ภาคผนวก

การเตรียม buffer และสารละลายเข้มข้น

1. extraction buffer

1.1 4 % (w/v) CTAB

1.2 1 % (w/v) PVPP

1.3 100 mM Tris - HCl, pH 8.0

1.4 20 mM EDTA

1.5 1.4 M NaCl

1.6 H_2O

1.7 0.1 % (v/v) 2 - mercaptoethanol

ผสมสาร 1.1 - 1.6 เข้าด้วยกันปั่นด้วย magnetic stirrer จนสารละลายผสมกัน ก่อนนำไปใช้จึงเติม 2 - mercaptoethanol ลงไป เนื่องจากสารนี้สามารถระเหยได้

2. 1 M Tris - HCl pH 8.0

ชั่งสาร Tris 121.1 g. ละลายในน้ำ 800 ml. จากนั้นปรับ pH โดยใช้กรด HCl เข้มข้นจนได้ pH 8.0 แล้วปรับปริมาตรด้วยการเติมน้ำให้ได้ 1000 ml. นำไป autoclave

3. 5 M NaCl

ชั่งสาร NaCl 29.2 g. ละลายน้ำโดยปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml. นำไป autoclave และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

4. 0.5 M EDTA

ชั่งสาร disodium ethylenediamine tetraacetate - $2H_2O$ 136.1 g. ละลายในน้ำ 800 ml. คนให้เข้ากันโดยใช้ magnetic stirrer จากนั้นเติม NaOH เพื่อปรับให้ได้ pH 8.0 ซึ่งเป็น pH ที่ EDTA จะละลายได้หมดพอดี ปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ได้ 1000 ml. แล้วนำไป autoclave

5. chloroform - isoamyl alcohol (อัตราส่วน 24:1)

ผสม chloroform 240 ml. และ isoamyl alcohol 10 ml. ใส่ในขวดแล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C

6. phenol

6.1 phenol	100 ml.
6.2 8 -hydroxy quinoline	400 ml.
6.3 1 M Tris - HCl pH8.0	200 ml.
6.4 2 - mercaptoethanol	200 µl.

นำ phenol มาหลอมละลายที่อุณหภูมิ 65 ^{0}C แล้วเติม 8 -hydroxy quinoline และ 1 M Tris - HCl pH 8.0 ปริมาตร 200 ml. นำไปปั่นด้วย magnetic stirrer นาน 5 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้ตกตะกอนแยกชั้น แล้วดูดเอา aqueous phase ชั้นบนออก จากนั้นเติม 1 M Tris - HCl pH 8.0 ปริมาตร 200 ml. เพื่อทำการสกัดซ้ำอีก 1 ครั้ง หรือจนกระทั่ง pH ของ phenol $>$ 7.8 (ทดสอบด้วย pH paper) จึงเติม 2 - mercaptoethanol 200 µl. และ 0.1 M Tris - HCl pH 8.0 ปริมาตร 100 ml. เพื่อปิดผิวของสารละลาย จากนั้นเก็บสารละลาย phenol อิ่มตัวที่ได้ไว้ในขวดสีเข้ม ที่อุณหภูมิ 4^{0}C

7. Tris ethylenediaminetetra acetic acid buffer (TE buffer)

7.1 10 mM Tris - HCl

7.2 1 mM EDTA

ผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกัน แล้วนำไป autoclave

8. 50X Tris acetate buffer (50X TAE buffer)

8.1 Tris	242 g.
8.2 glacial acetic acid	57.1 ml.
8.3 0.5 M EDTA pH 8.0	100 ml.

ผสมสารทั้งสามเข้าด้วยกัน แล้วเติมน้ำให้ได้ปริมาตร 1000 ml. นำไป autoclave เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

9. ethidium bromide 10 mg/ml.

ชั่งสาร ethidium bromide 1 g. นำไปละลายด้วยน้ำกลั่น 100 ml. กวนด้วย magnetic stirrer จนกระทั่งสารละลายหมด ซึ่งอาจใช้เวลาหลายชั่วโมง จากนั้นเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 ^{0}C ในการเตรียมสารนี้จะต้องระมัดระวังมาก โดยการใส่ถุงมือและอย่าหายใจเอาผงของ ethidium bromide เข้าไป เนื่องจากสารนี้มีคุณสมบัติเป็น strong mutagent

10. loading buffer

10.1 0.25 % (w/v) bromophenol blue

10.2 0.25 % (w/v) xylene cyanol FF

10.3 40 % (w/v) sucrose

ผสมสารทั้งสามชนิดเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรให้ได้ตามความต้องการด้วยน้ำ แล้วนำไป autoclave เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C

11. 10X reaction buffer (บริษัท Promega, USA)

