

นพพร แนววัน : การพัฒนาชุดตรวจโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ด้วยเทคนิค CRISPR-Cas12a (DEVELOPMENT OF SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME CORONA-VIRUS 2 DETECTION BASED ON CRISPR-Cas12a) อาจารย์ที่ปรึกษา :
อาจารย์ เทคนิคการแพทย์ ดร.กัญญารัตน์ ถึงอินทร์, 118 หน้า.

คำสำคัญ : โรคโควิด 19; ไวรัสโคโรนาสายพันธุ์กลุ่มอาการทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง 2;
คริสเปอร์-แคสทเวลฟ์เอ; การตรวจสอบสารพันธุกรรม; การตรวจหาไวรัส

การแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) มีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัสโคโรนา กลุ่มอาการทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง 2 (SARS-CoV-2) ซึ่งทำให้เกิดปัญหาสาธารณสุขอย่างร้ายแรง วิธีทดสอบมาตรฐานในปัจจุบันที่เป็นที่ยอมรับในการตรวจวินิจฉัยโรคโควิด-19 คือวิธี real-time reverse transcription polymerase chain reaction (real-time RT-PCR) ซึ่งเป็นวิธีการที่มีความไวและความจำเพาะในการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 อย่างไรก็ตาม เครื่องมือนี้ไม่มีจำหน่ายทั่วไปในท้องตลาด เนื่องจากต้องใช้เครื่องมือและต้องมีการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งค่าใช้จ่ายสูง พร้อมทั้งบุคลากรที่ต้องได้รับการฝึกอบรมมาเป็นอย่างดี ในการศึกษาครั้งนี้ เราใช้โปรตีน Nonstructural Protein (NSP2) ซึ่งเป็นโปรตีนจำเพาะในเชื้อไวรัสโคโรนา 2 เป็นเป้าหมายในการตรวจวินิจฉัย โดยอาศัยเทคนิค clustered regularly interspaced short palindromic repeats associated proteins (CRISPR-Cas12a) ที่ใช้ชุดแถบทดสอบแบบ lateral flow strips test เพื่อพัฒนาชุดตรวจ ซึ่งช่วยให้สามารถอ่านผลตรวจได้ด้วยตาเปล่า รวมไปถึงเทคนิค recombinases polymerase amplification (RPA) ซึ่งช่วยให้ทราบผลตรวจเร็วขึ้นภายใน 50 นาที การประเมินผลการตรวจหาเชื้อ COVID-19 NSP2 ด้วยวิธีการใหม่นี้ ซึ่งให้ผลการทดสอบความสอดคล้องกับผลการทดสอบด้วยวิธีทดสอบมาตรฐาน real time RT-PCR 100% การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ชุดแถบทดสอบแบบ lateral flow strips test และเทคนิค CRISPR-Cas12a รวมกับเทคโนโลยี RPA ในการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่มีความเป็นไปได้ในการตรวจวินิจฉัยเชื้อ SARS-CoV-2 ในตัวอย่างโดยไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์พิเศษ

สาขาวิชาเวชศาสตร์ปริวรรต

ปีการศึกษา 2566

ลายมือชื่อนักศึกษา..... นพพร แนววัน

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... นพพร แนววัน

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... นพพร แนววัน

NOPPORN NAEWWAN : DEVELOPMENT OF SEVERE ACUTE RESPIRATORY
SYNDROME CORONAVIRUS 2 DETECTION BASED ON CRISPR-Cas12a. THESIS
ADVISOR : KANYARAT THUENG-IN, Ph.D. 118 PP.

Keyword: COVID-19; SARS-CoV-2; CRISPR-Cas12a; nucleic acid detection; virus
detection

The coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic is caused by the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) virus, which causes serious public health problems. The current gold standard accepted for diagnosing COVID-19 is the real-time reverse transcription polymerase chain reaction (real-time RT-PCR), which is a sensitive and specific method to detect SARS-CoV-2. However, they are not available in resource-constrained regions, equipment is required and requires expensive laboratory settings with well-trained personnel. In this study, we used nonstructural protein 2 (NSP2) as a target for development of a clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)-CRISPR associated proteins (Cas) 12a based lateral flow strips test, which can be visualized by the naked eye. We also combine with recombinases polymerase amplification (RPA) that allows the sample to result can be achieved in 50 minutes. Evaluation of the new COVID-19-NSP2 assay showed 100% concordance with real-time RT-PCR reference assay. This study shows that CRISPR-Cas12a based lateral flow assay combined with RPA technology are viable alternatives for diagnosing SARS-CoV-2 in samples without the need for special equipment.

School of Translational Medicine
Academic Year 2023

Student's Signature.....*Nopporn N.*.....
Advisor's Signature.....*Kanyarat T.*.....
Co-Advisor's Signature.....*N. Namkhaosri*.....