เอกสารอ้างอิง

Aharonov, A., D. Gurari, and S. Fuchs, "Immunochemical Characterization of Naja naja siamensis Toxin and of a Chemically Modified Toxin," Eur. J. Biochem , 45, 297-303, 1974.

Allison, A. C., and G. Gregoriadis, "Liposomes as immunological adjuvants," 252, 252, 1974.

Banchuin, N., S. Vanadurongwan, S. Sarasombath, T. Sukosol, and V. Pimolpan, "ELISA for the measurement of intestinal antibody to Salmonella typhi protein antigen," Asian Pacific J. Allerg Immunol, 2, 85-90, 1984.

Bolanos, R., and L. Cerdas, "Production y control de sueros antiofidicos en Costa Rica," Bol. Of. Sanit. Panam., 88, 189, 1980.

Burden, S. J., H. C. Hartzell, and D. Yoshikami, "Acetylcholine receptors at neuromuscular synapses: Phylogenetic difference detected by snake -neurotoxins," Proc. Nat. Acad. Sci., 72, 3245-3249, 1975.

Challand,G.,D. Goldie,and J. London, "Immunoassay in the Diagnostic Laboratory," Brit. Med. Bull., 30, 38-43, 1974.

Charlotte, L., and A. T. Tu, "Venom," Chemistry and Molecular biology, 436-454, John Wiley & Sons, Inc., 1977.

Chicheportiche, R., J. P. Vincent, C. Kopeyan, H. Schweitz, and M. Lazdunski, "Structure-function relationship in the binding of snake neurotoxins to the Torpedo membrane receptor," Biochemestry, 14, 2081-2091, 1975.

Cooper, D. and E. Reich, "Neurotoxin From Venom of the Cobra, Naja naja siamensis," J. Biol. Chem., 247, 3008-3013, 1972.

Davis, D., and G. Gregoriadis, "Liposomes as adjuvants with immunopurified tetanus toxoid: influence of liposomal characteristics," Immunology, 61, 229-234, 1987.

Dowling, H. G., and W. E. Duellman, "A. Synopsis of Families and Higher Categories," Systematic Herpetology, pp. 100-102, Hiss Publication, New York, 1978.

Duzgunes, N., J. Wilschut, K. Hong, R. Fraley, C. Perry, D. S. Friend, T. L. James, and D. Papahadjopoulos, "Physicochemical Characterization of large unilamellar phospholipid vesicles prepared by reverse-phase evaporation," Biochim. Biophys. Acta, 732, 289-299, 1983.

Flowers, H. H., "The effects of X-irradiation on the biological activity of cottonmouth moccasin (Ancistrodon piscivorus)," Toxicon, 1, 131, 1963.

Freitas, T. V., A. P. Tavares, R. D. J. Theakston, G. Laing, and R. R. C. New, "Use of liposomes for protective immunization against Crotalus durissus (tropical rattlesnake) venom," Toxicon, 27, 341-347, 1989.

Ganthavorn, S., "Toxicity of Thailand snake venoms and neutralization capacity of antivenin," Toxicon, 7, 239-241, 1969.

Gopalakrishnakone, P., B. J. Hawgood, and R. D. G. Theakston, "Specificity of antibodies to the Reconstituted Crotoxin Complex, From the Venom of South American Rattlesnake (Crotalus durissus terrificus), Using Enzyme-Linked Immunosorben Assay (ELISA) and Bouble Immunodiffusion, Toxicon., 19, 131-139, 1980.

Gregoriadis, G., "Drug entrapment in liposomes," FEBS Lett., 36, 292-296, 1973.

Gregoriadis, G., "The carrier potential of liposomes in biology and medicine," The New England J. Med., 295, 765-770, 1976.

Hurn, B. A. L., and S. M. Chantler, "Production of reagent Antibodies," Method in Enzymology, vol. 70, pp. 104-117, Academic Press, New York, 1980.

Karlsson, E., H. Arnberg, D. Eader, "Eur. J. Biochem., 21, 1, 1971.

Karlsson, E., "Chemistry of protein toxins in snake venoms," Handbook of Experimental Pharmacology, vol. 52, pp. 159-212, Springer-Verlag, New York, 1979.

Kim, S., D. J. Kim, M. A. Geyer, and S. B. Howell, "Multivesicular Liposomes Containing 1-B-D-Arabinofuranosylcytosine for Slow-Release Intrathecal Therapy," Cancer Research, 47, 3935-3937, 1987.

Kirby, C. J., and G. Gregoriadis, "Incorporation of Drugs Protein and Genetic Materials," Liposome Technology, vol. 2,pp. 69-81,1986.

Kocholaty, W., and B. D. Ashley, "Detoxification of Russell's viper (Vipera russellii) and water moccasin (Agkistrodon piscivorus) venoms by photooxidation," Toxicon, 3, 187, 1966

Lee, C. Y., "Mode fo Action of Cobra Venom and Its Purified Toxins Neuropoisons: Their Pathophysiological Actions (Lance L. Simpson, ed.) vol. 1, 1971.

Lee, C. Y., "Chemistry and pharmacology of polypeptide toxin in snake venoms," Ann Rev Pharmacol, 12, 265-284, 1972.

Lester, H. A., "Postsynaptic action of cobra toxin at the myoneural junction," Nature, 227, 727-728, 1970.

Loprinzi, C. L., J. Hennessee, L. Tamsky, and T. E. Johnson, "Snake Antivenin Admininistration in a Patient Allergic to Horse Serum," Southern Med. J., 76 (4), 501-502, 1983.

Lowry, O. H., "Protein Measurenent with the Folin-Phenol Reagent," J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.

Mayhew, E., D. Papahadjopoulos, Y. M. Rustum, and C. Dave, "Inhibition of Tumor Cell Growth in Vitro and in Vivo by 1-B-D-Arabinofuranosylcytosine Entrapped with in Phospholipid Vesicles," Cancer Research, 36, 4406-4411, 1976.

Midgley , A.R.,G.D. Niswender, and R.W. Rebar,"Principles for the Assessment of the Reliability of Radioimmunoassay Method (Precision, Accuracy,Sensitivity , Specificity)," Acta Endocrinologica 63 Supplement , vol.142,pp.163-184,1969.

Mitrakul, C., A. Dhamkrong, and P. Futrakul, "Clinical features of neurotoxic snake bite and response to antivenom in 47 children," Am J Trop Med Hyg, 33, 1258-1266, 1984.

Nayer, R., A. J. Schroit, and I. J. Fidler, "Liposome Encapsulation of Muramyl Peptides for Activation of Macrophage Cytotoxic Properties," Methods in Enzymology, vol. 132, pp. 594-603, Academic Press, New York, 1986.

New, R. R. C., R. D. G. Theakston, O. Zumbuehl, D. Iddon, and J. Friend, "Immunization against Snake Venoms, " The New England J. Med., 311, 56-57, 1984.

New, R. R. C., R. D. G. Theakston, O. Zumbuehl, D. Iddon, and J. Friend, "Liposome Immunization Against Snake Venom, " Toxicon, 23, 215-219, 1985.

Nielson, A. J., and W. P. Griffith, " Tissue fixation by osmium tetroxide," J Histochem Cytochem, 27, 997-999, 1979.Ohsawa, T., H. Miura, and K. Harada, "Improvement of Encapsulation Efficiency of Water-Soluble Drugs in Liposomes Formed by the Freeze-Thawing Method," Chem. Pharm. Bull., 33, 3945, 1985.

Ostro, M. J., "Liposomes," Sci. Am. J., 256, 91-99, 1987.

Pidgeon, C., and S. McNeely, "Multilayered Vesicles Prepared by Reverse-Phase Evaporation: Liposome Structure and Optimum Solute Entrapment," Biochemistry, 26, 17-29, 1987.

Purananda, C., V. Hayodom, P. Lauhatirananda, and S. Ganthavorn, "Study on immune response to irradiated cobra venom in rabbits," J. Natl. Res. Counc. Thailand, 8, 1, 1976.

Reid, H. A., "Cobra-bites," Brit. Med. J., 2, 540-545, 1964.

Rooijen, N. V., and R. V. Nieuwmegen, "Liposomes in immunology: Evidence that their adjuvant effect results from surface exposition of the antigens," Cellular Immunology, 49, 402-407, 1980.

Shew, S. L., and D. W. Deamer, "A novel method for encapsulation of macromolecules in liposomes," Biochim. Biophys. Acta, 816, 1-8, 1985.

Silamut, K., M. Ho, S. Looareesuwan, C. Viravan, V. Wuthiekanun, and D. A. Warrell, "Detection of venom by ELISA in patients bitten by snake in Thailand," Brit. Med J., 294, 402-404, 1987.

Straubinger, R. M., and D. Papahadjopoulos, " Liposomes as Carriers for Intracellular Delivery of Nucleic Acids," Method in Enzymology, 101,512-527, 1983.

Sutherland, S. K.,and K. D. Lovering, "Antivenom,"Med. J. Aust., 2, 671-674, 1979.

Szoka, F. and D. Papahadjopoulos, "Procedure for Preparation of Liposomes with Large Internal Aqueous Space and High Capture by Reverse-Phase Evaporation," Proc Natl. Acad. Sci. USA., 75, 4194-4198, 1978.

Szoka, F. and D. Papahadjopoulos, "Comparative properties and methods of preparation of lipid vesicles (liposomes)," Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 9, 467-508, 1980.

Szoka, F., F. Olson, T. Heath, W. Vail, E. Mayhew, and D. Papahadjopoulos, "Preparation of unilamella liposomes of intermediate Size (0.1-0.2 um) by a combination of reverse phase evaporation and extrusion through polycarbonate membranes,"Biochim. Biophys. Acta, 601, 559-571, 1980.

Tan, N. H., "Improvement of Malayan cobra (Naja naja sputatrix) antivenin," Toxicon, 21, 75-79, 1983.

Tejasen, P.,and A. Ottolenghi, "The effect of ultraviolet light on the toxicity and the enzymatic and antigenic activities of snake venoms," Toxicon, 8, 225, 1970.

Theakston. R. D. G., M. J. Lloyd-Jones,and H. A. Reid, "Micro-ELISA for Detection and Assay snake Venom and Venom-Antibody," Lancet., 2, 639-641, 1977.

Theakston, R. D. G., and H. A. Reid, "Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) in Assessing Antivenom Potency," Toxicon., 17, 511-515, 1979.

Theakston, R. D. G., "The Application of immunoassay Techniques Including Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) to snake Venom Research," Toxicon., 21, 341-352, 1983.

Theakston, R. D. G., "The Used of Enzyme Immunoassay in snake Research," Proceedings of the 6th European Symposium on Animal, Plant and Microbial Toxins (Meier, J. Stocker, K., and Freyvogel, T. A., EDS.) pp. 9-20 Basle, 1984.

Theakston, R. D. G., O. Zumbuehl, and R. R. C. New, "Use of Liposomes for Protective Immunisation in Sheep against Echis cariantus snake Venom," Toxicon., 23, 921-925, 1985.

Tu, A. T., P. M. Toom and S. Ganthavorn, "Hemorrhagic and Proteolytic activities of Thailand snake venoms," Biochem Pharmacal., 16, 2125-2130, 1969.

Tyrrell, D. A., T. D. Heath, C. M. Calley, and B. E. Ryman, "New aspects of liposomes," Biochimica et Biophysica Acta, 457, 259-302, 1976.

Underwood, G., "Classification and distribution of venomous snakes in the world," Handbook of Experimental Pharmacology, vol. 52, pp. 15-40, Springer-Verlag, New York, 1979.

Viravan, C., U. Veeravat, M. J. Warrell, R. D. G. Theakston, and D. A. Warrell, "ELISA confirmation of acute and past envenoming by the monocellate Thai cobra (Naja kaouthia)," Am. J. Trop. Med. Hyd., 35, 173-183, 1986.

Voller, A., and D. Bidwell, "Enzyme-Linked Immunosorbent Assay," Immunoassay, pp. 99-109, American Society for Microbiology, Washington D. C., 1986.

Weber, M., and J. P. Chengeux, "Binding of Naja nigricollis (^{3}H) -toxin to membrane fragments from electrophorus and Torpedo electric organ. Binding of the tritiated - neurotoxin in the absence of effector," Mol Pharmacol, 10, 1-14, 1974.

Yang, C. C., "Chemistry and Evolution of Toxins in snake Venoms," Toxicon., 1-43, 1974

สันต์ พัตถีรัตน์, ช็อค, หน้า 44-46, กรุงสยามการพิมพ์, กรุงเทพมหานคร, 2519.

สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ, คู่มืออิมมูโนวิทยา, หน้า 314, โรงพิมพ์อักษรสมัย, กรุงเทพมหานคร, 2523.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

1 การวัดปริมาณโปรตีนโดยวิธีของ Lowry (Lowry และคณะ, 1951)

1.1 การเตรียมสารละลายสำหรับวัดปริมาณโปรตีน

1.1.1 สารละลายโปรตีนมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ชั่งโบไวน์ซีรัมอัลบูมินชนิดคอนแฟรคชัน V (cohn fraction V) 100 มิลลิกรัมละลายด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอดพลาสติกขนาด 12x75 มิลลิเมตร หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร เก็บที่ -20 องศาเซลเซียส

1.1.2 สารละลายฟีนอล

สารละลายโซเดียมทังสเตท 100 กรัมและโซเดียมโมลิบเดท 25 กรัมในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติมกรดฟอสฟอริคที่มีความเข้มข้น 85 เปอร์เซนต์จำนวน 50 มิลลิลิตร และกรดเกลือความเข้มข้น 100 มิลลิลิตร นำมารีฟลักซ์ด้วยไฟอ่อนๆ นานประมาณ 10 ชั่วโมง แล้วเติมลิเทียมซัลเฟต 150 กรัม น้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร และน้ำโบรมีน 2-3 หยด ต้มไล่โบรมีนที่มากเกินพอประมาณ 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่น จนได้ปริมาตรครบ 1 ลิตร นำมากรองแล้วเก็บในขวดสีชาป้องกันแสงที่อุณหภูมิห้อง ก่อนใช้เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1

1.1.3 สารละลายอัลคาไลน์คอปเปอร์

สารละลาย A ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 20 กรัม ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร จนมีปริมาตรครบ 1 ลิตร

สารละลาย B ชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต 1 กรัมละลายในน้ำกลั่น จนมีปริมาตรครบ100 มิลลิลิตร

สารละลาย C ชั่งโปรตัสเซียมหรือโซเดียมทาร์เทรต 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลายอัลคาไลน์คอปเปอร์ เตรียมโดยใช้อัตราส่วนของสารละลาย B:C:A เป็น 1:1:100 โดยปริมาตร และเตรียมในวันที่ทำการทดลอง

1.2 วิธีวัดปริมาณโปรตีน

เตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน ให้มีความเข้มข้น 0 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อ 0.1 มิลลิลิตร โดยใช้สารละลายโปรตีนจากข้อ 1.1.1 นำสารละลายที่เตรียมได้นี้ 0.1 มิลลิลิตรและสารละลายตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณโปรตีน 0.1 มิลลิลิตร มาเติมสารละลายอัลคาไลน์คอปเปอร์ (จากข้อ 1.1.3) 3 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที เติมสารละลายฟีนอล (จากข้อ 1.1.2) 0.3 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เกิดสีที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที หลอดที่เป็นแบลงค์ (blank) ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายโปรตีนมาตรฐาน วัดความสามารถในการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่มีความยาวคลื่นแสง 650 นาโนเมตร เทียบกับหลอดที่เป็นแบลงค์ แล้วนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง A_{650}และความเข้มข้นของโปรตีนมาตรฐานดังแสดงในรูปที่ 27 หาปริมาณโปรตีนในสารละลายตัวอย่างได้จากกราฟมาตรฐาน

2. การหาความเป็นพิษของพิษงูเห่าโดยการหา LD_{50} ตามวิธีการของ Karber (1931)

2.1 การหา Expected LD_{50} ของพิษงูเห่า

เตรียมพิษงูเห่าให้มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซนต์ (stock solution) จากนั้นเตรียมพิษงูเห่าให้มีความเข้มข้นต่างๆกัน ดังแสดงในตารางต่อไปนี้แล้วใช้พิษงูที่เตรียมได้นี้ไปฉีดให้กับหนู (mice) ทางเส้นเลือดดำที่หางจำนวน 0.5 มิลลิลิตร และแต่ละความเข้มข้นใช้หนู 3 ตัว จากนั้นนับจำนวนหนูที่ตายและอยู่รอดภายใน 24 ชั่วโมง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

dilution no	ml of stock solution	NSS	dose (µg/mice)	response ratio
1	1.0	1.0	25.0	3/3
2	0.5	1.5	12.5	3/3
3	0.25	1.75	6.25	2/3
4	0.125	1.875	3.125	0/3

NSS หมายถึงสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซนต์

Dose หมายถึงปริมาณพิษงูเห่าที่หนูได้รับต่อตัว

Response ratio หมายถึงอัตราส่วนของจำนวนหนูที่ตายต่อจำนวนหนูทั้งหมด

จากตาราง dilution factor = 2 d = Log 2

จากสูตร $m = X_s - d(Si - 1/2)$

$m = \log LD_{50}$

$X_s = \log \text{dose}$

d = interval between successive log doses

$Si = \Sigma Pi$; Pi = response ratio

$\log LD_{50} = \log 12.5 - \log 2\ (1.66-0.5)$

$= 1.0969 - 0.3010(1.16)$

$= 1.0969 - 0.3492$

$= 0.7477$

$=$ antilog 5.59

ดังนั้น Expected LD_{50} ของพิษงูเห่า = 5.59 ไมโครกรัม (= 6 ไมโครกรัม)

2.2 การหา Exactly LD_{50} ของพิษงูเห่า

เตรียมพิษงูเห่าให้มีความเข้มข้น 24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายโซเดียมคลอไรด์(4 เท่าของ Expected LD_{50}) เป็น stock solution จากนั้นเตรียมพิษงูเห่าให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ดังแสดงในตารางต่อไปนี้ แล้วใช้พิษงูที่เตรียมได้นี้ไปฉีดให้กับหนู (mice) ทางเส้นเลือดดำที่หางจำนวน 0.5 มิลลิลิตร และแต่ละความเข้มข้นใช้หนู 3 ตัว นับจำนวนหนูที่ตายและอยู่รอดภายใน 24 ชั่วโมง

dilution no	ml of stock solution	NSS (ml)	dose (µg/mice)	response ratio
1	3.16	0.84	9.48	6/6
2	2.82	1.18	8.46	6/6
3	2.50	1.50	7.50	4/6
4	2.24	1.76	6.72	4/6
5	2.00	2.00	6.00	4/6
6	1.78	2.22	5.34	4/6
7	1.58	2.42	4.74	1/6
8	1.42	2.58	4.26	0/6

NSS หมายถึงสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซนต์

dose หมายถึงปริมาณพิษงูเห่าที่หนูได้รับต่อตัว

response ratio หมายถึงอัตราส่วนของจำนวนหนูที่ตายต่อจำนวนหนูทั้งหมด

จากตาราง dilution factor = 1.12 d = log 1.12 = 0.05

$$\text{Exactly } LD_{50} = \log 8.46 - 0.05\ (3.83 - 0.5)$$

$$= 0.927 - 0.167$$

$$= 0.76$$

$$= \text{antilog } 5.75$$

Exactly LD_{50} ของพิษงูเห่า = 5.75 ไมโครกรัม

3 การหาความสามารถของเซรุ่มในการต้านฤทธิ์พิษงูโดยวิธีนิวทรัลไลเซชัน

เตรียมพิษงูเห่าให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (0.85 เปอร์เซนต์) เป็น stock solution แล้วเตรียมพิษงูเห่าให้มีความเข้มข้นต่างๆ กัน 3 ความเข้มข้น ดังตัวอย่างในตารางต่อไปนี้

venom (ml)	NSS (ml)	venom concentration (µg/ml)	antiserum (ml)	response ratio
0.12	0.88	60	1	3/3
0.16	0.84	80	1	2/3
0.20	0.80	100	1	0/3

ใช้พิษงูเห่าที่เตรียมได้ 1 มิลลิเมตรผสมกับแอนติเซรุ่ม 1 มิลลิลิตรให้เข้ากันดี นำไปอินคิวเบตที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำ 0.5 มิลลิลิตร ไปฉีดให้กับหนู (mice) ความเข้มข้นละ 3 ตัว นับจำนวนหนูที่ตายและอยู่รอดภายใน 24 ชั่วโมง

จากตาราง Neutralization potency = 80 ไมโครกรัม

แต่ LD_{50} ของพิษงูเห่า(จากข้อ 2.2) = 5.75 ไมโครกรัม

Neutralization potency = 80/5.75 = 13.9 LD_{50}

4. การเตรียมคอลัมน์เซฟฟาโรส - 4 บี

นำเซฟฟาโรส - 4 บีซึ่งพองตัวอยู่แล้วในน้ำกลั่นที่มีโซเดียมเอไซด์ 0.02 เปอร์เซนต์ มาล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซไลน์ pH 7.4 (ข้อ 3.1.5) รอให้เม็ดเจลนอนก้นเหล่าเบัฟเฟอร์ออก ทำเช่นนี้ 3 ครั้ง จากนั้นแช่เจลในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซไลน์ 200 มิลลิลิตร บรรจุเจลในหลอดแก้วขนาด 2.2x40 เซนติเมตรจนกระทั่งได้เจลสูงประมาณ 30 เซนติเมตร ผ่านสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซไลน์ลงในคอลัมน์ที่บรรจุเจลอีก

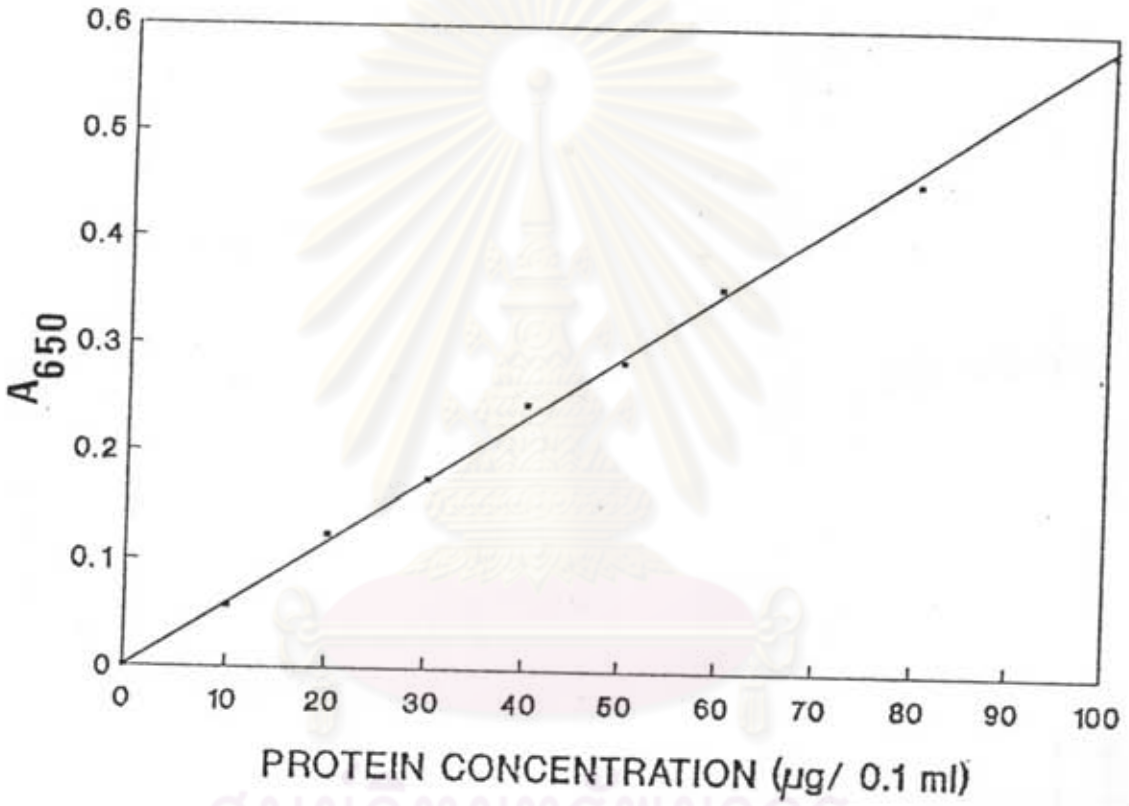
ประมาณ 400 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง ด้วยอัตราการไหล 30 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง เพื่อให้เจลเรียงตัวอยู่ในสภาพสมดุลย์ทดสอบประสิทธิภาพของคอลัมน์ด้วยบลูเด็กซ์แตรน 2000 จำนวน 2 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (0.85 เปอร์เซนต์)

5. การเตรียมคอลัมน์โปรตีนเอ-เซฟฟาโรสซีแอล - 4 บี

แช่โปรตีนเอ-เซฟฟาโรสซีแอล - 4 บี 1.5 กรัมในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซไลน์ pH 7.4 (ข้อ 3.1.5.1) ประมาณ 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง บรรจุเจลในคอลัมน์พลาสติก (plastic syringe)ขนาด 5 มิลลิลิตร จนได้เจลสูงประมาณ 6 เซนติเมตรผ่านสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซไลน์ (ข้อ 3.1.5.1) ลงในคอลัมน์ที่บรรจุเจลประมาณ 100 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิห้อง ด้วยอัตราการไหล 30 มิลลิลิตรต่อชั่วโมงเพื่อให้เจลเรียงตัวอยู่ในสภาพสมดุลย์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 27 กราฟมาตรฐานของโปรตีนโดยวิธีของ Lowry



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาวจันทนา กาญจนวิลาสกุล เกิดวันที่ 12 สิงหาคม พ.ศ. 2505 สำเร็จการศึกษาบริญญาการศึกษาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์กายภาพ-ชีวภาพ) คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เมื่อปี พ.ศ. 2529 ปัจจุบันทำงานในตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย