



ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง

ปฏิบัติการชีววิทยาโมเลกุลและชีววิทยาของเซลล์ (Molecular and Cellular Biology Laboratories)

หลักการและเหตุผล

งานวิจัยด้านชีววิทยาโมเลกุลเป็นงานวิจัยที่มีบทบาทสำคัญในการตอบโจทย์ปัญหาต่างๆ ด้านศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิต ทั้งนี้ศูนย์ฯ ได้จัดการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ ซึ่งมีรูปแบบการอบรมที่ประกอบด้วยการบรรยายหลักการ และให้ผู้เข้าร่วมอบรมได้ฝึกปฏิบัติจริง ที่จะทำให้ผู้เข้ารับการอบรมมีความเข้าใจในเนื้อหามากยิ่งขึ้น ในการอบรมนี้มุ่งเน้นให้ผู้เข้าร่วมอบรมมีความเข้าใจพื้นฐานเทคนิคทางด้านอณูชีววิทยา และสามารถนำหลักทฤษฎี มาประกอบใช้ในภาคปฏิบัติ ซึ่งเมื่อผู้เข้าร่วมอบรมมีความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับศาสตร์ดังกล่าว จะทำให้สามารถนำพัฒนาต่อยอดในงานวิจัยในด้านต่างๆ ได้

จุดประสงค์ของการอบรม

1. เพื่อให้ผู้เข้าอบรมมีความเข้าใจพื้นฐานเทคนิคทางด้านอณูชีววิทยา และสามารถนำหลักทฤษฎี มาประกอบใช้ในภาคปฏิบัติ
2. เพื่อให้ผู้อบรมเรียนรู้กระบวนการทำการทดลองด้านอณูชีววิทยา เพื่อจะนำไปสู่การทำงานทดลองของตนเอง

รูปแบบการอบรม

การบรรยาย ร่วมกับการฝึกปฏิบัติจริง โดยจัดแบ่งกลุ่มปฏิบัติงานเป็นกลุ่มละ 2 คน โดยผู้เข้าอบรมได้ฝึกปฏิบัติ ร่วมกับการเรียนแบบร่วมมือ อภิปราย การรวบรวมผล และค้นคว้าด้วยตนเอง การวิเคราะห์วิจารณ์ การสรุปผลและการนำเสนอ

วัน เวลา และสถานที่อบรม วันที่ 14 มิถุนายน - 11 กรกฎาคม 2559

ห้อง A-104 และ A-106 อาคารปฏิบัติการวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร

ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน

จ.นครปฐม

ค่าใช้จ่าย 7,500 บาท/คน ไม่รวมค่าที่พัก อาหาร และค่าเดินทาง

จำนวนที่รับ 20 คน

การรับสมัคร สามารถลงทะเบียนได้ที่ www.cab.kps.ku.ac.th

ติดต่อสอบถามรายละเอียดเพิ่มเติมได้ที่

คุณสมใจ จันทร์เพ็ญ ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

หมายเลขโทรศัพท์ 034-282-494-7, 091-774-0091 E-mail: kpsj@ku.ac.th

ระยะเวลาการรับสมัคร ตั้งแต่บัดนี้เป็นต้นไปจนถึงวันจันทร์ที่ 23 พฤษภาคม 2559

คณะผู้อบรม

คณาจารย์	สถานที่ติดต่อ	หมายเลขโทรศัพท์	E-mail
ดร.จตุทา เทพวัชรไชยคุปต์ ผู้จัดการวิชา	A-320 อาคารปฏิบัติการวิจัย เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร	3897-3900 ต่อ 321	jutatapew@yahoo.com
รศ.ดร.สนธิชัย จันทร์เปรม	ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน	3365-8	sontichai.c@ku.ac.th
ดร.ปรีดา เลิศวัชรสารกุล	ภาควิชาพยาธิวิทยา	3450-54	preeda.le@ku.ac.th ,

คณาจารย์	สถานที่ติดต่อ	หมายเลขโทรศัพท์	E-mail
	คณะสัตวแพทยศาสตร์ กำแพงแสน		fvetpdl@ku.ac.th
ดร.อรอุมา ตนะคุลย์	ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน	3365-8	agromt@ku.ac.th
ดร.ศุภิตา อับดุลลาฮาซิม	ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน	3385-7	supatidas@gmail.com
ผศ.ดร.รัชนี ฮงประยูร	ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน	3897-3900	agrprat@ku.ac.th
ดร.ราตรี บุญเรืองรอด	ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน	3385-7	ratri.b@ku.ac.th
ดร.ศิวเรศ อารกิจ	ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน	3365-8	siwaret.a@ku.th

เค้าโครงรายละเอียดการอบรม

1. Introduction, outline of course

- 1.1 Laboratory safety
- 1.2 Laboratory checklist

PART I

2. DNA Isolation

- 2.1 Preparation of media, stab cultures, isolation of single cells
- 2.2 Large-scale plasmid pre of DNA

PART II

3. Cloning

- 3.1 Restriction enzymes, gel electrophoresis
- 3.2 Preparation of competent cells
- 3.3 Preparative gel of insert DNA, fragment purification, ligation with vector
- 3.4 Gel of ligation products, transformation of frozen competent cells, random primer reaction for labeling DNA

PART III

4. Screening Recombinant DNA

- 4.1 Replica plating
- 4.2 DNA probe to identify clones with DNA inserts
- 4.3 DNA probe-wash blots, place on film, develop film
- 4.4 Identify clones with inserts in the correct orientation by antibody screening and colorimetric detection
- 4.5 Miniprep DNA and antibody positive clones

PART IV

5. Protein Isolation and Characterization

- 5.1 SDS-PAGE
- 5.2 Protein purification
- 5.3 Bradford protein assay

การวัดผลสัมฤทธิ์ในการอบรม

ผู้เข้าอบรมทุกท่านจะต้องเข้าร่วมอบรมในสัดส่วนเวลาการอบรมไม่น้อยกว่าร้อยละ 85 และผ่านการประเมิน เมื่อมีคะแนนรวมไม่น้อยกว่าร้อยละ 75 โดยมีรายละเอียดดังนี้

การเขียนรายงานการทดลอง	ร้อยละ
การสอบ	40
- การสอบย่อยแต่ละเนื้อหา	40
- การสอบประมวลเนื้อหาทั้งหมด	20
รวม	<u>100</u>

หมายเหตุ ผู้ที่ผ่านการประเมินจึงจะได้รับประกาศนียบัตร

เอกสารอ่านประกอบ

1. Robertson, D., Shore, S. and Miller, D.M. 1997. Manipulation and Expression of Recombinant DNA; A Laboratory Manual. Academic Press, USA.
2. Sambrook, J., MacCallum, P. and Russell, D. 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Third Edition). Cold Spring Harbor Press, USA.
3. หนังสือที่เกี่ยวข้องกับพื้นฐานด้านพันธุวิศวกรรมเบื้องต้น โดยเฉพาะผู้ที่ไม่มีพื้นฐานความรู้ด้านพันธุวิศวกรรม เพื่อสามารถติดตามเนื้อหาการอบรมได้

ตารางกิจกรรมการอบรม

คาบที่	วัน/เดือน/ปี	เนื้อหา	กิจกรรมการเรียนการสอน	ผู้สอน *
Pre	อังคาร 14 มิ.ย. 59	Lecture: DNA cloning and gene expression, laboratory safety	บรรยาย (ไทย)	ดร.จุฑาเทพ วัชรไชยคุปต์
1-2	พุธ 15 มิ.ย. 59	Lecture: Introduction, outline of course; From Day 1 to the last Lab: Lab Session 1, laboratory checklist, Afternoon: “Pipette Techniques”, pouring plates, start culture for growth curve analysis (1.D) by TA.	บรรยาย/ ปฏิบัติการ	ดร.จุฑาเทพ วัชรไชยคุปต์ Part I
3-4	พฤหัสบดี 16 มิ.ย. 59	Lecture: Lac operon expression vector, alpha complementation, host strain Lab: Lab Session 1, isolation of single cells (1.C), growth curve of DH5 α (Groups 1-10) and XL 1-Blue (Groups 11-20), Demonstrate column purification and DNA isolation using kits, start culture of pUR 288 and p2D (1.E)	บรรยาย/ ปฏิบัติการ	
5-6	ศุกร์ 17 มิ.ย. 59	Lecture: Bacterial growth curve, Plasmid DNA preparation, DNA quantitation Lab: Check results of B/W screening (1.C), Colony Counting (1.D)	บรรยาย/ ปฏิบัติการ	

คาบที่	วัน/เดือน/ปี	เนื้อหา	กิจกรรมการ เรียนการสอน	ผู้สอน *
		Lab: Lab Session 3A and 3B, plasmid preparation of vector and insert DNA, column purification, spectrophotometric quantitation of DNA, Estimation DNA concentration from gel		
	18 มิ.ย. 59	หยุด		
	19 มิ.ย. 59	หยุด		
	จันทร์ 20 มิ.ย. 59	1.00-3.00 pm (Examination part I, 2 hr.) Part I report sending		
7-8	อังคาร 21 มิ.ย. 59	Lecture: Restriction enzymes, gel electrophoresis Lab: lab Session 4, <i>HindIII</i> digest of pUR288 (4.B – 4.D) and phosphatased treatment (4.E), start competent cells (4.F by TA)	บรรยาย/ ปฏิบัติการ/ สอบย่อยครั้งที่ 1	ดร.ปรีดา เลิศวัชรสารกุล/ ดร.สนธิชัย จันทร์เปรม Part II
9-10	พุธ 22 มิ.ย. 59	8:00 Lab: Session 5, start competent cells (continued by students) 8:30 Lecture: ligation, transformation of <i>E. coli</i> and electroporation Lab: Lab Session 5: Preparation of competent cells, ligation test of phosphatased vector, electrophoresis of pUR288, transformation (5.A – 5.D), double digestion for <i>myo-3</i> O/N (6.2.D).	บรรยาย/ ปฏิบัติการ	
11-12	พฤหัสบดี 23 มิ.ย. 59	Lab: Before lecture, run a gel for <i>myo-3</i> isolation Lecture: Radioactive and nonradioactive methods of labeling probes Lab: Lab Session 6, 2D, isolation of <i>myo-3</i> DNA from agarose, set up ligation (6.A – 6.C). Lab Session 7, Gel of ligation products (7A.C), transformation of frozen competent cells, using heat-shock method (7A.B).	บรรยาย/ ปฏิบัติการ	ดร.ปรีดา เลิศวัชรสารกุล/ ดร.สนธิชัย จันทร์เปรม Part II
13-14	ศุกร์ 24 มิ.ย. 59	Lecture: Transformant screening and screening transformants using DNA probes Lab: Check results for transformation from yesterday, random primer reaction or PCR with digoxigenin, Random primer reaction or PCR with digoxigenin (Demonstration; 7A.D), Estimating yield of Dig-labeled probes (8.A), demonstration by TA Lab: Lab Session 8.a Making replica plates (8.B)	บรรยาย/ ปฏิบัติการ	
	25 มิ.ย. 59	หยุด		
	26 มิ.ย. 59	หยุด		
15-16	จันทร์ 27 มิ.ย. 59	9.00 -11.00 am (Examination part II, 2 hr.) Part II report sending Lecture: Blotting techniques using in molecular biology research Lecture: Screening transformants using DNA hybridization Lab: lab Session 9, DNA probe to identify clones with DNA inserts: colony lifting – denature, neutralize, UV irradiate, prehybridize and	บรรยาย/ ปฏิบัติการ/ สอบย่อยครั้งที่ 2	ดร.ศุภธิดา อับดุลลาภาซิม/ ดร.ราตรี บุญเรืองรอด Part III

คาบที่	วัน/เดือน/ปี	เนื้อหา	กิจกรรมการเรียนการสอน	ผู้สอน *
		adding probes (9.A – 9.C)		
17-18	อังคาร 28 มิ.ย. 59	Lab: Lab Session 10, DNA probe – wash blots, place on film, develop film/detection on membrane (optional) (10.B)	บรรยาย/ ปฏิบัติการ	
19-20	พุธ 29 มิ.ย. 59	Lab: Start colonies for antibodies screening (induce with IPTG) (11.A.) Lecture: Screening transformants using antibodies Lab: Lab Session 11, antibody probe with alkaline lysis detection to identify clones with inserts in the correct orientation streak on LB/amp (continue 11.A)	บรรยาย/ ปฏิบัติการ	
21-22	พฤหัสบดี 30 มิ.ย. 59	Lecture: Principle of PCR and detection of transformance using PCR method Lab: Lab Session 12, Start PCR (12.D), Lab: Check PCR products (13.B) Lab: make overnight culture for alkaline lysis minipreps (11.B) Lecture: Restriction mapping and Sequence analysis Practice Restriction mapping with computer program Lab: restriction map of p2D (10.D)	บรรยาย/ ปฏิบัติการ	
23-24	ศุกร์ 1 ก.ค. 59	Lab: miniprep positive clones with alkaline lysis method and (12.B), Lab: lab Session 10, Restriction enzyme reactions and gel electrophoresis (10.A) Lab discussion Lab: start culture for electrophoresis of protein (13.C)	บรรยาย/ ปฏิบัติการ	
	2 ก.ค. 59	หยุด		
	3 ก.ค. 59	หยุด		
	จันทร์ 4 ก.ค. 59	2.30-4.30 pm (Examination part III, 2 hr.) Part III report sending		
25-26	อังคาร 5 ก.ค. 59	Lecture: SDS-PAGE Lab: Lab Session 14, Continue culture (+IPTG) (14.A), First protein gel (14.B – 14.I, and 14.K), Start culture for mini-prep purification (14.J)	บรรยาย/ ปฏิบัติการ/ สอบย่อยครั้งที่ 3	ดร.รัชนี สงประยูร/ ดร.อรอุมา ตนะ ตุลย์/ดร.ศิวเรศ อารีกิจ
27-28	พุธ 6 ก.ค. 59	Lab: lab Session 15, start 100 ml cultures + IPTG (15.A) Lecture: Protein purification: how to get your favorite genes? Lab: 100 ml culture for protein purification, affinity chromatography, ammonium sulfate precipitation (15.B – 15.F)	บรรยาย/ ปฏิบัติการ	Part IV
29-30	พฤหัสบดี 7 ก.ค. 59	Lecture: Spectrophotometry, enzyme assay Lab: Lab Session 16, Protein assay (16A.A – 16A.E), β -galactosidase enzyme assay (16B.A – 16B.C)	บรรยาย/ ปฏิบัติการ	
31-32	ศุกร์	Lab: Lab Session 17, run second SDS gel, Western blot (17.A – 17.C),	บรรยาย/	

คาบที่	วัน/เดือน/ปี	เนื้อหา	กิจกรรมการเรียนการสอน	ผู้สอน *
	8 ก.ค. 59	Immunoblot development (18.A – 18.C). Analysis of results and evaluation. Lecture: Lab Discussion	ปฏิบัติการ	
	9 ก.ค. 58	หยุด		
	10 ก.ค. 58	หยุด		
33-34	จันทร์ 11 ก.ค. 59	Part IV report sending 10.00-12.00 pm Examination for part IV (2 hr.) 13.00-16.00 pm Final Examination (3 hr.)	ส่งรายงาน/ สอบครั้งที่ 4	ดร.จุฑาทิพย์ วัชรระไชยคุปต์