylamide gel set (Mini - PROTEAN II cell)	BIO - RAD
Agarose gel set model HF99 และ model HE33	Hofer
Centrifuge (Labofuge 200)	Heraeus
DNA thermal cycler 480	Perkin Elmer
Geiger counter	
Microcentrifuge (FOTODYNE)	GIBTHAI
Microprocessor Controlled Electrophoresis	GIBTHAI
Reciprocal Shaking Bath Model 25	PRECTIONS
Spectrophotometer (Shimadzu UV 160)	Shimadzu
UV transilluminator (Foto/prep II)	Fotodyne
Vortex genie 2 TM model G580	Scientific Ind
Sequencing gel set model Sz	BRL
Gel dryer	

3.7 ชุดเครื่องมือสำเร็จรูป (Kit)

- PCR kit (QIAGEN)
- QIA quick PCR Purification kit
- BRL Cycle Sequencing kit

3.8 โอลิโกนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์ (Oligonucleotide primer)

GH # 210	5' - GGA TCC AGC CTC AAA GAG CTT AC - 3'
GH # 211	5' - GAA TTC CCA GAG CCT TGA GCA ATG GA - 3'
GH # 16	5' - GAA GGA CGG GCA TTG GCT GTG CT - 3'
GH # 35	5' - GTA ACA ATG GGA GCT GGT CTC CAG - 3'
GH # 11	5' - CCA GCA ATG CTC AGG GAA AG - 3'
GH # 2a	5' - TGT CCC ACC GGT TGG GCA TGG CAG GTA GCC - 3'
GH # 32	5' - CTC CTG CTG GTA TAG TTA TT - 3'
GH # 33	5' - TTC TCT CTA GTG GTC AGT GA - 3'
GH # 27	5' - CAG GAC TGA ATC GTG CTC AC - 3'
GH # 39	5' - TAT CTC TGG CTG ACA CTC TGT GC - 3'
GH # 41	5' - GAA CCA CTC AGG GTC CTG TG - 3'
GH # 43	5' - CCC TCT GTT GCC CTC TGG TT - 3'
GH # 3	5' - CTG GGA AAT AAG AGG AGG AGA CT - 3'
GH # 37	5' - CTC AGA GTC TAT TCC GAC ACC CT - 3'
GH # 47	5' - GCC TCT GAC AGC AAC GTC TA - 3'
GH # 49	5' - GCA GAC CTA CAG CAA GTT CG - 3'

3.9 Reagents

0.2 M EDTA

Solution A

Proteinase K

10% SDS

Guanidine HCl

TBE Buffer

Gel Loading Buffer

Ethidium Bromide

APS

NE Buffer 4 (Bio Labs)

purified BSA 100 x (Bio Labs)

One - Phor - All Buffer (Bio Labs)

(รายละเอียดวิธีเตรียมอยู่ในภาคผนวก)



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย