หนังสืออ้างอิง

1. Lunt, R. 1984. Worldwide early detection of cervical cancer. Obstet. Gynecol. 63: 708-713.
2. สถิติสถาบันมะเร็งแห่งชาติ. Annual report 1991. แผนกวางแผนและงานสถิติ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กระทรวงสาธารณะสุข
3. Wright, T.C, and Richart, R.M. 1990. Role of human papilloma-virus in pathogenesis of genital tract and cancer. Gynecol. Oncol.37: 151-164.
4. Syrijanan, K.J. 1983. Human papillomavirus lesion in asso-ciation with cervical dysplasias and neoplasia. Obstet. Gynecol. 62: 617-624.
5. Kurman, R.M., et al. 1984. Detection of human papilloma-virus by immunocytochemistry. In R.A. DeLellis (ed.), Advances in immunohistochemistry, pp.201-221.Chicaco: Year book medical publishers.
6. Jensen, A.B., et al. 1982. Human papillomavirus: Frequency and distribution in plantar and common warts. Lab. Invest. 47: 491-497.
7. Melnick, J.L., et al. 1952. Electron microscopy of viruses of human papilloma, molluscum contagiosum, and vaccinia, including observations on the formation of virus within the cell. Ann. NY. Acad. Sci. 54: 1214-1225.

8. Taichman, L.B., and La porte, R.F. 1987. The expression of papillomaviruses in epithelial cells. In N.P.Salzman, and P.M. Howleys (eds.), The papovaviridae (vol.2), pp. 109-139., New York: Plenum Publishing corp.

9. Coggin, J.R., and Zur Hausen, H. 1979. Workshop on the papillomaviruses and cancer. Cancer Res. 39: 545-546.

10. De Villiers, E.M. 1989. Heterogeneity of the human pappilomavirus group. J. Virol. 63(11): 4898-4903.

11. Pfister,H. 1987. Human papillomaviruses and genital cancer. Adv. Cancer. Res. 48: 113-147.

12. Zur Hausen, H. 1977. Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 78: 1-30.

13. Boshart, M.L., Gissmann, H., Ikenberg, A., Kleinheinz, W., Scheurlen and zur Hausen,H. 1984. A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines devived from cervical cancer. EMBO. J. 3: 1151-1157.

14. Klug, A., and Finch, J.T. 1965. Structure of viruses of the papilloma-polyoma type I, Human wart virus. J. Mol. Biol. 11: 403-423.

15. Shah, K.V. 1985. Papovaviridae. In B.N. Field. (ed.), Virology. pp. 986-990, New York: Raven Press.

16. Viac, J., Thivolet, J., and Chardonut, Y. 1977. Specific immununity in patients suffering from recurring wart before and after repetitive intradermal tests with human papillmavirus. Br. J. Dermatol. 97: 365-370.

17. Pass, F., and Maisel, J.V. 1973. Wart associated antigens II. human immunity to viral structural proteins. J. Invest. Dermatol. 60: 307-311.

18. Komly, C.A., et al. 1980. The L2 open reading frame of human papillomavirus type 1a encode a minor structural protein carrying type specific antigens. J. Virol. 60: 813-816.

19. Butel, J. 1972. Studies with human papillomavirus models after known papovavirus system. J. Natl. Cancer. Inst. 48: 285-299.

20. Rowson, K.E.K., and Mahy, B.W.J. 1967. Human papova (warts) virus. Bacteriol. Rev. 31: 110-131.

21. Crawford, L.V. 1965. A study of human papillomaviruses DNA. J. Mol. Biol. 13: 362-372.

22. Seedorf, K., et al. 1985. Human papillomavirus type 16 DNA sequence. Virology. 145: 181-185.

23. Lorincz, A., Lancaster, W., and Temple, G. 1986. Cloning and characterization of the DNA of a new human papillomavirus from a woman with dyplasia of uterine cervix. J. Virol. 58: 225-229.

24. Olson, C., and Cook, R.H. 1951. Cutaneous sarcoma-like of the horse caused by the agent of bovine papilloma. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 77: 281-284.

25. Giri, I., et al. 1986. Papilloma virus genomes from sequences data to biological properties. Trends Genet. 2: 227-232.

26. Chow, L.T., et al. 1987. Human papillomavirus type 6 and 11 mRNAs from genital condylomata acuminata. J. Virol. 61: 2581-2588.

27. Campo, M.S. 1980. Viral and cellular oncogenesis in papillomavirus associated cancers. Br. J. Cancer. 9: 80-84.

28. Jenson, A.B., et al. 1980. Immunological relatedness of papillomaviruses from difficult species. J. Natl. Cancer. Inst. 64: 495-500.

29. Drust, M., Kleinheinz, A., and Holz, H. 1985. The physical state of HPV type-16 DNA in benign and malignant genital tumors. J. Gen. Virol. 66: 1515-1522.

30. Zur Hausen, H. and Schneider, A. 1987. The role of papillomaviruses in human anogenital cancer. In P.M., Howley., and N.P. Salzman (eds.), The papillomavirus. (vol.2), pp. 245-263, New York: Plenum Publishing Corp.

31. Campion, M.J., et al. 1986. Progressive potential of mild cervical atypia: Prospective, cytological, colposcopic, and virologic study. Lancet. 2: 237-240.

32. Zur Hausen, H. 1985. Genital papillomavirus infections. Prog. Med. Virol. 32: 5-21.

33. Lorinez, A.T., et.al. 1992. Human papillomavirus infection of the cervix relation risk associations of 15 common anogenital types. Obstet. Gynecol. 79: 328-337.

34. Pfister, H. 1984. Biology and biochemistry of papillomavirus. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 99: 111-181.

35. Koutsky, L.A., Galloway, D.A., and Holmes, K.K. 1988. Epidermiology of genital humapapillomavirus infection. Epidermol. Rev. 10: 123-163.

36. Reid, R., Greenberg, M., Jenson, A.B., et.al. 1987. Sexually transmitted papillomaviral infections I. The anatomic distribution and pathologic grade of neoplasia lesion associated with different viral types. Amer. J. Obstet. Gynecol. 156: 212-222.

37. Low, S.H., et al. 1990. Prevalence of human papillomavirus types 16 and 18 in cervical carcinomas: a study by dot and southern blot hybridization and the polymerase chian reaction. Jpn. J. Cancer. Res. 81 (11): 1118-1123.

38. Bartholoma, N.Y., Adelson, M.D., and Forbes, B.A. 1991. Evaluation of two commercial available nucleic acid hybridization assays for the detection and typing of human papillomavirus in clinical specimens. Am. J. Clin. pathol. 95(1): 21-29.

39. Marcante, M.L., and Vennti, A. 1991. Human papillomavirus DNA as a possible index of invasiveness in female genital tract carcinomas. Eur. J. Cancer. 187-196.

40. Guerrero, E., et al. 1992. Comparison of virapap, southern hybridization and polymerase chain reaction methods for human papillomavirus identification in an epidermiological investigation of cervical cancer. J. Clin. Microbiol. 2951-2959.

41. Smith, K.T. and Campo, M.S. 1985. Papillomaviruses and thier involvement in oncogenesis. Biomed. Pharmacother. 39: 405.

42. Phelps, W.C., Yee, C.L., Munger, K. and Howley, P.M. 1988. The human papillomavirus type-16 E7 gene encodes transactivation functions similar to adenovirus E1a. Cell 53: 539-547.

43. Vousden, K.H., Doniger, J., Dipaolo, J.A. and Lowy, D.R. 1988. The E7 open reading frame of human papillomavirus type-16 encodes a transforming gene. Oncogene. Res. 3: 167-175.

44. Nasseri, M., Gage, J.R., Lorincz, A., and Wettstein, F.O. 1991. Human papillomavirus type 16 immortalized cervical keratinocytes contain transcripts encoding E6, E7, and E2 initiated at the P97 promoter and hifh levels of E7. Virology. 184: 131-140.

45. Band, V., de Caprio, J.A., Delmolino, L., Kulesa, V., and Sager, R. 1991. Loss of p53 protein in human papillomavirus type 16 E6-Immortalized human mammary epithelial cells. J. Virol. 65(12): 6671-6676.

46. Ward, P., Coleman, D.V. and Malcolm, B. 1989. Regulatory mechanism of the papillomaviruses. Trends Genet. 5: 97-99.

47. Werness. B.A., Levine, A.J., and Howley, P.M. 1990. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. Science. 248: 76-79.

48. Schiffner, M., Werness, B.A., Huibregtse, J.M., Levine, A.J. and Howley, P.M. 1990. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus type 16 and 18 promotes the degradation of p53. Cell 63: 1129-1136.

49. Riou, G., et al. 1987. *C-myc* proto-oncogene expression and prognosis in early carcinoma of the uterine cervix. Lancet. 1: 761-763.

50. Pfister, H., and Zur Hausen, H. 1978. Seroepidermiological studies of human papillomavirus (HPV-1) infection. Int. J. Cancer. 21: 161-165.

51. Kienzler, J.L, et al. 1983. Humoral and cell-mediated immunity of human papillomavirus type-1 (HPV-1) in human wart. Br. J. Dermatol. 108: 665-672.

52. Della, T., Pilotti, G.S., de Palo, G., and Filke, F. 1978. Viral particles in cervical condylomata lesions. Tumor 64: 549-553.

53. Roseto, A., et al. 1984. Monoclonal antibodies to the major capsid protein of human papillomavirus typeI. J. Gen. Virol. 65: 1315-1324.

54. Cubie, H.A. 1982. Serological studies in a student population prone to infection with human papilloma-virus. J. Hug. 70: 677-690.

55. Pyrohonen, S., Jablonska, S., Obalek, S., and Kvismanen, E. 1980. Immune reaction in epidermodysplasia verruci-formis. Br. J. Dermatol. 102: 247-254.

56. Morison, W.L. 1975. Viral warts herpes simplex and herpes zoster in patients with secondary immune deficiencies and neoplasia. Br. J. Dermatol. 92: 625-630.

57. Campion, M.J. 1987. Clinical manifestations and natural history of genital human papillomavirus infection. Obstet. Gynecol. Clin. North. Am. 14: 363-388.

58. Giuntoti, R.L., Atkinson, B.E., Erunt, C.S., Rubin, M.M., and Egan, V.S. 1987. Infection and inflammation. In B.E. Atkinson., et al. (eds.) Atkinsons correlations atlas of colposcopy cytology and histopathology. pp. 37-96. Philadelphia: JB lippincott.

59. Jenson, A.B., Kurman, R.J., and Lancaster, W.D. 1985. Detection of papillomavirus common antigens in lesions of skin and mucosa. Clin. Dermatol. 3: 56-63.

60. Southern, E.M. 1975. Detection of specific seqeunce among DNA fragments separated by gel electrophoresis. J. Mol. Biol. 98: 503-517.

61. Lorincz, A. 1987. Detection of human papillomavirus infection by nucleic acid hybridization. Obstet. Gynecol. Clin. North. Am. 14: 451-469.

62. Beckman, A.M., et al. 1985. Detection and localization of human papillomavirus DNA in human genital condylomas by *in situ* hybridization with biotinylated probes. J. Med. Virol. 16: 265-73.

63. Saiki, R.K., et al. 1985. Enzymatic amplification of b-globin genomic sequencs and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Science 230: 1350-1354.

64. Saiki, R.K., Bugawan, T.L., Horn, G.T., Mullis, K.B., and Erlich, H.A. 1986. Analysis of enzymatically amplified b-globin and HLA-DQ DNA with allele-specific oligonucleotide probes. Nature 324: 163-168.

65. Vosberg, H.P. 1989. The polymerase chian reaction: An improved method for the analysis of nucleic acid. Hum. Genet. 83: 1-15.

66. Feinstein, A.R. 1977. Clinical biostatic. St.Louis, Missuri: C.V. Mosby Company, pp. 320-333.

67. ยิ่งมณี บุณยเกียรติ. การตรวจหายีโนมของ Human paillomavirus และ Herpes simplex virus โดยอาศัยเทคนิคอินซิตูไฮบริไดเซชั่น (*in situ* hybridization). ภาคนิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์), คณะเทคนิคการแพทย์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2533

68. Zhang, W., et al. 1991. Detection of HPV-16 DNA in cervical carcinoma by paraffin section *in situ* hybridization. Chin. Med. J. 104(7): 552-556.

69. Yoshikawa, H., et al. 1991. Detection and typing of multiple human papillomavirus by DNA amplification with consensus primers." Jpn. J. Cancer. Res. 82(5): 524-531.

70. Wu, A.M., Ben-Ezra, J., Winberg, C., Colombero, A.M., and Rappaport, H. 1990. Analysis of antigen receptor gene rearangement in ethanol and formaldahyde fixed, paraffin embedded specimens. Lab. Invest. 63(1): 107-114.

71. Gey, G.O., Coffman, W.D., and Kubicek, M.Y. 1952. Tissue culture studies of the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal epithelium. Cancer Res. 12: 264-265.

72. Bauer, H.M., et al. 1991. Genital human papillomavirus infection in female university students as determind by a PCR-based method. JAMA. 265 (4): 472-477.

73. Ausubel, F.M., et al. 1990. Preparation of genomic DNA from mammalian tissue. In F.M. Ausubel (ed.) Current protocols in molecular biology. Vol.1 (Suppl.9), pp.2.21-2.23. New York: John Wiley & Son Press.

74. Sambrook, J., Fritsch, E.F., and Maniatis, T. 1989a. Isolation of DNA from mammalian cells. In C. Nolan (ed.) Molecular cloning: a laboratory manual (2^{nd} ed), pp. 9.16, New York: Cold Spring Harber Press.

75. Maniatis, T., Fritsch, E.F, and Sambrook, J. 1982. Quantitation of DNA and RNA. In C. Nolan (ed.) Molecular cloning: a laboratory manual. pp. 435-478. New York: Cold spring harber Press.

76. Ting, Y, and Manos, M.M. 1990. Detection and typing of genital human papillomaviruses. In M.A. Innis., (ed.) PCR protocol. A guide to methods and applications. pp. 357-367. Sandiago: Academic press Inc.

77. Tsuji, K., Aizawa, M., and Sasazyki, T. 1992. HLA 1991: Proceedings of the eleventh international histocompatibility workshop and conference. vol.2, pp. W3.5-3.33. New York: Oxford University Press.

78. Morrison, E.A.B., Goldberg, G.L., Kadish, A.S., and Burk, R.D. 1992. Polymerase chain reaction detection of human papillomavirus: Quantitation may improve clinical utility. Amer. Soc. Microbiol. 30(10): 2539-2543.

79. Cone, RW. 1992. Assay for viral nucleic acids. In E.H. Lannette (ed.)Laboratory diagnosis of viral infections. chapter 8. , pp. 175-194. New York: Marvel dekker Inc.

80. Sambrook, J., Fritsch, E.F., and Maniatis, T. 1989b. Isolation of DNA from mammalian cells. In C. Nolan (ed.) Molecular cloning: a laboratory manual (2^{nd} ed), pp. 11.45, New York: Cold Spring Harber Press.

81. Pilacinski, W.P., et al. 1984. Cloning and expression in *E.coli* of the bovine papillomaviruses L1 and L2 open reading frames. Biotecnology. 2: 356.

82. Jenkins, A., et al. 1991. Detection of genital papillomavirus types by polymerase chian reaction using common primers. APMIS 99: 667-673.

83. Venuti, A., Marcanti, M.L. 1989. Presence of human papillomavirus type 18 in vulvar carcinomas and its intration into the cell genome. J. Gen. Virol. 70: 1587-1592.

84. Syrjanen, S., Nykanen, M., Kurvinen, K., Lappalainen, K., and Syjanen, K. 1993. HPV consensus primers result in nonspecific amplification. Tenth international meeting of the international society for STD research. Helsinki, Finland. Abstract Book : 5

85. Heller, M.J., et al. 1991. An efficient method for the extraction of DNA from formalin-fixed, paraffin-embedded tissue by sonication. Biotechnology. 3: 372-377.

86. Greer, C.E., Lund, J.K., and Manos, M.M. 1991. PCR amplification from paraffin-embedded tissue: Recommendations on fixatives for long-term storage and prospective studies. PCR Method and Application. 1: 46-50.

87. Tawheed, A.R., Beaudenon, S., and Favre, G. 1991. Characterization of human papillomavirus type 66 from an invasive carcinoma of uterine cervix. J. Clin. Microbiol. 29(11): 2656-2660

88. Hamlam, N., Green, J., Gibson, P., Powis, J., and Bibby, J. 1991. Prevalence of HPV cervical infection in a family planning clinical determined by polymerase chain reaction and dot blot hybridization. J. Med. Virol. 34: 154-158.

89. Pfister, H. 1988. Papovaviridae: The papillomavirus. In E.M. Lennette, P. Halonen, and F.A. Murphy (Eds.)., Laboratory diagnosis of infectious disease : Principles and practice (vol.2)., pp. 301-316. New York: Springer-Verlag New York, Inc.

90. Sedlacek, T.V., et al. 1991. The clinical role of human papillomavirus typing. Gynecol. Oncol. 42: 222-226.

91. Bartholama, N.Y., et al. 1991. Evaluation of two commercial available nucleic acid hybridization assays for the detection and typing of human papillomavirus in clinical specimens. AJCP. 95(1): 21-29.

92. Labeit, D., et al. 1992. Increased detection of HPV-16 virus in invasive, but not in early cervical cancers. J. Med. Virol. 36: 131-135.

93. Horing, U., et al. 1991. Human papillomavirus type 16 in vulvar carcinoma, vulvar intraepithelial neoplasia, and associated cervical neoplasia. Gynecol. Oncol. 42: 22-26.

94. Lauricella-Lafebvre, M.A., et al. 1992. High rate multiple HPV infections detected by DNA hybridization. J. Med. Virol. 36: 265-270.

95. แจ่มใส เพียรทอง และ คณะ. 1992. Prevalence of human papillomavirus in asymtomatic women in khonkaen population. การประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 2, สมาคมไวรัสวิทยา (ประเทศไทย). กรุงเทพ, ประเทศไทย. Abstract book., pp. 30.

96. Franceschi, S., La Vecchia, C., and Decarli, A. 1986. Relation of cervical neoplasia with sexual factors, including specific veneral diseases, In R. Peto, and H. Zur Hausen (Eds.)., Viral etiology of cervical cancer., pp. 65-78. New York: Cold spring Habor press.

97. Reeves, W.C. et al. 1985. Case control study of cervical cancer in Herrera province, Republic of Panama. Int. J. Cancer. 36: 55.

ภาคผนวก ก.
น้ำยา สารเคมี วัสดุอุปกรณ์

1. น้ำยา,สารเคมี และ เอ็นไซม์

Absolute ethanol	(Merck, Germany)
Agarose ultrapure	(BRL, U.S.A.)
Penicillin	(M&H, Thailand)
Streptomycin	(Thai meiji, Thailand)
Bovine serum albumin (Fraction V)	(Sigma, U.S.A)
Chloroform	(Merck, Germany)
dNTPs	(Perkin-Elmer, U.S.A)
Developer (Agfa G-150)	(Agfa, Belgium)
ECL 3'-oligolabelling system (RPN 2130)	(Amersham, U.S.A)
ECL detection system (RPN 2105)	(Amersham, U.S.A)
Ethidium bromide	(Amresco, U.S.A)
Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA)	(Amresco, U.S.A)
Fetal bovine serum (FBS)	(BRL, U.S.A.)
N-2-Hydroxyethylpiperzine-N'-2-ethanesulonic (HEPES)	(Sigma, U.S.A)
Isoamyl alcohol	(Merck, Germany)
Kodak rapid fixer with hardener	(Kodak, U.S.A.)
Minimum essential medium (MEM)	(BRL, U.S.A)

Phenol (Saturated phenol)	(Amresco, U.S.A)
Proteinase K	(Amresco, U.S.A)
Sodium dodecyl sulfate	(Amersco, U.S.A)
Sodium hydroxide (NaOH)	(Merck, Germany)
Sodium chloride (NaCl)	(Merck, Germany)
Sodium citrate	(M&B, England)
Trypsin	(Grand Island, U.S.A)
Taq DNA polymerase (With $MgCl_2$ and PCR buffer)	(Promega, U.S.A)
Tris base (ultrapure)	(Sigma, U.S.A)
Tris HCl	(Sigma, U.S.A)
OX174/Hae III	(BRL, U.S.A)

2. วัสดุภัณฑ์และอื่นๆ

Chromatography 3 MM paper	(Whatman, England)
DEAE ion exchange chromatography (DE-81) paper	(Whatman, England)
Hyperfilm™ X-ray film	(Amersham, U.S.A)
Hybond™-N+ nylon membrane	(Amersham, U.S.A)
Hybridization bag	(BRL, U.S.A)
Polaroid film (no.667)	(Berlijucker, U.S.A)
Tissue culture flask	(Nunc, Denmark)

3. <u>เครื่องมือวิทยาศาสตร์</u>

Autoclave (model S-90N)	(Tomy seiko, Japan)
Biohazard lamina flow (model-BSB 4A)	(Flow lab., Australia)
DNA thermocycler (TC 1)	(Perkin-Elmer, U.S.A)
Incubator type 80	(Memmert, Germany)
Microcentrifuge	(Fotodyne, U.S.A)
Polaroid MP-4 land camera	(Fotodyne, U.S.A)
Power supply (model 200/2.0)	(Bio-Rad, U.S.A)
Sub cell submarine electrophoresis cell	(Bio-Rad, U.S.A)
Spectrophotometer HITACHI U-200	(Hitachi, Japan)
UV transiluminator	(Fotodyne, U.S.A)
Water bath	(GFL 1083)

ภาคผนวก ข.
วิธีการเตรียมน้ำยา

น้ำยาสำหรับการสกัด DNA

1. 10% SDS (w/v), pH 7.2

Sodium dodecyl sulfate	10	g
เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ได้ปริมาตร	100	ml

ปรับ pH ให้ได้ 7.2

2. 0.5 M EDTA pH 8.0

Ethylenediamine tetraaacetic acid	186.1	g
น้ำกลั่น	800	ml
ปรับ pH ให้ได้ 8.0 แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ	1000	ml

นำไปทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธี Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

3. 1 M Tris, pH 7.4, 7.6, และ 8.0

Tris base	121.1	g
น้ำกลั่น	800	ml

ปรับ pH เท่าที่ต้องการด้วย conc. HCl

pH 7.4 เติม conc. HCl	70	ml
pH 7.6 เติม conc. HCl	60	ml
pH 8.0 เติม conc. HCl	42	ml

นำไปทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธี Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

4. Proteinase K (10 mg/ml)

Proteinase K 10 mg/ml ใน น้ำกลั่นปลอดเชื้อ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

5. 3M Na acetate pH 5.2

Na acetate.$3H_2O$	408.1	g
เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	800	ml

ปรับค่า pH โดยใช้ กรด glacial acetic ให้ได้ pH 5.2 แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้ครบ 1000 ml นำไปทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธี Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

6. 5M NaCl

NaCl	292.2	g
เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	800	ml

ทำให้ละลายเข้ากันโดยใช้ เครื่องคน (stirer) แล้วเติมน้ำให้ครบ 1000 ml นำไปทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธี Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

น้ำยาสำหรับงานเพาะเลี้ยงเซลล์

1. 1X MEM medium

10x MEM	10	ml
1 M HEPES (10 mM/ml)	1	ml
Pen/Strep. antibiotics (100 unit/ml)	1	ml
10% $NaHCO_3$	1	ml
FBS	10	ml
น้ำกลั่น 3 ครั้ง	77	ml

