การเตรียมปฏิบัติการเพื่อแก้ปัญหาการเรียนการสอนวิชา "เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์"

นงนุช เอื้อวงศ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ จังหวัดนครปฐม

การเตรียมปฏิบัติการเพื่อแก้ปัญหาการเรียนการสอน วิชา “เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์”

นงนุช เอื้อวงศ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ จังหวัดนครปฐม

คำนำ

ในการจัดเตรียมปฏิบัติการเพื่อใช้ในการเรียนการสอนในวิชา “เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์” มักมีปัญหาเกิดขึ้นมากมาย ซึ่งในหนังสือเล่มนี้ได้เขียนถึงปัญหาการจัดเตรียมปฏิบัติการและเทคนิคการใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์ที่จำเป็นมาพอสังเขป เพื่อที่ผู้อ่านสามารถนำไปใช้หรือเพื่อแก้ไขปัญหาในห้องปฏิบัติการได้ไม่มากก็น้อย

ดังนั้นผู้เขียนจึงหวังว่าเอกสารเล่มนี้จะประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจ และสามารถเป็นเอกสารประกอบการเรียน และการทำปฏิบัติการในรายวิชาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์ได้ไม่มากก็น้อย

นงนุช เอื้อวงศ์

สิงหาคม 2555

สารบัญ

บทที่		หน้า
1	บทนำ	1
2	วัสดุอุปกรณ์พื้นฐานและเครื่องมือที่เกี่ยวข้อง	2
3	การดูแลห้องปฏิบัติการให้ปลอดเชื้อ	46
4	ปัญหาและวิธีแก้ปัญหาในห้องปฏิบัติการ	53
	บรรณานุกรม	56
	ภาคผนวก	58

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	Autoclave รุ่น ASTELL/AMA 2605	4
2	แสดงสวิตซ์เปิด-ปิดของเครื่อง autoclave	5
3	แสดงมือจับประตูเครื่อง autoclave	5
4	หน้าจอแสดงผลการล็อคประตูเครื่อง autoclave	5
5	แสดงปุ่มการทำงาน F1 F2 และ F3	6
6	แสดงตำแหน่งการเปิดน้ำทิ้ง	6
7	Hot air oven (Termaks)	7
8	SC2 CLASS II Biohazard safety cabinet (ESCO)	9
9	แสดงแผงควบคุม	9
10	แสดงตำแหน่ง Sash Window	10
11	แสดงตำแหน่งของวาล์วของตู้บ่มบรรยากาศคาร์บอนไดออกไซด์	15
12	CO_2 Incubator NUAIRE IR AUTOFLOW	15
13	แสดงแผงหน้าปัดแสดงสถานะการทำงานของเครื่อง	16
14	HARRIER 18/80 Bench Top Refrigerated Centrifuge (SANYO)	18
15	Display แสดงสถานะการทำงานของเครื่อง	19
16	แสดงแผงหน้าปัดเครื่อง Centrifuge	20
17	แสดงปุ่มสลักฝาครอบเครื่อง	21
18	แสดงวิธีการสวม tip เข้ากับไมโครปิเปต	23
19	แสดงขั้นตอนการใช้ไมโครปิเปต	24
20	แสดงวิธีการสวมปิเปตเข้ากับ pipette aid	24
21	Pipette Aid	24
22	Water bath (Julabo)	25
23	แสดงแผงควบคุมการทำงานของเครื่อง Water bath (Julabo)	26
24	เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Sartorius)	28
25	Fume Hood (Wiwatsan Lab)	29
26	แสดงส่วนประกอบต่างๆของกล้องจุลทรรศน์	30

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
27	แสดงรายละเอียดบน objective lens	32
28	แสดงวิธีการยกกล้อง	32
29	แสดงปุ่มปิด-เปิดไฟ และปุ่มปรับแสงสว่าง	32
30	แสดงการนำตัวอย่างสไลด์วางบนแท่นวางวัตถุ ปุ่มปรับหยาบ-ละเอียด และปุ่มเลื่อนสไลด์ Y-X	33
31	แสดงการอ่านตำแหน่งจากสเกลแกน X และแกน Y	33
32	วิธีการปรับเลนส์ใกล้ตา	34
33	วิธีการปรับสายตาจากเลนส์ใกล้ตา	34
34	วิธีการปรับความคมชัดของภาพ	35
35	การปรับกำลังขยายให้สูงขึ้น	35
36	แสดงวิธีการหยด oil บนสไลด์	36
37	รายละเอียดของกล้อง Olympus CK30	37
38	แสดงปุ่มเปิด-ปิด และปุ่มปรับแสง	38
39	การปรับระยะห่างระหว่างตา	38
40	การปรับสายตาของเลนส์ใกล้ตา	38
41	การปรับรูรับแสง	39
42	การใช้ phase contrast	39
43	การเพิ่ม phase contrast	39
44	Micro plate Reader	40
45	การนำปิเปตแช่ในกระบอก	48
46	แสดงการเตรียมปิเปตใส่ในกระบอกตวง	50
47	บล็อคเสียบ key UV	51

กิตติกรรมประกาศ

การเขียนหนังสือครั้งนี้จะสำเร็จลุล่วงไม่ได้ถ้าหากไม่ได้แรงใจในการเขียนจากบุคคลดังต่อไปนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.เรณูเวชรัชต์พิมล ที่กรุณาให้คำแนะนำต่างๆ อีกทั้งยังสนับสนุนในการเขียนหนังสือ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตรจารย์วิมล ขวัญเกี้ และผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร.สุพรรณญิกา เส็งสาย ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการเขียนพร้อมทั้งตรวจแก้ไขหนังสือเล่มนี้พร้อมทั้งให้กำลังใจและสนับสนุนในการเขียนหนังสือในครั้งนี้ตลอดมา

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ คุณวิบูลย์ เอื้อวงศ์ พี่ๆ และเพื่อนๆน้องๆทุกคน ขอบคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากรทุกท่าน ที่คอยเป็นกำลังใจในการเขียนหนังสือได้สำเร็จลุล่วงด้วยดีตลอดมา

บทที่ 1
บทนำ

ปฏิบัติการการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์เป็นส่วนหนึ่งของเนื้อหาวิชาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์ โดยมีวัตถุประสงค์ให้นักศึกษาได้เรียนรู้จากประสบการณ์ตรง เพื่อความเข้าใจและมีทักษะที่ถูกต้องตามหลักสากลนิยม เนื้อหาของปฏิบัติการประกอบด้วยเครื่องมือและเทคนิคการใช้งาน การนับจำนวนและการเจริญของเซลล์ เทคนิคการโคลน การเก็บรักษาเซลล์แช่แข็งและการนำกลับมาเลี้ยง การตรวจสอบคุณภาพซีรัม การเลี้ยงเซลล์จากเอ็มบริโอ การทำแคริโอไทป์จากเซลล์เพาะเลี้ยง การกลายพันธุ์ การตรวจสอบความเป็นพิษของสารเคมีต่อเซลล์และการผลิตโมโนโคนอลแอนติบอดี

งานด้านการเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นงานที่ต้องการความละเอียดรอบคอบความเอาใจใส่ และการช่างสังเกตจากผู้เรียน โดยผลงานที่ดีจะเกิดจากความถูกต้องเที่ยงตรงและมีสภาพปลอดเชื้อ ดังนั้นผู้ช่วยเตรียมปฏิบัติการและผู้ช่วยสอนจึงมีความจำเป็นที่จะต้องเรียนรู้ทุกขั้นตอนอย่างเข้าใจ ฝึกปฏิบัติได้อย่างชำนาญ มองเห็นถึงปัญหาและสามารถคาดการณ์ล่วงหน้าได้อย่างถูกต้องชัดเจน ทั้งนี้เพื่อให้เกิดการเรียนการสอนได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดซึ่งจะเอื้อประโยชน์ต่อการประหยัดทั้งเวลาของผู้สอน ประหยัดค่าใช้จ่ายสำหรับวัสดุที่มีราคาแพงที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์และรวมถึงค่าอุปโภคซึ่งเป็นค่าใช้จ่ายพื้นฐานสำหรับการทำปฏิบัติการ

ในเอกสารเล่มนี้ผู้เขียนได้เรียบเรียงจากประสบการณ์ที่ทำหน้าที่เป็นผู้ช่วยสอนและผู้เตรียมปฏิบัติการมาเป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 10 ปี โดยได้ให้รายละเอียดของอุปกรณ์และเครื่องมือที่จำเป็นต้องใช้ในงานเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์ ข้อผิดพลาดหรือปัญหาที่มักพบบ่อยๆ อยู่เสมอ และข้อเสนอแนะในการแก้ไขที่เป็นประโยชน์เพื่อให้การเรียนการสอนวิชาปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์บรรลุวัตถุประสงค์โดยสมบูรณ์

การเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์นั้นมีเครื่องมือและอุปกรณ์ที่จำเป็นมากมาย และปัญหาที่มักพบบ่อยๆ ในการทำปฏิบัติการก็คือ นักศึกษามักใช้เครื่องมือไม่ถูกต้องจึงทำให้เกิดความเสียหายกับเครื่องมืออุปกรณ์ การอบนึ่งฆ่าเชื้อวัสดุที่ใช้ในปฏิบัติการมักพบปัญหาการหลอมละลายของพลาสติก ซึ่งนักศึกษาไม่ทราบว่าพลาสติกประเภทใดสามารถเข้า autoclave ได้ หรือประเภทใดที่ไม่สามารถเข้า autoclave ได้ การใช้ micropipette ผิดวิธี จึงทำให้การดูดสารละลายได้ปริมาตรไม่ถูกต้อง และการเลือกใช้วัสดุไม่เหมาะสมกับงานที่ทำหรือเลือกใช้วัสดุผิดประเภทเนื่องจากนักศึกษาไม่ได้ศึกษาปฏิบัติการมาก่อนล่วงหน้า ดังนั้นในการทำปฏิบัติการนี้ที่สำคัญนักศึกษาควรอ่านปฏิบัติการมาล่วงหน้าเพื่อจะได้มีพื้นฐานความรู้ก่อนเข้าทำปฏิบัติการ เมื่อเข้าชั้นเรียนลงปฏิบัติการจะสามารถซักถามผู้สอนหรือผู้คุมปฏิบัติการได้และจะทำให้การทำปฏิบัติการไม่ก่อให้เกิดข้อผิดพลาดและความเสียหาตามมา

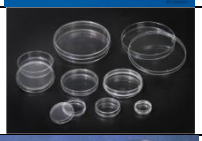
บทที่ 2
วัสดุอุปกรณ์พื้นฐานและเครื่องมือที่เกี่ยวข้อง

ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์มีวัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือที่จำเป็นจำนวนมากและวัสดุอุปกรณ์บางอย่างที่นำมาใช้นั้นเป็นวัสดุสิ้นเปลือง ใช้ครั้งเดียวแล้วทิ้งเนื่องจากเป็นงานทดลองที่ต้องปลอดเชื้อ ซึ่งผู้ที่ใช้งานจะต้องเลือกวัสดุอุปกรณ์ที่นำมาใช้ให้เหมาะสมและถูกประเภทกับการทำปฏิบัติการเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด ดังนั้นผู้ที่เริ่มทำปฏิบัติการในครั้งแรกควรศึกษาเรียนรู้ถึงคุณสมบัติและลักษณะการใช้งานของวัสดุเหล่านี้ เนื่องจากวัสดุที่ใช้ในงานเลี้ยงเซลล์นั้นมีราคาค่อนข้างสูง เช่น cuture plate ที่ใช้กันทั่วๆไปนั้นมีหลายขนาดมีเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 35, 60, 90, 100 และ 145 มม. หรืออาจเป็นลักษณะ well plate ซึ่งจะมีตั้งแต่ 4, 6, 24 และ 96 well แต่ที่นิยมใช้งานกันโดยทั่วไปมักจะเป็น 24 และ 96 well (ตารางที่ 1)

สำหรับงานเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ต้องการใช้เซลล์ในปริมาณมากๆ ก็ควรเลือก Tissue culture boottles มาใช้งานเพราะมีพื้นที่ให้เซลล์เกาะที่พื้นผิวมากซึ่งขวดเลี้ยงเซลล์จะมีหลายขนาดให้เลือกใช้ เช่น 25, 75 และ 125 ตารางเซนติเมตรเป็นต้น ดังนั้นก่อนจะเลือกมาใช้งานควรคำนึงถึงงานที่ทำอยู่ว่าต้องการปริมาณเซลล์มากน้อยเพียงใดเพื่อจะได้ใช้วัสดุและอุปกรณ์ได้อย่างเกิดประโยชน์อย่างคุมค่าที่สุด

ตารางที่ 1 วัสดุและอุปกรณ์พื้นฐานสำหรับงานเลี้ยงเซลล์

ชื่อวัสดุและอุปกรณ์	ลักษณะ
Tissue culture bottles	
Leighton tubes	
Centrifuge tube	
96 well plates	
24 well plates	

ชื่อวัสดุและอุปกรณ์	ลักษณะ
Multi-function centrifuge tubes racks	
Floating micro tube racks	
96-well micro tip	
Cell culture plastic dishes	
Spinbar magnetic stir bars	
0.5 ml. Skirted screw cap micro tubes	
eppendorf	
Micro pipette	
Pipette	
Pipette aids	

ในปฏิบัติการนี้ต้องการให้นักศึกษาสามารถใช้เครื่องมือพื้นฐานในการทำปฏิบัติการได้อย่างถูกต้องซึ่งมีเครื่องมือหลากหลายประเภทที่นักศึกษาจำเป็นต้องใช้ให้ถูกต้อง เช่น ตู้เลี้ยงเซลล์

บรรยากาศคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 Incubator) หม้อนึ่งความดันไอร้อน (Autoclave) กล้องจุลทรรศน์ ไมโครปิเปต (Micro pipette) เครื่องอบด้วยความร้อน (Hot air oven) ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow) เป็นต้น ซึ่งผู้ที่ไม่มีพื้นฐานการใช้เครื่องมือมาก่อนควรได้รับการฝึกให้คุนเคยก่อนใช้จริงซึ่งสามารถศึกษาจากคู่มือหรือขอคำแนะนำจากผู้คุมปฏิบัติการ ซึ่งข้อจำกัดของเครื่องมือแต่ละประเภทมีข้อจำกัดของการใช้งานที่แตกต่างกัน

1. หม้อนึ่งความดันไอร้อน (Autoclave)

รูปที่ 1 Autoclave รุ่น ASTELL/AMA 2605

หลักการทำงานของเครื่อง

หลักการของการนึ่งด้วยไอน้ำร้อนแรงดันสูงคือ การนำสิ่งของที่ต้องการทำให้ปราศจากเชื้อมานึ่งด้วยความร้อนสูง และแรงดันของไอน้ำสูงกว่าสภาวะบรรยากาศปกติในช่วงระยะเวลาหนึ่ง การนึ่งฆ่าเชื้อโดยทั่วไปจะใช้สภาวะที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว โดยใช้ระยะเวลาในการนึ่ง 15 นาที หากใช้อุณหภูมิสูงมากๆ และแรงดันไอน้ำมากกว่า 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อาจจะมีผลเสียต่ออุปกรณ์ที่เป็นโลหะ เพราะอุณหภูมิที่สูงมากเกินจะทำให้เนื้อโลหะมีคุณสมบัติเปลี่ยนไปและมีอายุการใช้งานสั้นลง รวมทั้งแรงดันไอน้ำที่สูงเกินไปอาจทำให้ผิวโลหะเป็นสนิมและสึกกร่อนได้ (ถึงแม้จะใช้ระยะเวลาที่สั้นก็ตาม) ระยะเวลาในการนึ่งตามที่ได้กล่าวถึงนี้ เป็นเวลาที่เครื่องนึ่งแรงดันสูงเริ่มทำงานเมื่ออุณหภูมิถึงระดับที่กำหนด ไม่รวมระยะเวลาในการเตรียมเครื่องนึ่งให้มีอุณหภูมิและแรงดันตามที่ตั้งไว้

วิธีการใช้เครื่องหม้อนึ่งความดันไอร้อน

1. ตรวจดูระดับน้ำให้ถึงระดับแกนลวดที่เป็นเซนเซอร์วัดระดับน้ำภายในเครื่อง และน้ำที่ใส่ลงไปในเครื่องควรเติมด้วยน้ำกรองหรือน้ำกลั่นเท่านั้น

2. เปิดสวิตซ์ไปที่ตำแหน่ง I (รูปที่ 2)ไฟที่ปุ่มแผงหน้าปัดจะปรากฏขึ้น Power จะติดสีเขียวที่หน้าปัดจะขึ้นคำว่า Astell และอื่นๆ จนถึงคำว่า Power Interrupted ⟶ Press Start จากนั้นให้กดปุ่ม Start ⟶ บนหน้าปัดเครื่องจะปรากฏคำว่า Un-locked ⟶ Please locked chamber

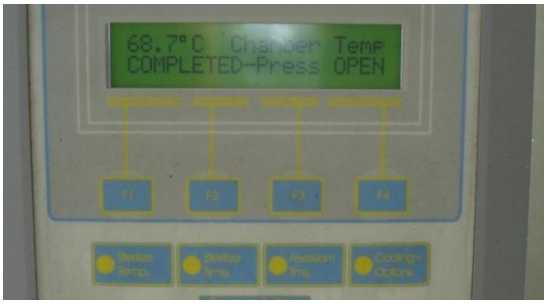
รูปที่ 2 แสดงสวิตซ์เปิด-ปิดของเครื่อง autoclave

3. ปิดฝาเครื่องให้สนิท โดยการโยกมือจับสีเหลืองเข้าไปให้สนิท (รูปที่ 3) ซึ่งเมื่อดันมือจับเข้าไปแล้วจะมีเสียงดังคลิก ไฟที่หน้าจอแสดงผลจะปรากฏเป็นสีส้ม Locked (รูปที่ 4) และหน้าปัดจะปรากฏคำว่า Sterilize 121 ^{O}C 15 M Or Select & Change จนถึงคำว่า Please start or open

รูปที่ 3 แสดงมือจับประตูเครื่อง autoclave

รูปที่ 4 หน้าจอแสดงผลการล็อคประตูเครื่อง autoclave

4. หากต้องการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เวลา และเวลาในการไล่อากาศออกจาก chamber ให้กดปุ่ม F1 เป็นปุ่มสำหรับการเพิ่มค่าต่างๆ F2 เป็นปุ่มสำหรับลดค่าต่างๆ F3 เป็นปุ่ม Enter เพื่อยืนยันค่าที่ต้องการ (รูปที่ 5) ถ้าไม่ต้องการเปลี่ยนแปลงการทำงานให้กดปุ่ม Start เครื่องจะปรากฏ Start-Delay Hour on และอื่นๆ จนถึงคำว่า Cycle Start



รูปที่ 5 แสดงปุ่มการทำงาน F1 F2 และ F3

5. ในระหว่างที่เครื่องกำลังทำงานจะมีการพิมพ์ข้อมูลเกี่ยวกับการทำงานของเครื่องและที่หน้าจอจะปรากฏค่าของอุณหภูมิภายใน chamber และคำว่า Heating to Stem

6. เมื่อเครื่องทำงานจนครบเวลาที่กำหนดแล้วจะมีเสียงดังเตือนและแสดงคำว่า Complete press open ให้กดปุ่ม Door เครื่องจะทำการหน่วงเวลาและจะปรากฏคำว่า Door Safety Delay 30 Second เมื่อครบกำหนด 30 วินาทีแล้วประตูที่ lock จะปลดออกสามารถเปิดฝา chamber ได้ และต้องเปิดฝาภายในเวลา 10 วินาที หากไม่เปิดฝาเครื่องภายใน 10 วินาทีเครื่องจะทำการ lock ใหม่อีกครั้ง และจะต้องกดปุ่ม Door ใหม่ เพื่อเริ่มกระบวนการปลด lock ใหม่อีกครั้ง

7. หลังจากนั้นให้นำของออกจากเครื่อง

8. ปิดสวิตซ์ไปที่ O และปล่อยน้ำในเครื่องทิ้ง

9. หลังจากใช้งานเสร็จแล้วให้ลงบันทึกการใช้งานทุกครั้ง เพื่อจะได้ทราบข้อมูลการทำงานเครื่องว่ายังสามารถใช้งานได้ตามปกติหรือไม่ หากพบว่าเครื่องทำงานไม่เป็นไปตามปกติให้แจ้งช่างซ่อมบำรุงเพื่อจะได้ดำเนินการซ่อมแซมตามอาการที่เกิดขึ้น

10. การตรวจเช็คเครื่องและการซ่อมบำรุงนั้นจะมีการตรวจเช็คปีละครั้งหรือดูตามสภาพการใช้งานมากหรือน้อย และซ่อมบำรุงตามระยะเวลา

ข้อควรระวังและการดูแลรักษาเครื่อง

1. ตรวจดูน้ำใน Chamber ให้อยู่ในระดับเซนเซอร์ ถ้าหากเห็นว่าน้ำสกปรกควรเปลี่ยนน้ำใหม่โดยการเปิดน้ำทิ้งที่บริเวณหลังเครื่อง (รูปที่ 6) ให้ผลักวาล์วขนานกับท่อปล่อยน้ำทิ้ง

รูปที่ 6 แสดงตำแหน่งการเปิดน้ำทิ้ง

2. ถ้าเครื่องทำงานไม่เสร็จกระบวนการ ไม่สามารถเปิดเครื่องได้จนกว่าจะให้เครื่องทำงานจนเสร็จ

3. หากสังเกตเห็นการทำงานของเครื่องผิดปกติให้แจ้งซ่อม

2. ตู้อบความร้อนแห้ง (Hot air oven)

ตู้อบความร้อนแห้ง (Hot air oven) สามารถทำไร้เชื้อสำหรับอุปกรณ์ที่สามารถทนความร้อนสูงได้เท่านั้น เช่น เครื่องแก้วหรือโลหะ โดยปกติมักใช้อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง เนื่องจากความร้อนแห้งมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้น้อยกว่าหม้อนึ่งแรงดันไอร้อน

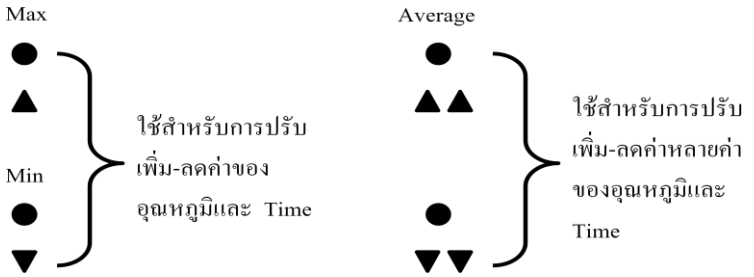
รูปที่ 7 Hot air oven (Termaks)

วิธีการใช้เครื่อง

1. นำวัสดุอุปกรณ์ที่เป็นเครื่องแก้วใส่เข้าไปในตู้และปิดประตูตู้ให้สนิท

2. กดปุ่ม power ไฟที่ปุ่ม Temp°C จะปรากฏเป็นสีแดงขึ้น และจะแสดงค่าของอุณหภูมิตู้ในขณะนั้น

3. กดตั้งอุณหภูมิโดยกดปุ่ม Select ให้ไฟที่ปุ่ม Temp°C ปรากฏสีแดงขึ้นแล้วกดปุ่ม Set ค้างไว้ พร้อมกับกดตั้งค่าของอุณหภูมิที่ต้องการโดยกดปุ่มดังนี้



4. เมื่อได้ค่าของอุณหภูมิที่ต้องการแล้วกดปุ่ม Set และปุ่ม Select พร้อมกันโดยจะต้องให้ไฟที่ปุ่ม Time, Temp และปุ่ม Heat แดงขึ้นพร้อมกัน และบิดปุ่ม Over heat safety มาให้เลยตัวเลขที่ทำให้ไฟแดงติด

5. การตั้งเวลาสามารถทำได้โดยกดปุ่ม Select ให้ไฟที่ปุ่ม Time ปรากฏสีแดงขึ้น และกดปุ่ม Set ค้างไว้พร้อมกับกดตั้งเวลาที่ต้องการโดยกดปุ่ม Max, Min หรือ Average เมื่อได้ค่าของเวลาแล้วกดปุ่ม Set และปุ่ม Select พร้อมกันโดยจะต้องให้ไฟที่ปุ่ม Time ปุ่ม Heat และปุ่ม Time on ปรากฏสีแดงขึ้นทั้ง 3 ปุ่ม

6. เมื่อเครื่องทำงานเสร็จแล้วจะมีไฟสีเขียวขึ้นที่ปุ่ม Cycle comp ถ้าต้องการระบายความร้อนออกจากตู้ให้เลื่อน Vale ที่ปุ่ม Air Valve มาที่เลข 10 ซึ่งเมื่อเริ่มเปิดเครื่องจะต้องเลื่อนมาไว้ที่เลขศูนย์เสมอ

7. หลังจากใช้งานเสร็จแล้วให้ลงบันทึกการใช้งานทุกครั้ง เพื่อจะได้ทราบข้อมูลการทำงานเครื่องว่ายังสามารถใช้งานได้ตามปกติหรือไม่ หากพบว่าเครื่องทำงานไม่เป็นไปตามปกติให้แจ้งช่างซ่อมบำรุงเพื่อจะได้ดำเนินการซ่อมแซมตามอาการที่เกิดกับเครื่อง

ข้อควรระวัง

1. ต้องปิดประตูเครื่องให้แน่นสนิททุกครั้ง เพื่อป้องกันความร้อนออกมาทำให้แผงวงจรซึ่งเป็นพลาสติกหลอมละลาย
2. เมื่อเครื่องทำงานจนครบเวลาที่ตั้งแล้วอุณหภูมิของเครื่องจะลดลงจนถึงอุณหภูมิห้องโดยอัตโนมัติถึงแม้จะไม่ได้ปิดปุ่ม Power
3. เมื่อเครื่องทำงานผิดปกติควรแจ้งซ่อม
4. ไม่ควรเปิดประตูตู้ hot air oven ในขณะที่เครื่องกำลังทำงานอยู่
5. เมื่อเครื่องทำงานเสร็จแล้วควรรอให้เครื่องแก้วมีอุณหภูมิลดลงก่อนแล้วจึงนำของออกจากตู้ได้

3. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)

ตู้ปลอดเชื้อเป็นอุปกรณ์ที่มีบริเวณการทำงานที่ปลอดเชื้อโดยในตู้จะมีตัวกรองหยาบและตัวกรองละเอียด เพื่อให้อากาศหมุนเวียนผ่านตัวกรอง โดยทั่วไปตู้ปลอดเชื้อจะมีการออกแบบเป็น 2 รูปแบบ คือ ป้องกันการปนเปื้อนเซลล์เพาะเลี้ยงจากผู้ทำงาน และป้องกันผู้ทำงานจากการติดเชื้อมาจากเซลล์ซึ่งในห้องปฏิบัติการที่มีใช้อยู่จะเป็นตู้ปลอดเชื้อประเภท class II ซึ่งเป็นแบบป้องกันผู้ใช้งานและป้องกันเซลล์เพาะเลี้ยง ดังนั้นในการใช้งานตู้ปลอดเชื้อผู้ใช้ต้องศึกษารายละเอียดวิธีการใช้ให้ถูกต้องก่อนที่จะปฏิบัติจริงโดยสามารถศึกษารายละเอียดจากคู่มือหรือเจ้าหน้าที่ผู้ควบคุม เพื่อฝึกปฏิบัติให้เกิดความชำนาญก่อนการทำงาน

ขั้นตอนการทำงานในตู้ปลอดเชื้อ

1. ทำความสะอาดภายในตู้ปลอดเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70% โดยเช็ดบริเวณพื้น ด้านข้างรอบๆตู้ทั่วพื้นที่ อย่าให้แอลกอฮอล์โดน HAPA filter เพราะจะทำให้ filter ตัน

2. เปิดแสง UV ก่อนการใช้งานอย่างน้อย 15 นาที

3. เมื่อครบเวลาเปิดฝาตู้ และเปิดไฟ

4. ผู้ที่ปฏิบัติงานในตู้ปลอดเชื้อจะต้องล้างมือให้สะอาด เช็ดให้แห้ง และฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70% ก่อนลงมือทำงานทุกครั้ง และในกรณีที่จำเป็นต้องทำงานกับสารอันตรายหรือเชื้ออันตรายจะต้องสวมถุงมือทุกครั้ง และควรหลีกเลี่ยวการสัมผัสกับสิ่งของภายนอกตู้

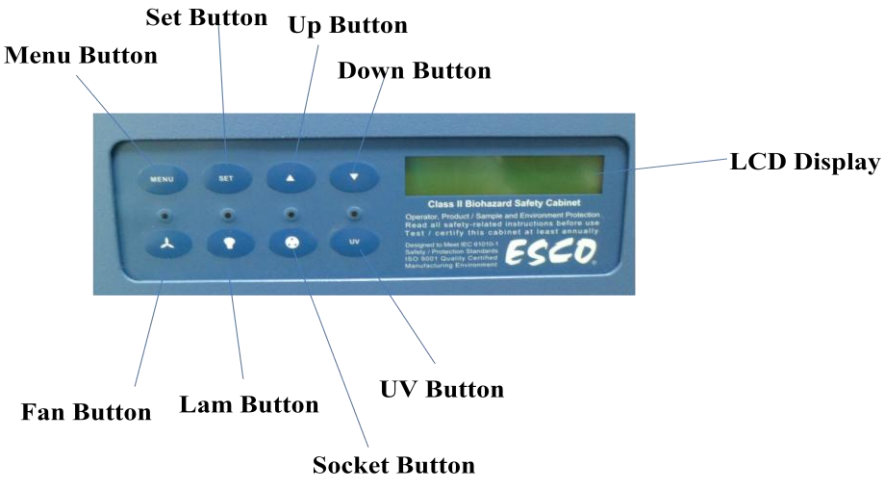
5. นำขวดเลี้ยงเซลล์ และอุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับใช้เท่านั้น โดยนำอุปกรณ์ทั้งหมดมาเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70% แล้วจึงนำเข้าไปในบริเวณพื้นที่ในตู้ปลอดเชื้อได้

6. ในขณะที่ทำงานในตู้ปลอดเชื้อให้ทำในพื้นที่ที่ลึกเข้าไปในตู้ อย่าทำบริเวณใกล้กับประตูตู้

วิธีการใช้งานตู้ปลอดเชื้อ

รูปที่ 8 SC2 CLASS II Biohazard safety cabinet (ESCO)

ระบบควบคุมการทำงานของเครื่อง



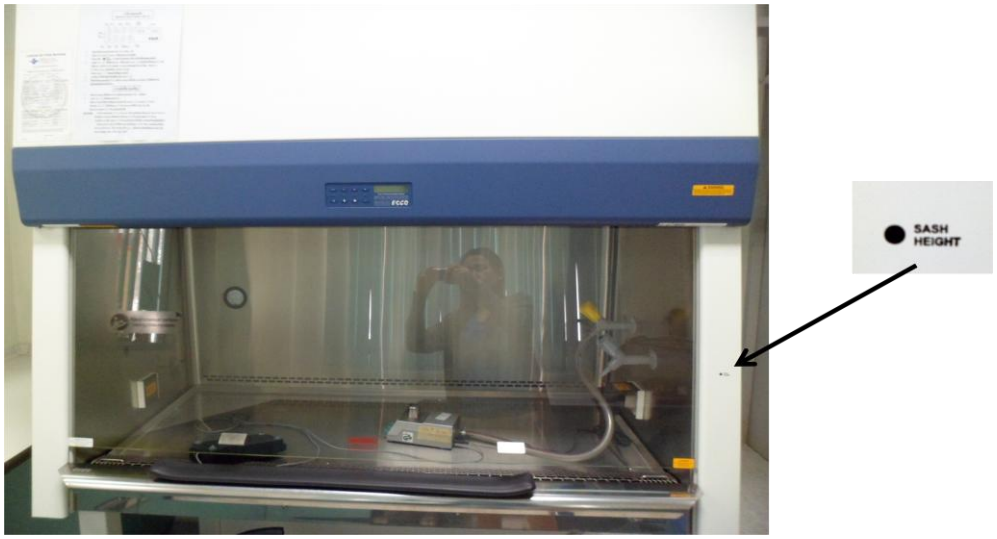
รูปที่ 9 แสดงแผงควบคุม

1. เสียบปลั๊กเข้ากับแหล่งจ่ายไฟ 220VAC/50Hz/1Ph

2. เลื่อนกระจก (Sash Window) ให้ขอบล่างตรงกับจุดสีดำด้านขวามือ

หากไม่ตรงตำแหน่งการใช้งานนี้จะมีเสียงสัญญาณเตือน (รูปที่ 10)

3. กดปุ่ม fan ให้พัดลมทำงาน เครื่องจะเริ่ม warm-up โดยอัตโนมัติเป็นเวลา 3 นาที เมื่อครบ 3 นาที จอ LCD จะแสดง Air Safe แล้วแสดงค่าความเร็วลม I (Inflow)/ D(Down flow) สลับกันไป และเวลา (Clock) จะเริ่มทำงาน



รูปที่ 10 แสดงตำแหน่ง Sash Window

4. กดปุ่ม Light เปิดหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์
5. หากต้องการใช้เต้าเสียบไฟภายในตู้ให้กดปุ่ม Socket Button
6. ใช้ผ้าก๊อตชุบแอลกอฮอล์ 70 % เช็ดทำความสะอาดพื้นที่ทำงานภายในตู้ รอให้พื้นที่ภายในตู้แห้งสนิทดีแล้วจึงเริ่มใช้งาน

การเลิกใช้งานเครื่อง

1. เช็ดทำความสะอาดพื้นที่ทำงานภายในตู้ด้วยแอลลกอฮอล์ 70% ระเหยให้แห้ง
2. กดปุ่ม fan ให้พัดลมหยุดทำงาน
3. เลื่อนกระจกลงมาให้สุด ไฟฟลูออเรสเซนต์จะดับ และจอ LCD จะแสดง UV Mode ให้กดปุ่ม UV เพื่อให้หลอด UV เริ่มทำงานตามเวลาที่ตั้งไว้ (เช่น 30 นาที) เมื่อครบเวลาหลอด UV จะดับเองโดยอัตโนมัติ

หมายเหตุ

- การทำงานของหลอด UV จะ Interlock กับตำแหน่งของระดับกระจก (Sash Window) ต้องเลื่อนกระจกลงมาให้สุดจึงจะเปิดหลอด UVได้ และขณะที่หลอด UV ทำงานหากเลื่อนกระจกขึ้น หลอด UV จะดับเองโดยอัตโนมัติเพื่อความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงาน

- ขณะทำงานควรระมัดระวังมิให้ของเหลวพุ่งขึ้นไปถูก ULPA Filter บนเพดานภายในตู้ เพราะจะทำให้ filter รั่วได้ และไม่ควรใช้ spray พ่นฉีดแอลกอฮอล์เช็ดทำความสะอาดตู้ เพราะอาจไปถูก filter ทำให้ filter รั่วได้

การเลือกเมนูการทำงานของเครื่อง

เมื่อเข้าสู่การเลือกเมนูจะมีเสียงเตือนให้ทราบว่าขณะนี้ไมโครโพรเซสเซอร์ไม่ได้เตือน (Monitor) การทำงานของเครื่องจะไม่เตือนเกี่ยวกับแรงลม (Airflow) หรือตำแหน่งกระจกด้านหน้า ในการเลือกเมนูต่างๆให้เลื่อนด้วยลูกศรเลื่อนขึ้น-ลง เพื่อเข้าไปยังเมนูต่างๆ ขอแนะนำให้ออกจากเมนูทุกครั้งหลังจากเข้าไปทำการเปลี่ยนแปลงภายในเมนูเพื่อป้องกันผู้ไม่มีหน้าที่เกี่ยวข้องเข้าไปในเมนู

วิธีการใช้เมนูต่างๆ

1. การตั้งนาฬิกา

- กด Set เพื่อเข้าสู่ Setting เมนู ใช้ปุ่มลูกศรเลื่อนขึ้น-ลง เพื่อเข้าสู่รายการที่ต้องการ
- กด Menu เพื่อย้อนกลับไปสู่ระดับก่อนหน้านี้

1.1 Set Clock (Time)

สามารถตั้งเวลาของวันเป็นชั่วโมง : นาที เวลาที่ถูกต้องนี้จะยังคงอยู่แม้จะปิดเครื่องก็ตาม

- กดปุ่ม Set เพื่อเข้าสู่ Set Time เมนู ตัวเลขชั่วโมงจะกระพริบ
- กดปุ่มลูกศรเลื่อนขึ้นหรือเลื่อนลง ตั้งตัวเลขชั่วโมง กด Set ตัวเลขนาทีจะกระพริบ
- กดปุ่มลูกศรเลื่อนขึ้นหรือเลื่อนลง ตั้งตัวเลขนาทีกด Set ยืนยัน

1.2 UV Timer

สามารถตั้งเวลาปิดหลอดยูวี โดยอัตโนมัติค่าที่เครื่องตั้งไว้ (default) คือ มิได้ตั้งเวลาไว้ต้องปิดหลอดยูวีเอง

- กดปุ่ม Set เพื่อเข้าสู่ UV Timer เมนู ตัวเลขชั่วโมงจะกระพริบ
- กดปุ่มลูกศรเลื่อนขึ้นหรือเลื่อนลง ตั้งตัวเลขชั่วโมง กด Set ตัวเลขนาทีจะกระพริบ
- กดปุ่มลูกศรเลื่อนขึ้นหรือเลื่อนลง ตั้งตัวเลขนาทีกด Set ยืนยัน

2. Calibration : ต้องทำโดยช่างที่ผ่านการอบรมแล้วเท่านั้น

- กดปุ่ม Set เพื่อเข้าสู่ Calibration เมนู กดปุ่มลูกศรเลื่อนขึ้นหรือลูกศรเลื่อนลงเพื่อเข้าสู่รายการที่ต้องการ

- กดปุ่ม Menu เพื่อย้อนกลับไปสู่ระดับก่อนหน้านี้

2.1 Set constant ดูรายละเอียดใน Microprocessor Calibration ของ Test Report

2.2 Zero sensor ดูรายละเอียดใน Microprocessor Calibration ของ Test Report

2.3 Calib sensor ดูรายละเอียดใน Microprocessor Calibration ของ Test Report

3. Administrator access and pin

- กด set เพื่อเข้าสู่ เมนู admin เมนู กดปุ่มลูกศรเลื่อนขึ้นหรือเลื่อนลงเพื่อเข้าสู่รายการที่ต้องการ
- กด Menu เพื่อย้อนกลับไปสู่ระดับก่อนหน้านี้

3.1 Reset Blower Hour Meter

ใช้สำหรับตั้งค่า Blower hour meter ใหม่ Blower hour meter จะบอกจำนวนชั่วโมงที่ต้องการทำงานของพัดลม (blower) ค่าสูงสุดคือ 9999 ชั่วโมง สามารถเช็คค่าได้จาก Maintenance mode

3.2 Reset UV Hour Meter

ใช้ตั้งค่า UV hour meter ใหม่หลังจากเปลี่ยนหลอด UV ใหม่ UV hour meter จะบอกจำนวนชั่วโมงการทำงานของหลอด UV ค่าสูงสุดคือ 9999 ชั่วโมง สามารถเช็คค่าได้จาก Maintenance mode

3.3 Reset Default

ใช้ตั้งค่าต่างๆให้กลับไปสู่ค่าที่เครื่องตั้งไว้ (default) ซึ่งได้แก่ Warm-Up period (3 นาที)

- กดปุ่ม set เพื่อเข้าสู่ Reset Default เมนู
- กดปุ่ม set เพื่อยืนยัน

4. Set Mode

- กดปุ่ม Set เพื่อเข้าสู่ Set Mode เมนู
- กดปุ่มลูกศรเลื่อนขึ้นหรือเลื่อนลง เพื่อเข้าสู่รายการที่ต้องการ
- กด Menu เพื่อย้อนกลับไปสู่ระดับก่อนหน้านี้

1.1 Normal Mode

เป็นค่าที่ตั้งไว้ (default)

1.2 Maintenance Mode

ต้องทำโดยช่างที่ผ่านการอบรมมาแล้วเท่านั้น ดูรายละเอียดใน Microprocessor Calibration ของ Test Report

การทำงานภายในเครื่อง

1. ผู้ใช้ควรปรับให้กระจกด้านหน้า (sash) อยู่ในตำแหน่งทำงานที่ถูกต้อง (Ready state) ไว้เสมอก่อนที่จะเริ่มทำงาน จอ LCD จะแสดงตัวเลขความเร็วลมไหลลง (D= Down flow velocity) และลมไหลเข้า (I = Inflow velocity) จะมีสัญญาณเตือน (sash alarm) ถ้าความเร็วลมไหลเข้าต่ำกว่าจุดปลอดภัยที่ตั้งค่าไว้ (fail point)

2. อย่าวางแขนหรือสิ่งของบดบังช่องลมเข้าด้านหน้าและช่องลมไหลย้อนกลับด้านหลัง (front and back airgrilles)

3. ให้ทำงานจากส่วนที่สะอาด (clean)ไปสู่ส่วนที่สกปรก (dirty) ตามที่จัดวางไว้แล้ว ให้ทำครั้งละ 1 อย่าง (specimen) และปิดฝา (recap) ก่อนที่จะไปทำตัวอย่างต่อไป (next specimen)

4. ให้ทำงานลึกเข้าไปในเครื่องเท่าที่จะทำได้ลึกอย่างน้อย 15 เซนติเมตร หรือ 6 นิ้ว ห่างจากช่องลมเข้าด้านหน้าเครื่อง จับหลอดและขวดที่ปิดฝาไว้ให้ดีอย่าให้หก ทิ้งหลอดและขวดเปล่าที่ใช้งานเสร็จลงในถุงเก็บสิ่งปนเปื้อนภายในเครื่องทันที

5. ให้ใช้ pipett aids ที่ใช้งานได้สะดวก ห้ามใช้ปากดูดปิเปตเป็นอันขาด

6. หากต้องการฆ่าเชื้อ streaking loops แนะนำให้ใช้ electrical incinerator

7. ควรเช็ดฆ่าเชื้อสิ่งของที่ปนเปื้อนก่อนนำออกจากเครื่อง ห้ามใช้เครื่องหากมีสัญญาณเตือน sash alarm หรือพัดลมไม่ทำงาน

8. ถ้าจำเป็นต้องนำสิ่งของเข้า-ออกจากเครื่องให้เคลื่อนย้ายช้าๆ โดยเคลื่อนแขนเข้าและออกอย่างช้าๆ ในแนวตั้งฉากกับระนาบของช่องเปิดด้านหน้าเพราะหากเคลื่อนไหวแบบเร็วๆ แบบโบกพัดไปมาจะรบกวนม่านอากาศด้านหน้าเครื่องและอาจทำให้สิ่งปนเปื้อนในเครื่องออกมาภายนอกได้ และต้องเช็ดฆ่าเชื้อก่อนเคลื่อนแขนออกจากเครื่องด้วย

9. Disinfectant detergent จะมีข้อดีของ detergent activity ซึ่งสำคัญเนื่องจาก extrageneous organic substance มักจะ interfere ต่อปฏิกิริยาระหว่างเชื้อโรค (micro organisms) กับ active agent ของน้ำยาฆ่าเชื้อ (decontaminant)

10. ควรเทน้ำยาฆ่าเชื้อให้ท่วมผิวหน้าของ work tray และ drain pan ใต้พื้นทำงานและรอ 10-15 นาที จึงเช็ดออกด้วยฟองน้ำหรือผ้าที่ชุบน้ำยาฆ่าเชื้อ

11. น้ำยาฆ่าเชื้อที่ส่วนพื้นของเครื่องให้ปล่อยทิ้งลงในภาชนะที่เหมาะสมแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่อสารปนเปื้อนถูกเช็ดทำความสะอาดแล้วจึงถอดถุงมือชั้นนอกออกแล้วสวมถุงมือคู่ใหม่แทนและรอให้เครื่องทำงานขจัดสิ่งปนเปื้อนต่อไปอีก 2-3 นาที และนำสิ่งปนเปื้อนต่างๆไปนึ่งฆ่าเชื้อ

12. เมื่อกระจกด้านหน้าถูกปิดสนิทควรปิดพัดลมเพื่อป้องกันการ overheat

การทำความสะอาดและการปิดเครื่อง

1. แนะนำว่าควรเปิดเครื่องไว้ให้ทำงานตลอดเวลาในขณะที่ทำความสะอาดตู้

2. ถ้าต้องการจะปิดเครื่องหลังจากทำงานเสร็จให้นำสิ่งปนเปื้อนต่างๆใส่ไว้ในถุงขยะอันตราย (biohazard bage) แล้วนำไปทิ้งให้ถูกต้องหรือนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนทิ้ง

3. เช็ดฆ่าเชื้อพื้นผิวของ/อุปกรณ์ต่างๆ ด้วย 70% Isopropyl Alcohol (IPA) แล้วจึงนำออกจากเครื่อง

4. เช็ดพื้นที่ทำงาน ผนังด้านข้าง ผนังด้านหลังและ drain pan ด้วยผ้าเช็ดสะอาด (clean wipes) แล้วตามด้วยน้ำและmild antibacterial detergent ห้ามใช้ disinfectant ที่มีส่วนประกอบของ chlorine-based substance

5. ล้าง detergent ออกด้วยน้ำ และเช็ดให้สะอาดจนไม่มี detergent หลงเหลืออยู่

6. เช็ดพื้นที่ทำงาน ผนังด้านข้าง ผนังด้านหลัง และ drain pan ด้วย 70% IPA หรือน้ำยาฆ่าเชื้อต่อไปนี้

6.1 พื้นผิวที่เป็นแสตนเลส:สามารถใช้น้ำยาฆ่าเชื้อทั่วไปที่ไม่มี chlorine เป็นส่วนผสม

6.2 พื้นผิวที่พ่นสีเคลือบไว้ : สามารถใช้น้ำยาฆ่าเชื้อทั่วไปได้และน้ำยาต่อไปนี้

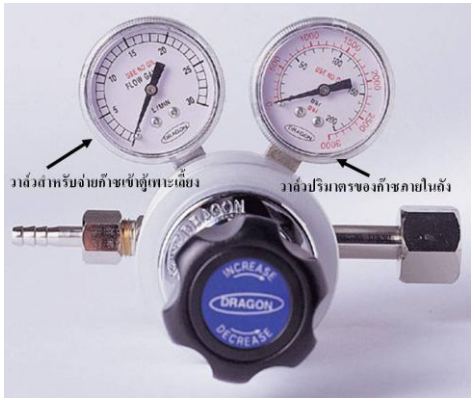
a. 1N hydrochloric acid
b. 1N sodium hydroxide
c. 1% quaternary ammonium compound
d. 5% formaldehyde
e. 5,000 ppm. Hypochlorite
f. 2% iodophor
g. 5% phenol
h. 70% ethyl alcohol

7. ปล่อยให้พัดลม (blower) ทำงานต่อไป 3 นาที เพื่อขจัดสารปนเปื้อนออกจากพื้นที่ทำงาน

8. หลังจากปิดพัดลม (blower) แล้วให้ปิดไฟและเลื่อนกระจกด้านหน้าลงมาปิดให้สนิทเปิดหลอดยูวี 50-60 นาที และไม่ควรเปิดหลอดยูวีทิ้งไว้ค้างคืนเพราะจะทำให้อายุการใช้งานสั้นลง

4. ตู้บ่มบรรยากาศคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 Incubator)

ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์มีความสำคัญกับงานเลี้ยงเซลล์เป็นอย่างมาก เพราะการเลี้ยงเซลล์จากสัตว์เลือดอุ่นนั้นถ้าจะให้เซลล์มีการเจริญเติบโตได้ดีนั้นจำเป็นต้องใช้ก๊าซ CO_2 และอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับร่างกายของสัตว์ที่นำเซลล์มาเลี้ยง ดังนั้นในการใช้ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์จำเป็นต้องควบคุมก๊าซ CO_2 ที่ส่วนใหญ่จะใช้ 5% และอุณหภูมิที่ใช้กันโดยทั่วไปมักไม่เกิน 37 องศาเซลเซียส ซึ่งผู้ใช้สามารถปรับก๊าซได้ที่วาล์วควบคุมก๊าซสองตัววาล์วตัวแรกมีความดันในช่วง 0-3000 psi ที่สามารถบอกปริมาตรของก๊าซในถังว่ามีอยู่ประมาณเท่าไร และวาล์วตัวที่สองจะมีแรงดัน 0-30 psi (รูปที่ 11) ซึ่งจะเป็นตัววัดความดันก๊าซในถังไปยังตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ และสามารถควบคุมการไหลเข้าของก๊าซจากถังสู่ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ ดังนั้นผู้ใช้งานควรทราบถึงตำแหน่งวาล์วแต่ละตัวว่ามีหน้าที่อย่างไร และควรศึกษาวิธีการใช้งานตู้ CO_2 Incubator ก่อนทำปฏิบัติการเพื่อไม่ให้เกิดข้อผิดพลาดกับงานเพาะเลี้ยงเซลล์



รูปที่ 11 แสดงตำแหน่งของวาล์วของตู้บ่มบรรยากาศคาร์บอนไดออกไซด์

การตรวจสอบการรั่วไหลของก๊าซ

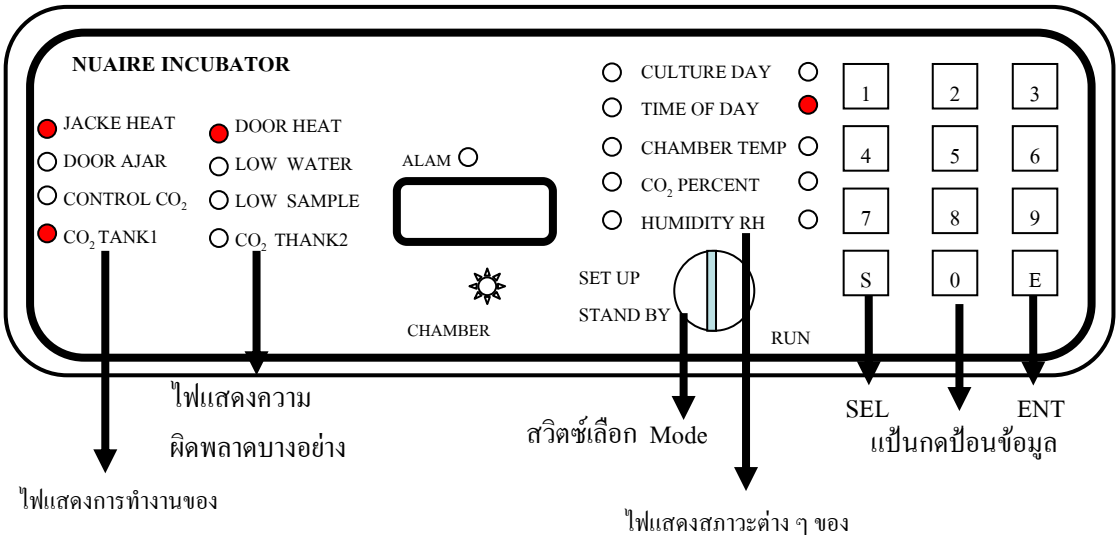
การตรวจเช็คการรั่วไหลของก๊าซ CO_2 มีความสำคัญและควรระมัดระวังเป็นพิเศษ ซึ่งการรั่วไหลของก๊าซจะมีผลโดยตรงต่อเซลล์ที่เพาะเลี้ยง ดังนั้นควรมีตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ 2 ตู้ ในกรณีที่ตู้เพาะเลี้ยงตู้ใดตู้หนึ่งเกิดความเสียหาย ยังสามารถนำเซลล์เพาะเลี้ยงไปเก็บไว้ในตู้ที่สำรองไว้ได้ ซึ่งจะไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่องานเลี้ยงเซลล์ที่ทำอยู่ และวิธีที่สามารถตรวจเช็คว่ามีการรั่วของก๊าซหรือไม่ สามารถทำได้โดยการนำสารละลายสบู่หยดบริเวณรอบๆตามรอยข้อต่อต่างๆ ถ้ามีการรั่วเกิดขึ้นจะเห็นมีฟองสบู่เกิดขึ้น การตรวจสอบวิธีนี้สามารถทำได้ทันทีหลังจากที่มีการเปลี่ยนถังก๊าซหรือการต่อชุดวาล์วเข้ากับตัวถังและตู้ การตรวจเช็คการรั่วจากสายยางที่ต่อเข้าตู้สามารถนำน้ำสบู่มาลูบหรือจุ่มลงในน้ำสบู่ถ้าเห็นว่ามีฟองสบู่เกิดขึ้นควรเปลี่ยนสายยางใหม่ทันที หรือการตรวจสอบการจ่าย CO_2 ว่ามีการจ่ายก๊าซออกอย่าสม่ำเสมอหรือไม่ โดยดูจาก CO_2 Regulator จากวาล์วหัวที่จ่ายเข้าตู้ และในงานเพาะเลี้ยงเซลล์นั้นควรสำรองถังก๊าซ CO_2 ไว้อย่างน้อยหนึ่งถัง หากเกิดเหตุฉุกเฉินสามารถนำมาใช้ได้ทันที

วิธีการใช้ตู้บ่มบรรยากาศคาร์บอนไดออกไซด์

รูปที่ 12 CO_2 Incubator NUAIRE IR AUTOFLOW

หลักการทำงาน

สำหรับงานเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์ และเซลล์อื่นๆ ที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์ อุณหภูมิ และความชื้นในการเพาะเลี้ยงเซลล์ให้เจริญเติบโต ซึ่งตู้บ่มบรรยากาศคาร์บอนไดออกไซด์ที่กล่าวมาสามารถควบคุมอุณหภูมิ คาร์บอนไดออกไซด์ และความชื้นได้



รูปที่ 13 แสดงแผงหน้าปัดแสดงสถานะการทำงานของเครื่อง

การตั้งจำนวนวันของการเลี้ยงเซลล์

1. หมุนสวิตซ์เปลี่ยน Mode ไปที่ Standby/Set up
2. กด SEL ให้ไฟสีแดงเลื่อนไปที่ Culture Day
3. กด 0 แล้วกด ENT
4. หมุนสวิตซ์เปลี่ยน Mode ไปที่ Run

การตั้งอุณหภูมิ (^{o}C)

1. หมุนสวิตซ์เปลี่ยน Mode ไปที่ Standby/Set up
2. กด SEL ให้ไฟสีแดงเลื่อนไปที่ Chamber Temp
3. กดตัวเลขป้อนค่าอุณหภูมิที่ต้องการแล้วกด ENT
4. หมุนสวิตซ์เปลี่ยน Mode ไปที่ Run

การตั้งการนับเวลาของเครื่อง

1. หมุนสวิตซ์เปลี่ยน Mode ไปที่ Standby/Set up
2. กด SEL ให้ไฟสีแดงเลื่อนไปที่ Time of day
3. กดตัวเลขป้อนเวลาจริงๆ ขณะนั้นแล้วกด ENT
4. หมุนสวิตซ์เปลี่ยน Mode ไปที่ Run

การตั้งค่า % CO_2

1. หมุนสวิตซ์เปลี่ยน Mode ไปที่ Standby/Set up
2. กด SEL ให้ไฟสีแดงเลื่อนไปที่ CO_2 Percent
3. กดตัวเลขป้อนค่า % CO_2 ที่ต้องการแล้วกด ENT
4. หมุนสวิตซ์เปลี่ยน Mode ไปที่ Run

การ Calibrate อุณหภูมิในตู้

1. นำ Thermometer ไปใส่ในภาชนะที่มีน้ำอยู่ประมาณ 3 ใน 4 วางทิ้งไว้ในตู้ประมาณ 2 ชั่วโมง แล้วอ่านค่าอุณหภูมิจาก Thermometer
2. บิดสวิตซ์เปลี่ยน Mode ไปที่ Standby/Set up
3. กด SEL ให้ไฟสีแดงเลื่อนไปที่ Culture Days
4. กด 9734 แล้วกด ENT จอจะกระพริบ FUNC 0
5. กด 20 แล้วกด ENT จอจะกระพริบ FUNC 20 และอุณหภูมิที่เครื่องอ่านได้ขณะนั้น
6. ป้อนค่าอุณหภูมิที่อ่านได้จากข้อ 1 แล้วกด ENT จอจะกระพริบ FUNC 20 และอุณหภูมิใหม่
7. กด SEL จอจะกระพริบ FUNC 0
8. หมุนสวิตซ์เปลี่ยน Mode ไปที่ Run

การกำจัดละอองไอน้ำที่กระจกในตู้

1. หมุนสวิตซ์เปลี่ยน Mode ไปที่ Standby/Set up
2. กด SEL ให้ไฟสีแดงเลื่อนไปที่ Culture Days
3. กด 9734 แล้วกด ENT จอจะกระพริบ FUNC 0
4. กด 21 แล้วกด ENT จอจะกระพริบ FUNC 21 และ Door temp ขณะนั้น
5. ป้อนค่า Door temp ใหม่ที่มากกว่าค่าเดิม 1 ค่า แล้วกด ENT
6. กด SEL จอจะกระพริบ FUNC 0
7. หมุนสวิตซ์เปลี่ยน Mode ไปที่ Run

ข้อควรระวัง : ในกรณีที่ CO_2 หมด จำเป็นต้องเปลี่ยนถัง CO_2 ใหม่ให้ปิดถังก๊าซและปิดวาล์วบริเวณเกวัดแรงดัน CO_2 ก่อน และเมื่อเปิดก๊าซ CO_2 เข้าเครื่อง ให้ค่อยๆ เปิดอย่าเปิดให้ความดัน CO_2 สูงมากเกินไปเพราะจะทำให้สายยางที่ต่อเข้า filter หลุด เพราะฉะนั้นเวลาเปิด CO_2 ค่อยๆ เพิ่มแรงดันทีละนิด จนถึงระดับที่กำหนดบนหน้าปัด คือ 20 psi ห้ามเปิดเกินกว่านี้

หมายเหตุ : - filter จำเป็นต้องเปลี่ยนทุกๆ 2 ปี หรือขึ้นอยู่กับอายุการใช้งานมากน้อยแค่ไหน

- เมื่อเปิดใช้ตู้จะต้องเติมน้ำในถาดและต้องเปลี่ยนน้ำให้สะอาดอยู่เสมอน้ำที่ใส่ในถาดจะต้องเป็นน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วเท่านั้น
- หากพบปัญหาในการทำงานให้ติดต่อบริษัททันที

8. หลังจากใช้งานเสร็จแล้วให้ลงบันทึกการทำงานของเครื่อง เพื่อที่จะได้ทราบว่าเครื่องยังใช้งานได้ปกติหรือไม่

5. เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนเซลล์ (Centrifuge)

ในงานเพาะเลี้ยงเซลล์เครื่องมืออีกชิ้นที่มีความจำเป็นพอๆกับเครื่องมือตัวอื่นๆก็คือเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน หรือ Centrifuge จุดประสงค์ของการปั่นเหวี่ยงก็เพื่อต้องการตะกอนเซลล์หรือการเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์ หรือเพื่อการล้างเอาสารอาหารเดิมออกเพื่อเปลี่ยนอาหารใหม่เข้าไปแทนที่ เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนมีหลายประเภทที่สามารถปั่นเหวี่ยงของปริมาตรสารมากหรือน้อย สามารถควบคุมอุณหภูมิ ควบคุมความเร็วรอบ และเวลาขึ้นอยู่กับผู้ใช้ว่าต้องการใช้แบบไหนให้เหมาะสมกับงานที่ทำอยู่ ในการใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนนั้นผู้ใช้ควรคำนึงถึงเซลล์ที่นำมาปั่นเหวี่ยงว่าควรใช้ความเร็วรอบสูงแค่ไหน อุณหภูมิและระยะเวลาในการปั่นเหวี่ยง หากปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบสูงและใช้เวลานานอาจทำให้เซลล์จับกันแน่นจนไม่สามารถกระจายเซลล์ได้ หรืออาจทำให้เกิดความเสียหายต่อตัวเซลล์เองอีกด้วย สำหรับผู้เริ่มศึกษาควรอ่านคู่มือการใช้เครื่องให้เข้าใจก่อนหรือขอคำแนะนำจากเจ้าหน้าที่ผู้ควบคุมเครื่องมือ และควรทดลองปั่นเหวี่ยงด้วยสารละลายเปล่าที่ไม่มีเซลล์เสียก่อน จึงค่อยปฏิบัติจริงกับเซลล์ที่ทำงานอยู่ อย่างไรก็ตามการนับจำนวนรอบนั้น เครื่องจะเริ่มนับเมื่อความเร็วรอบสูงถึงความเร็วที่ตั้งไว้ก่อนแล้วจึงเริ่มนับเวลาและไม่นับความเร็วรอบที่ลดลงเพื่อหยุดการปั่นเหวี่ยงตะกอน ในการใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงจะต้องทำการ balance หลอดที่ต้องการปั่นเหวี่ยงก่อนที่จะใช้งานกับเครื่องทุกครั้ง

วิธีการใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน

รูปที่ 14 HARRIER 18/80 Bench Top Refrigerated Centrifuge (SANYO)

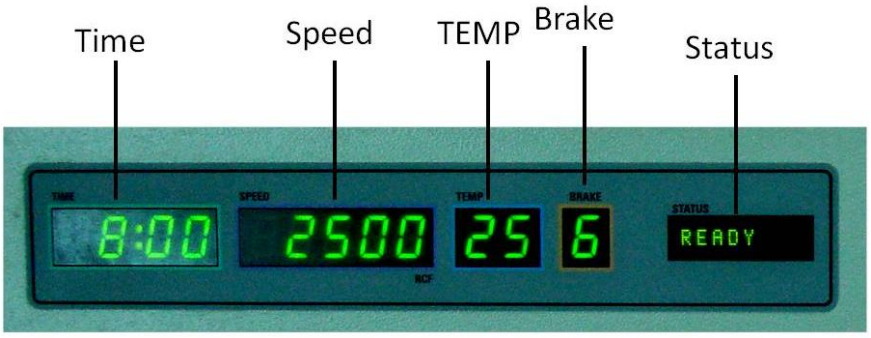
หลักการทำงาน

การใช้แรงหนีศูนย์กลาง ซึ่งอาศัยหลักการความแตกต่างกันระหว่างความหนาแน่นของสารจะถูกเหวี่ยงแยกออก ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้ระยะเวลาอันสั้น และเครื่องปั่นเหวี่ยงตะกอนนี้สามารถควบคุมอุณหภูมิ ความเร็วรอบ และเวลาได้ ซึ่งผู้ใช้สามารถเลือกโหมดการทำงานได้ตามความเหมาะสมกับงานที่ทำและสามารถปั่นเหวี่ยงตะกอนได้ในปริมาณมากๆ

วิธีการใช้

1. เสียบปลั๊ก และเปิดสวิตซ์ที่ด้านหลังเครื่องไปที่ ON เครื่อง O = ปิด I = เปิด หลังจากนั้นข้อมูลต่างๆ จะปรากฏขึ้นบนจอ display พร้อมกับมีสัญญาณเสียงขึ้นซึ่งเป็นการแสดงให้ทราบว่าเครื่องมือพร้อมที่จะทำงานได้ เมื่อกดปุ่ม ON ให้กับเครื่อง centrifuge ข้อมูลที่ปรากฏบน display จะ

แสดงข้อมูลครั้งสุดท้ายที่มีการใช้เครื่องครั้งสุดท้ายโดยปรากฏใน display จะแสดงข้อมูล เวลา ความเร็ว อุณหภูมิ Brake และ สถานะของเครื่อง (รูปที่ 15)



รูปที่ 15 Display แสดงสถานะการทำงานของเครื่อง

2. บนจอ display จะแสดงค่า parameter ปัจจุบัน เมื่อกด start เครื่องจะเริ่มทำงานพร้อมกับแสดงค่า parameter ปัจจุบัน parameter จะเริ่มเปลี่ยนจากค่าที่ต่ำขึ้นไปจนถึงค่า parameter ที่เลือกไว้ parameter สามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามที่เราต้องการ

3. การ set เวลา ให้กดที่ปุ่ม ◴ และเครื่องจะอ่านที่ time เป็นชั่วโมง และกด ◴ อีกครั้งเพื่อตั้งค่าเป็นนาที และกด ◴ อีกครั้งเพื่อตั้งค่าเป็นวินาที และกด ◴ อีกครั้งเพื่อตกลง ถ้าเกิดการผิดพลาดให้กดไปที่ ปุ่ม CE และเครื่องจะกลับไปที่เวลาใหม่อีกครั้ง การตั้งเวลาสามารถตั้งเวลาได้สูงสุด 99 ชั่วโมง 59 นาที และ 5 วินาที

4. Time hold ถ้าไม่ต้องการทำตามข้อกำหนดให้ตั้งค่าเวลาเฉพาะโดยกดปุ่ม TIME HOLD บนหน้าจอจะแสดงคำว่า “hold” จะต้องกลับไปทำงานที่ time hold อีกครั้ง การใช้งาน Time hold ตั้งค่าได้ 99 ชั่วโมง 59 นาที ก่อนจะหยุดทำงาน ซึ่งสามารถหยุดการทำงานได้ตลอดเวลาโดยกดปุ่ม stop

5. การ set อุณหภูมิให้กดที่ปุ่ม 🌡 และ set อุณหภูมิตามที่ต้องการเมื่อ set อุณหภูมิที่ต้องการได้แล้วให้กดที่ปุ่ม 🌡 อีกครั้งเพื่อตกลง ถ้าหากการตั้งค่าผิดพลาดให้กด CE หน้าจอ display จะลบและสามารถเข้าไปที่การตั้งอุณหภูมิใหม่ได้อีกครั้งและให้กลับไปป้อนข้อมูลใหม่ เครื่องจะหยุดแสดงและกลับไปที่ “READ”

6. ถ้าต้องการตั้งความเร็วรอบเป็น RCF (g) ให้กดที่ปุ่ม RCF และ set จำนวนรอบที่ต้องการและไม่ควรตั้งความเร็วสูงสุดไม่เกิน 28975g เมื่อ set เสร็จเรียบร้อยแล้วให้กดปุ่ม RCF อีกครั้งหนึ่งเพื่อตกลง

7. ถ้าต้องการตั้งความเร็วรอบเป็น RPM ◯ให้กดที่ปุ่ม ◯และ set จำนวนรอบที่ต้องการและไม่ควรตั้งความเร็วสูงสุดไม่เกิน 18,000 rpm เมื่อ set เสร็จเรียบร้อยแล้วให้กด ◯อีกครั้งเพื่อตกลง

8. การ set ACCEL/BRAKE ให้กดที่คำว่า ACCEL/BRAKE ให้ตั้งค่า 1-10 เท่านั้น ถ้าต้องการเปลี่ยนแปลงให้กดคำว่า CE

9. การ set precool ให้กดที่คำว่า PRECOOL อุณหภูมิต่ำสุดที่สามารถตั้งได้คือ-9 องศา และเมื่อตั้งค่าเสร็จแล้วให้กดที่ PRECOOL อีกครั้งเพื่อตกลง

10. เมื่อตั้งค่าทุกอย่างเรียบร้อยแล้วให้กดปุ่ม PRECOOL เพื่อปรับอุณหภูมิให้ได้ตามที่ตั้งค่าไว้ ให้ใส่ sample ที่เตรียมไว้ลงไป ปิดฝาให้สนิทแล้วจึงกดปุ่ม ⓘ เพื่อเริ่มการทำงาน

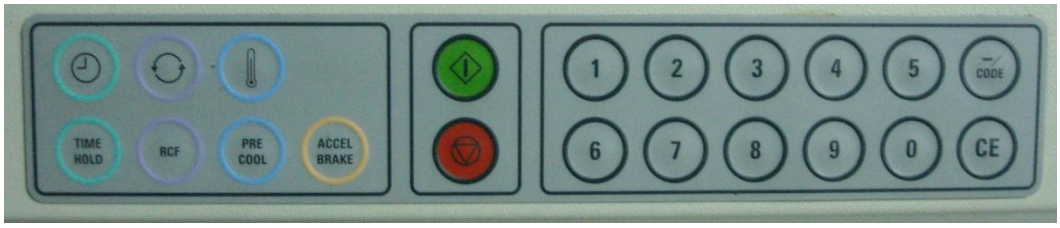
11. หลังจากเครื่องทำงานเสร็จแล้วเครื่องจะส่งเสียงเตือนหนึ่งครั้ง และรอจนความเร็วรอบลดเป็น 0 และจะกลับมาอยู่ที่ค่าเดิมจึงจะนำ sample ออกมาจากเครื่องได้

12. การตั้งอัตราเร่งและการหยุดของเครื่อง ในการเปลี่ยนอัตราเร่งและการหยุดให้กดที่ ACCEL/BRAKE เครื่องจะหยุดและแสดงการอ่านเป็น “SETACCEL” ใส่อัตราเร่งและกด ACCEL/BRAKE อีกครั้ง เครื่องจะแสดงการอ่านเป็น “SETBRAKE” ให้ใส่อัตรา BRAKE ถ้าเกิดความผิดพลาดให้กด CE และจะกลับไปที่เดิมใส่ค่าที่ต้องการอีกครั้งและกด ACCEL/BRAKE อีกครั้ง เครื่องจะแสดงสถานการณ์อ่านเป็น “READ”

13. การเริ่มต้นการทำงาน ตรวจสอบ rotor ให้แน่นและให้เหมาะสม ปิดฝาให้สนิทและอย่างระมัดระวัง กด start เครื่องจะเริ่มแสดงและเปลี่ยนค่าของความเร็ว เวลาและอัตราการหยุด เครื่องจะแสดงในตำแหน่ง run เครื่องจะแสดงหน่วยของ ramp speed และ stopping ลดลง เมื่อเครื่องทำงานเสร็จจะได้ยินเสียง “คลิก”

14. ในกรณีที่ฝาครอบไม่สามารถเปิดได้ ซึ่งปกติเครื่องจะเปิดฝาโดยการผลัก ถ้าหากฝาครอบเครื่องล็อคโดยไม่เจตนาเครื่องจะมีระบบควบคุมที่ปลอดภัย โดยเราสามารถปฏิบัติได้ดังต่อไปนี้

- กด switch centrifuge ไปที่ off รอประมาณ 5 นาที การทำงานของ rotor จะหยุดการทำงาน
- ถ้าเกิดสภาวะฉุกเฉินให้ใช้กุญแจ Over-ride ใส่ในช่องเล็กๆ ใกล้ๆ กับมือจับ
- ขยับ Over-ride ไปมาเพื่อปลดล็อคที่ขดลวดไฟฟ้า
- ในส่วนของขดลวดไฟฟ้า ดันขวดลวดไฟฟ้าไปข้างหลังเพื่อให้เปิดฝาได้แบบปกติ



รูปที่ 16 แสดงแผงหน้าปัดเครื่อง Centrifuge

การเปิดฝาครอบ

ให้เลื่อนหรือกดปุ่มสลักที่อยู่ในตำแหน่งด้านบนเครื่องไปทางด้านหลังฝาครอบ ฝาครอบนี้จะทำงานโดยระบบ gas strut และจะถูกเปิดออกโดย automatic (รูปที่ 17)

รูปที่ 17 แสดงปุ่มสลักฝาครอบเครื่อง

การติดตั้งแกนหมุน (rotor)

ถ้าเครื่อง Centrifuge ที่จะประกอบ rotor เข้ากับหัวหมุนเครื่องจะมีเครื่องหมายบริเวณข้อต่อซึ่งจะแสดงเป็นจุดสีเหลืองบนหัวหมุนขับเคลื่อน และบนส่วนของ rotor ทั้งสองจุดสีเหลืองนี้จะต้องอยู่ในตำแหน่งที่ตรงกัน จากนั้นหาตำแหน่งของน็อตที่อยู่บน rotor แล้วขันน็อตให้แน่นด้วยเครื่องมือที่ให้มากับเครื่อง โดยจะต้องจัด rotor ให้อยู่นิ่งๆ กับที่ในขณะที่ขันน็อตให้แน่น

หมายเหตุ : อย่าเดินเครื่อง centrifuge โดยที่ rotor ยังไม่ได้ต่อเข้าที่กับแกนของเครื่อง ถ้าความผิดพลาดนี้เกิดขึ้นจะทำให้ข้อมูลที่แสดงใน display มีความผิดพลาดไปด้วย

การติดตั้ง rotor

ส่วนประกอบของเครื่อง centrifuge จะประกอบไปด้วย แท่นแกนหมุน ภาชนะบรรจุ ถ้วย และสลักเดือยสำหรับยึด ทั้งหมดนี้ต้องประกอบเข้าด้วยกัน เพื่อให้มีน้ำหนักสมดุล แท่นหมุนจะต้องทำงานร่วมกับภาชนะบรรจุทุกครั้งเสมอ ห้ามเดินเครื่องพัดลมของแท่นหมุนโดยปราศจากฝาปิดถ้าไม่ปฏิบัติตามที่กำหนดไว้ อาจจะทำให้เกิดความเสียหายกับเครื่อง centrifuge ได้

ควรระมัดระวัง : เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงรูปทรงของกระบังลมของแกนหมุน ควรจะยกเครื่องโดยการจับถือให้กระชับแน่นบริเวณโครงร่างของเครื่อง

คำเตือน : การประกอบ Ria rotor จะต้องประกอบให้มีความสม่ำเสมอบนแต่ละแกนของภาชนะรองรับ ห้าม Ria rotor ทำงานโดยปราศจากภาชนะรองรับ

การย้าย rotor

เปิดฝาครอบ ย้ายภาชนะและเดือยทั้งหมด ใส่สลักที่มีขนาดเหมาะสมสอดเข้าไปในช่องเดือยเล็ก ๆ คลายเกลียวและย้ายเดือยเล็กๆ จับ rotor ด้านตรงข้ามและยกออกด้านหัว

การปิดฝาครอบ

ก่อนปิดฝาครอบควรใส่ตัวอย่างให้เต็มทุก rotor ในครั้งเดียวและปิดฝาครอบลงมาตรงๆ จะได้ยินเสียง “คลิก” เครื่องจะล็อคและมีความปลอดภัยเครื่องจะเริ่มอ่าน หน้าจอจะแสดง “read” จึงจะเริ่มการทำงานได้

การเคลื่อนย้าย

1. ต้องเอา rotor ออกก่อนเคลื่อนย้าย
2. ตั้งให้ห่างจากผนังและด้านหน้าของเครื่องต้องมีช่องระบายความร้อนได้
3. ถ้าตั้งแล้วเกิดเสียงเมื่อมีแรงเหวี่ยงให้ดูการตรึงที่มุมเครื่อง (ควรให้ช่างผู้มีความชำนาญในการเคลื่อนย้ายเป็นผู้เคลื่อนย้ายเท่านั้น)

ข้อควรระวัง

1. ถ้ามีของเหลว และสารเคมีชนิดต่างๆ หยดบนเครื่อง ต้องรีบเช็ดออกแล้วใช้ผ้าสะอาดชุบน้ำเช็ดสารเคมีออกทันที
2. ควรถอด rotor และอุปกรณ์ออก เพื่อล้างทำความสะอาด ควรเช็ดทำความสะอาดเครื่องเป็นประจำเพื่อลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์
3. ในการนำตัวอย่างมาใช้กับเครื่อง centrifuge ทุกครั้งผู้ใช้จะต้องทำการ balance ตัวอย่างของหลอดทดลองทุกครั้งก่อนเริ่มใช้งาน
4. ความเร็วสูงสุด (maximum speed) ของเครื่องนี้คำนวณมาจาก samples ที่มีค่าของ specific gravity = 2 ดังนั้นถ้าตัวอย่างของผู้ใช้งานมี specific gravity สูงกว่า จะมีผลให้ maximum rotor speed ลดลง
5. การใช้ไฟฟ้าเป็นแบบ single phase a/c (alternating current) 230 v, 13 amp
6. ต้องต่อสายดิน (สายไฟสีเขียวและเหลือง) ส่วนสายสีน้ำตาล = live และสายสีน้ำเงิน = Neutral
7. หากมีปัญหาในการใช้งานซึ่งไม่สามารถแก้ไขปัญหาได้ให้ติดต่อกับเจ้าหน้าที่ดูแลเครื่องนี้ทันที
8. หลังจากใช้งานเสร็จแล้วให้ลงบันทึกการทำงานของเครื่องเพื่อที่จะได้ทราบว่าเครื่องยังใช้งานได้ปกติหรือไม่

6. ไมโครปิเปต (Micropipette)

ปิเปตเป็นอุปกรณ์สำหรับตวง วัด ปริมาตรของเหลวที่มีปริมาณน้อย มีสเกลการวัดที่ละเอียดและมีความแม่นยำสูง มีหลายขนาดสามารถเลือกตามการใช้งานได้ และสามารถเปลี่ยนส่วนปลาย (tip) ได้ หลายขนาด เทคนิคการใช้งานปิเปตจึงเป็นสิ่งสำคัญสำหรับผู้ใช้งานควรมีเทคนิคที่ถูกต้องและควรมีทักษะในการใช้งานเพื่อลดข้อผิดพลาดในการทำปฏิบัติการได้

การใช้ไมโครปิเปต

1. จับปิเปตให้ถนัดและแน่น

2. ปรับปริมาตรที่ต้องการก่อนปรับปริมาตรที่ต้องการควรตรวจเช็คว่าปิเปตที่นำมาใช้นั้นอยู่ในช่วงใด เช่น 20-100 µl เวลาที่หมุนปรับปริมาตรห้ามต่ำกว่า 20 และห้ามปรับเกิน 100 µl

3. สวมปลายปิเปตลงใน tip ให้เหมาะสมกับขนาดของปิเปต และกดลงเล็กน้อยพร้อมทั้งบิดมือเล็กน้อยเพื่อให้แน่ใจว่า tip สวมสนิทพอดี อย่ากระแทกปิเปตลงบน tip เพราะจะทำให้กระทบกระเทือนกับตัวปิเปตและทำให้ปริมาตรอาจคลาดเคลื่อนได้

รูปที่ 18 แสดงวิธีการสวม tip เข้ากับไมโครปิเปต

4. ในการดูดสารละลายผู้ใช้ควรกดปุ่มด้านบนของปิเปตด้วยหัวแม่มือข้างที่ถนัดและค่อยกดลงไปจนถึงจังหวะที่ 1 และถือค้างไว้

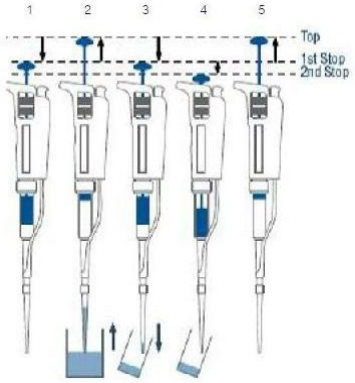
5. จุ่มปลายปิเปตลงในสารละลายที่จะดูดวัดปริมาตร โดยที่ปลายปิเปตต้องอยู่ต่ำกว่าระดับสารละลายตลอดเวลาในขณะที่ทำการดูด ค่อยๆปล่อยหัวแม่มืออย่างช้าๆ (จังหวะที่ 2) และให้ปลายปิเปตต้องอยู่ต่ำกว่าระดับของสารละลายตลอดเวลา เพราะเมื่อใดที่ระดับของสารละลายในภาชนะลดลงต่ำกว่าปลายปิเปตในระหว่างที่ทำการดูดจะทำให้เกิดฟองอากาศภายใน tip

6. ในการนำสารละลายออกจาก tip ให้ใส่ปลาย tip แตะลงในภาชนะด้านในโดยแตะกับผนังด้านข้างของภาชนะจากนั้นกดปุ่มบนของปิเปตลงไปช้าๆ จนถึงจังหวะที่ 1 และให้กดต่อไปจนหมดจังหวะที่ 3-4 ไล่ของเหลวที่เหลืออยู่ใน tip ออกให้หมดโดยการกดปิเปตค้างไว้

7. ในขณะที่กดปิเปตค้างไว้นั้นค่อยๆดึงปิเปตออกจากภาชนะ โดยลากปลาย tip แตะขึ้นมาตามผนังด้านข้างของภาชนะ

8. ค่อยปล่อยนิ้วหัวแม่มือออกจากปุ่มด้านบน

9. ดัน tip ออกจากตัวปิเปตโดยใช้ปุ่มปลด tip ออกทิ้งลงในภาชนะที่เตรียมไว้



รูปที่ 19 แสดงขั้นตอนการใช้ไมโครปิเปต

ที่มา : http://www.euroscan.co.th/th/main/content.php?page=products&category=37&id=137

7. ปิเปตเอด (Pipette Aid)

ในงานเพาะเลี้ยงเซลล์มีอุปกรณ์หลายประเภทที่ช่วยให้การทำงานได้สะดวกรวดเร็วยิ่งขึ้น pipette aid ก็เป็นเครื่องมืออีกหนึ่งชนิดที่มีช่วยทำให้เราสามารถทำงานได้รวดเร็วขึ้น แต่สำหรับผู้ที่เริ่มทำปฏิบัติการใหม่จำเป็นต้องเรียนรู้ถึงการใช้งานของอุปกรณ์ชนิดนี้ก่อนมิฉนั้นอาจก่อให้เกิดความเสียหายต่ออุปกรณ์ได้

วิธีการใช้ปิเปตเอด

1. จับ pipette aid ให้กระชับมือ
2. สวมปิเปต เข้ากับตัว pipette aid (รูปที่ 20)

รูปที่ 20 แสดงวิธีการสวมปิเปตเข้ากับ pipette aid

3. ดูดสารละลายโดยกดปุ่มดูดสารละลาย (รูปที่ 21)

รูปที่ 21 Pipette Aid

1. ปล่อยสารละลาย โดยกดปุ่มปล่อยสารละลาย (รูปที่ 21)

2. เมื่อปล่อยสารละลายแล้วให้ดึงปิเปตออกจาก pipette aid

ข้อควรระวัง

1. ในการดูดสารละลายควรใช้ปิเปตที่อุดปลายด้วยสำลีแล้ว
2. ในขณะที่ดูดสารละลายควรกดปุ่มดูดให้สารละลายขึ้นไปอย่างช้าๆ
3. หากพบว่าเวลาดูดสารสะลายเข้าไปในปิเปตแรงเกินไปให้ปรับความแรงในการดูดสารละลายได้ตามความถนัด (รูปที่ 21)

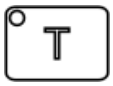
8. เครื่อง Water bath

รูปที่ 22 Water bath (Julabo)

หลักการทำงานของเครื่อง

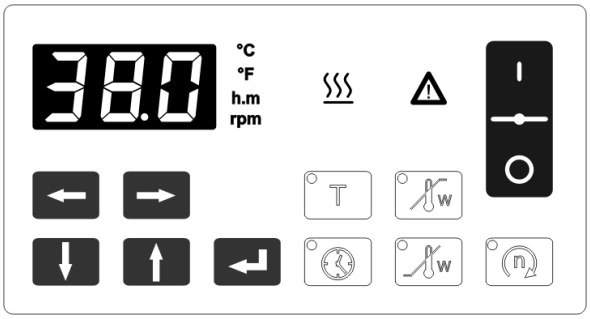
เป็นอ่างน้ำที่สามารถควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ และตั้งอุณหภูมิได้ตั้งแต่ 35-100 องศาเซลเซียส ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อ อุ่นอาหารเลี้ยงเซลล์ และวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์

วิธีการใช้เครื่อง

1. เติมน้ำในเครื่องด้วยน้ำกรองหรือน้ำกลั่นใน chamber ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม
2. เปิดสวิตซ์โดยกดที่ตำแหน่ง I (รูปที่ 23)
3. กดปุ่ม  เมื่อตั้งอุณหภูมิโดยเลื่อนตำแหน่งของตัวเลขของค่าอุณหภูมิที่มีอยู่ 3 ตำแหน่ง โดยใช้ลูกศร เพื่อเลื่อนตำแหน่งของตัวเลขไปทางซ้ายและปุ่มลูกศร เพื่อเลื่อนตำแหน่งของตัวเลขไปทางขวา เมื่อเลื่อนตำแหน่งของตัวเลขไปที่ตำแหน่งใดตัวเลขที่ตำแหน่งนั้นจะกระพริบ จึงกดปุ่ม และ เพื่อตั้งอุณหภูมิตามที่ต้องการ เมื่อได้ค่าอุณหภูมิที่ต้องการแล้วจะต้องกดปุ่ม เพื่อยืนยันค่าที่ตั้งไว้ การตั้งค่าอุณหภูมิสามารถตั้งได้ทั้งแบบที่เป็นค่าองศาเซลเซียส (^{o}C) และแบบองศาฟาเรนไฮ (^{o}F) การเปลี่ยนแบบค่าอุณหภูมิทำได้โดย

♣ กดปุ่ม และกดปุ่ม พร้อมกัน

♣ เลือกแบบค่าอุณหภูมิโดยกดปุ่ม โดยจะมีไฟสว่างที่ปุ่ม °C และ °F จากนั้นใช้ปุ่ม และ เพื่อเลือกแบบองศาที่ต้องการใช้แล้วกดปุ่ม เพื่อยืนยันค่าของอุณหภูมิที่ต้องการ

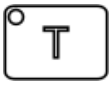


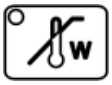
รูปที่ 23 แสดงแผงควบคุมการทำงานของเครื่อง Water bath (Julabo)

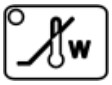
1. Mains power switch, illuminated

I on

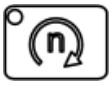
O off

2  Working temperature

3  High temperature warning limit

4  Low temperature warning limit

5 Operating hours indicator key

6  Nominal value shaking frequency display key

7

Indication:

- MULTI-DISPLAY (LED)
- Temperature display optionally in °C or °F;

time display in h:m and shaking frequency.

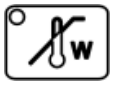
The corresponding symbol will illuminate on selection.

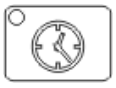
- Indicator light - Alarm red illuminated
- Indicator light - Heating yellow illuminated

8 Cursors left/right

9 Edit keys (increase/decrease setting)

10 Enter key (store/quitting the audible signal)

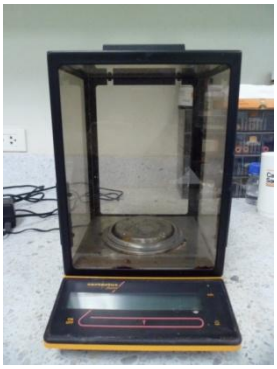
4. การตั้งค่าอุณหภูมิสูงสุดต้องตั้งให้สูงกว่าอุณหภูมิที่ตั้งไว้ประมาณ 10 องศาเซลเซียส โดยกดปุ่ม  จากนั้นกดปุ่ม เพื่อเลื่อนตำแหน่งของตัวเลขไปทางซ้าย และกดปุ่ม เพื่อเลื่อนตำแหน่งตัวเลขไปทางขวา และกดปุ่ม และ เพื่อตั้งค่าของอุณหภูมิที่ต้องการจากนั้นกดปุ่ม เพื่อยืนยันค่าอุณหภูมิที่ตั้ง

5. การตั้งเวลาทำได้โดยกดปุ่ม ไฟที่ปุ่ม h.m จะกระพริบจากนั้นกดปุ่ม เลื่อนตำแหน่งของตัวเลขไปทางซ้าย และกดปุ่ม เพื่อเลื่อนตำแหน่งตัวเลขไปทางขวา และกดปุ่ม และ เพื่อตั้งค่าของเวลาที่ต้องการจากนั้นกดปุ่ม เพื่อยืนยันค่าของเวลาที่ตั้ง และไฟที่ปุ่ม  จะติดด้วยเมื่อเวลาที่ตั้งไว้หมดลงจะมีเสียงเตือนดังขึ้นมาจะต้องกดปุ่ม เพื่อปิดเสียง

ข้อควรระวังและการดูแลรักษา :

1. ควรเติมน้ำในอ่างให้ได้ระดับที่เหมาะสม โดยระดับสูงสุดต้องต่ำจากขอบล่างประมาณ 25 มิลลิเมตร และระดับต่ำจะต้องสูงกว่าถาดรองก้นประมาณ 10 มิลลิเมตร น้ำที่ใช้เติมต้องเป็นน้ำกรองหรือน้ำกลั่นเท่านั้น
2. เมื่อใช้งานเสร็จแล้วควรปล่อยน้ำทิ้งให้แห้งเพื่อป้องกันการเกิดสนิม หรือเปลี่ยนน้ำเมื่อเห็นว่าสกปรก
3. น้ำที่นำมาใช้ในเครื่องควรเป็นน้ำกลั่นเท่านั้น เพราะถ้าเป็นน้ำกรองหรือน้ำประปาอาจมีปัญหาเรื่องการเกาะจับของตะกรันทำให้ตัวเซนเซอร์เสียหายหรือเกิดปัญหาได้
4. ถ้าเครื่องทำงานผิดปกติควรแจ้งเจ้าหน้าที่รับผิดชอบเพื่อติดต่อบริษัทผู้รับผิดชอบในการซ่อมบำรุงต่อไป

9. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Sartorius)



รูปที่ 24 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Sartorius)

หลักการทำงานของเครื่อง

เป็นเครื่องที่ใช้สำหรับชั่งน้ำหนักของสาร สามารถชั่งน้ำหนักสูงสุดได้ 210 กรัม และมีความละเอียดของน้ำหนักที่สามารถชั่งได้ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

ตรวจสอบเครื่องก่อนใช้งาน

1. ก่อนใช้เครื่องชั่ง ปัดฝุ่นทำความสะอาด ตัวเครื่อง หน้าปัดชั่ง ฐานชั่ง และบริเวณที่ตั้งให้สะอาด
2. ปรับฐานที่ตั้งให้ได้ระนาบ โดยปรับที่ฐานให้ลูกน้ำอยู่กึ่งกลาง
3. ตรวจสอบสายไฟฟ้า อยู่ในสภาพสมบูรณ์
4. เสียบปลั๊กเข้ากับไฟฟ้า 220 v

วิธีการใช้เครื่องมือ

1. กดปุ่ม ON/OFF ให้หน้าปัดแสดง 0.0000 g ถ้าตัวเลขไม่ปรากฏ 0.0000 g ให้กด Tare
2. วางภาชนะรองรับสิ่งที่ต้องการชั่งลงบนเครื่องชั่ง
3. กด Tare รอจนหน้าปัดแสดง 0.0000 g จึงชั่งสิ่งที่ต้องการ
4. บันทึกน้ำหนัก นำวัสดุที่ชั่งเสร็จออกจากเครื่องชั่ง
5. กด Tare อีกครั้ง ให้ตัวเลขแสดง 0.0000 g
6. กด off เครื่องจะปิด และทำความสะอาดเครื่องชั่งให้เรียบร้อย
7. ดึงปลั๊กออกเมื่อไม่ได้ใช้งาน

การทำความสะอาดหลังใช้งาน

1. ถอดปลั๊กไฟฟ้า
2. ใช้แปรงปัดฝุ่นและสิ่งสกปรกออกจากจานชั่งและตัวเครื่องชั่ง
3. ใช้ผ้าสะอาดชุบน้ำบิดให้พอหมาดเช็ดจานรองฐานชั่งและตัวเครื่องชั่งให้สะอาด
4. ใช้ผ้าแห้งที่สะอาดเช็ดให้แห้ง
5. ประกอบเครื่องชั่งเข้าที่ และใช้ผ้าคลุมตัวเครื่องให้เรียบร้อย
6. ลงบันทึกการใช้เครื่องและแขวนป้ายแสดงการทำความสะอาดให้เรียบร้อย

ข้อควรระวังและการดูแลรักษา

1. ก่อนที่จะเริ่มชั่งสารให้ตรวจสอบเครื่องชั่งโดยดูว่าเครื่องชั่งตั้งได้ระดับหรือไม่ โดยดูจาก Spirit Level (ลูกน้ำ) ต้องปรับที่ขาของเครื่องจนกว่าฟองอากาศใน Spirit Level จะกึ่งกลาง
2. ตำแหน่งที่วางวัตถุควรอยู่กึ่งกลางของจานรับน้ำหนัก เนื่องจากเป็นจุดที่รับน้ำหนักมากที่สุดและไม่วางวัตถุที่จะชั่งลงบนจานชั่งโดยตรง
3. ควรวางเครื่องชั่งลงบนพื้นที่ที่มีความมั่นคงแข็งแรง ไม่สั่นสะเทือน ควรหลีกเลี่ยงการวางตำแหน่งที่มีกระแสลมจากพัดลม หรือจากเครื่องปรับอากาศ และจุดที่มีความร้อนสูง
4. ไม่ควรวางน้ำหนักเกินพิกัดสูงสุดของเครื่องชั่ง
5. หากมีวัตถุที่ชั่งตกหล่นบนเครื่องชั่งให้ทำความสะอาดทันที โดยทั่วไปจะใช้แปรงขนอูฐหรือพู่กันระบายสีปลายแบนเพื่อปัดฝุ่นละออง และสิ่งสกปรกออก ส่วนบริเวณที่มีความสกปรกมากอาจใช้ 50 % ethanol เช็ดทำความสะอาด

10. เครื่อง Fume Hood

รูปที่ 25 Fume Hood (Wiwatsan Lab)

หลักการทำงานของเครื่อง

ตู้สำหรับดักจับไอระเหยของสารเคมี สำหรับงานเตรียมสารเคมีต่างๆ ซึ่งป้องกันอันตรายให้กับผู้ปฏิบัติงาน และสิ่งแวดล้อมจากอนุพันธ์ของสาร

วิธีการใช้เครื่อง

1. กดปุ่ม Fan Start เพื่อเริ่มใช้งาน
2. เปิดไฟโดยกดปุ่ม Light
3. กดปุ่ม Fan stop เพื่อหยุดการใช้งาน

ข้อควรระวังและการดูแลรักษา

1. ควรปิดตู้เมื่อไม่ได้ใช้งาน
2. หลังจากใช้งานเสร็จควรเปิดเครื่องไว้สักพักเพื่อให้ดูดสารออกไปให้หมด

3. ถ้าหากพบการทำงานของเครื่องผิดปกติควรแจ้งซ่อม

การแจ้งซ่อมบำรุงรักษา

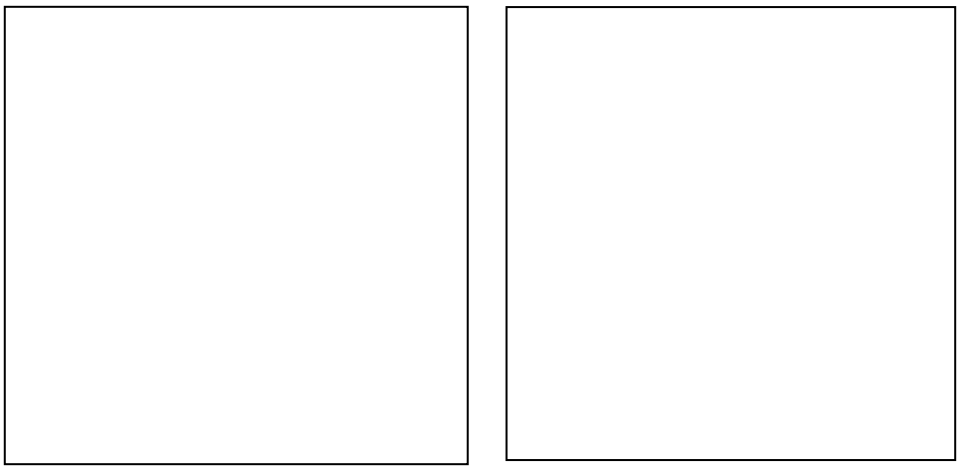
บริษัท Thai German Specialty Glass Co., LTD.

41/8 ถนนพระราม 3

แขวงช่องนนทรี เขตยานนาวา

กรุงเทพฯ 10120

11.กล้องจุลทรรศน์ (Olympus CX21)



รูปที่ 26 แสดงส่วนประกอบต่างๆของกล้องจุลทรรศน์

ส่วนประกอบของกล้องจุลทรรศน์

1. Base คือ ฐาน เป็นส่วนที่ใช้วางบนโต๊ะ ทำหน้าที่รับน้ำหนักทั้งหมดของกล้องจุลทรรศน์ มีรูปร่างสี่เหลี่ยม หรือวงกลม ที่ฐานจะมีปุ่มสำหรับปิดเปิดไฟฟ้า
2. Main switch คือสวิตซ์สำหรับปิด-เปิดกล้องจุลทรรศน์
3. Light intensity adjustment คือปุ่มปรับความเข้มแสง
4. Filters คือ ตัวกรองแสงหรือหลอดไฟเป็นแหล่งกำเนิดแสง
5. Coarse adjustment คือ ปุ่มปรับภาพหยาบ ทำหน้าที่ปรับภาพโดยเปลี่ยนระยะโฟกัสของเลนส์ใกล้วัตถุ (เลื่อนลำกล้องหรือแท่นวางวัตถุขึ้นลง) เพื่อทำให้เห็นภาพชัดเจน
6. Fine adjustment คือ ปุ่มปรับภาพละเอียด ทำหน้าที่ปรับภาพ ทำให้ได้รูปที่ชัดเจนมากขึ้น
7. Specimen holder Y คือ ปุ่มเลื่อนสไลด์ Y ทำหน้าที่ในการเลื่อนสไลด์ไปในทิศทางแนวนอน
8. Specimen holder X คือ ปุ่มเลื่อนสไลด์ X ทำหน้าที่ในการเลื่อนสไลด์ไปในทิศทางแนวตั้ง
9. Aperture iris diaphragm ring คือ วงแหวนสำหรับปรับปริมาณแสงผ่านเข้า condenser มากน้อยตามต้องการ
10. Condenser คือ เลนส์รวมแสง ทำหน้าที่รวมแสงให้เข้มขึ้นเพื่อส่งไปยังวัตถุที่ต้องการศึกษา

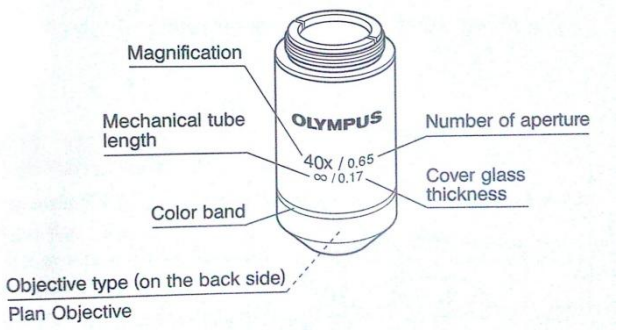
11. Specimen Stage คือ แท่นวางวัตถุ เป็นแท่นวางแผ่นสไลด์ที่ต้องการศึกษา ตรงกลางมีช่องให้แสงผ่าน ด้านข้างซ้ายมือจะมี slide holder ช่วยยึดสไลด์ให้แน่น และมี Specimen holder ควบคุมการเคลื่อนที่ไปมาของแผ่นสไลด์จากซ้ายไปขวาหรือหน้ามาหลัง
12. Specimen holder คือก้านจับยึดสไลด์ใช้หนีบสไลด์ให้ติดอยู่กับแท่นวางวัตถุ
13. Specimen holder scales คือ สเกลสำหรับอ่านตำแหน่งสไลด์ ในแนวตั้งและแนวนอน
14. Arm คือ แขน เป็นส่วนเชื่อมต่อกับตัวลำกล้องและฐาน ใช้เป็นที่จับเวลาเคลื่อนย้ายกล้อง จุลทรรศน์
15. Revolving nosepiece คือ วงแหวนสำหรับใช้เปลี่ยนกำลังขยายของเลนส์ใกล้วัตถุ
16. Objective lens คือ เลนส์ใกล้วัตถุ เป็นเลนส์ที่อยู่ใกล้กับแผ่นสไลด์ หรือวัตถุ เลนส์ใกล้วัตถุทำหน้าที่ขยายภาพในขั้นแรก เลนส์ใกล้วัตถุ 1 ชุด มี 3 หรือ 4 อันติดอยู่ที่ revolving-nosepiece ซึ่งสามารถหมุนได้รอบตัวเปลี่ยน objective ตามกำลังขยายที่ต้องการ สำหรับ Objective lens จะมีเลขจำนวนเต็ม 4, 10, 40, 100 จากรูปที่ 8 objective lens จะมีค่า 0.10, 0.25, 0.65, 1.30 คือค่า numerical aperture (N.A.)

* หากจำเป็นต้องใช้ high power lens จะสังเกตที่ tube ด้านข้างจะมีตัวเลข 0.17 แสดงความหนาของ cover slip กำกับไว้ แสดงว่าวัตถุที่จะศึกษาด้วย objective lens กำลังขยายนี้จะต้องมี cover slip ปิดเสมอ

* oil immersion objective lens จะมีปลายเลนส์เล็กมากและแสงเข้าได้ปริมาณน้อย ลำแสงที่ส่องเข้ามาจะต้องใช้ condenser ช่วยรวมแสงและใช้น้ำมัน (immersion oil) โดยหยดสารดังกล่าวลงเต็มพื้นที่ระหว่างปลายเลนส์และกระจกสไลด์เพื่อป้องกันการกระจายของลำแสง

Ocular	Objectives	magnification at eye point
10x	4 X (low power)	40X
10x	10 X (low power)	100X
10x	40 X (high power or high dry)	400X
10x	100X oil immersion)	1000X

17. Observation tube clamping knob คือ ตัวหมุนเปลี่ยนทิศทางของเลนส์ตา
18. Binocular observation
19. Body tube คือ ลำกล้อง เป็นส่วนที่ปลายด้านบนมีเลนส์ตา ส่วนปลายด้านล่างติดกับเลนส์วัตถุ
20. Diopter adjustment ring คือ วงแหวนชดเชยค่าสายตา (กรณีตาทั้งสองข้างของผู้ใช้สั้นหรือยาวไม่เท่ากัน) สำหรับปรับความคมชัดของเลนส์ใกล้ตา



รูปที่ 27 แสดงรายละเอียดบน objective lens

ที่มา : Olympus, 2006.

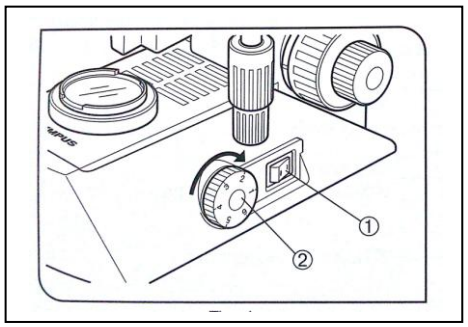
21. Eyepiece คือ เลนส์ใกล้ตา เป็นเลนส์ที่อยู่บนสุดของลำกล้อง โดยทั่วไปมีกำลังขยาย 10x หรือ 15x ทำหน้าที่ขยายภาพจากเลนส์ใกล้วัตถุให้มีขนาดใหญ่ขึ้น เลนส์ด้านบนนี้สามารถหมุนไปมาได้โดยจับที่ body tube โดยรูปที่ได้เป็นภาพเสมือนหัวกลับ

วิธีการใช้กล้องจุลทรรศน์

1. การยกกล้อง ให้ใช้มือหนึ่งจับแขนกล้อง อีกมือหนึ่งรองรับที่ฐานกล้องและต้องยกกล้องในสรูปที่กล้องตั้งตรงเสมอ เพื่อป้องกันส่วนประกอบของกล้องเลื่อนหลุด เช่น เลนส์ใกล้ตา
2. นำกล้องมาวางไว้บนโต๊ะที่มีความมั่นคงและให้ห่างจากขอบโต๊ะเล็กน้อย
3. เสียบปลั๊กไฟ

รูปที่ 28 แสดงวิธีการยกกล้อง

4. หมุนเลนส์ใกล้วัตถุให้เป็นเลนส์ที่มีกำลังขยายต่ำที่สุดก่อน ให้อยู่ในตำแหน่งแนวเดียวกับลำกล้อง แล้วเปิดไฟ



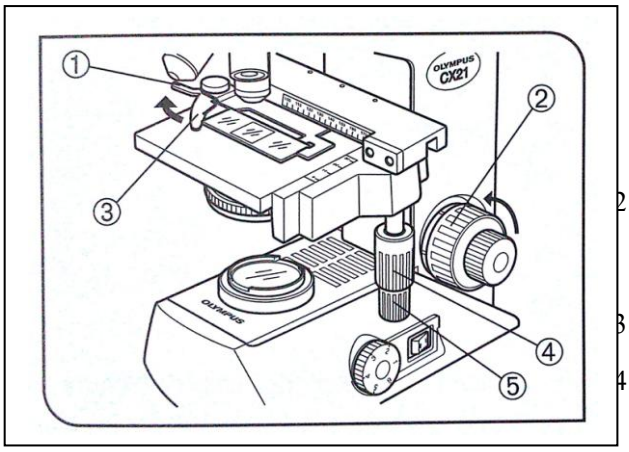
1. เปิดสวิตซ์ ① ไปที่ “I” (ON)
2. หมุน ② เพื่อปรับแสงสว่าง

รูปที่ 29 แสดงปุ่มปิด-เปิดไฟ และปุ่มปรับแสงสว่าง

ที่มา : Olympus, 2006.

5. นำแผ่นสไลด์ที่จะศึกษาวางบน Stage หรือแท่นวางสไลด์ ให้วัตถุอยู่บริเวณกึ่งกลางที่แสงส่องผ่าน

การนำตัวอย่างสไลด์มาวางบนแท่นวางวัตถุ



1. นำตัวอย่างสไลด์วางบนแท่นวางวัตถุ โดยผลักก้านยึดสไลด์ ① ตามลูกศรนำสไลด์วางบนแท่นและค่อยๆปล่อยก้านยึดสไลด์
2. หมุนปุ่มปรับหยาบ ② ไปในทิศทางของลูกศรตามรูป
3. ตรวจสอบตัวยึดแผ่นสไลด์ตัวอย่าง ③
4. เลื่อนตัวอย่างสไลด์ไปในทิศทางแกน Y ④ เลื่อนตัวอย่างสไลด์ไปในทิศทางแกน X ⑤

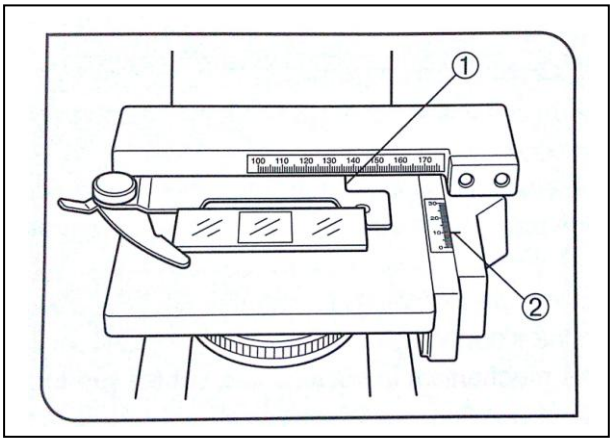
รูปที่ 30 แสดงการนำตัวอย่างสไลด์วางบนแท่นวางวัตถุ ปุ่มปรับหยาบ-ละเอียด และปุ่มเลื่อนสไลด์ Y-X

ที่มา : Olympus, 2006.

หมายเหตุ : ห้ามเลื่อนตัวอย่างสไลด์จากก้านยึดสไลด์โดยตรงเพราะจะทำให้เกิดความเสียหายต่อแกนหมุนเลื่อนวัตถุ เมื่อเลื่อนตัวอย่างสไลด์แล้วรู้สึกหนืดหรือหนัก ให้หยุดหมุนทันที

6.หากต้องการกำหนดจุดบนสไลด์สามารถอ่านได้จากสเกลแกน Y และแกน X

การอ่านสเกลและการทำเครื่องหมายบนสไลด์



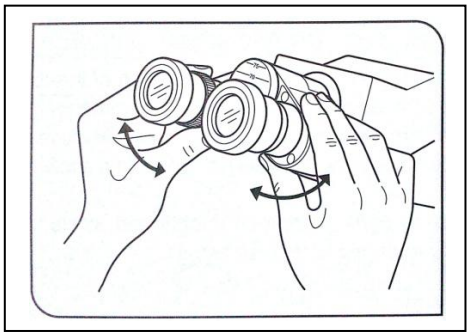
1. การอ่านสเกลตามแนวนอนให้อ่านที่ ① ตามที่แสดงในภาพ
2. การอ่านสเกลตามแนวตั้งให้อ่าน ② ตามที่แสดงในภาพ

รูปที่ 31 แสดงการอ่านตำแหน่งจากสเกลแกน X และแกน Y

ที่มา : Olympus, 2006.

7. ปรับเลนส์ตาทั้งสองให้ระยะห่างพอดีกับช่วงตาของผู้ใช้ แล้วเริ่มปรับหาระยะรูปที่กำลังขยายต่ำสุด โดยใช้ปุ่มปรับภาพหยาบ ถ้าแสงสว่างเกินไปให้ลดความสว่างโดยใช้ไดอะแฟรม

การปรับเลนส์ใกล้ตา



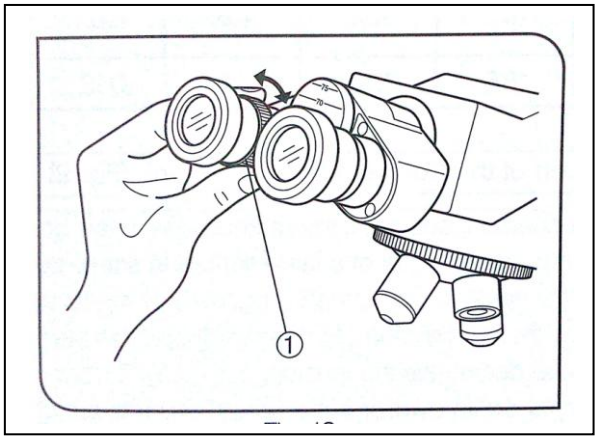
Eyepieces สามารถปรับขึ้นและลงตามลูกศร ให้ผู้ใช้ปรับระยะห่างระหว่างตาซ้ายและขาวของผู้ใช้ให้เหมาะสม จนกระทั่งภาพในเลนส์ตาซ้ายและเลนส์ตาขวาซ้อนทับกันและมองเห็นเต็มพื้นที่เดียวกัน เนื่องจากระยะห่างระหว่างตาซ้าย-ขาวของผู้ใช้แต่ละคนไม่เท่ากัน

รูปที่ 32 วิธีการปรับเลนส์ใกล้ตา

ที่มา : Olympus, 2006.

8.การปรับแก้สายตาให้ผู้ใช้หมุนที่วงแหวนใต้แลนส์ใกล้ตาด้านซ้ายและหมุนปรับความชัดให้เหมาะสม

การปรับวงแหวนระยะสายตาจากเลนส์ใกล้ตา



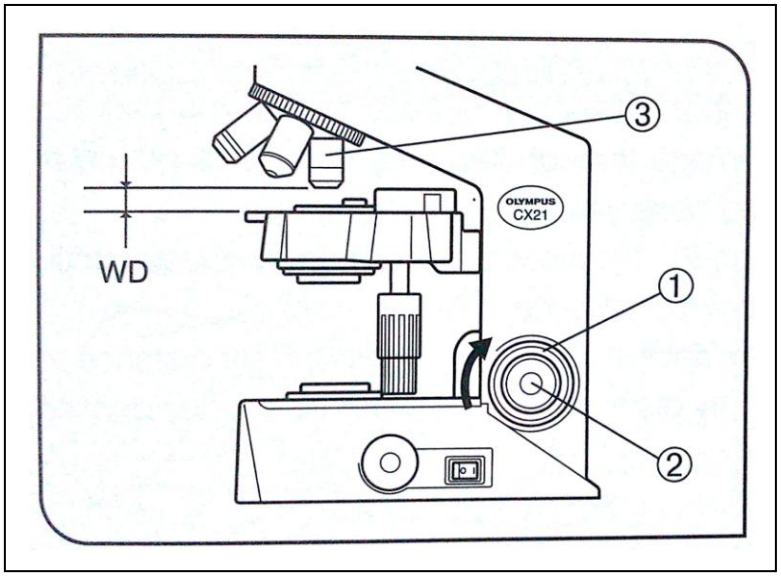
สายตาของผู้ใช้งานแต่ละคนไม่เท่ากัน เพราะฉนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องปรับสายตาก่อนการใช้งานคือให้ผู้ใช้มองผ่านเลนส์ใกล้ตาทางด้านซ้ายและปรับความละเอียดด้วยการหมุนวงแหวน ① ไปทางซ้าย-ขวา และปรับความละเอียดจากตัวอย่างสไลด์ให้คมชัด

รูปที่ 33 วิธีการปรับสายตาจากเลนส์ใกล้ตา

ที่มา : Olympus, 2006.

9. เมื่อพบภาพที่ต้องการแล้วให้ปรับความคมชัดโดยใช้ปุ่มปรับภาพละเอียด

การปรับความคมชัดของภาพโดยใช้ปุ่มปรับหยาบ-ปุ่มปรับละเอียด



1. หมุนปุ่มปรับหยาบ ① โดยหมุนตามลูกศร ให้ใกล้กับเลนส์ใกล้วัตถุ ③
2. ตรวจสอบสไลด์ตัวอย่างผ่าน eyepieces และหมุนปุ่มปรับหยาบอย่างช้าๆ ①
3.เมื่อปรับด้วยปุ่มปรับหยาบ ชัดแล้ว ให้เปลี่ยนมาใช้ปุ่มปรับละเอียด ② อีกครั้งให้ได้รูปที่คมชัด

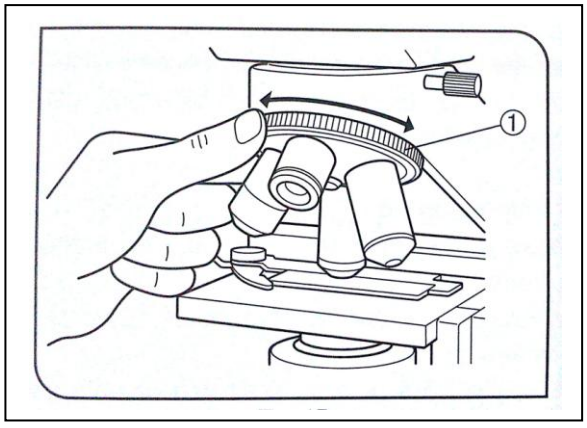
รูปที่ 34 วิธีการปรับความคมชัดของภาพ

ที่มา : Olympus, 2006.

10. มองที่เลนส์ใกล้ตาค่อยๆปรับปุ่มปรับละเอียดให้เลนส์วัตถุเลื่อนลงอย่างช้าๆ เพื่อหาระยะโฟกัสของภาพ เมื่อได้ระยะชัดแล้ว ให้ตรวจดูความสว่างโดยการปรับไดอะแฟรมเพื่อปรับความเข้มแสงตามต้องการ

11. หากต้องการเพิ่มกำลังขยายสามารถเพิ่มได้โดยการหมุนเลนส์ใกล้วัตถุที่มีกำลังขยายสูงขึ้นเข้าสู่แนวลำกล้อง แล้วปรับความคมชัดด้วยปุ่มปรับภาพละเอียดอีกครั้ง (เมื่อเปลี่ยนกำลังขยายให้สูงขึ้นแล้วห้ามปรับด้วยปุ่มปรับหยาบเพราะจะทำให้ตัว objective lens แตกได้)

การปรับกำลังขยายให้สูงขึ้น

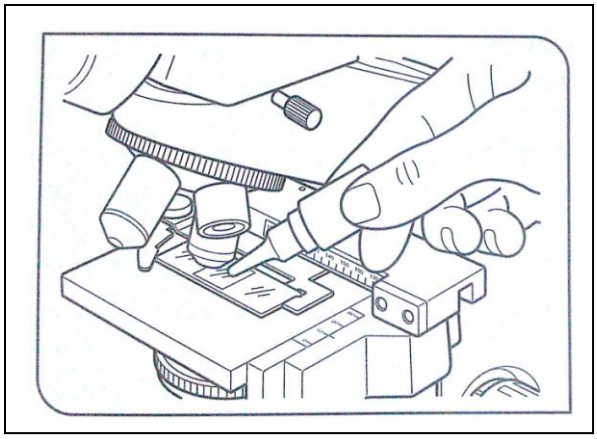


ในการเปลี่ยนเลนส์ใกล้วัตถุแต่ละครั้งควรจับที่ ① แล้วหมุนไปตามทิศทางลูกศร อย่าจับที่ตัวหลอดเลนส์ใกล้วัตถุเพราะอาจทำให้เกิดความเสียหาย

รูปที่ 35 การปรับกำลังขยายให้สูงขึ้น

ที่มา : Olympus, 2006.

12. หากต้องการใช้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 100x ในการดูสไลด์ตัวอย่างจะต้องใช้ oil immersion objective lens โดยการหมุนจานกำลังขยายมาทางเลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 4x เล็กน้อยและหยด oil ลงไป หลังจากนั้นจึงหมุนกลับมาที่เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 100x และปรับด้วยปุ่มปรับละเอียดอีกครั้งเพื่อหาความคมชัดของภาพ



รูปที่ 36 แสดงวิธีการหยด oil บนสไลด์

ที่มา : Olympus, 2006.

13. เมื่อใช้กล้องจุลทรรศน์เสร็จแล้ว ให้ปรับทุกอย่างให้เข้าที่เหมือนเดิม โดยการหมุน objective lens ไปที่หัวต่ำสุด เลื่อน stage ลงต่ำสุด และทำความสะอาดเลนส์วัตถุโดยใช้กระดาษเช็ดเลนส์เท่านั้น ถ้าใช้ objective lens 100x ให้เช็ดด้วย xylene ก่อน และตามด้วยกระดาษเช็ดเลนส์อีกครั้ง หลังจากนั้นทำความสะอาด stage ก่อนที่จะเก็บเข้าที่พร้อมทั้งคลุมด้วยถุงคลุมกล้อง

ข้อควรระวังในการใช้กล้องจุลทรรศน์

1. การยกกล้อง ควรใช้มือหนึ่งจับที่แขนกล้อง และอีกมือหนึ่งรองที่ฐาน ในขณะที่ยกกล้องควรให้ตัวกล้องตั้งตรงเสมอเพื่อป้องกันการเลื่อนหลุดของเลนส์ใกล้ตา ซึ่งหลุดออกได้ง่าย

2. สไลด์ที่นำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจะต้องไม่เปียก เพราะอาจทำให้แท่นวางวัตถุเกิดสนิม และทำให้เลนส์ใกล้วัตถุชื้นอาจเกิดราขึ้นที่เลนส์ได้

3. การปรับภาพด้วยการหมุนปุ่มปรับหยาบต้องหมุนให้เลนส์ใกล้วัตถุกับแท่นวางวัตถุเคลื่อนเข้าหากันให้หมุนช้าๆอย่างระมัดระวังเพราะเลนส์ใกล้วัตถุอาจกระทบกระจกสไลด์ทำให้เลนส์แตกได้

4. การหาภาพต้องเริ่มต้นด้วยเลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยายต่ำสุดก่อนเสมอ และปรับหาภาพให้ชัดเจนด้วยปุ่มปรับหยาบก่อน จึงค่อยใช้เลนส์ใกล้วัตถุที่มีกำลังขยายสูงขึ้น หลังจากนั้นให้ใช้ปุ่มปรับละเอียดเท่านั้นในการปรับภาพให้คมชัดขึ้น

5. ในการทำความสะอาดให้ใช้กระดาษสำหรับเช็ดเลนส์เท่านั้น และควรทำความสะอาดเลนส์ใกล้วัตถุอันที่ไม่สัมผัสกับ oil ก่อน อย่านำกระดาษเช็ดเลนส์ที่เปื้อน oil มาเช็ดเลนส์ใกล้วัตถุที่มีกำลังขยายต่ำกว่า 100 เท่า เด็ดขาด เมื่อใช้ oil immersion objective lens หลายๆครั้ง ควรใช้กระดาษเช็ดเลนส์ชุบ xylene พอหมาดๆไปซับที่เลนส์ เพื่อให้ oil ที่ติดค้างออก และไม่ควรใช้ xylene ชำระล้าง oil ทุกครั้ง

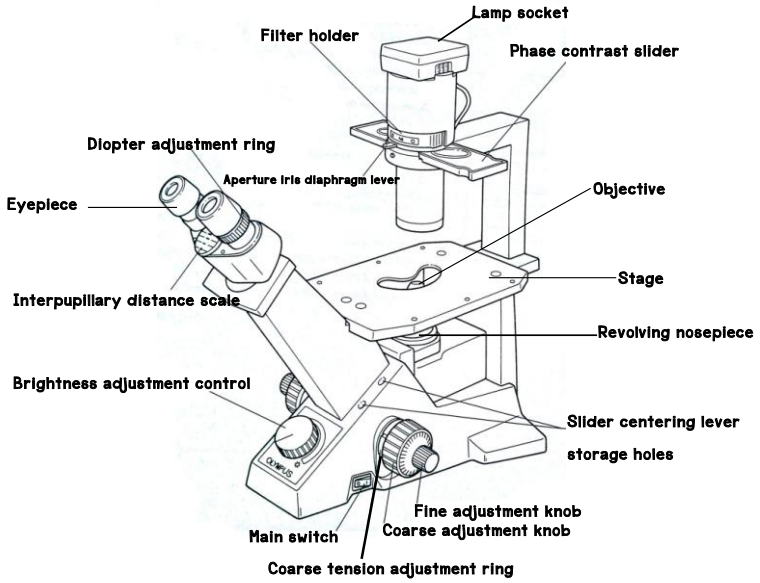
เพราะ xylene จะไปละลายน้ำมันแล้วยังละลายกาวที่ติดกับเลนส์ objective tube หลังจากนั้นเช็ดเลนส์ด้วยกระดาษเช็ดเลนส์อีกครั้งหนึ่ง

6. เมื่อใช้กล้องจุลทรรศน์เสร็จแล้วต้องเอาสไลด์ออกจากกล้อง เช็ดทำความสะอาดแท่นวางวัตถุและเช็ดเลนส์ให้สะอาด หมุนเลนส์ใกล้วัตถุให้อยู่ที่กำลังขยายต่ำสุดในตำแหน่งตรงกับลำกล้อง และเลื่อนแท่นวางวัตถุลงต่ำสุด ปรับกระจกให้อยู่ในแนวตั้งฉากกับแท่นวางวัตถุเพื่อไม่ให้ฝุ่นลง

7. คลุมด้วยถุงคลุมกล้องและนำไปเก็บในตู้และห่างจากที่ชื้นแฉะ

8. จดบันทึกการใช้งานหลังจากใช้งานเสร็จทุกครั้ง เพื่อที่จะได้ทราบความเสียหายหรือความผิดปกติที่เกิดขึ้นหลังจากการใช้งาน

12.กล้องจุลทรรศน์ชนิด Inverted microscope

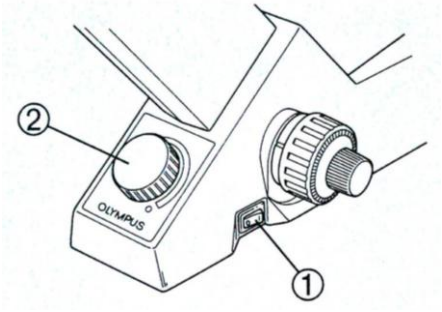


รูปที่ 37 รายละเอียดของกล้อง Olympus CK30

ที่มา : Olympus, 2006.

วิธีการใช้กล้อง

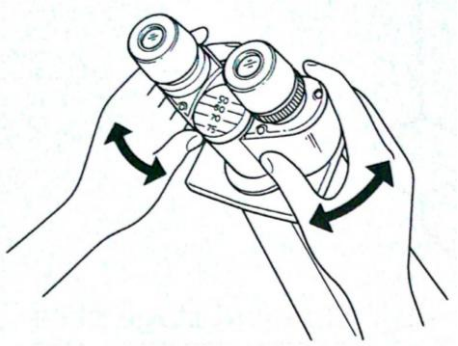
1. เสียบปลั๊กไฟฟ้าและเปิดสวิทช์ (1) ที่อยู่ข้างตัวกล้องไปที่ "I" (เพื่อเปิด) และหมุนปรับแสงสว่างที่ (2) ไปตามเข็มนาฬิกาเพื่อเป็นการเพิ่มแสงสว่างและหมุนปรับความเข้มของแสงที่ (2) ทวนเข็มนาฬิกาเพื่อลดความเข้มของแสงสว่าง



รูปที่ 38 แสดงปุ่มเปิด-ปิด และปุ่มปรับแสง

ที่มา : Olympus, 2006.

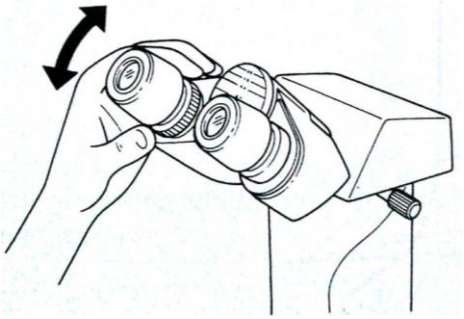
2. การปรับระยะห่างระหว่างเลนส์ใกล้ตา ให้มองผ่านเลนส์ตาทั้งสองข้างและปรับระยะห่างระหว่างตาทั้งสองข้างให้ภาพทั้งตาซ้ายและตาขวามาซ้อนทับกันจนเห็นเต็มพื้นที่เดียวกัน



รูปที่ 39 การปรับระยะห่างระหว่างตา

ที่มา : Olympus, 2006.

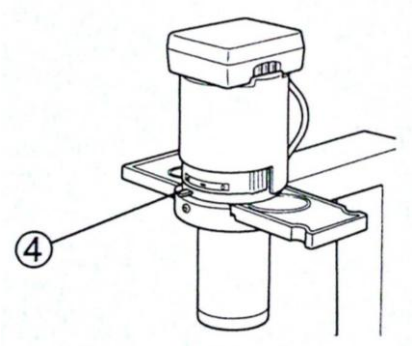
3. การปรับวงแหวนระยะสายตา เมื่อมองผ่านเลนส์ตาขวาด้วยตาข้างขวาให้หมุนปรับปุ่มปรับละเอียดเพื่อหาจุโฟกัสจากตัวอย่างสไลด์ และเมื่อมองผ่านเลนส์ตาซ้าย ด้วยตาข้างซ้ายให้หมุนวงแหวนเพื่อปรับระยะสายตาและหาจุดโฟกัสบนตัวอย่างสไลด์



รูปที่ 40 การปรับสายตาของเลนส์ใกล้ตา

ที่มา : Olympus, 2006.

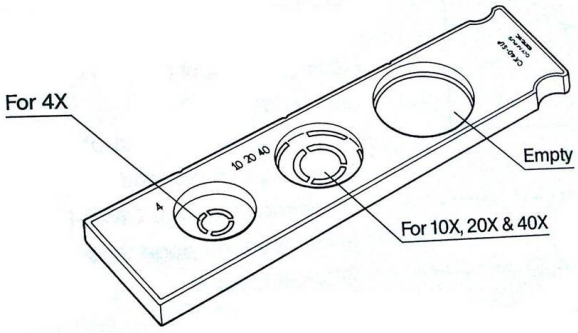
4. เมื่อต้องการดูตัวอย่างสไลด์กับ bright field ให้ปรับรูรับแสงที่ ④ เพื่อให้ภาพคมชัดจะต้องเปิดรูรับแสงให้กว้าง



รูปที่ 41 การปรับรูรับแสง

ที่มา : Olympus, 2006.

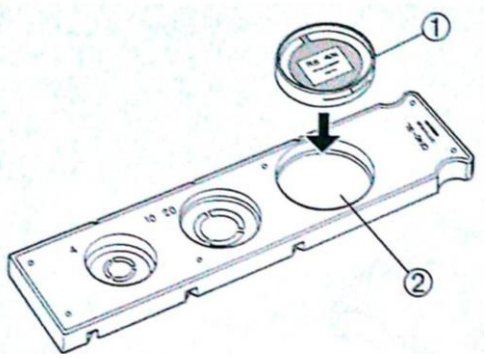
5. การปรับความคมชัดเมื่อใช้กำลังขยายของเลนส์ใกล้วัตถุ 4X phase contrast ก็จะใช้ phase 4 และเมื่อปรับกำลังขยายขึ้นเป็น 10 20 และ 40X จะใช้ phase contrast ช่องที่สองหรือช่องกลาง สำหรับช่องสุดท้ายเป็นช่องว่างในกรณีที่ต้องไม่ต้องการใช้ phase contrast หรือต้องการเพิ่มเติมก็สามารถนำ phase contrast มาใส่เพิ่มได้



รูปที่ 42 การใช้ phase contrast

ที่มา : Olympus, 2006.

6. เมื่อเปลี่ยนกำลังขยายเป็น 40X อาจจะต้องเพิ่ม phase contrast เพื่อให้ภาพมีความคมชัดมากขึ้น



รูปที่ 43 การเพิ่ม phase contrast

ที่มา : Olympus, 2006.

ข้อควรระวังในการใช้กล้องจุลทรรศน์

1. การยกกล้อง ควรใช้มือหนึ่งจับที่แขนกล้อง และอีกมือหนึ่งรองที่ฐาน ในขณะที่ยกกล้องควรให้ตัวกล้องตั้งตรงเสมอเพื่อป้องกันการเลื่อนหลุดของเลนส์ใกล้ตาซึ่งหลุดออกได้ง่าย
2. สไลด์ที่นำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจะต้องไม่เปียก เพราะอาจทำให้แท่นวางวัตถุเกิดสนิม และทำให้เลนส์ใกล้วัตถุชื้นอาจเกิดราขึ้นที่เลนส์ได้
3. การปรับภาพด้วยการหมุนปุ่มปรับหยาบต้องหมุนให้เลนส์ใกล้วัตถุกับแท่นวางวัตถุเคลื่อนเข้าหากันให้หมุนช้าๆอย่างระมัดระวังเพราะเลนส์ใกล้วัตถุอาจกระทบกระจกสไลด์ทำให้เลนส์แตกได้
4. การหาภาพต้องเริ่มต้นด้วยเลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยายต่ำสุดก่อนเสมอ และปรับหาภาพให้ชัดเจนด้วยปุ่มปรับหยาบก่อน จึงค่อยใช้เลนส์ใกล้วัตถุที่มีกำลังขยายสูงขึ้น หลังจากนั้นให้ใช้ปุ่มปรับละเอียดเท่านั้นในการปรับภาพให้คมชัดขึ้น
5. เมื่อใช้กล้องจุลทรรศน์เสร็จแล้วต้องนำสไลด์ออกจากกล้อง เช็ดทำความสะอาดแท่นวางวัตถุและเช็ดเลนส์ให้สะอาด หมุนเลนส์ใกล้วัตถุให้อยู่ที่กำลังขยายต่ำสุดในตำแหน่งตรงกับลำกล้อง และเลื่อนแท่นวางวัตถุลงต่ำสุด ปรับกระจกให้อยู่ในแนวตั้งฉากกับแท่นวางวัตถุเพื่อไม่ให้ฝุ่นลง
6. คลุมด้วยถุงคลุมกล้องและนำไปเก็บในตู้และห่างจากที่ชื้นแฉะ
7. จดบันทึกการใช้งานหลังจากใช้งานเสร็จทุกครั้ง เพื่อที่จะได้ทราบความเสียหายหรือความผิดปกติที่เกิดขึ้นหลังจากการใช้งาน

13. การใช้เครื่อง Micro plate Reader

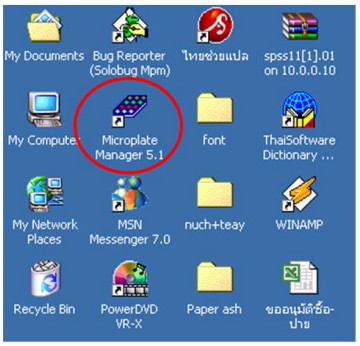
รูปที่ 44 Micro plate Reader

หลักการทำงาน

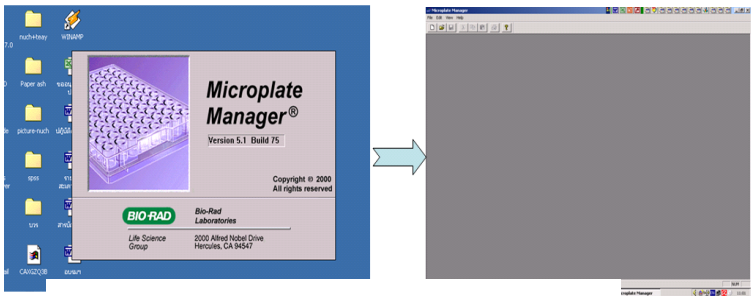
โดยจะวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง ถ้าตัวอย่างปริมาณมากก็จะทำให้สามารถดูดกลืนแสงได้มากด้วย ทำให้การศึกษาปริมาณสารได้ด้วยเครื่องนี้ สามารถใช้กับไมโครเพลทชนิด 12, 24, 48 หรือ 96-well plates ควบคุมการทำงานโดยต่อกับคอมพิวเตอร์และโปรแกรมควบคุมการทำงาน DigiRead Software

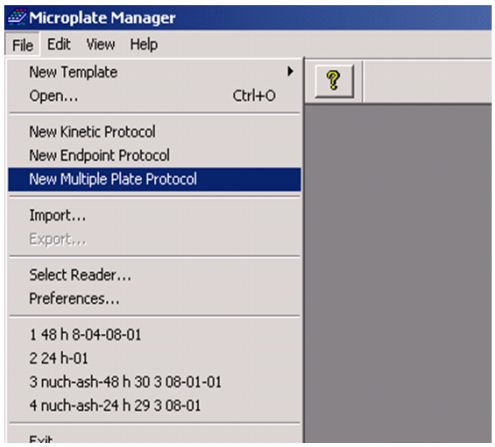
วิธีการใช้

1. เปิด computer และเปิดเครื่อง Micro plate Reader

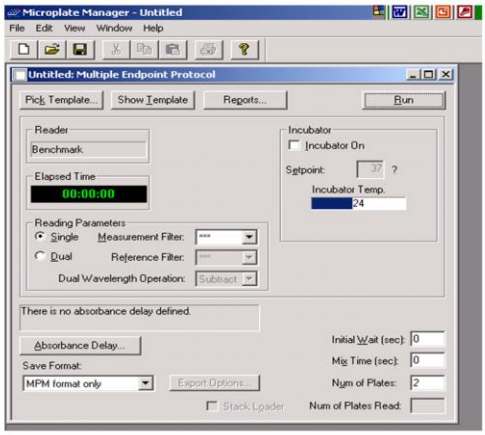


2. Double click ที่ Icon Micro plate Manager 5.1

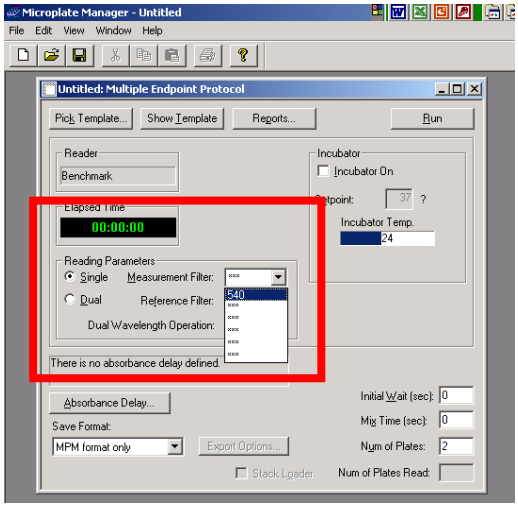




3. ให้ไป click ที่ file และเลือกที่ New Multiple Plate Protocol

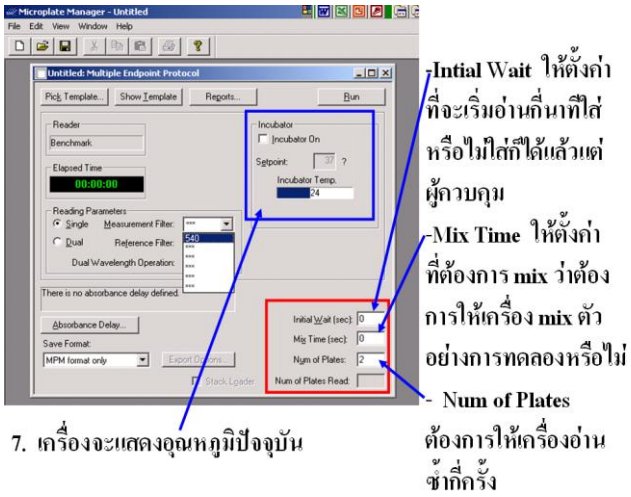


4. หน้าจอจะปรากฏ Untitled : Multiple Endpoint Protocol

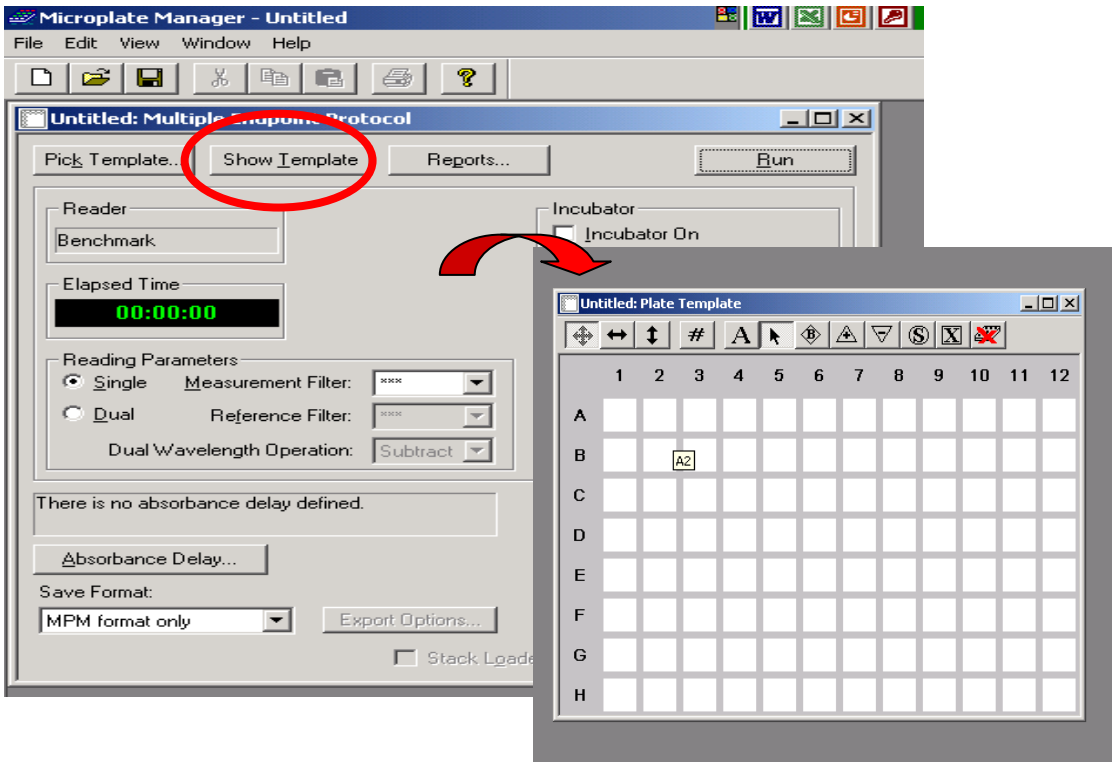


การตั้งค่าที่ต้องการ

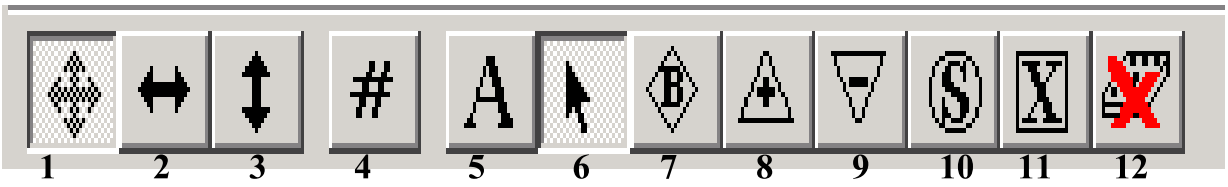
- เลือกที่ Reading Parameters เลือก Measurement Filter ให้ตรงกับเครื่องและตรงกับความต้องการในการใช้งาน



5. คลิกที่ Show Template จะปรากฏหน้าจอ Untitled: Plate Template ขึ้นมา



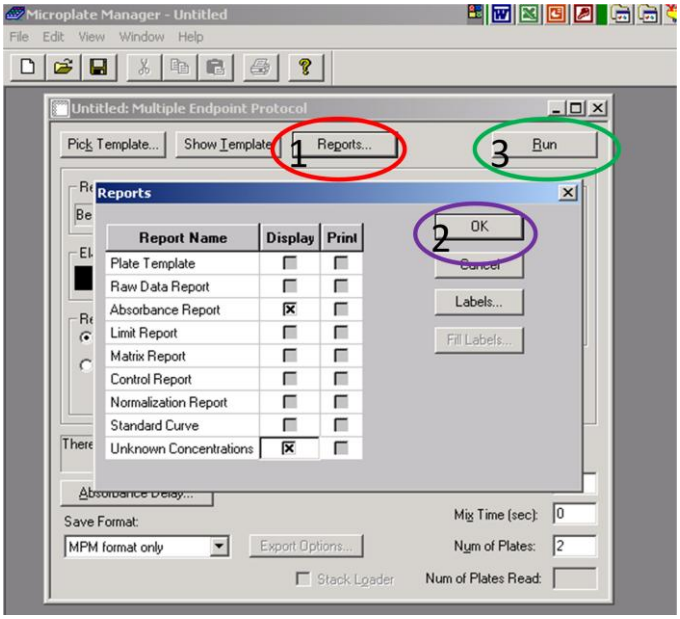
6. แสดง Icon ต่าง ๆ บน display



1. Turn off auto fill: คลิกและทำแถบบน well เครื่องอ่านทั้ง plate
2. Auto fill left to right : เครื่องจะอ่านจากทางซ้ายไปทางขวา
3. Auto fill top to bottom: เครื่องจะอ่านจากบนลงล่าง
4. Change auto fill set size
5. Define a new assay : เมื่อคลิกและเลือกบน well จะพบว่าในแต่ละ well จะเปลี่ยนเป็นสีต่าง ๆ
6. Select a well or a group of wells
7. Format as blanks button: คลิกและเลือกหลุมที่จะให้เป็น blanks
8. Format as positive controls: คลิกและเลือกหลุมที่จะให้เป็น positive
9. Format as negative controls button: คลิกและเลือกหลุมที่จะให้เป็น negative
10. Format as standards button: คลิกและเลือกหลุมที่จะให้เป็น standards
11. Format as Unknowns button: คลิกและเลือกหลุมที่จะให้เป็น unknowns

12. Format as Undefined button : คลิกหนึ่งครั้งจะเปลี่ยนกลับมาเป็น Undefined

7. เลือกที่ Reports จะปรากฏหน้านี้ขึ้นมาและให้เลือกการรายงานผลตามที่ต้องการส่วนใหญ่จะเลือก Absorbance Report และ Unknown Concentrations

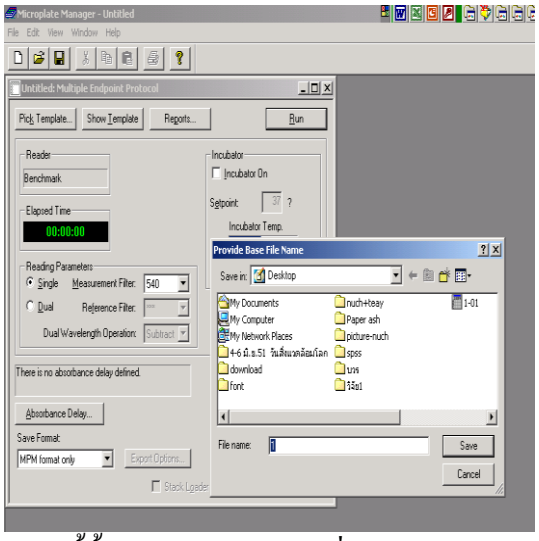


8. คลิกที่ OK

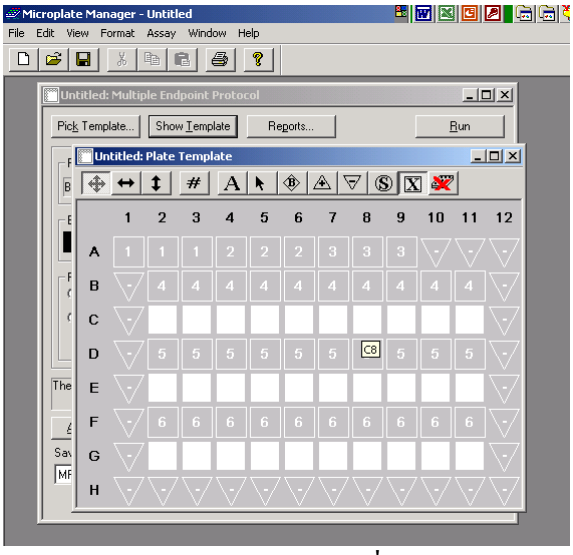
9. คลิกที่ Run

10. เมื่อใช้คำสั่ง Run เครื่องจะปรากฏหน้าจอนี้ขึ้นมาจะถามว่าต้องการที่จะ save ข้อมูลที่อ่านแล้วไว้ที่ไหน

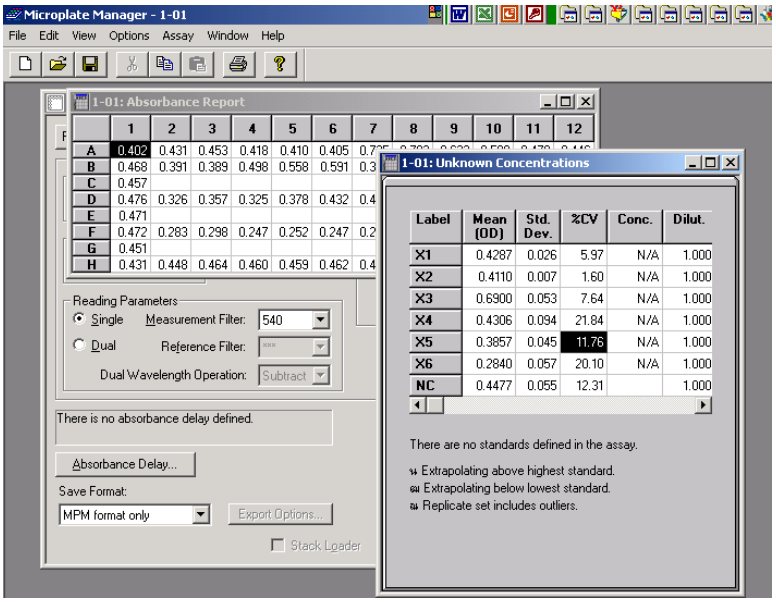
- ให้เลือกที่ Save in และเลือกตำแหน่งที่จะทำการเก็บข้อมูล
- ไปที่ File name ให้ตั้งชื่อ file name ที่ต้องการ และให้คลิกที่ Save



11. หลังจากนั้นจะปรากฏหน้าจอนี้ขึ้นมาและเลือก well ที่ต้องการอ่านข้อมูล เมื่อตั้งค่าเสร็จเรียบร้อยแล้วให้คลิก X มุมบนด้านขวามือ



12. เครื่องจะอ่านและแสดงข้อมูลดังภาพและสามารถใช้คำสั่ง print ได้จากหน้าจอนี้ โดยคลิกที่ file และเลือกที่คำสั่ง print



13. หลังจากใช้งานเสร็จแล้วให้ปิดเครื่อง Micro plate reader และตามด้วยการปิด program ของการใช้เครื่อง Micro plate แล้วจึงปิดคอมพิวเตอร์ตามปกติ

14. บันทึกการใช้งานของเครื่องหลังจากใช้เครื่องเสร็จแล้ว เพื่อจะได้ทราบถึงการทำงานของเครื่องว่าผิดปกติไปจากเดิมหรือไม่

บทที่ 3
การดูแลห้องปฏิบัติการให้ปลอดเชื้อ

การดูแลห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์ให้ปลอดเชื้อนั้นจะต้องมีความระมัดระวังในเรื่องของความสะอาดปราศจากเชื้อที่อาจติดมากับเสื้อผ้า ร่างกาย และความปลอดภัยที่อาจเกิดจากสารเคมีหรือจากการใช้เครื่องมือ ในการใช้ห้องปฏิบัติการผู้ใช้จะต้องมีวินัยในการใช้ห้องปฏิบัติการควรปฏิบัติตามข้อกำหนดของห้องปฏิบัติการอย่างเคร่งครัด

1. การเตรียมตัวเพื่อทำปฏิบัติการ

นักศึกษาควรใส่เครื่องแต่งกายให้รัดกุม และเหมาะสม ไม่ควรใส่เสื้อผ้าหลวม ในขณะที่เข้ามาทำงานในห้องปฏิบัติการควรรวบผมให้เรียบร้อยไม่ปล่อยผม ใส่เสื้อกาวน์ตลอดเวลาที่ปฏิบัติงาน เพื่อป้องกันการหกของสารเคมี ไม่ควรสวมเครื่องประดับในระหว่างปฏิบัติงานเพราะอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อโรคต่างๆเข้ามาในห้องเพาะเลี้ยงเซลล์ และเมื่อต้องปฏิบัติงานกับสารเคมีอันตรายควรสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันที่เหมาะสม เช่น เมื่อต้องปฏิบัติงานกับสารเคมีที่มีฤทธิ์กัดกร่อน หรือโลหะหนักบางชนิดควรใส่ถุงมือ และสามารถป้องกันการซึมผ่านของสารเคมีนั้นได้ ใส่แว่นตาเพื่อป้องกันการกระเซ็นของสารเคมีเข้าตา ในขณะที่ต้องทำงานควรงดการใช้โทรศัพท์เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของสารเคมีและการปนเปื้อนของเชื้อโรคที่ติดไปยังอุปกรณ์ต่างๆ รวมทั้งควรถอดเสื้อกราวน์เมื่อออกจากห้องปฏิบัติการเพื่อป้องกันการแพร่กระจายของสารเคมีจากห้องปฏิบัติการและการได้รับเชื้อเข้ามาในห้องปฏิบัติการอีกทางหนึ่งด้วย

2. ข้อห้ามสำหรับการใช้ห้องปฏิบัติการ

ในการใช้ห้องปฏิบัติการที่ดีนักศึกษาจะต้องมีวินัยและปฏิบัติตามกฎระเบียบของห้องปฏิบัติการ เช่น ห้ามรับประทานอาหาร เครื่องดื่ม สูบบุหรี่ แต่งหน้าในห้องปฏิบัติการ ห้ามเก็บอาหาร และเครื่องดื่มในตู้เย็นที่ใช้เก็บตัวอย่าง เก็บสารเคมี และเชื้อจุลินทรีย์ของห้องปฏิบัติการ ห้ามใช้เครื่องไมโครเวฟในห้องปฏิบัติการเพื่อเตรียมกาแฟ อาหาร หรืออุ่นอาหารเด็ดขาดเนื่องจากไมโครเวฟที่ใช้ในห้องปฏิบัติการที่ใช้เวฟสารเคมีจะมีสารเคมีจับอยู่ตามตู้ไมโครเวฟ หากนำมาอุ่นอาหารสารเคมีเหล่านั้นอาจตกลงไปในอาหารได้

ในการทำงานห้ามใช้ปากดูดปิเปตในการดูดสารละลายทุกชนิด ให้ใช้ลูกยางหรืออุปกรณ์ในการดูดสารละลายเท่านั้นเพราะสารเคมีมีอันตราต่อสุขภาพอาจหลุดลอดเข้าไปในปากได้ และการทำงานกับงานเพาะเลี้ยงเซลล์ในอาจทำให้มีเชื้อโรคติดไปกับงานของผู้ทำหรือผู้ทำอาจติดโรคจากงานที่ทำได้ และสิ่งสำคัญในการทำงานห้ามเล่นหรือห้ามหยอกล้อกันในขณะปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการเพราะอาจทำให้เกิดอันตรายได้

ในการเตรียมสารเคมีพวกกรด ด่าง หรือสารระเหยควรทำในตู้ดูดควันเสมอและเทกรดลงน้ำ ห้ามเทน้ำลงกรด หากผิวหนังสัมผัสกับสารเคมี ต้องล้างออกด้วยน้ำประปา หรือน้ำสะอาดทันที ควร

ล้างอย่างน้อย 15 นาที เมื่อต้องทำงานที่ต้องใช้ไฟจะต้องให้ความระมัดระวังในการจุดไฟในห้องปฏิบัติการ ดับไฟทันทีเมื่อเลิกใช้งาน ไม่ควรปล่อยให้ไฟติดทิ้งไว้โดยไม่มีคนดู และในขณะที่จุดไฟจะต้องย้ายสารเคมีประเภทไวไฟออกห่างๆก่อนทำการจุดไฟ

เมื่อปฏิบัติงานเสร็จแล้วมีของเสียที่เป็นสารเคมีควรแยกทิ้งด้วยวิธีที่ถูกต้อง พร้อมติดป้ายฉลากระบุชนิดของสารเคมีให้ชัดเจน และควรศึกษาวิธีการกำจัดขยะของเสียให้ถูกวิธีก่อนนำไปทิ้ง ไม่ว่าจะเป็นสารเคมี หรือเชื้อที่ปนเปื้อนในงานเพาะเลี้ยงเซลล์ เมื่อเลิกปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการแล้ว ควรล้างมือด้วยสบู่และน้ำสะอาด และตรวจเช็คอุปกรณ์และเครื่องมือที่เปิดใช้งานอยู่ให้ปิดและดึงปลั๊กออกทุกครั้ง เพราะถ้าไม่ปิดเครื่องหรือดึงปลั๊กออก อาจเกิดไฟฟ้ารัดวงจร หรือไฟฟ้าตก ไฟกระชาก และจะทำให้เครื่องมืออุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการเกิดความเสียหายได้

3. การจัดห้องปฏิบัติการ

ห้องปฏิบัติการเลี้ยงเซลล์สัตว์ควรเป็นห้องที่สะอาดตลอดเวลาและควรเป็นห้องที่มีโอกาสปนเปื้อนน้อยที่สุด ไม่อยู่ในที่ที่มีคนพลุกพล่านหรือมีฝุ่นละอองมาก และการจัดวางเครื่องมือควรเป็นตำแหน่งที่สามารถหยิบจับได้สะดวกหรือสามารถเข้าทำความสะอาดได้ทั่วถึง

การจัดวางวัสดุและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการควรจัดวัสดุอุปกรณ์ให้เป็นหมวดหมู่ แยกของที่รอ autoclave กับของที่ autoclave แล้วแยกให้เป็นสัดส่วน แยกอุปกรณ์ที่ใช้บ่อยๆไว้ในตู้ที่สามารถหยิบได้สะดวก ห้องที่ทำปฏิบัติการควรเป็นห้องที่ปลอดเชื้อไม่ควรมีของในห้องเยอะเกินความจำเป็น ควรมีตู้เก็บของปลอดเชื้ออยู่ใกล้ๆกับตู้ laminar air flow เพื่อสะดวกในการหยิบของและไม่ต้องเดินออกไปจากห้องปลอดเชื้อ

รักษาความสะอาดของพื้นที่ทำงาน ทำความสะอาดพื้นที่ทำงานทุกครั้งเมื่อเสร็จภารกิจในแต่ละวัน ควรทิ้งขยะ และของเสียในภาชนะที่จัดเตรียมไว้ ของเสียที่เป็นสารเคมีควรแยกเก็บ พร้อมติดป้ายฉลากระบุชนิดของสารเคมีให้ชัดเจน เมื่อสิ้นสุดการทำปฏิบัติการในแต่ละวันควรเก็บขวดสารเคมี กลับเข้าที่

4. วิธีการล้างทำความสะอาดอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

4.1 การทำความสะอาดเครื่องแก้ว

การทำความสะอาดเครื่องแก้วโดยทั่วไปล้างด้วยน้ำและน้ำยาล้างจาน โดยใช้แปรงช่วยในการขัดทำความสะอาด หลังจากล้างจนสะอาดเรียบร้อยแล้วควรชะด้วยน้ำประปา 3 ครั้ง และล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้งหนึ่งก่อนนำไปทำให้แห้ง การทำให้แห้งมีความสาคัญมาก การทำให้แห้งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การคว่ำบนตะแกรงหรือการนำใส่ในตู้อบด้วยความร้อน การผึ่งในตู้อบควรจะทำที่อุณหภูมิ 50-70 ^{o}C อย่าง น้อยเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

การทำความสะอาดเครื่องแก้วที่สกปรกมากๆหรือเครื่องแก้วที่มีการนำไปใช้กับโลหะหนักอาจจำเป็นต้องใช้สารที่มีผสมระหว่างกรดซัลฟิวริกกับโซเดียมไดโครเมต หรือของผสมระหว่างแอลกอฮอล์และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ แต่การทดลองในระดับนี้ยังไม่จำเป็นต้องใช้เพราะสารบางชนิดมีฤทธิ์กัด

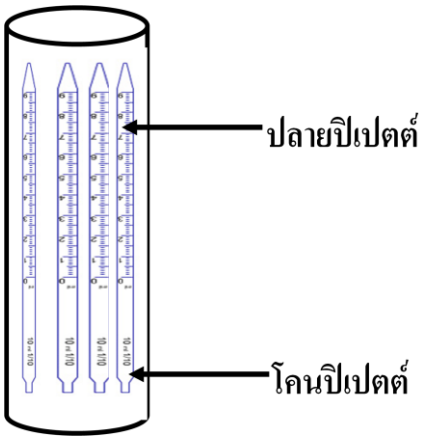
กร่อนสูงและมีโอกาสเกิดอันตรายโดยไม่จำเป็น หลักการพื้นฐานที่ผู้ทำปฏิบัติการทุกคนควรฝึกให้เป็นนิสัยคือ การทำความสะอาดทันทีที่ทำการทดลองเสร็จเพราะจะช่วยให้การล้างทำความสะอาดได้ง่ายกว่าอย่าปล่อยเครื่องแก้วสกปรกทิ้งไว้นานจนกระทั่งเกิดเป็นคราบและล้างออกยาก และที่สำคัญคือบางครั้งการทิ้งไว้นานเกินไปจนยากแก่การทำความสะอาด

เครื่องแก้วที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบเกาะผิวภาชนะ และล้างทำความสะอาดแล้วนำกลับมาใช้บ่อยๆ อาจเกิดคราบโปรตีนเกาะสะสมจึงควรนำมากำจัดคราบสะสมของโปรตีนออกด้วยการนำเครื่องแก้วไปแช่ในกรด หากพบว่าเซลล์เกาะพื้นผิวหลอดไม่ดีอาจนำหลอดไปแช่ด้วย EDTA 0.1 M ในสารละลาย NaOH 25 mM ที่อุณหภูมิ 122 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีและตามด้วย Sodium carbonate (กลัยาณีม 2550)

4.2 การล้างปิเปต

4.2.1 ใช้ปากคีบดึงจุกสำลีที่อุดโคนปิเปตออก หรือใช้น้ำที่มีแรงดันสูงใส่ในด้านปลายของปิเปต

4.2.2 นำปิเปตไปใส่ในกระบอกทรงสูงที่บรรจุน้ำยาล้างอยู่ในลักษณะด้านปลายชี้ขึ้น (รูปที่)



รูปที่ 45 การนำปิเปตแช่ในกระบอก

4.2.3 จุ่มภาชนะบรรจุปิเปตลงในถังที่มีน้ำยาทำความสะอาดเพื่อแช่ค้างคืน

4.2.4 นำปิเปตไปใส่ลงในเครื่อง Ultrasonic เพื่อล้างอัตโนมัติโดยใช้คลื่นเสียงและความร้อน

4.2.5 หลังจากนั้นให้หยดกรด HCl หรือ acetic acid ลงไปเล็กน้อย

4.2.6 หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำประปาหลายๆครั้ง และตามด้วยน้ำกลั่นอีก 1 ครั้ง

4.2.7 เมื่อล้างสะอาดแล้วให้นำปิเปตไปใส่ในตู้อบแห้ง

4.2.8 นำปิเปตที่แห้งแล้วมาอุดสำลี และบรรจุลงในกระบอกปิเปต

4.2.9 นำไปฆ่าเชื้อด้วยการใช้แรงดันไอร้อนหรือการใช้ความร้อนแห้งตามสะดวก

4.2.10 หลังจากนั้นจึงนำมาเก็บเข้าตู้ที่สะอาดแยกจากอุปกรณ์ที่ไม่ปลอดเชื้อ

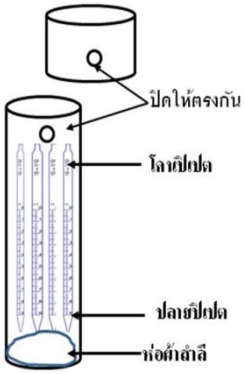
4.3 การล้างวัสดุอุปกรณ์ที่เปื้อนโลหะหนัก

การทำการทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์มักใช้วัสดุเครื่องแก้วหรืออุปกรณ์จำนวนมากหลังจากที่ทำงานเสร็จแล้ว อันดับแรกควรแยกวัสดุเครื่องแก้วที่มีเปื้อนโลหะหนักออกจากอุปกรณ์อื่นที่ไม่ได้เปื้อนโลหะหนักแยกออกต่างหากไม่ควรนำมาล้างรวมกัน นำอุปกรณ์ที่เปื้อนโลหะหนักประเภทเครื่องแก้วแช่ใน 10% (v/v) Nitric acid เป็นเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง และควรทำในตู้ดูดควัน โดยแช่ในโหลแก้วส่วนอุปกรณ์ที่เป็นพลาสติกนั้นให้นำไปแช่ใน 10% (v/v) Nitric acid เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง หลังจากแช่ในกรดแล้วให้นำออกมาล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆ ครั้งจนกรดหมด หลังจากนั้นจึงนำไปเข้าในตู้อบแห้ง และนำไปเก็บในตู้ที่ป้องกันฝุ่นละอองได้และเขียนป้ายปิดไว้ว่าล้างทำความสะอาดด้วยกรดแล้ว

5. การเตรียมอุปกรณ์สำหรับอบฆ่าเชื้อ

นักศึกษาที่ทำปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์จะต้องสามารถแยกว่าวัสดุและอุปกรณ์ประเภทไหนที่สามารถอบฆ่าเชื้อด้วยความร้อน (hot air oven) และประเภทไหนที่สามารถอบนึ่งฆ่าเชื้อได้ด้วยความดันไอร้อน (autoclave) ได้ วัสดุที่เป็นโลหะ แก้ว สามารถอบฆ่าเชื้อด้วยความร้อนแห้งได้ ส่วนพวกที่เป็นพลาสติกบางชนิด เครื่องแก้ว และโลหะ สามารถนำไปอบนึ่งด้วยแรงดันไอร้อนได้ ตัวอย่างเช่น

Pipette หรือ Pasteur pipette ไปผ่านการฆ่าเชื้อนั้นจะต้องเตรียม pipette ให้สะอาดโดยการล้างทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจาน ล้างน้ำประปา และนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง หลังจากนั้นให้นำไปเข้าตู้อบแห้ง เมื่อ pipette แห้งแล้วให้นำมาอุดด้วยสำลี ในการอุดสำลีไม่ควรอุดจนแน่นหรือหลวมเกินไป หากอุดจนแน่นจะทำให้เวลาดูดอาหารจะดูดไม่ขึ้น และถ้าอุดสำลีหลวมไปจะทำให้สำลีหลุดลงในอาหารได้ เมื่ออุดจุกสำลีเรียบร้อยแล้วให้นำไปใส่ในกระบอกใส่ pipette ที่ด้านใต้กระบอกมีสำลีที่หุ้มด้วยผ้าก๊อตรองรับอยู่ (เพื่อป้องกันการกระแทกของปลาย pipette กับก้นกระบอกซึ่งอาจทำให้ปลาย pipette แตกได้) หลังจากนั้นให้ปิดฝากระบอกและปิดให้รูบริเวณฝากระบอกกับตัวกระบอกตรงกัน (รูปที่ 46) แล้วจึงนำไปเข้าตู้อบฆ่าเชื้อโดยใช้อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำ แต่จะต้องนำกระบอก pipette ใส่ถุงร้อนและปิดปากถุงให้สนิทแล้วจึงนำไปนึ่งด้วยแรงดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที หรือการอบฆ่าเชื้อบีกเกอร์สามารถอบฆ่าเชื้อด้วยความร้อน และด้วยแรงดันไอความร้อนได้ ซึ่งมีวิธีการเตรียมแตกต่างกันคือ ถ้าหากต้องการนำไปนึ่งฆ่าเชื้อให้นำบีกเกอร์ใส่ถุงพลาสติกร้อนและปิดปากถุงให้เรียบร้อยและนำไปนึ่งฆ่าเชื้อได้เลย หากต้องการนำไปอบฆ่าเชื้อด้วยความร้อนให้นำบีกเกอร์ปิดด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟลอยด์แล้วจึงนำไปเข้าตู้อบฆ่าเชื้อด้วยความร้อนเป็นต้น



รูปที่ 46 แสดงการเตรียมปิเปตใส่ในกระบอกตวง

หลอดฝาเกลียวและขวด หากต้องการฆ่าเชื้อหลอดฝาเกลียวและขวดหรือภาชนะที่มีฝาปิดจะต้องปิดฝาและจะต้องคลายฝาเล็กน้อยแล้วนำไปใส่ถุงร้อนหรือติดเทปแล้วหุ้มด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟอยด์ ก่อนไป autoclave หลังจากอบนึ่งฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้วให้นำขวดและหลอดที่ห่อด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟอยด์มาบิดฝาให้สนิทก่อนนำไปเข้าตู้อบแห้ง สำหรับที่ใส่ในถุงร้อนนำไปเข้าตู้อบแห้งได้ทันที

บีกเกอร์แก้ว ให้นำบีกเกอร์มาหุ้มปากด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟอยด์และปิดเทป สามารถนำไปนึ่งด้วยการ autoclave หรือ hot air oven หากเป็นบีกเกอร์พลาสติกให้นำไปใส่ถุงร้อนใสปิดปากถุงแล้วนำไปอบนึ่งฆ่าเชื้อด้วยการ autoclave เท่านั้น

6. การทำลายเชื้อและการกำจัดขยะของเสีย

เมื่อทำการทดลองในห้องเพาะเลี้ยงเซลล์หากพบการปนเปื้อนของเชื้อต่างๆ เกิดขึ้นให้รีบนำออกจากห้องปฏิบัติการทันทีและนำไปทำลายเชื้อด้วยวิธีการ autoclave หรือเลือการใช้น้ำยาฆ่าเชื้อที่ทำลายเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพและไม่ทำให้เกิดความเสียหาย เช่น การใช้ความเข้มข้น chlorine 1,000 ppm กับงานใช้งานทั่วไป chlorine 2,500 ppm สำหรับการฆ่าเชื้อก่อนล้างทำความสะอาดหรือการทิ้ง และความเข้มข้น chlorine 10,000 ppm สำหรับกำจัดคราบเลือดและเซลล์(กัลยาณี, 2547) ในการล้างทำลายเชื้อให้พิจารณาถึงการเลือกสารและความเข้มข้นที่จะใช้งานให้เหมาะสม

ในการกำจัดของเสียก่อนทิ้งนั้นมีความสำคัญเป็นอย่างมากและต้องมีความปลอดภัยก่อนทิ้งลงถังหรือก่อนที่จะนำออกไปจากห้องปฏิบัติการ ควรมีการแยกของเสียที่จะทิ้งออกจากห้องปฏิบัติการ เช่น ของมีคม ของที่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ สารอันตราย หรือขยะติดเชื้อต่างๆ ของเสียที่มีการปนเปื้อนหรือการติดเชื้อจะต้องผ่านการทำให้ปลอดเชื้อก่อนนำไปทิ้งซึ่งสามารถทำได้ด้วยการ autoclave สำหรับของมีคมนั้นก่อนทิ้งนั้นให้ห่อกระดาษหลายๆชั้นเพื่อป้องกันอันตรายกับผู้ที่มาเก็บขยะและควรเขียนบนกระดาษห่อให้ชัดเจนว่าเป็นของมีดคมอันตราย เพื่อลดอัตรายที่จะเกิดขึ้นได้

7. การทำความสะอาดห้องปลอดเชื้อ

ในการทำความสะอาดห้องนั้นควรแยกอุปกรณ์ทำความสะอาดจากห้องอื่นๆ หรือควรมีอุปกรณ์ทำความสะอาดเฉพาะห้องปลอดเชื้อเท่านั้น เนื่องจากถ้าให้อุปกรณ์ทำความสะอาดปะปนกับห้องอื่นๆ

เช่น ห้องน้ำ อาจจะนำเชื้อต่างๆเข้ามาปนเปื้อนห้องปลอดเชื้อได้ ดังนั้นการทำความสะอาดห้องปลอดเชื้อในแต่ละครั้งต้องกำชับผู้ดูแลความสะอาดให้ระมัดระวังเรื่องอุปกรณ์การทำความสะอาดเป็นพิเศษ

ในการทำความสะอาดห้องปลอดเชื้อนั้นเราสามารถทำความสะอาดเหมือนกับการทำความสะอาดห้องทั่วๆไป แต่หลังจากกวาถูพื้นแล้วอาจจะลงน้ำยาฆ่าเชื้อเดือนละครั้งเพื่อกำจัดเชื้อโรคตามพื้นหรือตามผนังต่างๆ สักครั้งด้วยเดทตอล เช็ดทำความสะอาดพื้น บริเวณโต๊ะต่างๆ ให้สะอาด หลังจากทำความสะอาดพื้นต่างๆเรียบร้อยแล้วให้ใช้รังสี UV (ultraviolet light) ที่ติดคู่กับหลอดไฟฟ้าบนเพดานห้อง โดยการเสียบ key ในบล็อคเสียบ key (รูปที่ 47) รังสี UV ที่ความยาวคลื่น 260 nm นั้นสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์และไวรัสได้โดยไม่มีผลต่อ nucleic acids (กัลยาณี, 2548)

วิธีการรมควัน (fumigation) ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถทำได้ง่ายโดยใช้ด่างทับทิม 20 กรัมและฟอร์มาลีน 40% 40 ซี.ซี. ต่อพื้นที่ 100 ลูกบาศก์ฟุต วิธีการรมควันห้องสามารถทำได้ดังนี้ชั่งด่างทับทิมแล้วใส่จานแก้ว ปูกระดาษหนังสือพิมพ์บนพื้น และวางจานแก้วที่มีด่างทับทิมหลังวางตำแหน่งของจานแก้วที่มีด่างทับทิมตามจุดต่างๆเรียบร้อยแล้วให้เทฟอร์มาลีนลงในจานแก้วแล้วรีบปิดประตูทันที ระวังอย่าดมควันฟอร์มาลีนมัลดีไฮด์ เพราะจะทำให้เยื่อจมูก ตาอักเสบได้ ทิ้งไว้ หนึ่งคืน หลังจากที่เทฟอร์มาลีนลงไปในจานแก้วที่มีด่างทับทิบจะเกิดควันลอยขึ้นมาในอากาศ ควรทำการปิดทางผ่านของอากาศเช่นขอบประตูหน้าต่างด้วยเทปกาว และควรปิดป้ายที่หน้าห้องด้วยว่ากำลังรมควันห้องฆ่าเชื้อห้ามเข้าเพื่อไม่ให้เกิดอันตราย ซึ่งวิธีนี้อาจใช้เวลานานจนกว่าไอระเหยจะจางหายไป ซึ่งโดยปกติมักจะทำในช่วงเวลาที่มีวันหยุดติดต่อกันหลายวันและควรอยู่ในช่วงที่ไม่มีการทำปฏิบัติการต่อเนื่องหรืออาจทำในช่วงที่มีการติดเชื้อรุนแรงและระยะเวลานานควรทำการรมควันห้องหรืออาจรมควันห้องเมื่อไม่ได้ใช้ห้องปฏิบัติการเป็นเวลานาน

รูปที่ 47 บล็อคเสียบ key UV

สำหรับน้ำยาฆ่าเชื้อนั้นนิยมใช้ทำลายเชื้อบนอุปกรณ์และพื้นผิวห้องหรือตู้โดยทั่วไปจะใช้กระดาษทิชชู สำลี หรือผ้าสะอาดๆ ชุบน้ำยาฆ่าเชื้อ ฉีดพ่น หรือการแช่อุปกรณ์ หรือนำไปใส่เพื่อทำลายเชื้อในอาหารที่มีการปนเปื้อนก่อนทิ้ง ซึ่งผู้ใช้ควรเลือกน้ำยาฆ่าเชื้อให้เหมาะสมกับงานที่ใช้ เพราะน้ำยาฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อไม่เท่ากับการ autoclave หรือการอบด้วย hot air oven ดังนั้นผู้ใช้ควรพิจารณาถึงความเข้มข้น ระยะเวลา และวิธีการใช้น้ำยาฆ่าเชื้อแต่ละชนิดว่ามีคุณสมบัติอย่างไรดังแสดงในตารางที่ 2 (กัลยาณี, 2550)

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อต่อจุลินทรีย์

น้ำยาฆ่าเชื้อ	ประสิทธิภาพ			
	รา	แบคทีเรีย	เอนโดสปอร์	ไวรัส
Aldehydes	+	+	+	+
Hypochloride	+	+	+	+
Phenolics	+	+	-	+/v
Alcohol	-	+	-	+/v

+ ทำลายได้ - ทำลายไม่ได้ v ทำลายได้บางส่วนขึ้นอยู่กับชนิดของไวรัส

Aldehydes มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อดีแม่มีสารอินทรีย์สูงนิยมใช้ความเข้มข้น 4 % แช่นานประมาณ 30 นาทีหรือมากกว่านั้นถ้าใช้ระยะเวลาที่นานขึ้นจะช่วยทำลายสปอร์ได้ดี

Hypochlorite ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อค่อนข้างต่ำถ้ามีสารอินทรีย์อยู่ในระดับสูง และสามารถกัดกร่อนโลหะได้ ความเข้มข้นที่ใช้กันโดยทั่วไปคือ 2,500 ppm ใช้ระยะแวลาในการแช่น้ำยานานประมาณ 30 นาที หรือแช่ทิ้งไว้ค้างคืน

Phenolics มีประสิทธิภาพในการทำลายสปอร์ของแบคทีเรีย ปกตินิยมใช้ความเข้มข้น 2-5 % หรือตามคำแนะนำจากผู้ผลิต

แอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol 70%) เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้กันมากชนิดหนึ่ง โดยทั่วไปมักนำมาใช้ในการทำลายเชื้อพื้นผิว มือ และเช็ดทำความสะอาดในบริเวณที่มีโอกาสปนเปื้อนได้น้อยเนื่องจากแอลกอฮอล์มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อรา แบคทีเรียได้ต่ำ

บทที่ 4
ปัญหาและวิธีแก้ปัญหาในห้องปฏิบัติการ

ปัญหาสำคัญที่พบจากการเป็นผู้ช่วยสอนและเตรียมปฏิบัติการในวิชา“เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์” นั้น พบว่านักศึกษาที่ลงปฏิบัติการไม่คุ้นเคยกับทักษะการใช้เทคนิคปลอดเชื้อเนื่องจากไม่เคยผ่านการเรียนมาก่อนจึงทำให้เกิดข้อผิดพลาดในการปฏิบัติที่สำคัญ 3 ประการ คือ

1. นักศึกษาใช้อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ยังไม่ถูกต้อง จึงจำเป็นจะต้องมีการฝึกฝนโดยมีเจ้าหน้าที่เป็นผู้ให้คำแนะนำการใช้งานให้เกิดความชำนาญก่อนที่จะให้นักศึกษาใช้งานเอง

2. ปัญหาการปนเปื้นเชื้อจุลินทรีย์ในงานเพาะเลี้ยงเซลล์จึงทำให้นักศึกษาไม่สามารถทำปฏิบัติการในหัวข้อที่อยู่ในแผนการสอนของปฏิบัติการอื่นๆต่อไปได้ เนื่องจากอาจารย์ผู้สอนได้กำหนดให้นักศึกษาแต่ละคน เพาะเลี้ยงเซลล์ให้เป็นและเพาะเลี้ยงเซลล์เพิ่มจำนวนสำหรับใช้ในการทดลองต่อๆไปด้วยตนเอง

3. นักศึกษาใช้วัสดุอุปกรณ์และอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์จำนวนเพิ่มขึ้น ทำให้ภาควิชามีค่าใช้จ่ายในการปฏิบัติการสอนสูง เนื่องจากเป็นวัสดุปลอดเชื้อใช้ได้เพียงครั้งเดียวซึ่งทำให้ภาควิชามีค่าใช้จ่ายเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์และวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในปฏิบัติการนั้นมีราคาค่อนข้างสูง

ปัญหาที่พบส่วนใหญ่ในการเตรียมวัสดุอุปกรณ์คือ นักศึกษาไม่สามารถแยกประเภทของเนื้อพลาสติกที่สามารถนำไปอบนึ่งฆ่าเชื้อได้ บางครั้งมักพบว่าพลาสติกที่นำไปอบนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอร้อนนั้นหลอมละลาย ดังนั้นนักศึกษาจึงมีความจำเป็นที่จะต้องเรียนรู้ถึงเนื้อพลาสติกที่สามารถนำไปอบนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอร้อนได้อย่างถูกต้อง

สำหรับพลาสติกที่สามารถทนความร้อนได้นั้นได้แก่ โพลิเอทิลีน (Polyethylene: PE) และ โพลิโพรพิลีน (Polypropylene: PP) โพลิเอทิลีนเป็นพลาสติกที่ไอน้ำซึมผ่านได้เล็กน้อย แต่อากาศผ่านเข้าออกได้ มีลักษณะขุ่นและทนความร้อนได้พอควร เป็นพลาสติกที่นำมาใช้มากที่สุดในอุตสาหกรรม เช่น ท่อน้ำ ถัง ถุง ขวด แท่นรองรับสินค้า โพลิโพรพิลีน เป็นพลาสติกที่ไอน้ำซึมผ่านได้เล็กน้อย แข็งกว่าโพลิเอทิลีนทนต่อสารไขมันและความร้อนสูงใช้ทำแผ่นพลาสติกถุงพลาสติกบรรจุอาหารที่ทนร้อน หลอดดูดพลาสติก (พลาสติก,2555) ซึ่งสามารถดูได้ตามผลิตภัณฑ์จะเขียนบอกเป็นอักษรย่อว่า PP หรือ PE เป็นต้น

ในระยะแรกอาจารย์ผู้สอนได้แก้ปัญหา โดยให้เจ้าหน้าที่ผู้ควบคุมปฏิบัติการเป็นผู้เพาะเลี้ยงเซลล์สำรองไว้เพื่อให้นักศึกษาได้ใช้ในการทำปฏิบัติการในครั้งต่อๆ ไป แต่เมื่อให้นักศึกษาทำปฏิบัติการไปได้ระยะหนึ่ง พบว่าเกิดการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเซลล์ นักศึกษามากกว่าร้อยละ 50 ของจำนวนนักศึกษาที่ลงทะเบียนเรียน ทำให้ต้องมีการซ่อมเสริมปฏิบัติการนอกเวลาราชการและมีค่าใช้จ่ายสูง

จากการสังเกตการทำปฏิบัติการของนักศึกษาและเรียนให้อาจารย์ทราบ และเสนอแนวทางแก้ปัญหา คือ ขอให้นักศึกษาฝึกใช้อุปกรณ์และเทคนิคการใช้อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์และผ่านการทดสอบรายบุคคลแล้ว จึงจะให้เพาะเลี้ยงเซลล์ได้ และอาจารย์ได้อนุญาตให้ข้าพเจ้าทดลองวางแผนแก้ปัญหา แต่การให้นักศึกษาฝึกปฏิบัติในตู้ปลอดเชื้อ มีข้อจำกัดด้วยจำนวนตู้และพื้นที่ในการทำปฏิบัติการและสังเกตการทำปฏิบัติการของนักศึกษา ดังนั้นจึงได้ออกแบบการฝึกปฏิบัติการให้กับนักศึกษาฝึกปฏิบัติ จากปัญหาที่เกิดขึ้นดังกล่าวจึงได้มีการจำลองพื้นที่สำหรับให้นักศึกษาได้ฝึกจับวัสดุอุปกรณ์และเรียนรู้จากวัสดุที่ผ่านการใช้งานแล้ว มาล้างทำความสะอาดและเก็บไว้เป็นตัวอย่างสำหรับให้นักศึกษาได้เรียนรู้และทำความคุ้นเคยในการฝึกจับ การดูด-ปล่อยสารละลายให้เกิดทักษะก่อนที่จะได้ปฏิบัติงานจริง

1. ใช้กระดาษหนังสือพิมพ์วางบนโต๊ะปฏิบัติการ เพื่อกำหนดให้เป็นพื้นที่ปลอดเชื้อแทนตู้ larminar air flow

2. ใช้ด่างทับทิมผสมน้ำแทนอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์นอกจากจะช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายแล้ว ยังมีสีทำให้นักศึกษาสังเกตเห็นปริมาตรได้ง่ายและชัดเจนเพื่อช่วยในการฝึกใช้ปิเปตบอย (Pipette Boy) โดยการควบคุมการดูดและปล่อยอาหารเลี้ยงเซลล์

3. ใช้ขวดเพาะเลี้ยงเซลล์ และถาดเพาะเลี้ยงเซลล์ ชนิด 24 และ 96 หลุม ที่ผ่านการใช้งานมาแล้วนำมาใช้ในการฝึก ซึ่งช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายลงได้มาก เพราะราคาขวดเพาะเลี้ยงเซลล์ ถาดเพาะเลี้ยงเซลล์ ชนิด 24 และ 96 หลุม นั้นมีราคาค่อนข้างสูง

4. ให้นักศึกษาแต่ละคนฝึกดูด-ปล่อยอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์จากขวดอาหาร ลงในขวดเพาะเลี้ยงเซลล์และถาดเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 24 และ 96 หลุม จากนั้นให้ฝึกย้ายเซลล์ในขวดเพาะเลี้ยงเซลล์ไปเลี้ยงยังถาดที่มีหลุมเล็กๆ เพื่อใช้ในการศึกษาทดลอง และฝึกเจือจางเซลล์เพื่อทำ cell cloning ในปฏิบัติการที่นักศึกษาจะต้องทำต่อไป

5. ควบคุมปฏิบัติการในกลุ่มย่อย สังเกตการทำงานและให้คำแนะนำเพื่อปรับปรุงเทคนิคให้ได้มาตรฐาน และนักศึกษาทุกคนต้องสอบปฏิบัติเทคนิค ก่อนได้รับอนุญาตให้ทำปฏิบัติการจริงโดยใช้วัสดุอาหารเลี้ยงเซลล์ ในตู้ปลอดเชื้อ

จากการจัดปฏิบัติการเพื่อแก้ปัญหาการเรียนการสอนดังกล่าวทำให้ลดปัญหาการเพาะเลี้ยงเซลล์โดยพบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียลดลงได้มาก แต่ยังพบว่ามีการปนเปื้อนอยู่บ้างซึ่งสังเกตได้จากนักศึกษาที่มีปัญหาแล้วอาจารย์นำมาวิเคราะห์วิจารณ์กันในชั้นเรียนของปฏิบัติการพบว่าเกิดจากการเปิดปิดฝาขวดเพาะเลี้ยงเซลล์โดยมีเทคนิคที่ไม่ถูกต้อง

จากปัญหาดังกล่าวจึงได้ค้นหาอุปกรณ์เพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีจำหน่ายในบริษัทต่างๆ และพบว่ามีภาชนะเพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายหลอดทดลอง แต่มีพื้นแบบเรียบ 1 ด้าน จึงสามารถวางบนแท่นของกล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจเซลล์ได้ เรียกหลอด Leighton's Tube นอกจากนี้ได้แนวคิดจากที่เคยเรียนจุลชีววิทยาซึ่งใช้เทคนิคปลอดเชื้อในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยหลอดทดลอง (test tube) จึงนำเสนออาจารย์ว่าหลอด Leighton's Tube นี้เป็นหลอดทรงสูงซึ่งมีส่วนของปากหลอดแคบนักศึกษาสามารถลนเปลวไฟเพื่อฆ่าเชื้อได้ดี และเป็นแก้ว จึงสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้ อีกทั้งยังช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายและลดการสร้างขยะพลาสติกลง จากแนวคิดนี้อาจารย์จึงมอบหมายให้ติดต่อซื้อหลอด Leighton's Tube มาใช้ในปฏิบัติการครั้งแรกๆ จนเมื่อนักศึกษาได้ทำปฏิบัติการไป 2 สัปดาห์แล้ว จึงเปลี่ยนมาใช้ถาดเลี้ยงเซลล์ตามคู่มือปฏิบัติการ

การจัดปฏิบัติการเพื่อแก้ปัญหาการเรียนการสอนวิชา "เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์" ดังที่กล่าวมาช่วยแก้ปัญหาการทำปฏิบัติการให้เป็นไปตามแผนการสอนตามที่ผู้สอนได้กำหนดไว้ และช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายของภาควิชาในการซื้อวัสดุและอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ลง อีกทั้งช่วยแก้ปัญหาการเตรียมปฏิบัติการซ่อมเสริมซึ่งใช้เวลาทั้งของนักศึกษาและอาจารย์ผู้สอนมากกว่าปกติ ในฐานะของผู้เตรียมปฏิบัติการเห็นว่าเทคนิคนี้เป็นวิธีปฏิบัติที่มีประโยชน์กับผู้ที่มีปัญหาในลักษณะเดียวกัน สามารถนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไป

ปัญหาการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่มักพบได้บ่อยๆในห้องปฏิบัติการก็คือนักศึกษาไม่รู้จักเครื่องมือและขาดความรู้เรื่องวิธีการใช้งานเครื่องมือวิทยาศาสตร์ จึงทำให้เกิดปัญหาและความเสียหายกับเครื่องมือตามมา ดังนั้นก่อนการใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์นั้นนักศึกษาจะต้องศึกษาวิธีการใช้เครื่องมือให้ถูกต้องจากคู่มือหรือขอคำแนะนำจากผู้ควบคุมเครื่องมือวิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ และต้องฝึกใช้เครื่องมือให้มีทักษะและความชำนาญ เพื่อลดปัญหาเรื่องความเสียหายกับตัวเครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ ปัญหาการใช้เครื่องมือที่ผิดวิธีมักทำให้เกิดความผิดพลาดในงานเพาะเลี้ยงเซลล์ จึงมีผลทำให้การทำงานในห้องปฏิบัติการเกิดความล้าช้าได้ ดังนั้นจึงมีวิธีการแก้ไขเพื่อลดความผิดพลาดที่จะเกิดขึ้นนี้โดยการให้นักศึกษาฝึกการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ให้เกิดทักษะและความชำนาญก่อนและเมื่อนักศึกษาทำปฏิบัติการจริงก็มีการควบคุมการทำงานอย่างใกล้ชิด เพื่อป้องกันความผิดพลาดและความเสียหายเนื่องจากบางครั้งเครื่องมือเกิดความเสียหายเมื่อแจ้งบริษัทตัวแทนเพื่อทำการซ่อมบำรุงนั้นอาจเกิดความล้าช้าเนื่องจากต้องรอบริษัทเข้ามาตรวจสอบความเสียหาย บางครั้งห้องปฏิบัติการอาจจำเป็นต้องมีเครื่องมือที่มีความจำเป็นมากๆไว้สำรองไว้อีกหนึ่งชุด เช่นตู้ CO_2 Incubator ตู้ -20 องศาเซลเซียส การสำรองก๊าซ $\mathbf{CO_2}$ ไว้อย่างน้อยถึงถัง

เอกสารอ้างอิง

กัลยาณี จิรศรีพงศ์พันธ์ และนวลอนงค์ จิระกาญจนกิจ.ความรู้พื้นฐานการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 1. นครปฐม : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร พระราชวังสนามจันทร์,2550.

กัลยาณี จิรศรีพงศ์พันธ์. เทคนิคพื้นฐานการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 1. นครปฐม : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร พระราชวังสนามจันทร์,2547.

บริษัทกิปไทย จำกัด. Product guide 2003-2004. อาคารกิปไทย 44/6 ถ. สุทธิสาร แขวงสามเสนนอก เขตห้วยขวาง, กรุงเทพฯ. 94 น.

บริษัท โพลี่เรจน์อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด. คู่มือการใช้เครื่อง Wellwash 4 MK II. 18/129 ม. 15 ถ. ร่มเกล้า แขวงแสนแสบ เขตมีนบุรี, กรุงเทพฯ. 4 น.

บริษัท พาราไซแอนติฟิค จำกัด และบรัท พาราวินเซอร์ จำกัด. UV-1601 Thai Version. 968 ถ. พระราม 4 แขวงสีลม เขตบางรัก กรุงเทพฯ. 40 น.

เทคนิคการใช้ Micropipette ที่ถูกต้อง. (online) 20 July 2012 . http://www.euroscan.co.th/th/main/content.php?page=products&category=37&id=137 .

พลาสติก. (Online) 24 มิถุนายน 2555 . http://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B8%9E%E0%B8%A5%E0%B8%B2%E0%B8%AA%E0%B8%95%E0%B8%B4%E0%B8%81

เรณู เวชรัชต์พิมล.เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์.ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2540.

วีระ วงศ์คำ. เทคนิคพื้นฐานการเลี้ยงเซลล์สัตว์ในห้องปฏิบัติการ.ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2546.

Astell. Astell Scientific Certificate of Examination. Powerscroft Rd Sidcup Kent DA 14DT, United Kingdom. 53 p.

Cleaver Scientific Ltd. Instruction Manual Power supply. MP 250 V/MP 300V. 20 p.

Endusystems (Thailand) Ltd. คู่มือการใช้เครื่อง Autoclave ยี่ห้อ Astell รุ่น AMA 260s, ASB260, AMA270s, กรุงเทพฯ 1 น.

Denver Instrument Company. Operation Manual Model 215 pH meter Model 220 pH/Conductivity meter Model 225pH/Ion meter Model 250 pH/ Ion/ Conductivity meter. 6542 Fig street Arvada, Colorado 8004. 25p.

Freshney, R.I. Culture of nimal cells : A manual of basic technique. New York : Wiley-liss, 2005.

Lab system. LABSYSTEMS Wellwash 4 MK 2 Operation Manual. Research Thchnologies division P.O. Box 208 FIN-00811 Helsinki, FINLAND. 24 p.

Morgan , S.J. and Darling, D.C. Animal cell culture.Oxford, UK, 1993.

Olympus. Instructions CX21 Education Microscope. 2006.Olympus Corporation, Shinjuku Monolith, 3-1, Nishi Shinjuku 2-chome, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan

Olympus. Instructions CK30 Education Microscope. 2006.Olympus Corporation, Shinjuku Monolith, 3-1, Nishi Shinjuku 2-chome, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan

SHIMADZU CORPORATION. Instruction Manual UV-1601 User's System Guide. 3 Kamda-Nishikchol-chome chiyoda-ky Tokyo, Japan. 4 p.

ภาคผนวก

การแจ้งซ่อมบำรุงรักษา Autoclave (World bank) รุ่น ASTELL/AMA 2605

บริษัทเบคไทยกรุงเทพอุปกรณ์เคมีภัณฑ์ จำกัด

300 ถ. พหลโยธิน แขวงสามเสนใน

เขตพญาไทย กรุงเทพฯ 10400

โทรศัพท์ : 02-615-2929

โทรสาร: 02-615-2350

การแจ้งซ่อมบำรุงรักษา Hot air oven (Termaks)

บริษัท ซายน์ เอ็นจิเนียร์อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด

60/21 วิภาวดี 42 แขวงลาดยาว

เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

โทรศัพท์ : 02-561-3691-3

โทรสาร : 02-561-3694

การแจ้งซ่อมบำรุงรักษา SC2 CLASS II Biohazard safety cabinet (ESCO)

บริษัท กิปไทย จำกัด

44/6 อาคารกิปไทย ถ.สุทธิสาร

แขวงสามแสนนอก เขตห้วยขวาง กรุงเทพฯ 10320

โทรศัพท์ : 02-748-8331, 02-693-0186-8

โทรสาร : 02-748-336, 02-748-580

การแจ้งซ่อมบำรุงรักษา CO_2 Incubator NUAIRE IR AUTOFLOW

บริษัท บี.เค.เทค แอสโซสิเอท จำกัด

โทรศัพท์ : 02-279-0620, 02-279-5770

โทรสาร : 02-279-3220

การแจ้งซ่อมบำรุงรักษา HARRIER 18/80 Bench Top Refrigerated Centrifuge (SANYO)

บริษัท ไทยโพลี่เมดิค จำกัด

โทรศัพท์ : 02-448-9082, 02-448-9085

โทรสาร : 02-448-9086

การแจ้งซ่อมบำรุงรักษา Water bath (Julabo)

บริษัท ไซแอนติฟิคโปรโมชั่น จำกัด

1759 ซอยวชิรธรรมสาธิต 57

ถ. สุขุมวิท 101/1 แขวงบางจาก

เขตพระโขนง กรุงเทพฯ 10260

โทรศัพท์ : 02-332-7960-4, 02-333-0274-7 (กด 4)

โทรสาร : 02-332-6216

การแจ้งซ่อมบำรุงรักษาเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Sartorius)

บริษัท ไซแอนติฟิคโปรโมชั่น จำกัด

1759 ซอยวชิรธรรมสาธิต 57

ถ. สุขุมวิท 101/1 แขวงบางจาก

เขตพระโขนง กรุงเทพฯ 10260

โทรศัพท์ : 02-332-7960-4, 02-333-0274-7 (กด 4)

โทรสาร : 02-332-6216

การแจ้งซ่อมบำรุงรักษากล้องจุลทรรศน์ (Olympus CX21)

บริษัท อี ฟอร์ แอล อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด

432, 434, 436, 438 ถ.ราชวิถี

แขวงบางยี่ขัน เขตบางพลัด กรุงเทพฯ 10700

โทรศัพท์ : 024231981,028830871-9,024246079,028833609,024231982-4,028835686,024349487-8,024351331-2,024336584,028835685

โทรสาร : 024338695,028830880

การแจ้งซ่อมบำรุงรักษา Inverted microscope (Olympus CK30)

บริษัท อี ฟอร์ แอล อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด

432, 434, 436, 438 ถ.ราชวิถี

แขวงบางยี่ขัน เขตบางพลัด

กรุงเทพฯ 10700

โทรศัพท์ : 024231981,028830871-9,024246079,028833609,024231982-4,028835686,024349487-8,024351331-2,024336584,028835685

โทรสาร : 024338695,028830880