ภาคผนวก ก

ตารางที่ 1. แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของอาหารเลี้ยงเซลล์ในหลุมที่เกิดโคลน.

หลุม	ค่า O.D.หลุมที่เคลือบด้วย E2-6CMO-BSA	ค่า O.D.หลุมที่เคลือบด้วย BSA	ค่าความแตกต่างของ O.D.
1 C5	0.083	0.082	0.001
1 E6	0.096	0.087	0.009
2 A4	0.289	0.222	0.067
2 A5	0.096	0.087	0.009
2 B2	0.090	0.075	0.015
2 D9	1.477	0.207	**1.270**
2 D10	0.435	0.106	**0.329**
2 E2	0.192	0.104	0.088
2 E11	0.184	0.089	0.095
2 F10	0.325	0.340	-0.015
3 C9	0.660	0.201	**0.459**
3 E6	0.188	0.114	0.074
3 F4	0.403	0.259	**0.144**
3 H5	0.081	0.079	0.002
4 B5	2.747	0.476	**2.271**
4 B7	0.558	0.336	**0.222**
4 B8	2.510	0.291	**2.219**
4 B9	2.690	0.400	**2.290**
4 B10	2.497	0.297	**2.200**
4 B11	2.605	0.319	**2.286**
4 C5	0.241	0.115	**0.126**

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หลุม	ค่า O.D.หลุมที่เคลือบด้วย E2-6CMO-BSA	ค่า O.D.หลุมที่เคลือบด้วย BSA	ค่าความแตกต่างของ O.D.
4 D6	0.178	0.186	-0.008
4 D7	0.213	0.349	-0.136
4 D9	1.029	0.462	**0.567**
4 G8	0.089	0.092	-0.003
5 A9	0.141	0.090	0.051
5 D5	0.167	0.235	-0.068
6 D8	0.145	0.108	0.037
6 F5	0.208	0.127	0.081

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2. แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของอาหารเลี้ยงเซลล์ในหลุมที่เกิดโคลนเดี่ยวหลังจากทำการ limiting dilution.

หลุม	ค่า O.D.หลุมที่เคลือบด้วย E2-6CMO-BSA	ค่า O.D.หลุมที่เคลือบด้วย BSA	ค่าความแตกต่างของ O.D.
4B9 1B5	3.299	0.527	2.772
4B9 1B6	3.125	0.285	2.840
4B9 1B8	3.291	0.333	2.958
4B9 1B10	3.153	0.224	2.929
4B9 1C5	3.214	0.297	2.917
4B9 1C9	3.294	0.396	2.898
4B9 1C11	3.250	0.312	2.938
4B9 1D4	3.163	0.193	2.970
4B9 1D5	3.259	0.255	3.004
4B9 1D6	3.002	0.309	2.693
4B9 1D7	3.248	0.267	2.981
4B9 1D9	3.115	0.283	2.832
4B9 1D11	3.016	0.260	2.756
4B9 1E2	3.295	0.847	2.448
4B9 1E3	3.215	0.244	2.971
4B9 1E4	3.282	0.145	3.137
4B9 1E5	3.028	0.214	2.814
4B9 1E6	3.159	0.231	2.928
4B9 1E7	3.258	0.281	2.977
4B9 1E8	3.009	0.247	2.762
4B9 1E10	3.246	0.336	2.910
4B9 1E11	3.169	0.192	2.977
4B9 1F4	3.258	0.338	2.920

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2. แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของอาหารเลี้ยงเซลล์ในหลุมที่เกิดโคลนเดี่ยว หลังจากทำการ limiting dilution (ต่อ).

หลุม	ค่า O.D.หลุมที่เคลือบด้วย E_2-6CMO-BSA	ค่า O.D.หลุมที่เคลือบด้วย BSA	ค่าความแตกต่างของ O.D.
4B9 1F6	2.998	0.270	2.728
4B9 1F8	3.267	0.489	2.778
4B9 1F10	3.255	0.374	2.881
4B9 1F11	3.105	0.229	2.876
4B9 1G2	2.990	0.172	2.818
4B9 1G4	3.274	0.299	2.975
4B9 1G7	3.261	0.363	2.898
4B9 2B6	2.813	0.096	2.717
4B9 2B7	2.934	0.093	2.841
4B9 2C3	2.893	0.094	2.799
4B9 2C6	2.854	0.094	2.760
4B9 2C9	2.530	0.112	2.418
4B9 2D3	2.847	0.113	2.734
4B9 2D5	2.847	0.092	2.755
4B9 2D7	2.850	0.098	2.752
4B9 2D9	2.916	0.087	2.829
4B9 2D11	2.864	0.082	2.782
4B9 2E6	2.971	0.091	2.880
4B9 2E7	2.823	0.089	2.734
4B9 2E8	2.803	0.083	2.720
4B9 2E9	2.861	0.091	2.770
4B9 2E10	2.278	0.086	2.192
4B9 2F2	2.722	0.098	2.624

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2. แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของอาหารเลี้ยงเซลล์ในหลุมที่เกิดโคลนเดี่ยวหลังจากทำการ limiting dilution (ต่อ).

