



แบบคำร้องขอรับการพิจารณาความปลอดภัยทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ
มหาวิทยาลัยบูรพา

๑. ชื่อโครงการวิจัย

๑.๑ ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย) การโคลน หาลำดับเบส และการแสดงออกของยีน exotoxin A ของ *Pseudomonas aeruginosa* ใน *Escherichia coli*

๑.๒ ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาอังกฤษ) Cloning, nucleotide sequence, and expression in *Escherichia coli* of the exotoxin A structural gene of *Pseudomonas aeruginosa*

๒. คณะผู้วิจัย

๒.๑ หัวหน้าโครงการวิจัย

ชื่อ - สกุล ดร. สวัสดิ์ ครับ ตำแหน่งทางวิชาการ. นักวิจัย

หน่วยงานที่สังกัด Genentech, Inc

โทรศัพท์ 02-564-XXXX E-mail -

ได้ผ่านการอบรมความปลอดภัยทางชีวภาพมาก่อนหรือไม่

ผ่านการอบรมมาแล้ว ยังไม่เคยผ่านการอบรม

๒.๒ ผู้ร่วมวิจัย

(๑) ชื่อ - สกุล ดร. จอห์น โด ตำแหน่งทางวิชาการ ศาสตราจารย์

หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาจุลชีววิทยาและภูมิคุ้มกันวิทยา มหาวิทยาลัยเอเปซีดี

โทรศัพท์ 02-564-XXXX E-mail -

ได้ผ่านการอบรมความปลอดภัยทางชีวภาพมาก่อนหรือไม่

ผ่านการอบรมมาแล้ว ยังไม่เคยผ่านการอบรม

(๒) ชื่อ - สกุล ดร. เจน โด ตำแหน่งทางวิชาการ อาจารย์

หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาจุลชีววิทยาและภูมิคุ้มกันวิทยา มหาวิทยาลัยเอเปซีดี

โทรศัพท์ 02-564-XXXX E-mail -

ได้ผ่านการอบรมความปลอดภัยทางชีวภาพมาก่อนหรือไม่

ผ่านการอบรมมาแล้ว ยังไม่เคยผ่านการอบรม

(๓) ชื่อ - สกุล.....ตำแหน่งทางวิชาการ.....
หน่วยงานที่สังกัด.....
โทรศัพท์..... E-mail.....
ได้ผ่านการอบรมความปลอดภัยทางชีวภาพมาก่อนหรือไม่
 ผ่านการอบรมมาแล้ว ยังไม่เคยผ่านการอบรม

๓. แหล่งทุนสนับสนุนโครงการวิจัย

- ๓.๑ งบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ พ.ศ.จำนวนเงิน.....บาท
- ๓.๒ งบประมาณเงินรายได้ส่วนงาน..... มหาวิทยาลัยบูรพา
ปีงบประมาณ พ.ศ.จำนวนเงิน.....บาท
- ๓.๓ องค์กรเอกชน (NGO : Non Government Organization)
ชื่อองค์กรเอกชน.....
จำนวนเงิน.....บาท
- ๓.๔ หน่วยงานอื่น ๆ
ชื่อทุน.....
จำนวนเงิน.....บาท
- ๓.๕ ทุนสนับสนุนจากต่างประเทศ
ชื่อทุน.....
จำนวนเงิน.....บาท
- ๓.๖ ทุนอื่น ๆ
ชื่อทุน NA
จำนวนเงิน 2,XXX,XXX บาท

๔. ระยะเวลาของการดำเนินโครงการวิจัย

- ๔.๑ ระยะเวลาทั้งหมดตลอดโครงการจำนวน 3 ปี - เดือน - วัน
- ๔.๒ คาดว่าจะเริ่มโครงการวิจัย วันที่..... เดือน..... พ.ศ.
- ๔.๓ ระยะเวลาที่คาดว่าจะเริ่มเก็บข้อมูล หรือทำการทดลองกับกลุ่มตัวอย่าง
วันที่..... เดือน..... พ.ศ. ถึง วันที่..... เดือน..... พ.ศ.
- ๔.๔ คาดว่าโครงการวิจัยจะแล้วเสร็จหรือปิดโครงการวิจัย วันที่..... เดือน..... พ.ศ.

๕. บทคัดย่อ (ให้อธิบายที่มาและความสำคัญของปัญหาโดยสังเขป)

.....
.....
.....
.....
.....
.....

๖. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อศึกษาการแสดงออกของ exotoxin A ของ *Pseudomonas aeruginosa* ในเซลล์เจ้าบ้าน *E. coli*

๗. วิธีดำเนินการวิจัยโดยสังเขป (โปรดแนบสำเนาโครงการวิจัยด้วย)

๗.๑ ออกแบบ Probe ที่ติดฉลากด้วย P-32 เพื่อจับกับส่วนของ DNA ในส่วนที่ encode การสร้าง exotoxin A (ETA) ของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

๗.๒ ทำการเลี้ยงเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* เพื่อสกัด DNA มาสร้าง genomic DNA library

๗.๓ คัดเลือก clone จาก genomic library ของ *Pseudomonas aeruginosa* ด้วยเทคนิค Southern blot hybridization

๗.๔ ทำการ express ยีน ETA และระบุตำแหน่งของโปรตีนที่อยู่ภายในเซลล์เจ้าบ้าน (localization)

๘. โปรดระบุด้วยเครื่องหมาย ลงใน หน้ากิจกรรมของโครงการเพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการพิจารณา

๘.๑ ประเภทสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการทำวิจัย

จุลินทรีย์

พืช

สัตว์

เซลล์มนุษย์หรือเซลล์สัตว์

สารพิษที่ผลิตโดยสิ่งมีชีวิต

อื่นๆ โปรดระบุ.....

- สำหรับโครงการที่มีการใช้เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่หรือพันธุวิศวกรรม ให้ระบุข้อมูลเพิ่มเติมในหัวข้อที่ ๙
- สำหรับโครงการที่มีการใช้จุลินทรีย์ที่ไม่ดัดแปลงพันธุกรรม ให้ระบุข้อมูลเพิ่มเติมในหัวข้อที่ ๑๐
- สำหรับโครงการที่มีการใช้เซลล์มนุษย์หรือเซลล์สัตว์ (cell culture) ที่ไม่ได้ใช้เทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่หรือพันธุวิศวกรรม ให้ระบุข้อมูลเพิ่มเติมในหัวข้อที่ ๑๑
- สำหรับโครงการที่มีการใช้สารพิษที่ผลิตโดยสิ่งมีชีวิต ที่ไม่ได้ใช้เทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่หรือพันธุวิศวกรรม ให้ระบุข้อมูลเพิ่มเติมในหัวข้อที่ ๑๒

๘.๒ ประเภทของกลุ่มงานวิจัย (สามารถตรวจสอบประเภทของกลุ่มงานวิจัยได้จากเว็บไซต์

<http://research.buu.ac.th> ในหัวข้อ ความปลอดภัยทางชีวภาพ ตามรายละเอียดในบทที่ ๒ หน้า ๑๑-๑๗)

- ประเภทที่ ๑ (ขอยกเว้น)
- ประเภทที่ ๒ (ขอประเมินโดย IBC-BUU ซึ่งเป็นคณะกรรมการภายในมหาวิทยาลัยบูรพา)
- ประเภทที่ ๓ (ขอประเมินโดย TBC ซึ่งเป็นคณะกรรมการภายนอกมหาวิทยาลัยบูรพา)

โปรดระบุข้อมูลจำเพาะ

๙. โครงการที่มีการใช้เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่หรือพันธุวิศวกรรม GMOs

๙.๑ รายละเอียดการแสดงออกของยีนที่เกิดขึ้น (หรือคาดว่าจะเกิด) จากการดัดแปลงสารพันธุกรรม

๙.๑.๑ สิ่งมีชีวิตที่ได้รับการตัดต่อ *E.coli* strain 294 และ *E.coli* strain JM83

๙.๑.๒ การแสดงออกของยีนที่คาดว่าจะเกิดขึ้น

องค์ประกอบของยีนที่สอดใส่ (insert gene)	ลักษณะการแสดงออก	
	เซลล์เจ้าบ้าน (host)	Intermediate host
๑. promoter	<i>Tryptophan promoter</i>	-
๒. enhancer	-	-
๓. gene	ETA gene	-
๔. terminator	-	-
๕. selectable marker gene(s)	Ampicillin and tetracyclin	-

กรณีที่เซลล์เจ้าบ้าน (host) / พาหะ (vector) ไม่ได้อยู่ในบัญชีรายชื่อของเจ้าบ้าน/พาหะที่รับรองแล้วว่าปลอดภัยในแนวทางปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพ กรุณาแนบรายละเอียดพร้อมแผนภาพ (map)

๙.๒ ชิ้นส่วนของสารพันธุกรรมที่ใช้ในการถ่ายโอน (recombinant insert)

๙.๒.๑ แหล่งและลำดับเบสของ DNA / RNA (ระบุชื่อจีโนม สปีชีส์ ชื่อยีน และ GenBank

Acc. No.)

ETA from *Pseudomonas aeruginosa* strain PA103

๙.๒.๒ บทบาทและผลผลิตจากยีนหรือลำดับเบสที่ใช้

The exotoxin A (ETA) เป็นยีนที่สร้างสารพิษชนิดที่หลั่งออกสู่ภายนอก

๙.๓ ระบบพาหะ (vector system)

๙.๓.๑ สายพันธุ์ของเซลล์เจ้าบ้าน (host) ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวน (ระบุ strain)

E. coli strain 294 และ *E. coli* strain JM83

๙.๓.๒ ระบุรายละเอียดของ พาหะ (vector) (ระบุว่าเป็น derivative ของพาหะใดที่เคยอนุมัติให้ใช้ได้อย่างปลอดภัยหรือไม่) หากเป็นพาหะใหม่ ให้แนบรายละเอียดพร้อมแผนภาพประกอบ (map)

pUC8, pUC9 และ pHGH207-1

๙.๓.๓ ถ้าเป็นไวรัส อาจก่อให้เกิดโรคหรือพิษภัยหรือไม่ ถ้าใช่ระบุชื่อและ/หรือชนิดของโปรตีนหรือพิษ (ระบุชื่อไวรัสและการเกิดโรคหรือพิษภัย)

ไม่มี

๙.๔. วิธีการส่งถ่ายยีน (gene transfer method)

Transformation by CaCl_2 and heat shock

๑๐. โครงการที่มีการใช้จุลินทรีย์ที่ไม่ดัดแปลงพันธุกรรม Non-GMOs

๑๐.๑ จุลินทรีย์

- แบคทีเรีย
- ไวรัส
- รา
- ยีสต์
- โปรโตซัว
- อื่นๆ

๑๐.๒ ชื่อ (จีเนส สปีชีส์ สเตรน) โปรดระบุ

ก่อให้เกิดโรค

- คน
- พืช
- สัตว์

ช่องทางการแพร่ระบาด

- ทางเดินหายใจ
- อาหาร
- อื่นๆ ระบุ

ไม่ก่อกำเนิดโรค

๑๐.๓ การเพิ่มจำนวน

- มีการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ
 - ปริมาตรรวมมากกว่า 10 ลิตร
 - ปริมาตรรวมน้อยกว่า 10 ลิตร

๑๐.๔ การสร้างสารพิษ

- สร้างสารพิษ
 - ไม่สร้างสารพิษ
- ช่องทางการแพร่ระบาด
- ทางเดินหายใจ
 - อาหาร
 - อื่นๆ ระบุ

๑๑. Cell Line

ให้ระบุชนิดของเซลล์มนุษย์หรือเซลล์สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง

แหล่งที่มา

๑๒. สารพิษ

ให้ระบุชนิดของสารพิษ.....

ความรุนแรงของสารพิษ ค่า LD50

(หากมีแหล่งอ้างอิง ให้แนบมาด้วย)

- ทนความร้อน
- ไม่ทนความร้อน

๑๓. รายละเอียดสถานที่ทำการทดลอง

(ประเภทของห้องปฏิบัติการที่จะดำเนินงาน GLP BSL1 BSL2 BSL3 BSL4)

สถานที่ทำการทดลอง GLP

สถานที่ทำการทดลอง BSL 1

สถานที่ทำการทดลอง BSL 2 ห้องปฏิบัติการ 413 อาคารโนเบล มหาวิทยาลัยเอปซีดี

สถานที่ทำการทดลอง BSL 3

สถานที่ทำการทดลอง BSL 4

๑๔. รายละเอียดการดูแลความปลอดภัยทางชีวภาพ

๑๔.๑ การจัดการเครื่องมือ/ อุปกรณ์

- ติด Biohazard sign บนอุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้
- Disinfection ก่อนและหลังทำการทดลองบนพื้นผิวโต๊ะปฏิบัติการ
- Autoclave อุปกรณ์และเครื่องแก้วก่อนและหลังการใช้งาน
- มีเครื่อง biosafety cabinet

๑๔.๒ การป้องกันการหลุดรอด

- มีการเตรียมน้ำยาฆ่าเชื้อ disinfectant ในบริเวณปฏิบัติงาน เมื่อเกิดเหตุไม่คาดคิดสามารถนำมาใช้ได้อย่างทันถ่วงที
- มีเครื่องป้องกันการฟุ้งกระจายของสาร
- มีระบบการเข้าถึงตัวอย่างสารพิษ เช่น การจำกัดคนที่ จะเข้าถึงตู้เย็น -70 C
- มีระบบในการแจ้งผู้เกี่ยวข้อง เช่น หัวหน้าแล็บ คณะกรรมการ IBC เมื่อเกิดเหตุที่ไม่คาดคิดขึ้น เช่น การหลุดรอดของสารพิษจากห้องปฏิบัติการ

๑๔.๓ การกำจัดสิ่งมีชีวิตและสิ่งปฏิภูล

- ทำการฆ่าเชื้อด้วยวิธี autoclave ก่อนทิ้ง
- มีการแยกขยะอย่างชัดเจน เช่น อุปกรณ์หรือวัสดุติดเชื้อจะถูกจัดเก็บไว้ในถุงแดง ซึ่งเป็นสัญลักษณ์สากล เพื่อนำไปกำจัดอย่างถูกวิธีต่อไป
- แยกขยะของมีคม และเครื่องแก้วที่แตกหัก

รับทราบ

ลงชื่อ
(.....)
หัวหน้าโครงการ
วันที่...../...../.....

ลงชื่อ
(.....)
หัวหน้าส่วนงาน
วันที่...../...../.....

สำหรับงานประเภทที่ ๑

IBC-BUU พิจารณายกเว้นการประเมินแล้ว

- เห็นชอบ ไม่เห็นชอบ เนื่องจาก
- เห็นชอบโดยมีข้อสังเกต
- ข้อเสนอแนะอื่นๆ

ลงชื่อ
(.....)
ประธาน IBC-BUU
วันที่...../...../.....

สำหรับงานประเภทที่ ๒

IBC-BUU พิจารณาประเมิน

- เห็นชอบ ไม่เห็นชอบ เนื่องจาก
- เห็นชอบโดยมีข้อสังเกต
- ข้อเสนอแนะอื่นๆ

ลงชื่อ

(.....)

ประธาน IBC-BUU

วันที่...../...../.....

สำหรับงานวิจัยประเภทที่ ๓ และ ๔

TBC ให้คำแนะนำและพิจารณาประเมิน

- เห็นชอบ ไม่เห็นชอบ เนื่องจาก.....
- เห็นชอบโดยมีข้อสังเกต
- ข้อเสนอแนะอื่นๆ

ลงชื่อ

(.....)

ประธาน IBC-BUU

วันที่...../...../.....