(19) กรมทรัพย์สินทางปัญญา
กระทรวงพาณิชย์
เลขที่อนุสิทธิบัตร 13929

(11) เลขที่ประกาศโฆษณา 13929
(43) วันประกาศโฆษณา 7 มิถุนายน 2561
(40) วันออกอนุสิทธิบัตร 7 มิถุนายน 2561

(12) ประกาศโฆษณาการจดทะเบียนการประดิษฐ์และออกอนุสิทธิบัตร

(21) เลขที่คำขอ 1503001074
(22) วันที่ยื่นคำขอ 15 กรกฎาคม 2558

(51) สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ Int.Cl.10
C12Q 1/68

(31) เลขที่คำขอที่ยื่นครั้งแรก
-
(32) วันที่ยื่นคำขอครั้งแรก
-
(33) ประเทศที่ยื่นคำขอครั้งแรก
-

(71) ผู้ขอรับสิทธิบัตร
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
(72) ผู้ประดิษฐ์
นายธงชัย แก้วพินิจ และคณะ
(74) ตัวแทน
-

(54) ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์ กรรมวิธีการตรวจสอบเบสกลายพันธุ์ของเชื้อวัณโรคดื้อต่อยาไอโซไนอะซิด (isoniazid) บนยีนไอเอ็นเอชเอ (inhA) ด้วยแถบสี

(57) บทสรุปการประดิษฐ์

กรรมวิธีการตรวจสอบเบสกลายพันธุ์ของเชื้อวัณโรคดื้อต่อยาไอโซไนอะซิด (isoniazid) ด้วยแถบสีที่พัฒนาขึ้นนี้มีความจำเพาะต่อลำดับเบสกลายพันธุ์ตำแหน่งโพรโมเตอร์ (promoter) ที่ 15 ซึ่งเบส ซี เปลี่ยนเป็นเบสที (C-15-T) ของยีน*ไอเอ็นเอชเอ* (*inhA*) ของเชื้อวัณโรคดื้อต่อยาไอโซไนอะซิด (isoniazid) โดยการออกแบบไพรเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) ประกอบด้วยไพรเมอร์ 4 เส้น ที่จำเพาะต่อลำดับเบสกลายพันธุ์ดังกล่าวของเชื้อวัณโรค ด้วยการทำปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) ที่อุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45-60 นาที แล้วใช้ตัวตรวจจับติดสารเรืองแสง (FITC) ด้วยการอ่านผลบนแผ่นดิพสติค (dipstick) เมื่อให้ผลบวก จะปรากฏเส้นทดสอบสีชมพู บริเวณแถบทดสอบ (T) และแถบควบคุม (C) แสดงว่า ในตัวอย่างพบเบสกลายพันธุ์ของยีน*ไอเอ็นเอชเอ* (*inhA*) แต่ถ้าผลลบ จะปรากฏเส้นทดสอบสีชมพู เฉพาะแถบควบคุม (C) เท่านั้น วิธีการนี้เทียบเท่ากับการตรวจสอบด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (PCR) แบบเรียลไทม์ (real time) อีกทั้งยังไม่ต้องใช้เครื่องพีซีอาร์ (PCR) และเครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยกระแสไฟฟ้าในการติดตามผลของปฏิกิริยา

(11) เลขที่ประกาศโฆษณา 13929

ข้อถือสิทธิ

1. กรรมวิธีการตรวจสอบเบสกลายพันธุ์ของเชื้อวัณโรคดื้อต่อยาไอโซไนอะซิด (isoniazid) บนยีน*ไอเอ็นเอชเอ* (*inhA*) ด้วยแถบสี ที่ซึ่งประกอบด้วยการทำปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) ร่วมกับการประยุกต์ใช้แผ่นดิพสติค (dipstick) ภายในปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วยไพรเมอร์ 3 และไพรเมอร์ 4 อย่างละ 2 ไมโครโมลาร์, ไพรเมอร์ 1 และไพรเมอร์ 2 อย่างละ 0.2 ไมโครโมลาร์, ดีเอ็นทีพี (dNTP) 1.6 มิลลิโมลาร์ ผสมด้วยสารเบตาอีน (betaine) 0.6 โมลาร์, สารแมกนีเซียมซัลเฟส ($MgSO_4$) 4 มิลลิโมลาร์, เอนไซม์ดีเอ็นเอ โพลีเมอเรส (DNA polymerase) 2.5U และ บัฟเฟอร์ (supplied buffer 1x) การออกแบบไพรเมอร์สำหรับเทคนิคแลมป์ (LAMP) ในการตรวจเชื้อที่มีเบสกลายพันธุ์เพียงหนึ่งเบส ไพรเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) ประกอบด้วยไพรเมอร์ 4 เส้นที่จำเพาะต่อลำดับเบสกลายพันธุ์เพียงหนึ่งเบสที่ตำแหน่งโพรโมเตอร์ (promoter) ที่ 15 ซึ่งเบส ซี เปลี่ยนเป็นเบส ที (C-15-T) ของยีน*ไอเอ็นเอชเอ* (*inhA*) ของเชื้อวัณโรคดื้อต่อยาไอโซไนอะซิด (isoniazid) ดังนี้

ไพรเมอร์ 1 ลำดับเบส (5′-3′) gCTgAgTCACACCgACAAAC

ไพรเมอร์ 2 ลำดับเบส (5′-3′) CCggTTTCCTCCggTAACC

ไพรเมอร์ 3 ลำดับเบส (5′-3′)

CCACgAgCgTAACgTggCTgCTTTTgTCACgAgCgTAACCCCA

ไพรเมอร์ 4 ลำดับเบส (5′-3′)

AgATAggTTgTCggggTgACTTTTAggACTgAACgggATACgAA

(ข้อถือสิทธิ 6 ข้อ, รูปเขียน 2 รูป)