

เอกสารอ้างอิง

- การเกิดพอลิอะครีลาไมด์เจลจากสารตั้งต้นอะครีลาไมด์ และบิสอะครีลาไมด์ โดยอาศัยอนุโมลติสรี
เปอร์ซัลเฟต. (2548). ค้นเมื่อ 21 เมษายน 2554, จาก [http://www.siumed.edu/
~bbartholomew/images/chapter6/F06-19.jpg](http://www.siumed.edu/~bbartholomew/images/chapter6/F06-19.jpg)
- เกล็ดเลือดและพลาสมา. (2552). ค้นเมื่อ 21 เมษายน 2554, จาก [http://2.bp.blogspot.com/
_rQcAX82udrs/SsnUuGQGjYI/AAAAAAAAABI/nYxAQT22kRA/s1600/Blood-
centrifugation-scheme.png](http://2.bp.blogspot.com/_rQcAX82udrs/SsnUuGQGjYI/AAAAAAAAABI/nYxAQT22kRA/s1600/Blood-centrifugation-scheme.png)
- จินตนา ประคุกาณจนา. [ม.ป.ป.]. DNA กับนิติงานเวชศาสตร์. ค้นเมื่อ 7 พฤษภาคม 2554, จาก
http://portal.in.th/files/5/3/1/2010/02/04/Book09_7.pdf
- เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ. [ม.ป.ป.]. ค้นเมื่อ 21 เมษายน 2554 จาก
<https://www.myfirstbrain.com/thaidata/image.asp?ID=475907>
- รัฐ รัตนปริคณณ์, วรนาท พราหมณ์กระโทก, สุธรรษา สืบสมาน, อนุสรณ์ สิทธีรักษ์ และอารีย์
ศิวผาย. (2551). ชีววิทยาของมนุษย์และการประยุกต์เชิงนิติวิทยาศาสตร์. ค้นเมื่อ
16 กุมภาพันธ์ 2553, จาก http://www.ajarnpat.com/data/Project_Ex02.pdf
- วัชร ถาวรพงษ์. (2550). การพัฒนา strip เบื้องต้นเพื่อตรวจแยกเลือดคนในสิ่งส่งตรวจทาง
นิติวิทยาศาสตร์. (รายงานโครงการวิจัยหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต). ขอนแก่น:
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- วิธีการเจือจางซีรัมหนูเป็นลำดับเท่า (Serial dilution). [ม.ป.ป.]. ค้นเมื่อ 5 พฤษภาคม 2554, จาก
<http://www.labunlimited.com/Images/Serial-Dilution-tube-to-tube.jpg>
- วิชัย บุญแสง, อัญชลี ทัศนากจร, ชัยณรงค์ วงศ์ธีรทรัพย์, นุศรา สิทธีดิลกรันต์และสกล พันธุ์ยิ้ม.
(2545). ลายพิมพ์ DNA จากสารพันธุกรรมสู่เทคโนโลยีพิสูจน์บุคคล. พิมพ์ครั้งที่ 2.
กรุงเทพฯ: สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.
- วิน เชขชมศรี. [ม.ป.ป.]. ปฏิกริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี. ค้นเมื่อ 16 กุมภาพันธ์ 2553,
จาก <http://pirun.ku.ac.th/~fsciwcc/immune8.pdf>
- ลักษณะเกลียวของดีเอ็นเอและการจับคู่กันของเบสระหว่างดีเอ็นเอ 2 สาย. [ม.ป.ป.]. ค้นเมื่อ
22 เมษายน 2554, จาก [http://science.srru.ac.th/org/scielearning/courseonline/4022503/
chapter6-13.gif](http://science.srru.ac.th/org/scielearning/courseonline/4022503/chapter6-13.gif)

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. (2552). เครื่องหมายดีเอ็นเอ: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรินทร์ เวทย์วิทยานุกัณณ์. [ม.ป.ป.]. อวัยวะและการย่อยในปาก. ค้นเมื่อ 21 เมษายน 2554, จาก <http://www.surin.js.ac.th/index1.html>

สุวิน วงษ์วงษ์. [ม.ป.ป.]. แอนติบอดี (Antibody). ค้นเมื่อ 7 พฤษภาคม 2554, จาก http://202.28.95.5/11Department/micro/public_html/TeachingAid/Suwin/Ab.pdf

อิโรชิ, โมริ. (2552). เลือดถึงมัจฉกรยในร่างกาย. (ศักดิ์ดา คาควง, ผู้แปล). กรุงเทพฯ: สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).

อุทัยวัน โพธิศิริ. (2552). เซลล์เม็ดเลือดแดง. ค้นเมื่อ 18 เมษายน 2554, จาก <http://server.thaigoodview.com/files/u490/news-20070625-131036.jpg>

อรรถพล เข้มสุวรรณ, เทียมศักดิ์ อัครักษ์, ประพัฒน์ พลตรง, สุวิไล คุณาชีวะ, สมชาย ศิริพันธ์ ชัยวัฒน์ เขาวนดี, และคณะ. (2546). นิติวิทยาศาสตร์ 2 เพื่อการสืบสวนสอบสวน Forensic science 2 for crime investigation. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: ทีซีจีพรีนติ้ง.

อรรถพล เข้มสุวรรณ, นุตตมา ขวาลเวชกุล, พรชัย สุธีรคุณ, และสุรชาติ เครือเสนา. (2544). นิติวิทยาศาสตร์ 3 เพื่อการสืบสวนสอบสวน Forensic science 3 for crime investigation. กรุงเทพฯ: ดาวฤกษ์.

อุไรวรรณ วิจารณ์กุลม. (2545). ดีเอ็นเอเทคโนโลยี DNA Technology. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ทรูทไทย.

Abdolalizadeh, J., Majidi, J., & Farajnia, S. (2008). Production and purification of polyclonal antibody against human kappa light chain. *Journal of Biological Sciences* 8, 3, 683-686.

Abovich, M., Arellano, A., Szocs, A., Alcázar, D., Cabeller, S., & Rodriguez Cardozo, M.B. (2009). Allele frequencies of 15 STRs loci in an Argentine population sample. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 2, 369-370.

Bhooapat T. & Steger F. H. (2004). STR loci Penta D and Penta E: data from a Northern Thai population sample. *Legal Medicine*, 6, 174-177.

Bhooapat, T., Leangsiyakul, T., & Steger, F. H. (2006). Forensic value of nine STR loci in Northern Thai. *Legal Medicine*, 8, 198-200.

Björck, L., & Blomberg, J. (1987). Streptococcal protein G: a sensitive tool for detection of antibodies to human immunodeficiency virus proteins in Western blot analysis. *European journal of clinical microbiology & infection diseases*, 6, 428-429.

- Camacho, M. V., Benito, C., & Figueiras, A. M. (2007). Allelic frequencies of the 15 STR loci included in the AmpF/STR[®] Identifiler[™] PCR Amplification Kit in an autochthonous sample from Spain. **Forensic Science International**, 173, 241-245.
- Chris Lee. (2009). ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์. ค้นเมื่อ 20 เมษายน 2554, จาก <http://origin.arstechnica.com/journals/science.media/pcr.jpg>
- Chung, U., Shin, J. K., Park, J. M., Kim, Y. N., Yang, I. W., Cho, H. S. & Lee, Y.H. (2007). Population data of nine miniSTR loci in Koreans. **Forensic Science International**, 168, e51-e53.
- Deng, Y. J., Zhu, B. F., Shen, C. M., Wang, H. D., Huang, J.F., Li, Y. Z., Qin, H. X., Mu, H. F., Su, J., Wu, J., Zhang, B., & Fan, S.L. (2011). Genetic polymorphism analysis of 15 STR loci in Chinese Hui ethnic group residing in Qinghai province of China. **Molecular Biology Reports**, 38, 2315-2322.
- Erna, M., Esther, M. E., Ingrid, S. K., Jose, A. L., & Bruce, B. (2004). Population Data on 15 STR Loci (PowerPlex 16[™] Kit) in a Costa Rica (Central America) Sample Population. **Forensic Science International**, 49, 1-3.
- Esther, M. E., Luis, J. M. G., Francisco, F. R., Carmen, E., Carlos, A., Jose, A.L., Bruc, B., & Myriam O. D. M. (2006). Guatemala Mestizo Population Data on 15 STR Loci (Identifiler[®] Kit). **Forensic Science International**, 51, 1216-1218.
- Heather Wansbrough. [ม.ป.ป.]. **Blood detection by chemical**. ค้นเมื่อ 7 พฤษภาคม 2554, จาก <http://nzic.org.nz/ChemProcesses/biotech/12A.pdf>
- Hurley, P. I., Cook, R., Laughton W. C., Pickles, A. N., Ireland, E. H. & Williams, H. H. J. (2009). Detection of human blood by immunoassay for applications in forensic analysis. **Forensic Science International**, 190, 91-97.
- Jayakrishnan, A., & Jameela, S. R. (1996). Glutaraldehyde as a fixative in bio-prostheses and drug delivery matrices. **Biomaterials**, 17, 471-484.
- Julie Kowalski. [ม.ป.ป.]. **ปฏิกิริยารีดอกซ์ของ Leucomalchite green (LMG)**. ค้นเมื่อ 22 เมษายน 2554, จาก <http://www.thamesrestek.co.uk/technical-articles/foodsfrangrances/77-malachite-green-and-leucomalachite-green-analysis?tmpl=component&print=1&page=>
- Kang, L. L., Zhao, J., Liu, K., & Li, X. (2007). Allele frequencies of 15 STR loci of Tibetan lived in Tibet Lassa. **Forensic Science International**, 168, 236-240.

- Kee, B. P., Lian, L. H., Lee, P. C., Lai, T. X., & Chua, K. H. (2010). Genetic data for 15 STR loci in a Kadazan-Dusun population from East Malaysia. **Genetics and Molecular Research** 10, 2, 739-743.
- Kim, Y. L., Hwang, J. Y., Kim, Y. J., Lee, S., Chung, N. G., Goh, H. G., Kim, C. C., & Kim, D. W. (2003). Allele frequencies of 15 STR loci using AmpF/STR Identifiler kit in a Korean population. **Forensic Science International**, 136, 92-95.
- Letzte Änderung. (2003). โครงสร้างทางเคมีของอะกาโรส แสดงโมเลกุลของ **3,6-anhydrogalactose** สลับกับ **D-galactose**. ค้นเมื่อ 21 เมษายน 2554, จาก https://s10.lite.msu.edu/res/msu/botonl/b_online/ge26/13.gif
- Lilian, D. A. P., Paulo, D. S. O., Fábio, A. S., Sidnei, C. C., Rodrigo, R., Claudia, C. B., Paula, R. P., Luisa, M. V., Alvaro, L., Fabiano, S., & Cláudia, M. D. D. S. (2009). 15 STR loci frequencies in the population from Paraná, Southern Brazil. **Forensic Science International**, 4, e23-e24.
- Pascual, F. A. V., & Grifo, M. S. G. (1995). Investigation of bloodstains: false negative results of the benzidine test. **Forensic Science International**, 71, 85-86.
- Schweers, A. B., Old, J., Boonlayangoor, P. W., & Karl, A. R. (2007). Developmental validation of a novel lateral flow strip test for rapid identification of human blood Rapid Stain Identification™-Blood). **Forensic Science International: Genetics**, 2, 243-247.
- Siwaporn, L. (2010). **Development of Strips for Human Blood Identification in Forensic Science Specimen**. Master thesis in Biochemistry, Graduate school, Khon Kaen University.
- Tokiwa, K., Niitsu, H., Tajima, M., & Katsura, S. (1990). Rapid and sensitive identification of human blood by ELISA-ABC method using a biotinylated antibody against human HbA0. **Z Rechtsmed**, 103, 329-334.
- Wang, L., Mah, K. Z., & Ghosh, R. (2009). Purification of human IgG using membrane based hybrid bioseparation technique and its variants: A comparative study. **Separation and Purification Technology**, 66, 242-247.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมีและบัฟเฟอร์สำหรับการทำปฏิกิริยาและการวิเคราะห์ผล
อิมมูโนโกลบูลิน จี

1. **30%T, 2.6%C Acrylamide/Bis**

Acrylamide 87.60 g

N, N-bis-methylene-Acrylamide 2.40 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 150 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 300 ml เก็บในขวดสีชาที่ 4°C

2. **10% Ammonium Persulfate (APS)**

APS 0.1000 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 1 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน เก็บที่ 4°C

3. **Bradford Dye**

Coomassie brilliant blue G250 100 mg

95% Ethanol 50 ml

85% Phosphoric acid 100 ml

ละลาย Coomassie brilliant blue G250 ใน 95% Ethanol ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกันเติม 85% Phosphoric acid. ผสมให้เข้ากัน ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml แล้วกรองสารละลายด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

4. **0.1% Coomassie Brilliant Blue R-250**

Coomassie Brilliant Blue R-250 0.1000 g

ละลายด้วย Methanol 40 ml ละลายให้เป็นสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเติม Glacial acetic acid 10 ml แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 50 ml เก็บที่อุณหภูมิห้อง

5. **Destain Solution**

Methanol 400 ml

Acetic acid 100 ml

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml เก็บที่อุณหภูมิห้อง

6. **5X Electrode Buffer, pH 8.3**

Tris-base 15.00 g

Glycine 72.00 g

SDS 5.00 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 800 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml เก็บที่ 4°C

7. **1X Electrode Buffer, pH 8.3**

เจือจาง 5X Electrode buffer 80 ml, pH 8.3 ในน้ำกลั่นสองครั้ง แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 400 ml เก็บที่อุณหภูมิห้อง

8. **0.2 mM Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)**

EDTA 7.448 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml

9. **Low Molecular Weight Marker**

ละลาย Low Molecular Weight Marker ใน 1X Solubilizing buffer with β -mercaptoethanol 200 μ l หรือ 2X Solubilizing buffer with β -mercaptoethanol 100 μ l เติมน้ำกลั่นสองครั้ง 100 μ l. ผสมให้เข้ากัน ที่ 100°C เป็นเวลา 5 นาที แล้วเก็บที่ 4°C

10. **10X phosphate buffer saline, pH 7.4 (PBS)**

KCl 0.3725 g

NaCl 8.0730 g

KH₂PO₄ 0.0409 g

Na₂HPO₄ 0.0426 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml

11. 1X Phosphate Buffer Saline, pH 7.4 (PBS)

เจือจาง 10X phosphate buffer saline 10 ml ด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง แล้วปรับปริมาตร
สุดท้ายเป็น 100 ml

12. 13% Separating Gel SDS-PAGE (1 gel)

Acrylamide/Bis (30%T)	1,734	μl
1.5 M Tris-HCl, pH 8.8	1,000	μl
Double distilled water	1,200	μl
10% SDS	40	μl
10% APS	26	μl
TEMED	2.5	μl

ปีปเตตสารทั้งหมด แล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นเทสารลงในช่องเตรียมเจล 3 ใน 4
ส่วน แล้วเติมน้ำกลั่นด้านบน ทิ้งไว้ 3 ชั่วโมงให้เจลแข็งตัวอย่างสมบูรณ์

13. 4% Separating Gel SDS-PAGE (1 gel)

Acrylamide/Bis (30%T, 2.6%C)	265	μl
0.5 M Tris-HCl, pH 6.8	500	μl
Double distilled water	1,215	μl
10% SDS	20	μl
10% APS	12.5	μl
TEMED	6.25	μl

ปีปเตตสารทั้งหมด แล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นเทสารลงในช่องเตรียมเจล แล้วใส่
Comb ทิ้งไว้ 30 นาทีให้เจลแข็งตัวอย่างสมบูรณ์

14. 10% Sodium Dodecyl Sulphate (SDS)

SDS 10.00 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 80 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน แล้วปรับ
ปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml เก็บที่อุณหภูมิห้อง

15. **2X Solubilizing Buffer (SB) with β -Mercaptoethanol**

ปิเปต β -mercaptoethanol 50 μ l ใน 2X Solubilizing buffer 1,000 μ l เก็บที่ 4°C

16. **1X Solubilizing Buffer (SB) with β -Mercaptoethanol**

เจือจาง 2X Solubilizing buffer with β -mercaptoethanol 500 μ l ในน้ำกลั่น
สองครั้ง 500 μ l เก็บที่ 4°C

17. **0.1% Triton X buffer**

1 M Tris-HCl, pH 7.4 1ml

5 M NaCl 3 ml

1% triton-X 100 0.1 ml

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml เก็บที่ 4°C

18. **0.1 mM Tris-glycine, pH 3**

Glycine 0.7507 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 80 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน ปรับ pH ให้
เป็น pH 3.0 แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml เก็บที่ 4°C

19. **0.5 M Tris-HCl, pH 6.8**

Tris-base 6.0570 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 80 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน ปรับ pH 6.8
ด้วย cont.HCl แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml เก็บที่ 4°C

20. **M Tris-HCl, pH 8.8**

Tris-base 18.17 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 80 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน ปรับ pH 8.8
ด้วย cont.HCl แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml เก็บที่ 4°C

21. 1 M Tris-HCl, pH 9.0

Tris-base 6.0570 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 80 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน ปรับ pH 9.0
ด้วย cont.HCl แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml เก็บที่ 4°C

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมีและบัฟเฟอร์สำหรับแอนติบอดีและ Western immunoblotting

