ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

สารเคมี

1. สารละลาย NBT

1.1	NBT	14.1	มิลลิกรัม
1.2	HBSS with 2 mM $CaCl_2$ (176 µg/ml)	80	มิลลิลิตร

2. สารละลาย 2 M KOH

2.1	KOH	11.2	กรัม
2.2	น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

3. 70% methanol

3.1	Methanol	70	มิลลิลิตร
3.2	น้ำกลั่น	30	มิลลิลิตร

4. Stimulating agent (Phorbol myristate, PMA) เข้มข้น 10^{-5} M

4.1	Stock PMA (1.61×10^{-5} M)	62	ไมโครลิตร
4.2	อาหาร L-15	9.938	มิลลิลิตร

5. Inactivated heat fetal bovine serum (FBS)

นำ fetal bovine serum มาให้ความร้อนที่ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที

6. HBSS with 2 mM $CaCl_2$ (176 µg/ml) (Sigma)

6.1	HBSS	1	แพ็ค
6.2	$CaCl_2$	0.294	กรัม
6.3	น้ำกลั่น	1	ลิตร

7. อาหารเลี้ยงเซลล์ L-15

7.1	L-15 media (Sigma) แล้วแต่เป็นผงหรือสารละลาย		
7.2	FBS	5	มิลลิลิตร
7.3	Penicillin/streptomycin	1	มิลลิลิตร
7.4	HEPES		
7.5	น้ำกลั่น		

8. สารละลาย EDTA อิ่มตัวในน้ำกลั่น

ตวงน้ำกลั่นในปริมาตรที่ต้องการ ละลายผง EDTA ลงในน้ำกลั่นจนกว่า EDTA ไม่ละลายอีก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

9. Phosphate Buffer Saline pH 7.2 (Harlow and Lane, 1988)

9.1	NaCl	8	กรัม
9.2	KCl	0.2	กรัม
9.3	Na_2HPO_4	1.44	กรัม
9.4	KH_2PO_4	0.24	กรัม

นำส่วนประกอบต่างๆละลายในน้ำกลั่น ปรับ pH ให้ได้ 7.2 ก่อนเติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

10. Trypan blue 0.25% (Harlow and Lane, 1988)

ชั่งสี Trypan blue 0.25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เมื่อสีละลายหมดแล้ว กรองด้วยกระดาษกรอง เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

11. Natt-Herrick's stain

11.1	NaCl	3.88	กรัม
11.2	$NaSO_4$	2.5	กรัม
11.3	Na_2HPO_4	1.74	กรัม
11.4	KH_2PO_4	0.25	กรัม
11.5	Formalin 37%	2.5	มิลลิลิตร
11.6	Methyl violet	0.1	กรัม

นำส่วนประกอบต่างๆละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เมื่อสีละลายหมดแล้วกรองด้วย กระดาษกรอง

12. Low salt wash buffer (10X)

12.1	Tris base	24.2	กรัม
12.2	NaCl	222.2	กรัม
12.3	Tween 20	5	มิลลิลิตร

ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับ pH ให้ได้ 7.3 ด้วยกรดเกลือเข้มข้น แล้วจึงปรับปริมาตรด้วย น้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร เมื่อต้องการใช้ให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

13. High salt wash buffer (10X)

13.1	Tris base	24.2	กรัม
13.2	NaCl	292.2	กรัม
13.3	Tween 20	10	มิลลิลิตร

ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับ pH ให้ได้ 7.7 ด้วยกรดเกลือเข้มข้น แล้วจึงปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร เมื่อต้องการใช้ให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10

การเตรียมสารละลายน้ำมันกานพลู (Lewbart, 2005)

น้ำมันกานพลู	1	ส่วน
เอธานอล 95%	9	ส่วน

ได้เป็น Stock solution ที่มี eugenol เข้มข้น 100 mg/ml

การเตรียม Heat killed yeast (Thiagarajan et al., 2006)

ละลายผงยีสต์ (*Saccaromyces cerevisae*) ลงใน 0.85% NaCl และนำไปอบฆ่าเชื้อ (autoclave) ปั่นล้างที่ความเร็ว 2,000 rpm นาน 5 นาที ด้วย 0.85% NaCl ปลอดเชื้อ ทำซ้ำ 2 ครั้ง และจึงเก็บไว้ใน 0.85% NaCl ปลอดเชื้อเพื่อใช้เป็น Stock เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C หรือเติมด้วยสารละลายเลี้ยงเซลล์ L-15 เพื่อใช้ในการทดสอบ โดยปรับความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์ตามต้องการด้วย Haemocytometer

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University