

รายการอ้างอิง

- Abbas, A.K., Litchman, A.H. and Pober, J.S. 2000. Cytokines. In: cellular and molecular immunology, 4th ed. Philadelphia : W.B. Saunders, pp. 235-269.
- Alexander,D.J., Parson, S.G. and Manvell, R.J. 1986. Experimental assessment of the pathogenicity of eight avian influenza A viruses of H5 subtype for chickens, turkeys, ducks and quail. Avian Pathol. 15: 647-662.
- Almeida, J.D., Brand, C.M., Edwards, D.C. and Heath, T.D. 1975. Formation of virosome from influenza subunits and liposomes. Lancet, 2: 899-901.
- Bahnemann, H.G. 1990. Inactivation of viral antigens for vaccine preparation with particular reference to the application of binary ethyleanimine. vaccine 8. : 299-303.
- Bron, R., Ortiz, A., Dijkstra, J., Stegmann, T. and Wilschut, J. 1993. Preparation, properties, and applications of reconstituted influenza virus envelopes (virosomes). Methods. Enzymol. 220: 313-331.
- Brown, F., Meyer, R.F., Law, M., Kramer, E., and Newman, J.F.E. 1998. A universal virus inactivant for decontaminating blood and biopharmaceutical products. Biologicals. 26: 39-47.
- Brown, I.H. 2001. The pig as an intermediate host for influenza A virus between birds and humans. International Congress Series. 1219: 173-178
- Burrage, T., Kramer, E., and Brown, F. 2000. Structural differences between foot-and-mouth disease and papillomyelitis viruses influence their inactivation by aziridines. Vaccine. 18: 2454- 2461.
- Bungener, L., Serre, K., Bijl, L., Leserman, L., Wilschut, J., Daemen, T. and Machy, P. 2002. Virosome-mediated delivery of protein antigens to dendritic cells. Vaccine. 20: 2287-2295.
- Capua, I. and Marangon, S. 2003. The use of vaccination as an option for the control of avian influenza. Avian Pathol. 32: 335-343.
- Capua, I., Terregino, C., Cattoli, G. and Toffan, A. 2004. Increased resistance of vaccinated turkeys to experimental infection with an H7N3 low pathogenicity avian influenza virus. Avian Pathol. 33: 158-163.
- Capua, I. and Marangon, S. 2004. Vaccination for avian influenza in Asia. Vaccine. 22: 4137-4138.

- Chen, H., Deng, G., Li, Z., Tian, G., Li, Y., Jiao, L., Liu, Z., Webster, R.G. and Yu, K. 2004. The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in Southern China. PNAS. 101: 10452-10457.
- Choi, Y.K., Nguyen, T.D., Ozaki, H., Webby, R.J., Puthavathana, P., Buranathai, C., Chaisingham, A., Auewarakul, P., Hanh, N.T.H., Ma, S.K., Hui, P.Y., Guan, Y., Peiris, J.S.M. and Webster, R.G. 2005. Studies on H5N1 influenza virus infection of pigs by using viruses isolated in Vietnam and Thailand in 2004. J. Virol. 79: 10821-10825.
- Crawford, J., Wilkinson, B., Vosnesensky, A., Smith, G., Garcia, M., Stone, H. and Perdue, M.L. 1999. Baculovirus-derived hemagglutinin vaccines protect against lethal influenza infections by avian H5 and H7 subtypes. Vaccine. 17:2265-2274.
- Davison, S., Benson, C.E., Ziegler, A.F. and Eckroade, R.J. 1999. Evaluation of disinfectants with the addition of antifreezing compounds against nonpathogenic H7N2 avian influenza virus. Avian Dis. 43: 533-7.
- Easterday, B.C., Hinshaw, V.S. and Halvorson, D.A. 1997. Influenza. In: Diseases of poultry. 10th ed. Calnek, B.W. (ed.) Iowa State University Press, Ames, USA. p: 583-605.
- Fouchier ,R.A., Osterhaus, A.D. and Brown, I.H. 2003. Animal influenza virus surveillance. Vaccine. 21: 1754-1757.
- Fouchier, R.A., Munster, V., Wallensten, A., Bestebroer, T.M., Herfst, S., Smith., D., Rimmelzwaan, G.F., Olsen, B. and Osterhaus, A.D. 2005. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype 16 (H16) obtained from black-headed gulls. J. Virol. 79: 2814-2822.
- Gao, W., Soloff, A.C., Lu, X., Montecalvo, A., Nguyen, D.C., Matsuoka, Y., Robbins, P.D., Swayne, D.E., Donis, R.O., Katz, J.M., Barratt-Boyes, S.M. and Gamblotto, A. 2006. Protection of mice and poultry from lethal H5N1 avian influenza virus through adenovirus-based immunization. J. Virol. 80: 1959-1964.
- Gavorkova, E.A., Rehg, J.E., Krauss, S., Yen, H.L., Guan, Y., Peiris, M., Nguyen, T.D., Hanh, T.H., Puthavathana, P., Long, H.T., Buranathai, C., Lim, W., Webster, R.G. and Hoffmann, E. 2005. Lethality to ferrets of H5N1 influenza virus isolated from human and poultry in 2004. J. Virol. 79: 2191-2198.
- Griffith, O.M. 1986. Techniques of preparative, zonal, and continuous flow ultracentrifugation. Application Research Department, Spinco Division, Beckman Instruments, Inc. p. 1-50.

