ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato	200 กรัม
Dextrose	20 กรัม
Agar	15 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ตัดมันฝรั่งให้เป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกเต๋าขนาดเล็กใส่ภาชนะและเติมน้ำกลั่นนำปต้มจนมันฝรั่งสุกแล้วกรองเอาแต่น้ำมันฝรั่ง นำส่วนประกอบของสารทั้งหมดใส่ลงไปในภาชนะและผสมให้เข้ากัน นำไปให้ความร้อนจนวุ้นละลายหมด จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

RAMBHAI BARNI RAJABHAT UNIVERSITY
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ภาคผนวก ข

สารเคมี

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

1. Lysis buffer

Triton X-100	2 เปอร์เซ็นต์
SDS	1 เปอร์เซ็นต์
NaCl	100 mM
Tris-HCl	10 mM
EDTA	1 mM

ผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากันบะจุใส่ภาชนะและนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. TE buffer

Tris-HCl	1.211 กรัม
EDTA	9.306 กรัม
Nacl	4.38 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากันและปรับค่า pH 8.0 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. 1M Tris-HCl buffer pH 8.0

Tris-HCl	121.1 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากันและปรับค่า pH 8.0 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. TBE buffer ความเข้มข้น 5 เท่า ปริมาตร 4 ลิตร

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

tris base	216.0 กรัม
Boric acid	110.0 กรัม
0.5M Na_2EDTA (pH 8.0)	80.0 มิลลิลิตร

ผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากันและปรับค่า pH 8.0 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

5. 1M $MgCl_2$

$MgCl_2$	20.3 กรัม
น้ำกลั่น	80 มิลลิลิตร

ปรับปริมาตร 100 มิลลิลตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

6. 5 M $Nacl_2$

$Nacl_2$	29.2 กรัม
น้ำกลั่น	80 มิลลิลิตร

ปรับปริมาตร 100 มิลลิลตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

7. 10X TBE Buffer

Tris-HCl	108 กรัม
Boric acid	55 กรัม
0.5 M Na_2EDTA (pH 8)	40 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

นำ Tris-HCl 108 กรัม และ Boric acid 55 กรัม ผสมในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร เติม 0.5 M Na_2EDTA (pH 8) 40 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

8. 0.5 M EDTA

EDTA	93.05 กรัม
น้ำกลั่น	500 มิลลิลิตร
pH	8

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ละลาย EDTA ในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร โดยใช้ Megnetic stirrer ปรับ pH โดยเติม NaOH ให้ได้ pH 8 แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร

9. 2% Agarose gel

Agarose	2 กรัม
0.5 TBE buffer	100 มิลลิลิตร
Redsaft	5 ไมโครลิตร

Melt ด้วย microwave (รอให้อุณหภูมิลดลง แล้วเติม Redsaft100 มิลลิลิตร ใช้ Redsafe 5 ไมโครลิตร

10. dNTP 10 μM

dATP	20 ไมโครลิตร
dCTP	20 ไมโครลิตร
dGTP	20 ไมโครลิตร
dTTP	20 ไมโครลิตร
น้ำกลั่น	120 ไมโครลิตร

การเตรียม Stock dNTPs ที่ใช้ในเทคนิค PCR และ LAMP โดยนำส่วนประกอบข้างต้นผสมรวมกัน

11. Hydroxynaphthol blue (HNB)

HNB	0.62 กรัม
น้ำกลั่น	1 มิลลิลิตร

ผสมสารทั้งสองชนิดเข้าด้วยกันนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

12. DNA Maker 100 bp

DNA	60 ไมโครลิตร
Loading dry	20 ไมโครลิตร
น้ำกลั่น	20 ไมโครลิตร

ผสมส่วนประกอบของสารให้เข้ากัน

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี