รายละเอียดการประดิษฐ์

ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับใช้ในการเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และกรรมวิธีการผลิตกรด 5-อะมิโนลีวูลินิก จากแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์

กรรมวิธีการผลิตกรด 5-อะมิโนลีวูลินิกจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสง โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ประกอบด้วย ยีสต์สกัด 0.5-5.0 กรัมต่อลิตร, ผงชูรส 2.0-8.0 กรัมต่อลิตร, กลูโคส 3.0-9.0 กรัมต่อลิตร, โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5-2.0 กรัมต่อลิตร, ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5-2.0 กรัมต่อลิตร, แอมโมเนียมซัลเฟต 0.5-2.0 กรัมต่อลิตร, แมกนีเซียมซัลเฟต 0.1-1.0 กรัมต่อลิตร, แคลเซียมคลอไรด์ 0.01-1.0 กรัมต่อลิตร, แมงกานีสซัลเฟต 0.01-1.0 กรัมต่อลิตร, กรดนิโคตินิก 0.1-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, ไทอะมิน 0.1-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, ไบโอติน 0.005-0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และเกลือ 1.0-10.0% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเติมเหล็ก 1.5-120 ไมโครโมลาร์ เติมกรดลีวูลินิก 1.0-15 มิลลิโมลาร์ที่เวลา 18-72 ชั่วโมง

ความมุ่งหมายของการประดิษฐ์นี้ เพื่อหาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพิ่มการสะสมกรด 5-อะมิโนลีวูลินิกภายในเซลล์แบคทีเรียสังเคราะห์แสง สำหรับใช้เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคของกุ้งกุลาดำ

สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

เทคโนโลยีชีวภาพ

ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

กรด 5-อะมิโนลีวูลินิก (5-aminolevulinic acid, ALA) สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางการเกษตรและทางการแพทย์ ในด้านการเกษตรมีรายงานการใช้ ALA เป็นสารกำจัดวัชพืช ในกลุ่มของออร์โท-ฟีแนนโธลีน (O-phenanthroline) เอทธิล นิโคทิเนต (ethyl nicotinate) และ 2,2'-dipyridyl (Sasaki *et al.*, 1994) และใช้เป็นสารกำจัดแมลง (Sasaki *et al.*, 1994) สารกระตุ้นการเจริญของพืช เช่น หัวไชเท้า ถั่วแดง บาร์เล่ย์ กระเทียม ข้าว ข้าวโพด มันฝรั่ง กระเทียม (Sasaki *et al.*, 1994; Sasaki *et al.*, 1998; Hotta *et al.*, 1997) Sasaki และคณะ (2002) รายงานว่า ALA ช่วยให้พืชเพิ่มความทนทานต่อเกลือ และอุณหภูมิต่ำ (5°ซ) และมีการประยุกต์ใช้ ALA ในทางการแพทย์ เพื่อรักษาโรคมะเร็ง และวินิจฉัยเนื้องอกในสมอง มีการจดสิทธิบัตรในประเทศเกาหลีเกี่ยวกับการใช้ ALA กับปลา

การเพิ่มภูมิคุ้มกันโรคให้กับกุ้งกุลาดำ (*Peneus monodon*) โดยวิธีทางชีวภาพซึ่งเป็นการประยุกต์ใช้สารชีวภาพ นับเป็นมาตรการที่เหมาะสมในการป้องกัน/ควบคุม การติดเชื้อของกุ้งกุลาดำ เพื่อลดหรือหลีกเลี่ยงการใช้ยาปฏิชีวนะหรือสารเคมี เพื่อป้องกันและควบคุมการแพร่ระบาดของโรค ทั้งนี้เป็นการลดปัญหาสารตกค้างและความเป็นพิษ ซึ่งอาจมีผลกระทบต่อการส่งออกกุ้งกุลาดำไปยังประเทศต่างๆ

การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับใช้ในการเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ที่ประกอบด้วย

