

ภาคผนวก

สารเคมีและการเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์

1. น้ำยาสกัดเอนไซม์ (extraction buffer)

สารที่ใช้เป็นน้ำยาสกัดเอนไซม์ คือ Tris (hydroxymethyl) aminomethane หรือ Tris-buffer 0.2 M pH 8.4

0.2 M Tris (hydroxymethyl) aminomethane 100 มิลลิลิตร

0.2 M HCl 100 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียมทำโดยการนำ 0.2 M Tris ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมกับ 0.2 M HCl ปริมาตร 16.5 มิลลิลิตร และปรับ pH ด้วย 0.2 M HCl ให้ได้ pH 8.4 หลังจากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 200 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. สารเคมีที่ใช้เป็นส่วนประกอบของ separating gel 8.5 %

สารเคมีที่ใช้เป็นส่วนประกอบแสดงไว้ในตารางข้างล่างนี้

ตารางภาคผนวก 1 ส่วนผสมสำหรับการเตรียม separating gel 8.5 %

Stock Solution	separating gel 8.5 %
น้ำกลั่น	9.04 มิลลิลิตร
1.0 M Tris – HCl pH 8.8	5 มิลลิลิตร
acrylamide 30 %	5.66 มิลลิลิตร
APS 10 % (เตรียมก่อนใช้)	150 ไมโครลิตร
TEMED	10 ไมโครลิตร

เตรียม separating gel ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น กับ 3 M Tris pH 8.8 และ acrylamide 30 % เข้าด้วยกัน แล้วค่อย ๆ เติม APS 10 % และ TEMED คนให้เข้ากัน จากนั้นนำมาเทลงระหว่างแผ่นกระจกที่เตรียมไว้ ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ

3. สารเคมีที่ใช้เป็นส่วนประกอบของ sample buffer คือ glycerol 10 % และ bromophenol blue 0.5 %

4. สารเคมีที่ใช้เป็น running buffer pH 8.3 (x5) คือ Tris 3 กรัม และ Glycine 14.4 กรัม

เตรียมสารละลายโดยละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันแล้วเติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

5. สารเคมีที่ใช้ในการข้อมอนไซม์

5.1 Acid phosphatase (ACP)

acetate buffer 0.2 M pH 4.8	50 มิลลิลิตร
fast ganet GBC disodium salt	0.05 กรัม
disodium α -naphthyl phosphate	0.025 กรัม

5.2 Esterase (EST)

phosphate buffer 0.2 M pH 6.0	100 มิลลิลิตร
fast blue B - salt	0.15 กรัม
α -naphthyl acetate (ละลายใน abs. ethanol 3 มล)	0.003 กรัม

5.3 Peroxidase (POX)

Tris – buffer 0.1 M pH 4.0	120 มิลลิลิตร
3-amino-9-ethylcarbazol (ละลายใน acetone 15 มล)	0.063 กรัม
β -naphthol (ละลายใน acetone 15 มล)	0.044 กรัม
3% H ₂ O ₂	150 ไมโครลิตร

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวศลิษา รุจิวิชัยกุล
วัน เดือน ปี เกิด	22 กุมภาพันธ์ 2524
ประวัติการศึกษา	<ul style="list-style-type: none"> - ปีการศึกษา 2538 สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนเบญจมราชูทิศ อำเภอเมืองนครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช - ปีการศึกษา 2540 สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลายศูนย์บริการการศึกษานอกโรงเรียน อำเภอเมืองนครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช - ปีการศึกษา 2544 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการผลิตพืช) เกียรตินิยมอันดับสอง มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ อำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช
ที่อยู่ปัจจุบัน	<p>2156/16 ถนนราษฎร์บำรุง ตำบลท่าวัง อำเภอเมืองนครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช 80000</p> <p>โทรศัพท์ 08-9875-3225 หรือ 0-7534-3349 โทรสาร 0-7531-1234</p> <p>E-mail address : r_salisa@yahoo.com</p>