

ภาคผนวก ก

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

วัสดุอุปกรณ์

1. ขวดก้นกลม (round flask)
2. บีกเกอร์ขนาด 1,000 และ 2,000 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
3. เครื่องชั่งสาร (Olerling, NA-164)
4. กระดาษกรอง Whatman No. 4 (Maidstone, England)
5. กระดาษกรอง Whatman No. 1 (Maidstone, England)
6. Automatic pipette ขนาด 1-10 ไมโครลิตร, 1-100 ไมโครลิตร และ 100-1,000 ไมโครลิตร (Socorex, Switzerland)
7. หลอดพลาสติกสำหรับเหวี่ยงเซลล์ (centrifuge tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร (TPP, Switzerland)
8. กระบอกลีดยาพลาสติกขนาด 10 มิลลิลิตร พร้อมเข็มฉีดยาเบอร์ 22 (Nipro, Thailand)
9. สไลด์แก้วขนาด 1 x 3 นิ้ว (Soil Brand, China)
10. pasture pipette (Pyrex, USA)
11. couplin jar (Pyrex, USA)
12. vortex (VM-300, Taiwan)
13. centrifuge (Kubota 5920, Japan)
14. CO₂ Incubator (NuAire, USA)
15. laminar flow (NuAire, USA)
16. กล้องจุลทรรศน์ชนิด phase contrast (Olympus, Japan)
17. กระบอกลีดยาพลาสติกขนาด 1 มิลลิลิตร พร้อมเข็มฉีดยาเบอร์ 16 (Nipro, Thailand)
18. feeding tube
19. เครื่องชั่งน้ำหนัก (Precisa, Switzerland)
20. ปิเปตพร้อมจุกยาง
21. หลอดทดลองสำหรับป่น ขนาด 110 x 16 มิลลิลิตร

22. centrifuge (Hettich, Germany)
23. กรรไกรผ่าตัด ปากคีบ และถาด
24. PH meter (Hanna , Singapore)

สารเคมี

1. RPMI 1640 (Seromed, Germany)
2. Fetal calf serum (Starrate, Australia)
3. Phytohaemagglutinin (Seromed, Germany)
4. Mitomycin C (Kyowa, Japan)
5. Sodium chloride (Sigma, USA)
6. Potassium chloride (Sigma, USA)
7. Di-sodium hydrogenphosphate dihydrate (Sigma, USA)
8. Potassium dihydrogenphosphate (Sigma, USA)
9. Sodium bicarbonate (Sigma, USA)
10. Gracial acetic acid (E.Merck, Germany)
11. Penicilin (M&H, Thailand)
12. Streptomycin (M&H, Thailand)
13. Heparin (Leo, Denmark)
14. 95% ethanol (E.Merck, Germany)
15. Giemsa stain (E.Merck, Germany)
16. Leishman's stain (Sigma, U.S.A.)
17. Absolute methanol (E.Merck, Germany)

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลาย

การเตรียมน้ำยาเพาะเลี้ยงเซลล์ และสารละลายที่ใช้ในการวิจัย

น้ำยาเพาะเลี้ยงเซลล์เตรียมโดยใช้เทคนิคปราศจากเชื้อ (aseptic technique) ซึ่งน้ำยาเพาะเลี้ยงเซลล์ประกอบด้วยสารละลาย RPMI 1640 ผสมยาปฏิชีวนะคือ streptomycin และ penicilin และ fetal calf serum 20% มีวิธีการเตรียมดังนี้

RPMI 1640

เตรียมผงสำเร็จรูป RPMI 1640 น้ำหนัก 10.4 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร เติม sodium bicarbonate 1.2 กรัม เติม penicilin 100,000 IU เติม streptomycin 0.1 กรัม เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน กรองน้ำยาเลี้ยงเซลล์ด้วย sterile filter 0.2 ไมครอน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

20% fetal calf serum

นำ fetal calf serum ปริมาตร 20 มิลลิลิตร มาผสมกับ RPMI 1640 ที่เตรียมเรียบร้อยแล้วจำนวน 80 มิลลิลิตร

Phytohemagglutinin

เตรียมโดยละลายผง PHA-L 1 ขวด ขนาด 5 มิลลิกรัมด้วยน้ำกลั่น sterile 5 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Mitomycin C

เตรียมโดยละลายผง mitomycin C 1 ขวด ขนาด 10 มิลลิกรัมด้วยน้ำกลั่น sterile 10 มิลลิลิตร เพื่อเป็น stock solution เตรียม mitomycin C ให้ได้ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้เป็น positive control สำหรับเติมในหลอดเลี้ยงเซลล์ 50 ไมโครลิตรเพื่อให้ได้ mitomycin C ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ความเข้มข้น 0.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Phosphate buffer solution (PBS)

เตรียมโดยละลายสารต่อไปนี้ในน้ำกลั่น 1 ลิตร

NaCl	8 กรัม
KCl	0.2 กรัม
Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	1.15 กรัม
KH ₂ PO ₄	0.2 กรัม

Hypotonic solution (0.75 M KCl)

เตรียมโดยละลายผง KCl 5.62 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร

Cornoy fixative

เตรียมโดยผสม 95% ethanol กับ acetic acid อัตราส่วน 3: 1 เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

Weise buffer solution

เตรียมโดยละลายสารต่อไปนี้ในน้ำกลั่น 1 ลิตร

Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	1.14 กรัม
KH ₂ PO ₄	0.49 กรัม

Dye solution

ประกอบด้วยสารต่าง ๆ ดังนี้

Powered Leishman's stain	2 กรัม
Absolute methanol	1 ลิตร

เตรียมโดยละลายผงสีใน absolute methanol จนหมด แล้วแช่ภาชนะที่ใช้เตรียมสีใน water bath 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 ลงในขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

Buffered water

ประกอบด้วย Sorensen phosphate buffer โดยเตรียมสารต่าง ๆ ดังนี้

สารละลาย A KH_2PO_4 9.1 กรัม

สารละลาย B Na_2HPO_4 9.5 กรัม

หรือ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 11.9 กรัม

ละลายสารละลาย A ในน้ำกลั่น 4 ลิตร และละลายสารละลาย B ในน้ำกลั่น 2 ลิตร

การปรับ pH

ใช้สารละลาย A 30 มิลลิลิตร เติมสารละลาย B ลงไปจนได้ pH 6.4 จดปริมาตรสารละลาย B ที่ใช้เติมลงไป เมื่อนำส่วนผสมของสารละลายทั้งสองชนิด 5.0 มิลลิลิตร มาเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร วัด pH ควรจะได้ 6.2-6.4 เป็น Sorensen phosphate buffer เสร็จแล้วนำ Sorensen phosphate buffer 50 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่นจนได้ 1 ลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ และ ชื่อสกุล

นางสาวศกาวรัตน์ บุญยะรัตน์

วัน เดือน ปีเกิด

21 เมษายน 2521

ประวัติการศึกษา

วุฒิ

ชื่อสถาบัน

ปีการศึกษาที่จบ

มัธยมศึกษาตอนต้น

โรงเรียนคุณนทีรุทธารามวิทยาคม

2536

จังหวัดกรุงเทพมหานคร

มัธยมศึกษาตอนปลาย

โรงเรียนคุณนทีรุทธารามวิทยาคม

2539

จังหวัดกรุงเทพมหานคร

วิทยาศาสตรบัณฑิต

มหาวิทยาลัยมหิดล

2543

(วิทยาศาสตรอนามัยสิ่งแวดล้อม) จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved