ภาคผนวก

สารเคมี

1. Tricaine methane salfonate

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 200 ppm ด้วยน้ำทะเลที่มีความเค็มเท่ากับ 30 ppm

2. RNAse

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนใช้ต้องต้มในน้ำเดือดก่อน 10 นาทีและทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วด้วยการแช่ลงในน้ำแข็ง เก็บไว้ที่ -20 °ซ

3. Proteinase K

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มที่ 37 °ซ นาน 30 นาที เก็บไว้ที่ –20 °ซ

4. Phenol

หลอมเกล็ด Phenol ในขวดสีชาที่อุณหภูมิประมาณ 50 °ซ เติมบัฟเฟอร์ TE ในปริมาตรเท่ากับ Phenol เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้จนสารละลายแยกชั้น ดูดสารละลายส่วนบนทิ้ง แล้วเติมบัฟเฟอร์ TE ทำเช่นเดิมประมาณ 3-4 ครั้ง จึงเก็บสารละลาย Phenol ในที่มืดหรือตู้เย็น 4 °ซ ก่อนใช้นำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิปกติ

5. Tracking dye

Bromphenol blue	1 เปอร์เซ็นต์
Xyline cyanol FF	1 เปอร์เซ็นต์
Glycerine	30 เปอร์เซ็นต์

6. λ/*Hind*III standard DNA

เตรียมความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร

Stock (λ/*Hind* III) 500 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร	25 ไมโครลิตร
Tracking dye	200 ไมโครลิตร
TE buffer	975 ไมโครลิตร

7. 100 bp ladder standard DNA

เตรียมความเข้มข้น 20 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร

Stock (100bp ladder) 5 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร	25 ไมโครลิตร
Tracking dye	200 ไมโครลิตร
TE buffer	975 ไมโครลิตร

บัฟเฟอร์

. TNES-Urea buffer

Trizma hydrochloride	0.1 โมลาร์; pH 9
Ethyline diamine tetra acetate	0.05 โมลาร์; pH 8
Sodium chloride	0.1 โมลาร์
Sodium dodecyl sulfate	0.2 โมลาร์

3. TE buffer

Trizma hydrochloride	0.01 โมลาร์; pH 8
Ethyline diamine tetraacetate	0.01 โมลาร์; pH 7.5

นำสารละลายที่ได้ไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °ซ ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

4.TBE Tris-borate, EDTA buffer

5x stock solution		กรัม/ลิตร สำหรับ 5x stock solution
Tris base	445 มิลลิโมลาร์	54.0 กรัม
Boric acid	445 มิลลิโมลาร์	27.5 กรัม
$Na_2EDTA^*2H_2O$	10 มิลลิโมลาร์	3.72 กรัม

ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น