



บันทึกข้อความ

ปธ.๐๐๑/๖๓

ส่วนงาน คณะวิทยาศาสตร์ โทร

ที่ อว ๖๙.๕...../ ๕๑๐

วันที่ ๑๔ พฤษภาคม ๒๕๖๙

เรื่อง ขอรายงานสรุปเนื้อหาและการนำไปใช้ประโยชน์

เรียน คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

ตามที่ข้าพเจ้า นางปานวาด ศิลปวัฒนา ได้รับอนุญาตให้เข้าร่วมฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่องเทคนิคการเตรียมตัวอย่างชิ้นงานทางชีววิทยาเพื่อศึกษาโครงสร้างเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่งผ่านชนิดแรงดันไฟฟ้าต่ำ (LV-TEM) เมื่อวันที่ ๖-๗ พฤษภาคม ๒๕๖๙ ณ ห้องข่าวสาธิต และห้องปฏิบัติการกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ชั้น ๑ อาคารเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระเทพฯ สถาบันบริการตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ นั้น

บัดนี้ ข้าพเจ้าได้เข้าร่วมอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่องเทคนิคการเตรียมตัวอย่างชิ้นงานทางชีววิทยาเพื่อศึกษาโครงสร้างเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่งผ่านชนิดแรงดันไฟฟ้าต่ำ (LV-TEM) เป็นที่เรียบร้อยแล้ว ดังนั้นจึงขอรายงานสรุปเนื้อหาและประโยชน์ที่ได้รับ ดังนี้

๑. สรุปเนื้อหาที่ได้รับจากการเข้าประชุม/อบรม ฯลฯ

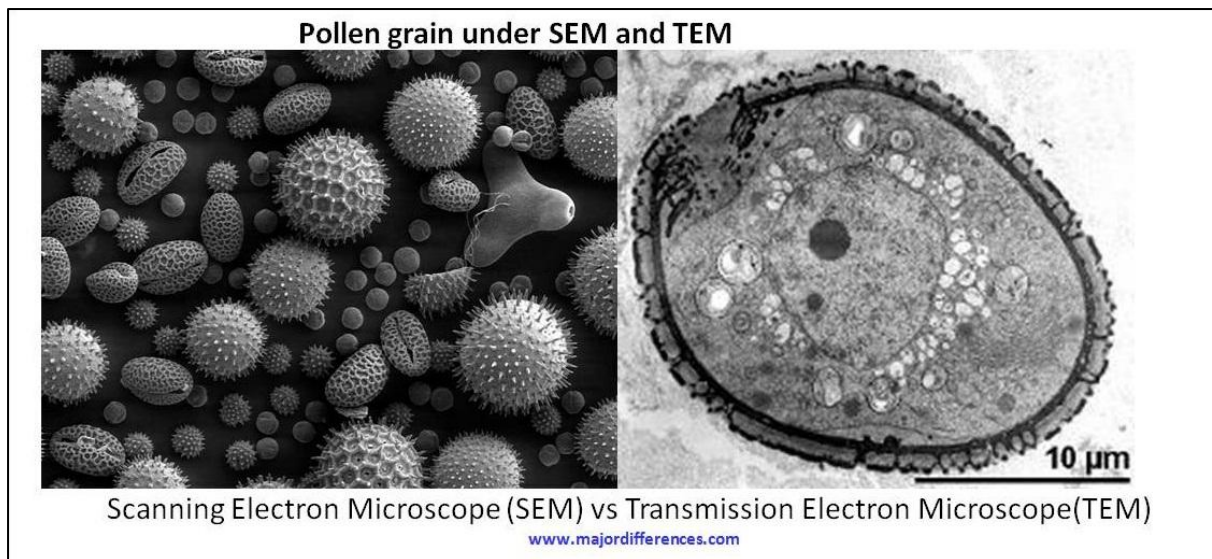
การอบรมมุ่งเน้นการพัฒนาความรู้และทักษะด้านการเตรียมตัวอย่างทางชีววิทยา รวมถึงการใช้งานเครื่องมือวิเคราะห์ขั้นสูงสำหรับงานวิจัย โดยมีทั้งภาคบรรยายและภาคปฏิบัติ ครอบคลุมเนื้อหาเกี่ยวกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างสำหรับ TEM การตัดชิ้นบางด้วยเครื่อง Ultramicrotome การใช้งานกล้อง LV-TEM และ STEM

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายสูงถึงล้านเท่า เนื่องจากใช้อิเล็กตรอนเป็นแหล่งกำเนิดแสง สามารถแบ่งเป็น ๒ ประเภท ตามลักษณะการทำงาน ดังนี้

๑. กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด หรือ TEM (transmission electron microscope) ได้ภาพแบบ ๒ มิติ ต้องมีการเตรียมตัวอย่างให้ได้ขนาดไม่เกิน ๓๐ นาโนเมตร (ส่องภายในเซลล์ ดูออร์แกเนลล์)

๒. กล้องจุลทรรศน์แบบส่งผ่าน หรือ SEM (scanning electron microscope) ได้ภาพ ๓ มิติ ใช้ดูพื้นผิวของตัวอย่างเป็นหลัก



รูปที่ ๑ ภาพของเกสรที่ถ่ายได้จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (ซ้าย) และภาพที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่งผ่าน (ขวา)

การเตรียมตัวอย่างชีววิทยา

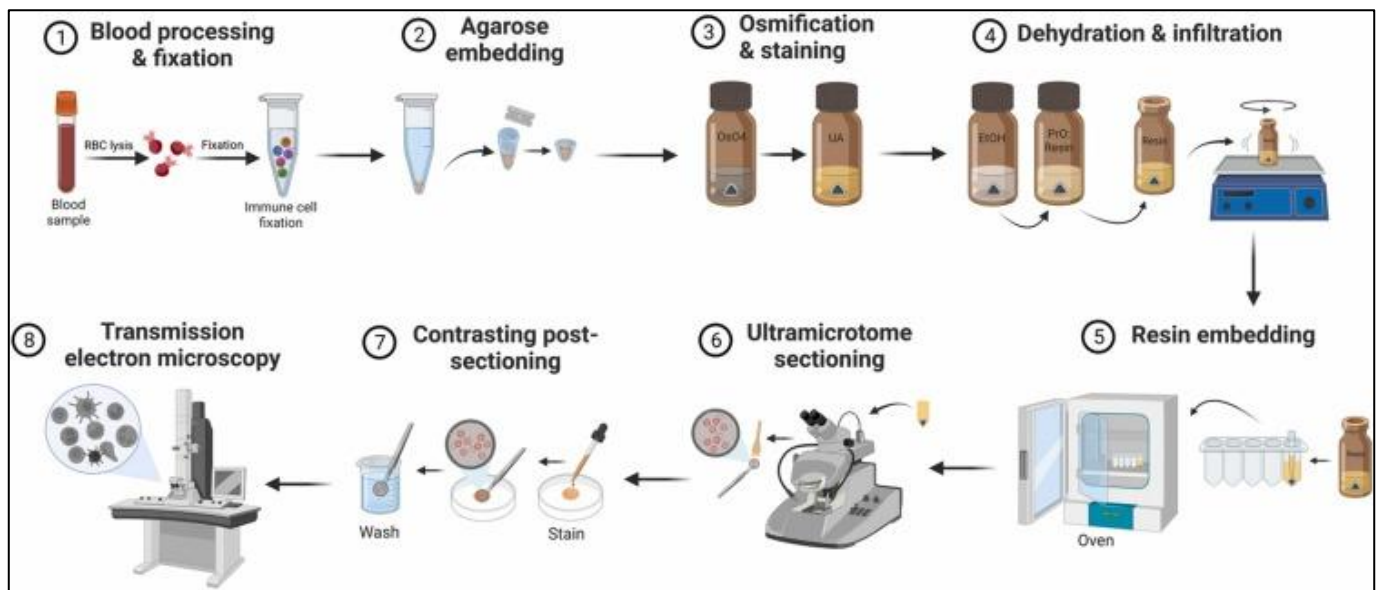
ตัวอย่างต้องไม่มีน้ำเหลืออยู่ เนื่องจากเป็นระบบสุญญากาศ จึงต้องทำให้ตัวอย่างแห้งพอที่จะตัดได้บางในระดับนาโนเมตรได้ และทนต่อลำแสงอิเล็กตรอน (electron beam) ได้ สามารถแบ่งเป็นขั้นตอนย่อยได้ดังนี้

๑. การรักษาสภาพของเซลล์ (cell preservation) ด้วยการ fixation ด้วย ๒.๕% glutaraldehyde ใน buffer (phosphate/PBS) และกำจัดน้ำ (dehydration) ด้วยเอทานอล ๙๐%

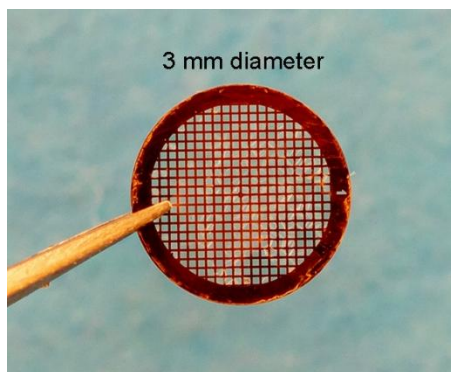
๒. Polymerization เป็นการทำให้ตัวอย่างแข็งด้วย propylene oxide (ตัวกลางระหว่างเอทานอลกับเรซิน) /acetone) แล้วอบแห้ง

๓. การตัดตัวอย่าง (Ultra-sectioning) ให้มีความหนาไม่เกิน ๙๐ นาโนเมตรด้วยเครื่อง ultramicrotome

๔. การย้อมสี (Staining) เป็นการเพิ่ม contrast (สามารถข้ามขั้นตอนนี้ได้ในการณ์ของเครื่อง low voltage scanning electron microscope จึงเป็นการลดการใช้สีย้อมโลหะหนัก) โดยสีย้อมจะเข้าไปในเนื้อเยื่อซึม. ละ ๑ มม. (Immersion fixation) จากนั้นจะทำการย้อมขั้นที่สอง (Secondary fixation) เพื่อทำให้องค์ประกอบของเซลล์ที่เป็นไขมันเป็นสีดำ จึงเกิด contrast ของภาพ จากนั้นวางตัวอย่างลงบน copper grid



รูปที่ ๒ แผนภาพสรุปขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างชีววิทยาเพื่อถ่ายภาพที่มีกำลังขยายสูงด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Pavathuparambil Abdul Manaph et al, ๒๐๒๓)
ที่มา <https://doi.org/๑๐.๑๐๑๖/j.micron.๒๐๒๓.๑๐๓๕๑๓/>



รูปที่ ๒ แผ่น copper grid สำหรับวางตัวอย่างที่ใช้ในการส่อง TEM (ซ้าย) กล้องสำหรับเก็บตัวอย่างที่วางบน copper grid (ขวา)

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านชนิดแรงดันไฟฟ้าต่ำ (Low voltage electron microscope: LV-TEM)

เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้กำลังศักย์ไฟฟ้าต่ำ (๕-๒๕ KW) ภาพมี contrast มากจึงไม่จำเป็นต้องย้อมตัวอย่าง มีกำลังขยายล้านเท่า เหมาะเฉพาะงานทางชีววิทยาและการแพทย์ ซึ่งแตกต่างจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบทั่วไปซึ่งใช้ความต่างศักย์สูง (high voltage) จึงให้พลังงานสูง และอาจ

