

เอกสารนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาเพื่อให้คนไทย ได้เรียนรู้และเข้าใจเทคโนโลยีในเอกสารสิทธิบัตรนานาชาติ  
และโดยเฉพาะตัวอย่างการเขียนข้อถ้อยสิทธิ เพื่อความเข้าใจประเด็นการประดิษฐ์  
และการลำดับชั้นของการต่อยอดจากข้อถ้อยสิทธิหลัก  
และข้อถ้อยสิทธิรอง (ข้อที่อ้างถึงถึงข้อถ้อยสิทธิข้ออื่น)

ผู้จัดทำไม่รับรองความถูกต้องของการแปล การนำไปใช้อ้างอิงให้อ้างอิงจากเอกสารสิทธิบัตรต้นฉบับเท่านั้น

แปลและคิดต่อยอดโดย นักศึกษา BIOTEC มหาวิทยาลัยมหิดล  
ตรวจสอบปรับปรุงโดย ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ & ทีมงาน Toryod.com

แปลและคิดต่อโดย Phithak Inthima นักศึกษา BIOTECมหาวิทยาลัยมหิดล

ตรวจสอบปรับปรุงโดย ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ & ทีมงาน Toryod.com

AU2003290404

Primers and a screening method for identification of artemisinin producing plants

ไพรเมอร์และวิธีการกั้นกรองสำหรับจำแนกพืชที่ผลิต artemisinin

Publication date: 2005-07-21

Inventor: SHUKLA ASHUTOSH KUMAR; GUPTA MADAN MOHAN; KUMAR ANURUDDHA;  
KHANUJA SUMAN PREET SINGH; PAUL SHILPI; SHASANY AJIT KUMAR; DAROKAR  
MAHENDRA PANDURANG

Applicant: COUNCIL SCIENT IND RES

Classification:

- International: C12Q1/68; C12Q1/68; (IPC1-7): C12Q1/68
- European: A01H1/04

Application number: AU20030290404 20031229

Priority number(s): WO2003IN00404 20031229

#### Abstract

The present invention relates to a pair of primers with forward primer of SEQ ID NO. 1 having sequence of CCAAGCTTGCTGAACGCATCGG, and reverse primer of SEQ ID No. 2 having sequence of CCAAGCTTGCCACGCAGGATTATC, and a screening method for early identification of plants *Artemisia annua* having high content of artemisinin and thereby helping generation of plant population with further high content of artemisinin.

ในการประดิษฐ์คิดค้นนี้ เป็นการประดิษฐ์ไพรเมอร์ 1 คู่ ประกอบด้วย Forward primer ลำดับเบสหมายเลข 1 ซึ่งมีลำดับเบส CCAAGCTTGCTGAACGCATCGG และ Reverse primer ลำดับเบสหมายเลข 2 ซึ่งมีลำดับเบส CCAAGCTTGCCACGCAGGATTATC รวมถึงวิธีการคัดแยกพืช *Artemisia annua* ที่มีปริมาณ artemisinin สูง เพื่อช่วยขยายพันธุ์ *Artemisia annua* ที่สามารถผลิตสาร artemisinin ในปริมาณสูงได้

**What is claimed is:**

1. A pair of primers with forward primer of SEQ ID NO. 1 having sequence of CCAAGCTTGCTGAACGCATCGG, and reverse primer of SEQ ID No. 2 having sequence of CCAAGCTTGCCACGCAGGATTATC.

ไพรเมอร์ 1 คู่ ประกอบด้วย forward primer ลำดับเบสหมายเลข 1 ซึ่งมีลำดับเบส CCAAGCTTGCTGAACGCATCGG และ reverse primer ลำดับเบสหมายเลข 2 ซึ่งมีลำดับเบส CCAAGCTTGCCACGCAGGATTATC

2. A pair of primers as claimed in claim1, wherein the primers help identify plants *Artemisia annua* containing high content of artemisinin.