11.1 100 mM Tris - HCl pH 9.0

11.2 500 mM KCl

11.3 1 % (v/v) Triton X - 100

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ชื่อพันธุ์ลิ้นจี่ที่ในการวิจัย

1. กะโหลกใบอ้อ
2. ลำเภาแก้ว
3. สาแหรกทอง
4. ค่อม
5. จักรพรรดิ์
6. บริวสเตอร์
7. กวางเจา
8. โอเฮี๊ยะ
9. ฮงฮวย
10. กิมเจ็ง
11. จีนเล็ก
12. จีนใหญ่
13. ลูกลาย
14. จีนหอม
15. นครพนม
16. กระโถนท้องพระโรง
17. กะโหลกใบยาว
18. แห้ว
19. Haak - Yip
20. กิมจี้

ชื่อพันธุ์ลำไยที่ใช้เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ (control)

1. พวงทอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

primer ที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR

ตารางภาคผนวก 1 แสดง primer และ base sequence ที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR

primer code	sequence 5' to 3'
680	GTC TCC GCA A
682	GAT GAC CAC C
PA 03	AGT CAG CCA C
PA 05	AGG GGT CTT G
PA 12	TCG GCG ATA G
PA 14	TCT GTG CTG G
PA 15	TTC CGA ACC C
PA 16	AGC CAG CGA A
PA 17	GAC CGC TTG T
PA 19	CAA ACG TCG G
PA 20	CTT GCG ATC C
PAA 13	GAG CGT CGC T
PAA 16	GGA ACC CAC A
PAA 20	TTG CCT TCG G
PAB 04	GGC ACG CGT T
PAC 10	AGC AGC GAG G
PAC 14	GTC GGT TGT C
PAC 20	ACG GAA GTG G
PAE 12	CCG AGC ATT C
PAF 08	CTC TGC CTG A
PAF 09	CCC CTC AGA A
PAF 19	GGA CAA GCA G

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ตารางภาคผนวก 1 (ต่อ)

primer code	sequence 5' to 3'
PAH 03	GGT TAC TGC C
PAH 09	AGA ACC GAG G
PAH 17	CAG TGG GGA G
PAK 01	TCT GCT ACG G
PAK 10	CAA GCG TCA C
PAK 12	AGT GTA GCC C
PAK 15	ACC TGC CGT T
PAK 18	ACC CGG AAA C
PAM 10	CAG ACC GAC C
PAQ 05	ACG GAG CTG A
PAQ 12	CAG CTC CTG T
PAQ 16	CCC GGA AGA G
PAQ 19	AGT AGG GCC T
PAN 03	AGC CAG GCT G
PAN 20	GAG TCC TCA C
PAS 10	CCC GTC TAC C
PAX 02	GGG AGG CAA A
PAX 17	TGG GCT CTG G
PB 04	GGA CTG GAG T
PB 05	TGC GCC CTT C
PB 17	AGG GAA CGA G
PB 18	CCA CAG CAG T
PC 09	CTC ACC GTC C
PC 15	GAC GGA TCA G

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ตารางภาคผนวก 1 (ต่อ)

primer code	sequence 5' to 3'
PC 18	TGA GTC CCT G
PD 02	GGA CCC AAC C
PD 03	GTC GCC GTC A
PD 15	CAT CCG TGC T
PD 18	GAG AGC CAA C
PE 05	TCA GGG AGG T
PE 15	ACG CAC AAC C
PE 20	AAC GGT GAC C
PK 01	CAT TCG AGC C
PK 04	CCG CCC AAA C
PK 10	GTG CAA CGT G
PK 11	AAT GCC CCA G
PK 12	TGG CCC TCA C
PK 14	CCC GCT ACA C
PK 18	CCT AGT CGA G
PR 02	CAC AGC TGC C
PR 04	CCC GTA GCA C
PR 05	GAC CTA GTG G
PR 13	GGA CGA CAA G
PT 10	CCT TCG GAA G
PV 13	ACC CCC TGA A
PY 07	AGA GCC GTC A
PZ 09	CAC CCC AGT C

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ - สกุล นางสาวจันทร์จีรา เชียงดา

วัน เดือน ปี เกิด 21 กรกฎาคม 2512

ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาปีที่ 3 โรงเรียนรังษีวิทยา
จังหวัดเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2527
สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนยุพราชวิทยาลัย
จังหวัดเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2530
สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
สาขาวิชาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ปีการศึกษา 2534

ประสบการณ์ในการทำงาน
- งานวิจัยสารพิษ aflatoxin
- งานอารักษ์ขาพืช
ในสังกัดศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ กรมวิชาการเกษตร

ที่อยู่ 47 หมู่ 9 ตำบลหนองบัว อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่
50320 โทร. (053) 870734

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University