ตารางภาคผนวกที่ 1 ค่าเฉลี่ยปริมาณการแสดงออกของของพาร์วัลบูมินในหัวใจหนู

Descriptives

VOLUME

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1=new born	6	.16183	3.9382E-02	1.61E-02	.12050	.20316	.126	.237
2= 3 month	6	.16367	2.8563E-02	1.17E-02	.13369	.19364	.131	.201
3= 6 month	6	.21733	4.7513E-02	1.94E-02	.16747	.26719	.145	.274
4= 12 month	6	.24550	5.5738E-02	2.28E-02	.18701	.30399	.158	.299
Total	24	.19708	5.4905E-02	1.12E-02	.17390	.22027	.126	.299

ตารางภาคผนวกที่ 2 ทดสอบความแตกต่างของการแสดงออกของพาร์วัลบูมินในแต่ละกลุ่มอายุ

ANOVA

VOLUME

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.068E-02	3	1.023E-02	5.291	.008
Within Groups	3.866E-02	20	1.933E-03		
Total	6.934E-02	23			

ตารางภาคผนวกที่ 3 เปรียบเทียบความแตกต่างของการแสดงของพาร์วัลบูมินในแต่ละกลุ่มอายุ

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VOLUME

LSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1=new born	2= 3 month	-1.8333E-03	2.54E-02	.943	-5.47794E-02	5.1113E-02
	3= 6 month	-5.5500E-02*	2.54E-02	.041	-.10845	-2.55391E-03
	4= 12 month	-8.3667E-02*	2.54E-02	.004	-.13661	-3.07206E-02
2= 3 month	1=new born	1.8333E-03	2.54E-02	.943	-5.11128E-02	5.4779E-02
	3= 6 month	-5.3667E-02*	2.54E-02	.047	-.10661	-7.20575E-04
	4= 12 month	-8.1833E-02*	2.54E-02	.004	-.13478	-2.88872E-02
3= 6 month	1=new born	5.5500E-02*	2.54E-02	.041	2.5539E-03	.10845
	2= 3 month	5.3667E-02*	2.54E-02	.047	7.2057E-04	.10661
	4= 12 month	-2.8167E-02	2.54E-02	.280	-8.11128E-02	2.4779E-02
4= 12 month	1=new born	8.3667E-02*	2.54E-02	.004	3.0721E-02	.13661
	2= 3 month	8.1833E-02*	2.54E-02	.004	2.8887E-02	.13478
	3= 6 month	2.8167E-02	2.54E-02	.280	-2.47794E-02	8.1113E-02

*. The mean difference is significant at the .05 level.

สารเคมีและขั้นตอนการเตรียม

1. การเตรียม 0.1 M Tris-phosphate buffer

สารเคมี

Tris base	25	g
$Na_2HPO_42H_2O$	6	g
$NaH_2PO_42H_2O$	1.25	g
NaCl	35	g

วิธีการเตรียม

ตวงสารเคมีตามปริมาตรข้างต้นในน้ำกลั่นและแล้วจึงนำไปปรับ pH 7.6 และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั้นให้ได้ 5,000 ml

2. การเตรียม 0.1 M Tris-phosphate buffer containing 0.3% Triton X-100

สารเคมี

0.1 M Tris-phosphate buffer	300	ml
Triton X-100	900	µl

วิธีการเตรียม

เติม Triton X-100 ตามปริมาตราข้างต้นลงใน 0.1 M Tris-phosphate buffer

3. การเตรียม Sodium dodecyl sulfate(SDS) electrophoresis buffer

สารเคมี

Tris base	3.03	g
Glycine	14.4	g
Sodium dodecyl sulfate	1	g

วิธีการเตรียม

เตรียมสารเคมีตามปริมาณข้างต้นและเติมน้ำ De-ionized water ให้ได้ปริมาตร 1,000 ml

4. การเตรียม 10 % Sodium dodecyl sulfate(SDS) polyacrylamide stack gel

สารเคมี

stack gel buffer	1	ml
acrylamide	528	µl

10 % SDS solution	40	µl
10 % Ammonium persulphate	20	µl
TEMED	4	µl
De-ionized water	2.408	ml

