สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทคัดย่อ

เครื่องอิเลคโทรโฟรีซิสเป็นเครื่องมือพื้นฐานที่สำคัญต่องานอณูชีววิทยา และใช้กันอย่างกว้างขวาง ในการศึกษาการแยกของสารชีวโมเลกุลกรดนิวคลีอิก ผ่านตัวกลางสนามไฟฟ้า ในการวิจัยนี้ได้ศึกษาการสร้าง เครื่องอิเลคโทรโฟรีซิสในแนวระนาบ โดยใช้วัสดุที่หาได้ง่าย จากการทดลอง วัสดุที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ในการสร้างเครื่องอิเลคโทรโฟรีซิสคือแผ่นพลาสติกอะคริลิกความหนาขนาด 2 มม. สามารถขึ้นรูปอ่างเก็บบัฟเฟอร์ได้ตามที่ต้องการและมีความทนทานต่อสารเคมี ทนความร้อนได้ดีมากจึงเหมาะสมอย่างยิ่งและเนื่องจาก เป็นพลาสติกที่มีความใสและโปร่งแสงจึงเป็นการง่ายในการตรวจสอบด้วยแสง UV ไฟฟ้ากระแสตรงที่ได้อยู่ในระดับมาตรฐานในการทำอิเลคโทรโฟรีซิสคือ มีความต่างศักย์ 65 V สามารถแยกแถบของดีเอ็นเอออกจากกันได้ดีระดับหนึ่งใช้เวลาในการแยกประมาณ 1 ชั่วโมง ในขณะทำอิเลคโทรโฟรีซิสจะปรากฏตะกอนที่ขั้วบวกในบัฟเฟอร์ อาจเกิดมาจากอิออน ที่อยู่ภายในบัฟเฟอร์ไปเกาะรวมตัวกันโดยกระแสไฟฟ้าเป็นตัวผลักดัน หรืออาจจะเป็นอิออนจากขั้วอิเล็คโทรดทั้ง 2 ข้าง ของเครื่องหลุดออกมาโดยกระแสไฟฟ้าเพราะความต้านทานกระแสไฟฟ้าของขั้วทั้งสองชนิดไม่เพียงพอจึงทำให้อิออนของขั้วไฟฟ้าออกมาเกาะที่ขั้วบวกของเครื่อง อาจจะทำให้กระแสไฟฟ้าที่ไปสู่ขั้วแอโนดหรือขั้วบวกนั้นลดน้อยลงเพราะการขัดขวางของตะกอน อาจจะใช้วิธีการแก้ไขโดยใช้โลหะนำไฟฟ้าที่มีความต้านทานต่อกระแสไฟฟ้าขนาดที่ต้องการ จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าเราสามารถประกอบเครื่องอะกาโรสอิเลคโทรโฟรีซิสจากการใช้วัสดุที่หาได้สะดวกในประเทศ ซึ่งชุดเครื่องมือที่ได้มีประสิทธิภาพในการแยกชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ใกล้เคียงกับเครื่องที่ขายเป็นการค้า แต่ทั้งนี้ยังต้องการการพัฒนาปรับปรุงอุปกรณ์ที่ได้บางส่วนเพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อการใช้งานสูงสุดหรือการพัฒนาเพื่อการค้าต่อไป

RCH
QP
519.9
.G42
ก124ก
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 82228
วัน,เดือน,ปี 10 ก.ค. 2551

b.....11941790
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของงานวิจัย

ปัจจุบันงานวิจัยมุ่งสู่งานทางด้านอณูชีววิทยามากขึ้น แต่เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับงานวิจัยด้านนี้มีราคาสูงและยังต้องนำเข้าจากต่างประเทศซึ่งเสียค่าใช้จ่ายสูงในการนำเข้า อุปกรณ์บางชนิดไม่มีความซับซ้อนมาก สามารถที่จะสร้างขึ้นมาใช้เองได้ สำหรับแนวทางการคิดประดิษฐ์เครื่องมือและอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์โดยใช้อุปกรณ์ซึ่งหาได้ง่ายในประเทศเพื่อรองรับการขยายตัวของงานวิจัยในประเทศและทดแทนการนำเข้าเครื่องมืออุปกรณ์จากต่างประเทศส่งผลให้ลดค่าใช้จ่ายการนำเข้าอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ จึงน่าที่จะสร้างขึ้นมาใช้เองซึ่งจะเป็นการเพิ่มศักยภาพของการทำงานวิจัยของนักวิจัยในประเทศได้อีกทางหนึ่ง

เครื่องอิเลคโทรโฟรีซิสเป็นเครื่องมือพื้นฐานที่สำคัญต่องานอณูชีววิทยา และใช้กันอย่างกว้างขวางในการศึกษาสารชีวโมเลกุลเช่น โปรตีน (เอนไซม์) กรดนิวคลีอิก ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ ในการวิเคราะห์หาขนาดที่แน่นอน การวิเคราะห์สารผสมหาความบริสุทธิ์ของสารและเตรียมสารให้บริสุทธิ์ โดยใช้ปริมาณสารตัวอย่างเพียงเล็กน้อย

อิเลคโทรโฟรีซิสเป็นคำที่ใช้อธิบายการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่มีประจุไฟฟ้าผ่านสารตัวกลางที่มีความเฉื่อยต่อปฏิกิริยาเคมีในสนามไฟฟ้า อนุภาคของสารชีวโมเลกุล ซึ่งส่วนใหญ่มีประจุจะสามารถเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าได้ ถ้าหากมีการพัฒนาเครื่องมือขึ้นมาโดยเครื่องมือนี้มีวงจรสำหรับสร้างสนามไฟฟ้าขนาดที่เหมาะสมที่จะนำให้อนุภาคที่สนใจเคลื่อนที่ได้ก็สามารถนำมาประกอบเป็นเครื่องมืออิเลคโทรโฟรีซิสได้ จากหลักการดังกล่าวจึงนำมาใช้ประดิษฐ์ชุดอุปกรณ์โดยใช้วัสดุที่สามารถหาได้ในประเทศเพื่อประกอบชุดอิเลคโทรโฟรีซิสสำหรับการใช้งานจริง

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาแนวทางการสร้างชุดเครื่องมืออิเลคโทรโฟรีซิสสำหรับการใช้งานจริง

1.3 ขอบเขตการวิจัย

การศึกษาแนวทางการสร้างชุดเครื่องมืออะกาโรสเจลอิเลคโทรโฟรีซิส โดยใช้วัสดุอุปกรณ์ภายในประเทศ เพื่อที่ให้สามารถใช้งานได้จริง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

1.4.1 ศึกษาวัสดุที่เหมาะสมสำหรับสร้างส่วนของอ่างเก็บบัฟเฟอร์ (gel chamber) ของชุดอิเลคโทรโฟรีซิส

1.4.2 ศึกษาระบบสร้างสนามไฟฟ้าของชุดอิเลคโทรโฟรีซิส

1.4.3 การประกอบชุดอุปกรณ์และตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงาน

1.5 ผลที่คาดว่าน่าจะได้รับ

1.5.1 ได้แนวทางการสร้างเครื่องมืออิเลคโทรโฟรีซิสสำหรับใช้งานอณูชีววิทยา

1.5.2 ได้แนวทางการพัฒนาคุณภาพชุดเครื่องมือวิทยาศาสตร์

1.5.3 ประหยัดงบประมาณในการซื้ออุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์

1.5.4 ลดการนำเข้าสินค้าต่างประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

การทำอิเลคโทรโฟรีซิสเป็นเทคนิคหนึ่งทางชีวเคมี ที่มีความสำคัญและให้ประโยชน์มากในการศึกษาสารชีวโมเลกุล เช่น โปรตีน (เอนไซม์) และกรดนิวคลีอิก ทั้งคุณสมบัติ โครงสร้างของสาร การแยกสารผสม และการเตรียมสารให้บริสุทธิ์ โดยสารที่ต้องการแยกนั้น จะเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางภายใต้สนามไฟฟ้า(Andrew, 1986) อาจแบ่งการทำอิเลคโทรโฟรีซิสตามตัวกลางค้ำจุนที่ใช้ได้เป็นหลายชนิด ได้แก่ อิเลคโทรโฟรีซิสแบบกระดาษ แบบเซลลูโลสอะซิเตต และแบบเจล โดยอิเลคโทรโฟริซิสแบบเจลนั้น เป็นที่นิยมมากที่สุด ตัวกลางค้ำจุนเจลมีหลายชนิด เช่น แป้ง พอลิอะคริลาไมด์ (polyacrylamide) อะกาโรส (agarose) และอะกาโรส อะคริลาไมด์ (agarose acrylamide) เจลพวกนี้ถูกเคลือบเป็นแผ่นบางๆ บนแผ่นพลาสติกหรือแผ่นกระจก เมื่อเจลแข็งตัวจะเกิดร่างแหขึ้นภายใน มีลักษณะเหมือนตะแกรงร่อนโมเลกุล(molecular sieving) จึงทำให้การแยกสารดีกว่าอิเลคโทรโฟรีซิสแบบอื่น โดยเฉพาะเมื่อใช้แยกโปรตีนและกรดนิวคลีอิก (Hames,1990 ; Richwood and Hames, 1990)

อะกาโรสเป็นโพลีแซ็คคาไรด์เส้นตรงที่ได้จากการสกัดมาจากสาหร่ายทะเล ประกอบด้วยหน่วยย่อยที่เรียกว่า อะกาโรไบโอส (Agarobiose) ประกอบด้วย กาแล็คโตส (galactose) สลับกับ 3, 6 -แอนไฮโดรกาแล็คโตส (3, 6- anhydrogalactose) อะกาโรสเตรียมได้ง่ายและไม่เป็นอันตราย อะกาโรสเจลจะมีขนาดรูพรุนที่ใหญ่และใช้แยกโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ (ขนาดประมาณ 200 kDa) การทำอะกาโรสเจลอิเลคโทรโฟรีซิสนั้นจะทำได้สะดวกและง่ายกว่าการทำพอลิอะคริลาไมด์เจลอิเลคโทรโฟรีซิส แต่ผลที่ได้จะด้อยกว่าแถบที่ได้จากการทำอะกาโรสเจล อิเลคโทรโฟรีซิสนั้นจะไม่ชัดเจนและกระจายออกมากกว่าพอลิอะคริลาไมด์เจลอิเลคโทรโฟรีซิส เพราะขนาดของรูพรุนมีขนาดใหญ่ (อาภัสรา, 2537)

เครื่องมืออิเลคโทรโฟรีซิสประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก ได้แก่ อ่างเก็บบัฟเฟอร์และระบบสร้างสนามไฟฟ้า อ่างเก็บบัฟเฟอร์เป็นส่วนที่กักเก็บบัฟเฟอร์ในการทำอิเลคโทรโฟรีซิส ต้องเป็นส่วนที่สามารถทนกระแสไฟฟ้าได้เป็นอย่างดี เนื่องการทำอิเลคโทรโฟรีซิสนั้นจำเป็นที่จะต้องมีกระแสไฟฟ้าเข้ามาเกี่ยวข้อง นอกจากนี้ต้องทนความเป็นกรด เบส ของสารละลายบัฟเฟอร์ได้ และทนความร้อนที่เกิดขึ้นระหว่างการให้กระแสไฟฟ้า วัสดุที่จะนำมาใช้เป็นส่วนของอ่างเก็บบัฟเฟอร์นั้นจึงต้องมีคุณสมบัติดังกล่าว ตัวอย่างวัสดุที่สามารถนำมาทำอ่างเก็บบัฟเฟอร์ ได้แก่ พอลิเอทิลีน พอลิโพรพิลีน พอลิสไตรีน พอลิคาร์โบเนต อะคริลิก และ อะคริโลไนไตรด์ บิวตะไดอีน สไตรีนโคพอลิเมอร์ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระบบสร้างสนามไฟฟ้าของเครื่องมืออิเลคโทรโฟรีซิส ประกอบด้วยระบบจ่ายไฟฟ้าและขั้วไฟฟ้า กระแสไฟฟ้าที่ใช้ในกระบวนการอิเลคโทรโฟรีซิสนั้นเป็นกระแสตรง ขนาดของกระแสไฟฟ้ามีผลต่อความเร็วของการแยกขนาดของสารตัวอย่างในสารตัวกลาง ระยะทางการเคลื่อนที่ของสารตัวกลางจะแปรผันตามค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า ถ้าให้ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้ามากขึ้นอัตราการเคลื่อนที่ของสารตัวกลางก็จะเพิ่มมากขึ้นด้วยในกรณีที่ความเข้มข้นของเจลและอนุภาคที่ใช้เป็นแบบเดียวกัน ขั้วไฟฟ้าแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือส่วนที่ทำหน้าที่รับกระแสไฟฟ้าจากชุดจ่ายกระแสไฟฟ้า ซึ่งยึดติดอยู่กับอ่างเก็บสารละลายบัฟเฟอร์ เรียกว่าขั้วต่อกระแสไฟฟ้า อีกส่วนหนึ่งทำหน้าที่เชื่อมต่อกระแสไฟฟ้าจากส่วนแรกไปสู่สารละลายบัฟเฟอร์เพื่อเป็นขั้วของสนามไฟฟ้า เพื่อใช้ในการแยกสารตัวอย่างเรียกว่าอิเลคโทรด คุณสมบัติของวัสดุที่จะนำมาใช้เป็นขั้วไฟฟ้านั้นจะต้องเป็นโลหะนำไฟฟ้า ไม่เกิดการออกซิไดซ์ได้ง่าย ทนต่อสารเคมี ระหว่างการทำอิเลคโทรโฟรีซิสนั้นจะเกิดความร้อนที่มาจากการให้กระแสไฟฟ้าผ่านทางขั้วไฟฟ้า ซึ่งความร้อนนี้จะมีผลต่อเจลและวัสดุที่ใช้ในการสร้างอ่างเก็บบัฟเฟอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ในงานวิจัยนี้จะเริ่มต้นจากการเลือกวัสดุอุปกรณ์ที่เหมาะสมสำหรับนำมาสร้างเป็นเครื่องมือ เลือกวัสดุที่จะนำมาใช้สร้างเป็นขั้วไฟฟ้า ทดลองหาค่าของสนามไฟฟ้าที่เหมาะสมกับสารตัวอย่างที่สนใจที่จะนำมาใช้ในการทดลอง จากนั้นสร้างอ่างบัฟเฟอร์ วงจรสร้างสนามไฟฟ้า และทดสอบการทำงานของเครื่องมือที่สร้างขึ้น

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์และสารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้มีดังต่อไปนี้

3.1.1 อุปกรณ์สำหรับสร้างเครื่องมือ

1. ไม้อัด
2. แผ่นพลาสติก ABS
3. แผ่นพลาสติกอะคริลิก
4. หม้อแปลงไฟฟ้าขนาด 24 V 1 แอมป์
5. ไดโอด
6. ตัวเก็บประจุ
7. ลวดโลหะเงินผสม, ลวดโลหะทองเหลือง
8. ขั้วโลหะทองเหลือง
9. แผ่นเขียนวงจร
10. เจลเมกเกอร์เพลท
11. เจลโคม
12. ปากคีบ
13. โวลท์มิเตอร์
14. ตะกั่วบัดกรี
15. หัวแร้งบัดกรี
16. ตะปู
17. กระดาษทราย
18. เครื่องอิเลคโทรโฟรีซิส Phamacia Biotech GNA 100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
82228

3.1.2 สารเคมี

1.อะกาโรส

2.เอธิเดียมโบรไมด์

3.บัฟเฟอร์ 5x TBE (ภาคผนวก)

4.ดีเอ็นเอ แลมดา (λ) ที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Pst*I

3.2 การสร้างอ่างเก็บบัฟเฟอร์

3.2.1 การออกแบบอ่างเก็บบัฟเฟอร์

การออกแบบอ่างเก็บบัฟเฟอร์นั้นได้ออกแบบให้อ่างเก็บบัฟเฟอร์ที่มีขนาดยาว เพื่อให้สามารถใช้ได้กับเจลที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งสามารถที่จะใส่สารตัวอย่างได้มากในการทดลองแต่ละครั้ง หรือในกรณีที่ต้องการเพิ่มระยะทางในการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างที่ใช้แยกเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกสาร เช่นกรณีการแยกของดีเอ็นเอจากโครโมโซม ในการทดลองได้ใช้ไม้อัดมาประกอบเพื่อเป็นโมเดลสำหรับการขึ้นรูปพลาสติก ทั้งนี้ได้ออกแบบแม่แบบ 2 แบบเพื่อให้เหมาะสมกับการขึ้นรูปพลาสติกในแต่ละชนิด แบบ ก จะใช้กับพลาสติกที่มีความยืดหยุ่นสูง สามารถขึ้นรูปได้ง่าย ส่วนแบบ ข จะใช้กับพลาสติกที่มีความยืดหยุ่นต่ำกว่าดังรูปที่ 3.1

รูปที่ 3.1 แสดงแบบที่เตรียมสำหรับการขึ้นรูปอ่างเก็บบัฟเฟอร์ทั้ง 2 แบบ

โมเดลที่สร้างขึ้นนี้จะเป็นต้นแบบที่จะนำมาใช้เป็นแม่พิมพ์ในการสร้างอ่างบัฟเฟอร์ต่อไป

3.2.2 การเลือกวัสดุทำอ่างเก็บบัฟเฟอร์

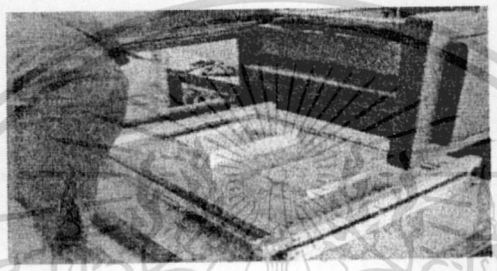
พลาสติกที่นำมาใช้ในการขึ้นรูปได้คัดเลือกตามลักษณะและคุณสมบัติที่ดีหลายประการคือ เป็นพลาสติกที่มีความทนทานรับแรงกระแทกได้สูง ทนความร้อนได้ดี และสามารถทนสารเคมีได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งกรด และ เบส อีกทั้งยังเป็นฉนวนไฟฟ้าไม่สามารถที่จะนำไฟฟ้าได้ จากการศึกษาได้เลือก ABS และ อะคริลิกมาใช้สำหรับการขึ้นรูปอ่างเก็บบัฟเฟอร์ เนื่องจากหาซื้อได้ตามท้องตลาด

3.2.3 การขึ้นรูปอ่างเก็บสารละลายบัฟเฟอร์

การขึ้นรูปพลาสติกนั้นเป็นกระบวนการที่ให้ความร้อนแก่แผ่นพลาสติกที่ต้องการให้เกิดการอ่อนตัว ซึ่งความร้อนที่ทำให้พลาสติกอ่อนตัวนั้นอยู่ที่ประมาณ 350°C ประมาณ 5 นาที จนกระทั่งพลาสติกที่เตรียมไว้เริ่มอ่อนตัวดังรูปที่ 3.2 จึงกดแผ่นพลาสติกที่อ่อนตัวลงบนแม่แบบโมเดล ก และ ข จากนั้นปล่อยให้พลาสติกเย็นลง สังเกตพลาสติกที่ได้หลังจากการขึ้นรูป และคัดเลือกสำหรับใช้ทำอ่างเก็บบัฟเฟอร์ แล้วทำการตัดและตกแต่งอ่างเก็บบัฟเฟอร์ให้ได้ขนาดตามต้องการ



