

ภาคผนวก

1. การเตรียม Neutralize solution 3M. NaOAc pH 5.2

ชั่ง NaOAc.3H₂O 408.24 g. ละลายในน้ำ 800 ml. ปรับ pH ให้ได้ 5.2 ด้วย CH₃COOH เติมน้ำจนได้ปริมาตร 1 ลิตร จากนั้นนำไป sterile

2. การเตรียมสารละลาย 0.5 M. EDTA (pH 0.8)

ชั่ง disodium ethylene diamine tetraacetate.2H₂O (EDTA) 186.12 g. ละลายในน้ำ 800 ml. เติมหงของ NaOH 15 g. ปรับ pH ด้วย 9 N. HCl จนได้ pH 8.0 เติมน้ำจนได้ปริมาตร 1 ลิตร นำไป sterile

3. การเตรียมสารละลาย 10 % SDS

ชั่ง Lauryl Sulfate (SDS, M.W. = 288.4) 10 g. ละลายในน้ำจนได้ปริมาตร 100 ml.

4. การเตรียมสารละลาย 1 M. Tris-HCl pH 7.4

ชั่ง Trizma Base (M.W. = 121.1) 121.1 g. ละลายในน้ำ 800 ml. ปรับ pH ด้วย conc.HCl ให้ได้ pH 7.4

5 การเตรียมสารละลาย TE buffer (0.01 M. Tris, 0.001 M. EDTA)

จาก stock 1 M. Tris pH 7.4 จะใช้เท่ากับ 5 ml. 0.5 M. EDTA pH 8.0 จะใช้เท่ากับ 1 ml. เติมน้ำจนได้ปริมาตรครบ 500 ml นำไป sterile.

6. L-Broth

ประกอบด้วย 1 % Bacto tryptone, 0.5 % yeast extract, 0.5 % NaCl

7. การเตรียม Lysing solution for buffy coat

a) Stock solution

1 M. Tris-HCl pH 8.0 ชั่ง Tris 121.14 กรัม ละลายน้ำ 800 มล. ปรับ pH ให้ได้ 8.0 โดยเติม conc.HCl ประมาณ 40 ml แล้วเติมน้ำให้ครบ 100 ml

4 M. NaCl ชั่ง NaCl 23.38 g ละลายน้ำ 100 ml

500 mM. Na₂EDTA ชั่ง EDTA 18.61 g ละลายน้ำ 100 ml. ปรับ pH ให้ได้ 8.0

ด้วยการเติมเกลือ NaOH ในสารละลาย EDTA

10 % SDS

10 mg/ml Proteinase K

b) Working solution

ควรเตรียมใหม่ก่อนใช้

ความเข้มข้นสุดท้าย	ปริมาณที่ใช้ (สำหรับสารละลาย 50 ml)
10 mM. Tris pH 8.0	0.5 ml. 1 M. Stock
10 mM. NaCl	0.125 ml. 4 M. Stock
10 mM. EDTA	1.0 ml. 500 mM. Stock
0.5 % SDS	2.5 ml. 10 % Stock
2.5 mg. Proteinase K	250 μ l. 10 mg./ml.

8. การเตรียมสารละลาย 5*ANE buffer

ความเข้มข้นสุดท้าย	ปริมาณที่ใช้ (สำหรับเตรียมสารละลาย 100 ml)
0.01 M NaOAc.3H ₂ O	1 ml. 1 M Stock
0.1 M NaCl	2.5 ml. 4 M
0.001 M. EDTA	0.2 ml. 500 mM Stock
0.5 % SDS	5 ml. 10 % SDS

9. สารละลาย Krebs Ringer Phosphate (KRP)

10X Stock solution

ความเข้มข้นสุดท้าย	ปริมาณที่ใช้ (สำหรับเตรียมสารละลาย 100 ml)
0.156 M. NaCl (58.44)	0.91 g NaCl
0.154 M. KCl (74.56)	1.148 g KCl
0.154 M. MgSO ₄ .7H ₂ O (246.48)	0.37 g MgSO ₄ .7H ₂ O
0.11 M. CaCl ₂ (147.02)	0.16 g/10 ml.
Sodium phosphate buffer pH 7.4	ผสม 0.1 M. NaH ₂ PO ₄ ประมาณ 80 ml กับ 0.1M Na ₂ HPO ₄ ประมาณ 20 ml จนได้ pH 7.4

10. สารละลาย TAE buffer (Tris-acetate)

ประกอบด้วย 0.04 M. Tris-acetate 0.002 M.EDTA