ภาคผนวก ก

ตารางภาคผนวก ก องค์ประกอบของอาหารสูตรต่างๆที่ใช้เพาะเลี้ยงหน้าวัว

องค์ประกอบ (มก/ล)	สูตรอาหาร				
	MS	MMS	WPM	VW	LS
ธาตุอาหารหลัก					
$CaCl_2.H_2O$	-	-	96.00	-	-
$CaCl_2.2H_2O$	440.00	440.00	-	-	440.00
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	-	-	556.00	425.00	-
KH_2PO_4	170.00	85.00	170.00	250.00	170.00
KNO_3	1900.00	950.00	-	525.00	1900.00
$MgSO_4.7H_2O$	370.00	370.00	-	250.00	370.00
$NaH_2PO_4.H_2O$	-	-	-	-	-
NH_4NO_3	1650.00	825.00	400.00	-	1650.00
$(NH_4)_2SO_4$	-	-	-	500.00	-
ธาตุอาหารรอง					
$CoCl_2.6H_2O$	0.025	0.25	-	-	0.025
$CuSO_4.2H_2O$	-	-	-	-	0.025
$CuSO_4.5H_2O$	0.025	0.25	6.25	-	-
H_3BO_3	6.20	6.20	6.20	-	6.20
KI	0.83	0.83	-	-	0.83
$MnSO_4.H_2O$	16.9	22.30	16.90	7.50	16.90
$MnSO_4.4H_2O$	-	-	-	-	-
K_2SO_4	-	-	990.00	-	-
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25	25.00	0.25	-	0.25
$ZnSO_4.7H_2O$	10.6	8.60	8.60	-	8.60
Adenine sulphate	-	0.10	-	-	-

ตารางภาคผนวก ก (ต่อ)

องค์ประกอบ (มก/ล)	สูตรอาหาร				
	MS	MMS	WPM	VW	LS
ธาตุเหล็ก					
$FeSO_4.7H_2O$	27.80	13.90	27.80	27.80	27.80
Na_2EDTA	37.30	18.65	37.30	37.30	37.30
สารอินทรีย์					
Myo-inosital	100.00	100.00	100.00	-	100.00
Nicotinic acid	0.50	0.50	0.50	-	-
Pyridoxine HCl (B6)	0.50	0.50	0.50	-	-
Thiamine HCl (B1)	0.10	0.10	1.00	-	0.4
Glycine	2.00	2.00	2.00	-	-
Coconut water	-	-	-	150.00	-

ภาคผนวก ข

การทำสไลด์ถาวรเอ็มบริโอเจนนิคแคลลัสหน้าวัวโดยวิธีการฝังในพาราฟิน

1. การเตรียมชิ้นส่วนพืช

เลือกเอ็มบริโอเจนนิคแคลลัสที่มีขนาดไม่ใหญ่เกินไป มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 – 1.0 เซนติเมตร เพื่อช่วยให้น้ำยาสามารถแทรกซึมเข้าไปได้อย่างทั่วถึง

2. การฆ่าเซลล์ และรักษาเซลล์ให้คงสภาพ

นำชิ้นส่วนพืชที่ได้บรรจุในขวดขนาดเล็ก (vial) ที่เหมาะสมกับชิ้นส่วนพืช เติมน้ำยารักษาสภาพเซลล์ (FAA) (สารละลาย FAA: ประกอบด้วย เอทธิลแอลกอฮอล์ 70% 90 มิลลิลิตร, กรดอะซิติก 5 มิลลิลิตร, ฟอร์มาลีน 5 มิลลิลิตร) ให้ท่วมชิ้นส่วนพืช เพื่อรักษาสภาพและความมีชีวิตของเซลล์เป็นเวลา 2 วัน ถ้าชิ้นส่วนแข็งมากแช่ไว้ 7 - 10 วันที่อุณหภูมิห้อง

3. การดึงน้ำออกจากเซลล์

เป็นการแช่ชิ้นส่วนพืชในสารละลายที่มีคุณสมบัติสามารถเข้าไปแทนที่น้ำในเซลล์ได้ โดยใช้สารที่ละลายในพาราฟิน ซึ่งประกอบด้วย น้ำ เอทธิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ และบิวธิลแอลกอฮอล์ พาราฟินออยล์ ในอัตราต่าง ๆ กัน ดังนี้

ลำดับที่	น้ำ (มิลลิลิตร)	95% เอทธิลแอลกอฮอล์ (มิลลิลิตร)	บิวธิลแอลกอฮอล์ (มิลลิลิตร)	เวลาที่แช่ (ชั่วโมง)
1	50	40	10	2
2	30	50	20	2
3	15	50	35	2
4	5	40	55	2
5	0	25	75	2
6	บิวธิลแอลกอฮอล์บริสุทธิ์			24
7	บิวธิลแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ 50 มิลลิลิตร + พาราฟินออยล์ 50 มิลลิลิตร			24

4. การทำให้พาราฟินแทรกซึมเนื้อเยื่อ

หลอมพาราฟินบริสุทธิ์ และพาราฟินที่ใช้แล้ว ในตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยช่วงแรกนำพาราฟินที่ใช้แล้วเทลงไปในขวดที่มีชิ้นส่วนพืชไว้ในตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง ทำ 3 ครั้ง จากนั้นใช้พาราฟินบริสุทธิ์เพื่อให้พาราฟินสามารถแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อพืชได้ดีมากขึ้น โดยแช่นาน 2 ชั่วโมง ทำ 2 ครั้ง

5. การฝังชิ้นส่วนพืชในพาราฟิน

เทพาราฟินบริสุทธิ์ที่หลอมในตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ลงในกระทงกระดาษฟอยล์ ขนาดกว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 2 x 2 x 1.5 เซนติเมตร ใช้เข็มเขี่ยลนไฟไล่ฟองอากาศที่เกิดขึ้นในพาราฟินออกให้หมดโดยเร็ว ยกกระทงไปลอยในอ่างน้ำให้พาราฟินด้านล่างแข็งตัวสูงขึ้นมาประมาณ 1 ใน 4 ของกระทง ยกกระทงออกมาวางบนโต๊ะ ใช้เข็มเขี่ยปลายโค้งวางชิ้นส่วนพืชที่เตรียมไว้ในกระทง กระทงละ 1 ชิ้น ใช้เข็มเขี่ยดังกล่าวลนไฟให้ร้อนเขี่ยชิ้นส่วนพืชให้อยู่ในตำแหน่งที่ต้องการ และไล่ฟองอากาศออกจากกระทงให้หมด จากนั้นปล่อยให้พาราฟินแข็งตัวแล้วจึงแกะกระดาษฟอยล์ออก ใช้มีดคมตกแต่งแท่งพาราฟินให้ได้ขนาดที่ต้องการ

6. การตัดชิ้นส่วนพืชด้วยไมโครโตม

นำแท่งพาราฟินมาเชื่อมติดกับแท่นโดยใช้พาราฟินเหลวเป็นตัวเชื่อม วางทิ้งไว้จนพาราฟินแข็งตัวเชื่อมต่อกัน แล้วจึงเตรียมเครื่องไมโครโตมโดยใส่ใบมีดที่ลับจนคม ปรับองศาความเอียงให้เหมาะสม และปรับระยะห่างใกล้ไกลให้เหมาะสม แล้วจึงนำแท่นที่มีแท่งพาราฟินที่เตรียมไว้มาใส่ในช่องสำหรับใส่ตัวอย่างพืชของเครื่อง ทำการตัดชิ้นส่วนพืชช้า ๆ หากความหนาบาง ยังใช้ไม่ได้ก็หยุดการตัด และปรับความหนา บางให้ได้ตามต้องการ ในระหว่างการตัดต้องมีพู่กันมารองริบบินที่ถูกตัดออกมาด้วย นำริบบินที่มีความยาวพอสมควรออกมาวางบนกระดาษมันที่เตรียมไว้ เป็นระยะ ๆ ไม่ควรให้ริบบินยาวมากเกินไป เพราะไม่สะดวกในการเคลื่อนย้าย อาจทำให้ริบบินขาดระหว่างการเคลื่อนย้ายได้ เมื่อได้ริบบินตามที่ต้องการก็เตรียมอุปกรณ์เพื่อติดริบบินลงบนแผ่นสไลด์

7. การติดสไลด์

เตรียมสารเคมีที่ใช้ในการติดสไลด์ 2 ชนิด คือ

1) ฟอร์มาลิน 3% (ต้องไม่เป็นตะกอน)

2) Haupt's adhesive เตรียมได้จากสารต่างๆ ดังนี้

3) เตรียมโดยละลาย plain knox gelatin 1 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 35 – 40 องศาเซลเซียส เมื่อละลายแล้ว เติมสาร plenol crystal 2 กรัม และ glycerin 15 มิลลิลิตรลงไป เมื่อสารละลายเข้ากันดีแล้วกรองสารละลายเก็บไว้ใช้งานต่อไป

วิธีการติดริบบินบนสไลด์ทำได้โดย วางแผ่นสไลด์ที่สะอาด แล้วหยดสาร Haupt's adhesive ลงบนแผ่นสไลด์ 1 – 2 หยด แล้วใช้พู่กันทาให้ทั่วแผ่นสไลด์ วางสไลด์บน slide warmer ที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปริบบินจะติดแผ่นสไลด์ เมื่อแผ่นสไลด์อุ่นพอสมควรหยดฟอร์มาลินที่เตรียมไว้ลงบนแผ่นสไลด์ให้ทั่ว จากนั้นใช้พู่กันชุบน้ำแล้วแตะริบบินซึ่งตัดเป็นชิ้น ๆ ให้มีความยาวประมาณ 3 ใน 4 ของแผ่นสไลด์ ค่อย ๆ ประคองริบบินมาวางบนแผ่นสไลด์ที่มีฟอร์มาลินอยู่ วางให้แผ่นริบบินเรียบ ไม่ซ้อนกัน เมื่อริบบินอยู่ในลักษณะที่ต้องการแล้วจึงนำไปวางไว้บน slide warmer ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้แผ่นสไลด์แห้ง แล้วจึงเก็บไว้

8. การย้อมสี

ส่วนมากนิยมย้อม 2 สี คือ safranin และ fastgreen โดยมีวิธีการเตรียม ดังนี้

1) safranin มีส่วนประกอบ ดังนี้

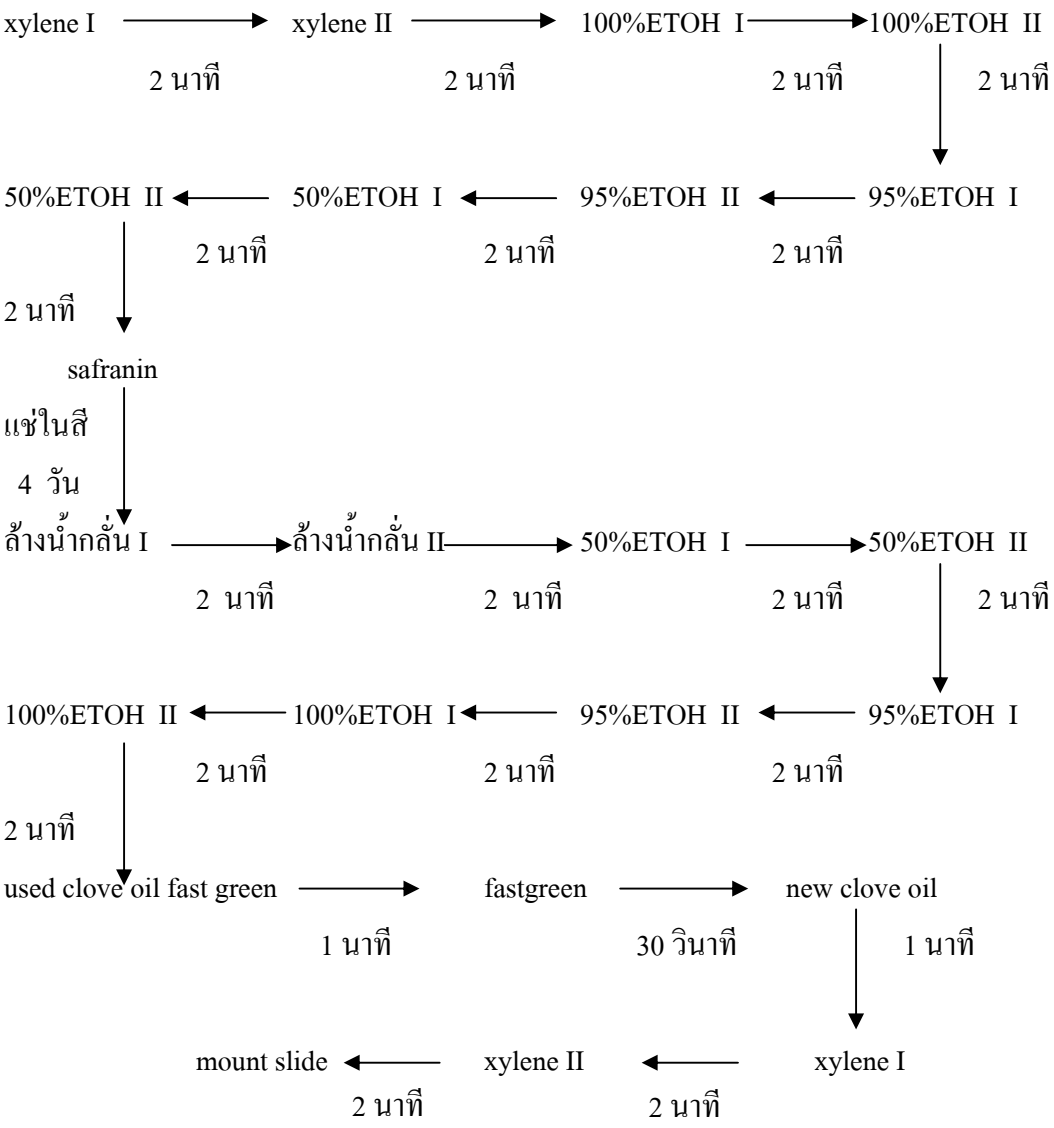
- safranin o	4	กรัม
- methyl cellosolve	200	มิลลิลิตร
- 95% ethyl alcohol	100	มิลลิลิตร
- sodium acetate	4	กรัม
- formalin	8	มิลลิลิตร

2) fastgreen มีส่วนประกอบ ดังนี้

- methyl cellosolve	50	มิลลิลิตร
- absolute alcohol	50	มิลลิลิตร
- clove oil	50	มิลลิลิตร
- สี safranin	0.5	กรัม

ทำการกรองสีทุกครั้งก่อนการใช้งาน

วิธีการย้อมทำตามแผนผัง ดังนี้



9. การปิดแผ่นสไลด์ (mounting)

เป็นขั้นตอนสุดท้ายของการทำสไลด์ถาวร หลังจากการย้อมสีเนื้อเยื่อแล้วจึงทำการปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ (cover slip) โดยอาศัยตัวกลางสำหรับยึดปิดแผ่นสไลด์ (mounting media) เพื่อให้ติดแน่นถาวร สารตัวกลางสำหรับปิดสไลด์ที่นิยม ได้แก่ Canada balsam และ permount โดยปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ วางทิ้งไว้ 2 – 3 วัน เพื่อให้แห้ง แล้วจึงนำมาเช็ดทำความสะอาดแผ่นสไลด์ด้วย clove oil หรือ xylene

ภาคผนวก ค

วิธีการตรวจสอบเอนไซม์โดยใช้เทคนิคไอโซไซม์ (Isozyme)

การเตรียมสารละลาย

1. Stock solutions

- Acrylamide 30%T, 2.7% C
- Tris-HCl ความเข้มข้น 1.5 M, pH 8.8 (Trisbase 36.3 กรัม น้ำกลั่น 175 มิลลิลิตร ปรับ pH 8.8 ปรับปริมาตร 200 มิลลิลิตร)
- Tris-HCl ความเข้มข้น 0.5 M, pH 6.8 (Trisbase 6.04 กรัม น้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร ปรับ pH 6.8 ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร)
- Extraction buffer (น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร Trisbase ความเข้มข้น 0.5 M pH 7.5 6.05 กรัม 2% PVP(polyvinylpyrrolidone K90) 2.0 กรัม และ Na_2EDTA 0.074 กรัม)

2. Catalyst

- Ammonium persulfate (APS) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
- TEMED (N,N,N′,N′-tetramethyl ethylenediamine)

2. Electrode buffer

- ในสารละลาย 1 ลิตร ประกอบด้วย Trisbase 3.0 กรัม, Glycine 14.4 กรัม และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ปรับ pH 8.3

การเตรียมเจล

เตรียมประกอบชุดแผ่นแก้วสำหรับทำแผ่นเจล (เช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70 %) และเตรียมสารละลายของเจลดังตาราง

สารละลาย	เจลตอนล่าง	เจลตอนบน
น้ำกลั่น	4.435 มล.	2.265 มล.
1.5 M Tris-HCL pH 8.8	1.450 มล.	-
0.5 M Tris-HCL pH 6.8	-	0.375 มล.
30% Acrylamide	3.0 มล.	0.3 มล.
*10% APS (Amonium persulfate)	0.225 มล.	0.120 มล.
TEMED	0.005 มล.	0.005 มล.
รวม	9.115 มล.	3.065 มล.

การเตรียมสารตัวอย่าง

1) เตรียม Extraction buffer โดยเติม 2-mercaptoethanol ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
2) บดตัวอย่าง กับ Extraction buffer ในอัตราส่วน 1 : 5 ในโกร่งเย็น นำสารละลายตัวอย่างปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 15 นาที ดูดสารละลายส่วนใสตอนบนไปใส่ในช่องเจล หรือแช่เย็นทันที

การทำอิเลคโตรโฟรีซิส

ใช้ตัวอย่าง 15 ไมโครลิตร ผสมกับ bromophenol blue 2 ไมโครลิตร (ละลาย bromophenol blue 125 มิลลิกรัม และ Xylene cynol FF 125 มิลลิกรัม ใน Glycerol 15 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4°C) หยอดใส่ร่องหวีบนแผ่นเจลที่เตรียมไว้ ในสารละลายอิเลคโตรดบัฟเฟอร์ ภายใต้กระแสไฟฟ้าคงที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 90 นาที

การย้อมสีเอนไซม์

ย้อมสีเอนไซม์ในเจลด้วยสีย้อม 4 ระบบดังนี้

1. เปอร์ออกซิเดส (peroxydase)

สารเคมี Stock A

1)	3-Amino-9-ethylcarbazole	210 มิลลิกรัม
2)	β –Napthol	145 มิลลิกรัม
3)	Acetone	100 มิลลิลิตร

ละลายสารข้อ 1) และ 2) ในข้อ 3) ให้เป็นเนื้อเดียวกัน เก็บในขวดสีชา

สารเคมี Stock B

1)	Tris-HCl	1.5 กรัม
2)	Acetic acid	1.7 มิลลิลิตร
3)	น้ำกลั่น	1.0 ลิตร

ละลายสารข้อ 1) และ 2) ในข้อ 3) ให้เป็นเนื้อเดียวกัน

สารเคมี Stock C

Hydrogen peroxide 3% (H_2O_2)	1.0 มิลลิลิตร

วิธีผสม : ผสมStock A : B : C ในอัตราส่วน 20 : 80 : 1 เท่า ให้เป็นเนื้อเดียวกัน

วิธีย้อม : เขย่าย้อมในที่มืดเป็นเวลา 30-60 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

2. เอสเตอเรส (Esterase)

สารเคมี

1)	Phosphate buffer 0.1 M pH 6.0	100 มิลลิลิตร

สารเคมี Stock A : Solution of monobasic sodium

Phosphate 0.1 M	43.8 มิลลิลิตร

สารเคมี Stock B : Solution of dibasic sodium

Phosphate 0.1 M	6.15 มิลลิลิตร

นำ Stock A ผสมกับ Stock B ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร และปรับ pH 6.0

2)	Fast blue B Salt	150 มิลลิกรัม
3)	α-Napthyl acetate in absolute alcohol	3.0 มิลลิลิตร

วิธีผสม : ละลายสารข้อ 2) ในข้อ 1) ให้เป็นเนื้อเดียวกัน กรองในที่มืด และเติมข้อ 3) เมื่อจะย้อมสี

วิธีย้อม : เขย่าย้อมในที่มืด จนกว่าเจลจะติดสี ที่อุณหภูมิห้อง

3. มาเลทดีไฮโดรจีเนส (Malate dehydrogenase)

สารเคมี

1)	Tris-HCl 0.1 M pH 7.5	100 มิลลิลิตร
2)	DL-Malate 1.0 M pH 7.5	3.0 มิลลิลิตร
3)	β-Nicotinamide adenine dinucleotide Monohydrate(NAD^+)	30 มิลลิกรัม
4)	Methyhthiazolydiphenyl tetrazolium bromide (MTT)	20 มิลลิกรัม
5)	N-methylphenszonium methyl sulfate(PMS)	4.0 มิลลิกรัม

วิธีผสม : ละลายสารข้อ 3) ถึงข้อ 5) ในข้อ 1) ให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเติมสารข้อ 2) เมื่อจะย้อมสีเจล

วิธีย้อม : แช่ย้อมในที่มืดเป็นเวลา 30-60 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

4. แอซิดฟอสฟาเทส (Acid phosphatase)

สารเคมี

1)	Na acetate 50 mM pH 5.5	100 มิลลิลิตร
2)	$MgCl_2.6H_2O$ 1.0 M	1.0 มิลลิกรัม
3)	Fast black K salt หรือ Fast garnet GBC salt	100 มิลลิกรัม
4)	1% α-Napthyl acid phosphate (in 50% acetone)	3.0 มิลลิลิตร

วิธีผสม : ละลายสารข้อ 3) ในข้อ 1) ให้เป็นเนื้อเดียวกัน และเติมสารข้อ 2) และ 4) เมื่อจะย้อมสีเจล

วิธีย้อม : แช่ย้อมในที่มืดเป็นเวลา 1-5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

ภายหลังนำเจลไปย้อมสีทั้ง 4 ระบบ แล้วจึงล้างด้วยสารละลายล้าง จนเห็นแถบชัดเจนจึงล้างด้วยน้ำกลั่น

การหาตำแหน่งของแถบสี

ตำแหน่งของแถบสีบนเจลสามารถวัดได้จากค่า Rf (Relative mobilities) ซึ่งมีสูตรในการคำนวณ ดังนี้

$$Rf = ds/dy$$

โดยที่ ds = ระยะทางที่เอนไซม์เคลื่อนที่ได้

dy = ระยะทางที่ tracking dye เคลื่อนที่ได้

ภาคผนวก ง

วิธีการตรวจสอบโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gels Electrophoresis) (ดัดแปลงจาก Laemmli 1970)

การเตรียมสารละลาย

1. Stock solutions

- Acrylamide 30%T, 2.7% C
- Tris-HCl ความเข้มข้น 1.5 M pH 8.8 (Trisbase 36.3 กรัม น้ำกลั่น 175 มิลลิลิตร ปรับ pH 8.8 ปรับปริมาตร 200 มิลลิลิตร)
- Tris-HCl ความเข้มข้น 0.5 M pH 6.8 (Trisbase 6.04 กรัม น้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร ปรับ pH 6.8 ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร)
- Sodium dodecyl sulfate (SDS) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
- Stock sample buffer [น้ำกลั่น 4.8 มิลลิลิตร Tris-HCL ความเข้มข้น 0.5 M pH 6.8 1.2 ml SDS ความเข้มข้น 10% 2.0 มิลลิลิตร Glycerol 1.0 มิลลิลิตร และ Bromophenol Blue ความเข้มข้น 0.5% (w/v) 0.5 มิลลิลิตร]

2. Catalyst

- Ammonium persulfate (APS) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
- TEMED (N,N,N′,N′-tetramethyl ethylenediamine)

3. Electrode buffer

- ในสารละลาย 1 ลิตร ประกอบด้วย Trisbase 3.0 กรัม Glycine 14.4 กรัม SDS ความเข้มข้น 10 % 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ปรับ pH 8.3

4. ชุดโปรตีนมาตรฐาน

LMW		HMW	
โปรตีน	น้ำหนักโมเลกุล (MW)	โปรตีน	น้ำหนักโมเลกุล (MW)
Phosphorylase b	94,000	Myosin	212,000
Bovine Serum Albumin	67,000	α- Macroglobulin	170,000
Ovalbumin	43,000	β- Galactosidase	116,000
Carbonic Anhydrase	30,000	Transferrin	76,000
Soybean Trypsin Inhibitor	20,100	Glutamic Dehydrogenase	53,000
α- Lactalbumin	14,400		

การเตรียมเจล

เตรียมประกอบชุดแผ่นแก้วสำหรับทำแผ่นเจล (เช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70 %) และเตรียมสารละลายของเจลดังตาราง

สารละลาย	เจลตอนล่าง	เจลตอนบน
น้ำกลั่น	4.85 มล.	6.1 มล.
1.5 M Tris-HCL pH 8.8	2.5 มล.	-
0.5 M Tris-HCL pH 6.8	-	2.5 มล.
10% SDS	0.1 มล.	0.1 มล.
30% Acrylamide	2.5 มล.	1.3 มล.
10% APS (Amonium persulfate)	0.05 มล.	0.05 มล.
TEMED	0.005 มล.	0.01 มล.
รวม	10.005 มล.	10.06 มล.

การเตรียมสารตัวอย่าง

1) เตรียม SDS-reducing buffer โดยเติม 2-mercaptoethanol ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ลงใน Stock sample buffer ที่เตรียมไว้
2) บดตัวอย่าง กับ Sample buffer ในอัตราส่วน 1:4 ต้มสารละลายที่ 95°C เป็นเวลา 5 นาที ก่อนนำไปใส่ในช่องเจล หรือแช่เย็นทันที เตรียมโปรตีนมาตรฐานเช่นเดียวกัน

การทำอิเลคโตรโฟรีซิส

ใช้ตัวอย่าง 15 ไมโครลิตร ผสมกับ loding buffer 2 ไมโครลิตร หยอดใส่ร่องหวีบนแผ่นเจลที่เตรียมไว้ ในสารละลายอิเล็กโตรบัฟเฟอร์ ภายใต้กระแสไฟฟ้าคงที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 90 นาที

การย้อมสีโปรตีนในเจล

ย้อมสีโปรตีนในเจลโดยวิธี Coomassie brilliant blue R-250 บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 50 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงล้างด้วยสารละลายล้างหลายๆ ครั้งจนเห็นแถบสีน้ำเงินของโปรตีนอย่างชัดเจน

สารเคมี	*สีย้อม	สารละลายล้าง
	ปริมาตร	ปริมาตร
Coomassie R-250	0.5 ก.	-
methanol	200 มล.	400 มล.
acetic acid	50 มล.	100 มล.
น้ำกลั่น	250 มล.	500 มล.
รวม	500 มล.	1000 มล.

หมายเหตุ

* เมื่อสีละลาย กรองด้วยกระดาษกรอง

การหาขนาดหรือน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีน

น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนหาได้โดยเปรียบเทียบกับการเคลื่อนที่ (mobilities) ของโปรตีนนั้น ๆ กับโปรตีนมาตรฐานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุลที่ทำอิเลคโตรโฟรีซิสไปพร้อม ๆ กัน มีวิธีการดังนี้

1. หลังจากย้อมสี และกำจัดสีส่วนเกินจากเจลแล้ว วัดระยะทางจากขอบ resolving gel ถึงส่วนกลางของแต่ละแถบโปรตีน
2. หาค่า Rf ได้โดยหารระยะทางที่โปรตีนแต่ละตัวเคลื่อนที่ได้ด้วยระยะทางของ tracking dye
3. ทำ semilogarithmic plot ของ Log น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐานกับค่า Rf
4. อ่านค่าน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่ต้องการจากกราฟ