หลุม	ค่า O.D.หลุมที่เคลือบด้วย E_2-6CMO-BSA	ค่า O.D.หลุมที่เคลือบด้วย BSA	ค่าความแตกต่างของ O.D.
4B9 2F3	2.571	0.103	2.468
4B9 2F7	2.858	0.093	2.765
4B9 2F8	2.773	0.084	2.689
4B9 2F9	2.840	0.078	2.762
4B9 2F11	2.512	0.072	2.440
4B9 2G7	2.417	0.131	2.286
4B9 3C6	2.653	0.083	2.570
4B9 3D5	2.692	0.196	2.496
4B9 3D10	2.717	0.129	2.588
4B9 3E2	2.448	0.112	2.336
4B9 3E3	2.395	0.098	2.297
4B9 3E8	2.553	0.099	2.454
4B9 3F3	2.462	0.127	2.335
4B9 4C3	1.958	0.112	1.846
4B9 4C4	1.942	0.081	1.861
4B9 4C5	2.110	0.077	2.033
4B9 4D10	1.871	0.075	1.796
4B9 4E5	2.078	0.072	2.006
4B9 5D5	1.931	0.082	1.849
4B9 5D9	2.047	0.131	1.916
4B9 6C8	2.002	0.086	1.916
4B9 6F6	2.031	0.083	1.948
4B9 6G4	1.994	0.081	1.913

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

การเตรียม Phosphate Buffer Saline (PBS) pH = 7.4

NaCl	8.0 กรัม
$NaHCO_3$	0.2 กรัม
$Na_2HPO_4.12H_2O$	2.8 กรัม
KCl	0.2 กรัม

ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH = 7.4 ด้วย 1*N* NaOH หรือ 20 % HCl เติมน้ำกลั่นให้ ปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

การเตรียม Coating buffer pH= 9.6

Na_2CO_3	4.29 กรัม
$NaHCO_3$	2.93 กรัม

ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH = 9.6 ด้วย 1*N* NaOH หรือ 1*N* HCl เติมน้ำกลั่นให้ ปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับการล้าง (washing buffer)

NaCl	45 กรัม
Tween 80	2.5 กรัม
น้ำกลั่น	5 ลิตร

คนให้เข้ากัน เก็บที่อุณหภูมิห้อง

การเตรียมสารละลาย 2 % Gelatin

Gelatin	2 กรัม
Coating buffer	100 มิลลิลิตร.

คนให้ละลาย เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การเตรียมสารละลายสารตั้งต้น (Citrate phosphate buffer)

Citric acid (monohydrate) 10.30 กรัม

$Na_2HPO_4.12H_2O$ 18.16 กรัม

เติมน้ำกลั่น 900 มล. ปรับ pH = 5 ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

การเตรียมสารละลายตั้งต้นสำหรับพัฒนาสีของ ELISA

O-phenylenediamine acetate (OPD)	0.018 กรัม
Citrate phosphate buffer	12 มล.

ทำในหลอดทดลองที่หุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟอยด์เพื่อกันแสง เขย่าโดยใช้ Vortex mixer เมื่อ OPD ละลายแล้วเติม 0.03 % ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 20 ไมโครลิตร (เตรียมเมื่อใช้)

การเตรียมสารละลายหยุดปฏิกิริยา (stopping solution)

การเตรียม 4 *N* H_2SO_4 ประกอบด้วย H_2SO_4 มล. ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 200 มล.

การเตรียม Iscove's Modified Dulbecco's medium (IMDM)

Iscove's Modified Dulbecco's medium	17.7 กรัม
$NaHCO_3$	3.024 กรัม
2 mercapto	1 มล. (ใส่ตอนกรอง)

ละลายในน้ำกลั่น 800 มล. ปรับ pH = 7.4 ด้วย 1*N* NaOH หรือ 20 % HCl เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร ทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองสารละลายด้วย filter membrane ขนาดที่ผ่านได้ 0.2 ไมครอน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มม. ใช้กรวย filtration assembly ที่ประกอบเข้ากับ side arm flask ขนาด 1 ลิตร กรองโดยอาศัยเครื่องดูดสูญญากาศ (vacuum pump) ภายในตู้ปลอดเชื้อ เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C อุ่นที่ 37 °C ก่อนนำมาใช้

10 % Fetal bovine serum (10 % FBS)

Fetal bovine serum	10 มล.
IMDM	90 มล.
Gentamycin	20 unit

เตรียมภายในตู้ปลอดเชื้อ เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C อุ่นที่ 37 °C ก่อนนำมาใช้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวรัชนีวรรณ เขจรวงศ์
วันเดือนปีเกิด	14 มิถุนายน 2522
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนร้อยเอ็ดวิทยาลัย จังหวัดร้อยเอ็ด ปีการศึกษา 2540 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ปีการศึกษา 2544
ทุนการศึกษา	ได้รับทุนอุดหนุนบัณฑิตศึกษา โครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและวิจัย สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปี 2546 - 2548

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved