แนวทางปฏิบัติในการศึกษา
เรื่องการขนส่งสารผ่านเยื่อหุ้มเซลล์

1. ปฏิบัติการที่ 1.4 ใช้หลอดแก้ว 4 หลอด
   ปฏิบัติการที่ 2.1 ใช้หลอดแก้ว 2 หลอด
2. ใช้ดินสอสีที่แจกให้ label หลอดทดลองเท่านั้น ห้ามใช้ปากกา permanent หรือดินสอ 2B เป็นอันขาด
3. ก่อนปิเปตต์เลือดหรือเซลล์ยีสต์ ให้เขย่าในแนวราบเบาๆ
4. การใช้ Cuvette สำหรับการวัด OD ต้องใช้อย่างระมัดระวัง
5. ก่อนปิเปตต์เลือดหรือสารละลาย ให้บีบอากาศในลูกยางปั๊มออกก่อนจุ่มปลายปิเปตต์ลงในสารละลาย (ให้ใช้นิ้วบีบ ห้ามกำลูกยางปั๊มเด็ดขาด)
6. ระวังอย่าให้สารละลายเข้าไปในลูกยางปั๊ม หากเลือดหรือสารละลายเข้าไป ห้ามบีบสารละลายลงในขวดให้เปลี่ยนลูกยางปั๊มใหม่ทันที
7. ถอดจุกยางและ balance หลอดทดลองก่อนนำเข้าเครื่อง centrifuge ทุกครั้ง
8. เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองให้ล้างทำความสะอาดหลอดทดลองทุกครั้ง

Department of Physiology, Faculty of Medicine,
Khon Kaen University

รายการเช็คอุปกรณ์ปฏิบัติการ การขนส่งสารผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (Membrane Transport)

ปฏิบัติการที่	อุปกรณ์		สาร	
1.1	รายการ		รายการ	
	หลอดทดลองพลาสติก 6 หลอด		เลือด	
	จุกยางปิดหลอด		น้ำกลั่น	
	ปิเปต 10 ml 1 อัน			
	ลูกยาง			
	กระดาษรอง			
	ป้ายชื่อสาร+กระดาษรอง			
	ป้ายการทดลอง			
1.2	รายการ		รายการ	
	หลอดทดลองพลาสติก 8 หลอด		เลือด	
	จุกยางปิดหลอด		0.50 Osm NaCl	
	ปิเปต 5 ml 7 อัน		0.40 Osm NaCl	
	ลูกยาง		0.30 Osm NaCl	
	กระดาษรอง		0.25 Osm NaCl	
	ป้ายชื่อสาร		0.20 Osm NaCl	
	ป้ายการทดลอง		0.10 Osm NaCl	
			0.15 Osm NaCl	
			น้ำกลั่น	
1.3	รายการ		รายการ	
	หลอดทดลองพลาสติก 4 หลอด		เลือด	
	จุกยางปิดหลอด		0.3 Osm Urea	
	ปิเปต 5 ml 4 อัน		0.3 Osm dextrose	
	ลูกยาง		0.3 Osm Ammonuim chloride	
	กระดาษรอง		0.3 Osm soduimacetate	
	ป้ายชื่อสาร			
	ป้ายการทดลอง			

1.4	รายการ		รายการ	
	หลอดแก้วทดลอง 4 หลอด		เลือด	
	จุกยางปิดหลอด		0.3 Osm NaCl	
	ปิเปต 5 ml 4 อัน		0.3 Osm dextrose	
	ลูกยาง		1% Saponin	
	กระดาษรอง			
	ป้ายชื่อสาร			
	ป้ายการทดลอง			
2.1	รายการ		รายการ	
	หลอดแก้วทดลอง 2 หลอด		ยีสต์	
	จุกยางปิดหลอด		0.1 N Na_2CO_3	
	ปิเปต 2 ml 4 อัน		0.1 N HCl	
	ลูกยาง		0.02% neutral red	
	กระดาษรอง			
	ป้ายชื่อสาร			
	ป้ายการทดลอง			
2.2	รายการ		รายการ	
	หลอดทดลองพลาสติก 3 หลอด		ยีสต์	
	จุกยางปิดหลอด		1.0 M KCl	
	ปิเปต 2 ml 5 อัน		1.0 Mglucose	
	ลูกยาง		0.04 M NaF	
	กระดาษรอง		น้ำกลั่น	
	ป้ายชื่อสาร			
	ป้ายการทดลอง			
เครื่องมือ				
	spectrophotometer		ขวดน้ำกลั่น	
	cuvette		pH meter	
	Centrifuge		Dropper	
	Tube สำหรับ balance		ตาชั่ง 2 แขน	
	ทิชชู			

คู่มือเตรียมสารปฏิบัติการ Membrane transport

Lab 1.1 การทดลองโดยใช้เซล์เม็ดเลือดแดง

เตรียมน้ำกลั่นใส่ขวด Duran

Lab 1.2 Osmotic fragility

1) เตรียม 0.5 Osm NaCl stock solution

Final Volume (ml)	NaCl (g)
2,000	29.2500
1,000	14.6250
500	7.3125
250	3.6563
100	1.4625
50	0.7313
25	0.3656
10	0.1463

Osmole = X x Molar

โดย X = จำนวนสาร organic ที่แตกตัว

Molarity (M) = $\frac{\text{W (g)}}{\text{M.W.}}$ / Liter

0.5 Osm NaCl

X = 2

$$0.5\ \text{Osm} = \frac{2 \times W\ (g)}{58.5}$$

$$W\ (g) = \frac{0.5 \times 58.5}{2}$$

$$= 14.625\ g$$

2) ตัวอย่าง ต้องการเตรียม 0.4 Osm NaCl 2000 ml จาก 0.5 Osm NaCl stock solution หาความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือ

จาก $N_1V_1 = N_2V_2$

$0.5V_1 = 0.4 \times 2000ml$

$V_1 = 1600ml$

	Volume of 0.5 Osm NaCl stock solution					
conc. / **Final Volume (ml)**	0.40 Osm NaCl	0.30 Osm NaCl	0.25 Osm NaCl	0.20 Osm NaCl	0.15 Osm NaCl	0.10 Osm NaCl
2,000	1,600	1,200	1,000	800	600	400
1,000	800	600	500	400	300	200
500	400	300	250	200	150	100
250	200	150	125	100	75	50
100	80	60	50	40	30	20
50	40	30	25	20	15	10
25	20	15	13	10	8	5
10	8	6	5	4	3	2

Lab 1.3 การขนส่งสารเข้าในเม็ดเลือดแดง

conc. / Final Volume (ml)	0.3 Osm NH_4Cl	0.3 Osm Urea	0.3 Osm NaOac.	0.3 Osm Dextrose
	นน. NH_4Cl (g)	นน. Urea (g)	นน. NaOac. (g)	นน. Dextose (g)
2,000	16.0500	9.0000	27.2000	108.0000
1,000	5.0250	4.5000	13.6000	54.0000
500	4.0125	2.2500	6.8000	27.0000
250	2.0063	1.1250	3.4000	13.5000
100	0.8025	0.4500	1.3600	5.4000
50	0.4013	0.2250	0.6800	2.7000
25	0.2006	0.1125	0.3400	1.3500
10	0.0803	0.0450	0.1360	0.4500

Lab 1.4 การเพิ่ม permeability ของเซลล์เม็ดเลือดแดง

conc. / Final Volume (ml)	0.30 Osm NaCl		1 % Saponin	0.3 Osm Dextrose
	Stock 0.5 Osm NaCl (ml)	DW (ml)	นน. Saponin (g)	นน. Dextose (g)
2,000	1,200	800	20.00	108.0000
1,000	600	400	10.00	54.0000
500	300	200	5.00	27.0000
250	150	100	2.50	13.5000
100	60	40	1.00	5.4000
50	30	20	0.50	2.7000
25	15	10	0.25	1.3500
10	5	5	0.10	0.4500

เตรียมเลือด

Dilute เลือด : 0.30 Osm NaCl

1 : 1

Lab 2.1 passage of neutral red

1) เตรียม 7% glucose

Final Volume (ml)	2,000	1,000	500	250	100	50	25	10
Glucose	140.00	70.00	35.00	17.50	7.00	3.50	1.75	0.70

2) ชั่งยีสต์ 1.65 g ผสมกับ 7% glucose บ่มที่อุณหูมิห้อง 19 ชม. โดยใช้ผ้าก๊อซ 1 ชั้นปิดปาก flask (เลี้ยงวันต่อวัน)

3) เตรียม 0.1 N Na_2CO_3

Final Volume (ml)	2,000	1,000	500	250	100	50	25	10
Glucose	10.6000	5.3000	2.6500	1.3250	0.5300	0.2650	0.1325	0.0530

4) เตรียม 0.1 N HCl

Final Volume (ml)	2,000	1,000	500	250	100	50	25	10
HCl	7.3000	3.6500	1.8250	0.9125	0.3650	0.1825	0.0913	0.0365

*เตรียมใส่ขวดสีชา

5) เตรียม 0.02% neutral red solution

เตรียม 0.2% ก่อน โดยชั่ง 0.1 g ผสมกับ DW 50 ml จากนั้น Dilute เป็น 0.02%

เตรียม 0.02% neutral red solution								
Final Volume (ml)	2,000	1,000	500	250	100	50	25	10
Stock of 0.2% neutral red solution	200.00	100.00	50.00	25.00	10.00	5.00	2.50	1.00

*เตรียมใส่ขวดสีชา เก็บ 4 C

Lab 2.2 การขนส่งสารแบบกัมมันต์

1) เตรียมยีสต์ (ใช้ stock ตัวเดียวกันกับ Lab 2.1)

2) เตรียม 1.0 M KCl

Final Volume (ml)	2,000	1,000	500	250	100	50	25	10
KCl	149.0000	74.5000	37.2500	18.6250	7.4500	3.7250	1.8625	0.7450

3) เตรียม 1.0 M glucose

Final Volume (ml)	2,000	1,000	500	250	100	50	25	10
Glucose	360.00	180.00	90.00	45.00	18.00	9.00	4.50	1.80

4) เตรียม 0.04 M sodium fluoride

Final Volume (ml)	2,000	1,000	500	250	100	50	25	10
NaF	3.3600	1.6800	0.8400	0.4200	0.1680	0.0840	0.0420	0.0168