1. **30%T, 2.6%C Acrylamide/Bis**

Acrylamide 87.60 g

N, N-bis-methylene-Acrylamide 2.40 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 150 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน แล้วปรับ
ปริมาตรสุดท้ายเป็น 300 ml เก็บในขวดสีชาที่ 4°C

2. **0.1% Amido Black**

Amido Black 0.1 g

Acetic acid 10 ml

Methanol 45 ml

ละลายให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml

3. **10% Ammonium Persulfate (APS)**

APS 0.1000 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 1 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน เก็บที่ 4°C

4. **5% Blocking Solution**

Skim milk 1.0 g

ละลายใน 1X TBST 20 ml ผสมให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

5. **Bradford Dye**

Coomassie brilliant blue G250 100 mg

95% Ethanol 50 ml

85% Phosphoric acid 100 ml

ละลาย Coomassie brilliant blue G250 ใน 95% Ethanol ผสมให้เป็นสารละลาย
เป็นเดียวกัน เติม 85% Phosphoric acid. ผสมให้เข้ากัน ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น
1000 ml แล้วกรองสารละลายด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บไว้ในขวดสีชาที่
อุณหภูมิห้อง

6. **Carbonate buffer, pH 9.5**

Na₂CO₃ 0.40 g

NaHCO₃ 0.73 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 200 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน ปรับ pH ให้เป็น pH 9.5 แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 250 ml เก็บที่ 4°C

7. **0.1% Coomassie Brilliant Blue R-250**

Coomassie Brilliant Blue R-250 0.1000 g

ละลายด้วย Methanol 40 ml ละลายให้เป็นสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเติม Glacial acetic acid 10 ml แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 50 ml เก็บที่อุณหภูมิห้อง

8. **Destain Solution**

Methanol 400 ml

Acetic acid 100 ml

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml เก็บที่อุณหภูมิห้อง

9. **5X Electrode Buffer, pH 8.3**

Tris-base 15.00 g

Glycine 72.00 g

SDS 5.00 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 800 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml เก็บที่ 4°C

10. **1X Electrode Buffer, pH 8.3**

เจือจาง 5X Electrode buffer 80 ml, pH 8.3 ในน้ำกลั่นสองครั้ง แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 400 ml เก็บที่อุณหภูมิห้อง

11. **500 Units/ml Heparin**

Heparin (10,000 units/g) 0.025 g

ละลาย Heparin ใน PBS buffer, pH 7.4 500 μ l เก็บที่ 4°C

12. **1 unit/ml Heparin**

เจือจาง 500 units/ml Heparin 100 μ l ใน PBS buffer, pH 7.4. ปรับปริมาตรสุดท้าย เป็น 50 ml เก็บที่ 4°C

13. **Low Molecular Weight Marker**

ละลาย Low Molecular Weight Marker ใน 1X Solubilizing buffer with β -mercaptoethanol 200 μ l หรือ 2X Solubilizing buffer with β -mercaptoethanol 100 μ l เติมน้ำกลั่นสองครั้ง 100 μ l. ผสมให้เข้ากัน ที่ 100°C เป็นเวลา 5 นาที แล้ว เก็บที่ 4°C

14. **1M MgCl₂·6H₂O**

MgCl₂·6H₂O 40.66 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 200 ml

15. **5 M NaCl**

NaCl 73.05 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 250 ml

16. **1 mg/ml *p*-Nitrophenyl Phosphate (ELISA Substrate)**

p-Nitrophenyl Phosphate 1.0 mg

ละลายใน Substrate buffer, pH 9.5. 1 ml ผสมให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

17. **10X phosphate buffer saline, pH 7.4 (PBS)**

KCl	0.3725 g
NaCl	8.0730 g
KH ₂ PO ₄	0.0409 g
Na ₂ HPO ₄	0.0426 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml

18. **1X Phosphate Buffer Saline, pH 7.4 (PBS)**

เจือจาง 10X phosphate buffer saline 10 ml ด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml

19. **13% Separating Gel SDS-PAGE (1 gel)**

Acrylamide/Bis (30%T)	1,734 μl
1.5 M Tris-HCl, pH 8.8	1,000 μl
Double distilled water	1,200 μl
10% SDS	40 μl
10% APS	26 μl
TEMED	2.5 μl

ปีปเตตสารทั้งหมด แล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นเทสารลงในช่องเตรียมเจล 3 ใน 4 ส่วน แล้วเติมน้ำกลั่นด้านบน ทิ้งไว้ 3 ชั่วโมงให้เจลแข็งตัวอย่างสมบูรณ์

20. **4% Separating Gel SDS-PAGE (1 gel)**

Acrylamide/Bis (30%T, 2.6%C)	265 μl
0.5 M Tris-HCl, pH 6.8	500 μl
Double distilled water	1,215 μl
10% SDS	20 μl
10% APS	12.5 μl
TEMED	6.25 μl

ปีปเตตสารทั้งหมด แล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นเทสารลงในช่องเตรียมเจล แล้วใส่ Comb ทิ้งไว้ 30 นาทีให้เจลแข็งตัวอย่างสมบูรณ์

21. **10% Sodium Dodecyl Sulphate (SDS)**

SDS 10.00 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 80 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml เก็บที่อุณหภูมิห้อง

22. **Substrate Buffer, pH 9.5**

2 M Tris-HCl, pH 9.5 50 ml

5 M NaCl 20 ml

1 M MgCl₂·6H₂O 50 ml

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml เก็บที่ 4°C

23. **2X Solubilizing Buffer (SB) with β -Mercaptoethanol**

ปิเปต β -mercaptoethanol 50 μ l ใน 2X Solubilizing buffer 1,000 μ l เก็บที่ 4°C

24. **1X Solubilizing Buffer (SB) with β -Mercaptoethanol**

เจือจาง 2X Solubilizing buffer with β -mercaptoethanol 500 μ l ในน้ำกลั่นสองครั้ง 500 μ l เก็บที่ 4°C

25. **Substrate Solution for Western Immunoblotting**

NBT 30 μ l

BCIP 30 μ l

ปิเปตลงใน Substrate buffer, pH 9.5 5 ml เก็บในที่มืด เตรียมก่อนใช้งาน

26. **10X TBS buffer**

Tris-base 12.1 g

NaCl 87.8 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 800 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml เก็บที่ 4°C

27. **1X TBS buffer**

เจือจาง 10X TBS 100 ml ด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml เก็บที่ 4°C

28. **1X TBST buffer**

เจือจาง 10X TBS 100 ml ด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง เติม Tween-20 250 µl แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml เก็บที่ 4°C

29. **Transfer Buffer (Towin Buffer)**

Glycine 0.586 g

Tris-base 1.162 g

Methanol 40 ml

ละลาย Glycine และ Tris-base ด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 100 ml เติม Methanol แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml เก็บที่อุณหภูมิห้อง

30. **0.5 M Tris-HCl, pH 6.8**

Tris-base 6.0570 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 80 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน ปรับ pH 6.8 ด้วย cont.HCl แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml เก็บที่ 4°C

31. **1.5 M Tris-HCl, pH 8.8**

Tris-base 18.17 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 80 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน ปรับ pH 8.8 ด้วย cont.HCl แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 ml เก็บที่ 4°C

32. **2 M Tris-HCl, pH 9.5**

Tris-base 48.456 g

ละลาย Tris-base ด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง 120 ml ปรับ pH ให้เป็น pH 9.5 แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 200 ml

ภาคผนวก ค

การเตรียมสารเคมีและบัฟเฟอร์สำหรับการสกัดและการวิเคราะห์ผลดีเอ็นเอ

1. **40%T, 5%C Acrylamide/Bis**

Acrylamide 95.0 g

N, N-bis-methylene-Acrylamide 5.0 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง (DDW autoclave) 150 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็น
เดียวกัน แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 250 ml เก็บในขวดสีชาที่ 4°C

2. **0.8% Agarose gel**

Agarose 0.16 g

ละลายใน 1×TAE buffer 20 ml นำไปให้ความร้อนด้วย Microwave 1 นาที แล้วเท
สารลงในถาด (Tray) ที่มี Comb วางอยู่ ทิ้งไว้ 45 นาที ให้เจลแข็งตัวอย่างสมบูรณ์

3. **10% Ammonium Persulfate (APS)**

APS 0.1000 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง (DDW autoclave) 1 ml ผสมให้เป็นสารละลายเป็น
เดียวกัน เก็บที่ 4°C

4. **Bromophenol blue/xylene**

Bromophenol blue 0.05 g

Xylene 0.05 g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง (DDW autoclave) ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน
แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 10 ml เก็บที่ 4°C

5. **Denate dye**

Urea 2.4 g

Sucrose 5.0 g

Bromophenol blue/xylene 2 ml

0.5 M EDTA, pH 8.0 2 ml

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง (DDW autoclave) ผสมให้เป็นสารละลายเป็นเดียวกัน
แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 10 ml เก็บที่ -20°C

6. 8% Denaturing gel SDS-PAGE (1 gel)

Urea	4.5	g
Double distilled water (DDW autoclave)	2,500	μ l
5X TBE buffer	2,000	μ l
Acrylamide/Bis (40%T)	2,000	μ l
10% APS	100	μ l
TEMED	8	μ l

ชั่ง Urea แล้วเติม น้ำกลั่นสองครั้ง (DDW autoclave) และ 5X TBE buffer นำไปให้ความร้อนที่ 50°C จนกระทั่งสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วบีบเปิดสารที่เหลือผสมให้เข้ากัน จากนั้นเทสารลงในช่องเตรียมเจลใส่ Comb ทิ้งไว้ 3 ชั่วโมงให้เจลแข็งตัวอย่างสมบูรณ์

7. 0.5 M EDTA, pH 8.0

EDTA	46.525	g
------	--------	---

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง (DDW autoclave) จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 200 ml เก็บที่ 4°C

8. λ Hind III Marker

500 ng/ μ l λ DNA	10	μ l
10 \times buffer kit	10	μ l
Hind III enzyme	10	μ l

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง (DDW autoclave) จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 μ l นำไป Incubate 37°C ข้ามคืน แล้วเก็บที่ -20°C

9. Loading Buffer

Bromophenol blue	0.025	g
Xylene Cyanol FF	0.025	g
Sucrose	3.0	g

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง (DDW autoclave) จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 10 ml เก็บที่ 4°C

10. 30 mg/ml Proteinase K

Proteinase K	30	mg
--------------	----	----

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง (DDW autoclave) 1 ml จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เตรียมก่อนใช้งาน เก็บที่ -20°C

11. 5 mg/ml RNase A

RNase A	5	mg
---------	---	----

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง (DDW autoclave) 1 ml จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เก็บที่ -20°C

12. 50X TAE Buffer

Tris-base	121.0	g
-----------	-------	---

Glacial acetic acid	28.5	ml
---------------------	------	----

0.5 M EDTA, pH 8.0	50	ml
--------------------	----	----

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง (DDW autoclave) จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 500 ml เก็บที่ 4°C

13. 1X TAE Buffer

เจือจาง 50X TAE buffer 20 ml ด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง (DDW autoclave) ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml เก็บที่อุณหภูมิห้อง

14. 5X TBE Buffer

Tris-base	54.0	g
-----------	------	---

Boric acid	27.5	ml
------------	------	----

0.5 M EDTA, pH 8.0	20	ml
--------------------	----	----

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง (DDW autoclave) จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml เก็บที่ 4°C

15. 10X TBE Buffer

Tris-base	108	g
Boric acid	55	ml
0.5 M EDTA, pH 8.0	40	ml

ละลายด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง (DDW autoclave) จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml เก็บที่ 4°C

16. 1X TBE Buffer

เจือจาง 10X TAE buffer 100 ml ด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง (DDW autoclave) ปรับ
ปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 ml เก็บที่อุณหภูมิห้อง

ภาคผนวก ง
ลำดับเบสของ Primer

ลำดับเบสของ Primer ที่ใช้ทำ PCR แต่ละตำแหน่ง

ตำแหน่งของ STR	ลำดับเบส
D8S1179	Forward: (5'-TTT TTG TAT TTC ATG TGT ACA TTC G-3') Reverse: (5'-CGT AGC TAT AAT TAG TTC ATT TTC A-3')
D5S818	Forward: (5'-GGG TGA TTT TCC TCT TTG GT-3') Reverse: (5'-TGA TTC CAA TCA TAG CCA CA-3')
D7S820	Forward: (5'-TGT CAT AGT TTA GAA CGA ACT AAC G-3') Reverse: (5'-CTG AGG TAT CAA AAA CTC AGA GG-3')
TPOX	Forward: (5'-CAC TAG CAC CCA GAA CCG TC-3') Reverse: (5'-CCT TGT CAG CGT TTA TTT GCC-3')
D3S1358	Forward: (5'-ACT GCA GTC CAA TCT GGG T-3') Reverse: (5'-ATG AAA TCA ACA GAG GCT TG-3')
D13S317	Forward: (5'-ACA GAA GTC TGG GAT GTG GA-3') Reverse: (5'-GCC CAA AAA GAC AGA CAG AA-3')
vWA	Forward: (5'-CCC TAG TGG ATA AGA ATA ATC-3') Reverse: (5'-GGA CAG ATG ATA AAT ACA TAG GAT GGA TGG-3')
TH01	Forward: (5'-GTG GGC TGA AAA GCT CCC GAT TAT-3') Reverse: (5'-GTG ATT CCC ATT GGC CTG TTC CTC-3')
CSF1PO	Forward: (5'-CCG GAG GTA AAG GTG TCT TAA AGT-3') Reverse: (5'-ATT TCC TGT GTC AGA CCC TGT T-3')
D16S539	Forward: (5'-GGG GGT CTA AGA GCT TGT AAA AAG -3') Reverse: (5'-GTT TGT GTG TGC ATC TGT AAG CAT GTA TC-3')

การเผยแพร่ผลงานวิทยานิพนธ์

การเสนอผลงานแบบ Oral presentation

1. วราภรณ์ สีสัน, เขมิกา ลมไธสง, สมปอง ธรรมศิริรักษ์, อาคม เกษร, ศักดา ดาดวง. (2553). การผลิตโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่ออิมโมโนโกลบูลินของมนุษย์เพื่อใช้พัฒนา Strip สำหรับตรวจพิสูจน์เลือดคนจากสิ่งส่งตรวจทางนิติวิทยาศาสตร์. ใน The Science Society of Thailand under the Patronage of His Majesty the King, Thammasat University, (editors). **The Congress on Science and Technology of Thailand (STT 36)**; 26-28 October 2010. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

การเสนอผลงานแบบ Poster presentation

1. วราภรณ์ สีสัน, โสภิดา สุขประเสริฐ, ปรุฬห์ภรณ์ อินค้ำน้อย, นันทวัน เอื้อวงศ์, เขมิกา ลมไธสง, สมปอง ธรรมศิริรักษ์, อาคม เกษร, ศักดา ดาดวง. (2554). การตรวจพิสูจน์บุคคลของ STR 10 ตำแหน่งจากสิ่งส่งตรวจประเภทเลือดด้วยเทคนิคพีซีอาร์. ใน บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ร่วมกับเครือข่ายอุดมศึกษาภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน, (บรรณาธิการ). **การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 12**; 28 มกราคม 2554. ขอนแก่น: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
2. Waraporn Sisan, Sophida Sukprasert, Paroonkorn Incamnoi, Nunthawun Uawonggul, Khemika Lomthaisong, Sompong Thammasirirak, Akhom Kesorn and Sakda Daduang. (2011). Human Identification of 10 STR Loci from hair roots and saliva specimen by PCR technique. In: Faculty of Science, Khon Kean University, Souphanouvong University, Luang Prabang, Lao PDR, Faculties of Science, National University of Laos, Lao PDR, Khon Kean University, Nong Khai Campus, Thailand, Rajabhat Mahasarakham University, Thailand and Faculty of Science and Technology, Loei Rajabhat University, Thailand, (editor). **The Second International Conference on Applied Science (2nd ICAS) and The Third International Conference on Science and Technology for**

Sustainable Development of the Greater Mekong Sub-region (3rd STGMS);
24-25 March 2011. Souphanouvong University, Luang Phabang, Lao PDR:Khon
Kean University.

ประวัติผู้เขียน



นางสาววราภรณ์ สีสัน

วัน เดือน ปีเกิด 17 ตุลาคม 2528

ภูมิลำเนา 45 หมู่ 9 ตำบลพิมาย อำเภอปรางค์กู๋ จังหวัดศรีสะเกษ

การศึกษา

ปริญญาตรี (ปี พ.ศ. 2547-2551) ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ผลงานทางวิชาการ

Atit Jirochphakorn, Saisamorn Lumlong , Duangdao Sattayakul, Matana Kacha, Nithiporn Luckhasorn, **Waraporn Sisan**, Rungnapa Tipakontitikul, Anuson Niyampan, Anchana Sangthong, Usa Onthong Pompan Pungpo. Structural Characterization of Thai Natural Zeolites by using XRD and XRF Techiques and Their Environmental Applications for Zinc Removal from Aqueous Solution: Laboratory Scale. In: PACCON 2008 Organizing Committee Head of Chemistry Department, Faculty of Science, Kasetsart University, (editor). **Proceeding of PACCON 2008 (Pure and Applied Chemistry International Conference) Bangkok, Thailand.**; Jan 30 – Feb 1, 2008, Sofitel Centara Grand Bangkok, Bangkok, Thailand: Kasetsart University.; 2008. 447-450.

