ภาคผนวก

การเตรียมสาร

LB broth (Luria – Bertani broth)

bacto tryptone	1.0	กรัม
yeast extract	0.5	กรัม
NaCl	1.0	กรัม

ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 80 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 7.5 ด้วย NaOH หรือ HCl จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

LB broth ผสมยาปฏิชีวนะแอมพิซิลิน

นำ LB broth ซึ่งปลอดเชื้อที่มีอุณหภูมิประมาณ 55–60 °C ปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาเติมแอมพิซิลิน (ปลอดเชื้อ) เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน (เก็บที่ 4 °C ได้ประมาณ 3 เดือน)

LB agar

นำ LB broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาเติมวุ้น (agar) 1.5 กรัม แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

LB agar ผสมยาปฏิชีวนะแอมพิซิลิน

นำ LB agar ที่ปลอดเชื้ออุณหภูมิ 55 – 60 °C ปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาเติมแอมพิซิลิน (ปลอดเชื้อ) เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเทลงในจานเลี้ยงเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็ง คว่ำจานเลี้ยงเชื้อให้ไอน้ำระเหยหมด เก็บที่ 4 °C

1 M Tris – HCl, pH 8.0

ชั่ง Tris base 12.1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 80 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 8.0 ด้วย HCl จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

0.5 M Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA), pH 8.0

ชั่ง Na_2EDTA (M.W. 372.24) 18.6 กรัม เติมน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 8.0 ด้วย NaOH คนให้เข้ากันตลอดเวลาด้วยแท่งแก้วหรือ magnetic stirrer (EDTA จะละลายเมื่อ pH ประมาณ 8.0) เมื่อ EDTA ละลายหมด และ pH เท่ากับ 8.0 ให้ปรับปริมาตร เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บที่อุณหภูมิห้อง

TE buffer

ผสมสารละลายต่อไปนี้ให้เข้ากันในขวดแก้วไร้เชื้อ

1 M Tris–HCl, pH 8.0	1.0	มิลลิลิตร
0.5 M Na_2EDTA	0.2	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นไร้เชื้อ

10% Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)

ชั่ง SDS 10 กรัม เติมน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร คนให้ละลายให้หมดด้วยแท่งแก้วหรือ magnetic stirrer ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

lysis solution

ปิเปตต์ 10% SDS ปริมาตร	1.0	มิลลิลิตร
ปิเปตต์ 4 N NaOH ปริมาตร	0.5	มิลลิลิตร
ปิเปตต์น้ำกลั่น	8.5	มิลลิลิตร

ใส่ในหลอดแก้วไร้เชื้อ เก็บที่อุณหภูมิห้อง (เมื่อใช้ให้เตรียมใหม่ทุก 2–3 วัน)

ethidium bromide solution

เตรียมสารละลาย ethidium bromide เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่ง ethidium bromide 100 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา

เมื่อจะนำมาใช้ย้อมดีเอ็นเอ ให้เจือจางด้วยน้ำกลั่น ให้ความเข้มข้นเป็น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยปิเปตต์ ethidium bromide เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มา 0.1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรเป็น 1 ลิตร

Rnase solution

เตรียมสารละลาย Rnase เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่ง pancreatic ribonuclease A 100 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดแก้วไร้เชื้อ เติม TE buffer ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน อุ่นที่ 80 °C เป็นเวลา 10 นาที ก่อนใช้ทุกครั้ง เพื่อทำลาย DNase (เก็บสารละลายนี้ได้เป็นเวลานานที่ –20 °C)

lysozyme solution ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ผสมสารละลายต่อไปนี้ให้เข้ากันในหลอดแก้วไร้เชื้อ

1 M กลูโคลส	0.5	มิลลิลิตร
1 M Tris – HCl, pH 8.0	0.25	มิลลิลิตร
0.5 M EDTA	0.2	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นไร้เชื้อ

สารละลายบัฟเฟอร์ RNase

ผสมสารละลายต่อไปนี้ให้เข้ากันในหลอดแก้วไร้เชื้อ

สารละลาย sodium acetate 1 โมลาร์, pH 7.4	1 มิลลิลิตร
สารละลาย Na_2EDTA 0.5 โมลาร์, pH 8.0	6 ไมโครลิตร

ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร โดยการเติมน้ำกลั่นไร้เชื้อ

1 M กลูโคส 100 มิลลิลิตร

ชั่งกลูโคส 18.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ทำให้ปลอดเชื้อโดยกรองผ่าน filter membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

สารละลายบัฟเฟอร์ TEN

ผสมสารละลายต่อไปนี้ให้เข้ากันในหลอดแก้วไร้เชื้อ

สารละลาย Tris–HCl 1 โมลาร์, pH 7.5	100 ไมโครลิตร
สารละลาย Na_2EDTA 0.5 โมลาร์, pH 8.0	20 ไมโครลิตร
สารละลาย sodium chloride 5 โมลาร์	20 ไมโครลิตร

ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร โดยการเติมน้ำกลั่นไร้เชื้อ

สารละลาย Proteinase K ที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลาย Proteinase K_10 มิลลิกรัม ในสารละลายบัฟเฟอร์ TEN จำนวน 1 มิลลิลิตร ในหลอดแก้วไร้เชื้อ อุ่นที่ 37 °C เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำมาใช้ทุกครั้ง สารละลายนี้เก็บได้เป็นเวลานานที่ –20 °C

สารละลาย RNase A ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลาย Pancreatic Ribonuclease A จำนวน 10 มิลลิกรัม ในสารละลายบัฟเฟอร์ Rnase จำนวน 1 มิลลิลิตร ในหลอดแก้วไร้เชื้อ อุ่นที่ 80 °C เป็นเวลา 10 นาที ก่อนใช้ทุกครั้ง เก็บสารละลายนี้ได้เป็นเวลานานที่ –20 °C

สารละลายบัฟเฟอร์ TE

ผสมสารละลายต่อไปนี้ให้เข้ากันในหลอดแก้วไร้เชื้อ

สารละลาย Tris–HCl 1 โมลาร์, pH 8.0	100 ไมโครลิตร
สารละลาย Na_2EDTA 0.5 โมลาร์, pH 8.0	20 ไมโครลิตร

ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร โดยการเติมน้ำกลั่นไร้เชื้อ

สารละลาย SDS ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์

ละลาย sodium dodecyl sulfate (sodium lauryl sulfate) 2 กรัม ในน้ำกลั่น 8 มิลลิลิตร นำไปอุ่นที่ 68 °ซ จนละลายหมด ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น (ห้าม autoclave)

สารละลาย phenol, pH 7.5

นำผลึก phenol มาทำให้หลอมเหลวในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 65°ซ (ปิดฝาให้แน่น เนื่องจาก phenol เป็นอันตรายต่อระบบประสาท) นำมาทำให้อิ่มตัวในบัฟเฟอร์ TE โดยเติมบัฟเฟอร์ TE ในปริมาณที่เท่ากับปริมาตรของ phenol เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ดูดชั้นของบัฟเฟอร์ TE ซึ่งอยู่ชั้นบนทิ้ง เติมบัฟเฟอร์ TE ลงไปใหม่ ทำเช่นเดิมจนกว่า phenol จะมี pH ประมาณ 7.5 โดยใช้กระดาษวัด pH

สารละลายสำหรับทำ agarose gel electrophoresis

สารละลายบัฟเฟอร์ 1X TBE และ 10X TBE

เตรียม 10X TBE โดยละลาย Tris base 10.8 กรัม, boric acid 5.5 กรัม และ Na_2EDTA 0.93 กรัม ในน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจาง 10X TBE นี้ให้เป็น 1X TBE โดยเติมน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร ลงใน 10X TBE จำนวน 100 มิลลิลิตร

สารละลายบัฟเฟอร์ 1X TAE และ 50X TAE

เตรียม 50X TAE โดยละลาย Tris base 24.2 กรัม, glacial acetic acid 5.71 มิลลิลิตร และ Na_2EDTA 3.72 กรัม ในน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจาง 50X TAE นี้ให้เป็น 1X TAE โดยเติมน้ำกลั่น 980 มิลลิลิตร ลงใน 50X TAE จำนวน 20 มิลลิลิตร

agarose 0.7 เปอร์เซ็นต์ และ 1.5 เปอร์เซ็นต์

ชั่ง agarose 0.7 หรือ 1.5 กรัม (ตามเปอร์เซ็นต์ที่ต้องการ) ใส่ลงในบัฟเฟอร์ 1X TBE หรือ 1X TAE จำนวน 100 มิลลิลิตร ต้มและคนให้ละลายจนหมด ตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงประมาณ 50 °C ก่อนนำมาเทลงใน gel chamber

สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับ loading

ละลาย bromophenol blue 2.5 มิลลิกรัม ficoll 400 จำนวน 4 กรัม และ SDS 10 มิลลิกรัม ลงในน้ำกลั่นไร้เชื้อจำนวน 8 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นไร้เชื้อ

ดีเอ็นเอมาตรฐาน (λ/HindIII)

λ–DNA (500 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร)	50 ไมโครลิตร
บัฟเฟอร์ 10X Reaction 2	20 ไมโครลิตร
BSA	20 ไมโครลิตร
น้ำกลั่น	109 ไมโครลิตร
HindIII (10ยูนิตต่อไมโครลิตร)	1 ไมโครลิตร

อุ่นที่อุณหภูมิ ข้ามคืน จากนั้นเติม

บัฟเฟอร์สำหรับ loading	200 ไมโครลิตร
บัฟเฟอร์ TE	600 ไมโครลิตร

สารละลายสำหรับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

สารละลาย deoxynucleoside triphosphate ความเข้มข้นของ dNTP แต่ละชนิด (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) เป็น 2.5 มิลลิโมลาร์

นำ dNTP เข้มข้นชนิดละ 10 มิลลิโมลาร์ มาผสมในอัตราส่วนที่เท่ากัน เก็บที่ –20 °C

การเตรียมบัฟเฟอร์

1. Citrate-Phosphate Buffer

Stock Solutions

A: 0.1 M solution of citric acid (19.21 ml in 1000 ml)

B: 0.2 M solution of dibasic sodium phosphate (53.65g of $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ or 71.7 g of $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ in 1000 ml)

x ml of A + y ml of B, diluted to a total of 100 ml:

x	y	pH
44.6	5.4	2.6
42.2	7.8	2.8
39.8	10.2	3.0
37.7	12.3	3.2
35.9	14.1	3.4
33.9	16.1	3.6
32.3	17.7	3.8
30.7	19.3	4.0
29.4	20.6	4.2
27.8	22.2	4.4
26.7	23.3	4.6
25.2	24.8	4.8

x	y	pH
24.3	25.7	5.0
23.3	26.7	5.2
22.2	27.8	5.4
21.0	29.0	5.6
19.7	30.3	5.8
17.9	32.1	6.0
16.9	33.1	6.2
15.4	34.6	6.4
13.6	36.4	6.6
9.1	40.9	6.8
6.5	43.6	7.0

2. Citrate Buffer

Stock Solutions

A: 0.2 M solution of citric acid (21.01 g in 1000 ml)

B: 0.1 M solution of sodium citrate (29.41 g $C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$ in 1000 ml)

x ml of A + y ml of B, diluted to a total of 100 ml:

x	y	pH
46.5	5.5	3.0
43.7	6.3	3.2
40.0	10.0	3.4
37.0	13.0	3.6
35.0	15.0	3.8
33.0	17.0	4.0
31.5	18.5	4.2
28.0	22.0	4.4
25.5	24.5	4.6

x	y	pH
23.0	27.0	4.8
20.5	29.5	5.0
18.0	32.0	5.2
16.0	34.0	5.4
13.7	36.3	5.6
11.8	38.2	5.8
9.5	41.5	6.0
7.2	42.8	6.2

3. Glycine – HCl Buffer

Stock Solutions

A: 0.2 M solution of glycine (15.01 g in 1000 ml)

B: 0.2 M HCl

50 ml of A + x ml of B, diluted to a total of 200 ml:

x	pH
5.0	3.6
6.4	3.4
8.2	3.2

x	pH
16.8	2.8
24.2	2.6

4. Acetate Buffer

Stock Solutions

A: 0.2 M solution of acetic acid (11.55 ml in 1000 ml)

B: 0.2 M solution of sodium acetate (16.4 g of $C_2H_3O_2Na_3$ or 27.2 g of $C_2H_3O_2Na_3 \cdot 3H_2O$ in 1000 ml)

x ml of A + y ml of B, diluted to a total of 100 ml:

x	Y	pH
46.3	3.7	3.6
44.0	6.0	3.8
41.0	9.0	4.0
36.8	13.2	4.2
30.5	19.5	4.4

x	y	pH
25.5	24.5	4.6
14.8	35.2	5.0
10.5	39.5	5.2
8.8	41.2	5.4
4.8	45.2	5.6

5. Succinate Buffer

Stock Solutions

A: 0.2 M solution of succinic acid (23.6 g in 1000 ml)

B: 0.2 M NaOH

25 ml of A + x ml of B, diluted to a total of 100 ml:

x	pH
7.5	3.8
10.0	4.0
13.3	4.2
16.7	4.4
20.0	4.6
23.5	4.8

x	pH
26.7	5.0
30.3	5.2
34.2	5.4
37.5	5.6
40.7	5.8
43.5	6.0

6. Phosphate Buffer

Stock Solutions

A: 0.2 M solution of monobasic sodium phosphate (27.8 g in 1000 ml)

B: 0.2 M solution of dibasic sodium phosphate (53.65g of $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ or 71.7 g of $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ in 1000 ml)

x ml of A + y ml of B, diluted to a total of 200 ml:

x	y	pH
93.5	6.5	5.7
92.0	8.0	5.8
90.0	10.0	5.9
87.7	12.3	6.0
85.0	15.0	6.1
81.5	18.5	6.2
77.5	22.5	6.3
73.5	26.5	6.4
68.5	31.5	6.5
62.5	37.5	6.6
56.5	43.5	6.7
51.0	49.0	6.8

x	y	pH
45.0	55.0	6.9
39.0	61.0	7.0
33.0	67.0	7.1
28.0	72.0	7.2
23.0	77.0	7.3
19.0	81.0	7.4
16.0	84.0	7.5
13.0	87.0	7.6
10.5	90.5	7.7
8.5	91.5	7.8
7.0	93.0	7.9
5.3	94.7	8.0

7. Cacodylate Buffer

Stock Solutions

A: 0.2 M solution of sodium cacodylate (42.8 g of $Na(CH_3)_2AsO_2 \cdot 3H_2O$ in 1000 ml)

B: 0.2 M NaOH

50 ml of A + x ml of B, diluted to a total of 200 ml:

x	pH
2.7	7.4
4.2	7.2
6.3	7.0
9.3	6.8
13.3	6.6
13.8	6.4
18.3	6.2

x	pH
29.6	6.0
34.8	5.8
39.2	5.6
43.0	5.4
45.0	5.2
47.0	5.0

8. Boric Acid-Borax Buffer

Stock Solutions

A: 0.2 M solution of boric acid (12.4 g in 1000 ml)

B: 0.05 M solution of borax (19.05 g in 1000 ml; 0.2 M in terms of sodium borate)

50 ml of A + x ml of B, diluted to a total of 200 ml:

x	pH
2.0	7.6
3.1	7.8
4.9	8.0
7.3	8.2
11.5	8.4
17.5	8.6

x	pH
22.5	8.7
30.0	8.8
42.5	8.9
59.0	9.0
83.0	9.1
115.0	9.2

9. Glycine-NaOH Buffer

Stock Solutions

A: 0.2 M solution of glycine (15.01 g in 1000 ml)

B: 0.2 M NaOH

50 ml of A + x ml of B, diluted to a total of 200 ml:

x	pH
4.0	8.6
6.0	8.8
8.8	9.0
12.0	9.2
16.8	9.4

x	pH
22.4	9.6
27.2	9.8
32.0	10.0
38.6	10.4
42.5	10.6

10. Tris (hydroxymethyl) aminomethane (Tris) Buffer

Stock Solutions

A: 0.2 M solution of tris(hydroxymethyl)aminomethane (24.2 g in 1000 ml)

B: 0.2 M HCl

50 ml of A + x ml of B, diluted to a total of 200 ml:

x	pH
5.0	9.0
8.1	8.8
12.2	8.6
16.5	8.4
21.9	8.2

x	pH
26.8	8.0
32.5	7.8
38.4	7.6
41.4	7.4
44.2	7.2

11.Barbital Buffer

Stock Solutions

A: 0.2 M solution of sodium barbital (veronal) (41.2 g in 1000 ml)

B: 0.2 M HCl

50 ml of A + x ml of B, diluted to a total of 200 ml:

x	pH
1.5	9.2
2.5	9.0
4.0	8.8
6.0	8.6
9.0	8.4
2.7	8.2
17.5	8.0

x	pH
22.5	7.8
27.5	7.6
32.5	7.4
39.0	7.2
43.0	7.0
45.0	6.8

12.Borax-NaOH Buffer

Stock Solutions

A: 0.05 M solution of borax (19.05 g in 1000 ml; 0.2 M in terms of sodium borate)

B: 0.2 M NaOH

50 ml of A + x ml of B, diluted to a total of 200 ml:

x	pH
0.0	9.28
7.0	9.35
11.0	9.4
17.6	9.5
23.0	9.6

x	pH
29.0	9.7
34.0	9.8
38.6	9.9
43.0	10.0
46.0	10.1

13.Carbonate-Bicarbonate Buffer

Stock Solutions

A: 0.2 M solution of anhydrous sodium carbonate (21.2 g in 1000 ml)

B: 0.2 M solution of sodium bicarbonate (16.8 g in 1000 ml)

x ml of A + y ml of B, diluted to a total of 200 ml:

x	y	pH
4.0	46.0	9.2
7.5	42.5	9.3
9.5	40.5	9.4
13.0	37.0	9.5
16.0	34.0	9.6
19.5	30.5	9.7
22.0	28.0	9.8
25.0	25.0	9.9

x	y	pH
27.5	22.5	10.0
30.0	20.0	10.1
33.0	17.0	10.2
35.5	14.5	10.3
38.5	11.5	10.4
40.5	9.5	10.5
42.5	7.5	10.6
45.0	5.0	10.7

14. 2-Amino-2-methyl-1,3-propanediol (Ammediol) Buffer

Stock Solutions

A: 0.2 M solution of 2-amino-2-methyl-1,3-propanediol (21.03 g in 1000 ml)

B: 0.2 M HCl

50 ml of A + x ml of B, diluted to a total of 200 ml:

x	pH
2.0	10.0
3.7	9.8
5.7	9.6
8.5	9.4
12.5	9.2
16.7	9.0

x	pH
22.0	8.8
29.5	8.6
34.0	8.4
37.7	8.2
41.0	8.0
43.5	7.8

ชนิดของบัฟเฟอร์และค่า pK ที่อุณหภูมิ 25 °C

ชนิดของบัฟเฟอร์	Buffer name	pK_a
Phosphate (pK_1)	–	2.15
Malate (pK_1)	–	3.40
Formate	–	3.75
Succinate (pK_1)	–	4.21
Cittrate (pK_2)	–	4.76
Acetate	–	4.76
Malate	–	5.13
Pyridine	–	5.23
Succinate (pK_2)	–	5.64
MES	2–(*N*–Morpholino) ethanesulfonic acid	6.10
Cacodylate	Dimethylarsinic acid	6.27
Dimethylglutarate	3,3–Dimethylglutarate (pK_2)	6.34
Carbonate (pK_1)	–	6.35
Citrate (pK_3)	–	6.40
Bis–Tris	[Bis(2–hydroxyethyl)imino)tris(hydroxymethyl)methane	6.46
ADA	*N*–2–Acetamidoiminodiacetic acid	6.59
Pyrophosphate	–	6.60
EDPS (pK_1)	*N,N′*–Bis(3–sulfopropyl)ethylenediamine	6.65
Bis–Tris propane	1,3–Bis[tris(hydroxymethyl)methylamino]propane	6.80
PIPES	Piperazine – *N,N′*–bis(2–ethanesulfonic acid)	6.76
ACES	*N*–2–Acetamido–2–hydroxyethanesulfonic acid	6.78
MOPSO	3–(*N*–Morpholino)-2-hyudroxypropanesulfonic acid	6.95
Imidazole	–	6.95
BES	*N,N*–Bis–(2–hydroxyethyl)–2–aminoethanesulfonic acid	7.09
MOPS	3–(*N*–Morpholino)propanesulfonic acid	7.20
Phosphate (pK_2)	–	7.20
EMTA	3,6–Endomethylene–1,2,3,6–tetrahydrophthalic acid	7.23

ชนิดของบัฟเฟอร์และค่า pK_a ที่อุณหภูมิ 25 °C

ชนิดของบัฟเฟอร์	Buffer name	pK_a
TES	2–[Tris(hydtroxymethyl)methylamino]ethanesulfonic acid	7.40
HEPES	*N*–2–Hydroxyethylpiperazine–*N*′–2–ethanesulfonic acid	7.48
DIPSO	3–[*N*–Bis(hydroxyethyl)amino]–2–hydroxypropanesulfonic acid	7.60
TEA	Triethanolamine	7.76
POPSO	Piperazine–*N,N*′–bis(2–hydroxypropanesulfonic acid)	7.85
EPPS, HEPPS	*N*–2–Hydroxyethylpiperazine–*N*′–3–propanesulfonic acid	8.00
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethane	8.06
Tricine	*N*–[Tris (hydroxymethyl)methyl]glycine	8.05
Glycinamide	–	8.06
PIPPS	1,4–Bis(3–sulfopropyl)piperazine	8.10
Glycylglycine	–	8.25
Bicine	*N,N*′–Bis(2–hydroxyethyl)glycine	8.26
TAPS	3–{[Tris(hydroxymethyl)methyl]amino}propanesulfonic acid	8.40
Morpholine	–	8.49
PIBS	1,4–Bis(4–sulfobutyl)piperazine	8.60
AES	2–Aminoethylsulfonic acid, taurine	9.06
Borate	–	9.23
Ammonia	–	9.25
Ethanolamine	–	9.50
CHES	Cyclohexylaminoethanesulfonic acid	9.55
Glycine (pK_2)		9.78
EDPS	*N,N*′–Bis(3–sulfopropyl)ethylenediamine	9.80
APS	3–Aminopropanesulfonic acid	9.89
Carbonate (pK_2)	–	10.33
CAPS	3–(Cyclohexylamino)propanesulfonic acid	10.40
Piperidine	–	11.12
Phosphate (pK_3)	–	12.33

ความเข้มข้นของอะกาโรสที่เหมาะสมในการแยกดีเอ็นเอ

เปอร์เซ็นต์อะกาโรส(w/v)	ขนาดดีเอ็นเอที่แยก
0.8	700 – 9,000
1.0	500 – 7,000
1.2	400 – 5,000
1.5	200 – 3,000
2.0	100 – 300

ปฏิกิริยาการหาลำดับเบสด้วยวิธีทางเคมี

ชนิดของเบส	สารที่ทำปฏิกิริยากับเบส	สารที่ใช้กำจัดเบส	สารที่ใช้ตัดพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์
G	Dimethyl sulfate	piperidine	piperidine
G + A	Acid	acid	piperidine
T + C	Hydrazine	piperidine	piperidine
C	Hydrazine + NaCl	piperidine	piperidine

ค่า pK_a และ pI ของกรดอะมิโน

Name	Abbreviations	pK_1 (α-carboxyl)	pK_2 (α-amino)	pK_R (side chain)	pI
Alanine	Ala A	2.3	9.7	-	6.0
Arginine	Arg R	2.2	9.0	12.5	10.8
Asparagine	Asn N	2.0	8.8	-	5.4
Aspartate	Asp D	2.1	9.8	3.9	3.0
Cysteine	Cys C	1.7	10.8	8.3	5.0
Glutamate	Glu E	2.2	9.7	4.3	3.2
Glutamine	Gln Q	2.2	9.1	-	5.7
Glycine	Gly G	2.3	9.6	-	6.0
Histidine	His H	1.8	9.2	6.0	7.6
Isoleucine	Ile I	2.4	9.7	-	6.1
Leucine	Leu L	2.4	9.6	-	6.0
Lysine	Lys K	2.2	9.0	10.5	9.8
Methionine	Met M	2.3	9.2	-	5.8
Phenylalanine	Phe F	1.8	9.1	-	5.5
Proline	Pro P	2.0	10.6	-	6.3
Serine	Ser S	2.2	9.2	-	5.7
Threonine	Thr T	2.6	10.4	-	6.5
Tryptophan	Trp W	2.4	9.4	-	5.9
Tyrosine	Tyr Y	2.2	9.1	10.1	5.7
Valine	Val V	2.3	9.6	-	6.0

พิมพ์ที่... สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง
Ramkhamhaeng University Press.