วิธีการเตรียม

เตรียมสารเคมีตามปริมาณข้างต้นและรอเจลโพริเมอร์ไรด์เซชั่น 20 นาที

5. การเตรียม 10 % Sodium dodecyl sulfate(SDS) polyacrylamide resolving gel

สารเคมี

Stack gel buffer	1	ml
Acrylamide	2.64	ml
10 % SDS solution	80	µl
10 % Ammonium persulphate	40	µl
TEMED	4	µl
Mili Q water	3.24	ml

วิธีการเตรียม

เตรียมสารเคมีตามปริมาณข้างต้นและรอเจลโพริเมอร์ไรด์เซชั่น 20 นาที

6. การเตรียม Transfer buffer

สารเคมี

Tris base	3.03	g
Glycine	14.4	g
Methanol	200	ml

วิธีการเตรียม

เตรียมสารเคมีตามปริมาณข้างต้นและเติม De-ionized water ให้ได้ปริมาตร 1,000 ml

7. การเตรียม Tris buffer saline with tween 20 (TST)

สารเคมี

5 M NaCl	30	ml
1 M Tris pH 8	10	ml
Tween 20	1	ml

วิธีการเตรียม

เตรียมสารเคมีตามปริมาณข้างต้นและเติม De-ionized water ให้ได้ปริมาตร 1,000 ml

8. การเตรียม Tris buffer saline (TBS)

สารเคมี

5 M NaCl	30	ml
1 M Tris pH 8	10	ml

วิธีการเตรียม

เตรียมสารเคมีตามปริมาณข้างต้นและเติมน้ำ De-ionized ให้ได้ปริมาตร 1,000 ml

9. การเตรียม Lysis buffer สำหรับเตรียมตัวอย่าง Western blotting

สารเคมี

0.1 M Sodium pyrophosphate	4	ml
0.5 M Sodium fluoride	1	ml
10 % Sodium deoxycholate	500	µl
1 M Tris pH 8	200	µl
0.5 M EGTA	200	µl
Triton X-100	100	µl
100 mM PMSF	100	µl
1 M Mannesium chloride	50	µl
0.1 M Sodium vanadate	10	µl
De-ionized water	3.8	ml
Leupeptin	2	µl
Apotinin	10	µl

วิธีการเตรียม

เตรียมสารเคมีตามข้อ 9.1-9.10 แล้วจึงนำสารละลายที่ได้จากการเตรียมขั้นต้นจำนวน 1 ml มาเติมสารเคมีในข้อ 9.11 และ 9.12

10. การเตรียม Laemmli Sample Buffer

สารเคมี

Laemmli Sample Buffer	950	µl
β-mercaptoethanol	50	µl

วิธีการเตรียม

เตรียมสารเคมีตามปริมาณข้างต้นและนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซียลเซียส นาน 10 นาที

11. การเตรียม Tespa-coated slide

สารเคมี

70 % Alcohal	500	ml
Dry Acetone	500	ml
Tespa	2	ml
น้ำกลั่น	750	ml

วิธีการเตรียม

แช่แผ่นสไลด์ใน 70 % Alcohal นาน 2 ชั่วโมง แล้วนำมาเช็ดให้สะอาด หลังจากนั้นนำไปอบให้แห้ง 30 นาที นำสไลด์แช่ใน Dry Acetone 30 วินาที 2 ครั้ง แล้วจึงนำไปแช่น้ำกลั่น 30 วินาที 2 ครั้ง แล้วนำไปอบให้แห้ง 12-15 ชั่วโมง

12. การเตรียม 0.1 % Coomissie Blue R 250 Straining solution

สารเคมี

Coomissie Blue R 250	1	g
Methanol	400	ml
Acetic acid	100	ml
De-ionized water	500	ml

วิธีการเตรียม

เตรียมสารเคมีตามปริมาณข้างต้น

13. การเตรียม Destraining solution

สารเคมี

Methanol	400	ml
Acetic acid	100	ml
De-ionized water	500	ml

วิธีการเตรียม

เตรียมสารเคมีตามปริมาณข้างต้น