ภาคผนวก 2

การเตรียมสารเคมี

➢ **สารเคมีสำหรับเตรียมทำชีวโมเลกุลด้วยยีน 16S และ COI (DNA molecular)**

การเตรียมสารละลายสำหรับสกัดดีเอ็นเอ (DNA)

1) สารละลาย 0.5 M EDTA (pH 8.0)

EDTA ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2.2H_2O$) (MW = 372.2)	186.1 กรัม
NaOH (MW = 40)	20.0 กรัม

เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 1,000 มิลลิลิตร
ต้องอุ่นสารละลายก่อนใช้

2) สารละลาย 5 M NaCl

NaCl	292.2 กรัม

เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 1,000 มิลลิลิตร

3) สารละลาย 1 M Tris-HCl

Tris base	121.1 กรัม
HCl	42.0 มิลลิลิตร

เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 1,000 มิลลิลิตร
ต้องอุ่นสารละลายก่อนใช้

4) สารละลาย 2X CTAB

CTAB (Cetyltrimethyl ammonium bromide)	2.0 กรัม
1.4 M NaCl	28.0 มิลลิลิตรของ 5 M NaCl
10 mM EDTA (pH 8)	4.0 มิลลิลิตรของ 0.5 M EDTA
100 mM Tris-HCl	10.0 มิลลิลิตรของ 1 M Tris-HCl

เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร
ต้องอุ่นสารละลายก่อนใช้

5) CTAB buffer

0.2% of 2-mercaptoethanol เติม 2X CTAB ปรับปริมาตรก่อนใช้

6) สารละลาย Proteinase K 0.4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

Proteinase K 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร	20 ไมโครลิตร
น้ำกลั่น	980 ไมโครลิตร

ผสมให้เข้ากันก่อนใช้และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C

7) สารละลาย 70% Ethanol

Absolute ethanol	70.0 มิลลิลิตร
Distilled water	30.0 มิลลิลิตร

8) TE buffer

10 mM Tris-HCl (pH 8.0)	1.0 มิลลิลิตรของ 1 M Tris-HCl
1 mM EDTA (pH 8.0)	200 ไมโครลิตรของ 0.5 M EDTA

เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร
ต้องอุ่นสารละลายก่อนใช้

การเตรียมสารละลายสำหรับอิเลกโตรโฟรีซิสและการย้อมสีดีเอ็นเอ

9) การเตรียม 1X TAE buffer

น้ำกลั่น	490 มิลลิลิตร
50X TAE buffer	10 มิลลิลิตร

10) สารละลาย 1.5% Agarose gel

Agarose gel	จำนวน 1.5 กรัม
1X TAE buffer	จำนวน 100 มิลลิลิตร