ภาคผนวก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อรา

Potato Carrot Agar (PCA)

มันฝรั่ง	20	กรัม
แครรอท	20	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Agar	20	กรัม
น้ำ	1	ลิตร

มันฝรั่ง และแครรอทที่ปอกเปลือก และล้างสะอาดแล้ว หั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มในน้ำ 500 มิลลิลิตร จนสุกแต่ไม่เละ แล้วกรองด้วยผ้าขาวบางเอาเนื้อมันฝรั่ง และแครรอทออกไป นำ agar ใส่ในน้ำ 500 มิลลิลิตร ต้มจนละลาย แล้วจึงผสมกับน้ำมันฝรั่ง และแครรอทที่ได้ จากนั้นเติม dextrose คนให้ละลายเข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ได้ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

Potato Dextrose Agar (PDA)

มันฝรั่ง	200	กรัม
Agar	20	กรัม
Dextrose	15	กรัม
น้ำ	1	ลิตร

มันฝรั่งที่ปอกเปลือก และล้างสะอาดแล้ว หั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยม จัตุรัสขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มในน้ำ 500 มิลลิลิตร จนสุกแต่ไม่เละ แล้วกรองด้วยผ้าขาวบางเอาเนื้อมันฝรั่งออกไป นำ agar ใส่ในน้ำ 500 มิลลิลิตร ต้มจนละลาย แล้วจึงผสมกับน้ำมันฝรั่งที่ได้ จากนั้นเติม dextrose คนให้ละลายเข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ได้ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

Potato Dextrose Broth (PDB)

มันฝรั่ง	200	กรัม
Dextrose	15	กรัม
น้ำ	1	ลิตร

มันฝรั่งที่ปอกเปลือก และล้างสะอาดแล้ว หั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยม จัตุรัสขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มในน้ำ 500 มิลลิลิตร จนสุกแต่ไม่เละ แล้วกรองด้วยผ้าขาวบางเอาเนื้อมันฝรั่ง ออกไป จากนั้นเติม dextrose คนให้ละลายเข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ได้ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

สารละลายที่ใช้ในการทดลอง

10% Ammonium persulfate (10% APS)

ammonium persulfate	0.03	กรัม
sdH_2O	300	ไมโครลิตร

ชั่งสาร ammonium persulfate 0.03 กรัม ละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Chloroform:isoamyl alcohol (24:1)

Chloroform	24	มิลลิลิตร
Isoamy alcohol	1	มิลลิลิตร

ผสมสารทั้งสองเข้าด้วยกัน และเก็บในภาชนะที่ปิดสนิทเพื่อป้องกันการระเหย จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

10X CTAB

CTAB	10	กรัม
100 mM Tris (pH 8.0)	50	มิลลิลิตร
20 mM EDTA (pH 8.0)	20	มิลลิลิตร
1.4 M NaCl	140	มิลลิลิตร

นำ CTAB 10 กรัม 100 mM Tris (pH 8.0) 50 มิลลิลิตร 20 mM EDTA (pH 8.0) 20 มิลลิลิตร 1.4 M NaCl 140 มิลลิลิตร ผสมเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

0.5 M EDTA (pH 8.0)

Dissodium ethylenediamine tetraacetate.$2H_2O$ 136.1 กรัม

ละลายสารในน้ำกลั่น ปรับ pH ให้ได้ 8.0 ด้วย NaOH และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

Ethanol

70% Ethanol:

100% ethanol	70	มิลลิลิตร
dH_2O	30	มิลลิลิตร

75% Ethanol:

100% ethanol	75	มิลลิลิตร
dH_2O	25	มิลลิลิตร

100% Ethanol

เจือจาง ethanol ด้วยน้ำกลั่นตามอัตราที่ใช้ จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

Ethidium bromide (10mg/ml)

Ethidium bromide 1 กรัม

ละลายสารในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร ใส่ในภาชนะทึบแสง หรือใช้แผ่น aluminum foil หุ้มภาชนะ ปิดให้สนิทเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

JETSORB Kit (GENOMED, Japan)

A1 solution

$NaClO_4$

TBE solubilizer

Sodium acetate

A2 solution

Ethanol

NaCl

EDTA

Tris-HCl

6X Loading buffer

Sucrose	40%
Bromophenol blue	0.25%
Xylene cyanol	0.25%

ผสมสารทั้งสามเข้าด้วยกัน จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Loading dye

Deionized formamide	95%
Bromophenol blue	0.1%
EDTA (pH 8.0)	10 มิลลิโมลาร์

ผสมสารทั้งสามเข้าด้วยกัน จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

5 M NaCl

NaCl 292.2 กรัม

ละลายสารในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

10X Standard PCR buffer

Tris-HCl	100	มิลลิโมลาร์
KCl	500	มิลลิโมลาร์
$MgCl_2$	15	มิลลิโมลาร์
Twin-20	1%	
NP-40	0.1%	

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

1 M Tris-HCl (pH 8.0)

Tris	121.2	กรัม

ละลายสารในน้ำกลั่น ปรับ pH ให้ได้ 8.0 ด้วย HCl และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

50X Tris-acetate buffer (50X TAE buffer)

Tris base	242	กรัม
Glacial acetic acid	57.1	กรัม
0.5 M EDTA (pH 8.0)	100	มิลลิลิตร

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

10X Tris-borate buffer (10X TBE Buffer)

Tris base	108	กรัม
Boric acid	55	กรัม
0.5 M EDTA (pH 8.0)	40	มิลลิลิตร

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University

TE Buffer

10 mM Tris-HCl (pH 8.0)	0.1	มิลลิลิตร
1 mM EDTA (pH 8.0)	0.02	มิลลิลิตร

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

3M Sodium acetate (pH 5.2)

sodium acetate.$3H_2O$	408.1	กรัม

ละลายสารในน้ำกลั่น ปรับ pH ให้ได้ 5.2 ด้วย glacial acetic acid และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

รายชื่อศูนย์เก็บข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์

DDBJ

Address: DDBJ, National Institute of Genetics, Mishima, Shizuoka 411, Japan

World wide web: http://www.ddbj.nig.ac.jp

EMBL

Address: European Bioinformatics Institute, Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton, Cambridge CB10 1SD, UK

World wide web: http://www.ebi.ac.uk

GenBank

Address: National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine, 8600 Rockville Pike, Bldg 38A, Room 8N-803, Bethesda, MD 20894, USA

World wide web: http://www.ncbi.nlm.nih.gov//

GSDB

Address: GSDB, National Center for Genome Resources, 1800 Old Pecos Trail, Santa Fe, NM 87505, USA

World wide web: http://www.ncgr.org/gsdb

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	ศรัญญา ลิ้มไขแสง
วัน เดือน ปี เกิด	22 มีนาคม 2520
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมตอนปลายที่โรงเรียนวัฒโนทัยพายัพ ปีการศึกษา 2538
	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (โรคพืช) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อปีการศึกษา 2542

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University