

ภาคผนวก

สารเคมีและการเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์

1. น้ำยาสกัดเอนไซม์ (extraction buffer)

สารที่ใช้เตรียมน้ำยาสกัดเอนไซม์ คือ tris (hydroxymethyl) aminomethane หรือ tris-buffer

0.2 M pH 8.4

0.2 M tris (hydroxymethyl) aminomethane 100 มล

0.2 M HCl 100 มล

วิธีการเตรียมทำโดยการนำ 0.2 M tris ปริมาตร 50 มล ผสมกับ 0.2 M HCl ปริมาตร 16.5 มล และปรับ pH ด้วย 0.2 M HCl ให้เป็น 8.4 หลังจากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 200 มล ใส่ลงในขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ

2. สารเคมีที่ใช้เป็นส่วนประกอบของ separating gel 6.0 และ 8.5%

สารเคมีที่ใช้เป็นส่วนประกอบแสดงไว้ในตารางภาคผนวก 1

ตารางภาคผนวก 1 ส่วนผสมของสารในการเตรียม separating gel เข้มข้น 6.0% และ 8.5%

สาร	6.0% separating gel	8.5% separating gel
น้ำกลั่น	10.70 มล	5.65 มล
1.5 M tris pH 8.8	5.00 มล	3.13 มล
30% acrylamide	3.13 มล	3.54 มล
10% APS	150.00 ไมโครลิตร	125.00 ไมโครลิตร
TEMED	10.00 ไมโครลิตร	7.50 ไมโครลิตร

เตรียมโดยผสมน้ำกลั่นกับ 1.5 M tris pH 8.8 และ acrylamide 30% เข้าด้วยกัน แล้วค่อย ๆ เติม 10% APS และ TEMED คนให้เข้ากัน จากนั้นนำมาเทลงระหว่างแผ่นกระจกที่เตรียมไว้

3. สารเคมีที่ใช้เป็นส่วนประกอบของ loading dye คือ 10% glycerol และ 0.5% bromophenol blue

4. สารเคมีที่ใช้เป็น running buffer คือ tris 3 กรัม และ glycine 14.4 กรัม
เตรียมสารละลายโดยละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันแล้วเติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มล เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ

5. สารเคมีที่ใช้ในการย้อมสีเอนไซม์

5.1 Acid phosphatase (ACP)

acetate buffer pH 6.0	100	มล
fast garnet GBC diasodium salt	50	มล
disodium α - naphthyl phosphate	25	มล

5.2 Esterase (EST)

phosphate buffer pH 6.0	100	มล
fast blue B-salt	0.15	กรัม
α -naphthyl acetate	0.003	กรัม

5.3 Peroxidase (POX)

tris-HCl 0.1 M pH 4.0	80	มล
3-amino-9-ethylcarbazole	0.042	กรัม
β -naphthol	0.029	กรัม
3% H ₂ O ₂	100	ไมโครลิตร

ตารางภาคผนวก 2 ตารางแสดงค่า dissimilarity proximity matrix ของใบเอื้องน้ำต้น

Proximity matrix

Squared Euclidean Distance										
Case	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1		3.000	8.000	8.000	7.000	11.000	8.000	8.000	8.000	10.000
2	3.000		5.000	5.000	8.000	12.000	9.000	9.000	9.000	11.000
3	8.000	5.000		.000	3.000	7.000	8.000	8.000	8.000	8.000
4	8.000	5.000	.000		3.000	7.000	8.000	8.000	8.000	8.000
5	7.000	8.000	3.000	3.000		4.000	7.000	7.000	7.000	7.000
6	11.000	12.000	7.000	7.000	4.000		5.000	5.000	5.000	5.000
7	8.000	9.000	8.000	8.000	7.000	5.000		.000	.000	2.000
8	8.000	9.000	8.000	8.000	7.000	5.000	.000		.000	2.000
9	8.000	9.000	8.000	8.000	7.000	5.000	.000	.000		2.000
10	10.000	11.000	8.000	8.000	7.000	5.000	2.000	2.000	2.000	

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวจรรวรณ์ สุขเกษม
วัน เดือน ปี เกิด	26 สิงหาคม 2523
ประวัติการศึกษา	<ul style="list-style-type: none"> - ปีการศึกษา 2538 สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนสระบุรีวิทยาคม - ปีการศึกษา 2541 สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสระบุรีวิทยาคม - ปีการศึกษา 2544 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชศาสตร์ พืชสวนประดับ) มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ที่อยู่ปัจจุบัน	<p>17 หมู่ 7 ตำบลขุนโขลน อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี 18120</p> <p>โทรศัพท์ 081- 8846713</p> <p>E-mail address : conook12@yahoo.com</p>

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved