

ภาคผนวก

1. Normal saline 0.85%

NaCl	8.5	กรัม
น้ำกลั่น (distilled water)	1000	มิลลิลิตร

2. Tris-buffer saline solution (TBS)

Tris	3.03	กรัม
NaCl	29.22	กรัม
Distilled water	800	มิลลิลิตร
ปรับ pH ให้ได้ 7.5 แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1000	มิลลิลิตร	

3. Wash buffer (TTBS)

TBS	1000	มิลลิลิตร
Tween-20	700	ไมโครลิตร

4. Triton X-100 in TBS

TBS	500	มิลลิลิตร
Triton X-100	250	ไมโครลิตร

5. 4-chloro-1-Naphthol (4C1N) tablet

เตรียม stock solution

เตรียม 0.3% 4-chloro-1-Naphthol โดยละลาย 4-chloro-1-Naphthol tablet ใน methanol 10 มิลลิลิตร

stock solution	0.6	มิลลิลิตร
TBS	10	มิลลิลิตร
30% H ₂ O ₂	2	ไมโครลิตร

เก็บให้พ้นแสงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

6. 0.15 M Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7.2

Na ₂ HPO ₄	8.094	กรัม
KH ₂ PO ₄	2.448	กรัม
NaCl	4.400	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

7. 2.5% Glutaraldehyde

25% glutaraldehyde	50	ไมโครลิตร
Normal saline steriled (NSS)	450	ไมโครลิตร

8. Diluent Buffer for IHA (0.5% BSA, 0.1% NaN₃ ; 0.5% Bovine Serum Albumin, 0.1% Sodium Azide)

PBS	100	มิลลิลิตร
BSA	0.5	กรัม
Sodium azide	0.1	กรัม

9. การเตรียม stock 30% T, 2.7% C Acrylamide

Acrylamide	29.2	กรัม
Bisacrylamide	0.8	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

กรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร (µm) เก็บใส่ขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บได้นาน 1 เดือน

10. Stock sample buffer (เก็บที่อุณหภูมิห้อง)

น้ำกลั่น	4.8	มิลลิลิตร
0.5 M Tris-HCl, pH 6.8	1.2	มิลลิลิตร
10% SDS	2.0	มิลลิลิตร
Glycerol	1.0	มิลลิลิตร
0.5% Bromophenol blue (w/v)	0.5	มิลลิลิตร

เมื่อจะทำเติม 2- mercaptoethanol 50 ไมโครลิตร ต่อ stock sample buffer 0.95 มิลลิลิตร

11. 10% Ammonium persulfate (APS) เตรียมก่อนใช้

น้ำกลั่น	1	มิลลิลิตร
APS	0.1	กรัม

12. 5X electrode (running buffer) pH 8.3

Trisbase	9	กรัม
Glycine	43.2	กรัม
SDS	3	กรัม
น้ำกลั่น	600	มิลลิลิตร

เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อจะใช้ให้นำมาตั้งที่อุณหภูมิห้อง โดยนำ 5X electrode buffer มา 60 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น Milli Q 240 มิลลิลิตร

13. สารย้อมโคมาสซีบลู (coomassie blue R 250 G)

13.1 สารละลาย coomassie blue R 250 G

Coomassie brilliant blue R-250	25	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
Gracial acetic acid	50	มิลลิลิตร
Methanol	200	มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ	500	มิลลิลิตร

13.2 Destain I (เก็บที่อุณหภูมิห้อง)

น้ำกลั่น	425	มิลลิลิตร
Methanol	500	มิลลิลิตร
Gracial acetic acid	75	มิลลิลิตร

13.3 Destain II (เก็บที่อุณหภูมิห้อง)

น้ำกลั่น	875	มิลลิลิตร
Methanol	50	มิลลิลิตร
Gracial acetic acid	75	มิลลิลิตร

14. 1.5 M Tris-HCl pH 8.8

Tris-HCl	18.165	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
ปรับ pH ให้ได้ 8.8		

15. 0.5 M Tris-HCl pH 6.8

Tris-HCl	6.055	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
ปรับ pH ให้ได้ 6.8		

16. 0.5% Bromophenol Blue (w/v)

Bromophenol Blue	0.25	กรัม
น้ำกลั่น	50	มิลลิลิตร

17. การย้อมสี Wright's stain

1. หยด Wright's stain ลงบนสไลด์ที่เตรียมไว้ประมาณ 20 หยด
2. ทิ้งไว้ 4 นาที
3. หยดบัฟเฟอร์ลงบนสไลด์ให้ท่วม เปาเบาๆ ผสมให้เข้ากันดี ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที
4. ล้างออกด้วยน้ำสะอาด

18. สีย้อม Yokoyama's fluid

18.1 สารละลาย A

NaCl	4	กรัม
Dextrose	1.25	มิลลิกรัม
KCl	200	มิลลิกรัม
NaHCO ₃	250	มิลลิกรัม
ฟอร์มอลิน	50	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	200	มิลลิลิตร

18.2 สารละลาย B

Methyl violet	75	มิลลิกรัม
Pyronin B	75	มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	250	มิลลิลิตร

เวลาใช้ให้นำสารละลาย A และสารละลาย B มาผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ควรกรอง
 สีส้อมทุกครั้งก่อนใช้งาน

20. Mc Farland No.3

1% BaCl	0.3	มิลลิลิตร
1% sulfuric acid	9.7	มิลลิลิตร

21. การหาปริมาณโปรตีนตามวิธีของ Lowry *et al.* (1951)

21.2 Folin-ciocalteus phenol reagent 1 N

21.1 working alkaline copper reagent

solution A.

Na_2CO_3	2	กรัม
NaOH 0.1 N	100	มิลลิลิตร

solution B.

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.5	กรัม
potassium sodium tartrate 1.0%	100	มิลลิลิตร

นำ solution A. ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมรวมกับ solution B. ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
 ก่อนนำไปใช้ทุกครั้ง

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

ใส่สารตัวอย่างที่เจือจางอย่างเหมาะสม 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย alkaline copper
 reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นเติมสารละลาย Folin-
 ciocalteus reagent 0.3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่
 750 นาโนเมตร เปรียบเทียบค่ากับแอลบูมินมาตรฐาน (standard albumin)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวอภิญญา ส่งประดิษฐ์	
วัน เดือน ปีเกิด	28 กันยายน 2519	
วุฒิการศึกษา		
วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2541
(วาริชศาสตร์)		