



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0003271

(51) **C12Q 1/00**
2022.01

(13) **Y**

(21) 2-2022-00536

(22) 19/03/2020

(67) 1-2020-01585

(45) 25/08/2023 425

(43) 25/08/2020 389ASC

(73) 1. Viện Vệ sinh dịch tễ Trung Ương (VN)

Số 1, phố Yec-xanh, phường Phạm Đình Hồ, quận Hai Bà Trưng, thành phố Hà Nội

2. Institut de Recherche pour le Développement, IRD (FR)

Le Sextant - 44 Boulevard de Dunkerque, CS 90009, 13572 Marseille Cedex 02,
France

(72) Nguyễn Thị Vân Anh (VN); BANULS Anne-Laure Marie Cécile (FR); Nguyễn Thị Ngọc Anh (VN); ANTON Veronique (FR); TROUILH Lidwine (FR); LABOURDETTE Delphine Martine (FR); Nguyễn Quang Huy (VN); Vũ Thị Thương (VN); Lê Quang Hòa (VN); Nguyễn Việt Nhung (VN); Nguyễn Văn Hưng (VN).

(74) CÔNG TY TNHH SỞ HỮU TRÍ TUỆ ASOKA VIỆT NAM (ASOKA IP CO.,LTD)

(54) BỘ SINH PHẨM CHIP ADN CHẨN ĐOÁN NHANH VI KHUẨN LAO KHÁNG THUỐC VÀ QUY TRÌNH SẢN XUẤT BỘ SINH PHẨM CHIP ADN CHẨN ĐOÁN NHANH VI KHUẨN LAO KHÁNG THUỐC

(57) Sáng chế đề xuất bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc bao gồm:

a) phiên kính để gắn các mẫu dò, trong đó mỗi phiên kính bao gồm 8 chip;

b) 254 mẫu dò được gắn lên phiên kính, trong đó mỗi mẫu dò được gắn tại 3 điểm liên tiếp trên chip, và trong đó mẫu dò được cố định trên phiên kính bằng phản ứng không thuận nghịch giữa nhóm amino ở đầu 5' của mẫu dò và nhóm epoxy trên phiên kính; và trong đó:

i) tại mỗi điểm gắn mẫu dò, khoảng 0,7nL của mỗi mẫu dò được gắn trên phiên kính;

ii) đường kính điểm gắn mẫu dò là khoảng 100µm; và

iii) khoảng cách giữa các mẫu dò, cụ thể là khoảng cách từ tâm của mẫu dò này đến tâm của mẫu dò kế tiếp bên cạnh, là khoảng 310µm.

Sáng chế còn đề xuất quy trình sản xuất bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế liên quan đến lĩnh vực công nghệ sinh học, cụ thể hơn sáng chế đề xuất bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc và quy trình sản xuất bộ sinh phẩm chip ADN (ViFran MTB multi-DR) chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc. Bộ sinh phẩm chip ADN theo sáng chế cho phép thực hiện việc chẩn đoán nhanh, hiệu quả, chính xác bệnh lao kháng thuốc với giá thành hợp lý.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh lao là một bệnh truyền nhiễm gây ra bởi vi khuẩn lao, *Mycobacterium tuberculosis*. Bệnh lao đứng thứ 9 trong 10 căn bệnh gây tử vong cao nhất thế giới. Tình trạng kháng thuốc ngày càng tăng là một trong những thách thức lớn nhất trong việc kiểm soát bệnh lao trên toàn thế giới. Hàng triệu bệnh nhân lao đã được điều trị mà không rõ tình trạng kháng thuốc. Trong quá trình điều trị đó, vi khuẩn lao có thể lây lan ra cộng đồng và/hoặc phát triển sự kháng thuốc, từ đơn kháng tới đa kháng, kháng ít nhất với isoniazid (isoniazide - INH) và rifampicin (rifampicin - RMP) và/hoặc siêu kháng (là tình trạng đa kháng và kháng thêm với ít nhất một fluoroquinolon (fluoroquinolone - FQ)) và 1 thuốc tiêm hàng hai (Second-line injectable drug - SIJ)). Trong năm 2016, có khoảng 600000 trường hợp được phát hiện đa kháng hoặc kháng RMP (chỉ thị của đa kháng) và 123 nước có báo cáo phát hiện các trường hợp siêu kháng. Điều trị lao kháng thuốc rất khó khăn, tốn kém và gây ra nhiều tác dụng phụ cho bệnh nhân, trong khi đó khả năng thành công rất thấp, chỉ đạt khoảng 50% đối với lao đa kháng (chỉ có Việt Nam và Campuchia đạt 75%) và 30% đối với lao siêu kháng (xem, tài liệu 1).

Hiện nay chẩn đoán lao kháng thuốc còn gặp rất nhiều khó khăn. Phương pháp chuẩn vàng là phương pháp kháng sinh đồ dựa trên nuôi cấy tốn nhiều thời gian từ 4 đến 8 tuần, cần phòng an toàn sinh học cấp 3 và nhân lực có tay nghề cao. Gần đây, các kết quả giải trình tự cho thấy cơ chế chính của vi khuẩn lao kháng thuốc là các đột biến điểm trên gen liên quan đến kháng thuốc trong nhiễm sắc thể vi khuẩn. Nhờ đó,

các phương pháp chẩn đoán phân tử phát hiện lao kháng thuốc đã được phát triển mạnh mẽ. Tuy nhiên, chỉ một số xét nghiệm được Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) khuyến cáo dùng trong lâm sàng. Nhờ những xét nghiệm này mà số trường hợp lao kháng thuốc được phát hiện tăng lên trên toàn thế giới. Tuy nhiên, do giá thành cao, việc áp dụng những xét nghiệm này trong chẩn đoán lâm sàng còn hạn chế ở các nước thu nhập thấp hoặc trung bình. Bên cạnh đó, do số đột biến phát hiện được còn hạn chế vì chỉ tập trung vào những đột biến có tần suất cao dẫn đến bỏ sót các trường hợp kháng thuốc mang đột biến ít phổ biến. Những xét nghiệm này thường phải được thực hiện phối hợp cùng các xét nghiệm khác để đảm bảo tính chính xác, ví dụ như kháng sinh đồ nuôi cấy. Do đó, việc phát triển kit chẩn đoán vừa nhanh, vừa có độ chính xác cao với giá thành hợp lý là vô cùng cần thiết trong việc kiểm soát căn bệnh này.

Bên cạnh phương pháp giải trình tự, công nghệ chip ADN là công nghệ mạnh nhất có khả năng phát hiện cùng lúc hàng nghìn đột biến hay trình tự đích. Mặc dù vậy, hiện nay chưa có xét nghiệm nào áp dụng công nghệ chip được WHO phê duyệt và chỉ định dùng trong chẩn đoán lao kháng thuốc.

Tài liệu trích dẫn

Tài liệu phi sáng chế

Tài liệu 1: WHO. Global Tuberculosis Report 2017. WHO (2017). doi: WHO/HTM/TB/2017.23

Tài liệu 2: Nguyen, Q. H. Genetic determinants and evolution of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* in Vietnam: toward new diagnostic tools. (Universite Montpellier, 2016)

Tài liệu 3 : Linger, Y. et al. Simplified microarray system for simultaneously detecting rifampin, isoniazid, ethambutol, and streptomycin resistance markers in *mycobacterium tuberculosis*. J. Clin. Microbiol. 52, 2100–2107 (2014).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật cần được giải quyết

Mục đích của sáng chế là đề xuất bộ sinh phẩm chip ADN được phát triển dựa trên một danh sách các đột biến, liên quan đến tính kháng thuốc hàng một và hàng hai của vi khuẩn lao, đã được công bố trên thế giới, và của các chủng vi khuẩn lao phân lập từ bệnh nhân lao Việt Nam, Lào và Campuchia, để giải quyết các vấn đề nêu trên. Bộ sinh phẩm này có khả năng phát hiện cùng lúc chủng vi khuẩn lao và tất cả các kiểu kháng của chủng, từ đơn kháng đến đa kháng và siêu kháng. Mẫu xét nghiệm là mẫu nuôi cấy dương tính với vi khuẩn lao hoặc mẫu đờm soi kính dương tính.

Cách thức giải quyết vấn đề

Để đạt được mục đích trên, các tác giả sáng chế đã thực hiện các khảo sát và nghiên cứu trên cơ sở dữ liệu giải trình từ gen liên quan đến tính kháng RMP, INH, (streptomycin - SM), (ethambutol – EMB), FQ và SIJ trong các nghiên cứu đã công bố trên thế giới và thực hiện giải trình tự bộ chủng vi khuẩn lao thu thập ở Việt Nam, Lào và Campuchia. Một danh sách các đột biến liên quan đến tính kháng thuốc với độ tin cậy cao đã được xác định (xem, tài liệu 2). Trên cơ sở đó, các tác giả sáng chế đã xác định được các chỉ thị phân tử phát hiện lao kháng thuốc, các tiêu chí để thiết kế mồi, mẫu dò và panel mẫu dò với độ chính xác cao để có thể tạo ra bộ sinh phẩm chip ADN có khả năng phát hiện cùng lúc vi khuẩn lao và tất cả các kiểu kháng của đã được phát hiện của vi khuẩn, từ đơn kháng đến đa kháng và siêu kháng. Nhờ đó, đã tạo ra sáng chế.

Do đó, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc bao gồm:

- a) phiên kính để gắn các mẫu dò, trong đó mỗi phiên kính bao gồm 8 chip;
- b) 254 mẫu dò được gắn lên phiên kính, trong đó 134 mẫu dò phát hiện kháng Rifampicin (RMP) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 134, 40 mẫu dò phát hiện kháng Isoniazid (INH) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 135 đến SEQ ID NO. 174, 18 mẫu dò phát hiện kháng Streptomycin (SM) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 175 đến SEQ ID NO. 192, 25 mẫu dò phát hiện kháng Ethambutol (EMB) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 193 đến SEQ ID NO. 217, 23 mẫu dò phát hiện kháng Fluoroquinolon (FQ) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 218 đến SEQ ID NO. 240, 13 mẫu dò phát hiện kháng các thuốc tiêm hàng hai (SIJ) có trình tự nêu

trong SEQ ID NO. 241 đến SEQ ID NO. 253, 01 mẫu dò phát hiện chủng phức hợp *Mycobacterium tuberculosis* (*Mycobacterium tuberculosis* complex - MTBc) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 254; và

trong đó mỗi mẫu dò được gắn tại 3 điểm liên tiếp trên chip, và trong đó mẫu dò được cố định trên phiên kính bằng phản ứng không thuận nghịch giữa nhóm amino ở đầu 5' của mẫu dò và nhóm epoxy trên phiên kính; và

tại mỗi điểm gắn mẫu dò, khoảng 0,7nL của mỗi mẫu dò được gắn trên phiên kính;

đường kính điểm gắn mẫu dò là khoảng 100µm;

khoảng cách giữa các mẫu dò, cụ thể là khoảng cách từ tâm của mẫu dò này đến tâm của mẫu dò kế tiếp bên cạnh, là khoảng 310µm.

Theo một khía cạnh, sáng chế còn đề xuất quy trình sản xuất bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc bao gồm các bước:

- i) xác định các chỉ thị phân tử phát hiện lao kháng thuốc dựa trên dữ liệu giải trình tự của các gen liên quan đến kháng Rifampicin (RMP), Isoniazid (INH), Streptomycin (SM), Ethambutol (EMB), Fluoroquinolon (FQ) và thuốc tiêm hàng hai (Second-line injectable drug – SIJ) để xác định đột biến liên quan đến tính kháng thuốc của lao kháng thuốc;
- ii) thiết kế và tổng hợp 254 mẫu dò, trong đó 134 mẫu dò phát hiện kháng Rifampicin (RMP) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 134, 40 mẫu dò phát hiện kháng Isoniazid (INH) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 135 đến SEQ ID NO. 174, 18 mẫu dò phát hiện kháng Streptomycin (SM) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 175 đến SEQ ID NO. 192, 25 mẫu dò phát hiện kháng Ethambutol (EMB) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 193 đến SEQ ID NO. 217, 23 mẫu dò phát hiện kháng Fluoroquinolon (FQ) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 218 đến SEQ ID NO. 240, 13 mẫu dò phát hiện kháng các thuốc tiêm hàng hai (SIJ) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 241 đến SEQ ID NO. 253, 01 mẫu dò phát hiện chủng phức hợp *Mycobacterium tuberculosis* (*Mycobacterium tuberculosis* complex - MTBc) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 254; và

iii) cố định 254 mẫu dò ở bước ii) lên trên phiên kính bằng phản ứng không thuận nghịch giữa nhóm amino ở đầu 5' của mẫu dò và nhóm epoxy trên phiên kính, trong đó

254 mẫu dò ở nồng độ $20\mu\text{M}$ trong dung dịch đệm 3X SSC được gắn lên phiên kính ở điều kiện 18°C và độ ẩm 55%, trong đó mỗi mẫu dò được gắn tại 3 điểm liên tiếp trên chip,

tại mỗi điểm gắn mẫu dò, khoảng 0,7nL của mỗi mẫu dò được gắn trên phiên kính;

đường kính điểm gắn mẫu dò là khoảng $100\mu\text{m}$; và

khoảng cách giữa các mẫu dò, cụ thể là khoảng cách từ tâm của mẫu dò này đến tâm của mẫu dò kế tiếp bên cạnh, là khoảng $310\mu\text{m}$;

iv) hoàn thiện sản phẩm bộ sinh phẩm chip ADN bằng cách đặt phiên kính trong buồng lai qua đêm để các mẫu dò khô hoàn toàn và đảm bảo tính đồng nhất của các điểm gắn mẫu dò trên toàn bộ chip, sau đó phiên kính được giữ trong hộp kín và để ở nhiệt độ phòng đến khi sử dụng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả thông qua các phương án cụ thể được ưu tiên với sự tham chiếu đến các hình vẽ, trong đó:

Fig. 1 thể hiện chi tiết về số đột biến, tiêu chí lựa chọn và số đột biến được chọn để thiết kế mẫu dò mà được thể hiện trong Bảng 1;

Fig. 2 thể hiện thiết kế của môi cho khuếch đại các trình tự đích liên quan đến kháng RMP, INH, SM, EMB, FQ và SIJ mà được thể hiện trong Bảng 2;

Fig. 3 thể hiện mẫu dò phát hiện đột biến trên gen *rpoB* liên quan đến tính kháng RMP và phát hiện chủng MTBc mà được thể hiện trong Bảng 3;

Fig. 4 thể hiện mẫu dò phát hiện đột biến trên gen *katG*, *inhA* và vùng khởi động (promoter) của gen *inhA* liên quan đến tính kháng INH mà được thể hiện trong Bảng 4;

Fig. 5 thể hiện mẫu dò phát hiện đột biến trên gen *rrs* và *rpsL* liên quan đến tính kháng SM mà được thể hiện trong Bảng 5;

Fig. 6 thể hiện mẫu dò phát hiện đột biến trên gen *embB* liên quan đến tính kháng EMB mà được thể hiện trong Bảng 6;

Fig. 7 thể hiện mẫu dò phát hiện đột biến trên gen *gyrA* và *gyrB* liên quan đến tính kháng Fluoroquinolon mà được thể hiện trong Bảng 7;

Fig. 8 thể hiện mẫu dò phát hiện đột biến trên gen *rrs* và *eis* liên quan đến tính kháng các thuốc tiêm hàng hai mà được thể hiện trong Bảng 8;

Fig. 9 thể hiện các Bảng thể hiện đột biến gen, trong đó:

Bảng S1.1: Đột biến trên gen *rpoB* được tìm thấy trong những chủng kháng RMP trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào, Campuchia;

Bảng S1.2: Đột biến xuất hiện đồng thời trên gen *rpoB* được tìm thấy trong những chủng kháng RMP trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia;

Bảng S1.3: Đột biến trên gen *katG* được tìm thấy trong những chủng kháng INH trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia;

Bảng S1.4: Đột biến trên gen *inhA* và vùng khởi động của gen *inhA* được tìm thấy trong những chủng kháng INH trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia;

Bảng S1.5: Đột biến trên gen *rpsL* được tìm thấy trong những chủng kháng SM trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia;

Bảng S1.6: Đột biến trên gen *rrs* được tìm thấy trong những chủng kháng SM trên thế giới và quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia;

Bảng S1.7: Đột biến trên gen *embB* được tìm thấy trong những chủng kháng EMB trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia;

Bảng S1.8: Đột biến trên gen *rrs* được tìm thấy trong những chủng kháng thuốc tiêm hàng hai trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia;

Bảng S1.9: Đột biến trên gen *gyrA* được tìm thấy trong những chủng kháng FQ trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia;

Bảng S1.10: Đột biến trên gen *gyrB* được tìm thấy trong những chủng kháng FQs trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia;

Bảng S1.11: Đột biến trên vùng khởi động (promoter) của gen *eis* được tìm thấy trong những chủng kháng SIJ trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả một cách chi tiết hơn nữa thông qua các phương án được ưu tiên chỉ với mục đích minh họa cho sáng chế. Do đó, sáng chế không bị giới hạn chỉ ở các phương án cụ thể được ưu tiên này.

Ngoài ra, rõ ràng là, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, trên cơ sở nội dung bộc lộ trong bản mô tả này, có thể biến đổi sáng chế theo các cách tương đương khác nhau như thay đổi các bước, thành phần, nguyên liệu, tỷ lệ, chi tiết tương đương với đặc tính và/hoặc chức năng tương đương đối với các bước, thành phần, nguyên liệu, tỷ lệ, chi tiết tương đương, v.v., được mô tả trong bản mô tả này.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “khoảng” trước các giá trị số được dùng để chỉ chính giá trị số đó cũng như các giá trị số nằm trong khoảng $\pm 20\%$, tốt hơn là $\pm 15\%$, tốt hơn nữa là $\pm 10\%$, thậm chí tốt hơn nữa là $\pm 5\%$, và tốt nhất là chỉ chính (0%) giá trị số đó.

Trong bản mô tả này, các ký hiệu viết tắt được sử dụng và có ý nghĩa như được xác định sau đây:

Cy	Cyanin
D	Chỉ số phân biệt
EMB	Ethambutol
FQ	Fluoroquinolon
INH	Isoniazid
MDR-TB	Bệnh lao đa kháng
MT	Kiểu đột biến
MTB	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
RMP	Rifampicin
RR	Kháng rifampicin
RRDR	Vùng kháng rifampicin
SIJ	Thuốc tiêm hàng hai (Second-line injectable drug)
SM	Streptomycin
TB	Bệnh lao
XDR-TB	Bệnh lao siêu kháng
WT	Kiểu đại

Quy trình sản xuất bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất quy trình sản xuất bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc bao gồm các bước:

- i) xác định các chỉ thị phân tử phát hiện lao kháng thuốc dựa trên dữ liệu giải trình tự của các gen liên quan đến kháng Rifampicin (RMP), Isoniazid (INH), Streptomycin (SM), Ethambutol (EMB), Fluoroquinolon (FQ) và thuốc tiêm hàng hai (Second-line injectable drug – SIJ) để xác định đột biến liên quan đến tính kháng thuốc của vi khuẩn lao kháng thuốc;
- ii) thiết kế môi để khuếch đại các trình tự gen liên quan đến kháng RMP, INH, SM, EMB, FQ và SIJ; và
- iii) thiết kế panel mẫu dò phát hiện đột biến;

và trong đó:

mẫu dò đột biến (MT) và mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế cho từng đột biến;

tất cả các mẫu dò được gắn amino-C12 ở đầu 5';

kích thước mẫu dò nằm trong khoảng từ 22 đến 33bp; và

trong đó:

tổng mẫu dò được thiết kế là 254 mẫu bao gồm 65 mẫu dò kiểu dại (WT) và 189 mẫu dò đột biến (MT), và trong đó bao gồm 134 mẫu dò phát hiện kháng Rifampicin (RMP), 40 mẫu dò phát hiện kháng Isoniazid (INH), 18 mẫu dò phát hiện kháng Streptomycin (SM), 25 mẫu dò phát hiện kháng Ethambutol (EMB), 23 mẫu dò phát hiện kháng Fluoroquinolon (FQ), 13 mẫu dò phát hiện kháng các thuốc tiêm hàng hai (SIJ) và 1 mẫu dò phát hiện phức hợp chủng vi khuẩn lao *Mycobacterium tuberculosis* (*Mycobacterium tuberculosis* complex - MTBc).

Bước i) Xác định các chỉ thị phân tử phát hiện lao kháng thuốc

Bước này được thực hiện dựa trên dữ liệu giải trình tự của các gen liên quan đến kháng RMP, INH, SM, EMB, FQ và SIJ trong các nghiên cứu đã công bố trên thế giới và trong nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia, một danh sách các đột biến liên quan đến tính kháng thuốc với độ tin cậy cao đã được xác định (xem, Fig. 9). Đối với tất cả các đột biến được phát hiện trên toàn thế giới, những đột biến có tần suất phát hiện $\geq 0,1\%$ (liên quan đến kháng RMP và INH), và $\geq 0,5\%$ (liên quan đến kháng các thuốc khác) được chọn để thiết kế mẫu dò (xem, Fig. 1). Bên cạnh đó, tất cả các đột biến liên quan đến kháng thuốc được phát hiện ở Việt Nam, Lào và Campuchia đều được chọn để thiết kế mẫu dò. Tổng số, 189 đột biến liên quan đến kháng thuốc hàng 1 và hàng 2 được chọn để thiết kế mẫu dò.

Bước ii) Thiết kế môi

50 môi (xem, Fig. 2) được thiết kế để khuếch đại 25 đoạn trình tự đích phát hiện 189 đột biến đã chọn. Bốn (4) cặp môi được thiết kế để cho khuếch đại 4 đoạn trên

gen *rpoB* (liên quan đến kháng RMP), bốn (4) cặp mồi được thiết kế cho khuếch đại 4 đoạn trên gen *katG*, bốn (4) cặp mồi được thiết kế cho khuếch đại 4 đoạn trên gen *inhA* và một (1) cặp mồi cho khuếch đại 1 đoạn trên promoter của gen *inhA* (liên quan đến kháng INH), một (1) cặp mồi được thiết kế cho khuếch đại gen *rpsL* và hai (2) cặp mồi được thiết kế cho khuếch đại hai đoạn trên gen *rrs* (liên quan đến kháng SM), năm (5) cặp mồi được thiết kế để khuếch đại 5 đoạn trên gen *embB* (liên quan đến kháng EMB), một (1) cặp mồi được thiết kế cho khuếch đại 1 đoạn trên gen *rrs* và một (1) cặp mồi được thiết kế cho khuếch đại 1 đoạn trên gen *eis* (liên quan đến kháng thuốc tiêm hàng hai), một (1) cặp mồi được thiết kế cho khuếch đại một đoạn trên gen *gyrA* và một (1) cặp mồi được thiết kế cho khuếch đại một đoạn trên gen *gyrB* (liên quan đến kháng FQ).

Tính chất các cặp mồi như sau: kích thước từ 18 đến 22 nucleotit, T_m trong khoảng 53,4°C-61,4°C, dG cấu trúc bậc hai $\geq -2,23\text{kcal/mol}$, dG tự bắt cặp $\geq -9\text{kcal/mol}$, độ tương đồng giữa trình tự mồi với gen người nhỏ hơn 75%. Theo một số phương án khác, độ tương đồng giữa trình tự mồi và gen người là trên 75% nhưng trình tự mồi ngược và mồi xuôi không nằm trên cùng một gen hoặc rất xa nhau trong bộ gen người, do đó sự khuếch đại gen người là không thể xảy ra. Tổng số 37 mồi được đánh dấu huỳnh quang Cy3 ở đầu 5' và 13 mồi không có đánh dấu huỳnh quang. Kích thước của các sản phẩm PCR nằm trong khoảng 81-242 nucleotit.

Bước iii) thiết kế Panel mẫu dò phát hiện đột biến liên quan kháng thuốc hàng một và hàng hai

Một mẫu dò đột biến (MT) và một mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế cho từng đột biến. Một số đột biến gần nhau có chung mẫu dò kiểu dại. Mẫu dò đột biến có điểm đột biến nằm ở vị trí trung tâm để đảm bảo độ đặc hiệu cao trong phân biệt trình tự đột biến với trình tự kiểu dại. Kích thước của mẫu dò trong khoảng 22-33bp. Tất cả các mẫu dò được gắn amino-C12 ở đầu 5'. Tổng số 254 mẫu dò (65 mẫu dò kiểu dại và 189 mẫu dò đột biến) được thiết kế, bao gồm 134 mẫu dò phát hiện kháng RMP, 40 mẫu dò phát hiện kháng INH, 18 mẫu dò phát hiện kháng SM, 25 mẫu dò phát hiện kháng EMB, 23 mẫu dò phát hiện kháng FQ, 13 mẫu dò phát hiện kháng các thuốc tiêm hàng hai và 1 mẫu dò phát hiện phức hợp chủng MTB.

Theo một phương án được ưu tiên, trong 254 mẫu dò nêu trên, 134 mẫu dò phát hiện kháng Rifampicin (RMP) bao gồm 110 mẫu dò đột biến (MT) và 24 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 110 đột biến trên gen *rpoB* liên quan đến tính kháng RMP, và 1 mẫu dò được thiết kế trên đoạn *rpoB1*, được khuếch đại bởi cặp mồi F-*rpoB1* và R-*rpoB1*, để phát hiện chủng MTBc, trong đó các mẫu dò này là như được thể hiện trong Fig. 3 .

Theo một phương án được ưu tiên khác, trong 254 mẫu dò nêu trên, 40 mẫu dò phát hiện kháng Isoniazid (INH) bao gồm 25 mẫu dò đột biến (MT) và 15 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 25 đột biến trên gen *katG*, *inhA* và vùng gen khởi động (promoter) của *inhA* liên quan đến kháng INH, trong đó các mẫu dò này là như được thể hiện trong Fig. 4.

Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, trong 254 mẫu dò nêu trên, 18 mẫu dò phát hiện kháng Streptomycin (SM) bao gồm 13 mẫu dò đột biến (MT) và 5 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 13 đột biến trên gen *rrs* và *rpsL* liên quan đến tính kháng SM, trong đó các mẫu dò này là như được thể hiện trong Fig. 5.

Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, trong 254 mẫu dò nêu trên, 25 mẫu dò phát hiện kháng Ethambutol (EMB) bao gồm 17 mẫu dò đột biến (MT) và 8 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 17 đột biến trên gen *embB* liên quan đến tính kháng EMB, trong đó các mẫu dò này là như được thể hiện trong Fig. 6.

Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, trong 254 mẫu dò nêu trên, 23 mẫu dò phát hiện kháng Fluoroquinolon (FQ) bao gồm 16 mẫu dò đột biến (MT) và 7 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 16 đột biến trên gen *gyrA* và *gyrB* liên quan đến tính kháng FQ, trong đó các mẫu dò này là như được thể hiện trong Fig. 7.

Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, trong 5 mẫu dò nêu trên, 13 mẫu dò phát hiện kháng các thuốc tiêm hàng hai (SIJ) bao gồm 8 mẫu dò đột biến (MT) và 5 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 8 đột biến trên gen *rrs* và *eis* liên quan đến tính kháng SIJ, trong đó các mẫu dò này là như được thể hiện trong Fig. 8.

Bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc

Theo một khía cạnh khác, sáng chế còn đề xuất bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc bao gồm:

- a) phiến kính để gắn các mẫu dò, trong đó mỗi phiến kính bao gồm 8 chip;
- b) 254 mẫu dò được gắn lên phiến kính, trong đó mỗi mẫu dò được gắn tại 3 điểm liên tiếp trên chip, và trong đó mẫu dò được cố định trên phiến kính bằng phản ứng không thuận nghịch giữa nhóm amino ở đầu 5' của mẫu dò và nhóm epoxy trên phiến kính; và

trong đó:

- i) tại mỗi điểm gắn mẫu dò, khoảng 0,7nL của mỗi mẫu dò được gắn trên phiến kính;
- ii) đường kính điểm gắn mẫu dò là khoảng 100µm; và
- iii) khoảng cách giữa các mẫu dò, cụ thể là khoảng cách từ tâm của mẫu dò này đến tâm của mẫu dò kế tiếp bên cạnh, là khoảng 310µm.

Theo một phương án được ưu tiên, 254 mẫu dò trên đây ở nồng độ khoảng 20µM trong dung dịch đệm 3X SCC được gắn trên phiến kính ở nhiệt độ khoảng 18°C và độ ẩm khoảng 55%.

Theo một phương án được ưu tiên khác, sau khi gắn mẫu dò, phiến kính còn được giữ nguyên trong buồng lai qua đêm để các mẫu dò khô hoàn toàn và đảm bảo tính đồng nhất của các điểm gắn mẫu dò trên toàn bộ chip.

Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, phiến kính được sử dụng là phiến kính NEXTERION® Slide E (SCHOTT, USA).

Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, 254 mẫu trên đây bao gồm 64 mẫu dò kiểu dại (WT) và 189 mẫu dò đột biến (MT), và trong đó bao gồm 134 mẫu dò phát hiện kháng Rifampicin (RMP), 40 mẫu dò phát hiện kháng Isoniazid (INH), 18 mẫu dò phát hiện kháng Streptomycin (SM), 25 mẫu dò phát hiện kháng Ethambutol (EMB), 23 mẫu dò phát hiện kháng Fluoroquinolon (FQ), 13 mẫu dò phát hiện kháng các thuốc tiêm hàng hai (SIJ) và 1 mẫu dò phát hiện chủng phức hợp *Mycobacterium tuberculosis* (*Mycobacterium tuberculosis* complex - MTBc).

Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, trong 254 mẫu trên đây, 134 mẫu dò phát hiện kháng Rifampicin (RMP) bao gồm 110 mẫu dò đột biến (MT) và 24 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 110 đột biến trên gen *rpoB* liên quan đến tính kháng RMP, và 1 mẫu dò được thiết kế trên đoạn *rpoB1*, được khuếch đại bởi cặp mồi F-*rpoB1* và R-*rpoB1*, để phát hiện chủng MTBc, trong đó các mẫu dò này là như được xác định trong phương án được ưu tiên tương ứng trong phần mô tả của quy trình sản xuất bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc nêu trên.

Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, trong 254 mẫu trên đây, 40 mẫu dò phát hiện kháng Isoniazid (INH) bao gồm 25 mẫu dò đột biến (MT) và 15 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 25 đột biến trên gen *katG*, *inhA* và vùng gen khởi động (promoter) của *inhA* liên quan đến kháng INH, trong đó các mẫu dò này là như được xác định trong phương án được ưu tiên tương ứng trong phần mô tả của quy trình sản xuất bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc nêu trên.

Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, trong 254 mẫu trên đây, 18 mẫu dò phát hiện kháng Streptomycin (SM) bao gồm 13 mẫu dò đột biến (MT) và 5 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 13 đột biến trên gen *rrs* và *rpsL* liên quan đến tính kháng SM, trong đó các mẫu dò này là như được xác định trong phương án được ưu tiên tương ứng trong phần mô tả của quy trình sản xuất bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc nêu trên.

Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, trong 254 mẫu trên đây, 25 mẫu dò phát hiện kháng Ethambutol (EMB) bao gồm 17 mẫu dò đột biến (MT) và 8 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 17 đột biến trên gen *embB* liên quan đến tính kháng EMB, trong đó các mẫu dò này là như được xác định trong phương án được ưu tiên tương ứng trong phần mô tả của quy trình sản xuất bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc nêu trên.

Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, trong 254 mẫu trên đây, 23 mẫu dò phát hiện kháng Fluoroquinolon (FQ) bao gồm 16 mẫu dò đột biến (MT) và 7 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 16 đột biến trên gen *gyrA* và *gyrB* liên quan đến tính kháng FQ, trong đó các mẫu dò này là như được xác định trong phương

án được ưu tiên tương ứng trong phần mô tả của quy trình sản xuất bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc nêu trên.

Theo một phương án được ưu tiên khác nữa, trong 254 mẫu trên đây, 13 mẫu dò phát hiện kháng các thuốc tiêm hàng hai (SIJ) bao gồm 8 mẫu dò đột biến (MT) và 5 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 8 đột biến trên gen *rrs* và *eis* liên quan đến tính kháng SIJ, trong đó các mẫu dò này là như được xác định trong phương án được ưu tiên tương ứng trong phần mô tả của quy trình sản xuất bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc nêu trên.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Quy trình thực hiện chip ADN

Khuếch đại gen (PCR)

25 đoạn trình tự đích được khuếch đại bằng 2 PCR đa mục tiêu. Một PCR (MPCR1) khuếch đại 15 trình tự đích *rpoB1*, *rpoB4*, *rpoB5*, *rrs1*, *rrs2*, *katG2*, *inhA1*, *inhA2*, *inhA3*, *promoter-inhA*, *embB1*, *embB3*, *embB4*, *embB5*, *gyrB*); và một PCR (MPCR2) khuếch đại 10 trình tự đích còn lại (*rpoB3*, *rpsL*, *katG1*, *katG3*, *katG4*, *inhA4*, *embB2*, *rrs3*, *gyrA* và *eis*). Hai PCR đa mục tiêu được thực hiện trong cùng một điều kiện. Thành phần của mỗi PCR bao gồm 1X PCR Master Mix, 0.5X Q solution (Multiplex PCR Kit, QIAGEN, Germany) và 0,2 μ M mỗi primer. Chương trình PCR bao gồm bước hoạt hóa ở 95°C trong 15 phút, sau đó là 35 chu kỳ của ba bước nhiệt bao gồm: biến tính ở 94°C trong 30 giây, gắn mồi ở 58°C trong 1 phút 30 giây và kéo dài ở 72°C trong 1 phút; và bước kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 10 phút. Sau quá trình khuếch đại gen, các sản phẩm PCR được tinh sạch (có thể dùng MinElute PCR Purification Kit, QIAGEN, Germany) trước khi thực hiện lai.

Sản xuất chip

Phiến kính NEXTERION® Slide E (SCHOTT, USA) được sử dụng để gắn các mẫu dò, mỗi phiến kính bao gồm 8 chip tương ứng với 8 mẫu xét nghiệm. Các mẫu dò được cố định trên phiến kính bằng phản ứng không thuận nghịch giữa nhóm amino ở đầu 5' của mẫu dò và nhóm epoxy trên phiến kính. 254 mẫu dò ở nồng độ 20 μ M trong dung dịch đệm 3X SSC được gắn lên phiến kính ở điều kiện 18°C và độ ẩm 55%. Mỗi mẫu dò được gắn tại 3 điểm liên tiếp trên chip để đảm bảo tín hiệu lai cho

độ lặp lại cao. Mẫu dò HSP12 là một trình tự 18bp của gen *HSP12* ở nấm men được sử dụng làm chứng dương cho phản ứng lai. Tại mỗi điểm gắn mẫu dò, 0,7nL của mỗi mẫu dò được gắn lên phiến kính. Đường kính điểm gắn mẫu dò là 100 μm . Khoảng cách giữa các mẫu dò (khoảng cách từ tâm của mẫu dò này đến tâm của mẫu dò bên cạnh) là 310 μm . Sau khi gắn mẫu dò, phiến kính được giữ nguyên trong buồng lai qua đêm để các mẫu dò khô hoàn toàn và đảm bảo tính đồng nhất của các điểm gắn mẫu dò trên toàn bộ chip. Sau đó phiến kính được giữ trong hộp kín và để ở nhiệt độ phòng đến khi sử dụng.

Ví dụ 2: Quy trình lai và phân tích kết quả

1 μL sản phẩm PCR đã tinh sạch được pha loãng trong dung dịch lai có chứa 4X Saline Sodium Citrate (SSC) (Ref S6639-1L), 0,1% Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) (Ref 05030-500ml-F), 10% Dimethyl Sulfoxide (DMSO) (Ref D8418-50ml) và 0,1mg/mL deoxyribonucleic acid Salmon Testes (Ref D9156) (Sigma-Aldrich). Trình tự bổ sung với mẫu dò HSP12 được trộn vào dung dịch lai ở nồng độ $25 \times 10^{-5} \mu\text{M}$ để làm đối chứng dương cho phản ứng lai. Dung dịch lai được biến tính ở 94°C trong 2 phút, ngay sau đó được nhỏ lên phiến kính đệm Agilent (gasket slide) 8 buồng lai. Sau khi đã nhỏ xong 8 mẫu xét nghiệm lên 8 buồng lai, nhanh chóng úp ngược phiến kính đã in mẫu dò lên phiến kính đệm (mặt in mẫu dò tiếp xúc dung dịch lai), sau đó đóng chặt buồng lai (Agilent Microarray Chamber). Quá trình lai được thực hiện trong lò lai Agilent (Microarray Hybridization Oven, Agilent) ở 65°C trong 1 giờ.

Sau khi lai, phiến kính được rửa bằng 2 bước ở nhiệt độ phòng. Bước thứ nhất là rửa nhanh, mạnh bằng vortex (Vortex Genie 2, Scientific Industries) ở tốc độ 9, bao gồm 1 phút trong dung dịch 2X SSC, 0,2% SDS; 1 phút trong dung dịch 2X SSC và 1 phút trong dung dịch 1X SSC. Bước thứ hai là rửa chậm, nhẹ nhàng bằng rotator, bao gồm 9 phút trong dung dịch 2X SSC, 0,2% SDS, 9 phút trong dung dịch 2X SSC và 9 phút trong dung dịch 1X SSC. Sau đó phiến kính được làm khô bằng máy mini-centrifuge (Labnet) trong 20 giây trước khi đọc kết quả.

Để đo tín hiệu lai, phiến kính được đọc bằng máy đọc Innoscan 900 scanner (Innopsys) ở bước sóng 532nm. Tín hiệu huỳnh quang được phân tích bằng phần mềm MAPIX (Innopsys, France). Tín hiệu huỳnh quang tại mỗi điểm gắn mẫu dò là giá trị trung vị của tín hiệu có được sau nhiều lần đọc của máy trên cùng điểm đó trừ đi tín hiệu nền, được tính toán tự động bởi phần mềm MAPIX. Tín hiệu huỳnh quang

của mỗi mẫu dò là giá trị trung bình của tín hiệu lai tại 3 điểm gần khác nhau trên chip của mẫu dò đó. Tín hiệu ngưỡng dương tính phải cao hơn 1% giá trị của tín hiệu lai mạnh nhất trên chip. Chỉ số phân biệt (D) kiểu đại và kiểu đột biến được tính như sau³:

$$D = (Fwt - Fmt) / (Fwt + Fmt)$$

trong đó:

D: chỉ số phân biệt

Fwt: Tín hiệu lai của mẫu dò kiểu đại

Fmt: Tín hiệu lai của mẫu dò kiểu đột biến

- Nếu **D** ≥ 0, mẫu xét nghiệm được coi là có kết quả kiểu đại đối với đột biến phân tích.
- Nếu **D** < 0, mẫu xét nghiệm được coi là có kết quả kiểu đột biến đối với đột biến phân tích.

Giá trị tuyệt đối của chỉ số D càng gần với 1 thì mức độ phân biệt càng cao, ngược lại, càng gần với 0 thì mức độ phân biệt càng thấp. Kết quả kháng thuốc được phiên giải như sau:

- Mẫu xét nghiệm được coi là kháng với RMP nếu có bất kỳ đột biến trên gen *rpoB* được phân tích có kết quả kiểu đột biến.
- Mẫu xét nghiệm được coi là nhạy với RMP nếu không có bất kỳ đột biến nào trên gen *rpoB* được phân tích có kết quả kiểu đột biến.
- Mẫu xét nghiệm được coi là kháng với INH nếu có bất kỳ đột biến trên gen *katG* và/hoặc *inhA* và/hoặc promoter của gen *inhA* được phân tích có kết quả kiểu đột biến.
- Mẫu xét nghiệm được coi là nhạy với INH nếu không có bất kỳ đột biến nào trên gen *katG*, *inhA* và promoter của gen *inhA* được phân tích có kết quả kiểu đột biến.
- Mẫu xét nghiệm được coi là kháng với SM nếu có bất kỳ đột biến trên gen *rpsL* và/hoặc gen *rrs* (đoạn 530 và/hoặc đoạn 915) được phân tích có kết quả kiểu đột biến.
- Mẫu xét nghiệm được coi là nhạy với SM nếu không có bất kỳ đột biến nào trên gen *rpsL* và *rrs* (đoạn 530 và đoạn 915) được phân tích có kết quả kiểu đột biến.

- Mẫu xét nghiệm được coi là kháng với EMB nếu có bất kỳ đột biến trên gen *embB* được phân tích có kết quả kiểu đột biến.
- Mẫu xét nghiệm được coi là nhạy với EMB nếu không có bất kỳ đột biến nào trên gen *embB* được phân tích có kết quả kiểu đột biến.
- Mẫu xét nghiệm được coi là kháng với FQs nếu có bất kỳ đột biến trên gen *gyrA* và/hoặc *gyrB* được phân tích có kết quả kiểu đột biến.
- Mẫu xét nghiệm được coi là nhạy với FQs nếu không có bất kỳ đột biến nào trên gen *gyrA* và *gyrB* được phân tích có kết quả kiểu đột biến.
- Mẫu xét nghiệm được coi là kháng với thuốc tiêm hàng hai nếu có bất kỳ đột biến trên gen *rrs* đoạn 1400 hoặc *eis* được phân tích có kết quả kiểu đột biến.
- Mẫu xét nghiệm được coi là nhạy với thuốc tiêm hàng hai nếu không có bất kỳ đột biến nào trên gen *rrs* đoạn 1400 và gen *eis* được phân tích có kết quả kiểu đột biến.

Tổng thời gian thực hiện xét nghiệm cho 1 phiên kính từ bước mẫu đã xử lý đến kết quả cuối cùng khoảng 6,5 đến 7h (40 phút cho tách chiết ADN, 2 giờ 30 phút cho khuếch đại gen, 30 phút cho tinh sạch sản phẩm PCR, 1 giờ 30 phút cho bước lai sản phẩm, 40 phút cho bước rửa sau khi lai và 45 phút cho đọc kết quả và phân tích kết quả).

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Bộ sinh phẩm chip ADN theo sáng chế được thiết kế theo cách hoàn toàn khác biệt để mẫu dò có thể được làm khô hoàn toàn và đảm bảo tính thống nhất của các điểm gắn mẫu dò trên toàn bộ chip, với tổng thời gian thực hiện xét nghiệm cho 1 phiên kính từ bước mẫu đã được xử lý đến kết quả cuối là khoảng từ 6,5h đến 7,0h (mà sẽ được mô tả một cách chi tiết hơn dưới đây), và do đó được xem là không chỉ hữu dụng mà còn rất thích hợp trên thực tế cho việc thực hiện chẩn đoán nhanh các chủng vi khuẩn lao kháng thuốc rất khó kiểm soát và nguy hiểm. Nhờ đó, góp phần giảm thiểu số lượng các bệnh nhân lao được điều trị mà không rõ tình trạng kháng thuốc.

Ngoài ra, giải pháp theo sáng chế được cho là không chỉ hoàn toàn khác biệt với các giải pháp đã biết trên cơ sở công nghệ chip được WHO phê duyệt và chỉ định

dùng trong chẩn đoán lao kháng thuốc, v.v., mà còn có thể dùng làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo trong lĩnh vực công nghệ này. Nói cách khác, sáng chế giải quyết được vấn đề cả về tính thực tiễn và học thuật. Cụ thể là, bộ sinh phẩm theo sáng chế có khả năng phát hiện cùng lúc chủng vi khuẩn lao và tất cả các kiểu kháng của chủng vi khuẩn lao, từ đơn kháng đến đa kháng và siêu kháng và còn được sử dụng làm cơ sở tham khảo cho các nghiên cứu tiếp theo liên quan trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Yêu cầu bảo hộ

1. Bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc bao gồm:

a) phiên kính để gắn các mẫu dò, trong đó mỗi phiên kính bao gồm 8 chip;

b) 254 mẫu dò được gắn trên phiên kính, trong đó bao gồm:

134 mẫu dò phát hiện kháng Rifampicin (RMP) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 134, trong đó bao gồm 110 mẫu dò đột biến (MT) và 24 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 110 đột biến trên gen *rpoB* liên quan đến tính kháng RMP;

40 mẫu dò phát hiện kháng Isoniazid (INH) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 135 đến SEQ ID NO. 174, trong đó bao gồm 25 mẫu dò đột biến (MT) và 15 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 25 đột biến trên gen *katG*, *inhA* và vùng gen khởi động (promoter) của *inhA* liên quan đến kháng INH;

18 mẫu dò phát hiện kháng Streptomycin (SM) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 175 đến SEQ ID NO. 192, trong đó bao gồm 13 mẫu dò đột biến (MT) và 5 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 13 đột biến trên gen *rrs* và *rpsL* liên quan đến tính kháng SM;

25 mẫu dò phát hiện kháng Ethambutol (EMB) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 193 đến SEQ ID NO. 217, trong đó bao gồm 17 mẫu dò đột biến (MT) và 8 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 17 đột biến trên gen *embB* liên quan đến tính kháng EMB;

23 mẫu dò phát hiện kháng Fluoroquinolon (FQ) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 218 đến SEQ ID NO. 240 bao gồm 16 mẫu dò đột biến (MT) và 7 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 16 đột biến trên gen *gyrA* và *gyrB* liên quan đến tính kháng FQ;

13 mẫu dò phát hiện kháng các thuốc tiêm hàng hai (SIJ) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 241 đến SEQ ID NO. 253 bao gồm 8 mẫu dò đột biến (MT) và 5 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 8 đột biến trên gen *rrs* và *eis* liên quan đến tính kháng SIJ; và

01 mẫu dò phát hiện chủng phức hợp *Mycobacterium tuberculosis* (*Mycobacterium tuberculosis* complex - MTBc) có trình tự nêu trong SEQ ID NO.254;

trong đó mỗi mẫu dò được gắn tại 3 điểm liên tiếp trên chip, và trong đó mẫu dò được cố định trên phiên kính bằng phản ứng không thuận nghịch giữa nhóm amino ở đầu 5' của mẫu dò và nhóm epoxy trên phiên kính; và

tại mỗi điểm gắn mẫu dò, khoảng 0,7nL của mỗi mẫu dò được gắn trên phiên kính;

đường kính điểm gắn mẫu dò là khoảng 100µm;

khoảng cách giữa các mẫu dò, cụ thể là khoảng cách từ tâm của mẫu dò này đến tâm của mẫu dò kế tiếp bên cạnh, là khoảng 310µm.

2. Quy trình sản xuất bộ sinh phẩm chip ADN chẩn đoán nhanh vi khuẩn lao kháng thuốc như nêu trong điểm 1, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

i) xác định các chỉ thị phân tử phát hiện lao kháng thuốc dựa trên dữ liệu giải trình tự của các gen liên quan đến kháng Rifampicin (RMP), Isoniazid (INH), Streptomycin (SM), Ethambutol (EMB), Fluoroquinolon (FQ) và thuốc tiêm hàng hai (Second-line injectable drug – SIJ) để xác định đột biến liên quan đến tính kháng thuốc của lao kháng thuốc;

ii) thiết kế và tổng hợp 254 mẫu dò, trong đó:

134 mẫu dò phát hiện kháng Rifampicin (RMP) có trình tự nêu trong SEQ ID NO.1 đến SEQ ID NO.134, trong đó bao gồm 110 mẫu dò đột biến (MT) và 24 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 110 đột biến trên gen *rpoB* liên quan đến tính kháng RMP;

40 mẫu dò phát hiện kháng Isoniazid (INH) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 135 đến SEQ ID NO. 174, trong đó bao gồm 25 mẫu dò đột biến (MT) và 15 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 25 đột biến trên gen *katG*, *inhA* và vùng gen khởi động (promoter) của *inhA* liên quan đến kháng INH;

18 mẫu dò phát hiện kháng Streptomycin (SM) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 175 đến SEQ ID NO. 192, trong đó bao gồm 13 mẫu dò đột biến (MT) và 5 mẫu

dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 13 đột biến trên gen *rrs* và *rpsL* liên quan đến tính kháng SM;

25 mẫu dò phát hiện kháng Ethambutol (EMB) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 193 đến SEQ ID NO. 217, trong đó bao gồm 17 mẫu dò đột biến (MT) và 8 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 17 đột biến trên gen *embB* liên quan đến tính kháng EMB;

23 mẫu dò phát hiện kháng Fluoroquinolon (FQ) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 218 đến SEQ ID NO. 240 bao gồm 16 mẫu dò đột biến (MT) và 7 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 16 đột biến trên gen *gyrA* và *gyrB* liên quan đến tính kháng FQ;

13 mẫu dò phát hiện kháng các thuốc tiêm hàng hai (SIJ) có trình tự nêu trong SEQ ID NO. 241 đến SEQ ID NO. 253 bao gồm 8 mẫu dò đột biến (MT) và 5 mẫu dò kiểu dại (WT) được thiết kế để phát hiện 8 đột biến trên gen *rrs* và *eis* liên quan đến tính kháng SIJ; và

01 mẫu dò phát hiện chủng phức hợp *Mycobacterium tuberculosis* (*Mycobacterium tuberculosis* complex - MTBc) có trình tự nêu trong SEQ ID NO.254;

iii) cố định 254 mẫu dò ở bước ii) lên trên phiên kính bằng phản ứng không thuận nghịch giữa nhóm amino ở đầu 5' của mẫu dò và nhóm epoxy trên phiên kính, trong đó

254 mẫu dò ở nồng độ 20 μ M trong dung dịch đệm 3X SSC được gắn lên phiên kính ở điều kiện 18°C và độ ẩm 55%, trong đó mỗi mẫu dò được gắn tại 3 điểm liên tiếp trên chip,

tại mỗi điểm gắn mẫu dò, khoảng 0,7nL của mỗi mẫu dò được gắn trên phiên kính;

đường kính điểm gắn mẫu dò là khoảng 100 μ m; và

khoảng cách giữa các mẫu dò, cụ thể là khoảng cách từ tâm của mẫu dò này đến tâm của mẫu dò kế tiếp bên cạnh, là khoảng 310 μ m;

iv) hoàn thiện sản phẩm bộ sinh phẩm chip ADN bằng cách đặt phiên kính trong buồng lai qua đêm để các mẫu dò khô hoàn toàn và đảm bảo tính đồng nhất của các điểm gắn mẫu dò trên toàn bộ chip, sau đó phiên kính được giữ trong hộp kín và để ở nhiệt độ phòng đến khi sử dụng.

Fig. 1

Bảng 1: Số đột biến, tiêu chí lựa chọn và số đột biến liên quan đến kháng thuốc được chọn để thiết kế mẫu dò

Gen	Số đột biến phát hiện	Tiêu chí chọn đột biến phát hiện trên thế giới (tần suất xuất hiện (%) $\geq$)	Tiêu chí chọn đột biến phát hiện tại Việt Nam, Lào và Campuchia	Số đột biến được chọn để thiết kế mẫu dò
<i>rpoB</i>	406	0,1	toàn bộ	110
<i>katG</i>	183	0,1	toàn bộ	13
<i>inhA</i>	26	0,1	toàn bộ	12
<i>rpsL</i>	12	0,5	toàn bộ	5
<i>rrs</i>	51	0,5	toàn bộ	12
<i>eis</i>	5	0,5	NA	4
<i>embB</i>	115	0,5	toàn bộ	17
<i>gyrA</i>	30	0,5	toàn bộ	12
<i>gyrB</i>	22	0,5	toàn bộ	4
Tổng số				189

NA: không có tiêu chí (do không khảo sát gen này)

Fig. 2

Bảng 2: Thiết kế của môi cho khuếch đại các trình tự đích liên quan đến kháng RMP, INH, SM, EMB, FQ và SIJ.

STT	Tên môi	Trình tự 5'-3'	Sự chỉnh sửa ở đầu 5	Kích thước (bp)	Kích thước sản phẩm PCR (bp)	T _m (°C)	GC%	dG cấu trúc bậc hai (kcal/mol)	dG tự bất cặp (kcal/mol)	dG bất cặp giữa môi muối và môi ngược (kcal/mol)	Độ tương đồng với bộ gene người (%)
1	F-poB1	GATCAAGAGTCAGACGGTGTTC	Cyanine3	22	150	55,2	50	0,45	-4,62	-5,5	72
2	R-poB1	TCGGTGGACTTGTCAATGGT	Cyanine3	20	150	56,5	50	-1,21	-3,9	-5,5	80*
3	F-poB3	CGATCACACCGCAGACGTT	Cyanine3	19	210	57,9	57,9	-0,72	-6,3	-8,7	78*
4	R-poB3	CGTAGTCGACGGGTGCA	Cyanine3	18	210	60,7	66,7	-1,26	-7,05	-8,7	78*
5	F-poB4	GTGCACCCGTCGCACTAC	Cyanine3	18	147	59,1	66,7	-2,23	-9,73	-6,53	77*
6	R-poB4	CACGCCGTCGACCACCTT	Cyanine3	18	147	60,7	66,7	-1,41	-9,45	-6,53	72
7	F-poB5	GGTCGACGGGTGGTLAG	No	18	162	58,5	66,7	-0,59	-9,45	-6,91	77*
8	R-poB5	GAGGCACGTACTCCACCT	Cyanine3	19	162	59,1	63,2	-0,09	-6,3	-6,91	78*
9	F-rpsL	CAGCGTCGTTGGTGTATGCA	Cyanine3	19	211	58	57,9	-0,55	-7,05	-6,75	78*
10	R-rpsL	GGATGATCTTGTAGCGCACA	Cyanine3	20	211	55	50	-0,16	-9,89	-6,75	90*
11	F-rts1	CTCTCGGATTGACGGTAGGT	No	20	165	56	55	-0,4	-3,61	-3,61	90*
12	R-rts1	CGCACGCTCACAGTTAAGC	Cyanine3	19	165	56,9	57,9	-0,17	-4,85	-3,61	78*
13	F-rts2	GGAGCGAACAGGATTAGATACC	Cyanine3	22	221	54,7	50	0,65	-3,61	-5,32	100*
14	R-rts2	CAAAACCCAGGTAAGGTTCTTC	Cyanine3	21	221	53,4	47,6	-0,98	-6,36	-5,32	80*
15	F-rts3	CAACTCGACCCCGTGAAGT	No	19	196	57,2	57,9	-0,52	-6,76	-6,68	73
16	R-rts3	CGGCTACCTTGTACGACTT	Cyanine3	20	196	54,6	50	0,11	-3,61	-6,68	75
17	F-katG1	CGATGGGCTTCAAGAGGTT	No	19	116	55,4	52,6	0,45	-6,3	-6,9	89*
18	R-katG1	CTTACCGGCTGTACGCTCAT	Cyanine3	20	116	54,9	50	-0,11	-4,25	-6,9	70

Fig. 2 (tiếp)

19	F-katG2	GGTGCAGATGGGCTGATCT	Cyanine3	20	147	59,7	60	-1,18	-7,05	-6,58	80*
20	R-katG2	GTGTGACCGCCGACGATCA	No	19	147	60,1	63,2	-1,18	-4,62	-6,58	73
21	F-katG3	GCGGTACACATTTCCGTAAG	No	20	198	56,1	55	-0,35	-3,61	-5,46	75
22	R-katG3	CGAGGAAACTGTTGTCCATT	Cyanine3	21	198	55,3	45,5	-0,91	-4,64	-5,46	90*
23	F-katG4	CGCTGGTCCCCAACGACA	No	18	209	60,5	66,7	-1,16	-5,02	-7,94	88*
24	R-katG4	GCGGATGCGACACCCGTT	Cyanine3	18	209	61,4	66,7	-2,05	-6,68	-7,94	72
25	F-inhA1	CGGATTCGTGTAGCGGAAT	No	20	132	54,8	50	-1,68	-4,99	-8,35	70
26	R-inhA1	GTCGGTGATGGCTGAATCA	Cyanine3	20	132	58	55	-0,1	-9,89	-8,35	75
27	F-inhA2	CGTGCAAAACGAGGAGCAC	No	19	172	57,2	57,9	-2,23	-7,05	-5,09	78*
28	R-inhA2	GTGGATGCCCTTGGACACAT	Cyanine3	20	172	57,8	55	-0,42	-3,43	-5,09	80*
29	F-inhA3	GAGTCGGTCAACAGGTTTCGT	No	20	199	57,1	55	0,26	-3,61	-8,26	75
30	R-inhA3	CATCCTTCATGTTCCAGCCGAT	Cyanine3	22	199	57,4	50	0,43	-5,38	-8,26	77*
31	F-inhA4	CTGGAACATGAAGGATGCGA	Cyanine3	20	147	55	50	-0,53	-5,38	-8,14	80*
32	R-inhA4	GGACGGCATCAAAATTGCAT	No	19	147	54,1	47,4	-1,61	-7,05	-8,14	84*
33	F-pro	GATCCGTTCATGGTGGAAAGTGT	No	21	208	56,9	52,4	-0,54	-6,76	-8,02	71
34	R-pro	CAGGACTGAACGGGATACGAAT	Cyanine3	22	208	56,5	50	-1,94	-3,61	-8,02	63
35	F-embB1	CGACGCCGTGGTGATATTC	Cyanine3	19	198	56	57,9	-0,36	-4,95	-5,02	73
36	R-embB1	CGCTGACATGGGTGCATCA	Cyanine3	18	198	54,9	55,6	-1,7	-5,38	-5,25	83*
37	F-embB2	CGACGCCAGTCTGTGGAT	Cyanine3	18	81	57,4	61,1	-1,93	-5,02	-5,25	94*
38	R-embB2	GCAGCACCTCACGCCGACA	Cyanine3	18	81	61,3	66,7	0,55	-10,36	-6,75	77*
39	F-embB3	CGTGGATGCCGTTCAACA	Cyanine3	18	221	55,9	55,6	0,68	-3,61	-6,57	77
40	R-embB3	CACCAAGATCCGCAGCAT	Cyanine3	18	221	55,6	55,6	2,78	-4,62	-6,57	83*

Fig. 2 (tiếp)

41	F-embB4	ATCTTGTTGGCGCGTCAT	Cyanine3	18	199	57,5	55,6	-0,04	-9,89	-5,09	77*
42	R-embB4	GCAGGATGAGGTAGTAGTAACG	Cyanine3	22	199	54,4	50	-0,42	-3,61	-5,09	77*
43	F-embB5	CGCGCTATGCCGTGTTAC	Cyanine3	18	112	56,9	61,1	-0,66	-10,36	-6,82	77*
44	R-embB5	GAACATGGTGCCGGAAGATGA	No	20	112	55,3	50	-0,3	-5,38	-6,82	80*
45	F-gyrA	ATGTTGATTCGGGCTTCC	Cyanine3	19	222	55,3	52,6	-0,59	-9,75	-6,68	73
46	R-gyrA	GGCTTCGGGTACCTCATC	Cyanine3	19	222	55,3	57,9	-0,43	-4,41	-6,68	78*
47	F-gyrB	CGCAAAGTCGAACTGTATGTC	Cyanine3	21	242	55,9	52,4	-0,37	-3,61	-5,5	66
48	R-gyrB	GCCATCAGCACGATCTTGT	Cyanine3	19	242	55,5	52,6	-0,75	-4,62	-5,5	78*
49	F-eis	CTACCCGGCATCGCGTGAT	Cyanine3	18	119	57,8	61,1	-1,86	-10,36	-9,75	83*
50	R-eis	GTCTCGGTCGGGGCTACA	Cyanine3	18	119	59,2	66,2	0,44	-3,61	-9,75	77*

INH: isoniazid; RIF: rifampicin; SM: streptomycin; EMB: ethambutol; FQ: fluoroquinolone; SIJs: second-line injectable drugs,

* Sự tương đồng với gen người lớn hơn 75% nhưng trình tự mỗi ngược và mỗi xuôi không nằm trên cùng một gen hoặc không nằm gần nhau trên bộ gen người, do đó sự khuếch đại gen người không thể xảy ra.

Fig. 3

Bảng 3: Mẫu dò phát hiện đột biến trên gen *rpoB* liên quan đến tính kháng RMP và phát hiện chủng MTBc

STT	Tên mẫu dò	Vị trí đột biến*	Nucleotit đột biến	Codon đột biến (hệ <i>E.coli</i>)	Trình tự (5'-3')	Kích thước (bp)	Tm (°C)	GC %	dG cấu trúc bậc hai (kcal/mol)	Tm cấu trúc bậc hai (°C)
1	MTBc	NA	NA	NA	GCTGGGTGCGCCGGGTGTAATTC	25	69,2	72	-2,36	50,4
2	RMP-rpoB1	WT-508cons	GTC	251	CCAGCTGGCTGACACACACAGCTC	25	67,6	68	-1,77	43,9
3	RMP-rpoB1.1	Mut-508cons	GTC-TTC	251	CCAGCTGGCTGAACACACACAGCTC	25	65,9	64	-1,77	43,9
6	RMP-rpoB3	WT-1265-1270cons	AAGGAGTTC	503	TGGTGCGGAAGAACTCCTTGATCGCG	26	64,5	57,7	-0,52	32,8
7	RMP-rpoB3.1	Mut-1265cons	AAG-ACG	503	CCGAAGAACTCGTGATCGCGCGGAC	26	66,6	65,4	-2,65	53,8
8	RMP-rpoB3.2	Mut-1270cons	TTC-GTC	505	CTGGTGCGGAAGAACTCCTTGATCGCG	27	66,2	63	-0,59	31,4
9	RMP-rpoB4	WT-1279-1283cons	ACCAGC	508-509	GCTCAGCTGGCTGGTGCAGAACTC	27	66,6	63	-2,27	51,3
10	RMP-rpoB4.1	Mut-1279-1280cons	ACC-CAC	508	CTCAGCTGGCTGGTGCAGAACTC	27	66,3	63	-2,29	51
11	RMP-rpoB4.2	Mut-1283cons	AGC-ATC	509	GCTCAGCTGGATGGTGCCGGAAGAACT	26	64,6	59,3	0,09	23,8
12	RMP-rpoB5	WT-1287-1292	GCTGAG	510-512	GCACAGCCAGCTGAGCCAAATTCATG	26	64,3	57,7	-1,77	43,9
13	RMP-rpoB5.1	Mut-1287	CAG-CAC	510	GCACAGCCAGCTGAGCCAAATTCATG	26	64,1	57,7	-1,21	40
14	RMP-rpoB5.2	Mut-1288	CTG-GTG	511	GCACAGCCAGCTGAGCCAAATTCATG	26	64,1	57,7	-3,95	63
15	RMP-rpoB5.3	Mut-1289.1	CTG-CCG	511	GCACAGCCAGCCAGGAGCCAAATTCAT	25	65,9	60	-0,14	27,8
16	RMP-rpoB5.4	Mut-1289.2	CTG-CGG	511	CACACAGCCAGCCAGGAGCCAAATTCATG	25	64,4	60	-1,61	54,1
17	RMP-rpoB5.5	Mut-1291cons	AGC-GGC	512	GTCCATGAATTGGCCAGCTGGCTG	25	64,4	60	-2,61	54,2
18	RMP-rpoB5.6	Mut-1292cons	AGC-ACC	512	TCCATGAATTGGTTCAGCTGGCTGG	25	63,2	56	-2,83	40,3
19	RMP-rpoB5.7	Mut-1289&1292	CTG-CCG & AGC-ACC	511-512	GCACAGCCAGCCAGGAGCCAAATTCATG	26	66	61,5	-0,14	27,8
20	RMP-rpoB5.8	Mut-1289&1291	CTG-CCG & AGC-GGC	511-512	CACACAGCCAGCCAGGAGCCAAATTCATG	25	66,6	64	-2,53	55,8
21	RMP-rpoB5.9	Mut-1293-1297cons	Insert CGC (AGCCGCCAA)	512-514	GTCCATGAATTGGGCTCAGCTGGC	25	66	61,5	-1,06	39,4
22	RMP-rpoB6	WT-1294-1297cons	CAATTC	513-514	TCTGGTCCATGAATTGGCTCAGCTGGCT	28	65,7		-1,06	39,4
23	RMP-rpoB6.1	Mut-1294.1cons	CAA-AAA	513	TCTGGTCCATGAATTGGCTCAGCTGGC	27	63	51,9	0,01	24,8
24	RMP-rpoB6.2	Mut-1294.2	CAA-GAA	513	CAGCAGCTGAGCGAAATTCATGACACAG	28	64,6	57,1	-1,27	40,7
25	RMP-rpoB6.3	Mut-1295.1cons	CAA-CCA	513	TCTGGTCCATGAATTGGCTCAGCTGGCT	28	66,7	57,1	-1,68	43,1

Fig. 3 (tiếp)

26	RMP-rpoB6.4	Mut-1295.2cons	CAA-CTA	513	GTTCTGGTCCATGAATaGGCTCAGCTGGC	29	64	55.2	0,1	23,5
27	RMP-rpoB6.5	Mut-1296cons	CAA-CAC	513	CTGGTCCATGAaGTGGCTCAGCTGGC	26	65,2	61,5	-1,2	40,6
28	RMP-rpoB6.6	Mut-1289&1300.1cons	CTG-CCG&ATG-CTG	511 & 515	GTTCTGGTCCAGGAaATTGGCTCgCTG	27	64,8	59,3	-1,18	40,7
29	RMP-rpoB6.7	Mut-1289&1300.2cons	CTG-CCG&ATG-GTG	511 & 515	TGGTCCaGAaATTGGCTCgCTGGC	25	67,4	64	-1,3	38,5
30	RMP-rpoB6.8	Mut-1289&1302	CTG-CCG&ATG-ATA	511 & 515	CAGCCAGCgGAGCCAAATTCATaGACCAG	28	64,4	57,1	0,3	20,3
31	RMP-rpoB7	WT-1297-1305cons	TTCATGGAC	514-515	CGGGTTGTTCTGGTCCATGAaATTGGCTCAGC	31	65,6	54,8	-1,06	39,4
32	RMP-rpoB7.1	Mut-1302.2cons	ATG-ATC	515	GCGGGTTGTTCTGGTGCATGAaATTGGCTC	29	64,6	55,2	-0,28	28,9
33	RMP-rpoB7.2	Mut-1302.3cons	ATG-ATT	515	CGGGTTGTTCTGGTCaATGAaATTGGCTCAGC	31	64,3	51,6	-0,87	34,1
34	RMP-rpoB7.3	Mut-1300.1cons	ATG-CTG	515	GGGTGTTCTGGTCCAGGAaATTGGCTCAGC	30	65,7	56,7	-1,18	40,7
35	RMP-rpoB7.4	Mut-1300.2cons	ATG-GTG	515	GTTTGTCTGGTCCAGGAaATTGGCTCAGCT	30	65,3	53,3	-0,92	38,1
36	RMP-rpoB7.5	Mut-1303.1cons	GAC-AAC	516	GCGGGTTGTTCTGGTTCATGAaATTGGCTCAG	31	64,3	51,6	0,34	19,7
37	RMP-rpoB7.6	Mut-1303.2cons	GAC-TAC	516	GCGGGTTGTTCTGGTTCATGAaATTGGCTCAG	31	64	51,6	-0,11	26,6
38	RMP-rpoB7.7	Mut-1303-1304cons	GAC-TGC	516	GCGGGTTGTTCTGGGcaCATGAaATTGGCTCAG	31	66	54,8	-0,11	26,6
39	RMP-rpoB7.8	Mut-1304.1	GAC-GCC	516	GCcAAATTCATGGcCCAGaACAACCCCG	27	66,1	59,3	-3,21	58,1
40	RMP-rpoB7.9	Mut-1304.2	GAC-GGC	516	AGCCAAATTCATGGCCAGaACAACCCCG	27	65,1	55,6	-1,9	46,2
41	RMP-rpoB7.10	Mut-1304.3cons	GAC-GTC	516	CGGGTTGTTCTGGaCCcCATGAaATTGGCTCAGCT G	31	66,3	54,5	-1,52	43,9
42	RMP-rpoB7.11	Mut-1305cons	GAC-GAG	516	GACAGCGGGTTGTTCTGcTCCATGAaATTG	29	63,1	51,7	-0,93	36,3
43	RMP-rpoB7.12	Mut-1300-1302.1cons	Repeat TTC	515	GTTGTTCTGGTCCATGaAGaATTGGCTCAGC	31	62,6	48,4	-0,1	26,3
44	RMP-rpoB7.13	Mut-1300-1302.2	Delete ATG	515	GCTGAGCCAAATTCGACCAGaACAACCC	27	63,4	55,6	-0,63	32
45	RMP-rpoB7.14	Mut-1299 & 1304cons	TTC-TTG&GAC-GTC	514 & 516	GGGTGTTCTGGaCCcCATcAAATTGGCTCAGC	30	64,4	53,3	-1,52	43,9
46	RMP-rpoB7.15	Mut-1297 & 1304cons	TTC-CTC&GAC-GTC	514 & 516	GTTGTTCTGGaCCcCATGaATTGGCTCAGCT	29	63,8	51,7	-1,81	41,9
47	RMP-rpoB7.16	Mut-1301 & 1303cons	ATG-ACG&GAC-TAC	515 & 516	GGGTGTTCTGGTTCaCGTGAaATTGGCTCA	28	62,4	50	0,75	-4,3
48	RMP-rpoB7.17	Mut-1302 & 1304cons	ATG-ATA&GAC-GTC	515 & 516	GCGGGTTGTTCTGGGaChATGAaATTGGCTCAG	31	63,7	51,6	-0,08	26
49	RMP-rpoB8	WT-1309-1311cons	AAC	518	CGACAGCGGGTTGTTCTGGTCCATGAAT	28	64,1	53,6	-0,68	31,9
50	RMP-rpoB8.1	Mut-1309.1cons	AAC-CAC	518	AGCGGTTTGTCGGTCCATGAaATTG	26	63,5	53,8	-1,24	43,7
51	RMP-rpoB8.2	Mut-1309.2cons	AAC-GAC	518	GACAGCGGGTTGTcCTGGTCCATGAaATTG	29	64,4	55,2	-1,0	35
52	RMP-rpoB8.3	Mut-1310.1cons	AAC-AGC	518	CGACAGCGGGTTGcTCTGGTCCATGAa	27	66	59,3	-1,39	50,5

Fig. 3 (tiếp)

53	RMP-rpoB8.4	Mut-1310.2cons	AAC-ACC	518	CGACAGCGGGTTgTCTGTGTCATGAA	27	65,9	59,3	-0,68	31,9
54	RMP-rpoB8.5	Mut-1309-1311	Delete AAC	518	ATTCATGGACACAGAACCCCGCTGTGCG	25	62,9	56	-0,5	30,3
55	RMP-rpoB8.6	Mut-1304 & 1310cons	GAC-GTC&AAC-ACC	516 & 518	AGCGGGTTgTCTGGaCCCATGAATTGGC	28	66,2	57,1	-2,42	48,5
56	RMP-rpoB8.7	Mut-1303 & 1309	GAC-TAC&AAC-CAC	516 & 518	GCCAAATTCATGTAACCAgACAACCCGC	27	64	55,6	0,13	23,1
57	RMP-rpoB8.8	Delete 1295-1303	Delete AATTTCATGG	513-516	GCCAGCTGAGCCACCAAGAACAAACCC	25	66	64	-1,11	37,5
58	RMP-rpoB9	WT-1321-1325cons	TCGGGG	522&523	CTTGTGGGTCAACCCCGACAGCGG	24	66,1	66,7	-2,18	48,7
59	RMP-rpoB9.1	Mut-1321cons	TCG-ACG	522	GGGTCAACCCCGTCAGCGGGTTG	23	66,7	69,6	-4,19	60
60	RMP-rpoB9.2	Mut-1321-1322cons	TCG-CAG	522	GTGGGTCAACCCCGTCAGCGGGT	23	68,3	69,6	-2,18	48,7
61	RMP-rpoB9.3	Mut-1322cons	TCG-TTG	522	TGGGTCAACCCCGTCAGCGGGTT	23	65,7	60,9	-2,47	52,4
62	RMP-rpoB9.4	Mut-1324cons	GGG-TGG	523	TGTGGGTCAACCCCGTCAGCGGGTT	25	66,5	60	-3,08	54,9
63	RMP-rpoB9.5	Mut-1325	GGG-GCG	523	ACCCGCTGTGGGTCAACCCCGACAA	25	68,6	64	-3,14	54,3
64	RMP-rpoB10	WT-1328 - 1331cons	TTGACC	524-525	GCGCTTGTGGGTCAACCCCGACAGC	25	68,1	68	-2,18	48,7
65	RMP-rpoB10.1	Mut-1328cons	TTG-TGG	524	GCGCTTGTGGGTCAACCCCGACAG	24	68,2	70,8	-2,18	48,7
66	RMP-rpoB10.2	Mut-1331cons	ACC-ATC	525	GGCGCTTGTGGGTCAACCCCGACAG	25	65,8	64	-0,62	33,8
67	RMP-rpoB10.3	Mut-1324 & 1331cons	GGG-TGG&ACC-ATC	523&525	GCTTGTGGGTCAACCCCGACAGCG	24	62,5	58,3	-3,16	53,8
68	RMP-rpoB11	WT-1333-1336	CACAAG	526	GGGTTGACCCACAAAGCGCCGACTGT	25	67,3	64	-2,18	50,3
69	RMP-rpoB11.1	Mut-1333.1	CAC-AAC	526	GGGTTGACCAACAAAGCGCCGACT	24	65,9	62,5	-1,53	39,9
70	RMP-rpoB11.2	Mut-1333.2	CAC-GAC	526	GGGTTGACCAACAAAGCGCCGACT	24	67,5	66,7	-0,47	32,7
71	RMP-rpoB11.3	Mut-1333.3	CAC-TAC	526	GGGTTGACCAACAAAGCGCCGACTG	25	65,4	64	-0,76	36,1
72	RMP-rpoB11.4	Mut-1333-1334.1	CAC-TGC	526	GGGTTGACCAACAAAGCGCCGACTG	25	68	68	-0,76	36,1
73	RMP-rpoB11.5	Mut-1333-1334.2	CAC-ACC	526	GGGTTGACCAACAAAGCGCCGACTG	25	67,8	68	-1,68	44,3
74	RMP-rpoB11.6	Mut-1334.1	CAC-CCC	526	GGGTTGACCAACAAAGCGCCGACTG	24	68,3	70,8	-1,56	45,2
75	RMP-rpoB11.7	Mut-1334.2	CAC-CGC	526	GGGTTGACCAACAAAGCGCCGACTG	24	69,9	70,8	-1,85	48
76	RMP-rpoB11.8	Mut-1334.3	CAC-CTC	526	GGGTTGACCAACAAAGCGCCGACTG	25	67,5	68	-2,39	49,8
77	RMP-rpoB11.9	Mut-1335.1	CAC-CAA	526	GGGTTGACCAACAAAGCGCCGACTGT	25	65,7	60	-2,18	50,3
78	RMP-rpoB11.10	Mut-1335.2	CAC-CAG	526	GGGTTGACCAACAAAGCGCCGACTGT	25	66,9	64	-2,18	50,3
79	RMP-rpoB11.11	Mut-1336cons	AAG-CAG	527	GACAGTCGGCGCTgGTGGGTCAAC	24	66,1	66,7	-1,25	37,5
80	RMP-rpoB11.12	Mut-1336-1338	Delete AAG	527	GGGTTGACCAACCCCGACTGTGTC	23	66,3	69,6	-2,18	50,3
81	RMP-rpoB11.13	Mut-1328&1330&1335&1336-	TTG-TGG&ACC-CCC&CAC-CAG&	524&525&26&Delete52	GGGGTgGcCCCAgCGCCGACTG	22	71,9	81,8	-2,74	55,1

Fig. 3 (tiếp)

	1338	Delete AAG	7						
82	RMP-rpoB11.14	CAC-CCC & AAG-CAG	526 & 527	GGTTGACCCcCaAGCGCGACTGTC	25	69,3	72	-0,67	32,4
83	RMP-rpoB11.15	ACC-ACG & CAC-TAC & AAG - CAG	525 & 526 & 527	GGGGTTGACgTACaAGCGCGCGACTG	25	67,2	68	-1,04	36,3
84	RMP-rpoB11.16	CAC-TAC & CGC-CAC	526 & 528	GGGGTTGACCCACaAAGCaCCGACTGTC	27	64,3	59,3	-0,76	36,1
85	RMP-rpoB11.17	CAC-TAC & CGC-CCC	526 & 528	GGTTGACCHACAAAGcCCGACTGTC	25	63	60	-0,23	27,8
86	RMP-rpoB11.18	CAC-CGC & CGA-CAA	526 & 529	CCGACAGTGGCGCTTgcGGGTCAA	25	67,6	64	-1,94	48,4
87	RMP-rpoB11.19	CAC-CGC & CGA-CTG	526 & 529	GTTGACCCcCaAGCGCGcTgCTGTCG	25	68,2	68	-1,68	52,8
88	RMP-rpoB11.20	CAC-TCC & AAG-CAG	526 & 527	GGGGTTGACCCcCaAGCGCGCGACTG	25	69,2	72	-1,85	43,3
89	RMP-rpoB12	CGCCGA	528	CCGACAGTCGGCGCTTgTGGGTCA	24	67,3	66,7	-2,0	51,2
90	RMP-rpoB12.1	CGC-CCC	528	CCGACAGTCGGCGCTTgTGGGTCA	24	67	66,7	-2,35	51,8
91	RMP-rpoB12.2	CGC-CAC	528	CCGACAGTCGGCGCTTgTGGGTCA	24	65,1	62,5	-2,28	50,5
92	RMP-rpoB12.3	CGA-CAA	529	GCCGACAGTGGCGCTTgTGGG	22	65,8	68,2	-1,78	47,3
93	RMP-rpoB12.4	CGA-CTG	529	CCCACAAAGCGCCcTgCTGCGGC	22	67,9	72,7	-1,68	52,8
94	RMP-rpoB12.5	CGC-CAC & TCG-TGG	528 & 531	CACAAAGCaCCGACTGtgGGCGCTGG	25	68	68	-1,5	41,7
95	RMP-rpoB12.6	CGC-CGT & TCG-TTG	528 & 531	GCGCCaACAGTCGaCGCTTGTGGGTC	26	67,5	65,4	-1,75	44,6
96	RMP-rpoB13	TCGGCGCTGGGG	530-533	CCGACTGTGGCGCTGGGGCCCCG	24	74	83,3	-2,42	41,2
97	RMP-rpoB13.1	TCG-CAG	531	GGCCCCAGCGCCcTgCAGTCGGC	22	72,3	81,8	-1,3	43,5
98	RMP-rpoB13.2	TCG-CTG	531	GCCGACTGtGCGCGCTGGGGC	21	72,3	81,8	-1,26	43,1
99	RMP-rpoB13.3	TCG-GCG	531	CCGACTGcCGGCGCTGGGGCC	21	72,9	85,7	-2,13	40,1
100	RMP-rpoB13.4	TCG-TGG	531	GCCGACTCTgGGCGCTGGGGC	22	72,1	81,8	-3,03	56,7
101	RMP-rpoB13.5	TCG-TTG	531	CGCCGACTGTGGCGCTGGGGC	22	70,1	77,3	-4,02	62
102	RMP-rpoB13.6	TCG-TGT	531	CGCCGACTCTgTGGCGCTGGGGC	23	71,4	78,3	-1,07	39,5
103	RMP-rpoB13.7	TCG-TTC	531	GCGCGACTGTtGCGCGCTGGGG	22	69,9	77,3	-3,51	56,5
104	RMP-rpoB13.8	TCG-TTT	531	CGCCGACTGTtGCGCGCTGGGGC	23	69,7	73,9	-1,07	39,5
105	RMP-rpoB13.9	CTG-ATC & TCG-TTC	530 & 531	GCCCCAGCGCGaAgATCGCG	22	67,8	72,7	-2,24	46,8

Fig. 3 (tiếp)

106	RMP-rpoB13.10	Mut-1345&1349-1350	CTG-ATG&TCG-TTC	530&531	CGCCGAATGTCGCGCTGGGGCCC	24	70,9	75	-2,09	37,9
107	RMP-rpoB13.11	Mut-1355cons	CTG-CCG	533	CGGGCCCCGCGCCGACAGTC	22	73,8	86,4	-2,87	43,2
108	RMP-rpoB13.12	Mut-1354-1355	CTG-TCG	533	GACTGTGCGCGTCGCGGGCCCGGC	23	72,8	82,6	-1,64	44
109	RMP-rpoB13.13	Mut-1349 & 1353 & 1356	TCG-TTG&GCG-GCA&CTG-CTT	531&532&533	CCGACTGTAGGCaCTHGGGCCCGGC	25	70,1	72	-1,94	46,9
110	RMP-rpoB14	WT-1360	CCC	535	GCGCTGGGGCCCGCGGTCTGT	22	73,6	81,8	-4,26	56,7
111	RMP-rpoB14.1	Mut-1360	CCC-TCC	535	GCGCTGGGGHCCGGCGGTCTGT	25	70,9	77,3	-4,26	56,7
112	RMP-rpoB15	WT-1390	CTG	545	GAGCGTCCGGGTGGAGGTCC	22	69,1	77,3	-1,18	45,8
113	RMP-rpoB15.1	Mut-1390	CTG-ATG	545	GAGCGTCCGGGgaTGGAGGTCC	22	66,6	72,7	-1,18	45,8
114	RMP-rpoB16	WT-1438	ATC	561	GGATGTCCCCGATCGAAACCCCTGAG	26	64,8	61,5	0,29	19
115	RMP-rpoB16.1	Mut-1438	ATC-GTC	561	GGATGTCCCCGgTCGAAACCCCTGA	25	66,7	64	-0,9	35,9
116	RMP-rpoB17	WT-1468-1473-1471	CTGATC	571	CAACATCGGTCTGATCGGCTCGCTGT	26	64,3	59,3	-0,04	25,6
117	RMP-rpoB17.1	Mut-1473	ATC-ATG	572	AACATCGGTCTGATgGGCTCGCTGTC	26	64,3	57,7	-2,74	48,9
118	RMP-rpoB17.2	Mut-1471	ATC-TTC	572	CAACATCGGTCTGTTCGGCTCGCTGT	26	64,6	57,7	-0,35	29,3
119	RMP-rpoB18	WT-1481	CTG	575	TGATCGGTCTCGTGTGCGGTACGC	26	66,4	64	-0,9	36,2
120	RMP-rpoB18.1	Mut-1481	CTG-CGG	575	TGATCGGTCTCGgGTGCGGTGTAC	23	65,1	65,2	-1,18	38
121	RMP-rpoB19	WT-1508&1513	TTC & TTC	584 & 586	GGTCAACCCGTTCGGGGTTTCATCGAAAC	27	63,3	55,6	-2,97	52,1
122	RMP-rpoB19.1	Mut-1508	TTC-TCC	584	GGGTCAACCCGTcCGGGTTTCATCGA	25	66,3	64	-3,77	59,3
123	RMP-rpoB19.2	Mut-1513	TTC-GTC	586	ACCCGTTCGGGgTCATCGAAACGCC	25	67	64	-2,65	54,3
124	RMP-rpoB20	WT-1531cons	CGC	592	CGAACACCTTGGCGGTACGGCGTTTCG	26	67,1	65,4	-1,94	54,4
125	RMP-rpoB20.1	Mut-1531cons	CGC-TGC	592	TCGACCACTTGCgGTACGGCGTTTC	25	64,6	57,7	0,05	24,2
126	RMP-rpoB21	WT-1563	GAG	602	GTTAGCGACGAGATCGTGTACCTGACCG	28	63,2	57,1	-2,1	51,7
127	RMP-rpoB21.1	Mut-1563	GAG-GAC	602	GTTAGCGACGAcATCGTGTACCTGACCG	28	63,6	57,1	-2,1	51,7
128	RMP-rpoB22	WT-1600cons	GTG	615	CCTGTGCCACCAAGTGGCGGTCTC	25	69,4	72	-3,98	60,7
129	RMP-rpoB22.1	Mut-1600cons	GTG-ATG	615	CCTGTGCCACCAgTGGCGGTCTC	25	67,6	68	-3,98	60,7
130	RMP-rpoB23	WT-1621cons	CCG	622	CCGATCGATCGGGAAATTGGCCTG	25	66,1	64	-2,53	52,5
131	RMP-rpoB23.1	Mut-1621cons	CCG-GCG	622	CGCATCGATCGcGAAATTGGCCTGTG	26	65,8	61,5	-2,41	53,8
132	RMP-rpoB24	WT-1635cons	GAC	626	GAAGCGACCTCCGCATCGATCG	23	64,1	65,2	-2,74	51,2
133	RMP-rpoB24.1	Mut-1635cons	GAC-GAG	626	GAAGCGACcTCCGCATCGATCG	23	63,9	65,2	-2,74	51,2
134	RMP-rpoB25	WT-1654	CGC	633	CTTCGTGAGCCCGCGGTGCTGTC	25	69,4	72	-0,99	32
135	RMP-rpoB25.1	Mut-1654	CGC-TGC	633	TTCGTGAGCCCGCGGTGCTGTC	23	67,5	65,2	-0,76	36,5

*cons: thiết kế trên trình tự ngược; NA: không áp dụng; WT: kiểu dại; Mut: đột biến; Chữ cái in đậm, kiểu thường là nucleotit đột biến.

Fig. 4

Bảng 4: Mẫu dò phát hiện đột biến trên gen *katG*, *inhA* và *inhA* promoter liên quan đến tính kháng INH

STT	Tên mẫu dò	Vị trí đột biến*	Nucleotide đột biến	Codon đột biến	Trình tự (5'-3')	Kích thước (bp)	T _m (°C)	GC %	dG cấu trúc hai (kcal/mol)	T _m cấu trúc bậc hai (°C)
1	INH-katG1	WT-572cons	G	191	CCTCATCGGGCTCCCACTGGTCGAC	25	66,5	68	-0,79	34,7
2	INH-katG1.1	Mut-572 cons	Delete G	191	ACCTCATCGGGCTCcaCTGGTCGAC	25	66	64	-0,69	34,9
3	INH-katG2	WT-694cons	CCG	232	CGGCCCCCTCCGGTTACAGTAGATC	25	66,5	68	-1,96	49,5
4	INH-katG2.1	Mut-694cons	CCG-GCG	232	CGGCCCCCTCCGcGTTACAGTAGATC	25	66,8	68	-1,89	38,7
5	INH-katG3	WT-853	GGC	285	CCGATCTGTGTCGGCCCGCAACCCG	24	69,5	75	-2,8	42,9
6	INH-katG3.1	Mut-853	GGC-TGC	285	GCCGATCTGGTCGCCCCCGAACC	25	69,1	72	-0,86	31,6
7	INH-katG4	WT-895cons	GGC	299	GAGCTCTTCCAGCCCCAAGCCCATCTGC	27	66,7	63	-1,22	40,7
8	INH-katG4.1	Mut-895cons	GGC-AGC	299	GAGCTCTTCCAGCcaAGCCCATCTGC	27	64,7	59,3	-3,74	55,8
9	INH-katG5b	WT-944-945	AGC	315	GCGATCACAGCGGCATCGAGGT	23	65,9	65,2	-1,81	41,9
10	INH-katG5.1	Mut-944.1	AGC-AAC	315	ACGCGATCACCAaCGGCATCGAGGT	25	66,3	60	-1,81	41,9
11	INH-katG5.2	Mut-944.2	AGC-ACC	315	ACGCGATCACCAcCGGCATCGAGGT	25	68	64	-1,81	41,9
12	INH-katG5.3	Mut-944.3	AGC-ATC	315	ACGCGATCACCAcCGGCATCGAGGT	25	66	60	-2,18	44,6
13	INH-katG5.4	Mut-944-945.1	AGC-ACA	315	CGCGATCACCAaGGCATCGAGGT	25	65,2	64	-1,81	41,9
14	INH-katG5.5	Mut-944-945.2	AGC-ACG	315	GACGCGATCACCAcGGCATCGAGGT	25	67,2	68	-1,81	41,9
15	INH-katG5.6	Mut-944-945.3	AGC-ACT	315	ACGCGATCACCAcGGCATCGAGGT	26	66,1	61,5	-1,81	41,9
16	INH-katG6	WT-974	CCG	325	GGACGAACACCCCGACGAAATGGGAC	26	64,9	61,5	-1,94	48,2
17	INH-katG6.1	Mut-974	CCG-CTG	325	GGACGAACACCCCGACGAAATGGGAC	26	63,1	57,7	-2,24	49,3
18	INH-katG7	WT-1316cons	CAG	439	CAGGACCCGGATCCTGCCACAGC	23	66,2	69,6	-1,54	42,7
19	INH-katG7.1	Mut-1316	CAG-CCG	439	CCCTGCTGTGGcGGATCCGGTCCC	25	71,1	76	-2,85	51,4
20	INH-katG8	WT-1438-1440	GCG	480	CATGGCGGGCGGTCGTCGTTCCGTG	25	71,6	76	-2,83	50,8
21	INH-katG8.1	Mut-1438-1440	Delete GCG	480	GCATGGCGGGCGGTCGTCGTTCCGTG	25	69,8	72	-1,65	41,6
22	INH-pro2	WT-(-15)-(-17)		NA	CCC CGCGGAGAGCGATAGGTTGTCG	25	67,1	68	-1,62	35,6
23	INH-pro1.1	Mut-(-8).1	T-A	NA	GCGAGACGATAGGaTGTCCGGGGTGAC	26	64	61,5	-1,92	42,9
24	INH-pro1.2	Mut-(-8).2	T-C	NA	CGAGACGATAGGcTGTCCGGGGTGAC	25	64,2	64	-1,92	42,9

Fig. 4 (tiếp)

25	INH-pro2.1	Mut-(-15)	C-T	NA	GCCGGCGGAGATAGGTTGTCG	25	65,4	64	-0,24	27,9
26	INH-pro2.2	Mut-(-17)	G-T	NA	GGCCGGCGGAGACGATAGGTTGTC	25	65,2	64	-0,97	38,8
27	INH-pro3	WT-(-102)	G	NA	GACAAACGTACAGCGTAACCCACGTG	28	64,3	57,1	-1,49	46,9
28	INH-pro3.1	Mut-(-102)	G-A	NA	GACAAACGTACAGCAACGTAAACCCACGTG	28	62,8	53,6	-2,85	58,4
29	INH-inhA1	WT-61-62	ATC	21	CGACTCGTCGATCGCGTTTCACAT	24	61,2	54,2	-2,04	49,4
30	INH-inhA1.1	Mut-61	ATC-GTC	21	CGACTCGTCGgTCGCGTTTCACAT	24	63,2	58,3	-2,1	45,1
31	INH-inhA1.2	Mut-62	ATC-ACC	21	CCGACTCGTCGACCGCGTTTCACAT	25	64,7	60	-2,54	51,4
32	INH-inhA2	WT-74	ATC	25	CGCGTTTCACATCGCACGGGTAGCC	25	66	64	-2,51	47,1
33	INH-inhA2.1	Mut-74	ATC-ACC	25	CGCGTTTCACACCGCACGGGTAGCC	25	68	68	-2,08	45,2
34	INH-inhA3	WT-280-283	TCGATT	94-95	GGGTGGTGCATTGCGATTGGGTTTCAT	25	61,8	52	0,76	10
35	INH-inhA3.1	Mut-280	TCG-GCG	94	GGGTGGTGCATgCGATTGGGTTTCAT	25	65,8	60	0,76	10
36	INH-inhA3.2	Mut-283	ATT-GTT	95	GTGGTGCATTTCGgTTGGGTTTCATGC	25	62,9	56	-1,02	34,9
37	INH-inhA4	WT-581	ATC	194	CCGCAGGCCCTATCCGGACGCTG	23	68,2	73,9	-1,16	40,7
38	INH-inhA4.1	Mut-581	ATC-ACC	194	CGCAGGCCCTAcCCGGACGCTG	22	69	77,3	-0,58	35,2
39	INH-inhA5	WT-773cons	ATC	258	CCGTCGGCGTAGATGATGCACCCG	25	64,8	64	-0,76	30,1
40	INH-inhA5.1	Mut-773cons	ATC-ACC	258	GTCGGCGTAGgTGATGTCACCCG	23	63,7	65,2	-3,13	52,3

* cons: thiết kế trên trình tự ngược; NA: không áp dụng; WT: kiểu dại; Mut: đột biến; Chữ cái in đậm, kiểu thường là nucleotit đột biến.

Fig. 5

Bảng 5: Mẫu dò phát hiện đột biến trên gen *rrs* và *rpsL* liên quan đến tính kháng SM

STT	Tên mẫu dò	Vị trí đột biến*	Nucleotit đột biến	Codon đột biến	Trình tự (5'-3')	Kích thước (bp)	Tm (°C)	GC %	đG cấu trúc hai bậc (kcal/mol)	Tm cấu trúc hai bậc (°C)
1	SM-rpsL1	WT-128	AAG	43	CCACCACCTCCGAAAGAACCGAACTC	25	63,1	60	-0,22	28,6
2	SM-rpsL1.1	Mut-128	AAG-AGG	43	CCACCACCTCCGAGGAAGCCGAACTC	25	64,8	64	-0,49	32,8
3	SM-rpsL2	WT-262-263	AAG	88	GCCGGGTGAAGGACCTGCCTGG	22	67	72,7	-1,46	42,1
4	SM-rpsL2.1	Mut-262cons	AAG-CAG	88	AGGCAGGTCTGACCCCGGCCGC	23	72,7	78,3	-3	53,7
5	SM-rpsL2.2	Mut-263	AAG-AGG	88	GCCGGGTGAAGGACCTGCCTGG	22	69	77,3	-1,46	42,1
6	SM-rpsL2.3	Mut-263	AAG-ACG	88	GCCGGGTGAAGGACCTGCCTGG	22	69,1	77,3	-3,39	63,1
7	SM-rpsL2.4	Mut-263	AAG-ATG	88	GCCGGGTGAAGGACCTGCCTGG	22	67	72,7	-1,46	42,1
8	SM-rrs1	WT-513-514-517	CAGCC	NA	CTACGTGCCAGCAGCGCGGTAATACG	27	66,3	63	-1,06	32,8
9	SM-rrs1.4	Mut-517	C-T	NA	CGTGCCAGCAGCGCGGTAATACGT	25	65,2	60	-1,55	35,3
10	SM-rrs1.2	Mut-514	A-C	NA	CTACGTGCCAGCAGCGCGGTAATA	25	66,7	64	-1,62	43,3
11	SM-rrs1.3	Mut-514	A-T	NA	ACTACGTGCCAGCGCGCGGTAATAC	27	65,9	59,3	-0,96	32,1
12	SM-rrs2	WT-878cons	G	NA	GGCCGTACTCCCCAGCGCGGGGTACT	25	69,8	72	-3,62	60,1
13	SM-rrs2.1	Mut-878	G-A	NA	GTACCCCGCCTAGGGAGTACGGCC	24	66,6	70,8	-2,79	58,6
14	SM-rrs3	WT-905-907-908	CAAA	NA	GCAAAGGCTAAAACCTCAAAAGGAATTGACGGGG	31	62,8	48,4	-1,31	41
15	SM-rrs3.1	Mut-905	C-G	NA	CGCAAAGGCTAAAACCTgAAAAGGAATTGACGGGG	31	62,8	48,4	-0,12	27,1
16	SM-rrs3.2	Mut-907	A-T	NA	CAAGGCTAAAACCTCAAGGAATTGACGGGG	30	60,6	46,7	0,49	19,7
17	SM-rrs3.3	Mut-908	A-C	NA	AAGGCTAAAACCTCAAcGGAATTGACGGGG	30	63,7	50	-1,17	39,9
18	SM-rrs3.4	Mut-908	A-G	NA	AAGGCTAAAACCTCAAgGGAATTGACGGGG	30	63,6	50	-1,19	39,8

*cons: thiết kế trên trình tự ngược; WT: kiểu dại; Mut: đột biến; Chữ cái in đậm, kiểu thường là nucleotit đột biến

Fig. 6

Bảng 6: Mẫu dò phát hiện đột biến trên gen *embB* liên quan đến tính kháng EMB

STT	Tên mẫu dò	Vị trí đột biến*	Nucleotit đột biến	Codon đột biến	Trình tự (5'-3')	Kích thước (bp)	Tm (°C)	GC %	dG cấu trúc bậc hai (kcal/mol)	Tm cấu trúc bậc hai (°C)
1	EMB-embB1	WT-897cons	GAC	299	GGATGTAGCCGTCGTCCGACGAATTTCG	27	64,1	59,3	-3,96	57,2
2	EMB-embB1.1	Mut-897cons	GAC-GAA	299	GGATGTAGCCGTCGTCCGACGAATTTCG	27	62,4	55,6	-3,43	55,6
3	EMB-embB2a	WT-916-918	ATG	306	ATCCTGGGCATGGCCCGAGTCGC	23	68,1		-2,95	56,7
4	EMB-embB2.1	Mut-916.1	ATG-GTG	306	TACATCTCTGGGCGTGGCCCGAGTCGC	25	68,1	68	-2,95	56,7
5	EMB-embB2.2	Mut-916.2	ATG-CTG	306	TACATCTCTGGGCGTGGCCCGAGTCGC	25	68	68	-2,95	56,7
6	EMB-embB2.3	Mut-918.1	ATG-ATT	306	CATCCTGGGCATGGCCCGAGTCGCC	25	67,8	68	-2,95	56,7
7	EMB-embB2.4	Mut-918.2	ATG-ATA	306	CATCCTGGGCATGGCCCGAGTCGCC	25	67,1	68	-2,95	56,7
8	EMB-embB2.5	Mut-918.3	ATG-ATC	306	CATCCTGGGCATGGCCCGAGTCGCC	25	69,3	72	-2,95	56,7
9	EMB-embB3	WT-956	TAT	319	ACATGTCCAACTATTCCCGCTGGTTC	26	59,2	46,2	-0,13	26,5
10	EMB-embB3.1	Mut-956	TAT-TGT	319	ACATGTCCAACTATTCCCGCTGGTTC	25	61,2	48	-0,13	26,5
11	EMB-embB4	WT-982	GAT	328	GGCAGCCCGGAGGATCCCTTCGGCT	25	70,5	72	-2,94	50,7
12	EMB-embB4.1	Mut-982	GAT-TAT	328	GGCAGCCCGGAGGATCCCTTCGGCT	25	68,3	68	-2,06	45,8
13	EMB-embB5	WT-989-990	TTC	330	GGAGGATCCCTTCGGCTGGTATTAC	25	60,5	56	-0,73	37,8
14	EMB-embB5.1	Mut-989	TTC-TCC	330	GGAGGATCCCTTCGGCTGGTATTAC	25	62,2	60	-2,58	51,1
15	EMB-embB11	WT-1489-1490	CAG	497	GTGTTCCGCCGACCAAGACCTGTCAAC	26	65	61,5	-1,37	38
16	EMB-embB11.1	Mut-1489	CAG-AAAG	497	GTTGACAGGGTCTGTGCGGGAACACC	27	64,8	59,3	-1,37	38
17	EMB-embB11.2	Mut-1490	CAG-CCG	497	TGTTCCGCCGACCAAGACCTGTCAAC	25	66,7	64	-0,43	30,4
18	EMB-embB11.3	Mut-1490	CAG-CCG	497	TGTTCCGCCGACCAAGACCTGTCAAC	25	66,7	64	-1,14	41,2
19	EMB-embB12	WT-1671cons	ATG	557	CTTGCGCCGCAACATGATGAACACC	25	63,1	56	-1,05	36,6
20	EMB-embB12.1	Mut-1671cons	ATG-ATC	557	CTTGCGCCGCAACATGATGAACACC	25	62,7	56	-3,18	53,8
21	EMB-embB8	WT-1215-1217	GAGGGC	406	TGCGGCCGGAGGGCATCATCGCG	23	70,5	73,9	-2,94	56,9
22	EMB-embB8.1	Mut-1215	GAG-GAT	405	CCTGCGGCCGGATGGCATCATCGCG	25	69,9	72	-3,04	58
23	EMB-embB8.2	Mut-1216.1	GGC-AGC	406	GCCGGAGGATCATCATCGCGC	20	63,9	70	-0,13	27,4
24	EMB-embB8.3	Mut-1216.2	GGC-TGC	406	CTGCGGCCGGAGGATCATCATCG	22	65,1	68,2	-0,61	32,9
25	EMB-embB8.4	Mut-1217	GGC-GAC	406	TGCGGCCGGAGGATCATCATCGCGCT	25	70,3	68	-1,98	42,4

*cons: thiết kế trên trình tự ngược; WT: kiểu dại; Mut: đột biến; Chữ cái in đậm, kiểu thường là nucleotit đột biến.

Fig. 7

Bảng 7: Mẫu dò phát hiện đột biến trên gen *gyrA* và *gyrB* liên quan đến tính kháng Fluoroquinolone

STT	Tên mẫu dò	Vị trí đột biến*	Nucleotit đột biến	Codon đột biến	Trình tự (5'-3')	Kích thước (bp)	Tm (°C)	GC %	dG cấu trúc bậc hai (kcal/mol)	Tm cấu trúc bậc hai (°C)
1	FQ-gyrA1	WT-262cons	GGC	88	TCGACGCGTCGCCGTGCGGTGGTA	25	71,7	72	-2,76	53,2
2	FQ-gyrA1.1	Mut-262	GGC-TGC	88	TACCAACCGCAGCGGACGCGTCGA	25	69,7	68	-2,78	49,4
3	FQ-gyrA1.2	Mut-263	GGC-GCC	88	ACCACCGCACGCGGACGCGTCGAT	25	72,2	72	-2,76	53,2
4	FQ-gyrA2	WT-269-271	GGCTCG	90-91	GCACGGCGACGCGTCGATCTACGAC	25	66,9	66,9	-3,46	44,8
5	FQ-gyrA2.1	Mut-269	GCG-GTG	90	CGCACGGCGACGCGTCGATCTACGA	25	66,1	64	-5,15	53,4
6	FQ-gyrA2.2	Mut-271	TCG-CCG	91	GGCGACGCGCGATCTACGACA	22	65,9	68,2	-6,06	58,2
7	FQ-gyrA3	WT-280-281	GAC	94	CGTCGATCTACGACAGCCTGGTGCG	25	64,8	64	-2,76	57,1
8	FQ-gyrA3.1	Mut-280.1cons	GAC-AAC	94	CGCACAGGCTGTGTAGATCGACGCG	27	66,4	63	-0,87	37,2
9	FQ-gyrA3.2	Mut-280.2cons	GAC-CAC	94	GCACAGGCTGTGTAGATCGACGCG	25	65,3	64	-0,87	37,2
10	FQ-gyrA3.3	Mut-280.3cons	GAC-TAC	94	CGCACAGGCTGTGTAGATCGACGCG	27	65,7	63	-0,33	31,4
11	FQ-gyrA3.4	Mut-281.1	GAC-GCC	94	CGTCGATCTACGACAGCCTGGTGCG	25	67	68	-0,87	37,2
12	FQ-gyrA3.5	Mut-281.2	GAC-GGC	94	CGTCGATCTACGACAGCCTGGTGCG	25	67	68	-2,01	47
13	FQ-gyrA4	Mut-284	AGC-ACC	95	GTCGATCTACGACACCTGGTGCGCA	26	65,8	61,5	-1,48	36,3
14	FQ-gyrA4.5	Mut-281&284	GAC-GGC&AGC-ACC	94&95	GCGTCGATCTACGCGCACCTGGT	26	65,2	65,2	-2,29	47,3
15	FQ-gyrA4.2	Mut-280&284cons	GAC-AAC&AGC-ACC	94&95	TGCGCACAGGCTGTGTAGATCGACG	27	65,8	59,3	-3,66	55,8
16	FQ-gyrA4.3	MutA-280&284cons	GAC-CAC&AGC-ACC	94&95	TGCGCACAGGCTGTGTAGATCGACG	27	67,3	63	-1,71	41,1
17	FQ-gyrB1	WT-1381cons	GAC	461	CGCCGGCCGAGTCACCTTCTACGAC	25	66,6	68	-0,71	36
18	FQ-gyrB1.1	Mut-1381cons	GAC-AAC	461	CGCCGGCCGAGTCACCTTCTACGAC	25	64,7	64	-0,9	35,4
19	FQ-gyrB2	WT-1510-1511	GCG	504	CCGAAGTTCAGGCGATCATCACGGC	25	63,7	60	-0,37	29,5
20	FQ-gyrB2.1	Mut-1510	GCG-ACG	504	AACACCGAAGTTCAGCGATCATCACG	27	60,5	48,1	-0,54	32,1
21	FQ-gyrB2.2	Mut-1511cons	GCG-GTG	504	CGCCGTGATGATCATCCTGAACCTTCGGT	27	64,1		-1,35	48,5
22	FQ-gyrB3	WT-1534cons	GGG	512	GTCGTGGATCCCGGTGCCACGCG	23	68,5	73,9	0,09	23,8
23	FQ-gyrB3.1	Mut-1534cons	GGG-AGG	512	CGTCGTGGATCCCGGTGCCACGCG	25	69,5	72	-1,55	41,9

*cons: thiết kế trên trình tự ngược; WT: kiểu dại; Mut: đột biến; Chữ cái in đậm, kiểu thường là nucleotit đột biến.

Fig. 8

Bảng 8: Mẫu dò phát hiện đột biến trên gen *rrs* và *eis* liên quan đến tính kháng các thuốc tiêm hàng hai

STT	Tên mẫu dò	Vị trí đột biến	Nucleotit đột biến	Trình tự (5'-3')	Kích thước (bp)	Tm (°C)	GC %	dG cấu trúc hai (kcal/mol)	Tm cấu trúc bậc hai (°C)
1	SIJ-rs1	WT-1338cons	A	TGATCTGCGATTACTAGCGACTCCGACTT	29	62	48,3	-1,16	41,7
2	SIJ-rs1.1	Mut-1338cons	A-C	TGATCTGCGATTACgAGCGACTCCGACTT	29	63,9	51,7	-2,68	43,6
3	SIJ-rs2	WT-1400-1402	CAC	CACACCGCCCGTCACGTCATGAAAG	25	63,9	60	-0,23	29,2
4	SIJ-rs2.1	Mut-1400	C-G	CACACCGCCCGTgACGTCATGAAAG	25	63,9	60	-1,94	48,4
5	SIJ-rs2.2	Mut-1401	A-G	ACACCGCCCGTcGCTCATGAAAGT	25	66,6	60	-2,58	52,5
6	SIJ-rs3	WT-1484	G	GGCGATTGGGACGAAAGTCGTAACAA	25	61,1	52	-2,04	52
7	SIJ-rs3.1	Mut-1484	G-T	GGCGATTGGGACIAAGTCGTAACAA	25	58,8	48	-0,86	33,3
8	INJ-eis1	WT-(-10)-(-12)-(-14)		CGGCATATGCCACAGTCGGATTCTG	25	61,7	56	-2,95	53,6
9	INJ-eis1.1	Mut-(-10)	G-A	CGGCATATGCCACAaTCGGATTCTG	25	60,2	52	-2,95	53,6
10	INJ-eis1.2	Mut-(-12)	C-T	CGGCATATGCCAaAGTCGGATTCTG	25	59,4	52	-2,95	53,6
11	INJ-eis1.3	Mut-(-14)	C-T	CGCGGCATATGCTACAGTCGGATTCT	26	62,4	53,8	-1,1	38,7
12	INJ-eis2	WT-(-37)cons	G	CACGTGCACGTGAATATTACGACGAC	26	59,7	50	-3,57	58,3
13	INJ-eis2.1	Mut-(-37)cons	G-T	GCGGCCACGTGCAaGTGAATATTACG	26	62,2	53,8	-1,4	40,4

*cons: thiết kế trên trình tự ngược; WT: kiểu dại; Mut: đột biến; Chữ cái in đậm, kiểu thường là nucleotit đột biến

PHỤ LỤC

Bảng S1.1: Đột biến trên gen *rhoB* được tìm thấy trong những chủng kháng RMP trên thế giới và trong bộ chủng nghiên cứu ở Việt Nam, Lào, Campuchia

STT	Vị trí đột biến (<i>MTB</i>)	Vị trí codon đột biến (<i>MTB</i>)	Vị trí codon đột biến (<i>E. coli</i>)	Nucleotit đột biến	Axit amin đột biến	Chủng mang đột biến (a)	F (%) (b)	Mức độ kháng RMP (c)	Tính chất kiểu đột biến (d)	Mức tần suất trên thế giới (e)	Mức tần suất ở Đông & Đông Nam Á (e)	Chọn (f)
1	508	170	146	GTC-TTC	Val-Phe	R	36,7*	H	single	H	H	X
2	1133	378	459	CTG-CGG	Leu-Arg	R	0,04	U	multiple	L	ND	X
3	1170	390	471	ATG-ATT	Met-Ile	R	0,03	U	single	L	ND	
4	1181	394	475	GTG-GGG	Val-Gly	R	0,03	U	single	L	ND	
5	1198	400	481	ACC-GCC	Thr-Ala	R	0,08	U	multiple	L	ND	
6	1226	409	490	CAG-CGG	Gln-Arg	R	0,04	U	multiple	L	L	
7	1227	409	490	CAG-CAT	Gln-His	R	0,02	U	single	L	L	
8	1237	413	494	AAC-CAC	Asn-His	R	0,02	U	single	L	ND	
9	1250- 1251	417	498	GTC-GCG	Val-Ala	R	0,02	U	multiple	L	ND	
10	1256	419	500	GCC-GTC	Ala-Val	R	0,04	U	multiple	L	ND	
11	1261	421	502	ATC-GTC	Ile-Val	R	0,02	U	multiple	L	L	
12	1265	422	503	AAG-ACG	Lys-Thr	R	0,02	U	multiple	L	L	X
13	1268	423	504	GAG-GCG	Glu-Ala	R	0,04	U	multiple	L	L	
14	1270	424	505	TTC-GTC	Phe-Val	R	0,15	U	multiple	M	M	X
15	1270	424	505	TTC-CTC	Phe-Leu	R	0,04	H	multiple	L	ND	
16	1271	424	505	TTC-TCC	Phe-Ser	R	0,02	U	multiple	L	L	
17	1272	424	505	TTC-TTG	Phe-Leu	R	0,02	H	multiple	L	ND	
18	1276	426	507	GGC-AGC	Gly-Ser	R & S	0,02	L - H**	multiple	L	L	

Fig. 9 (tiếp)

19	1277	426	507	GGC-GAC	Gly-Asp	R	0,04	H	multiple	L	L	
20	1277- 1278	426	507	GGC-GAT	Gly-Asp	R	0,04	U	multiple	L	L	
21	1279	427	508	ACC-CCC	Thr-Pro	R	0,08	U	multiple	L	L	
22	1279	427	508	ACC-GCC	Thr-Ala	R & S	0,04	U	multiple	L	L	
23	1279- 1280	427	508	ACC-CAC	Thr-His	R & S	0,13	L-H**	multiple	M	L	X
24	1280	427	508	ACC-AGC	Thr-Ser	R	0,02	U	multiple	L	L	
25	1280	427	508	ACC-AAC	Thr-Asn	R	0,02	U	multiple	L	ND	
26	1280	427	508	ACC-ATC	Thr-Ile	R	0,02	U	single	L	ND	
27	1282	428	509	AGC-CGC	Ser-Arg	R	0,02	U	multiple	L	L	
28	1283	428	509	AGC-AAC	Ser-Asn	R	0,04	U	single	L	ND	
29	1283	428	509	AGC-ATC	Ser-Ile	R	0,04	U	multiple	L	L	X
30	1283	428	509	AGC-ACC	Ser-Thr	R	0,02	U	multiple	L	L	
31	1284	428	509	AGC-AGA	Ser-Arg	R	0,04	U	multiple	L	L	
32	1284	428	509	AGC-AGG	Ser-Arg	R	0,04	U	multiple	L	L	
33	1285	429	510	CAG-GAG	Gln-Glu	R	0,02	U	multiple	L	ND	
34	1286	429	510	CAG-CCG	Gln-Pro	R	0,04	U	single	L	ND	
35	1287	429	510	CAG-CAC	Gln-His	R & S	0,08	L-H**	S&M	L	ND	X
36	1287	429	510	CAG-CAT	Gln-His	R & S	0,04	L-H**	S&M	L	L	
37	1288	430	511	CTG-ATG	Leu-Met	R & S	0,02	U	S&M	L	L	
38	1288	430	511	CTG-GTG	Leu-Val	R	0,2	U	S&M	M	L	X
39	1289	430	511	CTG-CCG	Leu-Pro	R & S	1,55	L-H**	S&M	H	H	X
40	1289	430	511	CTG-CCG	Leu-Arg	R & S	0,08	U	S&M	L	L	X
41	1291	431	512	AGC-CGC	Ser-Arg	R	0,02	H	S&M	L	ND	

Fig. 9 (tiếp)

42	1291	431	512	AGC-GGC	Ser-Gly	R	0,04	H	S&M	L	ND	X
43	1291	431	512	AGC-TGC	Ser-Cys	R	0,04	H	S&M	L	ND	
44	1291-1293	431	512	AGC-GGG	Ser-Gly	R	0,02	U	single	L	ND	
45	1292	431	512	AGC-AAC	Ser-Asn	R	0,02	U	single	L	ND	
46	1292	431	512	AGC-ACC	Ser-Thr	R	0,04	H	S&M	L	ND	X
47	1292	431	512	AGC-ATC	Ser-Ile	R	0,06	U	S&M	L	L	
48	1292-1293	431	512	AGC-ACG	Ser-thr	R	0,02	U	multiple	L	ND	
49	1293	431	512	AGC-AGG	Ser-Arg	R	0,04	U	single	L	L	
50	1294	432	513	CAA-AAA	Gln-Lys	R	0,65	H	S&M	M	H	X
51	1294	432	513	CAA-GAA	Gln-Glu	R	0,1	H	S&M	M	M	X
52	1294	432	513	CAA-TAA	Gln-Stop	R	0,04	U	single	L	L	
53	1294-1296	432	513	CAA-AAT	Gln-Asn	R	0,04	U	single	L	L	
54	1295	432	513	CAA-CCA	Gln-Pro	R	0,58	H	single	M	M	X
55	1295	432	513	CAA-CTA	Gln-Leu	R	0,5	H	S&M	M	M	X
56	1295	432	513	CAA-CGA	Gln-Arg	R	0,02	U	single	L	ND	
57	1296	432	513	CAA-CAC	Gln-His	R	0,08	H	S&M	L	L	X
58	1297	433	514	TTC-CTC	Phe-Leu	R & S	0,02	L	multiple	L	ND	X
59	1297	433	514	TTC-GTC	Phe-Val	R & S	0,02	L	multiple	L	ND	
60	1299	433	514	TTC-TTG	Phe-Leu	R & S	0,04	L	multiple	L	ND	X
61	1300	434	515	ATG-CTG	Met-Leu	R & S	0,04	L-H**	S&M	L	L	X
62	1300	434	515	ATG-GTC	Met-Val	R	0,02	H**	S&M	L	L	
63	1300	434	515	ATG-GTG	Met-Val	R & S	0,13	L-H**	S&M	M	M	X
64	1301	434	515	ATG-ACG	Met-Thr	R & S	0,02	L-H**	multiple	L	ND	X
65	1302	434	515	ATG-ATA	Met-Ile	R & S	0,04	L-H**	multiple	L	ND	X
66	1302	434	515	ATG-ATC	Met-Ile	R	0,1	U	S&M	M	M	X
67	1302	434	515	ATG-ATT	Met-Ile	R & S	0,26	L	S&M	M	L	X

Fig. 9 (tiếp)

68	1303	435	516	GAC-AAC	Asp-Asn	R & S	0,08	L-H**	S&M	L	L	X
69	1303	435	516	GAC-CAC	Asp-His	R	0,06	U	single	L	L	
70	1303	435	516	GAC-TAC	Asp-Tyr	R & S	2,8	L-H	S&M	H	H	X
71	1303-1304	435	516	GAC-CCC	Asp-Pro	R	0,04	U	single	L	L	
72	1303-1304	435	516	GAC-TGC	Asp-Cys	R	0,02	U	S&M	L	L	X
73	1303-1304	435	516	GAC-TTC	Asp-Phe	R	0,08	U	single	L	L	
74	1303-1305	435	516	GAC-AAA	Asp-Lys	R	0,02	H**	S&M	L	L	
75	1304	435	516	GAC-GCC	Asp-Ala	R & S	0,28	L-H**	S&M	M	M	X
76	1304	435	516	GAC-GGC	Asp-Gly	R	0,85	H	S&M	M	H	X
77	1304	435	516	GAC-GTC	Asp-Val	R	8,24	H	S&M	H	H	X
78	1304-1305	435	516	GAC-GTA	Asp-Val	R	0,02	U	single	L	L	
79	1304-1305	435	516	GAC-GTG	Asp-Val	R	0,02	U	single	L	L	
80	1305	435	516	GAC-GAG	Asp-Glu	R & S	0,13	L-H**	S&M	M	M	X
81	1307	436	517	CAG-CTA	Gln-Leu	R	0,02	U	single	L	ND	
82	1309	437	518	AAC-CAC	Asn-His	R & S	0,06	L-H**	S&M	L	L	X
83	1309	437	518	AAC-GAC	Asn-Asp	R & S	0,02	L-H**	S&M	L	ND*	X
84	1309	437	518	AAC-TAC	Asn-Tyr	R	0,02	U	S&M	L	ND	
85	1310	437	518	AAC-ACC	Asn-Thr	R	0,02	U	S&M	L	L	X
86	1310	437	518	AAC-AGC	Asn-Ser	R	0,06	U	S&M	L	ND	X
87	1310	437	518	AAC-ATC	Asn-Ile	R	0,02	U	single	L	ND	
88	1314	438	519	AAC-AAG	Asn-Lys	R	0,02	H	S&M	L	ND	
89	1318	440	521	CTG-ATG	Leu-Met	R	0,02	H	single	L	ND	
90	1319	440	521	CTG-CAG	Leu-Gln	R	0,02	U	single	L	L	
91	1319	440	521	CTG-CCG	Leu-Pro	R	0,02	U	single	L	ND	
92	1320	440	521	CTG-CTT	Leu-Pro	R	0,02	U	single	L	ND	

Fig. 9 (tiếp)

93	1321	441	522	TCG-ACG	Ser-Thr	R	0,02	U	single	L	L	X
94	1321	441	522	TCG-CCG	Ser-Pro	R	0,04	U	S&M	L	L	
95	1321-1322	441	522	TCG-CAG	Ser-Gln	R	0,3	H	S&M	M	L	X
96	1321-1322	441	522	TCG-ATG	Ser-Met	R	0,02	U	multiple	L	ND	
97	1322	441	522	TCG-TGG	Ser-Trp	R	0,06	U	single	L	ND	
98	1322	441	522	TCG-TTG	Ser-Leu	R	0,78	H	S&M	M	M	X
99	1322-1323	441	522	TCG-TTC	Ser-Phe	R	0,02	U	multiple	L	ND	
100	1324	442	523	GGG-TGG	Gly-Trp	R	0,02	U	S&M	L	L	X
101	1324-1326	442	523	GGG-CGT	Gly-Arg	R	0,02	U	multiple	L	ND	
102	1325	442	523	GGG-GCG	Gly-Ala	R	0,54	U	S&M	L	L	X
103	1327-1328	443	524	TTG-TCC	Leu-Ser	R	0,02	U	single	L	ND	
104	1328	443	524	TTG-TGG	Leu-Trp	R	0,02	U	S&M	L	ND	X
105	1330	444	525	ACC-CCC	Thr-Pro	R	0,02	U	multiple	L	ND	X
106	1330-1331	444	525	ACC-TAC	Thr-Tyr	R	0,02	U	single	L	ND	
107	1331	444	525	ACC-ATC	Thr-Ile	R	0,02	U	S&M	L	ND	X
108	1331	444	525	ACC-AAC	Thr-Asn	R	0,02	U	S&M	L	ND	
109	1332	444	525	ACC-ACG	Thr-Thr	S	U	U	multiple	L	ND.	X
110	1333	445	526	CAC-AAC	His-Asn	R & S	1,07	L-H**	single & multiple	H	H	X
111	1333	445	526	CAC-GAC	His-Asp	R	5,25	H	S&M	H	H	X
112	1333	445	526	CAC-TAC	His-Tyr	R	8,83	H	S&M	H	H	X
113	1333-1334	445	526	CAC-TGC	His-Cys	R	0,59	H	S&M	M	H	X
114	1333-1334	445	526	CAC-TCC	His-Ser	R	U	U	multiple	U	L	X
115	1333-1334	445	526	CAC-TTC	His-Phe	R	0,06	U	single	L	L	
116	1333-	445	526	CAC-ACC	His-Thr	R	0,1	U	single	M	M	X

20/59

Fig. 9 (tiếp)

117	1334	445	526	CAC-AGC	His-Ser	R & S	0,06	U	S&M	L	L	
118	1333-1334	445	526	CAC-GCC	His-Ala	R	0,04	U	single	L	ND	
119	1333-1334	445	526	CAC-GGC	His-Gly	R	0,06	U	single	L	ND	
120	1333-1334	445	526	CAC-GTC	His-Val	R	0,02	U	single	L	L	
121	1334	445	526	CAC-CCC	His-Pro	R	0,37	H	S&M	M	M	X
122	1334	445	526	CAC-CGC	His-Arg	R	2,83	H	S&M	H	H	X
123	1334	445	526	CAC-CTC	His-Leu	R & S	1,94	L-H**	S&M	H	H	X
124	1334-1335	445	526	CAC-CTG	His-Leu	R & S	0,02	L-H**	single	L	L	
125	1335	445	526	CAC-CAA	His-Gln	R	0,15	H	S&M	M	M	X
126	1335	445	526	CAC-CAG	His-Gln	R	0,13	H	S&M	M	M	X
127	1336	446	527	AAG-CAG	Lys-Gln	R	0,04	U	S&M	L	ND	X
128	1338	446	527	AAG-AAT	Lys-Asn	R	0,02	U	S&M	L	L	
129	1340	447	528	CGC-CCC	Arg-Pro	R	0,04	U	S&M	L	ND	X
130	1340	447	528	CGC-CAC	Arg-His	R	0,02	U	S&M	L	L	X
131	1342-1343	448	529	CGA-AAA	Arg-Lys	R	0,04	U	single	L	ND	
132	1343	448	529	CGA-CAA	Arg-Gln	R	0,06	U	S&M	L	ND	X
133	1343	448	529	CGA-CTA	Arg-Leu	R	0,02	U	multiple	L	ND	
134	1343-1344	448	529	CGA-CTG	Arg-Leu	R	0,02	U	S&M	L	ND	X
135	1345	449	530	CTG-ATG	Leu-Met	R	U	U	multiple	U	L	X
136	1345-1347	449	530	CTG-ATC	Leu-Ile	R	0,02	U	multiple	L	L	X
137	1346-1347	449	530	CTG-CGT	Leu-Arg	R	0,02	U	multiple	L	L	
138	1348	450	531	TCG-ACG	Ser-Thr	R	0,02	U	single	L	ND	
139	1348	450	531	TCG-CCG	Ser-Pro	R	0,02	U	single	L	L	

Fig. 9 (tiếp)

140	1348	450	531	TCG-GCG	Ser-Ala	R	0,08	H	S&M	L	L	X
141	1348- 1349	450	531	TCG-ATG	Ser-Met	R	0,02	U	single	L	L	
142	1348- 1349	450	531	TCG-CAG	Ser-Gln	R	0,17	U	single	M	M	X
143	1348- 1349	450	531	TCG-GGG	Ser-Gly	R	0,02	H	multiple	L	L	
144	1348- 1349	450	531	TCG-GAG	Ser-Glu	R	0,02	U	single	L	L	
145	1348- 1349	450	531	TCG-CTG	Ser-Leu	R	0,02	U	single	L	L	X
146	1349	450	531	TCG-TGG	Ser-Trp	R	2,42	H	S&M	H	H	X
147	1349	450	531	TCG-TTG	Ser-Leu	R	50,03	H	S&M	H	H	X
148	1349- 1350	450	531	TCG-TAC	Ser-Tyr	R	0,04	U	single	L	ND	
149	1349- 1350	450	531	TCG-TAT	Ser-Tyr	R	0,06	U	single	L	L	
150	1349- 1350	450	531	TCG-TGT	Ser-Cys	R	0,04	U	S&M	L	ND	X
151	1349- 1350	450	531	TCG-TTC	Ser-Phe	R	0,17	H	S&M	M	M	X
152	1349- 1350	450	531	TCG-TTT	Ser-Phe	R	0,1	H	single	M	ND	X
153	1353	451	532	GCG-GCA	Ala-Ala	S	U	U	multiple	L	ND	X
154	1354	452	533	CTG-ATG	Leu-Met	S	0,02	U	single	L	ND	
155	1354- 1355	452	533	CTG-TCG	Leu-Ser	R	0,02	U	single	L	L	X
156	1355	452	533	CTG-CCG	Leu-Pro	R & S	2,11	L-H	S&M	H	H	X
157	1355	452	533	CTG-CGG	Leu-Arg	R	0,02	U	S&M	L	ND	
158	1355- 1356	452	533	CTG-CCT	Leu-Pro	R	0,02	U	single	L	L	
159	1356	452	533	CTG-CTT	Leu-Leu	S	U	U	multiple	L	L	X
160	1357	453	534	GGG-CGG	Gly-Arg	R	0,02	U	multiple	L	L	X
161	1358	453	534	GGG-GAG	Gly-Glu	R	0,02	U	single	L	L	
162	1360	454	535	CCC-TCC	Pro-Ser	R	0,06	U	multiple	L	L	X

Fig. 9 (tiếp)

163	1361	454	535	CCC-CAC	Pro-His	R	0,04	U	multiple	L	L	
164	1370	457	538	CTG-CCG	Leu-Pro	R	0,02	U	multiple	L	L	
165	1372-1373	458	539	TCA-TTC	Ser-Phe	R	0,02	U	multiple	L	L	
166	1379	460	541	GAG-GGG	Glu-Gly	R	0,02	U	multiple	L	L	
167	1380	460	541	GAG-GAT	Glu-Asp	R	0,02	U	multiple	L	L	
168	1390	464	545	CTG-ATG	Leu-Met	R	0,11	U	multiple	M	M	X
169	1391	464	545	CTG-CCG	Leu-Pro	R	0,02	U	multiple	L	L	
170	1414	472	553	TCG-GCG	Ser-Ala	R	0,02	U	multiple	L	L	
171	1439	480	561	ATC-ACC	Ile-Thr	R	0,02	U	multiple	L	L	
172	1438	480	561	ATC-GTC	Ile-Val	R	0,16	U	multiple	M	M	X
173	1442	481	562	GAA-GGA	Glu-Gly	R	0,02	U	multiple	L	L	
174	1442	481	562	GAA-GCA	Glu-Ala	R	0,02	U	single	L	L	
175	1444	482	563	ACC-CCC	Thr-Pro	R	0,02	U	multiple	L	L	
176	1448	483	564	CCT-CTT	Pro-Leu	S	0,02	U	multiple	L	L	
177	1450-1452	484	565	GAC-CAG	Val-Gln	R	0,02	U	multiple	L	L	
178	1462	488	569	ATC-GTC	Ile-Val	R	0,02	U	multiple	L	L	
179	1468	490	571	CTG-GTG	Leu-Val	R	0,05	U	multiple	L	L	X
180	1471	491	572	ATC-CTC	Ile-Leu	R & S	0,05	L-H**	multiple	L	L	
181	1471	491	572	ATC-TTC	Ile-Phe	R & S	0,15	L-H	single	M	H	X
182	1471	491	572	ATC-GTC	Ile-Val	R	0,05	U	single	L	L	
183	1473	491	572	ATC-ATG	Ile-Met	R	0,05	U	S&M	L	L	X
184	1478	493	574	TCG-TTG	Ser-Leu	R	0,05	U	single	L	L	
185	1481	494	575	CTG-CCG	Leu-Arg	R	0,05	U	multiple	L	L	X
186	1508	503	584	TTC-TCC	Phe-Ser	R	0,73	U	single	M	M	X
187	1513	505	586	TTC-GTC	Phe-Val	R	0,36	U	multiple	M	M	X
188	1531	511	592	CGC-TGC	Arg-Cys	R	0,36	U	multiple	M	M	X
189	1563	521	602	GAG-GAC	Glu-Asp	R	0,36	U	multiple	M	M	X

Fig. 9 (tiếp)

190	1600	534	615	GTG-ATG	Val-Met	R	0,36	U	multiple	M	M	X
191	1621	541	622	CCG-GCG	Pro-Ala	R	0,36	U	multiple	M	M	X
192	1635	545	626	GAC-GAG	Asp-Glu	R	0,36	U	multiple	M	M	X
193	1654	552	633	CGC-TGC	Arg-Cys	R	0,36	U	multiple	M	M	X
194	1776	592	673	GAG-GAT	Glu-Asp	R	2,56	U	single	H	H	X
195	1276-1281	426-427	507-508	Delete GGCACC	Delete Gly Thr	R	0,02	U	single	L	L	
196	1282-1290	428-430	509-511	Delete AGCCAGCTG	Delete Ser Gln Leu	R	0,02	U	single	L	L	
197	1286-1294	429-432	510-513	Delete GCTGAGCCA	Gln510Gln and Delete 511 & 512 & 513	R	0,06	H	single	L	L	
198	1290-1293	431	512	Insert CGC	Insert Arg	R	U	U	single	U	L	X
199	1294-1296	431-432	512-513	Insert CAC	Insert His	R	0,02	U	single	L	ND	
200	1297-1299	432-433	513-514	Insert GCC	Insert Arg	R	0,04	U	single	L	L	
201	1294-1299	432-433	513-514	Delete CAATTC	Delete Gln Phe	R	0,02	H	single	L	L	
202	1294-1302	432-434	513-515	Delete CAATTCATG	Delete Gln Phe Met	R	0,02	H	single	L	L	
203	1231-1236	432-434	513-515	Repeat ATTTCAT	Add Ile Phe	R	0,02	U	single	L	ND	

Fig. 9 (tiếp)

204	1295-1303	432-435	513-516	Delete AATTCATGG	Gln513His& delete 514&515&516	R	0,12	H	single	M	M	X
205	1296-1304	432-435	513-516	Delete ATTCATGGA	Gln513His	R	0,02	H	single	L	ND	
206	1297-1299	433	514	Delete TTC	Delete Phe	R	0,04	U	single	L	L	
207	1297-1303	433-434	514-515	Delete TTCATG	Delete Phe Met	R	0,04	H	single	L	L	
208	1299-1302	433-434	514-515	Delete CAT	Change Phe- Leu	R	0,02	U	single	L	ND	
209	1300-1302	433-434	514-515	Insert CGG	Insert Arg	R	0,02	U	single	L	ND	
210	1304-1309	433-434	514-515	Repeat TTCATG	Add Phe Met	R	0,02	U	single	L	ND	
211	1297-1305	433-435	514-516	Delete TTTCATGGAC	Delete Phe Met Asp	R	0,02	H	single	L	ND	
212	1298-1303	433-435	514-516	Delete TCATGG	change 514 Tyr and lost 515 516	R	0,02	H	single	L	ND	
213	1300-1302	434	515	Delete ATG	Delete Met	R	0,41	U	single	M	M	X
214	1300-1302	434	515	Repeat 433 TTC	Add Phe	R	0,41	H	single	M	H	X
215	1300-1305	434-435	515-516	Delete TGG	Change 515 Asn and lost 516	R	0,02	H	single	L	ND	

Fig. 9 (tiếp)

216	1300-1308	434-436	515-517	Delete ATGGACCAG	Delete Met Asp Gln	R	0,04	H	single	L	L	
217	1300-1311	434-437	515-518	Delete ATGGACCAGAA C	Delete Met Asp Gln Asn	R	0,04	H	single	L	ND	
218	1303-1305	435	516	Delete GAC	Delete Asp	R	0,02	U	single	L	ND	
219	1303-1308	435-436	516-517	Delete GACCAG	Delete Asp Gln	R	0,06	H	single	L	ND	
220	1303-1308	435-436	516-517	Delete CCA	Change 516 Glu and lost 517	R	0,02	H	single	L	ND	
221	1303-1317	435-439	516-520	Delete GACCAGAACAA CCCCG	Delete Asp Gln Asn Asn Pro	R	0,02	H	single	L	L	
222	1306-1308	436	517	Delete CAG	Delete Gln	R	0,04	H	single	L	L	
223	1306-1311	436-437	517-518	Delete CAGAAC	Delete Gln Asn	R	0,04	H	single	L	ND	
224	1308-1313	436-437	517-519	Del GAACAA	Change Gln- His and del Asn Asn	R & S	0,02	U	single	L	ND	
225	1309-1311	437	518	Delete AAC	Delete Asn	R	0,1	H	single	M	M	X
226	1311-1313	437-438	518-519	Delete CAA	Delete Asn	R	0,02	U	single	L	L	
227	1312-1314	438	519	Delete AAC	Delete Asn	R	0,04	U	single	L	L	
228	1315-1317	439	520	Delete CCG	Delete Pro	R	0,02	U	single	L	L	

Fig. 9 (tiếp)

229	1330-1338	441-443	522-524	Repeat TCGGGGTTG	add Ser Gly Leu	R	0,02	U	single	L	L	
230	1321-1332	441-444	522-525	Delete TCGGGGTTGAC C	Delete Ser Gly Leu Thr	R	0,02	U	single	L	ND	
231	1333-1338	445-446	526-527	Delete CACAAAG	Delete His Lys	R	0,02	U	single	L	ND	
232	1336-1338	446	527	Delete AAG	Delete Lys	R	0,02	U	S&M	L	L	X
233	1350	450	531	Insert A and delete G	Ser-Ile	R	0,02	U	single	L	ND	

MTB: *Mycobacterium tuberculosis*; RMP: rifampicin

a) R: chủng kháng thuốc, S: chủng nhạy cảm; R & S: cả nhạy cảm và kháng thuốc

b) F: tần suất; *Trong số chủng kháng RMP mà không có đột biến trong vùng RRDR

c) Mức độ kháng RMP (nồng độ chuẩn: 1µg/ml đối với M7H10, M7H11 và môi trường lỏng; Dùng phương pháp MICs (xác định nồng độ ức chế tối thiểu) để xác định mức độ kháng, H: cao>20µg/ml, L: 0,25 < thấp < 1µg/ml, U: không rõ, L-H: từ thấp đến cao > 0,25 µg/ml, tùy thuộc vào kiểu đột biến); nồng độ chuẩn trên LJ: 40 µg/ml, 8<thấp<40 µg/ml, cao> 64 µg/ml, L-H > 8µg/ml); **: kết hợp với đột biến khác; L-H: chủng có kết quả MICs khác nhau đối với RMP.

d) Tính chất của đột biến (multiple: xuất hiện đồng thời với ít nhất một đột biến khác; S&M: xuất hiện đơn lẻ hoặc kết hợp với đột biến khác)

e) Mức độ của tần suất: L: thấp<0,1%; H: cao>1%; 0,1%<M: trung bình<1%; ND: chưa tìm thấy

f) X: chọn để thiết kế, tiêu chuẩn chọn: F≥0,1 và/hoặc xuất hiện trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia.

Fig. 9 (tiếp)

Bảng S1.2: Các đột biến xuất hiện đồng thời trên gen *rpoB* được tìm thấy trong những chủng kháng RMP trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia

STT	Hệ codon MTB	Hệ codon <i>E. coli</i>	Nucleotit đột biến	Axit amin đột biến	Chosen*
1	378 & 435	459 & 516	CTG-CGG & GAC-TAC	Leu-Arg & Asp-Tyr	X
2	378 & 445	459 & 526	CTG-CGG & CAC-TAC	Leu-Arg & His-Tyr	S
3	400 & 450	481 & 531	ACC-GCC & TCG-TTG	Thr-Ala & Ser-Leu	S
4	409 & 450	490 & 531	CAG-CGG & TCG-TTG	Gln-Arg & Ser-Leu	S
5	417 & 445	498 & 526	GTC-GCG & CAC-CGC	Val-Ala & His-Arg	S
6	417 & 435 & 445	498 & 516 & 526	GTC-GCG & GAC-GTC & CAC-CAG	Val-Ala & Asp-Val & His-Gln	S
7	419 & 426 & 437 & 457	500 & 507 & 518 & 538	GCC-GTC & GGC-GGT & AAC-TAC & CTG-CCG	Ala-Val & Gly-Gly & Asn-Tyr & Leu-Pro	Hiếm
8	421 & 445	502 & 526	ATC-GTC & CAC-GCC	Ile-Val & His-Ala	Hiếm
9	422 & 452	503 & 533	AAG-ACG & CTG-CCG	Lys-Thr & Leu-Pro	X
10	423 & 450	504 & 531	GAG-GCG & TCG-TTG	Glu-Ala & Ser-Leu	S
11	424 & 430 & 450	505 & 511 & 531	TTC-TTG & CTG-CCG & TCG-TGT	Phe-Leu & Leu-Pro & Ser-Cys	X
12	424 & 435	505 & 516	TTC-GTC & GAC-TAC	Phe-Val & Asp-Tyr	S
13	424 & 435 & 450	505 & 516 & 531	TTC-TTG & GAC-GTC & TCG-TTG	Phe-Leu & Asp-Val & Ser-Leu	S
14	424 & 441 & 445 & 450	505 & 522 & 526 & 531	TTC-TCC & TCG-CCG & CAC-CGC & TCG-TTG	Phe-Ser & Ser-Pro & His-Arg & Ser-Leu	S
15	425 & 426	506 & 507	TTC-TTT & GGC-GAC	Phe-Phe & Gly-Asp	Hiếm
16	426 & 427	507 & 508	GGC-AGC & ACC-CCC	Gly-Ser & Thr-Pro	Hiếm
17	426 & 427 & 442 & 445	507 & 508 & 523 & 526	GGC-GGT & GCG & CAC-CCG	& Thr-His & Gln-Ala & His-Arg	S
18	426 & 427 & 445 & 450	507 & 508 & 526 & 531	GGC-GGT & ACC-CAC & CAC-CAA & TCG-TTC	Gly-Gly & Thr-His & His-Gln & Ser-Phe	S
19	426 & 432 & 445 & 450	507 & 513 & 526 & 531	GGC-GAT & CAA-TAA & CAC-TAC & TCG-TTC	Gly-Asp & Gln-Stop & His-Tyr & Ser-Phe	S
20	426 & 442	507 & 523	GGC-GGT & GGG-GCG	Gly-Gly & Gly-Ala	S

Fig. 9 (tiếp)

Fig. 9 (tiếp)

21	426 & 450	507 & 531	GGC-GAC & TCG-TTG	Gly-Asp & Ser-Leu	S
22	427 & 431 & 445	508 & 512 & 526	ACC-AGC & AGC-AGG & CAC-GAC	Thr-Ser & Ser-Arg & His-Asp	S
23	427 & 435 & 445	508 & 516 & 526	ACC-CCC & GAC-CAC & CAC-CGC	Thr-Pro & Asp-His & His-Arg	S
24	427 & 442	508 & 523	ACC-GCC & GGG-GCG	Thr-Ala & Gly-Ala	S
25	427 & 450	508 & 531	ACC-GTC & TCG-TTG	Thr-Val & Ser-Leu	S
26	428 & 435	509 & 516	AGC-AAC & GAC-GTC	Ser-Asn & Asp-Val	S
27	428 & 445	509 & 526	AGC-AAC & CAC-GAC	Ser-Asn & His-Asp	S
28	428 & 445	509 & 526	AGC-AGG & CAC-CGC	Ser-Arg & His-Arg	S
29	428 & 445	509 & 526	AGC-AGG & CAC-TAC	Ser-Arg & His-Tyr	S
30	428 & 445	509 & 526	AGC-ATC & CAC-CTC	Ser-Ile & His-Leu	X
31	429 & 430	510 & 511	CAG-CAT & CTG-TTG	Gln-His & Leu-Leu	Hiếm
32	429 & 435	510 & 516	CAG-CAC & GAC-TAC	Gln-His & Asp-Tyr	X
33	429 & 445	510 & 526	CAG-CAT & CAC-TAC	Gln-His & His-Tyr	S
34	429 & 450	510 & 531	CAG-CAT & TCG-TGG	Gln-His & Ser-Trip	S
35	430 & 431	511 & 512	CTG-CCG & AGC-ACC	Leu-Pro & Ser-Thr	X
36	430 & 431	511 & 512	CTG-CCG & AGC-GGC	Leu-Pro & Ser-Gly	X
37	430 & 431 & 435	511 & 512 & 516	CTG-CCG & AGC-ACC & GAC-GTC	Leu-Pro & Ser-Thr & Asp-Val	S
38	430 & 431 & 445 & 451	511 & 512 & 526 & 532	CTG-ATG & AGC-AGG & CAC-GAC & GCG-GCA	Leu-Met & Ser-Arg & His-Asp & Ala-Ala	S
39	430 & 432	511 & 513	CTG-GTG & CAA-CTA	Leu-Val & Gln-Leu	S
40	430 & 432	511 & 513	CTG-CCG & CAA-CCA	Leu-Pro & Gln-Pro	S
41	430 & 432 & 438 & 445	511 & 513 & 519 & 526	CTG-GTG & CAA-GAA & AAC-AAG & CAC-CGC	Leu-Val & Gln-Glu & Asn-Lys & His-Arg	S
42	430 & 434	511 & 515	CTG-CCG & ATG-ATA	Leu-Pro & Met-Ile	X
43	430 & 434	511 & 515	CTG-CCG & ATG-GTG	Leu-Pro & Met-Val	S
44	430 & 434	511 & 515	CTG-CCG & ATG-CTG	Leu-Pro & Met-Leu	X

Fig. 9 (tiếp)

45	430 & 434	511 & 515	CTG-CCG & ATG-ATC	Leu-Arg & Met-Ile	S
46	430 & 434 & 437	511 & 515 & 518	CTG-CCG & ATG-GTG & AAC-AGC	Leu-Pro & Met-Val & Asn-Ser	X
47	430 & 435	511 & 516	CTG-CCG & GAC-AAC	Leu-Pro & Asp-Asn	X
48	430 & 435	511 & 516	CTG-CCG & GAC-GAG	Leu-Pro & Asp-Glu	S
49	430 & 435	511 & 516	CTG-CCG & GAC-GCC	Leu-Pro & Asp-Ala	S
50	430 & 435	511 & 516	CTG-CCG & GAC-GGC	Leu-Pro & Asp-Gly	S
51	430 & 435	511 & 516	CTG-CCG & GAC-GTC	Leu-Pro & Asp-Val	S
52	430 & 435	511 & 516	CTG-CCG & GAC-TAC	Leu-Pro & Asp-Tyr	S
53	430 & 435	511 & 516	CTG-CCG & GAC-TGC	Leu-Pro & Asp-Cys	X
54	430 & 435	511 & 516	CTG-CCG & GAC-GTC	Leu-Arg & Asp-Val	S
55	430 & 435	511 & 516	CTG-CCG & GAC-TAC	Leu-Arg & Asp-Tyr	X
56	430 & 437	511 & 518	CTG-TTG & AAC-ACC	Leu-Leu & Asn-Thr	Hiếm
57	430 & 437	511 & 518	CTG-GTG & AAC-ACC	Leu-Val & Asn-Thr	S
58	430 & 441	511 & 522	CTG-CCG & TCG-ACG	Leu-Pro & Ser-Pro	X
59	430 & 442	511 & 523	CTG-GTG & GGG-GCG	Leu-Val & Gly-Ala	S
60	430 & 442	511 & 523	CTG-CCG & GGG-GCG	Leu-Pro & Gly-Ala	S
61	430 & 445	511 & 526	CTG-CCG & CAC-AAC	Leu-Pro & His-Asn	S
62	430 & 445	511 & 526	CTG-CCG & CAC-CAA	Leu-Pro & His-Gln	S
63	430 & 445	511 & 526	CTG-CCG & CAC-CTC	Leu-Arg & His-Leu	X
64	430 & 445	511 & 526	CTG-TTG & CAC-CGC	Leu-Leu & His-Arg	S
65	430 & 450	511 & 531	CTG-CTA & TCG-TTG	Leu-Leu & Ser-Leu	S
66	430 & 450	511 & 531	CTG-TTG & TCG-TTG	Leu-Leu & Ser-Leu	S
67	431 & 432 & 445 & 450	512 & 513 & 526 & 531	AGC-GGC & CAA-AAT & CAC-TTC & TCG-TTG	Ser-Gly & Gln-Asn & His-Phe & Ser-Leu	S
68	431 & 435	512 & 516	AGC-ACC & GAC-GTC	Ser-Thr & Asp-Val	S
69	431 & 435	512 & 516	AGC-CGC & GAC-GTC	Ser-Arg & Asp-Val	S

Fig. 9 (tiếp)

70	431 & 435	512 & 516	AGC-ATC & GAC-GGC	Ser-Ile & Asp-Gly	S
71	431 & 435	512 & 516	AGC-GGG & GAC-GGC	Ser-Gly & Asp-Gly	S
72	431 & 450	512 & 531	AGC-TGC & TCG-TTG	Ser-Cys & Ser-Leu	S
73	432 & 445	513 & 526	CAA-AAA & CAC-GAC	Gln-Lys & His-Asp	S
74	432 & 445	513 & 526	CAA-AAA & CAC-TAC	Gln-Lys & His-Tyr	S
75	432 & 445	513 & 526	CAA-CAG & CAC-CGC	Gln-Gln & His-Arg	S
76	432 & 445	513 & 526	CAA-CTA & CAC-AAC	Gln-Leu & His-Asn	S
77	432 & 450	513 & 531	CAA-CTA & TCG-TTG	Gln-Leu & Ser-Leu	S
78	432 & 452	513 & 533	CAA-CAC & CTG-CCG	Gln-His & Leu-Pro	X
79	432 & 480	513 & 561	CAA-GAA & ATC-GTC	Gln-Glu & Ile-Val	S
80	432 & del 433-435	513 & del 514-516	CAA-CAC & Del TTCATGGAC	Gln-His & Delete Phe&Met&Asp	Hiếm
81	433 & 435	514 & 516	TTC-TTG & GAC-GTC	Phe-Leu & Asp-Val	X
82	433 & 435	514 & 516	TTC-CTC & GAC-GTC	Phe-Leu & Asp-Val	X
83	433 & 450	514 & 531	TTC-TTT & TCG-TTG	Phe-Phe & Ser-Leu	S
84	433 & 450	514 & 531	TTC-GTC & TCG-TTG	Phe-Val & Ser-Leu	S
85	434 & 435	515 & 516	ATG-ACG & GAC-TAC	Met-Thr & Asp-Tyr	X
86	434 & 435	515 & 516	ATG-ATC & GAC-TAC	Met-Ile & Asp-Tyr	S
87	434 & 435	515 & 516	ATG-ATT & GAC-TAC	Met-Ile & Asp-Tyr	S
88	434 & 445	515 & 526	ATG-CTG & CAC-AGC	Met-Leu & His-Ser	Hiếm
89	434 & 445 & 454	515 & 526 & 535	ATG-GTG & CAC-AAC & CCC-TCC	Met-Val & His-Asn & Pro-Ser	S
90	434 & 452	515 & 533	ATG-GTG & CTG-CCG	Met-Val & Leu-Pro	S
91	435 & 437	516 & 518	GAC-GTC & AAC-ACC	Asp-Val & Asn-Thr	X
92	435 & 437	516 & 518	GAC-TAC & AAC-CAC	Asp-Tyr & Asn-His	X
93	435 & 441	516 & 522	GAC-GAG & TCG-TTG	Asp-Glu & Ser-Leu	S
94	435 & 442	516 & 523	GAC-TAC & GGG-TGG	Asp-Tyr & Gly-Trp	X

Fig. 9 (tiếp)

95	435 & 442 & 444	516 & 523 & 525	GAC-TAC & GGG-TGG & ACC-ATC	Asp-Tyr & Gly-Trp & Thr-Ile	X
96	435 & 445	516 & 526	GAC-AAC & CAC-AAC	Asp-Asn & His-Asn	X
97	435 & 445	516 & 526	GAC-AAC & CAC-TGC	Asp-Asn & His-Cys	S
98	435 & 445	516 & 526	GAC-GAG & CAC-AAC	Asp-Glu & His-Asn	S
99	435 & 445	516 & 526	GAC-GCC & CAC-AAC	Asp-Ala & His-Asn	S
100	435 & 445	516 & 526	GAC-GCC & CAC-GAC	Asp-Ala & His-Asp	S
101	435 & 445	516 & 526	GAC-GTC & CAC-CAA	Asp-Val & His-Gln	S
102	435 & 445	516 & 526	GAC-GTC & CAC-TAC	Asp-Val & His-Tyr	S
103	435 & 445	516 & 526	GAC-TAC & CAC-AAC	Asp-Tyr & His-Asn	S
104	435 & 445	516 & 526	GAC-TAC & CAC-TAC	Asp-Tyr & His-Tyr	S
105	435 & 448	516 & 529	GAC-GGC & CGA-CAA	Asp-Gly & Arg-Gln	S
106	435 & 450	516 & 531	GAC-GTC & TCG-TTG	Asp-Val & Ser-Leu	S
107	435 & 450	516 & 531	GAC-TAC & TCG-TTG	Asp-Tyr & Ser-Leu	S
108	435 & 450 & 454	516 & 531 & 535	GAC-AAA & TCG-TTG & CCC-CAC	Asp-Lys & Ser-Leu & Pro-His	S
109	435 & 452	516 & 533	GAC-AAC & CTG-CCG	Asp-Asn & Leu-Pro	X
110	435 & 452	516 & 533	GAC-GAG & CTG-CCG	Asp-Glu & Leu-Pro	S
111	435 & 452	516 & 533	GAC-GCC & CTG-CCG	Asp-Ala & Leu-Pro	S
112	435 & 452	516 & 533	GAC-GGC & CTG-CCG	Asp-Gly & Leu-Pro	S
113	435 & 452	516 & 533	GAC-GTC & CTG-CCG	Asp-Val & Leu-Arg	S
114	435 & 452	516 & 533	GAC-TAC & CTG-CCG	Asp-Tyr & Leu-Pro	S
115	435 & 454	516 & 535	GAC-TAC & CCC-TCC	Asp-Tyr & Pro-Ser	X
116	435 & 490	516 & 571	GAC-TAC & CTG-GTG	Asp-Tyr & Leu-Val	X
117	435 & 491	516 & 572	GAC-GGC & ATC-CTC	Asp-Gly & Ile-Leu	S
118	435 & 491	516 & 572	GAC-TAC & ATC-ATG	Asp-Tyr & Ile-Met	X
119	435 & 494	516 & 575	GAC-TAC & CTG-CCG	Asp-Tyr & Leu-Arg	X

Fig. 9 (tiếp)

120	435 & 494	516 & 575	GAC-GTC & CTG-CCG	Asp-Val & Leu-Arg	S
121	435 & 505	516 & 586	GAC-GTC & TTC-GTC	Asp-Val & Phe-Val	S
122	435 & 441-443	516 & 522-524	GAC-GGC & repeat TCGGGGTTG	Asp-Gly & add Ser Gly Leu	S
123	437 & 447	518 & 528	AAC-ACC & CGC-CCC	Asn-Thr & Arg-Pro	Hiếm
124	437 & 450 & 451 & 452	518 & 531 & 532 & 533	AAC-CAC & TCG-TTG & GCG- GCA & CTG-CTT	Asn-His & Ser-Leu & Ala-Ala & Leu-Leu	X
125	437 & 452	518 & 533	AAC-GAC & CTG-CCG	Asn-Asp & Leu-Pro	X
126	438 & 441 & 450	519 & 522 & 531	Delete AAC & TCG-TTG & TCG- TTG	Delete Asn & Ser-Leu & Ser-leu	S
127	440 & 445	521 & 526	CTG-CTA & CAC-TAC	Leu-Leu & His-Tyr	S
128	440 & 446	521 & 527	CTG-CAG & AAG-AAT	Leu-Gln & Lys-Asn	Hiếm
129	441 & 445 & 446	522 & 526 & 527	TCG-TTG & CAC-CCC & AAG- CAG	Ser-Leu & His-Pro & Lys-Gln	X
130	441 & 450	522 & 531	TCG-CAG & TCG-GCG	Ser-Gln & Ser-Ala	S
131	441 & 450	522 & 531	TCG-TCC & TCG-TTG	Ser-Ser & Ser-Leu	S
132	442 & 445	523 & 526	GGG-GCG & CAC-AAC	Gly-Ala & His-Asn	S
133	442 & 450	523 & 531	GGG-GCG & TCG-TTG	Gly-Ala & Ser-Leu	S
134	443 & 444 & 445 & 446	524 & 525 & 526 & 527	TTG-TGG & ACC-CCC & CAC- CAG & Delete AAG	Leu-Trp & Thr-Pro & His-Gln & Delete Lys	X
135	444 & 445 & 446	525 & 526 & 527	ACC-ACG & CAC-TAC & AAG- CAG	Thr-Leu & His-Tyr & Lys-Gln	X
136	444 & 450	525 & 531	ACC-ACA & TCG-TTG	Thr-Thr & Ser-Leu	S
137	444 & 450	525 & 531	ACC-AAC & TCG-TGG	Thr-Asn & Ser-Trp	S
138	445 & 446	526 & 527	CAC-CCC & AAG-CAG	His-Pro & Lys-Gln	X
139	445 & 447	526 & 528	CAC-TAC & CGC-CAC	His-Tyr & Arg-His	X
140	445 & 447	526 & 528	CAC-TAC & CGC-CCC	His-Tyr & Arg-Pro	X
141	445 & 448	526 & 529	CAC-CGC & CGA-CAA	His-Arg & Arg-Gln	X
142	445 & 448	526 & 529	CAC-CGC & CGA-CTG	His-Arg & Arg-Leu	X
143	445 & 450	526 & 531	CAC-AAC & TCG-TGG	His-Asn & Ser-Trp	S

Fig. 9 (tiếp)

144	445 & 450	526 & 531	CAC-AAC & TCG-TTG	His-Asn & Ser-Leu	S
145	445 & 450	526 & 531	CAC-CAA & TCG-TGT	His-Gln & Ser-Cys	S
146	445 & 450	526 & 531	CAC-CGC & TCG-GGG	His-Arg & Ser-Gly	S
147	445 & 450	526 & 531	CAC-CGC & TCG-TTG	His-Arg & Ser-Leu	S
148	445 & 450	526 & 531	CAC-CTC & TCG-TGG	His-Leu & Ser-Trp	S
149	445 & 450	526 & 531	CAC-CTC & TCG-TTG	His-Leu & Ser-Leu	S
150	445 & 450	526 & 531	CAC-GAC & TCG-TTG	His-Asp & Ser-Leu	S
151	445 & 450	526 & 531	CAC-TAC & TCG-TTG	His-Tyr & Ser-Leu	S
152	445 & 450	526 & 531	CAC-TGC & TCG-TTG	His-Cys & Ser-Leu	S
153	445 & 452	526 & 533	CAC-AAC & CTG-CCG	His-Asn & Leu-Pro	S
154	445 & 452	526 & 533	CAC-CAG & CTG-CCG	His-Gln & Leu-Pro	S
155	445 & 453	526 & 534	CAC-AAC & GGG-CGG	His-Asn & Gly-Arg	X
156	445 & 454	526 & 535	CAC-AGC & CCC-CAC	His-Ser & Pro -His	Hiếm
157	445 & 460	526 & 541	CAC-TAC & GAG-GGG	His-Tyr & Glu-Gly	S
158	445 & 460 & 472	526 & 541 & 553	CAC-GAC & GAG-GAT & TCG-GCG	His-Asp & Glu-Asp & Ser-Ala	S
159	445 & 482	526 & 563	CAC-TGC & ACC-CCC	His-Cys & Thr-Pro	S
160	447 & 450	528 & 531	CGC-CGT & TCG-TTG	Arg-Arg & Ser-Leu	X
161	447 & 450	528 & 531	CGC-CAC & TCG-TGG	Arg-His & Ser-Trp	X
162	449 & 450	530 & 531	CTG-ATC & TCG-TTC	Leu-Ile & Ser-Phe	X
163	450 & 464	531 & 545	TCG-GCG & CTG-ATG	Ser-Ala & Leu-Met	X
164	450 & 467	531 & 548	TCG-TTG & TTC-TCC	Ser-Leu & Phe-Ser	S
165	450 & 480	531 & 561	TCG-TTG & ATC-ACC	Ser-Leu & Ile-Thr	S
166	450 & 480	531 & 561	TCG-TTG & ATC-GTC	Ser-Leu & Ile-Val	S
167	450 & 488	531 & 569	TCG-TTG & ATC-GTC	Ser-Leu & Ile-Val	S
168	450 & 534 & 545	531 & 615 & 626	TCG-TTG & GTG-ATG & GAC-GAG	Ser-Leu & Val-Met & Asp-Glu	S

Fig. 9 (tiếp)

169	450 & 541	531 & 622	TCG-TTG & TCG-GCG	Ser-Leu & Ser-Ala	S
170	450 & 552	531 & 633	TCG-TTG & CGC-TGC	Ser-Leu & Arg-Cys	S
171	450 & 592	531 & 673	TCG-TGG & GAG-GAT	Ser-Trp & Glu-Asp	S
172	481 & 483	562 & 564	GAA-GGA & CCT-CTT	Glu-Gly & Pro-Leu	Hiếm

*X: chọn để thiết kế nhiều mẫu dò phát hiện nhiều đột biến cùng lúc; tiêu chuẩn chọn: $F \geq 0,1$ (hiển thị trong danh sách tất cả các đột biến) và/hoặc xuất hiện ở Việt Nam, Lào và Campuchia; Hiếm: không chọn vì tần suất rất thấp

S: mẫu dò có một đột biến (hiển thị trong danh sách tất cả các đột biến và đã được thiết kế mẫu dò)

Fig. 9 (tiếp)

Bảng S1.3: Đột biến trên gen *kafG* được tìm thấy trong những chủng kháng INH trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia

STT	Vị trí đột biến (MTB)	Vị trí codon đột biến (MTB)	Nucleotit đột biến	Axit amin đột biến	Chủng (a)	F % (b)	Mức độ kháng INH (c)	Mức tần suất trên thế giới (d)	Mức tần suất ở Đông & Đông Nam Á (d)	Chọn (e)
1	143	48	CTG-CAG	Leu-Gln	R	0,023	U	L	ND	
2	190	64	GGC-TGC	Gly-Cys	R	0,023	U	L	ND	
3	203	68	GTC-GGC	Val-Gly	R	0,023	U	L	ND	
4	212	71	GAC-GGC	Asp-Gly	R	0,023	U	L	ND	
5	221	74	GAC-GGC	Asp-Gly	R	0,023	U	L	ND	
6	220	74	GAC-TAC	Asp-Tyr	R	0,023	U	L	ND	
7	252	84	ATG-ATA	Met-Ile	R	0,023	U	L	ND	
8	269	90	TGG-TAG	Trp-Stop	R	0,046	U	L	ND	
9	271	91	TGG-CGG	Trp-Arg	R	0,07	U	L	ND	
10	281	94	GAC-GCC	Asp-Ala	R	0,046	U	L	ND	
11	290	97	CAC-CGC	His-Arg	R	0,023	U	L	ND	
12	302	101	CTG-CCG	Leu-Pro	R	0,023	U	L	ND	
13	326	109	GCT-GTT	Ala-Val	R	0,023	U	L	ND	
14	329	110	GCC-GTC	Ala-Val	R	0,25	U	L	ND	
15	362	121	GGC-GTC	Gly-Val	R	0,023	U	L	ND	
16	373	125	GGC-TGC	Gly-Cys	R	0,023	U	L	ND	
17	378	126	ATG-ATA	Met-Ile	R	0,023	U	L	ND	
18	380	127	CAG-CCG	Gln-Pro	R	0,023	U	L	ND	
19	383	128	CGG-CAG	Arg-Gln	R	0,046	U	L	ND	
20	392	131	CCG-CAG	Pro-Gln	R	0,023	U	L	ND	
21	392	131	CCG-CGG	Pro-Arg	R	0,023	U	L	ND	
22	413	138	AAC-AGC	Asn-Ser	R	0,046	U	L	ND	

Fig. 9 (tiếp)

23	412	138	AAC-CAC	Asn-His	R	0,023	U	L	ND	
24	419	140	AGC-AAC	Ser-Asn	R	0,023	U	L	ND	
25	423	141	TTG-TTC	Leu-Phe	R	0,07	U	L	ND	
26	425	142	GAC-GCC	Asp-Ala	R	0,023	U	L	ND	
27	431	144	GCG-GTG	Ala-Val	R	0,023	U	L	ND	
28	464	155	TAC-TGC	Tyr-Cys	R	0,07	U	L	ND	
29	464	155	TAC-TCC	Tyr-Ser	R	0,023	U	L	ND	
30	479	160	TCA-TTA	Ser-Leu	R	0,023	U	L	ND	
31	515	172	GCG-GTG	Ala-Val	R	0,023	U	L	ND	
32	514	172	GCG-ACG	Ala-Thr	R	0,023	U	L	ND	
33	528	176	ATG-ATA	Met-Ile	R	0,07	U	L	ND	
34	539	180	ACG-AAG	Thr-Cys	R	0,023	U	L	ND	
35	556-557	186	GGC-CAC	Gly-His	R	0,023	U	L	ND	
36	557	186	GGC-GTC	Gly-Val	R	0,023	U	L	ND	
37	571	191	TGG-CGG	Trp-Arg	R	0,023	U	L	ND	
38	573	191	TGG-TGA	Trp-Stop	R	0,023	U	L	ND	
39	580	194	GAT-TAT	Asp-Tyr	R	0,023	U	L	ND	
40	598	200	AAG-TAG	Lys-Glu	R	0,046	U	L	ND	
41	654	218	AAC-AAA	Asn-Lys	R	0,09	U	L	ND	
42	689	230	GTG-GCG	Val-Ala	R	0,023	U	L	ND	
43	694	232	CCG-GCG	Pro-Ala	R	U	U	L	M	X
44	695	232	CCG-CGG	Pro-Arg	R	0,023	U	L	ND	
45	700	234	GGG-AGG	Gly-Arg	R	0,07	U	L	ND	
46	707	236	AAC-ACC	Asn-Thr	R	0,023	U	L	ND	
47	725	242	GCG-GGG	Ala-Gly	R	0,023	U	L	ND	
48	745	249	CGC-TGC	Arg-Cys	R	0,046	U	L	ND	
49	761	254	CGC-CTC	Arg-Leu	R	0,023	U	L	ND	
50	766	256	GCC-ACC	Ala-Thr	R	0,023	U	L	ND	

Fig. 9 (tiếp)

51	770	257	ATG-ACG	Met-Thr	R	0,046	U	L	ND	
52	771	257	ATG-ATT	Met-Ile	R	0,023	U	L	ND	
53	773	258	AAC-AGC	Asn-Ser	R	0,023	U	L	ND	
54	777	259	GAC-GAA	Asp-Glu	R	0,023	U	L	ND	
55	781	261	GAA-CAA	Glu-Gln	R	0,023	U	L	ND	
56	781	261	GAA-AAA	Glu-Lys	R	0,023	U	L	ND	
57	790	264	GCG-ACG	Ala-Thr	R	0,023	U	L	ND	
58	805	269	GGT-AGT	Gly-Ser	R	0,023	U	L	ND	
59	811	271	ACT-CCT	Thr-Pro	R	0,046	U	L	ND	
60	817	273	GGT-AGT	Gly-Ser	R	0,023	U	L	ND	
61	817	273	GGT-TGT	Gly-Cys	R	0,023	U	L	ND	
62	823	275	ACC-CCC	Thr-Pro	R	0,023	U	L	ND	
63	823	275	ACC-TCC	Thr-Ser	R	0,023	U	L	ND	
64	823	275	ACC-GCC	Thr-Ala	R	0,023	U	L	ND	
65	835	279	GGC-CGC	Gly-Arg	R	0,023	U	L	ND	
66	835-836	279	GGC-ACC	Gly-Thr	R	0,07	U	L	ND	
67	835-836	279	GGC-ATC	Gly-Ile	R	0,023	U	L	ND	
68	836	279	GGC-GAC	Gly-Asp	R	0,023	U	L	ND	
69	838	280	CCG-TCG	Pro-Ser	R	0,023	U	L	ND	
70	853	285	GGC-TGC	Gly-Ser	R	U	U	L	L	X
71	854	285	GGC-GAC	Gly-Asp	R	0,023	U	L	ND	
72	866	289	GAG-GCG	Glu-Ala	R	0,046	U	L	ND	
73	867	289	GAG-GAC	Glu-Asp	R	0,023	U	L	ND	
74	871	291	GCT-ACT	Ala-Thr	R	0,023	U	L	ND	
75	877	293	GCT-ACT	Ala-Thr	R	0,023	U	L	ND	
76	877	293	GCT-GGT	Leu-Val	R	0,023	U	L	ND	
77	883	295	CAG-AAG	Gln-Lys	R	0,023	U	L	ND	
78	884	295	CAG-CCG	Gln-Pro	R	0,09	U	L	ND	

Fig. 9 (tiếp)

79	887	296	ATG-ACG	Met-Thr	R	0,023	U	L	ND	
80	887	296	ATG-GTG	Met-Val	R	0,023	U	L	ND	
81	890	297	GGC-GTC	Gly-Val	R	0,023	U	L	ND	
82	895	299	GGC-TGC	Gly-Cys	R	0,07	U	L	ND	
83	895	299	GGC-AGC	Gly-Ser	R	0,14	U	M	ND	X
84	898	300	TGG-CGG	Trp-Arg	R	0,023	U	L	ND	
85	898	300	TGG-GGG	Trp-Gly	R	0,023	U	L	ND	
86	904 & 906	302	AGC-CGG	Ser-Arg	R	0,023	U	L	ND	
87	906	302	AGC-AGG	Ser-Arg	R	0,023	U	L	ND	
88	920	307	GGA-GAA	Gly-Glu	R	0,023	U	L	ND	
89	932	311	GAC-GGC	Asp-Gly	R	0,023	U	L	ND	
90	943	315	AGC-CGC	Ser-Arg	R	0,09	U	L	ND	
91	943	315	AGC-GGC	Ser-Gly	R	0,09	U	L	ND	
92	944	315	AGC-AAC	Ser-Asn	R	2,38	H	H	H	X
93	944	315	AGC-ACC	Ser-Thr	R	65,05	H	H	H	X
94	944	315	AGC-ATC	Ser-Ile	R	0,42	H	M	ND	X
95	944-945	315	AGC-ACA	Ser-Thr	R	0,74	H	M	ND	X
96	944-945	315	AGC-ACG	Ser-Thr	R	0,09	H	M	ND	X
97	944-945	315	AGC-ACT	Ser-Thr	R	0,16	H	M	ND	X
98	945	315	AGC-AGA	Ser-Arg	R	0,11	H	M	ND	X
99	945	315	AGC-AGG	Ser-Arg	R	0,04	U	L	ND	
100	949	317	ATC-CTC	Ile-Leu	R	0,04	U	L	ND	
101	949	317	ATC-GTC	Ile-Val	R	0,04	U	L	ND	
102	961	321	TGG-CGG	Trp-Arg	R	0,07	U	L	ND	
103	964	322	ACG-GCG	Thr-Ala	R	0,02	U	L	ND	
104	970	324	ACC-CCC	Thr-Pro	R	0,02	U	L	ND	
105	974	325	CCG-CTG	Pro-Leu	R	U	U	L	M	X
106	977	326	ACG-ATG	Thr-Met	R	0,02	U	L	ND	

Fig. 9 (tiếp)

107	981	327	AAA-AAG	Lys-Lys	R	0,04	U	L	ND	
108	982	328	TGG-GGG	Trp-Gly	R	0,023	U	L	ND	
109	983	328	TGG-TTG	Trp-Leu	R	0,023	U	L	ND	
110	983	328	TGG-TAG	Trp-Stop	R	0,023	U	L	ND	
111	983-984	328	TGG-TTT	Trp-Phe	R	0,023	U	L	ND	
112	984	328	TGG-TGC	Trp-Cys	R	0,023	U	L	ND	
113	986	329	GAC-GCC	Asp-Ala	R	0,046	U	L	ND	
114	1003	335	ATC-GTC	Ile-Val	R	0,046	U	L	ND	
115	1007	336	CTG-CCG	Leu-Pro	R	0,023	U	L	ND	
116	1010	337	TAC-TGC	Tyr-Cys	R	0,046	U	L	ND	
117	1021	341	TGG-GGG	Trp-Gly	R	0,046	U	L	ND	
118	1022	341	TGG-TCG	Trp-Ser	R	0,023	U	L	ND	
119	1094	365	CCG-CTG	Pro-Leu	R	0,023	U	L	ND	
120	1135	379	GCC-ACC	Ala-Thr	R	0,023	U	L	ND	
121	1139	380	ACT-ATT	Thr-Ile	R	0,07	U	L	ND	
122	1180	394	ACG-GCG	Thr-Ala	R	0,023	U	L	ND	
123	1190-1191	397	TGG-TAC	Trp-Tyr	R	0,023	U	L	ND	
124	1226	409	GCC-GAC	Ala-Asp	R	0,046	U	L	ND	
125	1226	409	GCC-GTC	Ala-Val	R	0,023	U	L	ND	
126	1255	419	GAC-CAC	Asp-His	R	0,023	U	L	ND	
127	1255	419	GAC-TAC	Asp-Tyr	R	0,023	U	L	ND	
128	1256	419	GAC-GCC	Asp-Ala	R	0,046	U	L	ND	
129	1257	419	GAC-GAA	Asp-Glu	R	0,023	U	L	ND	
130	1282	428	GGG-AGG	Gly-Arg	R	0,023	U	L	ND	
131	1300	434	CAG-TAG	Gln-Stop	R	0,023	U	L	ND	
132	1304	435	ACC-ATC	Thr-Ile	R	0,023	U	L	ND	
133	1312	438	TGG-CCG	Trp-Arg	R	0,023	U	L	ND	
134	1316	439	CAG-CCG	Gln-Pro	R	U	U	L	L	X

Fig. 9 (tiếp)

135	1360	454	GAG-TAG	Glu-Stop	R	0,023	U	L	ND	
136	1375	459	AAG-TAG	Lys-Stop	R	0,023	U	L	ND	
137	1369-1370	457	AGC-TTC	Ser-Phe	R	0,023	U	L	ND	
138	1382	461	CAG-CCG	Gln-Pro	R	0,023	U	L	ND	
139	1390	464	GCA-TCA	Ala-Ser	R	0,023	U	L	ND	
140	1417	473	GTT-TTT	Val-Phe	R	0,023	U	L	ND	
141	1412	471	CAG-CGG	Gln-Arg	R	0,023	U	L	ND	
142	1431	477	TGG-TGA	Trp-Stop	R	0,023	U	L	ND	
143	1454	485	GGT-GTT	Gly-Val	R	0,023	U	L	ND	
144	1468	490	GGC-AGC	Gly-Ser	R	0,023	U	L	ND	
145	1471	491	GGC-TGC	Gly-Cys	R	0,046	U	L	ND	
146	1477	493	AAC-CAC	Asn-His	R	0,023	U	L	ND	
147	1481	494	GGT-GAT	Gly-Asp	R	0,046	U	L	ND	
148	1487	496	CGC-CTC	Arg-Leu	R	0,023	U	L	ND	
149	1492	498	GCC-CCC	Ala-Pro	R	0,046	U	L	ND	
150	1543	515	CGC-TGC	Arg-Cys	R	0,023	U	L	ND	
151	1543-1544	515	CGC-TAC	Arg-Tyr	R	0,023	U	L	ND	
152	1585	529	AAC-GAC	Asn-Asp	R	0,023	U	L	ND	
153	1657	553	GAG-AAG	Glu-Lys	R	0,023	U	L	ND	
154	1700	567	TTC-TCC	Phe-Ser	R	0,023	U	L	ND	
155	1699	567	TTC-GTC	Phe-Val	R	0,023	U	L	ND	
156	1778	593	GGC-GAC	Gly-Asp	R	0,023	U	L	ND	
157	1785	595	CGA-TGA	Arg-Stop	R	0,023	U	L	ND	
158	1985	662	CTC-CGC	Leu-Arg	R	0,023	U	L	ND	
159	2053	685	GGC-CGC	Gly-Arg	R	0,023	U	L	ND	
160	2123	708	GTC-GCC	Val-Pro	R	0,023	U	L	ND	
161	2129	710	GTC-GCC	Val-Ala	R	0,023	U	L	ND	
162	2176	726	GCT-ACT	Ala-Thr	R	0,023	U	L	ND	

Fig. 9 (tiếp)

163	2180	727	GCC-GAC	Ala-Asp	R	0,023	U	L	ND	
164	51	17	Insert A	frameshift	R	0,023	U	L	ND	
165	135	46	Insert T	frameshift	R	0,023	U	L	ND	
166	372	124	Insert G	frameshift	R	0,023	U	L	ND	
167	900-901	300 & 301	Insert G	frameshift	R	0,023	U	L	ND	
168	987	329	Insert G	frameshift	R	0,02	U	L	ND	
169	1170	390	Insert CTA	Insert Leu	R	0,046	U	L	ND	
170	1311	437	Insert T	frameshift	R	0,046	U	L	ND	
171	1329	443	Insert A	frameshift	R	0,046	U	L	ND	
172	1522-1534	507-512	Repeat nucleotides 1534-1575	Repeat 42bp - frameshift	R	0,023	U	L	ND	
173	1559	520	Insert 64 bp TGCAGCCACAAAGTC GGGTGGGAGGTCAA CGACCCCGACGGGG ATCTGCGCAAAGGTCA TTCGCAC	frameshift	R	0,023	U	L	ND	
174	Delete whole gene	Delete whole gene	Delete whole gene	Delete whole gene	R	0,28	U	M	M	X
175	85-1059	29-353	Delete 324 codons	Delete 324 codons	R	0,023	U	L	ND	
176	364-375	122-125	Delete GCCGGGGCGGCGC	Delete AlaGlyGlyGly	R	0,023	U	L	ND	
177	572	191	Delete G	frameshift	R	0,16	U	M	ND	X
178	803	268	Delete G	frameshift	R	0,046	U	L	ND	
179	1037	346	Delete G	frameshift	R	0,023	U	L	ND	

Fig. 9 (tiếp)

180	1339	447	Delete C	frameshift	R	0,023	U	L	ND	
181	1438-1440	480	Delete CGC	Deletion Arg	R	U	U	L	M	X
182	1559	520	Delete G	frameshift	R	0,023	U	L	ND	
183	2193	731	Delete C	frameshift	R	0,023	U	L	ND	

MTB: *Mycobacterium tuberculosis*; INH: isoniazid

- a) R: Chủng kháng thuốc, S: chủng nhạy cảm; R & S: cả kháng và nhạy
b) F: tần suất trên toàn thể giới; U: không rõ
c) Mức độ kháng INH (H: cao $\geq 1 \mu\text{g/ml}$, L: thấp $< 0,1 \mu\text{g/ml}$, 0,1 $\mu\text{g/ml}$ < L-H: thấp-cao $< 1 \mu\text{g/ml}$; U: không rõ
d) Mức độ tần suất: L: thấp $< 0,1\%$, H: cao $> 1\%$; 0,1% < M: trung bình $< 1\%$; ND: chưa tìm thấy
e) X: chọn để thiết kế mẫu dò; tiêu chuẩn chọn: $F \geq 0,1$ và/hoặc xuất hiện ở quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia.