- Gluck, R. and Metcalfe, I.C. 2002. New technology platforms in the development of vaccines for the future. Vaccine, 21: 611-615.
- Gluck, R. and Metcalfe, I.C. 2003. Novel approaches in the development of immunopotentiating reconstituted influenza virosomes as efficient antigen carrier system. Vaccine, 21: 611-615.
- Hanson, C.V. 1982. Medical Virology : Inactivation of viruses for use as vaccines and immunodiagnostic reagents (Newyork:Elsever Biomedical,), p.45.
- Havorson,D.A. 2002. The control of H5 or H7 mildly pathogenic avian influenza: a role for inactivated vaccine. Avian Pathol. 31: 5-12.
- Hilleman, M.R. 2002. Realities and enigmas of human viral influenza: pathogenesis, epidemiology and control. Vaccine, 20: 3068-3087.
- Hoffmann, E., Lipatov, A.S., Webby, R.J., Govorkova, E.A. and Webster, R.G. 2005. Role of specific hemagglutini amino acids in the immunogenicity and protection of H5N1 influenza virus vaccines. PNAS, 102: 12915-12920.
- Homhuan, A., Prakorngpan, S., Poomvises, P., Maas, R.A., Crommelin, D.J.A., Keraten, G.F.A. and Jiskoot, W. 2004. Virosome and ISCOM vaccine against Newcastle disease: preparation, characterization and immunogenicity. Euro. J. Pharmaceu. Sci. 22: 459-468.
- Huckriede, A., Bungener, L., Veer, W., Holtrop, M., Daemen, T., Palache, M. and Wilschut, J. 2003. Influenza virosomes: combining optimal presentation of hemagglutinin with immunopotentiating activity. Vaccine, 21: 925-931.
- Ito, T., Godo, H., Yamamoto, E., Tanaka, H., Takeuchi, M., Kuwayama, M., Kawaoka, Y. and Otsuki, K. 2001. Generation of highly pathogenic avian influenza A virus from an avirulent field isolate passaging in chickens. J. Virol. 75: 4439-4443.
- Jameson, J., Cruz, J. and Ennis, F.A. 1998. Human cytotoxic T-lymphocyte repertoire to influenza A virus. J. Virol. 72: 8682-8689.
- Janeway, C.A. and Trevors, P. 1994. Host defense against infection and structure of the antibody molecule and immunology genes. In: Immunology : the immune system in health and disease. London : Current Biology limited, pp. 3.1-3.29, 9.1-9.25.
- Johansson, B. and Kilbourne, E.D. 1996. Immunization with dissociated neuraminidase, matrix, and nucleoproteins from influenza A virus eliminates cognate help and antigenic competition. Virol. 225: 136-144

- Kapczynski, D.R. and Tumpey, T.M. 2003. Development of a virosome vaccine for Newcastle disease virus. *Avian Dis.* 47: 578 -587.
- Kapczynski, D.R. 2004. Development of a virosome vaccine against avian metapneumovirus subtype C for protection in turkeys. *Avian Dis.* 48: 332 -343.
- Keawcharoen, J., Oraveekul, k., Kuiken, T., Fouchier, R.A.M., Amonsin, A., Payungporn, S., Noppornpanth, S., Wattanodorn, S., Theamboonlers, A., Tantilertcharoen, R., Pattanrangsan, R., Arya, N., Ratanakorn, P., Osterhaus, A. and Poovorawan, Y. 2004. Avian influenza H5N1 in tigers and leopards. *Emerg. Infect. Dis.* 10:2189-2191.
- Kersten, G.F.A. and Crommelin, D.J.A. 1995. Liposomes and ISCOMS as vaccine formulations. *Biochim. Biophys. Acta.* 1241: 117-138.
- King, D.J. 1991. Evaluation of different methods of inactivation of Newcastle disease virus and avian influenza virus in egg fluids and serum. *Avian Dis.* 35: 505-514.
- Kodihalli, S., Haynes, J.R., Robinson, H.L. and Webster, R.G. 1997. Cross-protection among lethal H5N2 influenza viruses induced by DNA vaccine to the hemagglutinin. *J. Virol.* 71(5): 3391-3396.
- Kurien, B.T. and Scofield, R.H. 2006. Western blotting. *Methods.* 38: 283-293.
- Lamp, R.A. and Krug, R.M. 2001. Orthomyxoviruses. In : *Fields virology*. 4th ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins. p 1487-1532.
- Laver, W.G., Colman, P.M., Webster, R.G., Hinshaw. V.S. and Air, G.M. 1984. Influenza virus Neuraminidase with hemagglutinin activity. *Virol.* 137: 314-23.
- Lee, C.W., Senne, D.A. and Suarez, D.L. 2004. Effect of vaccine use in the evolution of Mexican lineage H5N2 avian influenza virus. *J. Virol.* 78: 8372-8381.
- Lu, H., Castro, A.E., Pennick, K., Liu, J., Yang, Q., Dunn, P., Weinstock, D. and Henzler, D. 2003. Survival of avian influenza virus H7N2 in SPF chickens and their environments. *Avian Dis.* 47(3 Suppl): 1015-1021
- Luschow ,D., Werner, O, Mettenleiter, T.C. and Fuchs, W. 2001. Protection of chickens from lethal avian influenza A virus infection by live-virus vaccination with infectious laryngotracheitis virus recombinants expressing the hemagglutinin (H5) gene. *Vaccine.* 19: 429-4259.
- Metsikko, K., van Meer, G. and Simons, K. 1986. Reconstitution of the fusogenic activity of vesicular stomatitis virus. *EMBO J.* 5: 3429-3435.

- Murphy, F.A., Gibbs, E.P.J., Horzinek, M.C. and Studdert, M.J. 1999. Orthomyxoviridae In : Veterinary Virology. 3rd ed. Academic Press. San Diego. P 459-468
- Middleton, D., Bingham, J., Selleck, p., Lowther, S., Gleeson, L., Lehrbach, P., Robinson, S., Rodenberg., J., Kumar, M. and Andrew, M. 2007. Efficacy of inactivated vaccines against H5N1 avian influenza infection in ducks. Virol. 359: 66-71.
- Office International des Epizooties. 2000. Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. 4th ed. Paris : OIE. p 212-219
- OIE International Animal Health code. 2006. Avian Influenza, Chapter 2.7.12
http://www.oie.int/eng/normes/Mcode/en_chapitre_2.7.12.htm
- Perdue, M.L. and Suarez, D.L. 2000. Structural features of the avian influenza virus hemagglutinin that influence virulence. Vet. Microbiol. 74: 77-86.
- Perkins, L.E.L. and Swayne, D.E. 2002. Pathogenicity of a Hong Kong-origin H5N1 highly pathogenic avian influenza virus for emu, geese, ducks, and pigeons. Avian. Dis. 46: 53-63.
- Portela, A. and Digard, P. 2002. The influenza virus nucleoprotein: a multifunctional RNA-binding protein pivotal to virus replication. J. Gen. Virol. 83: 723-734.
- Qiao, C.L., Yu, K.Z., Jiang, Y.P., Jia, Y.Q., Tian, G.B., Liu, M., Deng, G.H., Wang, X.R., Meng, Q.W. and Tang, X.Y. 2003. Protection of chickens against highly lethal H5N1 and H7N1 avian influenza viruses with a recombinant fowlpox virus co-expressing H5 haemagglutinin and N1 neuraminidase genes. Avian Pathol. 32: 25-31.
- Ruben, FL. 1987. Prevention and control of influenza: Role of vaccine. Am. J. Med. 82: 31-34.
- Schumacher, R., Adamina, M., Zurbriggen, R., Bolli, M., Padovan, E., Zajac, P., Heberer, M.,and Spagnoli, G.C. 2004. Influenza virosomes enhance class I restricted CTL induction through CD4⁺ T cell activation. Vaccine. 22: 714-723.
- Seo, S.H., and Webster, R.G. 2001. Cross-reactive, cell-mediated immunity and protection of chickens from lethal H5N1 influenza virus infection in Hong Kong poultry markets. J. Virol. 75(6): 2516-2525.
- Songserm, T., Amonsin, A., Jam-On, R., Sae-Heng, N., Meenak, N., Pariyathorn, N., Payungporn, S., Teamboonlers, A., Poovorawan, Y. 2006. Avian influenza H5N1 in naturally infected domestic cat. Emerg. Infect. Dis. 12: 681-683.

- Smirnov, Y.A., Kaverin, N.V., Govorkova, E.A., Lipatov, A.S., Claas, C.J., Makarova, N.V., Gitelman, A.K., Webster, R.G., and Lvov, D.K. 2001. Cross-protection studies with H5 influenza viruses. International Congress Series. 1219: 767-773.
- Stallknecht, D.E., Shane, S.M., Zwank, P.J., Senne, D.A. and Kearney, M.T. 1990. Avian influenza virus from migratory and resident ducks of coastal Louisiana. Avian Dis. 34: 398-405.
- Stegmann, T, Morselt, H.W., Booy, F.P., van Breemen, J.F., Scherphof, G. and Wilschut, J. 1987. Function reconstitution of influenza virus envelopes. EMBO J. 6(9): 2651-2659.
- Steinhauer, D.A. 1999. Role of hemagglutinin cleavage for the pathogenicity of influenza virus. Virol. 258: 1-20.
- Stephenson, I., Nicholson, K.G., Wood, J.M., Zambon, M.C. and Katz, J.M. 2004. Confronting the avian influenza threat : vaccine development for a potential pandemic. Lancet Inf. Dis. 4: 499-509.
- Suarez, D.L. and Schultz-Cherry, S. 2000. Immunology of avian influenza virus: a review. Dev. Comp. Immunol. 24: 269-283.
- Suarez, D.L., Spackman, E., Senne, D.A., Bulaga, L., Welsch, A.C. and Froberg, K. 2003. The effect of various disinfectants on detection of avian influenza virus by real time RT-PCR. Avian Dis. 47(3 Suppl): 1091-5.
- Suarez, D.L., Senne, D.A., Banks, J., Brown, I.H., Essen, S.C., Lee, C.W., Manvell, R.J., Benson, C.M., Moreno, V., Pedersen, J.C., Panigrahy, B., Rojas, H., Spackman, E. and Alexander, D.J. 2004. Recombination resulting in virulence shift in avian influenza outbreak, Chile. Emerg. Infect. Dis. 10(4): 693-699.
- Swayne, D.E., Senne, D.A. and Beard, C.W. 1998. Influenza. In: Isolation and identification of avian pathogens. Fourth edition. Swayne, D.E., Glisson, J. R., Jackwood, M.W., Pearson, J.E., and Reed, W.M. Pennsylvania. USA. p: 150-155.
- Swayne, D.E., Beck, J.R., Garcia, M. and Stone, H.D. 1999. Influence of virus stain and antigen mass on the efficacy of H5 avian influenza inactivated vaccines. Avian Pathol. 28: 245-255.
- Swayne, D.E., Perdue, M.L., Beck, J.R., Garcia, M. and Suarez, D.L. 2000. Vaccines protect chickens against H5 highly pathogenic avian influenza in the face of genetic changes in field viruses over multiple years. Vet. Microbiol. 74: 165-172.

- Swayne, D.E. and Halvorson, D.A. 2002. Influenza. In: Poultry Disease. 11th ed. London: W.B. Sanuders Company. p 135-153
- Swayne, D.E. and Halvorson, D.A. 2003. Influenza. In: Diseases of poultry. 11th ed. Calnek, B.W. (ed.) Iowa State University Press, Ames, USA. p: 135-160.
- Swayne, D.E., Lee, C.W. and Spackman, E. 2006. Inactivated north Amarican and European H5N2 avian influenza virus vaccines protect chickens from Asia H5N1 high pathogenicity avian influenza virus. Avian Pathol. 35: 141-146.
- Thanawongnuwech, R., Amonsin, A., Tantilertcharoen, R., Damrongwatanapokin, S., Theamboonlers, A. and Paungporn, S. 2005. Probable tiger-to-tiger transmission of avian influenza H5N1. Emerg. Infect. Dis. 11: 699-701.
- Tian,G., Zhang, S., Li, Y., Bu, Z., Liu, P., Zhuo, J., Li, C., Shi, J., Yu, K. and Chen, H. 2005. Protective efficacy in chickens, geese and ducks of an H5N1-inactivated vaccine developed by reverse genetics. Virol. 34: 153-162.
- Tollis, M., and Trani, L.D. 2002. Recent developments in avian influenza research: epidemiology and immunoprophylaxis. Vet. J. 164: 202-215.
- Trevor, M.E., Leung, C.Y.H.C., Chow, M.K.W., Bissert, L.A., Wong, W., Guan, Y. and Peiris J.S.M. 2000. Vaccination of chickens against H5N1 avian influenza in the face of an outbreak interrupts virus transmission. Avain Pathology. 33(4): 405-412.
- Wang, K., Holtz, K.M., Anderson, K., Chubet, R., Mahmoud, W. and Cox, M.M.J. 2006. Expression and purification of an influenza hemagglutinin-one step closer to a recombinant protein-based influenza vaccine. Vaccine. 24: 2176–2185.
- Webster, R.G., Kawaoka, Y., Taylor, J., Weinberg, R. and Paoletti, E. 1991. Efficacy of nucleoprotein and haemagglutinin antigens expressed in fowlpox virus as vaccine for influenza in chicken. Vaccine. 9: 303-308.
- Webster, R.G., Bean, W.J. Gorman, O.T., Chambers, T.M. and Kawaoka, Y. 1992. Evolution and ecology of influenza A viruses. Microbiol. Rev. 56: 152-179.
- Westermeier, R. and Marouga, R. 2005. Protein detection methods in proteomics research. Biosci. Rep. 25: 19-32.
- Wright, P.F. and Webster, R.G. 2001. Orthomyxoviruses. In: Fields virology. 4th ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins. p 1533-1568.
- Zurbriggen, R. 2003. Immunostimulating reconstituted influenza virosomes. Vaccine. 21: 921-924.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมีและสารละอายน้ำรับการทดสอบด้วยวิธี SDS-PAGE

Acrylamide/Bis (30%T, 2.67%C)

acrylamide	87.6	กรัม
N’N’-bis-methylene-arylamide	2.4	กรัม
deionized water	300.0	มิลลิลิตร

10% (w/v) SDS

sodium dodesyl sulfate	10.0	กรัม
deionized water	100.0	มิลลิลิตร

1.5 M Tris-HCl, pH 8.8

Tris base	27.23	กรัม
deionized water	80.0	มิลลิลิตร

ปรับ pH มีค่าเท่ากับ 8.8 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอโริก (HCl) ความเข้มข้น 6 N และปรับให้มีปริมาตร 150 มิลลิลิตร ด้วย deionized water เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

0.5 M Tris-HCl, pH 6.8

Tris base	6.0	กรัม
deionized water	60.0	มิลลิลิตร

ปรับ pH มีค่าเท่ากับ 6.8 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอโริก (HCl) ความเข้มข้น 6 N และปรับให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร ด้วย deionized water เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

10% APS (ต้องเตรียมสารละลายใหม่ทุกครั้ง)

ammonium persulfate	100.0	มิลลิกรัม
deionized water	1.0	มิลลิลิตร

การเตรียมเจล

สัดส่วนในการผสมสารละลายสำหรับการเตรียมเจลในระดับความเข้มข้นต่างๆ

Percent gel	DDI H ₂ O (ml)	30%Acryl/Bis (ml)	gel buffer* (ml)	10%w/v SDS (ml)
4%	6.1	1.3	2.5	0.1
5%	5.7	1.7	2.5	0.1
6%	5.4	2.0	2.5	0.1
7%	5.1	2.3	2.5	0.1
8%	4.7	2.7	2.5	0.1
9%	4.4	3.0	2.5	0.1
10%	4.1	3.3	2.5	0.1
11%	3.7	3.7	2.5	0.1
12%	3.4	4.0	2.5	0.1
13%	3.1	4.3	2.5	0.1
14%	2.7	4.7	2.5	0.1
15%	2.4	5.0	2.5	0.1

- resolving gel buffer – 1.5 M Tris-HCl, pH 8.8
- stacking gel buffer – 0.5 M Tris-HCl, pH 6.8

สัดส่วนของสารเคมีสำหรับการเตรียม Stacking gel และ Separation gel

Stock solution	Separation gel (12.0% gel)	Stacking gel (4% gel)
30% Acrylamide/bis (ml)	4.000	0.650
0.5 M Tris-HCl , pH 6.8 (ml)	2.500	1.250
Distilled H ₂ O (ml)	3.344	3.020
10% SDS* solution (ml)	0.100	0.050
10% APS** (ml)	0.050	0.025
TEMED*** (ml)	0.006	0.005
Total volume (ml)	10.000	5.000

Sample buffer (SDS reducing buffer)

น้ำดีไออ่อนในซ์ (deionized water)	3.55	มิลลิลิตร
0.5 M Tris-HCl, pH 6.8	1.25	มิลลิลิตร
glycerol	2.5	มิลลิลิตร
10% (w/v) SDS	2.0	มิลลิลิตร
0.5% (w/v) bromophenol blue	0.2	มิลลิลิตร
ปริมาตรรวมทั้งสิ้น	9.5	มิลลิลิตร

เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนใช้ต้องเติมสารละลายน้ำ beta-mercaptoethanol ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ในสารละลายน้ำ Sample buffer ปริมาตร 950 ไมโครลิตร (รวมทั้งสิ้น 1 มิลลิลิตร) เจือจางสารละลายน้ำที่อยู่ใน Sample buffer ในอัตราส่วนอย่างน้อย 1:2 และต้มด้วยความร้อน 95 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที

10x electrode (running) buffer, pH 8.3 (1 ลิตร)

Tris base	30.3	กรัม
Glycine	144.0	กรัม
SDS	10	กรัม

ละลายน้ำในน้ำดีไออ่อนในซ์ (deionized water) และปรับให้มีปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยไม่ต้องปรับความเป็นกรดค่าคงที่ด้วยกรดหรือเบส เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในการผึ้งที่เกิดการตกตะกอนระหว่างการเก็บรักษาให้ทำการอุ่นสารละลายน้ำที่ห้องก่อนนำไปใช้

ภาคผนวก X

การเตรียมสารเคมีและสารละลายน้ำรับการทดสอบด้วยวิธี western blotting และการเตรียมไว้ใช้

โฉนด

Western blot transfer buffer (1 ลิตร)

Tris base	5.8	กรัม (48 mM)
Glycine	2.9	กรัม (39 mM)
10% SDS	3.7	มิลลิลิตร
methanol	200.0	มิลลิลิตร (20%)

Tris-buffer saline ; TBS (1x)

NaCl	8	กรัม (140 mM)
KCl	0.2	กรัม (3.0 mM)
Tris base	3.0	กรัม (25 mM)

ละลายน้ำสารเคมีทั้งหมดในน้ำดีไอออนไนซ์ (deionized water) ปรับระดับ pH เป็น 7.4 และปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

TBS -0.1% Tween 20

Tween20	1.0	มิลลิลิตร
Tris-buffer saline	1,000.0	มิลลิลิตร

Blocking buffer (TBS-3% dry skim milk)

dry skim milk	3.0	กรัม
Tris-buffer saline	100.0	มิลลิลิตร

1 M Tris-HCl

Tris-base	121.0	กรัม
2 M HCl	ปรับระดับ pH เป็น 7.6	ด้วยสารละลายน้ำ 2 M HCl (ปริมาตรสูงสุดไม่เกิน 300.0 มิลลิลิตร)

และปรับปริมาตรสูงที่สุดให้เป็น 1 ลิตร ด้วย deionized water

DAB (3,3'-diaminobenzidine) substrate solution

0.1 M Tris-HCl	5.0	ນິລລິດິຕຣ
3,3'-diaminobenzidine	0.1	ນິລລິດິຕຣ
peroxide solution	0.1	ນິລລິດິຕຣ

ภาคผนวก ค
สารเคมีและสารละลายน้ำสำหรับการเรียนรู้ไวรัสชุมชน

Bio-Beads SM-2

- นำ Bio-Beads SM-2 จำนวน 25 กรัมน้ำหนักแห้ง เดินลงในขวดที่บรรจุเมธานอล แอลกอฮอล์ ปริมาตร 175 มิลลิลิตร แก้วงบวดไปมาด้วยความเร็วประมาณ 20 รอบต่อนาที นาน 15 นาที
- ดูดเมธานอลแอลกอฮอล์เดินออกและเดินเมธานอลแอลกอฮอล์ใหม่ ในปริมาตร 425 มิลลิลิตร
- ล้าง Bio-Beads SM-2 ด้วยน้ำดีไอออนไนซ์ (deionized water) ปริมาตร 2,500 มิลลิลิตร
- นำ Bio-Beads SM-2 ที่ล้างแล้วแช่ไว้ในสารละลายน้ำ HEPES buffer saline (HBS; 20mM HEPES-NaOH pH 7.5, 100 mM NaCl และ 0.02% NaN₃) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
- ทำการคัดแยกเม็ด Bio-Beads SM-2 ที่ลอยอยู่บริเวณผิวดองสารละลายน้ำ แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นานหลายเดือน

ภาคผนวก ง

การเตรียมสารเคมีและสารละลายน้ำรับการทดสอบ Hemagglutination activity

Phosphate buffer saline

Stock solution (10x)

NaCl	80	กรัม
KCl	2	กรัม
Na ₂ HPO ₄	11.5	กรัม
KH ₂ PO ₄	2	กรัม
เตินน้ำกลั่น (D.W.) ให้มีปริมาตร	1,000	มิลลิลิตร

ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 7.4 และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

Working solution

Stock solution	100	มิลลิลิตร
เตินน้ำกลั่น (D.W.) ให้มีปริมาตร	1,000	มิลลิลิตร
นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ		

Alsever's solution

Tri-sodium citrate dihydrate' (C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ . 2H ₂ O)	6.6	กรัม
Sodium chloride (NaCl)	4.2	กรัม
Glucose (C ₆ H ₁₂ O ₆)	20	กรัม
Citric acid monohydrate (C ₆ H ₈ O ₇ . H ₂ O)	0.35	กรัม
เตินน้ำกลั่น (D.W.) ให้มีปริมาตร	1,000	มิลลิลิตร

ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 6.1 ด้วย 0.2 M citric acid และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ
เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายฉัตรชัย สารชัย เกิดวันเสาร์ที่ 23 เมษายน พ.ศ. 2520 ที่จังหวัดกาฬสินธุ์ สำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรี สาขาวิชาสัตวแพทยศาสตร์ (สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต) จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อปีการศึกษา 2544 หลังจากนการศึกษาได้เข้าทำงานเป็นพนักงานมหาวิทยาลัย ตำแหน่งอาจารย์ ที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2544 และได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2547