



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารละลายในกระบวนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ การแยกแถบดีเอ็นเอ และการย้อมดีเอ็นเอ

การเตรียมสารละลายในกระบวนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

1. การเตรียม 10X Taq Buffer		
- 500 mM Tris pH 8.4	20.0	ml
- 2M KCl	12.5	ml
- 150 mM MgCl ₂	5.0	ml
- 1 mg/ml BSA	5.0	ml
- 100% Tween 20	0.25	ml

เติมน้ำให้ครบ 50.0 ml

2. การเตรียม 1 mM Solution of dNTPs		
- 100 mM dATP	10.0	μl
- 100 mM dCTP	10.0	μl
- 100 mM dGTP	10.0	μl
- 100 mM dTTP	10.0	μl

- น้ำ 960.0 μ l

ผสมให้เข้ากันได้เป็นสารละลายที่มีปริมาตรรวมเท่ากับ 1000.0 μ l

การแยกแถบดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า (Electrophoresis)

1. วิธีเตรียม 34% Acrylamide solution

- Acrylamide 16.18 g
- N,N'methylenebisacrylamide 0.81 g

เติมน้ำกลั่นลงในสารที่ซึ่งเสร็จจนได้ปริมาตรเท่ากับ 50 ml

2. วิธีเตรียม 10X Gel buffer

- ชั่ง Tris 8.0 g
- ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้ายคือ 200 ml
- ปรับ pH ด้วย Sulfuric acid ให้ได้ pH = 4.5

3. วิธีเตรียม 8.5% Acrylamide gel

- น้ำกลั่น 21.26 ml
- 10X Gel buffer 3.7 ml
- Acrylamide solution 9.3 ml
- 87% Glycerol 2.55 ml
- 10% Ammoniumpersulfate 191.0 μ l
- Tetramethylethylenediamine 14.0 μ l

ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน โดยใช้ Stirrer plate นาน 1 นาที ระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศ
ในส่วนผสม

เทลงในชุดกระจกสำหรับเตรียมเจล ทิ้งไว้ประมาณ 2 ชั่วโมงจึงสามารถใช้ในการแยก
แถบดีเอ็นเอได้

4. วิธีเตรียม 2.5X Running buffer (Stock solution)

- Tris	54.0	g	
- EDTA	3.73	g	
- Boric acid	27.5	g	
- ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้าย			2000.0 ml

วิธีเตรียม Working Solution (1000 ml)

- Running buffer (Stock solution)	400	ml
- น้ำกลั่น	600	ml

5. วิธีแยกแถบดีเอ็นเอ

- ใช้กระแสไฟฟ้า 90 volt นาน 16.30 ชั่วโมง

- ทำการย้อมเจลด้วยวิธี Silver Staining เพื่อให้เห็นแถบดีเอ็นเอ

การย้อมดีเอ็นเอ

1. เติม 1% Nitric acid (3 ml 65% Nitric acid + น้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 200 ml) เขย่านาน 10 นาที แล้วเททิ้ง
2. ล้างเจลด้วยน้ำกลั่นนาน 5-10 วินาที แล้วเททิ้ง 2 ครั้ง
3. เติม 0.012M Silver nitrate solution (0.4 g Silver nitrate + น้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 200 ml) เขย่านาน 35 นาที แล้วเททิ้ง
4. ล้างเจลด้วยน้ำกลั่นนาน 5-10 วินาที แล้วเททิ้ง 2 ครั้ง
5. เติม 0.28M Sodium carbonate และ 0.019% Formalin (11.8 g Sodium carbonate + น้ำกลั่น 390 ml แล้วเติม 37% Formalin 205 μ l) ลงไปประมาณ 50 ml เมื่อสีของสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลให้เททิ้งและเติมส่วนที่เหลือลงไป เขย่าจนเห็นแถบดีเอ็นเอบนเจลชัดเจน แล้วเททิ้ง
6. หยดปฏิกิริยาด้วย 10% acetic acid (20 ml 100% Glacial acetic acid + น้ำกลั่น 180 ml) เขย่านาน 5 นาที
7. ล้างด้วยน้ำกลั่นประมาณ 200 ml นาน 1 นาที 3 ครั้ง หรือจนหมดกลิ่นของ acetic acid
8. นำไปทำให้แห้งด้วยเครื่องอบแห้งเจล (Gel dryer)

ภาคผนวก ข

รายละเอียดตัวอย่างศพที่ใช้ในการศึกษา

ตาราง 3 แสดงรายละเอียดของตัวอย่างศพที่ได้รับการวินิจฉัยว่าตายจากสาเหตุการจมน้ำจมน้ำจมน้ำ

ตัวอย่างลำดับที่	รายละเอียด
1	ชาย อายุ 21 ปี จมน้ำคูเมือง ผลการชันสูตรพบลักษณะที่บ่งบอกการจมน้ำชัดเจน
2	ชาย อายุ 39 ปี จมน้ำสระว่ายน้ำสมิทธิเรสซิเดนซ์ ผลการชันสูตรพบลักษณะที่บ่งบอกการจมน้ำชัดเจน
3	ชาย ไม่ทราบอายุ เสียชีวิตที่โรงพยาบาลมหาราช (จมน้ำแล้วถูกช่วยชีวิต แต่มาเสียชีวิตในภายหลัง)
4	ชาย อายุ 50 ปี จมน้ำคูเมือง สภาพศพเน่า ผลการชันสูตรพบว่า ปอดบวมน้ำปานกลาง มีน้ำในกระเพาะ
5	ชาย อายุ 34 ปี จมแม่น้ำปิง สภาพศพเริ่มเน่า ผลการชันสูตรพบว่า มีน้ำอยู่เต็มกระเพาะอาหาร
6	ชาย อายุ 40 ปี จมแม่น้ำปิง ผลการชันสูตรพบลักษณะที่บ่งบอกการจมน้ำชัดเจน
7	ชาย อายุ 60 ปี พบศพนอนคว่ำในคูน้ำตื้น ผลการชันสูตรพบว่า มีปอดบวมน้ำและพบโคลนในหลอดลม มีโรคประจำตัวคือโรคหัวใจ
8	หญิง อายุ 40 ปี จมน้ำแม่ควา ผลการชันสูตรพบลักษณะที่บ่งบอกการจมน้ำชัดเจน

ตาราง 3 (ต่อ)

ตัวอย่างลำดับที่	รายละเอียด
9	หญิง อายุ 76 ปี พบศพในอ่างอาบน้ำ มีกลิ่นแอลกอฮอล์คละคลุ้ง
10	ชายไม่ทราบอายุ พบศพจมในลำเหมืองที่สันป่าตอง ผลการชันสูตรพบว่า ปอดบวม น้ำไม่มาก ภาวะอาหารมีน้ำอยู่เต็ม หลอดลมมีเลือดปนฟองพรอยที่สมอง คาดว่าน่าจะเคยได้รับบาดเจ็บ
11	ชาย อายุ 22 ปี จมน้ำคูเมือง ผลการชันสูตรพบว่า ปอดบวม น้ำ และมีน้ำในภาวะอาหาร
12	ชาย อายุ 25 ปี ผลการชันสูตรพบว่า ปอดบวม น้ำมาก ภาวะอาหารมีน้ำเต็ม มีฟองอากาศในหลอดลม

ตาราง 4 แสดงรายละเอียดของตัวอย่างศพที่ได้รับการวินิจฉัยว่าตายจากสาเหตุอื่น จำนวน 24 ศพ

ตัวอย่างลำดับที่	รายละเอียด
1	ชาย อายุ 39 ปี ตายที่โรงพยาบาลดอยหล่อ ผลการชันสูตรพบว่า ฐานกะโหลกแตก
2	ชาย อายุ 41 ปี ตายที่โรงพยาบาลลานนา ผลการชันสูตรพบว่า สมองบวม ฐานกะโหลกแตก
3	ชาย อายุ 42 ปี ตายบริเวณที่พัก ผลการชันสูตรพบว่า มีเลือดออกในสมอง ตายจากโรครธรรมชาติ (เส้นเลือดในสมองแตก)
4	หญิง อายุ 64 ปี ตายบริเวณที่พัก ผลการชันสูตรพบว่า เลือดออกปอด ตายจากปอดอักเสบ
5	ชาย อายุ 45 ปี ตายที่โรงพยาบาลสยามราษฎร์ ตายจากอุบัติเหตุจากรถ ผลการชันสูตรพบว่า มีเลือดออกในกะโหลก

ตาราง 4 (ต่อ)

ตัวอย่างลำดับที่	รายละเอียด
6	ชาย อายุ 29 ปี ตายในที่เกิดเหตุ ตายจากอุบัติเหตุจากรถ ผลการชันสูตรพบว่า เลือดออกในกะโหลกและช่องท้อง ปอดและตับฉีกขาด
7	หญิง อายุ 63 ปี ตายในที่เกิดเหตุ ตายจากอุบัติเหตุจากรถ ผลการชันสูตรพบว่า บาดเจ็บในช่องอก และศรีษะ
8	ชาย อายุ 62 ปี ตายในที่เกิดเหตุ ตายจากอุบัติเหตุจากรถ ผลการชันสูตรพบว่า คอหัก บาดเจ็บในช่องอก ตับแตก
9	ชาย อายุ 47 ปี ตายในที่เกิดเหตุจากการแขวนคอ ไม่พบบาดแผล
10	ชาย อายุ 52 ปี ตายในที่เกิดเหตุ ผลการชันสูตรพบว่า กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด ปอดบวมน้ำมาก
11	ชาย อายุ 22 ปี พบศพในหนองน้ำ ผลการชันสูตรพบว่า ตายจากการถูกไฟฟ้าช็อต แล้วตกลงไปในน้ำ
12	ชาย อายุ 59 ปี ตายในที่เกิดเหตุ จากการแขวนคอ ไม่พบบาดแผล
13	ชาย อายุ 30 ปี ตายในที่เกิดเหตุจากการถูกทำร้ายร่างกาย ผลการชันสูตรพบว่า บาดเจ็บที่ศรีษะ ไบหน้ายุบ
14	ชาย อายุ 85 ปี ตายจากครกมะเร็งลำไส้ ปอดอักเสบ ติดเชื้อในกระแสเลือด
15	ชาย อายุ 54 ปี ตายที่โรงพยาบาลจากโรคธรรมชาติ ผลการชันสูตรพบว่า มีเส้นเลือดฝอยในสมองแตก
16	ชาย อายุ 54 ปี ตายในที่เกิดเหตุ ตายจากอุบัติเหตุจากรถ ผลการชันสูตรพบว่า เลือดออกในกะโหลก
17	หญิง อายุ 24 ปี ตายในที่เกิดเหตุ ตายจากอุบัติเหตุจากรถ ผลการชันสูตรพบว่า คอหัก กระดูกหักหลายที่ เลือดออกในกะโหลกและช่องท้อง
18	หญิง อายุ 32 ปี ตายในที่เกิดเหตุ ตายจากอุบัติเหตุจากรถ ผลการชันสูตรพบว่า คอหัก ฐานกะโหลกแตก เลือดออกในช่องท้อง
19	ชายไม่ทราบอายุ ตายในที่เกิดเหตุ ตายจากอุบัติเหตุจากรถ

ตาราง 4 (ต่อ)

ตัวอย่างลำดับที่	รายละเอียด
20	ชาย อายุ 35 ปี ตายในที่เกิดเหตุ จากการถูกยิง ผลการชันสูตรพบว่า มีเลือดออกที่ปอดและหัวใจ
21	ชาย อายุ 27 ปี ตายในที่เกิดเหตุ ผลการชันสูตรพบว่า ปอดบวมน้ำ ตายจากหัวใจวายเฉียบพลัน
22	ชาย อายุ 48 ปี ตายที่บ้าน ผลการชันสูตรพบว่า ปอดบวมน้ำ ตายจากโรคหัวใจ
23	ชาย อายุ 33 ปี ตายในที่เกิดเหตุ จากการถูกยิง บริเวณลำตัว
24	ชาย อายุ 6 ปี ตายที่โรงพยาบาล มีอาการปอดติดเชื้อ ผลการชันสูตรพบว่า ปอดบวม

ภาคผนวก ก

ตารางค่าทางสถิติ

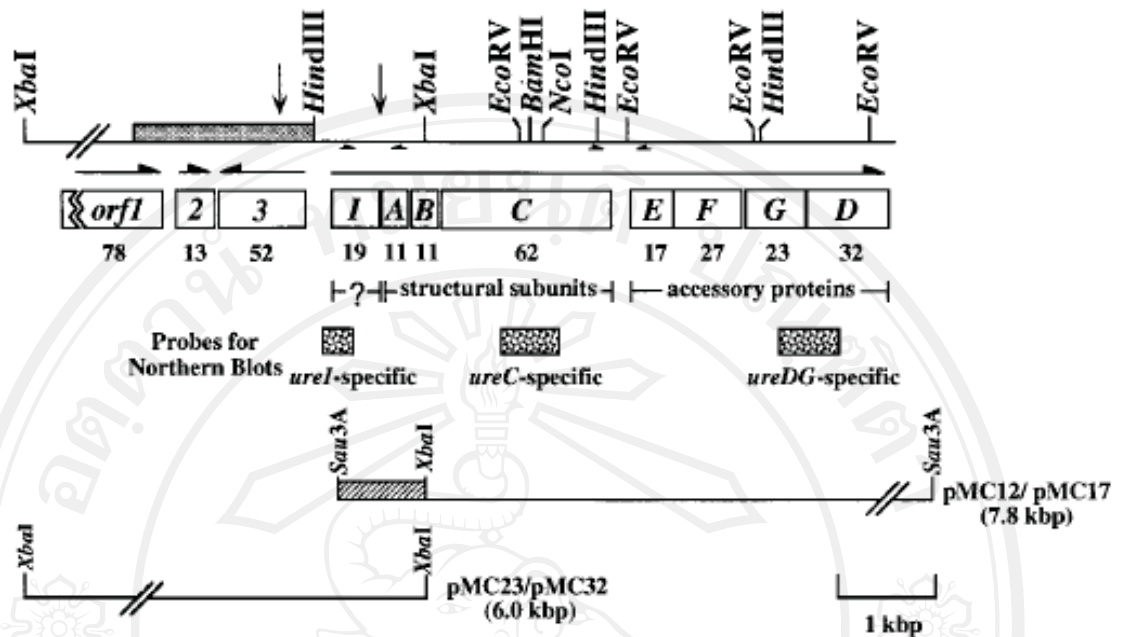
ตาราง 5 ตารางค่าไคสแควร์ที่ใช้ในการทดสอบสมมติฐาน

df	α														
	0.99	0.95	0.90	0.80	0.70	0.60	0.50	0.40	0.30	0.20	0.10	0.05	0.025	0.01	0.005
1	0.0002	0.004	0.016	0.064	0.15	0.28	0.46	0.71	1.07	1.64	2.71	3.84	5.02	6.64	7.88
2	0.02	0.10	0.21	0.45	0.71	1.02	1.39	1.83	2.41	3.22	4.61	5.99	7.38	9.21	10.6
3	0.12	0.35	0.58	1.01	1.42	1.87	2.37	2.95	3.67	4.64	6.25	7.82	9.35	11.4	12.8
4	0.29	0.71	1.06	1.65	2.19	2.75	3.36	4.05	4.88	5.99	7.78	9.49	11.1	13.3	14.9
5	0.55	1.15	1.61	2.34	3.00	3.66	4.35	5.13	6.06	7.29	9.24	11.1	12.8	15.1	16.8
6	0.87	1.64	2.20	3.07	3.83	4.57	5.35	6.21	7.23	8.56	10.7	12.6	14.5	16.8	18.6
7	1.24	2.17	2.83	3.82	4.67	5.49	6.35	7.28	8.38	9.80	12.0	14.1	16.0	18.5	20.3
8	1.65	2.73	3.49	4.59	5.53	6.42	7.34	8.35	9.52	11.0	13.4	15.6	17.5	20.1	21.9
9	2.09	3.33	4.17	5.38	6.39	7.36	8.34	9.41	10.7	12.2	14.7	16.9	19.0	21.7	23.6
10	2.56	3.94	4.87	6.18	7.27	8.29	9.34	10.5	11.8	13.4	15.9	18.3	20.5	23.2	25.2
20	8.26	10.9	12.4	14.6	16.3	17.8	19.3	20.9	22.8	25.0	28.4	31.4	34.2	37.6	39.9
30	14.9	18.5	20.6	23.4	25.5	27.4	29.3	31.3	33.5	36.3	40.3	43.8	46.9	50.9	53.7
40	22.2	26.5	29.1	32.4	34.9	37.1	39.3	41.6	44.2	47.3	51.8	55.8	59.3	63.7	66.8
50	29.7	34.8	37.7	41.5	44.3	46.9	49.3	51.9	54.7	58.2	63.2	67.5	71.4	76.2	79.5

ภาคผนวก ง

ลำดับเบสของเชื้อ *Streptococcus salivarius* ในส่วน *ure cluster*

AAATGGGTCAAGTAAGTGACATACAGGAAGCAGGACACAAGACAGGCGACAATCAGTCCC
TTAATTTTCAAATGTCTTTTGGTGAAAAATGTTCCAAGAATTTCTTGGTTTTGGTTTGAAGA
CTAGTCTTTTCGTCGGAATATTCCTGGGAGACTAGCTGTAAATCAGTAGTGTAGTTATTTGTT
TCCATCATAATTCTCCTTTTGGATTTTTGTCCAAAAAAGACTTTATCATAAAAAACGTTTGACT
TTGTTACCCAAGTGTAAATTAATAAATAGGTCTATGGACTTAGGTCTGGAGAATGAGTT
GGAAAAATAGGCGAGAAAAAATATAATGCTCACATTGGATGATAGATTGTACGGACTATA
TTGTCAGAAACAGTCAAATACTAAAGGAAGCTTTTATAGATTAAGTGTATTTATCTGGGAT
TAAGCAAAAGGACTCCTAT**CCAGCGGTACCAAAGGTAAA**AGTCATTTTTTGGACACCACATGTT
AGCTTGACTAATATGTAAATGTTGCAAAATTTCTGAAAATTCGTTGACATGTGTTGTCAAAG
TAGTATGATATTAACATAAAAACTTAGGAGGTTCTTATGTTAGGTGTCATCCTACTCTATGT
TGGTATGGTTTTGATGAGTAATGGACTCCATCGTTT**GCACGTGTTAACCTACTCACG**CAAAT
GTTGTCATGAATATCTTACGGGTGGTTTTGGTTTTGATTCTCAACATTATTGTCATTGCTTAT
GGAGCTTGTACAGGGCAAGGCGCTGAATGGTTTTATGGTAGCGCCACAGGTCTTTTATTTG
CCTTCACCTACCTTACTCAGCTATCAATACGATTTTTCGATTTTGATCAACGTTTGTATGGGTG
GTTTAGTTTTATTGTGGCAATTAATACGCTHCCAGCAGGGATTCTTTGCTTAACATCTGGATA
CGGTGGTAATGCTTGGTATGGTATTATTTGGTTCTTGTGGGGTATTCTATGGCTAACTGCCT
TTATTGAAATTAACCTTAAGAAGAACCTAGGAAAATTTGTCCCTTACCTAGCTATTTTTGAAG
GAATTGTAACAGCTTGGATTCCGGGGCTTTTGGTCTTTGGGGCAAGTGGTAA



ภาพ 3 แสดงกลุ่มของยีน *ure* บนโครโมโซม 57.I ของเชื้อ *Streptococcus salivarius*

(Chen et al., 1998)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล นางสาว รวิศรา ไชยมหาวัน

วัน เดือน ปี เกิด 23 พฤษภาคม 2527

ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต เทคนิคการแพทย์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2549

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved