

# ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยฟุกุโอกะ

ระยะเวลาในการฝึกงาน วันที่ 18 เมษายน – 16 มิถุนายน 2566



# สถานที่ตั้ง



**8 Chome-19-1 Nanakuma, Jonan Ward,  
Fukuoka, 814-0133 ญี่ปุ่น**

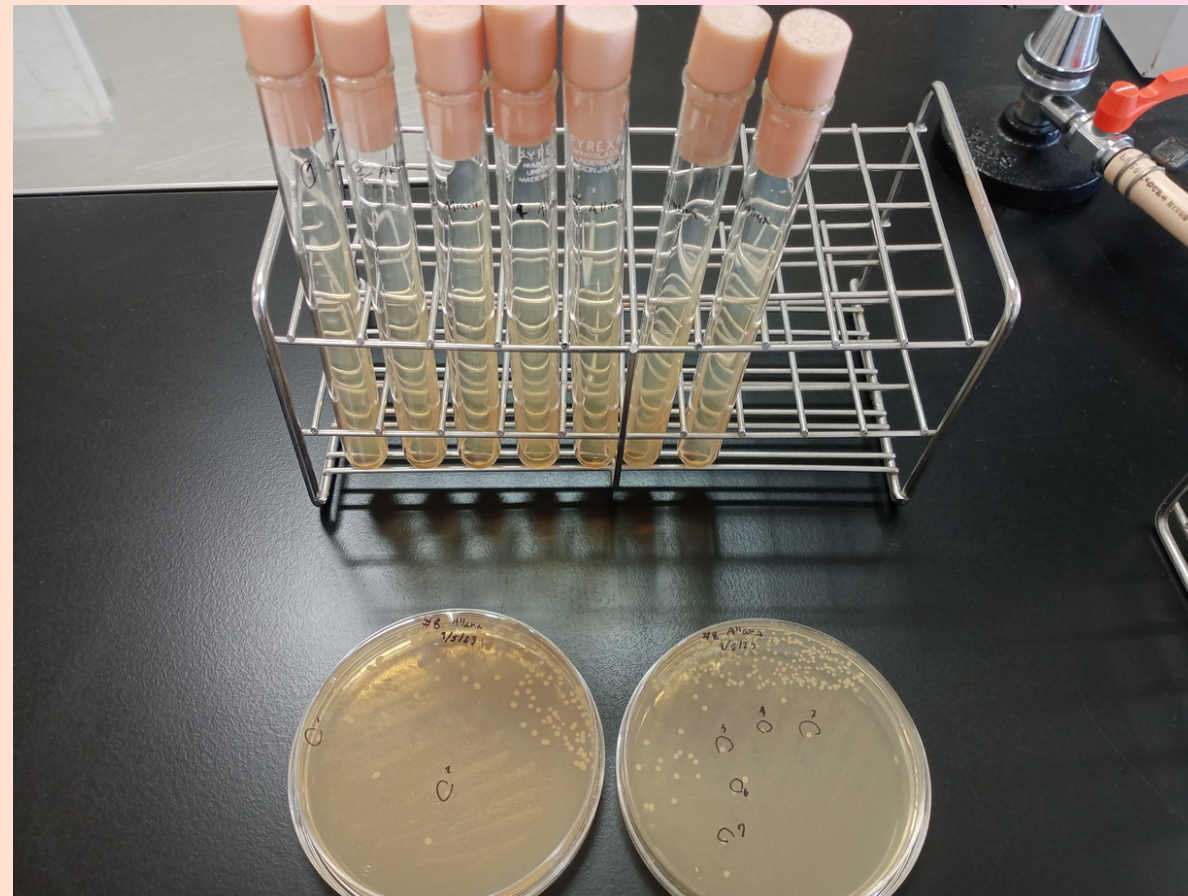
**สามารถเดินทางจากกลางเมืองโดยใช้  
รถไฟฟ้าใต้ดินใช้เวลาประมาณ 30 นาที และ  
สถานีรถไฟที่อยู่ใกล้ประตูทางเข้าหน้า  
มหาวิทยาลัยคือสถานี Fukudai eki mae  
(สถานีหน้ามหาวิทยาลัยฟุกุโอกะ)**

# **ประวัติ**

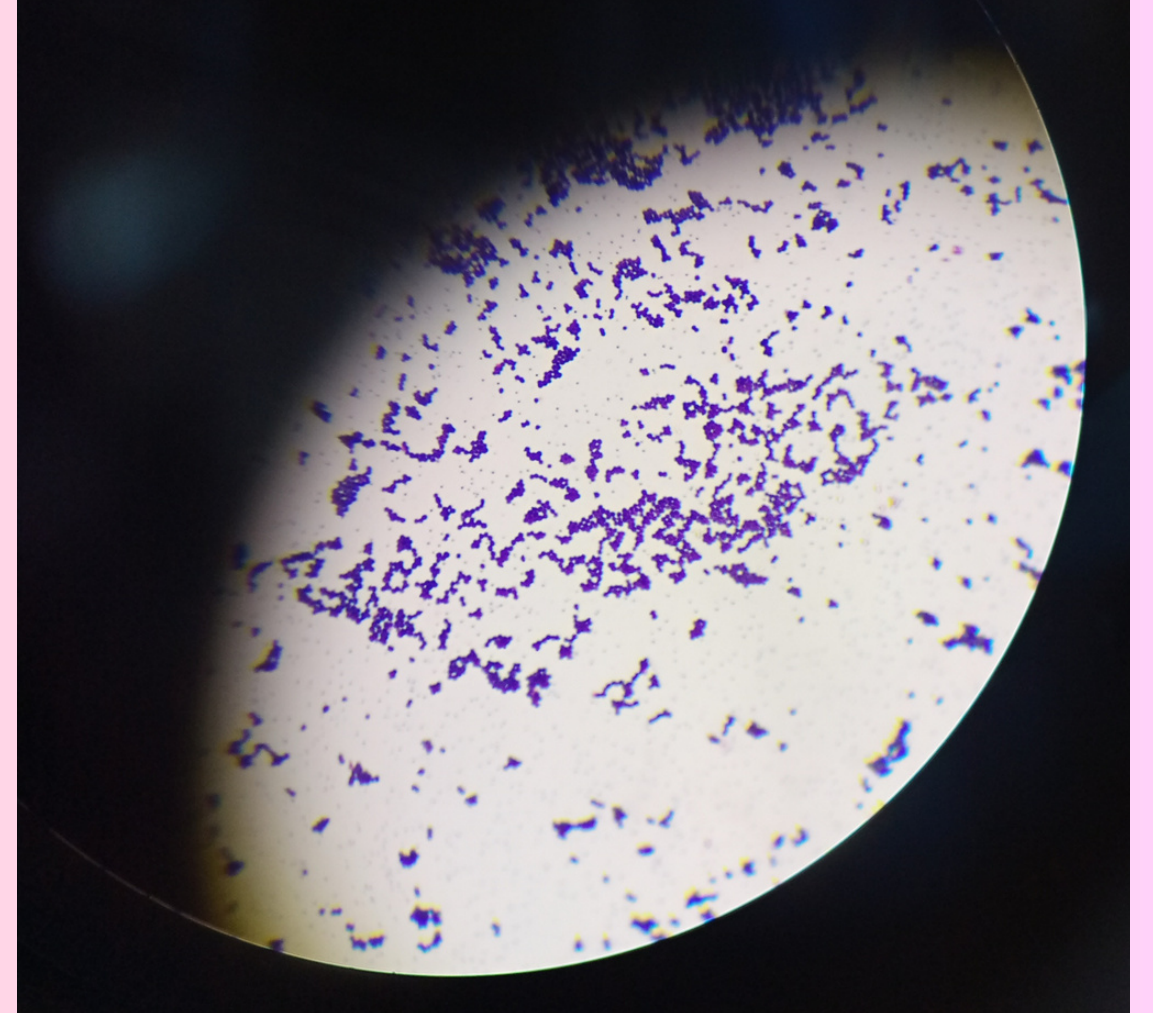
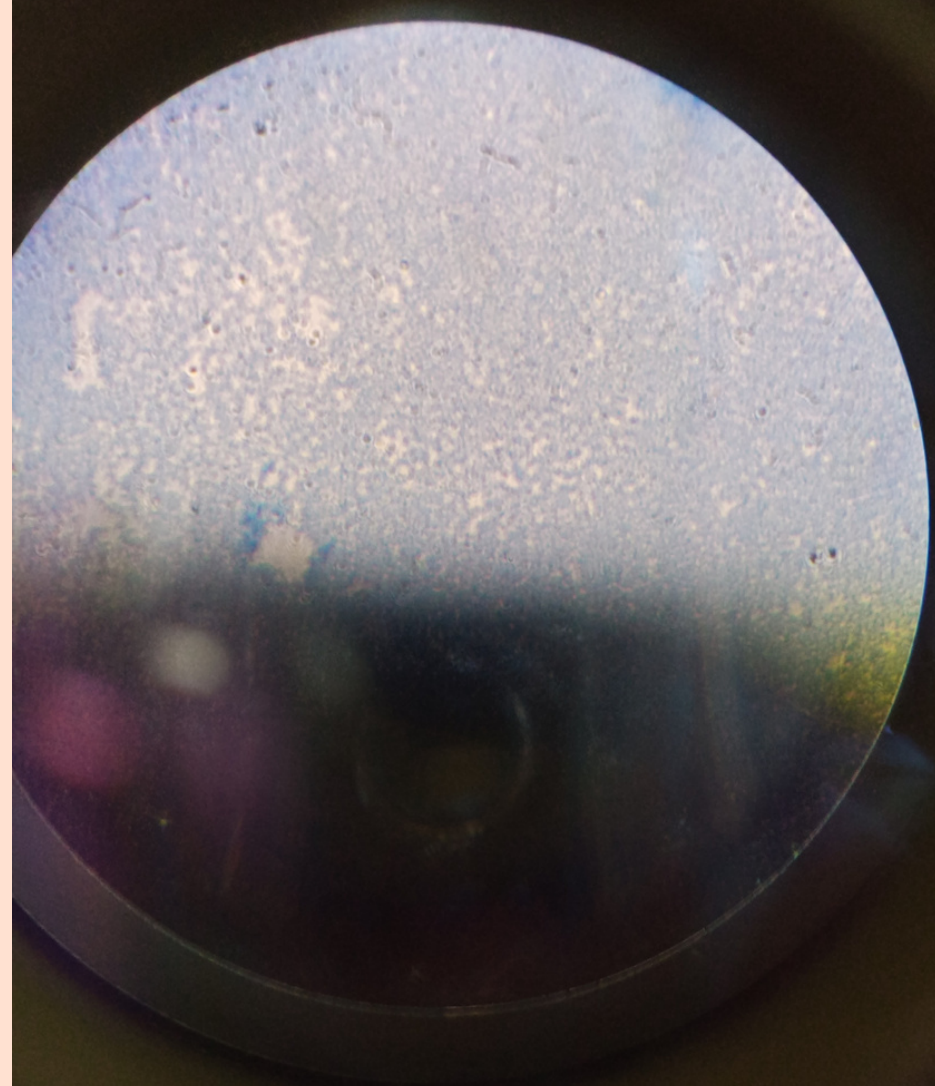
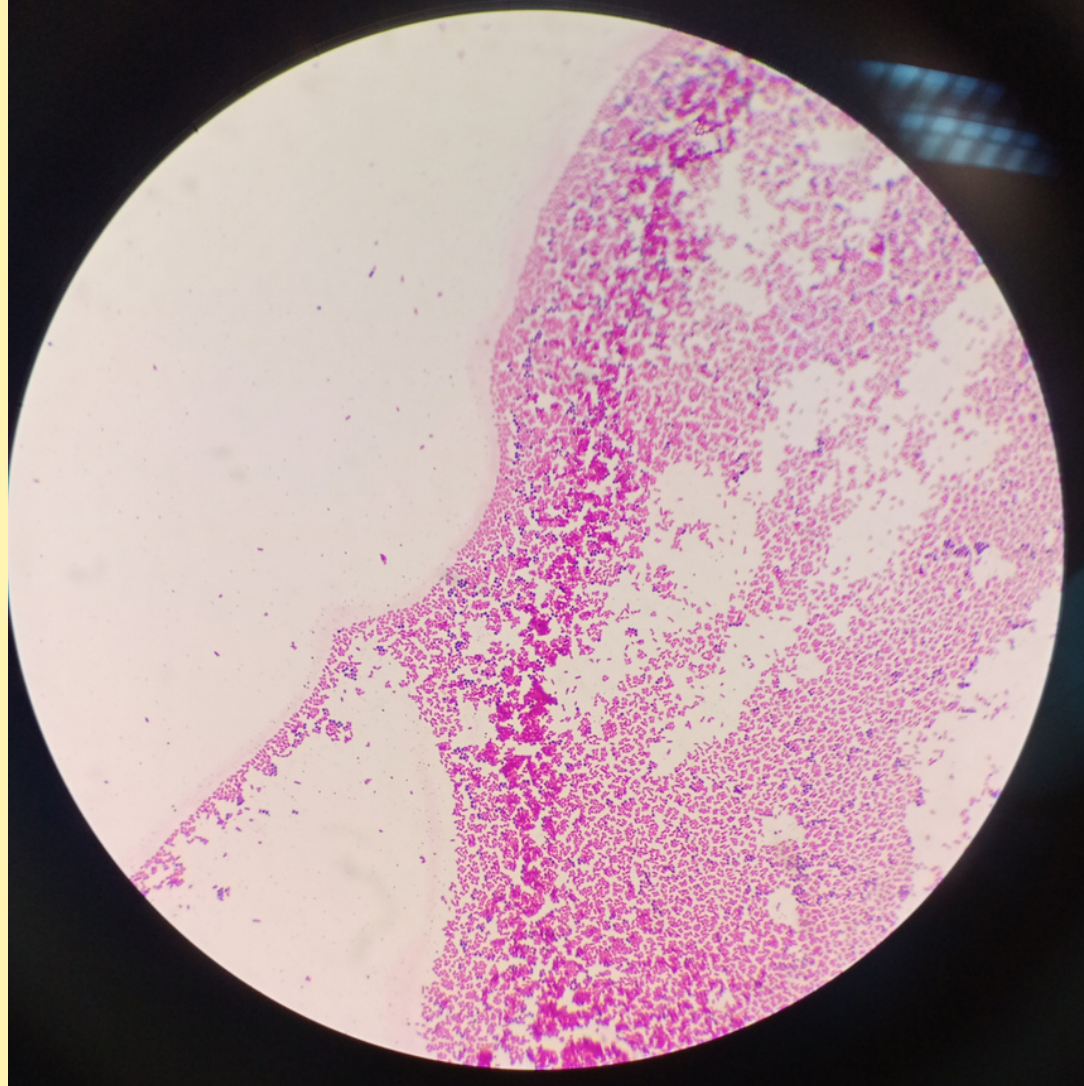
**คณะเภสัชศาสตร์ มีบทบาทในการผลิตเภสัชกร นักการศึกษาด้านเภสัชศาสตร์ และนักวิจัยอย่างต่อเนื่อง และมีบทบาทการพัฒนาใหม่ ส่งเสริมการวิจัยพื้นฐานและทางคลินิกขั้นสูงเพื่อความปลอดภัยในการใช้ยาและมีบทบาทในการพัฒนาบุคลากรในระบบสุขภาพของประเทศ**

**ประกอบด้วยภาควิชาและหน่วยวิจัย 24 หน่วยงาน เช่น Pharmaceutical Chemistry, Medicinal Chemistry, Pharmacognosy, Clinical- and Biopharmaceutics และ Laboratory for Instrumental Analytical Chemistry เป็นต้น สำหรับหน่วยงานที่ได้ไปฝึกงาน คือ Microbiology ซึ่งมี Professor Nobuhiro Kashige เป็นหัวหน้าหน่วยวิจัย**

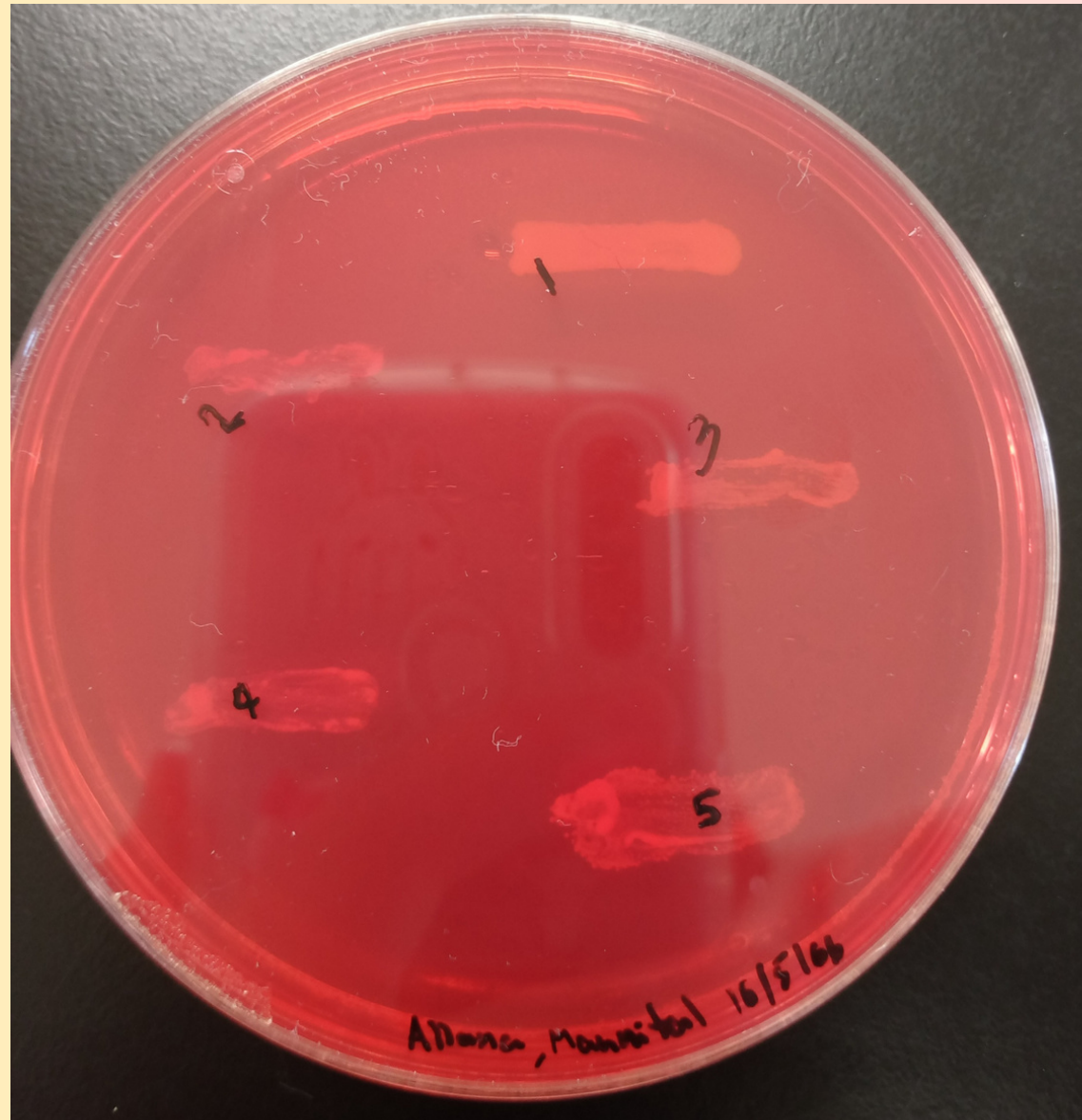
# Microbiology training



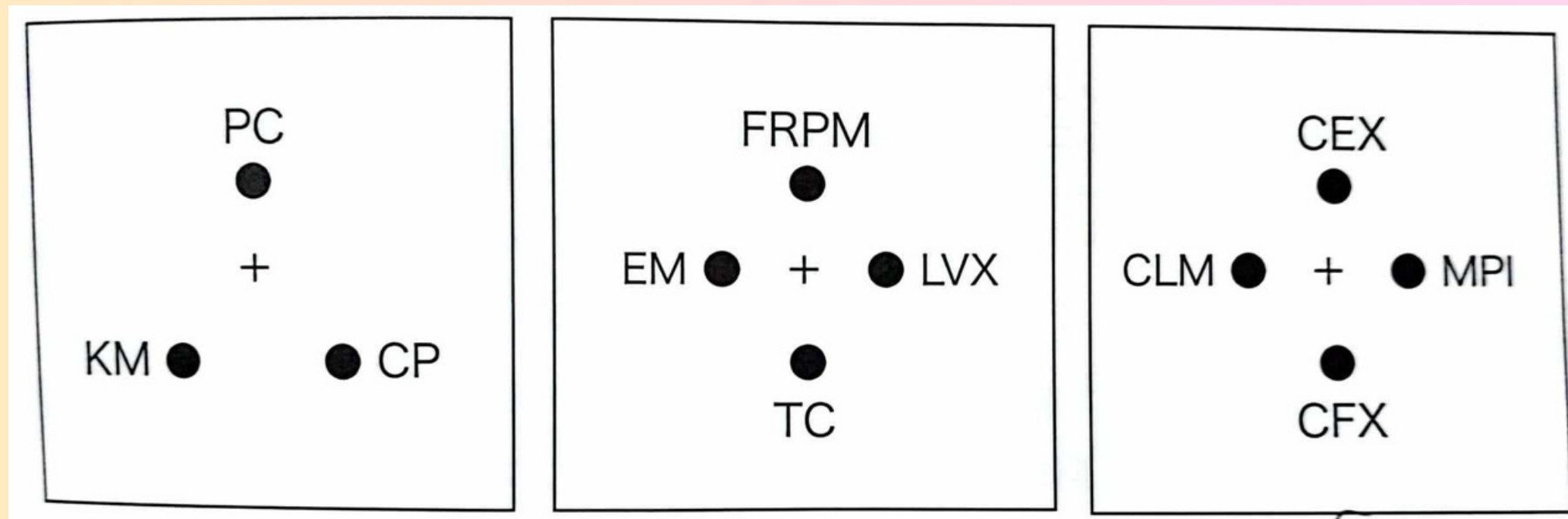
อุปกรณ์ เครื่องมือ และบรรยากาศการเรียนรู้การสอนบางส่วนในห้องปฏิบัติการ



**ការយ៉ាងក្រសួង Bacteria**



**การทดสอบ Biochemical test ของแบคทีเรียจากโพรงจมูก**



การทดสอบฤทธิ์ยาปฏิชีวนะต่อ Staphylococcus spp.

ยาปฏิชีวนะ	เส้นผ่านศูนย์กลาง แนวที่ 1 (mm.)	เส้นผ่านศูนย์กลาง แนวที่ 2 (mm.)	เส้นผ่านศูนย์กลาง แนวที่ 3 (mm.)	เส้นผ่านศูนย์กลาง เฉลี่ย (mm.)	ความสามารถในการ ยับยั้ง
Penicillin (PC)	16	15	16	15.66	Resistant
Faropenem (FRPM)	37	38	40	38.33	Susceptibility
Kanamycin (KM)	23	22	22	22.33	Susceptibility
Chloramphenicol (CP)	21	21	22	21.33	Susceptibility
Clindamycin (CLM)	23	21	21	21.66	Susceptibility
Tetracycline (TC)	25	24	23	24.00	Susceptibility
Levofloxacin (LVX)	23	22	20	21.66	Susceptibility
Cephalexin (CEX)	28	27	28	27.66	Susceptibility
Erythromycin (EM)	12	9	11	10.66	Resistant
Oxacillin (MPI)	23	25	21	23.00	Susceptibility
Cefoxitin (CFX)	28	29	28	28.33	Susceptibility

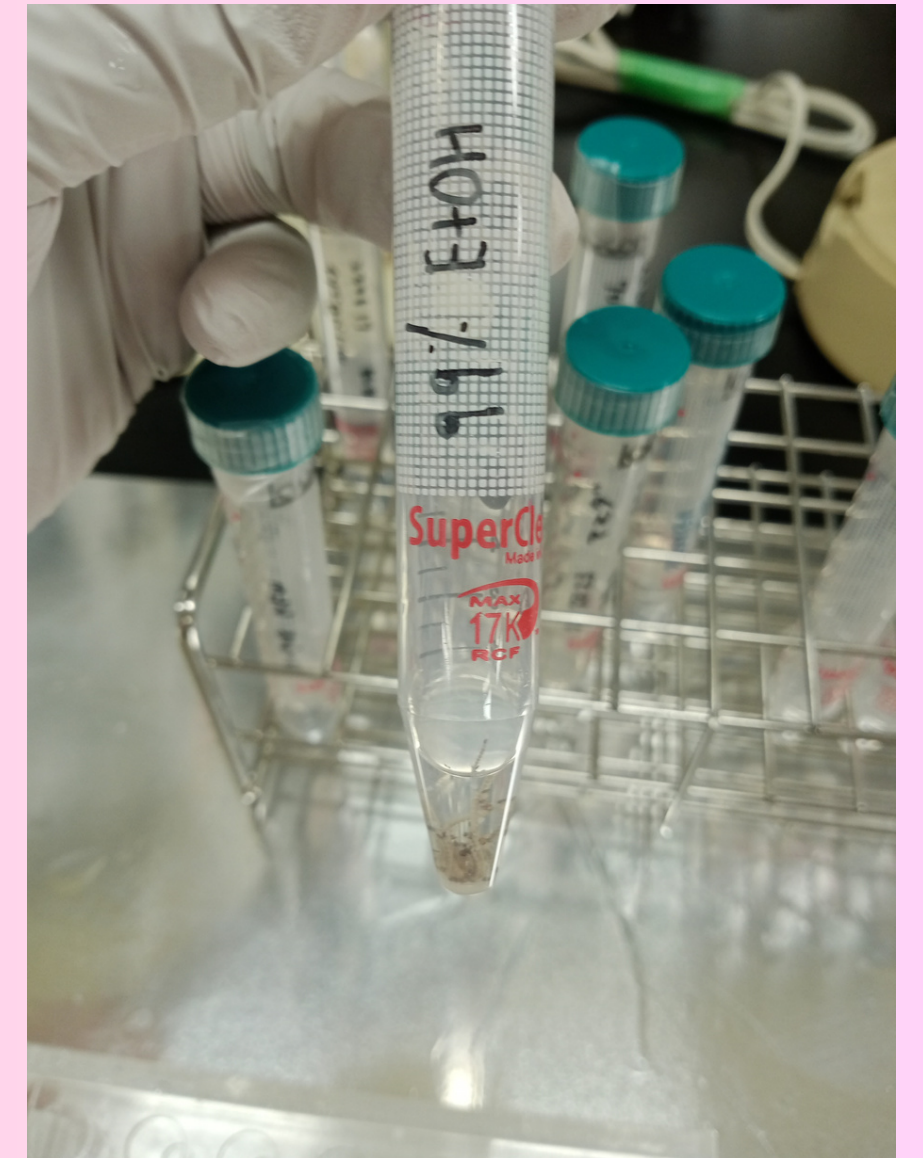
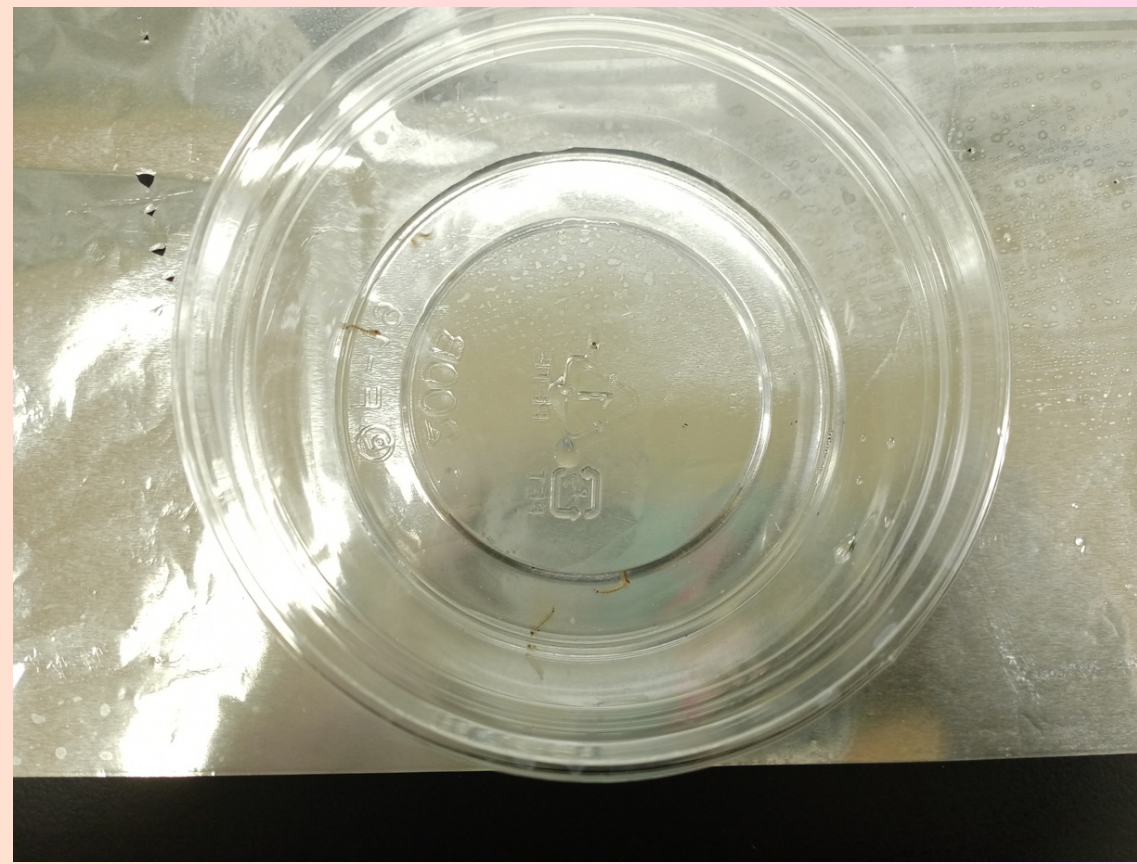
**ตารางแสดงผลการยับยั้ง Staphylococcus spp. ของยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ**

# การทำ DNA extraction จาก Mosquito Lava โดยใช้ ISOSPIN Tissue DNA

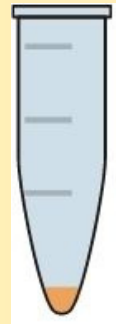


การเลี้ยงยุงและเก็บตัวอย่าง(Lava)ในห้องปฏิบัติการ

# การทดสอบ condition ที่เหมาะสมของชุดสกัด ISOSPIN Tissue DNA



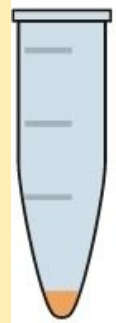
การเตรียมพื้นที่ทำงานและตัวอย่าง Lava



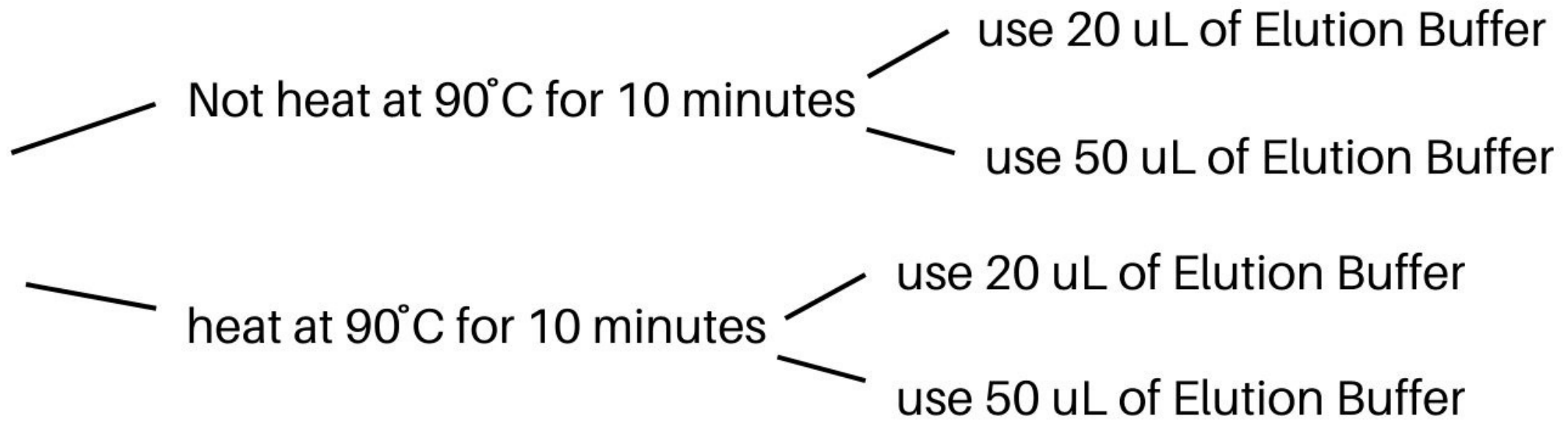
1 Lava (old) /sample  
x 3 samples

———— Not heat at 90°C for 10 minutes ———— use 50 uL of Elution Buffer

sample 1-3



5 Lava (new)/sample  
x 4 samples



sample 4-7

## Condition ที่จะทำการทดสอบ



**เครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบ**

Sample	Nucleic Acid Conc. (ng/ $\mu$ L)	A260/A280	A260/A230
1	10.4	1.85	2.91
2	18.1	1.82	3.09
3	19.5	1.80	3.84
4	56.7	1.82	2.31
5	26.7	1.89	2.70
6	40.5	1.79	1.00
7	16.6	1.86	3.23

**ผลจากการวัดความเข้มข้นด้วย Nanodrop**

**ค่า A260/A280 ที่อยู่ในช่วง 1.65-1.85 แสดงว่า DNA มีความบริสุทธิ์**



Well

1 = DNA Marker

2 = sample 2

3 = sample 3

4 = sample 4

5 = sample 5

6 = sample 6

7 = Negative control

**ผลจากการทำ PCR COI gene**

# COI and ITSII gene sequencing

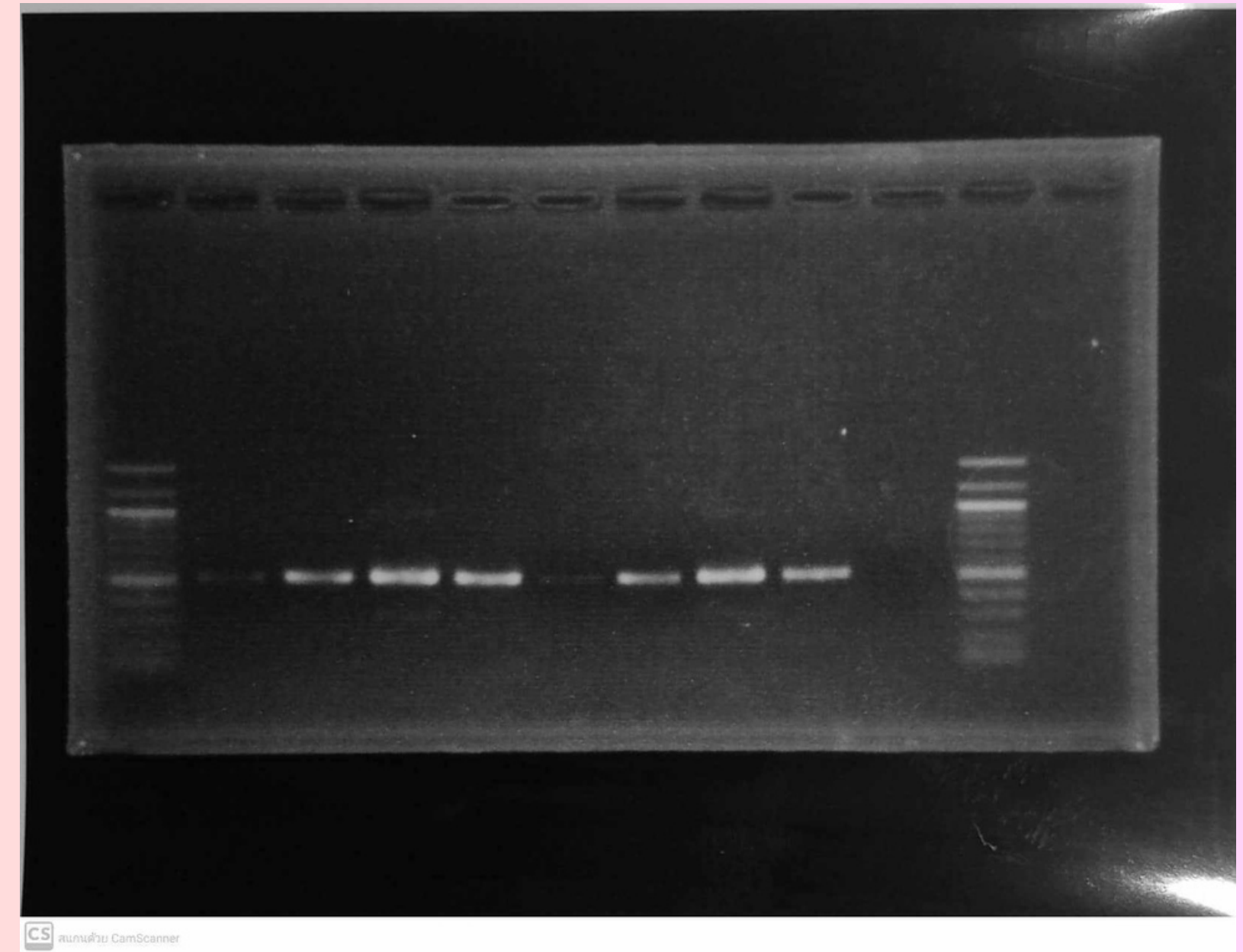
Master Mix	1 sample (mL)	6 samples (mL)
<u>Taq</u> (5U/mL)	0.25	1.5
10xBuffer + Mg <sup>2+</sup>	5	30
2.5mM dNTP mix	4	24
10 μM Primer	1	6
10 μM Primer	1	6
NFW	37.75	226.5
DNA template	1	6
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>300</b>

ตัวอย่างที่ทำทดสอบ ได้แก่ Lava1(หลอดที่1) , Lava2 (หลอดที่2) , Lava3 (หลอดที่3) , Lava4 (หลอดที่4 ) และ negative control (หลอดที่5)

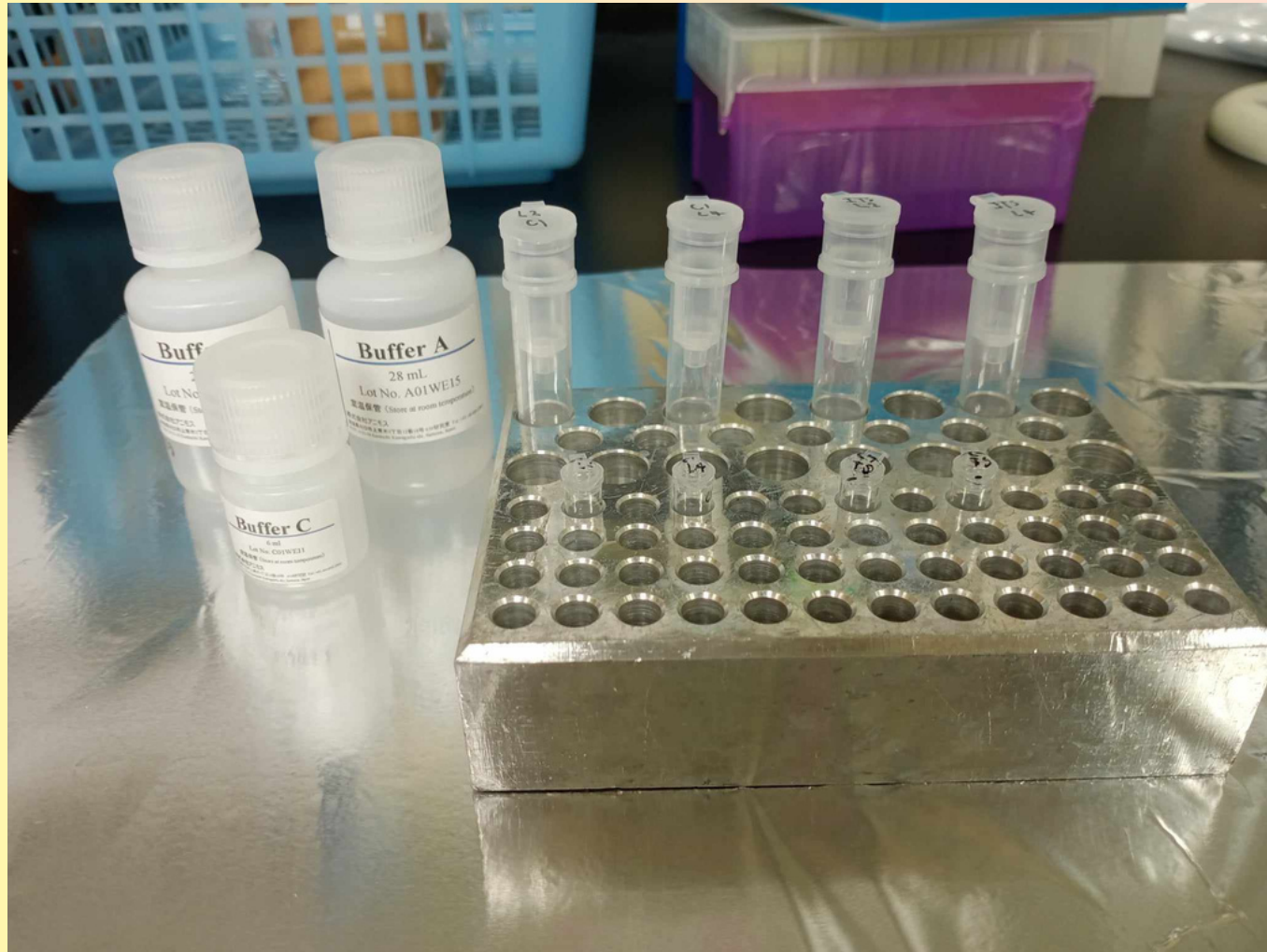
**Primer : COI >> forward = LC01490, reward = HC02198**

**ITSII >> forward = ITS2A , reward = ITS2B**





**ผล PCR ของยีน COI และ ITSII ตามลำดับ**



PCR product 25  $\mu$ L  
+ Buffer A 250  $\mu$ L  
ใน spin column

ปั่นเหวี่ยงที่ 9000x g,  
1 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

ปิเปต Buffer B ลง  
spin column 500  $\mu$ L

ปิเปต Buffer C 10  $\mu$ L  
ลงใน spin column

นำ spin column ใส่  
microtube อันใหม่

ปั่นเหวี่ยงที่ 9000x g,  
1 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

ปั่นเหวี่ยงที่ 9000x g, 1  
นาที ที่อุณหภูมิห้อง

วัดความเข้มข้นด้วย Nanodrop ถ้าหากวัดได้ในช่วง 40-100  
ng/ $\mu$ L จึงจะสามารถนำส่งบริษัทเพื่อทำการ sequencing

## DNA Purification โดย DNA Purification Kit I



NIH National Library of Medicine  
National Center for Biotechnology Information

BLAST®

Home Recent Results Saved Strategies Help

Take the BLAST survey today [Start survey](#)

**Basic Local Alignment Search Tool**

BLAST finds regions of similarity between biological sequences. The program compares nucleotide or protein sequences to sequence databases and calculates the statistical significance. [Learn more](#)

**Web BLAST**

**Nucleotide BLAST**  
nucleotide ▶ nucleotide

**blastx**  
translated nucleotide ▶ protein

**tblastn**  
protein ▶ translated nucleotide

**Protein BLAST**  
protein ▶ protein

BLAST Quick Start guides!  
Need some help getting started with BLAST?  
Thu, 22 Jun 2023 [More BLAST news...](#)

โปรแกรม BioEdit และ เว็บไซต์ Blast ซึ่งใช้ในการตัดแต่ง Sequence และระบุชนิดของตัวอย่าง

# **ประโยชน์ที่ได้รับจากการฝึกงาน**

- 1.ได้เพิ่มพูนทักษะการทำปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา**
- 2.ได้รู้จักการแบ่งเวลา แก้ปัญหา และทำการปฏิบัติการวิจัยด้วยตนเอง**
- 3.ได้เข้าสู่สังคมในการทำงานและการเรียนการสอนที่แตกต่างจากประเทศไทย**
- 4.ได้ทราบวิธีการใช้โปรแกรมและอุปกรณ์ใหม่ๆที่ไม่เคยใช้**
- 5.ได้เตรียมอุปกรณ์ สาร และอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยตนเอง**
- 6.ได้ทราบวิธีการคำนวณเตรียมอาหารและสารต่าง ๆ**

# ผู้ดูแลระหว่างการฝึกงาน



- **Professor Tomomitsu Sato**  
ตำแหน่ง **Professor**
- **Professor Parinya Wilai**  
ตำแหน่ง **Assistant Professor**