ทำให้ตัวอย่างชีววิทยาเสียหาย เพราะไม่ทนต่อความร้อน และต้องย้อมสีเพื่อให้เกิดความแตกต่างของภาพ เนื่องจากพลังงานสูงจึงให้ภาพที่มีความสว่างมาก นอกจากนี้ กล้องจุลทรรศน์ชนิด LV-TEM ยังสามารถเพิ่มการทำงานเพื่อให้เกิดภาพ ๓ มิติ (STEM) และใช้ในการดูธาตุ (ภายใต้โหมด SEM) วิเคราะห์ปริมาณธาตุได้ (EDS)

กล้องจุลทรรศน์ชนิด LV-TEM แหล่งกำเนิดแสงอิเล็กตรอนจะอยู่ข้างล่าง ลำแสงอิเล็กตรอนจะวิ่งขึ้นไปที่ตัวอย่าง จึงไม่ไวต่อการสั่น เกล็นส์เป็นแม่เหล็กถาวร (permanent magnet) ไม่ต้องทำการระบบทำความเย็น (cooling) จึงไม่ต้องติดตั้งเครื่องทำความเย็น (chiller) เครื่องมีขนาดเล็ก ซึ่งแตกต่างจาก TEM ซึ่งตัวเครื่องมีขนาดใหญ่ และต้องมีการติดตั้งระบบทำความเย็น



รูปที่ ๓ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านชนิดความต่างศักย์ต่ำ (Delong Instruments)

๒. ประโยชน์ต่อการปฏิบัติงานในตำแหน่งหน้าที่

๑. เป็นประโยชน์เพื่อการต่อยอดงานวิจัยในอนาคต ในกรณีที่ต้องการศึกษาองค์ประกอบภายในเซลล์ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพยาธิสภาพภายในเซลล์ ในสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน
๒. เป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการวิเคราะห์โลหะที่มีอยู่ในตัวอย่างที่ต้องการศึกษา

๓. ประโยชน์ต่อหน่วยงาน (ระดับงาน/หลักสูตร/คณะ)

๑. เป็นประโยชน์ต่อการเรียนการสอนของหลักสูตร ฯ ในรายวิชาที่มีการศึกษาองค์ประกอบภายในเซลล์ รวมทั้งสามารถนำมาใช้เป็นหัวข้อสนใจที่เกี่ยวข้องกับการใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์ขั้นสูงในงานวิจัยในด้านต่าง ๆ เป็นต้น

พร้อมนี้ได้แนบรูปถ่ายจากการเข้าประชุม/อบรมฯ มาพร้อมนี้แล้ว





จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

Panwad Suttana

(.....)

ผศ.ดร. ปานวาด ศิลปวัฒนา

ความคิดเห็นของผู้บังคับบัญชาชั้นต้น (ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร/ผู้อำนวยการ
สำนักงาน/หัวหน้างาน)

บุคลากรดังกล่าวไปนำความรู้ไปใช้ประโยชน์ ดังนี้(โปรดระบุรายละเอียด)

.....
.....

.....
(.....)
...../...../.....

หมายเหตุ : ๑. เอกสารแนบเช่น สำเนาบทคัดย่อ หรือโปสเตอร์(ย่อขนาด A๔) หรือบทความฯ ฉบับเต็มสำเนาใบรับรองหรือหนังสือ

รับรองหรือใบประกาศนียบัตรหรือวุฒิบัตรฯลฯ ซึ่งเป็นหลักฐานว่าได้เข้าร่วมงานจริง

๒. กรณีที่ประสงค์จะรายงานฯ กรณีไม่ได้งบบพัฒนาบุคลากรหรือไม่ใช้งบประมาณ ให้ใช้แบบฟอร์มฯ นี้

๓. ให้จัดรูปแบบและขยายพื้นที่ตามรายละเอียดเนื้อหาหรือข้อความ ตามความเหมาะสม