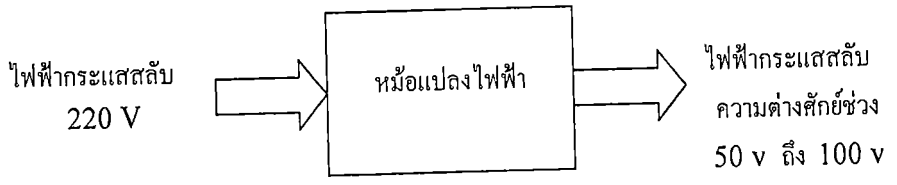
รูปที่ 3.2 แสดงการขึ้นรูปอ่างเก็บบัฟเฟอร์

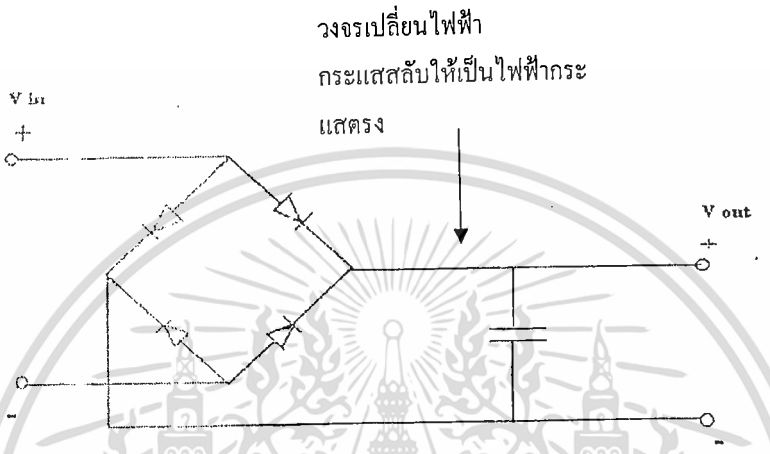
3.3 การสร้างส่วนสร้างสนามไฟฟ้า

3.3.1 ชุดจ่ายกระแสไฟฟ้า

ระบบที่ใช้สำหรับจ่ายกระแสไฟฟ้าที่ใช้ในกระบวนการอิเลคโทรโฟรีซิสนั้น จะต้องเป็นไฟฟ้ากระแสตรง เนื่องจากกระแสไฟฟ้าที่ใช้อยู่ทั่วไปเป็นไฟฟ้ากระแสสลับมีความต่างศักย์ขนาด 220 V จึงจำเป็นที่จะต้องแปลงกระแสไฟฟ้าให้เหมาะสมต่อการทำอิเลคโทรโฟรีซิส โดยใช้หม้อแปลงไฟฟ้าที่เปลี่ยนแรงดันไฟฟ้าความต่างศักย์ 220 V ให้เป็นไฟฟ้าที่มีความต่างศักย์ลดลง และเป็นไฟฟ้ากระแสตรงอีกด้วย สำหรับในงานวิจัยนี้พบว่าความต่างศักย์ที่เหมาะสมต่อการทำอิเลคโทรโฟรีซิสคือไฟฟ้ากระแสตรงที่มีความต่างศักย์ที่อยู่ในช่วง 50 ถึง 100 V จึงได้ออกแบบส่วนวงจรแปลงกระแสไฟฟ้าจากความต่างศักย์ 220 V ให้เป็นกระแสไฟฟ้าในช่วงดังกล่าว โดยใช้ไดโอดขนาด 3 แอมป์ และตัวเก็บประจุขนาด 1000 μF 100 V มาต่อรวมกันตามวงจรจ่ายกระแสไฟฟ้าดังรูป กระแสไฟฟ้าที่จ่ายออกมานั้นเป็นกระแสตรงโดยกระแสไฟฟ้าที่ได้นั้นจะทำการต่อออกจากชุดให้กระแสไฟฟ้าเข้าสู่ขั้วอิเลคโทรด ผ่านขั้วส่งกระแสไฟฟ้าเข้าสู่ส่วนสารละลายบัฟเฟอร์ที่อยู่ในอ่างเก็บสารละลายบัฟเฟอร์อีกทีหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





รูปที่ 3.3 วงจรไฟฟ้าที่แปลงไฟฟ้าให้เหมาะสมกับการทำอิเลคโทรโฟรีซิส (สามเหลี่ยมแทนไดโอด, เส้นขนานแทนด้วยตัวเก็บประจุ เมื่อ V_{in} เท่ากับ 48 V

3.3.2 ขั้วไฟฟ้า

วัสดุที่ใช้ในการทำขั้วไฟฟ้าจะต้องนำไฟฟ้าได้ดี ดังนั้นในการทดลองนี้จึงใช้ทองเหลืองเป็นขั้วไฟฟ้า โดยได้จากการนำทองเหลืองเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ซม. มากลึงให้ได้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เป็นขั้วไฟฟ้านำไฟฟ้าจากชุดจ่ายกระแสไฟฟ้าเข้าสู่ระบบ ส่วนขั้ววัสดุที่นำกระแสไฟฟ้าลงสู่สารละลายบัฟเฟอร์จะต้องเป็นวัสดุที่นำไฟฟ้าได้และไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ใช้ในการทดลอง สำหรับในงานวิจัยนี้ได้ใช้ลวดทองเหลือง และโลหะเงินผสม เชื่อมต่อกับโลหะทองเหลืองนำไฟฟ้าที่ทำเป็นขั้วไฟฟ้าในช่วงแรก เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการทำงานของวัสดุทั้ง 2 ชนิด ตรวจสอบความต่างศักย์ของขั้วทั้งสองหลังจ่ายกระแสไฟฟ้าจากชุดจ่ายกระแสไฟฟ้าที่ประกอบขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การทดสอบการทำงานของอะกาโรสเจลอิเลคโทรโฟรีซิส

นำอ่างเก็บบัฟเฟอร์ที่ได้จากข้อ 3.2.1 และติดขั้วไฟฟ้าจากข้อ 3.2.2 มาต่อรวมกับชุดให้กระแสไฟฟ้าทดสอบการทำงานของชุดเครื่องมือโดยใช้ความเข้มข้น ร้อยละ 1 แล้วศึกษาประสิทธิภาพการทำงานของเครื่องโดยดูจากแถบการแยกของดีเอ็นเอขนาดต่างๆ

3.4.1 การเตรียมเจล

ใช้อะกาโรสเจลความเข้มข้นร้อยละ 1 ละลายในบัฟเฟอร์ TBE ความเข้มข้น 0.5 เท่า (ภาคผนวก) ปริมาตร 100 มิลลิลิตรซึ่งมีส่วนผสมของเอธิเดียมโบรไมด์ 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร น้ำไปต้มให้เดือดเพื่อละลาย อะกาโรส จากนั้นเทเจลลงในเจลเมกเกอร์เพลทที่เตรียมไว้แล้ว รอให้เจลคงรูป ดังรูปที่ 3.4

3.4.2 การใส่สารตัวอย่าง

การใส่สารตัวอย่างลงในเจลนั้นจะใส่ลงในช่องใส่สารตัวอย่างที่เกิดจากหวีในเจลเมกเกอร์เพลท โดยสารตัวอย่างที่ใช้ได้แก่ ดีเอ็นเอ λ ซึ่งตัดด้วยเอนไซม์ *PstI* ความเข้มข้น 0.1 μg/μl (ภาคผนวก) ปริมาตร 6 μl หยดลงในช่องใส่สาร

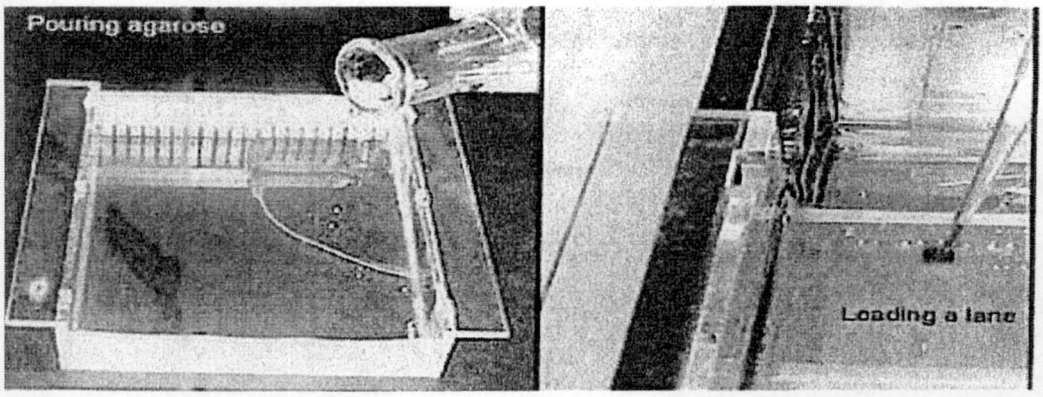
3.4.3 การทดลองเครื่องและเริ่มให้กระแสไฟฟ้า

เมื่อใส่สารตัวอย่างลงไปในช่องใส่สารตัวอย่างแล้ว จึงเริ่มให้กระแสไฟฟ้าเพื่อศึกษาประสิทธิภาพการทำงานของเครื่องอะกาโรสเจลอิเลคโทรโฟรีซิส เนื่องจากดีเอ็นเอไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าจึงติดตามการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอโดยสังเกตจากสีย้อมขนาดเล็ก (Xylene Cyanol) ใช้โวลท์มิเตอร์ตรวจสอบความต่างศักย์ บันทึกเวลา ความต่างศักย์และระยะทางการเคลื่อนที่ของสีย้อมขนาดเล็กในอ่างเก็บบัฟเฟอร์ซึ่งมีขั้วโลหะเงินผสมและทองเหลือง เป็นระยะทาง 4 cm

3.4.4 การตรวจสอบดีเอ็นเอ

การตรวจสอบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำอิเลคโทรโฟรีซิสสามารถทำได้ นำเจลที่ได้จากข้อ 3.3.3 มาตรวจสอบโดยไปส่องดูกับรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตรเนื่องจากเอธิเดียมโบรไมด์ที่จับอยู่กับดีเอ็นเอนั้นสามารถเรืองแสงได้ภายใต้รังสี UV จึงสามารถตรวจสอบได้ และบันทึกภาพโดยใช้เครื่อง Syngene Digital Imagine Station รุ่น genegenius บริษัท syngene

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.4 แสดงการเตรียมอะกาโรสเจลสำหรับอิเลคโทรโฟรีซิสและใส่สารตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การสร้างอ่างเก็บสาระละลายบัฟเฟอร์

4.1.1 การออกแบบอ่างเก็บสารละลาย

การออกแบบอ่างเก็บสารละลายบัฟเฟอร์ลักษณะนี้ สามารถที่ใช้เจลที่มีขนาดใหญ่ใช้สำหรับงานที่ต้องการระยะทางในการแยกมากกว่าปรกติและสามารถที่จะใส่สารตัวอย่างได้มากกว่าเดิมในแต่ละครั้ง โดยปริมาณบัฟเฟอร์ที่ใช้นั้นใกล้เคียงกับเครื่องมาตรฐานซึ่งในอ่างเก็บบัฟเฟอร์นี้จะใช้สารละลายบัฟเฟอร์ประมาณ 400 มิลลิลิตร เมื่อใช้ความหนาของเจล 1 เซนติเมตร

4.1.2 การใช้วัสดุในการสร้างอ่างเก็บสารละลายบัฟเฟอร์

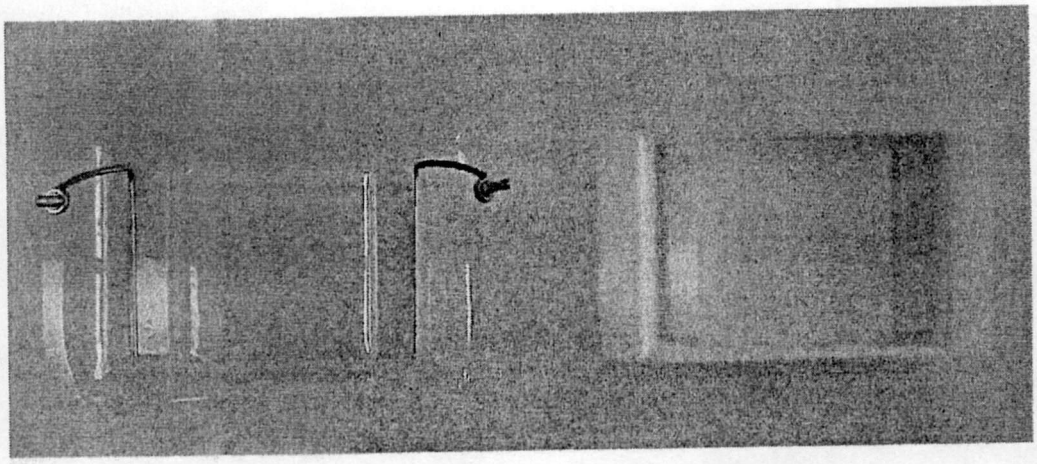
วัสดุที่ใช้คือพลาสติก ABS และ พลาสติกอะคริลิก ทั้ง 2 ชนิดมีคุณสมบัติที่คล้ายกัน เป็นพลาสติกที่มีความทนทานแข็งแรง ทนต่อแรงกระแทกสูง สามารถทนต่อกระแสไฟฟ้าได้เนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นฉนวนไฟฟ้า และสามารถทนต่อความร้อนได้สูงประมาณ 220◦C และทนต่อสารเคมีที่เป็นทั้งกรดและเบสเนื่องจากวัสดุทั้ง 2 ชนิดเป็นวัสดุที่ไม่มีขั้วจึงไม่เกิดปฏิกิริยากับสารเคมีที่มีขั้ว จะแตกต่างกันตรงที่พลาสติก ABS มีความยืดหยุ่นได้มากกว่าพลาสติกอะคริลิก แต่มีสีขาวขุ่น ส่วนอะคริลิกเป็นพลาสติกที่มีความใสมาก จะทำให้สามารถตรวจการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอได้โดยตรง เมื่อวางอ่างเก็บบัฟเฟอร์เหนือแหล่งกำเนิดแสง UV

4.1.3 การขึ้นรูปอ่างเก็บสารละลายบัฟเฟอร์

ในการขึ้นรูปอ่างเก็บสารละลายบัฟเฟอร์เมื่อนำ ABS มาผ่านกระบวนการให้ความร้อนและกดลงไปบนแบบที่เตรียมไว้ สามารถทำให้พลาสติกเป็นตามแบบที่ต้องการแต่เนื่องจากคุณสมบัติของพลาสติก ABS เป็นพลาสติกที่มีความยืดหยุ่นสูง เมื่อโดนความร้อนแล้วจะสามารถยืดออกทำให้ขอบพลาสติกบางลงจึงมีโอกาสที่จะเสียหายได้ง่าย

พลาสติกอะคริลิกนั้นเป็นพลาสติกที่มีความแข็งและมีความยืดหยุ่นปานกลางเมื่อผ่านความร้อนแล้วกดลงตามแบบที่ต้องการพลาสติกอะคริลิกจะมีการอ่อนตัวน้อยกว่าแผ่น ABS แต่เมื่อกดลงบนแบบ แผ่นพลาสติกอะคริลิกจะยังคงความหนาของแผ่น เนื่องจากมีความยืดหยุ่นน้อย แม้ว่าแผ่นพลาสติกที่ได้จากการกดลงบนแบบจะไม่เหมือนกับแบบที่สร้างขึ้นมากนัก เนื่องจากพลาสติกมีความยืดหยุ่นน้อย แต่รูปทรงที่ได้มีความแข็งแรงกว่า จึงเหมาะที่จะนำมาใช้เป็นอ่างเก็บบัฟเฟอร์ ดังนั้นการออกแบบแม่แบบที่เหมาะสมกับคุณสมบัติของพลาสติกน่าจะมีส่วนให้ได้อ่างเก็บสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม รูปทรงที่มีความแข็งแรงเหมาะสมกับการใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก ข

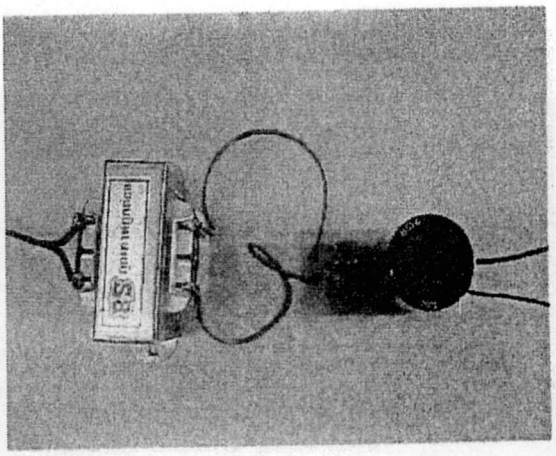
รูปที่ 4.1 อ่างเก็บบัฟเฟอร์ที่ได้จากพลาสติกอะคริลิก (ก) และ พลาสติก ABS (ข)

4.2 กระแสไฟฟ้า

4.2.1 ระบบจ่ายกระแสไฟฟ้า

ระบบจ่ายกระแสไฟฟ้าที่ออกแบบมานั้น จากที่กล่าวมาแล้วคือกระแสไฟฟ้าที่เหมาะสมต่อการทำอิเลคโทรโฟรีซิส จะเป็นไฟฟ้ากระแสตรงอยู่ในช่วง 50 ถึง 100 V สำหรับความต่างศักย์เมื่อทำการต่อวงจรไฟฟ้าตามที่ได้รับการออกแบบมาแล้วนำไปวัดด้วยโวลท์มิเตอร์จะพบว่าให้ไฟฟ้ากระแสตรงความต่างศักย์ 65 V ซึ่งเหมาะสมกับการทำอิเลคโทรโฟรีซิส เมื่อวัดค่าความต่างศักย์ในสารละลายบัฟเฟอร์ ณ ตำแหน่งเหนือขั้วอิเลคโทรดระหว่างการทำอิเลคโทรโฟรีซิสค่าที่วัดได้มีค่าคงที่ตลอดการทดลองคือ 56 V

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก ข ค

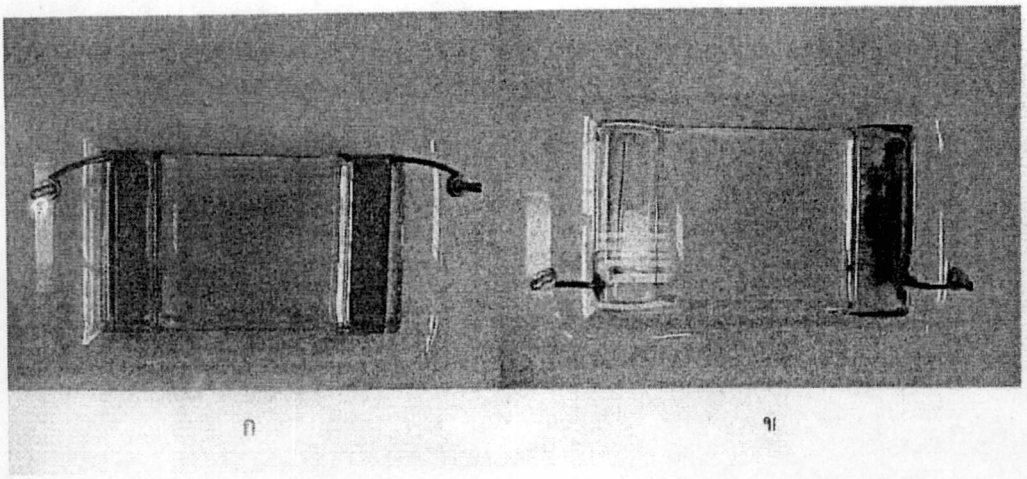
รูปที่ 4.2 แสดงส่วนประกอบชุดจ่ายกระแสไฟฟ้า (ก) หม้อแปลง 24 V 1 แอมป์, (ข) ไอโอด, (ค) ตัวเก็บประจุขนาด 10,000 μF

4.2.2 ขั้วไฟฟ้า

ส่วนของขั้วไฟฟ้าที่ใช้โลหะทองเหลืองและโลหะเงินผสมนั้นสามารถที่จะนำไฟฟ้าได้ดี เนื่องจากสามารถเชื่อมต่อกระแสไฟฟ้าจากชุดจ่ายกระแสไฟฟ้าและนำไฟฟ้าลงสู่สารละลายบัฟเฟอร์ได้มีผลให้สามารถแยกดีเอ็นเอสารตัวอย่างได้

ในการทำอิเลคโทรโฟรีซิสนั้นจะเกิดตะกอนภายในสารละลายบัฟเฟอร์เกาะอยู่บริเวณขั้วแอโนดหรือขั้วบวก โดยเมื่อใช้โลหะทองเหลืองเป็นขั้วไฟฟ้าตะกอนที่เกิดเป็นตะกอนสีเขียวอมฟ้า และเมื่อใช้โลหะเงินผสมเป็นขั้วไฟฟ้าจะเกิดตะกอนสีขาวและสีเขียวดังรูปที่ 4.3 ตะกอนที่เกิดขึ้นอาจจะมาจากโลหะนำไฟฟ้าที่ใช้เป็นขั้วไฟฟ้า นั้นคือโลหะทองเหลืองและโลหะเงินผสมอาจมีความต้านทานต่อกระแสไฟฟ้าที่ใช้ไม่เพียงพอ จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิไดซ์ของโลหะทำให้เกิดตะกอน อาจจะใช้โลหะนำไฟฟ้าชนิดอื่นที่มีความต้านทานต่อกระแสไฟฟ้าเพียงพอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



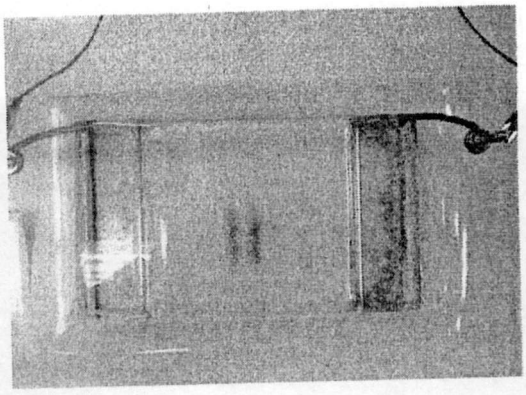
ก ข

รูปที่ 4.3 ตะกอนที่เกิดจากทองเหลือง (ก) และโลหะเงิน (ข)

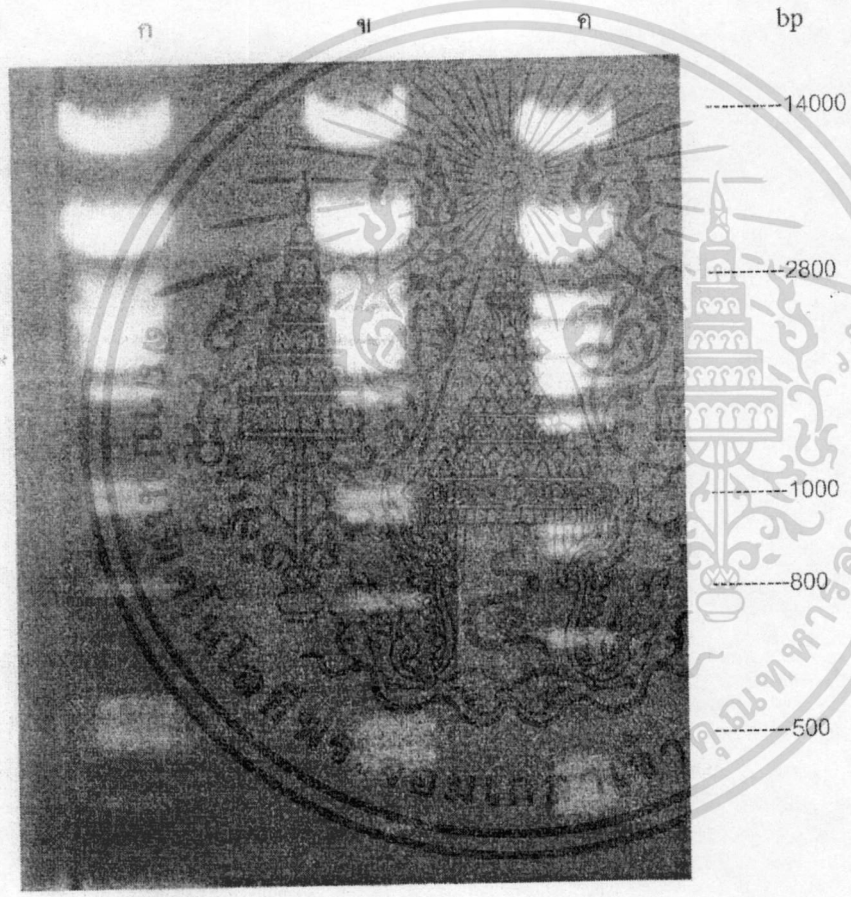
4.3 การทำอะกาโรสเจลอิเลคโทรโฟรีซิส

การทำอะกาโรสเจลอิเลคโทรโฟรีซิสที่ความเข้มข้นของเจลร้อยละ 1 ในชุดเครื่องมือที่ได้จากการทดลองหลังจากจ่ายกระแสไฟฟ้าให้กับชุดทดลองจนกระทั่งสีย้อมขนาดเล็กเคลื่อนที่ได้ประมาณ 4 ซม. ดังรูปที่ 4.4 แล้วจึงนำเจลที่ได้ไปตรวจสอบดีเอ็นเอภายใต้รังสี UV พบว่าชุดอุปกรณ์จากขั้วไฟฟ้าที่เป็นทองเหลืองและเงิน สามารถที่จะแยกดีเอ็นเอขนาดต่างๆให้เห็นได้อย่างชัดเจน ดังรูปที่ 4.5 ในการทดลองความต่างศักย์ไฟฟ้าในสารละลายบัฟเฟอร์ ที่ขั้วไฟฟ้าคงที่ตลอดการทดลอง จึงอาจกล่าวได้ว่าชนิดของขั้วไฟฟ้าไม่มีผลต่อความต่างศักย์ไฟฟ้าในการแยก และเมื่อดูเวลาเฉลี่ยในการแยกสารตัวอย่าง ทองเหลืองมีประสิทธิภาพในการแยกมากกว่าเงิน โดยมีอัตราการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่าง 15.25 นาทีต่อเซนติเมตร ซึ่งโลหะเงินมีอัตราการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่าง 16.5 นาทีต่อเซนติเมตร และเมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องมาตรฐานแล้วแถบของสารตัวอย่างใกล้เคียงกับแถบของสารตัวอย่างที่ได้จากเครื่องมาตรฐานดังรูปที่ 4.5 แสดงว่าประสิทธิภาพของเครื่องอิเลคโทรโฟรีซิสเครื่องนี้อยู่ในเกณฑ์ไม่แตกต่างจากเครื่องที่ขายเป็นการค้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แสดงการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่าง



รูปที่ 4.5 เปรียบเทียบกับแถบสารตัวอย่างที่ได้จากอ่างเก็บบัฟเฟอร์ที่ใช้ขั้วไฟฟ้าจากเครื่องมือมาตร
-ฐาน (ก) ทองเหลือง (ข) เงิน (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 การเปรียบเทียบอัตราการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างของโลหะเงินและทองเหลืองที่ความต่างศักย์ 56 V ตลอดการทดลอง

ระยะทาง (cm)	1		2		3		4	
ชนิดขั้วไฟฟ้า	เงิน	ทองเหลือง	เงิน	ทองเหลือง	เงิน	ทองเหลือง	เงิน	ทองเหลือง
ระยะเวลา (นาที)	15	15	33	31	49	46	66	61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการทดลอง วัสดุที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ในการสร้างเครื่องอิเลคโทรโฟรีซิสคือแผ่นพลาสติกอะคริลิกความหนาขนาด 2 มม. สามารถขึ้นรูปอ่างเก็บบัฟเฟอร์ได้ตามที่ต้องการและมีความทนทานต่อสารเคมี ทนความร้อนได้ดีมากจึงเหมาะสมอย่างยิ่งและเนื่องจาก เป็นพลาสติกที่มีความใสและโปร่งแสงจึงเป็นการง่ายในการตรวจสอบด้วยแสง UV

ไฟฟ้ากระแสตรงที่ได้อยู่ในระดับมาตรฐานในการทำอิเลคโทรโฟรีซิสคือ มีความต่างศักย์ 65 V สามารถแยกแถบของดีเอ็นเอออกจากกันได้ดีระดับหนึ่งใช้เวลาในการแยกประมาณ 1 ชั่วโมง แต่ชุดอุปกรณ์ที่ได้ยังไม่สามารถที่จะควบคุมความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ต้องการได้เกิดจากใช้หม้อแปลงที่ให้ค่าความต่างศักย์เพียงค่าเดียว อาจแก้ไขโดยการเปลี่ยนเป็นหม้อแปลงที่ให้ค่าความต่างศักย์ได้หลายค่า แนวทางการพัฒนาแหล่งจ่ายกระแสไฟฟ้าที่สามารถปรับความต่างศักย์ได้ เพื่อให้สามารถใช้กับสารชีวโมเลกุลแต่ละชนิดได้อย่างเหมาะสม น่าจะมีส่วนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของชุดเครื่องมือนี้

ในขณะทำอิเลคโทรโฟรีซิสจะปรากฏตะกอนที่ขั้วบวกในบัฟเฟอร์ อาจเกิดมาจากอิออนที่อยู่ภายในบัฟเฟอร์ไปเกาะรวมตัวกันโดยกระแสไฟฟ้าเป็นตัวผลักดัน หรืออาจจะเป็นอิออนจากขั้วอิเล็คโทรดทั้ง 2 ข้าง ของเครื่องหลุดออกมาโดยกระแสไฟฟ้าเพราะความต้านทานกระแสไฟฟ้าของขั้วทั้งสองชนิดไม่เพียงพอจึงทำให้อิออนของขั้วไฟฟ้าออกมาเกาะที่ขั้วบวกของเครื่อง อาจจะทำให้กระแสไฟฟ้าที่ไปสู่ขั้วแอโนดหรือขั้วบวกนั้นลดน้อยลงเพราะการขัดขวางของตะกอน อาจจะใช้วิธีการแก้ไขโดยใช้โลหะนำไฟฟ้าที่มีความต้านทานต่อกระแสไฟฟ้าขนาดที่ต้องการ แต่โลหะนำไฟฟ้าที่มีความต้านทานไฟฟ้าสูงค่อนข้างที่จะมีราคาแพง

จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าเราสามารถประกอบเครื่องอะกาโรสอิเลคโทรโฟรีซิสจากการใช้วัสดุที่หาได้สะดวกในประเทศ ซึ่งชุดเครื่องมือที่ได้มีประสิทธิภาพในการแยกชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ใกล้เคียงกับเครื่องที่ขายเป็นการค้า แต่ทั้งนี้ยังต้องการการพัฒนาปรับปรุงอุปกรณ์ที่ได้บางส่วนเพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อการใช้งานสูงสุดหรือการพัฒนาเพื่อการค้าต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เสาวรจน์ ช่วยจุลจิตร์, เอกสารประกอบการเรียนการสอน selected topics in polymer science, ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 16-37

เสาวรจน์ ช่วยจุลจิตร์ , เอกสารประกอบการเรียนการสอน properties of polymers , ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 55-56

อาภัสรา ชมิดท์.2537.เทคนิคอิเลคโทรโฟรีซิส. คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Andrew, A.T., 1986. Electrophoresis Thory, Techniques, and Biochemical and Clinical Applications, Oxford University Press, Oxford, 2nd ed.

Hames, B.D., 1990. Gel Electrophoresis of proteins : A Pratical Approch, Oxford University Press, Oxford, 2nd ed.

Richwood, D. And Hames B.D., 1990 Gel Electrophoresis of Nucleic acid : A Pratical Approch, Oxford University Press, Oxford, 2nd ed.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

สารละลายบัฟเฟอร์ 10x TBE(Tris – borate – EDTA)

Tris base	108	กรัม
Borate acid	55	กรัม
0.5 M EDTA	40	มิลลิลิตร
Water	1	ลิตร
pH	8.00	

ปรับเป็น 0.5 เท่า ก่อนใช้

สีย้อม

บัฟเฟอร์สำหรับหยดดีเอ็นเอความเข้มข้น 6 เท่า

Bromophenol Blue	25	มิลลิกรัม
Xylene Cyanol	25	มิลลิกรัม
Ficoll 400	5	กรัม

ละลายน้ำ 10 มิลลิลิตร

การเตรียมดีเอ็นเอแลมดา (λ) ซึ่งตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ PstI

เตรียม 480 ไมโครลิตร

แลมดา (λ) ดีเอ็นเอ	48	ไมโครกรัม
บัฟเฟอร์ 10x H	40	ไมโครลิตร
เอนไซม์ PstI	48	หน่วย

บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง และบ่มที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที เพื่อทำลายเอนไซม์ เติมสีย้อมความเข้มข้น 6 เท่า 80 ไมโครลิตร จะได้ดีเอ็นเอความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้