ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลาย

1. Phosphate buffer solution (PBS)

ส่วนประกอบต่อลิตร

$Na_2PO_4.H_2O$	0.16	กรัม
$NaHPO_4.12H_2O$	1.98	กรัม
NaCl	8.10	กรัม

การเตรียม

ชั่งสารตามส่วนประกอบ ละลายด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ปรับ pH 7.4 นำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2. 1 M EDTA

ชั่ง EDTA 327.2 กรัม ในน้ำ 800 มิลลิลิตร กวนอย่างแรง โดยใช้ magnetic stirrer เติมเกล็ด sodium hydroxide จนกระทั่งได้ pH 8.0 ซึ่ง EDTA สามารถละลายหมดพอดี ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร นำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

3. 10 % SDS

ชั่ง SDS 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ 100 มิลลิลิตร อุ่นเล็กน้อยเพื่อช่วยให้ละลายดีขึ้น เก็บที่อุณหภูมิห้อง

4. Phenol/Chloroform

ผสม phenol และ chloroform ปริมาตรเท่าๆ กัน แล้วเติม 0.1 M Tris-HCl pH 7.6 เขย่าแรงๆ ให้ผสมกัน ปล่อยให้แยกชั้น ดูดสารละลายส่วนบนทิ้ง สกัดซ้ำด้วย

0.1 M Tris-HCl pH 7.6 อีก 2-3 ครั้ง เติม 0.1 M Tris-HCl pH 7.6 ให้ท่วมผิวสารละลาย เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

5. 3 M Sodium acetate

ชั่ง sodium acetate ($CH_3COONa.3H_2O$) 408.1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 5.2 ด้วย glacial acetic acid แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

6. Tris EDTA (TE)

ชั่ง Tris base 1.211 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร เติม 0.5 M EDTA 1 มิลลิลิตร ปรับ pH 8.0 และเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

7. 10X Tris borate buffer (10X TBE)

ชั่ง Tris base 108 กรัม และ boric acid 55 กรัม ต้มด้วยน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ให้ส่วนผสมละลาย เติม 0.5 M EDTA pH 8.0 จำนวน 40 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น เมื่อนำไปใช้ให้เจือจางในระดับความเข้มข้น 1:10 (1XTBE)

8. Loading dye

ชั่ง bromphenol blue 0.25 กรัม และ sucrose 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

9. Ethidium bromide (10 mg/ml)

ชั่ง ethidium bromide 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร กวนโดยใช้

magnetic stirrer จนกว่าจะละลาย (ใช้เวลาหลายชั่วโมง) เก็บใส่ขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง ต้องสวมถุงมือระหว่างการเตรียม ระวัง อย่าหายใจเอาผง ethidium bromide ระหว่างการชั่ง

10. 0.5 MacFarland standard

เตรียม 1 % sulfuric acid 99.5 มิลลิลิตร ผสมกับ 1.175% barium chloride 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดฝาเกลียว เก็บไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง ซึ่ง 0.5 MacFarland standard มีความขุ่นเทียบเท่ากับ ปริมาณเชื้อ $1.5x10^8$ CFU/ml

การเตรียมเอนไซม์

เอนไซม์ RNase (10 mg/ml)

ชั่งเอนไซม์ RNase 100 มิลลิกรัม ละลายในสารละลายที่มี 10 mM Tris-HCl pH 7.5 และ 15 mM sodium chloride ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือด 15 นาที ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แบ่งใส่หลอด microcentrifuge tube เก็บที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส