

**แบบคำร้องขอรับการพิจารณาความปลอดภัยทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ**

**มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา**

 **๑. ชื่อโครงการวิจัย**

๑.๑ ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย) การโคลน หาลำดับเบส และการแสดงออกของยีน ampG ของ *Pseodomonas aeruginosa* ใน *Escherichia coli*

๑.๒ ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาอังกฤษ) Cloning, nucleotide sequence, and expression in *Escherichia coli* of the ampG genes of *Pseudomonas aeruginosa*

**๒. คณะผู้วิจัย**

๒.๑ หัวหน้าโครงการวิจัย

ชื่อ – สกุล นายสวัสดี ครับผมตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์

หน่วยงานที่สังกัด สาขาพืชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มทร.ล้านนา ลำปาง

โทรศัพท์ 01-123-5678E-mail: abcdef@rmutl.ac.th

ได้ผ่านการอบรมความปลอดภัยทางชีวภาพมาก่อนหรือไม่

☑ ผ่านการอบรมมาแล้ว □ ยังไม่เคยผ่านการอบรม

๒.๒ ผู้ร่วมวิจัย

(๑) ชื่อ – สกุล ดร. จอห์น ทราโวต้า ตำแหน่งทางวิชาการ ศาสตราจารย์

หน่วยงานที่สังกัด สาขาสัตวศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มทร.ล้านนา ลำปาง

โทรศัพท์ 02-345-6789E-mail: abcdefgh@rmutl.ac.th

ได้ผ่านการอบรมความปลอดภัยทางชีวภาพมาก่อนหรือไม่

☑ ผ่านการอบรมมาแล้ว □ ยังไม่เคยผ่านการอบรม

(๒) ชื่อ – สกุล............................................. ตำแหน่งทางวิชาการ......................................

หน่วยงานที่สังกัด………………………………………..…………………….…………………………….……..……

โทรศัพท์............................................ E-mail…………………………………….…………………...…..…..

ได้ผ่านการอบรมความปลอดภัยทางชีวภาพมาก่อนหรือไม่

☑ ผ่านการอบรมมาแล้ว □ ยังไม่เคยผ่านการอบรม

**๓. แหล่งทุนสนับสนุนโครงการวิจัย**

□ ๓.๑ งบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ พ.ศ. ......................จำนวนเงิน....................................บาท

□ ๓.๒ งบประมาณเงินรายได้ส่วนงาน..................................................................... มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี ราชมงคลล้านนา 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 งบส่วนตัว

 จำนวนเงิน 2,000,000 บาท

**๔. ระยะเวลาของการดำเนินโครงการวิจัย**

๔.๑ ระยะเวลาทั้งหมดตลอดโครงการจานวน **3** ปี - เดือน -วัน

๔.๒ คาดว่าจะเริ่มโครงการวิจัย วันที่................. เดือน......................................... พ.ศ. ..................

๔.๓ ระยะเวลาที่คาดว่าจะเริ่มเก็บข้อมูล หรือทาการทดลองกับกลุ่มตัวอย่าง

 วันที่........ เดือน...................... พ.ศ. ............... ถึง วันที่........ เดือน.......................... พ.ศ. ...............

๔.๔ คาดว่าโครงการวิจัยจะแล้วเสร็จหรือปิดโครงการวิจัย วันที่........ เดือน....................... พ.ศ. ............

**๕. ที่มาและความสำคัญของปัญหาโดยสังเขป**

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

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

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

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

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

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

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

**๖. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย**

เพื่อศึกษาการแสดงออกของ ampG ของ *Pseudomonas aeruginosa* ในเซลล์เจ้าบ้าน *E. coli*

**๗. วิธีดำเนินการวิจัยโดยสังเขป (โปรดแนบสำเนาโครงการวิจัย)**

๗.๑ ออกแบบ Probe ที่ติดฉลากด้วย P-32 เพื่อจับกับส่วนของ DNA ในส่วนที่ encode การสร้าง ampG 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 ประเภทสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการทาวิจัย

☑จุลินทรีย์

□ พืช

□ สัตว์

□ เซลล์มนุษย์หรือเซลล์สัตว์

□ สารพิษที่ผลิตโดยสิ่งมีชีวิต

□ อื่นๆ โปรดระบุ…………………………………………………………………………..

* สำหรับโครงการที่มีการใช้**เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่หรือพันธุวิศวกรรม** ให้ระบุข้อมูลเพิ่มเติมใน**หัวข้อที่ ๙**
* สำหรับโครงการที่มีการใช้**จุลินทรีย์ที่ไม่ดัดแปลงพันธุกรรม** ให้ระบุข้อมูลเพิ่มเติมใน**หัวข้อที่ ๑๐**
* สำหรับโครงการที่มีการใช้**เซลล์มนุษย์หรือเซลล์สัตว์ (cell culture) ที่ไม่ได้ใช้เทคนิคทางเทคโนโลยี ชีวภาพสมัยใหม่หรือพันธุวิศวกรรม** ให้ระบุข้อมูลเพิ่มเติมใน**หัวข้อที่ ๑๑**
* สำหรับโครงการที่มีการใช้**สารพิษที่ผลิตโดยสิ่งมีชีวิต ที่ไม่ได้ใช้เทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่หรือพันธุวิศวกรรม** ให้ระบุข้อมูลเพิ่มเติมใน**หัวข้อที่ ๑๒**

 ๘.๒ ประเภทของกลุ่มงานวิจัย

 □ ประเภทที่ ๑ (ขอยกเว้น)

 ☑ ประเภทที่ ๒ (ขอประเมินโดย RMUTL-IBC)

 □ ประเภทที่ ๓ (ขอประเมินโดย TBC ซึ่งเป็นคณะกรรมการภายนอกมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา)

โปรดระบุข้อมูลจำเพาะ

**๙. โครงการที่มีการใช้เทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่หรือพันธุวิศวกรรม GMOs**

๙.๑ รายละเอียดการแสดงออกของยีนที่เกิด (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 ๒. enhancer ๓. gene ๔. terminator ๕. selectable marker gene(s)  | ***Tryptophan promoter*****-****ampG gene****-****tetracyclin** | **-****-****-****-****-** |

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

๙.๒ ชิ้นส่วนของสารพันธุกรรมที่ใช้ในการถ่ายโอน (recombinant insert)

๙.๒.๑ แหล่งและลำดับเบสของ DNA / RNA (ระบุชื่อจีนัส สปีชีส์ ชื่อยีน และ GenBank Acc. No.)

ampG gene from *Pseudomonas aeruginosa* strain PA103

๙.๒.๒ บทบาทและผลผลิตจากยีนหรือลำดับเบสที่ใช้

ampG เป็นยีนที่สร้างสารต่อต้านยาปฏิชีวนะชนิดที่หลั่งออกสู่ภายนอก

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/หรือชนิดของโปรตีน

หรือพิษ (ระบุชื่อไวรัสและการเกิดโรคหรือพิษภัย)

ไม่มี

๙.๔. วิธีการส่งถ่ายยีน (gene transfer method)

Transformation by CaCl2 ร่วมกับเทคนิค heat shock

**๑๐. โครงการที่มีการใช้จุลินทรีย์ที่ไม่ดัดแปลงพันธุกรรม Non-GMOs**

๑๐.๑ จุลินทรีย์

□ แบคทีเรีย

□ ไวรัส

□ รา

□ ยีสต์

□ โปรโตซัว

□ อื่นๆ

๑๐.๒ ชื่อ (จีนัส สปีชีส์ สเตรน) โปรดระบุ ……………………………......……............................………………...

□ ก่อให้เกิดโรค

□ คน

□ พืช

□ สัตว์

ช่องทางการแพร่ระบาด

□ ทางเดินหายใจ

□ อาหาร

□ อื่นๆ ระบุ ……………............…………..

□ ไม่ก่อให้เกิดโรค

๑๐.๓ การเพิ่มจำนวน

□ มีการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

□ มีการนำเข้ามาใช้ในห้องปฏิบัติการ

□ 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 315 อาคารปฏิบัติการกลาง มทร.ล้านนา ลำปาง……………

 สถานที่ทำการทดลอง BSL 3 ..............................................................................................................................

 สถานที่ทำการทดลอง BSL 4 ...............................................................................................................................

**๑๔. รายละเอียดการดูแลความปลอดภัยทางชีวภาพ**

 ๑๔.๑ วิธีการจัดการเครื่องมือ/ อุปกรณ์ โปรดระบุ

- เช่น ติด Bio-hazard sign บนอุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้

- เช่น Disinfection ก่อนและหลังทำการทดลองบนพื้นผิวโต๊ะปฏิบัติการ

- เช่นมี Autoclave อุปกรณ์และเครื่องแก้วก่อนและหลังการใช้งาน

- เช่น มีเครื่อง biosafety cabinet

 ๑๔.๒ วิธีการป้องกันการหลุดรอด โปรดระบุ

- เช่น มีการเตรียมน้ำยาฆ่าเชื้อ disinfectant ในบริเวณปฏิบัติงาน เมื่อเกิดเหตุไม่คาดคิดสามารถนำมาใช้ได้อย่างทันที

- เช่น มีเครื่องป้องกันการฟุ้งกระจายของสาร

- เช่น มีระบบการเข้าถึงตัวอย่างสารพิษ เช่น การจำกัดคนที่จะเข้าถึงตู้เย็น -70 °C

- เช่น มีระบบในการแจ้งผู้เกี่ยวข้อง เช่น หัวหน้าห้องปฏิบัติการ คณะกรรมการ IBC เมื่อเกิดเหตุที่ไม่คาดคิดขึ้น เช่น การหลุดรอดของสารพิษจากห้องปฏิบัติการ

 ๑๔.๓ วิธีการกำจัดสิ่งมีชีวิตและสิ่งปฏิกูล โปรดระบุ

- เช่น ทำการฆ่าเชื้อด้วยวิธี autoclave ก่อนทิ้ง

- เช่น มีการแยกขยะอย่างชัดเจน เช่น อุปกรณ์หรือวัสดุติดเชื้อจะถูกจัดเก็บไว้ในถุงแดง ซึ่งเป็นสัญลักษณ์สากล เพื่อนำไปกำจัดอย่างถูกวิธีต่อไป

- เช่น แยกขยะของมีคม และเครื่องแก้วที่แตกหัก

 ลงชื่อ ......................................................... ลงชื่อ ....................................................

 (........................................................) (.....................................................)

หัวหน้าโครงการ รองคณบดีคณะ...../ผู้อำนวยการกองการศึกษา

วันที่…......./....………………./…………. วันที่…......../....……….…./…….…….

สำหรับงานประเภทที่ ๑

RMUTL-IBC พิจารณายกเว้นการประเมินแล้ว

 เห็นชอบ  ไม่เห็นชอบ เนื่องจาก ..........................................................................................

 เห็นชอบโดยมีข้อสังเกต ..............................................................................................................................................

 ข้อเสนอแนะอื่นๆ ........................................................................................................................................................

ลงชื่อ ......................................................

(.....................................................)

ประธาน RMUTL-IBC

วันที่…......./....………………./………….

สำหรับงานประเภทที่ ๒

RMUTL-IBC พิจารณาประเมิน

 เห็นชอบ  ไม่เห็นชอบ เนื่องจาก ..........................................................................................

 เห็นชอบโดยมีข้อสังเกต ..............................................................................................................................................

 ข้อเสนอแนะอื่นๆ ........................................................................................................................................................

ลงชื่อ ......................................................

(.....................................................)

ประธาน RMUTL-IBC

วันที่…......./....………………./………….

สำหรับงานวิจัยประเภทที่ ๓ และ ๔

 เห็นชอบ  ไม่เห็นชอบ เนื่องจาก ..........................................................................................

 เห็นชอบโดยมีข้อสังเกต ..............................................................................................................................................

 ข้อเสนอแนะอื่นๆ ........................................................................................................................................................

ลงชื่อ ......................................................

(.....................................................)

ประธาน RMUTL-IBC

วันที่…......./....………………./………….