(19) กรมทรัพย์สินทางปัญญา
กระทรวงพาณิชย์
เลขที่อนุสิทธิบัตร 14021

(11) เลขที่ประกาศโฆษณา 14021
(43) วันประกาศโฆษณา 22 มิถุนายน 2561
(40) วันออกอนุสิทธิบัตร 22 มิถุนายน 2561

(12) ประกาศโฆษณาการจดทะเบียนการประดิษฐ์และออกอนุสิทธิบัตร

(21) เลขที่คำขอ 1503001078
(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 กรรมวิธีการตรวจสอบเบสกลายพันธุ์ของเชื้อวัณโรคดื้อต่อยาไรแฟมพิซิน (Rifampicin) ด้วยแถบสี

(57) บทสรุปการประดิษฐ์

กรรมวิธีการตรวจสอบเบสกลายพันธุ์ของเชื้อวัณโรคดื้อต่อยาไรแฟมพิซิน (Rifampicin) ด้วยแถบสี เริ่มจากการออกแบบไพรเมอร์ 5 เส้น ที่จำเพาะต่อลำดับเบสของเชื้อวัณโรคดื้อต่อยาไรแฟมพิซิน (Rifampicin) ที่มีเบสกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง 531 และ 526 ของยีน*อาร์โพบี* (*rpoB*) ซึ่งไพรเมอร์ตัวหนึ่งจะติดฉลากด้วยสารไบโอทิน (biotin) ในระบบนี้ดีเอ็นเอเป้าหมายจะถูกเพิ่มปริมาณภายใต้อุณหภูมิอุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ในกล่องให้ความร้อน (heating block) แล้วใช้ตัวตรวจจับติดสารเรืองแสง (FITC) ด้วยการอ่านผลบนแผ่นดิพสติค (dipstick) เมื่อให้ผลบวก จะปรากฏเส้นทดสอบสีชมพู บริเวณแถบทดสอบ (T) และแถบควบคุม (C) แสดงว่า ในตัวอย่างพบเบสกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง 531 และ 526 ของยีน*อาร์โพบี* (*rpoB*) แต่ถ้าผลลบ จะปรากฏเส้นทดสอบสีชมพู เฉพาะแถบควบคุม (C) เท่านั้น วิธีการนี้เทียบเท่ากับการตรวจสอบด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (PCR) แบบเรียลไทม์ (real time) อีกทั้งยังไม่ต้องใช้เครื่องพีซีอาร์ (PCR) และเครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยกระแสไฟฟ้าในการติดตามผลของปฏิกิริยา

(11) เลขที่ประกาศโฆษณา 14021

ข้อถือสิทธิ

1. กรรมวิธีการตรวจสอบเบสกลายพันธุ์ของเชื้อวัณโรคดื้อต่อยาไรแฟมพิซิน (Rifampicin) ด้วยแถบสีที่ซึ่งประกอบด้วยการทำปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) ร่วมกับการประยุกต์ใช้แผ่นดิพสติค (dipstick) ภายในปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) 25 ไมโครลิตร มีการใช้ไพรเมอร์ 2 ชุดด้วยการทำปฏิกิริยา 2 ครั้ง ชุดที่ 1 ประกอบด้วย ไพรเมอร์ 3 และไพรเมอร์ 4 อย่างละ 2 ไมโครโมลาร์, ไพรเมอร์ 1 และไพรเมอร์ 2 อย่างละ 0.2 ไมโครโมลาร์, ดีเอ็นทีพี (dNTP) 1.6 มิลลิโมลาร์ผสมด้วยสารเบตาอีน (betaine) 0.6 โมลาร์, สารแมกนีเซียมซัลเฟส ($MgSO_4$) 4 มิลลิโมลาร์, เอนไซม์ *บีเอสที* 2.0 วอร์ม สตาร์ท ดีเอ็นเอ โพลีเมอเรส (*Bst* 2.0 warm start DNA polymerase) 2.5 U และสารละลายบัฟเฟอร์ ใช้ในการตรวจลำดับเบสกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง 531 ของยีน*อาร์โพบี* (*rpoB*) ของเชื้อวัณโรค ชุดที่ 2 ประกอบด้วย ไพรเมอร์ 3 และไพรเมอร์ 5 อย่างละ 2 ไมโครโมลาร์, ไพรเมอร์ 1 และไพรเมอร์ 2 อย่างละ 0.2 ไมโครโมลาร์, ดีเอ็นทีพีส์ (dNTPs) 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) 2.5 U และสารละลายบัฟเฟอร์ สำหรับการตรวจลำดับเบสกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง 526 ของยีน*อาร์โพบี* (*rpoB*) ของเชื้อวัณโรค การออกแบบไพรเมอร์สำหรับเทคนิคแลมป์ (LAMP) ในการตรวจเชื้อที่มีเบสกลายพันธุ์เพียงหนึ่งเบส ไพรเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) ประกอบด้วยไพรเมอร์ 5 เส้น ที่จำเพาะต่อลำดับเบสกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง 531 และ 526 ของยีน*อาร์โพบี* (*rpoB*) ของเชื้อวัณโรค ดังนี้

ไพรเมอร์ 1 ลำดับเบส (5′-3′) CCgCAgACgTTgATCAACAT

ไพรเมอร์ 2 ลำดับเบส (5′-3′) CAggggTTTCgATTgggC

ไพรเมอร์ 3 ลำดับเบส (5′-3′)

ggTgCTgAAgAACTCCTTgATTTTgCCggTggTCgCCgCg

ไพรเมอร์ 4 ลำดับเบส (5′-3′)

AgCgCTTgggggCCCgTTTTAgTgCgACgggTgCA

ไพรเมอร์ 5 ลำดับเบส (5′-3′)

HACAAgCgCCgACTgTCTTTTAgTgCgACgggTgCA

H = A/C/T

(ข้อถือสิทธิ 6 ข้อ, รูปเขียน 4 รูป)