ตรวจสอบ sterility โดยนำ medium ที่เตรียมแล้ว 10 ml เข้าตู้อบ 37 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 3 คืน สังเกตว่ามีการปนเปื้อนหรือไม่

2. 10X PBS (phosphate buffer saline)

NaCl	40	g
KCl	1	g
$NaHPO_4$	5.75	g
KH_2PO_4	1	g
น้ำกลั่น 3 ครั้ง	300	ml

ปรับ pH ให้ได้ 7.4 แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 500 ml ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

3. Trypsin versene

10x Typsin	10	ml
1:500 EDTA	10	ml
1x PBS	80	ml

ทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองผ่าน membrane 0.45 um

น้ำยาสำหรับงาน PCR

1. 5X Tris-borate buffer (TBE)

Tris base	54	g
Boric acid	27.5	g
500 mM EDTA, pH 8.0	20	ml

นำไปทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธี Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

2. Ethidium bromide 10 mg/ml

Ethidium bromide	1	g
น้ำกลั่นปลอดเชื้อ	100	ml

ละลาย ethidium bromide โดยใช้ เครื่องคน (stirer)เป็นเวลา 3-4 ชม. หรือจนกว่าสังเกตว่า ethidium bromide ละลายหมด นำมาบรรจุขวด แล้วปิดหุ้มด้วย aluminium foil หรือ บรรจุในขวดสีชา

น้ำยาสำหรับงาน Hybridization

1. 20X SSPE

NaCl	174	g
NaH_2PO_4	27.6	g
EDTA	7.4	g
น้ำกลั่น	800	ml

ปรับ pH ให้ได้ 7.4 ด้วย NaOH ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 1000 ml ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

2. 20X SSC

3M NaCl	175	g
0.3 M Na citrate.$2H_2O$	88	g

เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 มล. แล้วนำไปทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธี Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

3. Hybridization buffer

Hybridization buffer compound (ให้มากับ ECL kit)	0.1	g
Blocking agent (ให้มากับ ECL kit)	0.5	g
10% SDS	0.2	ml

ละลายด้วย 5X SSC ให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml ที่ 50-60 องศาเซลเซียสโดยใช้ เครื่องคน (stirer) สามารถเก็บรักษาไว้ที่ -20 องศาเซลเซียสได้นานอย่างน้อย 3 เดือน

4. Buffer I

5M NaCl	30	ml
1M Tris base	100	ml
น้ำกลั่นปลอดเชื้อ	700	ml

ปรับ pH ให้ได้ 7.5 ด้วย conc. HCl แล้วเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml

5. Buffer II

5M NaCl	80	ml
1M Tris base	100	ml
น้ำกลั่นปลอดเชื้อ	700	ml

ปรับ pH ให้ได้ 7.5 ด้วย conc. HCl แล้วเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml

6. 0.5% (w/v) Blocking reagent

Blocking agent (ให้มากับ ECL kit)	0.5	g

ละลายใน Buffer I ให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml ที่ 50-60 องศาเซลเซียสโดยใช้เครื่องคน (stirer) เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

น้ำยาสำหรับล้างฟิลม์

1. Developer

Developer	100	ml
น้ำ	400	ml

เก็บไว้ในขวดสีชา หรือ ขวดหุ้มด้วย aluminium foil เก็บไว้ที่มืด

2. Fixer

น้ำ	237.5	ml
Fixer (Solution A)	118.3	ml
Fixer (Solution B)	13	ml
น้ำ	106.2	ml

คนให้เข้ากันด้วยเครื่องคน (stirer) แล้วเก็บไว้ในขวดสีชา หรือ หุ้มด้วย aluminium foil เก็บไว้ที่มืด

ประวัติผู้เขียน

นายอภิสิทธิ์ บุญมะนิธิ เกิดวันที่ 16 เมษายน พ.ศ.2509 อำเภอเมือง จังหวัดหนองคาย สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อปีการศึกษา 2531 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2533