(19) กรมทรัพย์สินทางปัญญา
กระทรวงพาณิชย์
เลขที่อนุสิทธิบัตร 13933

(11) เลขที่ประกาศโฆษณา 13933
(43) วันประกาศโฆษณา 7 มิถุนายน 2561
(40) วันออกอนุสิทธิบัตร 7 มิถุนายน 2561

(12) ประกาศโฆษณาการจดทะเบียนการประดิษฐ์และออกอนุสิทธิบัตร

(21) เลขที่คำขอ 1503001079
(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) ด้วยอนุภาคทองคำ

(57) บทสรุปการประดิษฐ์

กรรมวิธีการตรวจสอบเบสกลายพันธุ์ของเชื้อวัณโรคดื้อต่อยาไอโซไนอะซิด (isoniazid) บนยีน*ไอเอ็นเอชเอ* (*inhA*) ด้วยอนุภาคทองคำโดยเริ่มจากการออกแบบไพรเมอร์ 4 เส้น ที่จำเพาะต่อลำดับเบสกลายพันธุ์ของเชื้อวัณโรคดื้อต่อยาไอโซไนอะซิด (isoniazid) ซึ่งในระบบนี้ดีเอ็นเอเป้าหมายจะถูกเพิ่มปริมาณภายใต้อุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 - 60 นาที ด้วยปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) หลังจากนั้นเติมตัวตรวจจับที่ติดฉลากไทอัล (thiol) ที่ปลายด้าน 5′ ลงไป แล้วปล่อยไว้ที่อุณหภูมิเดิมเป็นเวลาอีก 5 นาที เมื่อนำไปตรวจสอบกับผลผลิตแลมป์ (LAMP) ตัวตรวจสอบดีเอ็นเอจะเข้าไปจับบริเวณที่จำเพาะเจาะจงต่อผลผลิตของแลมป์ (LAMP) ที่เกิดขึ้น เมื่อมีการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) หรือแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) ลงไปในปริมาณที่เหมาะสม จะทำให้ผลผลิตของแลมป์ (LAMP) ดังกล่าวทำให้เชื้อวัณโรคดื้อต่อยาไอโซไนอะซิด (isoniazid) ที่มีเบสกลายพันธุ์ตำแหน่งที่ 15 ซึ่งเบส ซี เปลี่ยนเป็นเบส ที (C-15-T) ของยีน*ไอเอ็นเอชเอ* (*inhA*) จะเห็นอนุภาคทองคำเป็นสีชมพูแดงอยู่ในสารละลาย ในขณะที่ถ้าไม่มีลำดับเบสกลายพันธุ์ จะทำให้เห็นอนุภาคทองคำเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีม่วง

(11) เลขที่ประกาศโฆษณา 13933

ข้อถือสิทธิ

1. กรรมวิธีการตรวจสอบเบสกลายพันธุ์ของเชื้อวัณโรคดื้อต่อยาไอโซไนอะซิด (isoniazid) บนยีน*ไอเอ็นเอชเอ* (*inhA*) ด้วยอนุภาคทองคำ ที่ซึ่งประกอบด้วยการทำปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) ร่วมกับการประยุกต์ใช้ด้วยอนุภาคทองคำ 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, เอนไซม์*บีเอสที* 2.0 วอร์ม สตาร์ท ดีเอ็นเอ โพลีเมอเรส (*Bst* 2.0 warm start DNA polymerase) 2.5U และ บัฟเฟอร์ (supplied buffer 1x) การออกแบบไพรเมอร์สำหรับเทคนิคแลมป์ (LAMP) ในการตรวจเชื้อที่มีเบสกลายพันธุ์เพียงหนึ่งเบส ไพรเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) ประกอบด้วยไพรเมอร์ 4 เส้น ที่จำเพาะต่อลำดับเบสกลายพันธุ์เพียงหนึ่งเบสที่ตำแหน่งโพรโมเตอร์ (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 1 รูป)