

ภาคผนวก ก

1 การเตรียมสารละลายและบัฟเฟอร์

1.1 การเตรียม 1,9 dimethylmethylene blue reagent

สารละลายประกอบด้วย 1,9 dimethylmethylene blue chloride pure 16 มิลลิกรัม, glycine 3.04 กรัม, NaCl 2.37 กรัม และ 0.1 M HCl 95 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร, ปรับ pH เท่ากับ 3.0

1.2 การเตรียมคาโคดีเลทบัฟเฟอร์

NaCacodylate จำนวน 1.07 กรัม, CaCl₂ จำนวน 0.37 กรัม, MgCl₂ จำนวน 5.08 กรัม, ละลายในน้ำกลั่น จำนวน 500 มิลลิลิตร ปรับ pH เท่ากับ 7.0

1.3 การเตรียม K-199

การเตรียม M-199 (Gibco)

ใช้ M-199 จำนวน 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น จำนวน 500 มิลลิลิตร (2X) แล้วเติม NaHCO₃ จำนวน 2.2 กรัม

การเตรียม K-199

ส่วนผสมประกอบด้วย

M-199 ที่ยังไม่ปรับ pH จำนวน 50 มิลลิลิตร,

salt mixture จำนวน 10 มิลลิลิตร (0.05 M KCl, 0.12 M MgSO₄ · 7H₂O,

0.16 M MgCl₂ · 6H₂O, 4.16 M NaH₂PO₄ · 2H₂O)

1.88 M NaCl จำนวน 10 มิลลิลิตร

0.06 M CaCl₂ · 2H₂O จำนวน 10 มิลลิลิตร

0.1 M L- glutamine จำนวน 1 มิลลิลิตร

10 M HEPES ใน K-199

น้ำกลั่น 19 มิลลิลิตร ปรับ pH เท่ากับ 7.3-7.6 และกรองด้วยเมมเบรน ขนาด 0.45 ไมครอน

1.4 การเตรียม KC-199

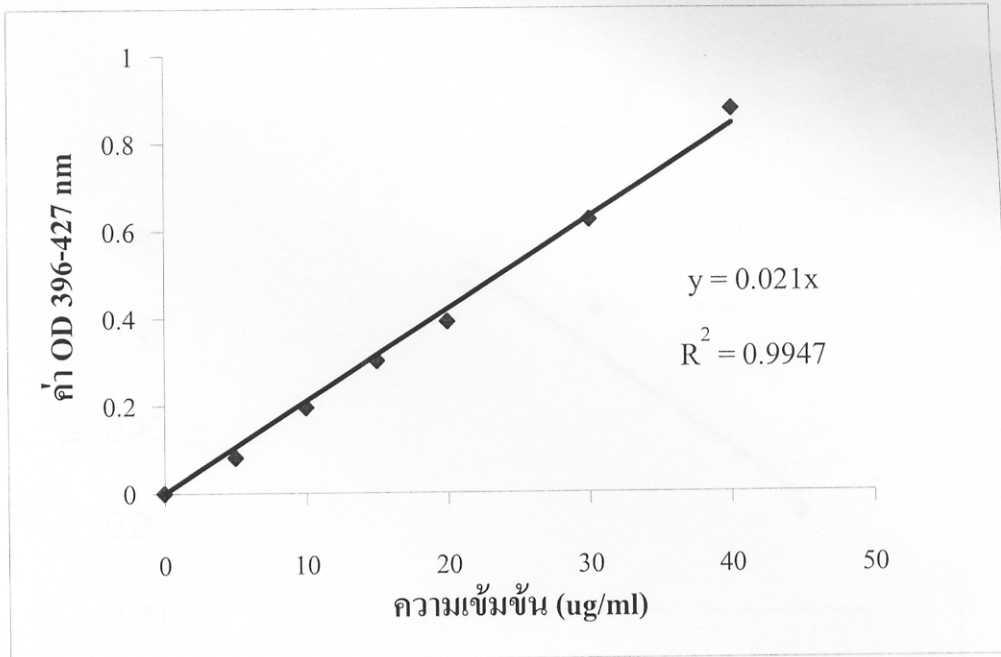
ใช้ K-199 ผสมกับ 3% L-Cysteine เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของ เลือด

2 การเตรียมสีย้อมน้ำตาล PAS

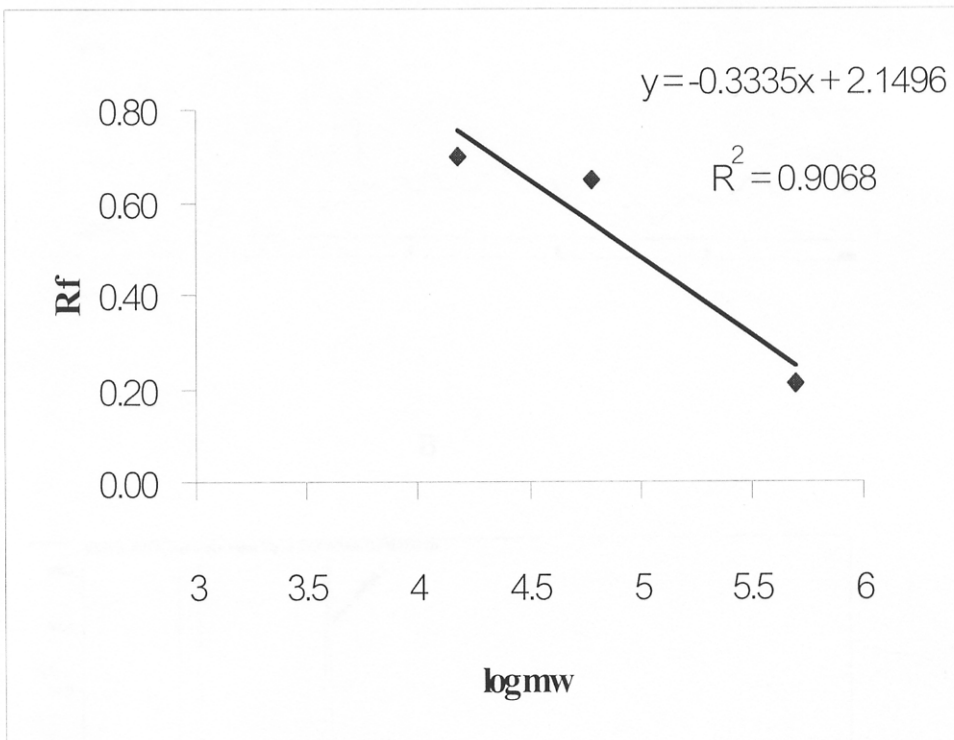
ละลาย Basic fuchsin จำนวน 1 กรัม ในน้ำกลั่น จำนวน 80 มิลลิลิตรเติม $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ จำนวน 1.9 กรัม หรือ NaHSO_3 จำนวน 2 กรัม, และ 20 มิลลิลิตร 0.1 N HCl เขย่านาน 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติม Charcoal 500 มิลลิกรัม นำไปเขย่าอีก 1 ครั้ง นาน 1 นาที นำมากรองด้วยกระดาษกรองสามารถเก็บไว้ได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ข

1. กราฟมาตรฐานของน้ำตาล fucose

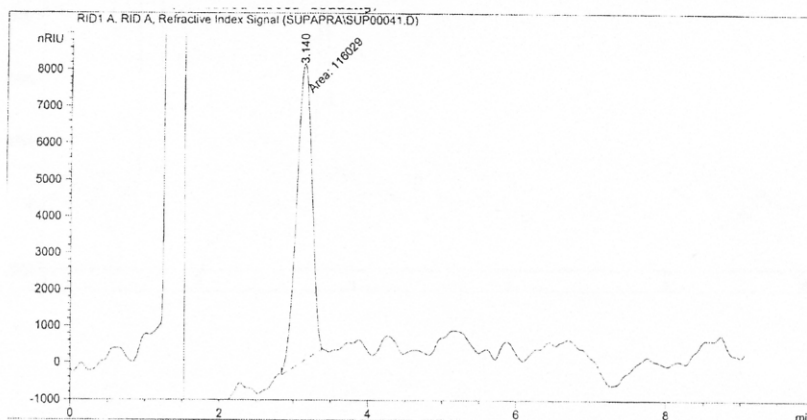


2. กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง \log น้ำหนักโมเลกุลของ sulfate polysaccharide มาตรฐานคือ Chondroitin sulfate A (mw 15 kDa), Chondroitin sulfate C (mw 60 kDa) และ Dextran sulfate (mw 500 kDa) กับการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rf) ใน 0.7 % agarose

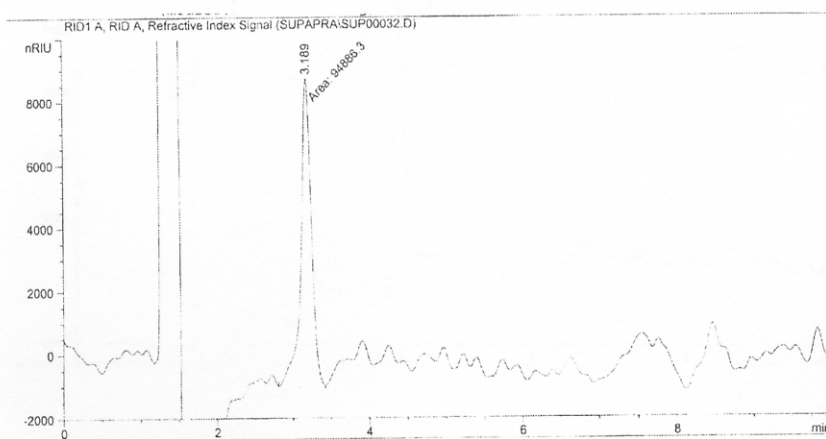


3. แสดงน้ำตาลมาตรฐานที่แยกได้โดยวิธี HPLC ประกอบด้วยน้ำตาล (A) fucose , (B) xylose, (C) arabinose, (D) mannose และ (E) galactose

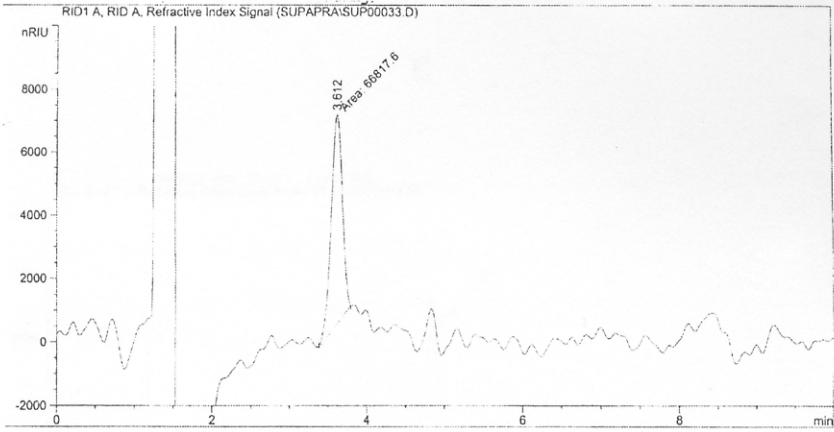
A



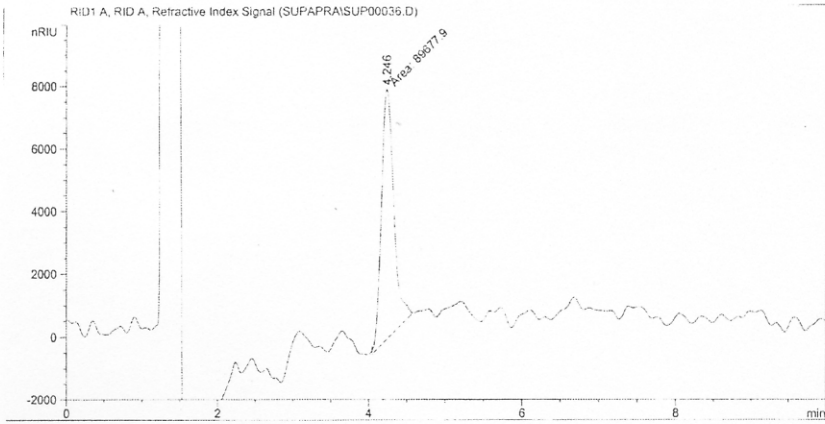
B



C



D



E