ไพรเมอร์ 1 คู่ ตามข้อถือสิทธิ 1 ที่ซึ่ง เป็นไพรเมอร์ที่ช่วยในการจำแนก *Artemisia annua* พันธุ์ที่มีปริมาณ artemisinin สูง

3. A screening method for early identification of plants *Artemisia annua* having high content of artemisinin and thereby helping generation of plant population with further high content of artemisinin, said method comprising steps of : a. isolating DNA from the plant, b. running PCR on the isolated DNA using a pair of primers of SEQ ID Nos. 1 and 2,c. identifying plants having high content of artemisinin, containing nucleotide SEQ ID No. 3, and d. crossing the identified plants to produce the next generation plants with further higher content of artemisinin.

วิธีในการกลั่นกรองจำแนก *Artemisia annua* ที่มีปริมาณ artemisinin สูง เพื่อช่วยขยายพันธุ์ *Artemisia annua* ที่มีปริมาณ artemisinin สูงดังกล่าว ประกอบด้วย a. การตัดแยก ดีเอ็นเอ จากพืช b. การทำ PCR ในการตัดแยกดีเอ็นเอ ด้วยการใช้ไพรเมอร์ 1 คู่ (ลำดับเบสหมายเลข 1 และ 2) ดังกล่าว c. การจำแนกต้นที่มี artemisinin สูง ซึ่งมีลำดับเบสหมายเลข 3 และ d. การผสมพันธุ์ต้นพันธุ์ที่ผ่านการจำแนกแล้ว เพื่อขยายพันธุ์ต้นที่มี artemisinin สูง

4. A screening method as claimed in claim 3, wherein the plants can be identified at nursery stage itself.

วิธีการตรวจสอบที่อ้างไว้ตามข้อถ้อยสิทธิ 3 ในพีช สามารถจำแนกได้ในระยะที่อยู่ในโรงเพาะชำ (ระยะต้นอ่อน) ของต้นพีชนั้น

5. A screening method as claimed in claim 3, wherein the high content refers to concentration of 0.4w/w% or more.

วิธีการตรวจสอบที่อ้างไว้ตามข้อถ้อยสิทธิ 3 ในต้นพีช ที่มีปริมาณ artemisinin สูง หมายถึง ต้นที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.4 w/w % (ร้อยละของน้ำหนักต่อน้ำหนัก) หรือมากกว่า

6. A screening method as claimed in claim 3, wherein the plant with higher content of artemisinin ranging between 0.5 to 1.4w/w% are produced.

วิธีการตรวจสอบที่อ้างไว้ตามข้อถ้อยสิทธิ 3 ในต้นพีชที่สร้าง artemisinin ปริมาณ 0.5-1.4 w/w %

7. A screening method as claimed in claim 3, wherein the increase in the artemisinin genetic advance (GA) is about 0.4 w/w % in first four years.

วิธีการตรวจสอบที่อ้างไว้ตามข้อถ้อยสิทธิ 3 ซึ่งมีการเพิ่ม artemisinin genetic advance (GA) ประมาณ 0.4 w/w % ในสี่ปีแรก

8. A screening method as claimed in claim 3, wherein the artemisinin content heritability (h) is about 80.

วิธีการตรวจสอบที่อ้างไว้ตามข้อถ้อยสิทธิ 3 ที่ซึ่งปริมาณ artemisinin heritability (h) ประมาณ 80

9. A screening method as claimed in claim 3, wherein the method helps maintains elite genotypic population

วิธีการตรวจสอบที่อ้างไว้ตามข้อถ้อยสิทธิ 3 เป็นวิธีการตรวจสอบที่ช่วยรักษาสายพันธุ์ที่ดี

### ต่อยอดความคิด

ใช้ไพรเมอร์นี้ตรวจสอบการแสดงออกของ mRNA ของต้น *Artemisia annua* หรือใช้คัดเลือกสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ต่าง ๆ ในเบื้องต้น จากนั้นจึงตรวจสอบปริมาณ Artemisinin ด้วยการ ใช้เทคนิค HPLC หรือการคัดเลือกพันธุ์ด้วยการใช้เทคนิค southern blot analysis โดยใช้ไพรเมอร์เพียงลำดับเดียว เป็น probe ในการตรวจสอบ (หมายเลข 1 หรือ 2) เมื่อได้ต้นพันธุ์ดีมาแล้ว ก็ใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการขยายพันธุ์ต่อไป

---

Phithak Inthima

4937332

Biotechnology Department

Faculty of Science, Mahidol University