ยีสต์สกัด	0.5-5.0	กรัมต่อลิตร
กลูตาเมตหรือผงชูรส	2.0-8.0	กรัมต่อลิตร
กลูโคส	3.0-9.0	กรัมต่อลิตร
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.5-2.0	กรัมต่อลิตร
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.5-2.0	กรัมต่อลิตร
แอมโมเนียมซัลเฟต	0.5-2.0	กรัมต่อลิตร
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.1-1.0	กรัมต่อลิตร
แคลเซียมคลอไรด์	0.01-1.0	กรัมต่อลิตร
แมงกานีสซัลเฟต	0.01-1.0	กรัมต่อลิตร
กรดนิโคตินิก	0.1-2.0	มิลลิกรัมต่อลิตร
ไทอะมิน	0.1-2.0	มิลลิกรัมต่อลิตร
ไบโอติน	0.005-0.2	มิลลิกรัมต่อลิตร และ
เกลือ	1.0-10.0%	โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

นอกจากนี้ สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวยังมีการเติมเหล็ก 1.5-120 ไมโครโมลาร์ และกรดลีวูลินิก 1.0-15 มิลลิโมลาร์ เพื่อช่วยเพิ่มการสะสมของกรด 5-อะมิโนลีวูลินิกภายในเซลล์ของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

กรรมวิธีการผลิตกรด 5-อะมิโนลีวูลินิก จากแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ที่ประกอบด้วย

ก. การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในอาหารซึ่งประกอบด้วย ยีสต์สกัด 0.5-5.0 กรัมต่อลิตร, กลูตาเมตหรือผงชูรส 2.0-8.0 กรัมต่อลิตร, กลูโคส 3.0-9.0 กรัมต่อลิตร, โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5-2.0 กรัมต่อลิตร, ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5-2.0 กรัมต่อลิตร, แอมโมเนียมซัลเฟต 0.5-2.0 กรัมต่อลิตร, แมกนีเซียมซัลเฟต 0.1-1.0 กรัมต่อลิตร, แคลเซียมคลอไรด์

0.01-1.0 กรัมต่อลิตร, แมงกานีสซัลเฟต 0.01-1.0 กรัมต่อลิตร, กรดนิโคตินิก 0.1-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, ไทอะมิน 0.1-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, ไบโอติน 0.005-0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร, เกลือ 1.0-10.0% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเติมเหล็กที่ 1.5-120 ไมโครโมลาร์ เติมกรดลีวูลินิก 1.0-15 มิลลิโมลาร์ที่เวลา 18-72 ชั่วโมง แต่ที่เหมาะสม คือ 24 ชั่วโมง

ข. ทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในสภาวะที่มีการให้อากาศการเลี้ยง-ไร้แสง ซึ่งให้อากาศด้วยเครื่องเขย่า กระทำที่ความเร็วรอบ 50-500 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25-40 องศาเซลเซียส หรือให้อากาศในถังหมักด้วยอัตราการให้อากาศ 0.1-3.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที และอัตราการกวนในถังหมักด้วยอัตราเร็ว 100-400 รอบต่อนาที จนเชื้อสร้างกรด 5-อะมิโน ลีวูลินิกขึ้นภายในเซลล์

วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด

เช่นเดียวกับที่ได้อธิบายไว้ในการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

ข้อถือสิทธิ

1. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับใช้ในการเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ที่ประกอบด้วย

ยีสต์สกัด	0.5-5.0	กรัมต่อลิตร
กลูตาเมตหรือผงชูรส	2.0-8.0	กรัมต่อลิตร
กลูโคส	3.0-9.0	กรัมต่อลิตร
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.5-2.0	กรัมต่อลิตร
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.5-2.0	กรัมต่อลิตร
แอมโมเนียมซัลเฟต	0.5-2.0	กรัมต่อลิตร
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.1-1.0	กรัมต่อลิตร
แคลเซียมคลอไรด์	0.01-1.0	กรัมต่อลิตร
แมงกานีสซัลเฟต	0.01-1.0	กรัมต่อลิตร
กรดนิโคตินิก	0.1-2.0	มิลลิกรัมต่อลิตร
ไทอะมิน	0.1-2.0	มิลลิกรัมต่อลิตร
ไบโอติน	0.005-0.2	มิลลิกรัมต่อลิตร และ
เกลือ	1.0-10.0%	โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

2. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อตามข้อถือสิทธิ 1 ที่ซึ่งยังเติมกรดลีวูลินิก 1.0-15.0 มิลลิโมลาร์
3. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อตามข้อถือสิทธิ 2 ที่ซึ่งกรดลีวูลินิกดังกล่าวเติมที่เวลา 18-72 ชั่วโมง
4. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อตามข้อถือสิทธิ 3 ที่ซึ่งการเติมกรดลีวูลินิกที่เหมาะสมคือที่เวลา 24 ชั่วโมง
5. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อตามข้อถือสิทธิ 4 ที่ซึ่งยังเติมเหล็ก 1.5-120 ไมโครโมลาร์
6. กรรมวิธีการผลิตกรด 5-อะมิโนลีวูลินิก จากแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ที่ประกอบด้วย

    ก. การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในอาหารซึ่งประกอบด้วย ยีสต์สกัด 0.5-5.0 กรัมต่อลิตร, กลูตาเมตหรือผงชูรส 2.0-8.0 กรัมต่อลิตร, กลูโคส 3.0-9.0 กรัมต่อลิตร, โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5-2.0 กรัมต่อลิตร, ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5-2.0 กรัมต่อลิตร, แอมโมเนียมซัลเฟต 0.5-2.0 กรัมต่อลิตร, แมกนีเซียมซัลเฟต 0.1-1.0 กรัมต่อลิตร, แคลเซียมคลอไรด์ 0.01-1.0 กรัมต่อลิตร, แมงกานีสซัลเฟต 0.01-1.0 กรัมต่อลิตร, กรดนิโคตินิก 0.1-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, ไทอะมิน 0.1-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, ไบโอติน 0.005-0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เกลือ 1.0-10.0% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเติมเหล็กที่ 1.5-120 ไมโครโมลาร์ และเติมกรดลีวูลินิก 1.0-15 มิลลิโมลาร์ที่เวลา 18-72 ชั่วโมง แต่ที่เหมาะสม คือ 24 ชั่วโมง

ข. ทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในสภาวะที่มีการให้อากาศ-ไร้แสง จนเชื้อสร้างกรด 5-อะมิโน ลีวูลินิกขึ้นภายในเซลล์

7. กรรมวิธีการผลิตกรด 5-อะมิโนลีวูลินิก ตามข้อถือสิทธิ 6 ที่ซึ่งการให้อากาศการเลี้ยง-ไร้แสง ทำโดยใช้เครื่องเขย่า หรือถังหมัก

8. กรรมวิธีการผลิตกรด 5-อะมิโนลีวูลินิก ตามข้อถือสิทธิ 7 ที่ซึ่งการให้อากาศ-ไร้แสง ด้วยเครื่องเขย่ากระทำที่ความเร็วรอบ 50-500 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25-40 องศาเซลเซียส

9. กรรมวิธีการผลิตกรด 5-อะมิโนลีวูลินิก ตามข้อถือสิทธิ 7 ที่ซึ่งการให้อากาศ-ไร้แสง ในถังหมักด้วยอัตราการให้อากาศ 0.1-3.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที และอัตราการกวนในถังหมักด้วยอัตราเร็ว 100-400 รอบต่อนาที

บทสรุปการประดิษฐ์

กรรมวิธีการผลิตกรด 5-อะมิโนลีวูลินิกจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสง โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย ยีสต์สกัด 0.5-5.0 กรัมต่อลิตร, ผงชูรส 2.0-8.0 กรัมต่อลิตร, กลูโคส 3.0-9.0 กรัมต่อลิตร, โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5-2.0 กรัมต่อลิตร, ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5-2.0 กรัมต่อลิตร, แอมโมเนียมซัลเฟต 0.5-2.0 กรัมต่อลิตร, แมกนีเซียมซัลเฟต 0.1-1.0 กรัมต่อลิตร, แคลเซียมคลอไรด์ 0.01-1.0 กรัมต่อลิตร, แมงกานีสซัลเฟต 0.01-1.0 กรัมต่อลิตร, กรดนิโคตินิก 0.1-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, ไทอะมิน 0.1-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, ไบโอติน 0.005-0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เกลือ 1.0-10.0% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเติมเหล็กที่ 1.5-120 ไมโครโมลาร์ และเติมกลูโคส 20 - 50 มิลลิโมลาร์ เติมกรดลีวูลินิก 1.0-15 มิลลิโมลาร์ที่เวลา 18-72 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีการให้อากาศ-ไร้แสง