



คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

- การประดิษฐ์
 การออกแบบผลิตภัณฑ์
 อนุสิทธิบัตร

ข้าพเจ้าผู้ลงลายมือชื่อในคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้
ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ตามพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522
แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2535
และ พระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542

สำหรับเจ้าหน้าที่	
วันรับคำขอ 15/01/2569	เลขที่คำขอ 2603000184
วันยื่นคำขอ	
สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	
ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์ ประเภทผลิตภัณฑ์	
วันประกาศโฆษณา	เลขที่ประกาศโฆษณา
วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่	

1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์ ชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับตรวจวิเคราะห์ยีน JAK2 V617F ในโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิด Myeloproliferative Neoplasms

2. คำขอรับสิทธิบัตรการออกแบบผลิตภัณฑ์นี้เป็นคำขอสำหรับแบบผลิตภัณฑ์อย่างเดียวกันและเป็นคำขอลำดับที่
ในจำนวน คำขอ ที่ยื่นในคราวเดียวกัน

3. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร บุคคลธรรมดา นิติบุคคล หน่วยงานรัฐ มูลนิธิ อื่นๆ
ชื่อ มหาวิทยาลัยนเรศวร
ที่อยู่ เลขที่ 99 หมู่ 9 ต.ท่าโพธิ์ อ.เมือง จ.พิษณุโลก
ตำบล/แขวง ท่าโพธิ์ อำเภอ/เขต เมืองพิษณุโลก จังหวัด พิษณุโลก รหัสไปรษณีย์ 65000 ประเทศ ไทย
อีเมล kanyaratp@nu.ac.th
 เลขประจำตัวประชาชน เลขทะเบียนนิติบุคคล เลขประจำตัวผู้เสียภาษีอากร 0 9 9 4 0 0 0 4 7 7 8 8 1 เพิ่มเติม (ดั่งแนบ)
ในกรณีที่กรมา สื่อสารกับท่าน ท่านสะดวกใช้ทาง อีเมลผู้ขอ อีเมลตัวแทน

4. สิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
 ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบ ผู้รับโอน ผู้ขอรับสิทธิโดยเหตุอื่น

5. ตัวแทน (ถ้ามี)
ชื่อ นางสาวกัญญารัตน์ ประทุมศิริ
ที่อยู่ กองบริการวิชาการและจัดการทรัพยากร มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ 99 หมู่ที่ 9 ถนนพิษณุโลก-นครสวรรค์
ตำบล/แขวง ท่าโพธิ์ อำเภอ/เขต เมืองพิษณุโลก จังหวัด พิษณุโลก รหัสไปรษณีย์ 65000 ประเทศ ไทย
อีเมล kanyaratp@nu.ac.th
เลขประจำตัวประชาชน 3 6 5 9 9 0 0 6 4 3 7 9 7 เพิ่มเติม (ดั่งแนบ)

6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์ ชื่อและที่อยู่เดียวกับผู้ขอ
ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์หญิงฤทัย นิลศรี
ที่อยู่ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ 99 หมู่ 9
ตำบล/แขวง ท่าโพธิ์ อำเภอ/เขต เมืองพิษณุโลก จังหวัด พิษณุโลก รหัสไปรษณีย์ 65000 ประเทศ ไทย
อีเมล
เลขประจำตัวประชาชน 3 4 0 1 0 0 1 0 1 3 6 4 7 เพิ่มเติม (ดั่งแนบ)

7. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิม
ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้ถือว่าคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ในวันเดียวกับคำขอรับสิทธิบัตร
เลขที่ วันยื่น เพราะคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิมเพราะ
 คำขอเดิมมีการประดิษฐ์หลายอย่าง ถูกคัดค้านเนื่องจากผู้ขอไม่มีสิทธิ ขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ

หมายเหตุ ในกรณีที่ไมอาจระบุรายละเอียดได้ครบถ้วน ให้จัดทำเป็นเอกสารแนบท้ายแบบพิมพ์นี้โดยระบุหมายเลขกำกับข้อและหัวข้อที่แสดงรายละเอียดเพิ่มเติมดังกล่าวด้วย

สำหรับเจ้าหน้าที่			
จำแนกประเภทสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร <input type="checkbox"/> กลุ่มวิศวกรรม สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (วิศวกรรม) สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ไฟฟ้า) สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ฟิล์ม)	<input type="checkbox"/> กลุ่มเคมี สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เคมีเทคนิค) สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ปิโตรเคมี) สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เทคโนโลยีชีวภาพ) สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เภสัชภัณฑ์)	สิทธิบัตรการออกแบบ <input type="checkbox"/> สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 1) <input type="checkbox"/> สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 2) <input type="checkbox"/> สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 3)	อนุสิทธิบัตร <input type="checkbox"/> อนุสิทธิบัตร (วิศวกรรม) <input type="checkbox"/> อนุสิทธิบัตร (เคมี)

8. การยื่นคำขออนุญาตนำเข้า <input type="checkbox"/> PCT <input type="checkbox"/> เพิ่มเติม (ตั้งแนบ)				
วันยื่นคำขอ	เลขที่คำขอ	ประเทศ	สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	สถานะคำขอ
8.1				
8.2				
8.3				
8.4 <input type="checkbox"/> ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอสิทธิให้ถือว่าได้ยื่นคำขอนี้ในวันที่ได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรในต่างประเทศเป็นครั้งแรกโดย <input type="checkbox"/> ได้ยื่นเอกสารหลักฐานพร้อมคำขอนี้ <input type="checkbox"/> ขอยื่นเอกสารหลักฐานหลังจากวันยื่นคำขอนี้				
9. การแสดงการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรได้แสดงการประดิษฐ์ที่หน่วยงานของรัฐเป็นผู้จัด วันแสดง _____ วันเปิดงานแสดง _____ ผู้จัด _____				
10. การประดิษฐ์เกี่ยวกับจุลชีพ				
10.1 เลขทะเบียนฝากเก็บ	10.2 วันที่ฝากเก็บ	10.3 สถาบันฝากเก็บ/ประเทศ		
11. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอยื่นเอกสารภาษาต่างประเทศก่อนในวันยื่นคำขอนี้ และจะจัดยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ที่จัดทำเป็นภาษาไทยภายใน 90 วัน นับจากวันยื่นคำขอนี้ โดยขอยื่นเป็นภาษา <input type="checkbox"/> อังกฤษ <input type="checkbox"/> ฝรั่งเศส <input type="checkbox"/> เยอรมัน <input type="checkbox"/> ญี่ปุ่น <input type="checkbox"/> อื่นๆ _____				
12. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้อธิบดีประกาศโฆษณาคำขอรับสิทธิบัตร หรือรับจดทะเบียน และประกาศโฆษณาอนุสิทธิบัตรนี้ หลังจากวันที่ _____ <input type="checkbox"/> ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอให้ใช้รูปเขียนหมายเลข _____ ในการประกาศโฆษณา				
13. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ประกอบด้วย			14. เอกสารประกอบคำขอ	
ก. แบบพิมพ์คำขอ	_____ 3 _____ หน้า		<input checked="" type="checkbox"/> เอกสารแสดงสิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	
ข. รายละเอียดการประดิษฐ์ หรือคำพรรณนาแบบผลิตภัณฑ์	_____ 3 _____ หน้า		<input type="checkbox"/> หนังสือรับรองการแสดงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์	
ค. ข้อถ้อยสิทธิ	_____ 1 _____ หน้า		<input checked="" type="checkbox"/> หนังสือมอบอำนาจ	
ง. รูปเขียน	_____ 3 _____ รูป	_____ 1 _____ หน้า	<input type="checkbox"/> เอกสารรายละเอียดเกี่ยวกับจุลชีพ	
จ. ภาพแสดงแบบผลิตภัณฑ์ <input type="checkbox"/> รูปเขียน	_____ รูป	_____ หน้า	<input type="checkbox"/> เอกสารการขอรับวันยื่นคำขอในต่างประเทศเป็นวันยื่นคำขอในประเทศไทย	
<input type="checkbox"/> ภาพถ่าย	_____ รูป	_____ หน้า	<input type="checkbox"/> เอกสารขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ	
ฉ. บทสรุปการประดิษฐ์	_____ 1 _____ หน้า		<input type="checkbox"/> เอกสารอื่นๆ	
15. ข้าพเจ้าขอรับรองว่า <input checked="" type="checkbox"/> การประดิษฐ์นี้ไม่เคยยื่นขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรมาก่อน <input type="checkbox"/> การประดิษฐ์นี้ได้พัฒนาปรับปรุงมาจาก _____				
16. ลายมือชื่อ <input type="checkbox"/> ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร <input checked="" type="checkbox"/> ตัวแทน (_____ นางสาวกัญญารัตน์ ประทุมศิริ _____)				

หมายเหตุ บุคคลใดยื่นขอรับสิทธิบัตรการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ หรืออนุสิทธิบัตร โดยการแสดงข้อความอันเป็นเท็จแก่พนักงานเจ้าหน้าที่ เพื่อให้ได้ไปซึ่งสิทธิบัตรหรืออนุสิทธิบัตร ต้องระวางโทษจำคุกไม่เกินหกเดือน หรือปรับไม่เกินห้าพันบาท หรือทั้งจำทั้งปรับ

ใบแนบต่อท้าย สป/สผ/001-ก

5. ตัวแทน (ถ้ามี)

2. ชื่อ นางสาวศุภีรัตน์ สงนรินทร์

ที่อยู่ มหาวิทยาลัยนเรศวร 99 หมู่ที่ 9 ถนนนครสวรรค์-พิษณุโลก
ต.ท่าโพธิ์ อ.เมืองพิษณุโลก จ.พิษณุโลก 65000 ประเทศไทย
อีเมล suleeratc@nu.ac.th

เลขประจำตัวประชาชน 3659900490745

ตัวแทนเลขที่ 2517 โทรศัพท์ 081-5342533 โทรสาร

6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์

2. ชื่อ รองศาสตราจารย์จิรภาส จงจิตวิมล

ที่อยู่ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ 99 หมู่ 9 ต.ท่าโพธิ์ อ.เมืองพิษณุโลก จ.พิษณุโลก 65000 ประเทศไทย
สัญชาติ ไทย

เลขประจำตัวประชาชน 1609900020157

รายละเอียดการประดิษฐ์

ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

ชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับตรวจวิเคราะห์ยีน *JAK2* V617F ในโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิด Myeloproliferative Neoplasms

5 สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

สาขาเทคนิคการแพทย์ ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับตรวจวิเคราะห์ยีน *JAK2* V617F ในโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิด Myeloproliferative Neoplasms

ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

10 โรค Myeloproliferative neoplasms (MPNs) เป็นมะเร็งเม็ดเลือดที่เกิดจากความผิดปกติของเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดในไขกระดูก ซึ่งส่งผลให้เกิดการเพิ่มจำนวนและการสร้างเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆ มากกว่าปกติอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้ผู้ป่วยมีเซลล์เม็ดเลือดสูงกว่าปกติ โรคในกลุ่ม MPNs ที่พบได้บ่อยประกอบด้วยโรคเลือดข้น (Polycythemia vera) และ โรคเกล็ดเลือดสูง (Essential thrombocytosis) (Vainchenker และคณะ, 2008) สาเหตุหลักของทั้ง 2 โรคนี้ คือการกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* (Janus kinase 2) ซึ่งพบในผู้ป่วยโรคเลือดข้นและโรคเกล็ดเลือดสูง ประมาณร้อยละ 95 และ
15 50-60 ตามลำดับ การกลายพันธุ์นี้ส่งผลให้มีการกระตุ้นการทำงานของโปรตีน *JAK2* อย่างต่อเนื่องนำไปสู่การเพิ่มจำนวนของเซลล์เม็ดเลือดตลอดเวลา จากข้อมูลทางระบาดวิทยาพบว่าโรคในกลุ่มนี้มีอุบัติการณ์สูงขึ้นในกลุ่มผู้สูงอายุ โดยมีอายุที่วินิจฉัยเฉลี่ยประมาณ 60 ปีในผู้ป่วยโรคเลือดข้น และ 57 ปี ในผู้ป่วยโรคเกล็ดเลือดสูง จากเกณฑ์การวินิจฉัยโรค MPNs ตามเกณฑ์ WHO ได้กำหนดให้การตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* เป็นหนึ่งในข้อพิจารณาในการวินิจฉัยโรคเลือดข้น และโรคเกล็ด
20 เลือดสูง (Boeckx และคณะ, 2022) จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่า การกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* เป็นกลไกสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเลือดข้นและโรคเกล็ดเลือดสูงซึ่งเป็นโรคทางโลหิตวิทยาที่มีความสำคัญและพบได้บ่อยในผู้สูงอายุ และมีความเสี่ยงในการเกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์การกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในด้านการวินิจฉัยโรค และการกำหนดแนวทางการรักษาที่เหมาะสม ในปัจจุบันวิธีที่นิยมใช้ในการตรวจ
25 วิเคราะห์การกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* คือเทคนิคอัลลีลสเปซิฟิกพีซีอาร์ (allele-specific PCR) โดยมีงานวิจัยที่ทำการออกแบบไพรเมอร์ให้จำเพาะต่อตำแหน่งที่มีการกลายพันธุ์ แต่ทั้งนี้ไพรเมอร์ที่ออกแบบนั้นมีการออกแบบให้มีการกลายพันธุ์ ณ ตำแหน่งอื่น นอกเหนือจากตำแหน่งที่มีการกลายพันธุ์ชนิด V617F ด้วย (Tun และคณะ, 2020) จึงทำให้ไพรเมอร์นี้ไม่สามารถนำมาใช้ตรวจวิเคราะห์เพื่อยืนยันลำดับเบสที่ถูกต้องทั้งหมดของตัวอย่างตรวจด้วยวิธีดีเอ็นเอซีควนซิง (DNA sequencing) ได้ และเมื่อ
30 ทำการส่งตรวจดีเอ็นเอซีควนซิง (DNA sequencing) จึงพบว่ามี การเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสที่ตำแหน่ง 1849 ของยีน *JAK2* ร่วมกับการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสในตำแหน่งข้างเคียงด้วย จากข้อจำกัดที่เกิดขึ้นนี้ ทีมผู้ประดิษฐ์จึงทำการออกแบบชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับตรวจวิเคราะห์ยีน *JAK2* V617F โดยชุดไพรเมอร์นี้ได้รับการออกแบบอย่างจำเพาะต่อการกลายพันธุ์ของนิวคลีโอไทด์เพียงตำแหน่งเดียวเท่านั้น ซึ่งจะเป็นชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับตรวจวิเคราะห์การกลาย
35 พันธุ์ของยีน *JAK2* V617F ด้วยเทคนิคอัลลีลสเปซิฟิกพีซีอาร์ (allele-specific PCR) และสามารถตรวจวิเคราะห์ลำดับเบสที่ของตัวอย่างตรวจด้วยวิธีดีเอ็นเอซีควนซิง (DNA sequencing) ได้

ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์

ชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับตรวจวิเคราะห์ยีน *JAK2* V617F ในโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิด Myeloproliferative Neoplasms มีส่วนประกอบ คือ ชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์จำนวนสองชุด ชุดละหนึ่งคู่ที่จำเพาะต่อทั้งยีน *JAK2* ที่กลายพันธุ์และที่ไม่กลายพันธุ์ เพื่อใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสหรือ พีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction; PCR) ชุดไพรเมอร์และกรรมวิธีในการใช้ชุดไพรเมอร์ตามการประดิษฐ์นี้ได้รับการออกแบบอย่างจำเพาะต่อการกลายพันธุ์ของนิวคลีโอไทด์เพียงตำแหน่งเดียวเท่านั้น ซึ่งจะเป็นชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับตรวจวิเคราะห์การกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* V617F ด้วยเทคนิคอัลลีลสเปซิฟิกพีซีอาร์ (allele-specific PCR) และสามารถตรวจวิเคราะห์ลำดับเบสที่ของตัวอย่างตรวจด้วยวิธีดีเอ็นเอซีควนซิง (DNA sequencing) ได้

10 การประดิษฐ์นี้มีวัตถุประสงค์คือ เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์และตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* ชนิด V617F ซึ่งเป็นเป้าหมายสำคัญในทางการแพทย์และการวินิจฉัยโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิด Myeloproliferative Neoplasms

การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

ชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับตรวจวิเคราะห์ยีน *JAK2* V617F ในโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิด Myeloproliferative Neoplasms มีส่วนประกอบ คือ ชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์จำนวนสองชุด ชุดละหนึ่งคู่ที่จำเพาะต่อทั้งยีน *JAK2* ที่ไม่กลายพันธุ์ (ชุดไพรเมอร์คู่ที่ 1) และยีน *JAK2* ที่กลายพันธุ์ (ชุดไพรเมอร์คู่ที่ 2) เพื่อใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส โดยมีรายละเอียดของลำดับเบส ดังนี้

ก) ชุดไพรเมอร์คู่ที่ 1

ฟอร์เวิร์ดไพรเมอร์: 5'-GGAGAAAGTGCATCTTTATTATGGCAGAGAG-3' เรียกว่า *JAK2_F1*

20 รีเวิร์สไพรเมอร์: 5'-CTTTTAACCTTCATTGCTTTCCTTTTTCACAAG-3' เรียกว่า *JAK2_R1*

ข) ชุดไพรเมอร์คู่ที่ 2

ฟอร์เวิร์ดไพรเมอร์: 5'-GGAGAAAGTGCATCTTTATTATGGCAGAGAG-3' เรียกว่า *JAK2_F1*

รีเวิร์สไพรเมอร์: 5'-GTAGTTTTACTTACTCTCGTCTCCACAGAA-3' เรียกว่า *JAK2_VR3*

สำหรับขั้นตอนในการประดิษฐ์ชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์ รวมถึงกรรมวิธีในการใช้ชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับตรวจวิเคราะห์ยีน *JAK2* ชนิด V617F ในโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิด Myeloproliferative Neoplasms มีรายละเอียด ดังต่อไปนี้

1) การออกแบบชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์

เป็นการออกแบบชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์ให้ครอบคลุมยีน *JAK2* ที่บริเวณ exon 14 ซึ่งอยู่ระหว่าง intron ก่อน exon 14 ถึง intron หลัง exon 14 ตั้งแต่ตำแหน่งที่ 1 ถึง 380 ซึ่งเป็นความจำเพาะของชุดไพรเมอร์คู่ที่ 1 ได้รับความยาวนิวคลีโอไทด์รวม 380 คู่เบส บ่งชี้ว่า “ไม่พบการกลายพันธุ์ของยีน *JAK2*” รายละเอียดตามรูปที่ 1 และยังออกแบบไพรเมอร์ให้ครอบคลุมบริเวณยีน *JAK2* ที่ exon 14 ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการกลายพันธุ์แบบ V617F ตั้งแต่ลำดับเบสที่ 1 ถึง 198 ซึ่งเป็นความจำเพาะของชุดไพรเมอร์คู่ที่ 2 ได้รับความยาวนิวคลีโอไทด์รวม 198 คู่เบส บ่งชี้ว่า “พบการกลายพันธุ์ของยีน *JAK2*” รายละเอียดตามรูปที่ 2

35 การออกแบบไพรเมอร์แต่ละสายต้องอาศัยหลักการคือ 1) ความยาวของแต่ละไพรเมอร์ อยู่ระหว่าง 25 ถึง 35 เบส โดยออกแบบให้ใกล้เคียง 30 เบสมากที่สุด 2) ค่าอุณหภูมิหลอมละลาย (Melting temperature, T_m) อยู่ระหว่าง 55 ถึง 65 องศาเซลเซียส และควรมีค่าใกล้เคียงกัน กล่าวคือ

ต่างกันไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส 3) องค์ประกอบของเบสกวีนีน (Guanine; G) และเบสไซโตซีน (Cytosine; C) อยู่ระหว่างร้อยละ 30 ถึง 60 และ 4) ผ่านการตรวจสอบการเกิดโครงสร้างทุติยภูมิภายในไพรเมอร์แต่ละสาย โดยหลักการนี้จะแตกต่างจากการออกแบบไพรเมอร์ทั่วไป ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในการประยุกต์ใช้ไพรเมอร์ชุดนี้สำหรับการส่งตรวจวิเคราะห์การกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* ด้วยวิธี

5 อัลลีลสเปซิฟิกพีซีอาร์ (allele-specific PCR) และวิเคราะห์เพื่อหาความถูกต้องของลำดับเบสด้วยวิธีดีเอ็นเอซีควนซิง (DNA sequencing) รวมถึงการสร้างสิ่งประดิษฐ์อื่นๆที่เกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* ในอนาคตต่อไปด้วย

2) กรรมวิธีในการใช้ชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์

ชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์ใช้ร่วมกับปฏิกิริยาพีซีอาร์ (PCR) แบบดั้งเดิมสำหรับตรวจวิเคราะห์ยีน *JAK2* ชนิด V617F ในโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิด Myeloproliferative Neoplasms เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในตัวอย่างเลือดที่ได้รับการยืนยันว่าอัลลีลหนึ่งมีกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* ชนิด V617F และอีกอัลลีลหนึ่งไม่มีกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* ชนิด V617F ด้วยวิธีดีเอ็นเอซีควนซิง (DNA sequencing) โดยผลการทดลองพบว่าการใช้ชุดไพรเมอร์แต่ละชุด และ/หรือ การใช้ชุดไพรเมอร์ร่วมกันสามารถให้

10 ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่มีขนาดที่ถูกต้อง รายละเอียดตามรูปที่ 3

15 คำอธิบายรูปเขียนโดยย่อ

รูปที่ 1 แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ exon 14 ของยีน *JAK2* (ส่วนแรเงา) ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ (ตำแหน่ง G) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ในกล่องสี่เหลี่ยมคือตำแหน่งที่ชุดไพรเมอร์คู่ที่ 1 ที่สามารถจับได้อย่างจำเพาะ

รูปที่ 2 แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ exon 14 ของยีน *JAK2* (ส่วนแรเงา) ที่มีการกลายพันธุ์ (ตำแหน่ง T) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ในกล่องสี่เหลี่ยมคือตำแหน่งที่ชุดไพรเมอร์คู่ที่ 2 ที่สามารถจับได้

20 อย่างจำเพาะ

รูปที่ 3 แสดงภาพเจลจากการเพิ่มปริมาณยีน *JAK2* โดยกำหนดให้ M คือ แถบของขนาดดีเอ็นเอมาตรฐาน หมายเลข 1 คือ การใช้ชุดไพรเมอร์คู่ที่ 1 สำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ (PCR) ให้ผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอขนาด 380 คู่เบส หมายเลข 2 คือ การใช้ชุดไพรเมอร์คู่ที่ 2 สำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ (PCR) ให้

25 ผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอขนาด 198 คู่เบส และ หมายเลข 3 คือ การใช้ชุดไพรเมอร์คู่ที่ 1 ร่วมกับคู่ที่ 2 สำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ (PCR) ให้ผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอทั้งขนาด 380 และ 198 คู่เบส

วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด

ดังได้บรรยายไว้แล้วในหัวข้อการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

ข้อถ้อยสิทธิ

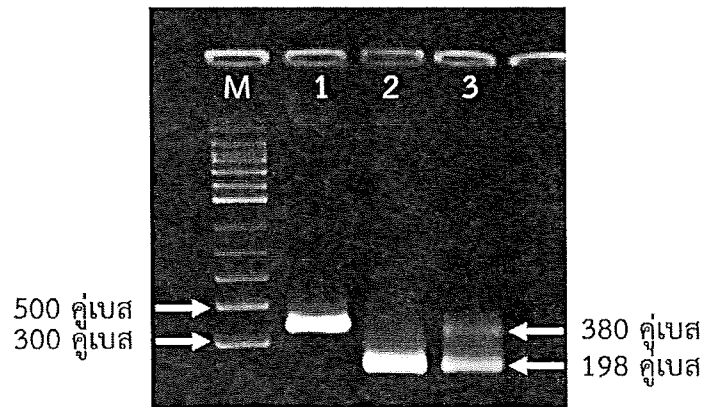
1. ชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับตรวจวิเคราะห์ยีน *JAK2* V617F ในโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิด Myeloproliferative Neoplasms มีส่วนประกอบ คือ ชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์จำนวนสองชุด ชุดละหนึ่งคู่ที่จำเพาะต่อทั้งยีน *JAK2* ที่ไม่กลายพันธุ์ (ชุดไพรเมอร์คู่ที่ 1) และยีน *JAK2* ที่กลายพันธุ์ (ชุดไพรเมอร์คู่ที่ 2) เพื่อ
- 5 ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส โดยมีรายละเอียดของลำดับเบส ดังนี้
 - ก) ชุดไพรเมอร์คู่ที่ 1
ฟอร์เวิร์ดไพรเมอร์: 5'-GGAGAAAGTGCATCTTTATTATGGCAGAGAG-3' เรียกว่า JAK2_F1
รีเวิร์สไพรเมอร์: 5'-CTTTTAACTTCATTGCTTTCCCTTTTTCACAAG-3' เรียกว่า JAK2_R1
 - ข) ชุดไพรเมอร์คู่ที่ 2
- 10
ฟอร์เวิร์ดไพรเมอร์: 5'-GGAGAAAGTGCATCTTTATTATGGCAGAGAG-3' เรียกว่า JAK2_F1
รีเวิร์สไพรเมอร์: 5'-GTAGTTTTACTTACTCTCGTCTCCACAGAA-3' เรียกว่า JAK2_VR3

1	GGAGAAAGTGCATCTTTATTATGGCAGAGAGAAATTTTCTGAACTATTTAT	50
51	GGACAACAGTCAAACAACAATTCTTTGTACTTTTTTTTTTCCCTTAGTCTT	100
101	TCTTTGAAGCAGCAAGTATGATGAGCAAGCTTCTCACAAGCATTGGTT	150
151	TTAAATTATGGAGTATGTCTCTGTGGAGACGAGAGTAAGTAAAACTACAG	200
201	GCTTTCTAATGCCTTTCTCAGAGCATCTGTTTTGTTTATATAGAAAATT	250
251	CAGTTTCAGGATCACAGCTAGGTGTCAGTGTAACCTATAATTTAACAGGA	300
301	GTTAAGTATTTTTGAAACTGAAAACACTGTAGGACTATTCAGTTATATCT	350
351	TGTGAAAAGGAAAGCAATGAAGTTAAAAG	380

รูปที่ 1

1	GGAGAAAGTGCATCTTTATTATGGCAGAGAGAAATTTTCTGAACTATTTAT	50
51	GGACAACAGTCAAACAACAATTCTTTGTACTTTTTTTTTTCCCTTAGTCTT	100
101	TCTTTGAAGCAGCAAGTATGATGAGCAAGCTTCTCACAAGCATTGGTT	150
151	TTAAATTATGGAGTATGTCTCTGTGGAGACGAGAGTAAGTAAAACTACAG	200
201	GCTTTCTAATGCCTTTCTCAGAGCATCTGTTTTGTTTATATAGAAAATT	250
251	CAGTTTCAGGATCACAGCTAGGTGTCAGTGTAACCTATAATTTAACAGGA	300
301	GTTAAGTATTTTTGAAACTGAAAACACTGTAGGACTATTCAGTTATATCT	350
351	TGTGAAAAGGAAAGCAATGAAGTTAAAAG	380

รูปที่ 2



รูปที่ 3

บทสรุปการประดิษฐ์

ชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับตรวจวิเคราะห์ยีน *JAK2* V617F ในโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิด Myeloproliferative Neoplasms มีส่วนประกอบ คือ ชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์จำนวนสองชุด ชุดละหนึ่งคู่ที่จำเพาะต่อทั้งยีน *JAK2* ที่กลายพันธุ์และไม่กลายพันธุ์ เพื่อใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสหรือพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction; PCR) ชุดไพรเมอร์และกรรมวิธีในการใช้ชุดไพรเมอร์ตามการประดิษฐ์นี้ 5 ได้รับการออกแบบอย่างจำเพาะต่อการกลายพันธุ์ของนิวคลีโอไทด์เพียงตำแหน่งเดียวเท่านั้น ซึ่งจะเป็นชุดดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับตรวจวิเคราะห์การกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* V617F ด้วยเทคนิคอัลลีลสเปซิฟิกพีซีอาร์ (allele-specific PCR) และสามารถตรวจวิเคราะห์ลำดับเบสที่ของตัวอย่างตรวจด้วยวิธีดีเอ็นเอซีควนซิง (DNA sequencing) ได้