Fig. 9 (tiếp)

Bảng S1.4: Đột biến trên gen *inhA* được tìm thấy trong những chủng kháng INH trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia

STT	Vị trí đột biến (MTB)	Codon đột biến (MTB)	Nucleotit đột biến	Axit amin đột biến	Chủng (a)	F% (b)	Mức độ kháng INH (c)	Mức tần suất trên thế giới (d)	Mức tần suất ở Đông & Đông Nam Á (d)	Chọn (e)
1	-5	NA	T-A	NA	R	0,03	L	L	ND	
2	-8	NA	T-A	NA	R & S	0,2	L	M	ND	X
3	-8	NA	T-C	NA	R	0,76	L	M	H	X
4	-14	NA	G-A	NA	R	0,03	L	L	ND	
5	-15	NA	C-T	NA	R	18,2	L	H	H	X
6	-17	NA	G-T	NA	R & S	0,2	L	M	ND	X
7	-22	NA	G-C	NA	R	0,03	L	L	ND	
8	-24	NA	C-T	NA	R	0,03	L	L	ND	
9	-39	NA	C-T	NA	R	0,03	L	L	ND	
10	-47	NA	G-C	NA	R	0,07	L	L	ND	
11	-102	NA	G-A	NA	R	0,1	L	M	ND	X
12	-113	NA	A-C	NA	R	0,03	L	L	ND	
13	47	16	ATC-ACC	Ile-Thr	R	0,08	L	L	ND	
14	61	21	ATC-GTC	Ile-Val	R & S	0,23	L	M	H	X
15	62	21	ATC-ACC	Ile-Thr	R	0,78	L	M	ND	X
16	74	25	ATC-ACC	Ile-Thr	R	0,15	L	M	ND	X
17	140	47	ATT-ACT	Ile-Thr	R	0,08	L	L	ND	
18	233	78	GTG-GCG	Val-Ala	R	0,08	L	L	ND	
19	280	94	TCG-GCG	Ser-Ala	R	0,78	L	M	H	X
20	280-281	94	TCG-AGG	Ser-Arg	R	0,08	L	L	ND	
21	283	95	ATT-GTT	Ile-Val	R	U	L	L	ND	X
22	283-284	95	ATT-CCT	Ile-Pro	R	0,08	L	L	ND	
23	284	95	ATT-ACT	Ile-Thr	R	0,08	L	L	ND	
24	581	194	ATC-ACC	Ile-Thr	R	0,15	L	M	M	X
25	722	241	ACG-ATG	Thr-Met	R	0,08	L	L	ND	

26	773	258	ATC-ACC	Ile-Thr	R	0,15	L	M	ND	X
----	-----	-----	---------	---------	---	------	---	---	----	---

MTB: *Mycobacterium tuberculosis*; INH: isoniazid; NA: not available

- a) R: Chứng kháng thuốc, S: chứng nhạy cảm; R & S: cả kháng và nhạy
 b) F: tần suất trên toàn thế giới; U: không rõ
 c) Mức độ kháng INH (H: cao $\geq 1 \mu\text{g/ml}$, L: thấp $< 0,1 \mu\text{g/ml}$, $0,1 \mu\text{g/ml} < \text{L-H}$: thấp-cao $< 1 \mu\text{g/ml}$; U: không rõ
 d) Mức độ tần suất: L: thấp $< 0,1\%$; H: cao $> 1\%$; $0,1\% < \text{M}$: trung bình $< 1\%$; ND: chưa tìm thấy
 e) X: chọn để thiết kế mẫu dò; tiêu chuẩn chọn: $F \geq 0,1$ và/hoặc xuất hiện ở quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia.

Fig. 9 (tiếp)

Bảng S1.5: Đột biến trên gen *rpsL* được tìm thấy trong những chủng kháng SM trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia

STT	Vị trí đột biến (MTB)	Vị trí codon đột biến (MTB)	Nucleotit đột biến	Axit amin đột biến	Chủng (a)	F% (b)	Mức độ kháng SM (c)	Mức tần suất trên thế giới (d)	Mức tần suất ở Đông và Đông Nam Á (d)	Chon (e)
1	23	9	CGC-CAC	Arg-His	R	0,09	U	L	ND	
2	119	40	ACC-ATC	Thr-Ile	R	0,38	U	M	ND	
3	122	41	ACT-AGT	Thr-Ser	R	0,09	U	L	ND	
4	128	43	AAG-AGG	Lys-Arg	R	42,5	H	H	H	X
5	128	43	AAG-ACG	Lys-Thr	R	0,09	U	L	ND	
6	211	71	GGC-AGC	Gly-Ser	R	0,09	U	L	ND	
7	263	88	AAG-ACG	Lys-Thr	R	0,09	U	L	M	X
8	263	88	AAG-AGG	Lys-Arg	R	7,7	H	H	H	X
9	263	88	AAG-ATG	Lys-Met	R	U	U	L	H	X
10	262	88	AAG-CAG	Lys-Gln	R	0,77	U	M	ND	X
11	263	88	AAG-ATG	Lys-Gln	R	0,38	U	M	ND	
12	277	93	GTG-ATG	Val-Met	R	0,09	U	L	ND	

MTB: *Mycobacterium tuberculosis*; SM: streptomycin

a) R: chủng kháng thuốc, S: chủng nhạy cảm; R & S: cả chủng kháng và nhạy

b) F: tần suất phát hiện trên thế giới

c) Mức độ kháng SM (H: cao, U: không rõ)

d) Mức độ tần suất: L: thấp <0,1%; H: cao > 1%; 0,1%<M: trung bình<1%; ND: chưa tìm thấy

e) X: chọn để thiết kế mẫu dò; tiêu chuẩn chọn: F≥0,5 và/hoặc xuất hiện trên quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia.

Fig. 9 (tiếp)

Bảng S1.6: Đột biến trên gen *rrs* được tìm thấy trong những chủng kháng SM trên thế giới và quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia

STT	Vị trí đột biến (MTB)	Vị trí codon đột biến (MTB)	Nucleotit đột biến	Axit amin đột biến	Chủng (a)	F% (b)	Mức độ kháng SM (c)	Mức tần suất trên thế giới (d)	Mức tần suất ở Đông & Đông Nam Á (d)	Chon (e)
1	15	NA	T-C	NA	R	0,11	L	M	ND	
2	189	NA	G-A	NA	R	0,11	L	M	ND	
3	277	NA	G-C	NA	R	0,11	L	M	ND	
4	426	NA	G-T	NA	R	0,11	L	M	ND	
5	461	NA	C-T	NA	R & S	0,34	L	M	ND	
6	464	NA	A-C	NA	R	0,11	L	M	ND	
7	483	NA	A-T	NA	R	0,22	L	M	ND	
8	485	NA	A-G	NA	R	0,22	L	M	ND	
10	496	NA	G-A	NA	R	0,22	L	M	ND	
11	513	NA	C-T	NA	R	0,44	L	M	M	X
12	514	NA	A-C	NA	R	6,32	L	H	M	X
13	514	NA	A-T	NA	R	0,77	L	M	M	X
14	517	NA	C-T	NA	R	4,20	L	H	H	X
15	627	NA	G-C	NA	R	0,11	L	M	ND	
16	645	NA	Delete A	NA	R	0,22	L	M	ND	
18	798	NA	C-T	NA	R	0,11	L	M	ND	
19	861	NA	A-G	NA	R	0,11	L	M	ND	
20	870	NA	C-T	NA	R	0,34	L	M	ND	
2	878	NA	G-A	NA	R	0,34	L	M	H	X
22	904	NA	T-G	NA	R	0,22	L	M	ND	
23	905	NA	C-G	NA	R	0,22	L	M	M	X
24	906	NA	A-G	NA	R	0,34	L	M	ND	

47/59

Fig. 9 (tiếp)

25	906	NA	A-C	NA	R	0,34	L	M	ND	
26	907	NA	A-C	NA	R	0,34	L	M	ND	
27	907	NA	A-T	NA	R	0,72	L	M	ND	X
28	907-908	NA	Insert T	NA	R	0,11	L	M	ND	
29	908	NA	A-T	NA	R	0,34	L	M	ND	
30	908	NA	A-G	NA	R	0,11	L	M	M	X
31	908	NA	A-C	NA	R	0,34	L	M	H	X
32	1061-1062	NA	Insert C	NA	R	0,11	L	M	ND	
33	1229	NA	C-T	NA	R	0,11	L	M	ND	

MTB: *Mycobacterium tuberculosis*; SM: streptomycin

- a) R: chủng kháng thuốc, S: chủng nhạy cảm; R & S: cả kháng thuốc và nhạy cảm
b) F: tần suất phát hiện trên thế giới
c) Mức độ kháng SM (H: cao; U: không rõ)
d) Mức độ tần suất: L: thấp <0,1%; H: cao > 1%; 0,1%<M: trung bình<1%; ND: chưa tìm thấy
e) X: chọn để thiết kế mẫu dò; tiêu chuẩn chọn: $F \geq 0,5$ và/hoặc xuất hiện ở quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia.

Fig. 9 (tiếp)

Bảng S1.7: Đột biến trên gen *embB* được tìm thấy trong những chủng kháng EMB trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia.

STT	Vị trí đột biến (MTB)	Vị trí codon đột biến (MTB)	Nucleotit đột biến	Axit amin đột biến	Chủng (a)	F% (b)	Mức độ kháng EMB (c)	Mức tần suất trên thế giới (d)	Mức độ suất ở Đông & Đông Nam Á (d)	Chọn (e)
1	886	296	AAT-TAT	Asn-Tyr	R	0,07	U	L	ND	
2	888	296	AAT-AAA	Asn-Lys	R	0,22	U	M	ND	
3	889	297	TCG-GCG	Ser-Ala	R & S	0,15	U	M	ND	
4	890	297	TCG-TTG	Ser-Leu	R	0,07	U	L	ND	
5	893	298	TCG-TGG	Ser-Trp	R	0,07	U	L	ND	
6	897	299	CAC-GAA	Asp-Glu	R	0,75	U	M	ND	X
7	909	303	ATC-ATT	Ile-Ile	R	0,15	U	M	ND	
8	910-911	304	CTG-TGG	Leu-Trp	R	0,07	U	L	ND	
9	916	306	ATG-TTG	Met-Leu	R & S	0,45	U	M	ND	
10	916	306	ATG-GTG	Met-Val	R & S	27,8	H	H	H	X
11	916	306	ATG-CTG	Met-Leu	R & S	1,64	L&H	H	M	X
12	918	306	ATG-ATT	Met-Ile	R & S	1,35	L&H	H	M	X
13	918	306	ATG-ATA	Met-Ile	R & S	16,07	L&H	H	H	X
14	918	306	ATG-ATC	Met-Ile	R & S	3,74	L&H	H	H	X
15	926-927	309	GTG-GGC	Val-Gly	R	0,07	U	L	ND	
16	928-930	310	GCG-CGT	Asp-Arg	R	0,07	U	L	ND	
17	931	311	GAC-CAC	Asp-His	R	0,15	U	M	ND	
18	931-932	311	GAT-CGT	Asp-Arg	R	0,07	U	L	ND	
19	932	311	GAC-GGC	Asp-Gly	R	0,07	U	L	ND	
20	935	312	CAT-CGT	His-Arg	R	0,07	U	L	ND	
21	943-945	315	TAT-CTG	Tyr-Leu	R	0,07	U	L	ND	
22	950	317	AGC-ACC	Ser-Thr	R	0,07	U	L	ND	

49/59

Fig. 9 (tiếp)

23	952-954	318	AAC-CAT	Asn-His	R	0,07	U	L	ND	
24	953	318	AAC-AGC	Asn-Ser	R	0,07	U	L	ND	
25	954	318	AAC-AAA	Asn-Lys	R	0,07	U	L	ND	
26	956	319	TAT-TCT	Tyr-Ser	R & S	0,45	U	M	ND	
27	956	319	TAT-TGT	Tyr-Cys	R & S	0,37	U	M	M	X
28	957	319	TAT-GAT	Tyr-Asp	R	0,15	U	M	ND	
29	958	320	TTC-CTC	Phe-Leu	R	0,07	U	L	ND	
30	982	328	GAT-CAT	Asp-His	R	0,22	U	M	ND	
31	982	328	GAT-TAT	Asp-Tyr	R & S	0,67	U	M	M	X
32	983	328	Del A	frameshift	R	0,07	U	L	ND	
33	983	328	GAT-GGT	Asp-Gly	R & S	0,3	U	M	ND	
34	983	328	GAT-GTT	Asp-Val	R	0,07	U	L	ND	
35	983-984	328	GAT-GTG	Asp-Val	R	0,22	U	M	ND	
36	989	330	TTC-TCC	Phe-Ser	R	0,3	U	M	M	X
37	988-989	330	TTC-GTC	Phe-Leu	R	0,07	U	L	ND	
38	990	330	TTC-TTA	Phe-Leu	R	0,07	U	M	M	X
39	991-993	331	GGC-CGT	Gly-Arg	R	0,07	U	L	ND	
40	994	332	TGG-CGG	Trp-Arg	R	0,07	U	L	ND	
41	994-995	332	TGG-CTG	Trp-Leu	R	0,07	U	L	ND	
42	1000	334	TAC-CAC	Tyr-His	R	0,07	U	L	ND	
43	1012	338	GCG-TCG	Ala-Ser	R	0,37	U	M	ND	
44	1039	347	AGT-TGT	Ser-Cys	R	0,15	U	M	ND	
45	1040-1041	347	AGC-ATT	Ser-Ile	R	0,07	U	L	ND	
46	1042	348	GTC-CTC	Val-Leu	R	0,07	U	L	ND	
47	1060-1061	354	GAC-ACC	Asp-Thr	R	0,07	U	L	ND	
48	1061	354	GAC-GCC	Asp-Ala	R & S	1,64	U	H	H	X
49	1067	356	GCG-GTG	Ala-Val	R	0,07	U	L	ND	
50	1070	357	GCG-GTG	Ala-Val	R	0,07	U	L	ND	

Fig. 9 (tiếp)

51	1075 & 1077	359	CTG-ATT	Leu-Ile	R	0,15	U	M	ND	
52	1078	360	GTG-ATG	Val-Met	R	0,3	U	M	H	X
53	1100-1101	367	CGT-CCG	Arg-Pro	R	0,07	U	L	ND	
54	1102-1104	368	GAA-CAG	Glu-Gln	R	0,22	U	M	ND	
55	1103-1104	368	GAA-GCG	Glu-Ala	R	0,3	U	L	ND	
56	1103	368	GAA-GAT	Glu-Asp	R	0,15	U	L	ND	
57	1105	369	GTG-CTG	Val-Leu	R	0,07	U	L	ND	
58	1106	369	GTG-GCG	Val-Ala	R	0,15	U	M	ND	
59	1109-1110	370	CTG-CCG	Leu-Arg	R & S	0,07	U	L	ND	
60	1112-1113	371	CCG-CCG	Pro-Arg	R	0,07	U	L	ND	
61	1121-1122	374	GGC-GTG	Gly-Val	R	0,15	U	L	ND	
62	1123-1124	375	CCG-GCG	Pro-Ala	R	0,07	U	L	ND	
63	1129	377	GTG-ATG	Val-Met	R	0,07	U	L	ND	
64	1130-1131	377	GTG-GGC	Val-Gly	R	0,07	U	L	ND	
65	1139	380	AGC-AAC	Ser-Asn	R	0,3	U	L	ND	
66	1150 & 1152	384	TAT-AAC	Tyr-Asn	R	0,15	U	M	ND	
67	1185	395	TGG-TGC	Trp-Cys	R	0,07	U	L	ND	
68	1183 & 1185	395	TGG-CCG	Trp-Arg	R	0,07	U	L	ND	
69	1190	397	CCG-CAG	Pro-Gln	R	0,3	U	L	ND	
70	1193	398	TTT-TAT	Phe-Tyr	R	0,07	U	L	ND	
71	1192-1193	398	TTT-CAT	Phe-His	R	0,07	U	L	ND	
72	1196	399	AAC-ACC	Asn-Thr	R	0,15	U	M	ND	
73	1200	400	AAC-AAA	Asn-Lys	R	0,07	U	L	ND	
74	1203	401	ACG-ACA	Gly-Ser	R	0,07	U	L	ND	
75	1210	404	CCG-TCG	Pro-Ser	R	0,07	U	L	ND	
76	1215	405	GAG-GAC	Glu-Asp	R	0,3	U	M	ND	
77	1215	405	GAG-GAT	Glu-Asp	R	U	U	L	M	X
78	1216	406	GGC-AGC	Gly-Ser	R & S	1,05	U	H	H	X

Fig. 9 (tiếp)

79	1216	406	GGC-TGC	Gly-Cys	R	0,45	U	M	H	X
80	1217	406	GGC-GAC	Gly-Asp	R & S	1,72	U	H	H	X
81	1217	406	GGC-GCC	Gly-Ala	R & S	1,87	U	H	H	X
82	1217-1218	406	GGC-GAT	Gly-Asp	R	0,15	U	M	ND	
83	1217-1218	406	GGC-GCG	Gly-Ala	R	0,15	U	M	ND	
84	1218	406	GGC-GGA	Gly-Gly	R	0,07	U	L	ND	
85	1235	412	TCG-TTG	Ser-Leu	R	0,07	U	L	ND	
86	1289	430	CCG-CTG	Pro-Leu	R	0,07	U	L	ND	
87	1291 & 1293	431	GCG-ACC	Ala-Thr	R	0,15	U	M	ND	
88	1301-1302	434	GCG-GGC	Ala-Gly	R	0,07	U	L	ND	
89	1304-1305	435	GTG-GGC	Val-Gly	R	0,07	U	L	ND	
90	1307-1308	436	GTG-GGC	Val-Gly	R	0,07	U	L	ND	
91	1309 & 1311	437	ACC-GCG	Thr-Ala	R	0,07	U	L	ND	
92	1315	439	GCA-ACA	Ala-Thr	R	0,07	U	L	ND	
93	1334	445	CAG-CGG	Gln-Arg	R	0,15	U	M	ND	
94	1337-1338	446	CCG-CAT	Pro-His	R	0,07	U	L	ND	
95	1343-1344	448	GGC-GTG	Gly-Val	R	0,22	U	M	ND	
96	1348	450	ATC-CTC	Ile-Leu	R	0,07	U	L	M	X
97	1354	452	GTG-CTG	Val-Leu	R	0,07	U	L	ND	
98	1360	454	GCG-ACG	Ala-Thr	R	0,15	U	L	M	X
99	1379-1380	460	CGT-CTG	Arg-Leu	R	0,07	U	L	ND	
100	1489	497	CAG-AAG	Gln-Lys	R	1,05	U	H	H	X
101	1490	497	CAG-CCG	Gln-Pro	R & S	1,2	U	H	H	X
102	1490	497	CAG-CGG	Gln-Arg	R & S	4,93	U	H	H	X
103	1512	504	GAA-GAC	Glu-Asp	R & S	0,15	U	M	ND	
104	1519	507	AGG-GGG	Arg-Gly	R	0,07	U	L	ND	
105	1520	507	AGG-AAG	Arg-Lys	R	0,3	U	L	ND	
106	1522	508	GTT-TTT	Val-Phe	R & S	0,15	U	M	ND	

Fig. 9 (tiếp)

107	1671	557	ATG-ATC	Met-Ile	R	0,07	U	L	H	X
108	1730	577	GTC-GCC	Val-Ala	R	0,07	U	L	ND	
109	1880	627	Insert T	frameshift	R	0,22	U	M	ND	
110	1889	630	ACC-ATC	Thr-Ile	R	0,15	U	M	ND	
111	2038	680	GCC-ACC	Ala-Thr	R & S	0,15	U	M	ND	
112	2999	1000	ATG-AGG	Met-Arg	R	0,07	U	L	ND	
113	3005-3006	1002	CAG-CGC	Gln-Arg	R	0,15	U	M	ND	

MTB: *Mycobacterium tuberculosis*; EMB: Ethambutol; NA: không áp dụng

a) R: chủng kháng thuốc, S: chủng nhạy cảm; R & S: chủng kháng thuốc và nhạy cảm

b) F: tần suất phát hiện trên thế giới

c) Mức độ kháng EMB (L-H: thấp - cao, tùy thuộc; U: chưa rõ)

d) Mức độ tần suất: L: Thấp < 0,1%; H: cao > 1%; 0,1% < M: trung bình < 1%; ND: chưa tìm thấy

e) X: chọn để thiết kế mẫu dò; tiêu chuẩn chọn: $F \geq 0,5$ và/hoặc xuất hiện ở quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào, Campuchia.

Fig. 9 (tiếp)

Bảng S1.8: Đột biến trên gen *rrs* được tìm thấy trong những chủng kháng thuốc tiềm hàng hai trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia.

STT	Vị trí đột biến (MTB)	Vị trí codon đột biến (MTB)	Nucleotit đột biến	Axit amin đột biến	Chủng (a)	F% (b)	Mức độ kháng SIJs (c)	Mức tần suất trên thế giới (d)	Mức tần suất ở Đông & Đông Nam Á (d)	Chọn (e)
1	1158	NA	G-T	NA	R	0,32	U	M	ND	
3	1211	NA	Insert G	NA	R	0,16	U	M	ND	
4	1239	NA	T-C	NA	R	0,16	U	M	ND	
5	1252	NA	A-T	NA	R	0,32	U	M	ND	
6	1322	NA	T-C	NA	R	0,16	U	M	ND	
7	1338	NA	A-C	NA	R	1,13	U	H	ND	X
8	1344	NA	C-G	NA	R	0,16	U	M	ND	
9	1358	NA	C-T	NA	R	0,16	U	M	ND	
10	1400	NA	C-G	NA	R	1,94	U	H	ND	X
11	1401	NA	A-G	NA	R	66,7	H	H	H	X
12	1402	NA	C-A	NA	R	0,48	U	M	ND	
13	1402	NA	C-T	NA	R	1,62	H	H	ND	X
14	1462	NA	A-T	NA	R	0,16	U	M	ND	
15	1472	NA	G-T	NA	R	0,16	U	M	ND	
16	1484	NA	G-T	NA	R	1,29	H	H	H	X
17	1539	NA	A-G	NA	R	0,16	U	M	ND	
18	1601	NA	Insert C	NA	R	0,16	U	M	ND	

MTB: *Mycobacterium tuberculosis*; SIJs: Thuốc tiềm hàng hai; NA: không áp dụng

a) R: chủng kháng thuốc, S: chủng nhạy cảm; R & S: cả chủng kháng và nhạy; b) F: tần suất phát hiện trên thế giới; c) Mức độ kháng SIJs (H: cao; L: thấp; L-H: thấp-cao; U: không rõ); d) Mức độ tần suất: L: thấp<0,1%; H: cao>1%; 0,1%<M: trung bình<1%; ND: chưa tìm thấy; e) X: chọn để thiết kế mẫu dò; tiêu chí chọn: F≥0,5 và/hoặc xuất hiện ở quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia.

Fig. 9 (tiếp)

Bảng S1.9: Đột biến trên gen *gyrA* được tìm thấy trong những chủng kháng FQ trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia

STT	Vị trí đột biến (MTB)	Vị trí codon đột biến (MTB)*	Nucleotit đột biến	Axit amin đột biến	Chủng (a)	F% (b)	Mức độ kháng FQ (c)	Mức tần suất trên thế giới (d)	Mức tần suất ở Đông Nam Á (d)	Chọn (e)
6	238	80	ACC-GCC	Thr-Ala	R**& S	0,46	L&H	M	ND	
7	262	88	GGC-TGC	Gly-Cys	R	0,92	L&H	M	ND	X
9	263	88	GGC-GCC	Gly-Ala	R	0,29	L&H	M	H	X
10	265	89	GAC - AAC	Asp-Asn	R	0,23	L&H	M	ND	
11	266	89	GAC - GGC	Asp-Gly	R	0,23	L&H	M	ND	
12	269	90	GCG-GTG	Ala-Val	R	20,83	L	H	H	X
14	271	91	TCG-ACG	Ser-Thr	R	0,06	L	L	ND	
15	271	91	TCG-GCG	Ser-Ala	R	0,29	L	M	ND	
16	271	91	TCG-CCG	Ser-Pro	R	4,96	L	H	ND	X
17	280	94 or 94&95	GAC-AAC or GAC-AAC&AGC-ACC	Asp-Asn or Asp-Asn & Ser-Thr	R	6,23	H	H	H	X
18	280	94 or 94&95	GAC-CAC or GAC-CAC &AGC-ACC	Asp-His or Asp-His & Ser-Thr	R	2,6	H	H	ND	X
19	280	94 or 94&95	GAC-TAC or GAC-TAC&AGC-ACC	Asp-Tyr or Asp-Tyr& Ser-Thr	R	4,85	H	H	H	X
22	281	94 or 94&95	GAC-GCC or GAC-GCC&AGC-ACC	Asp-Ala or Asp-Ala& Ser-Thr	R	9,46	H	H	H	X
23	281	94 or 94&95	GAC-GGC or GAC-GGC&AGC-ACC	Asp-Gly or Asp-Gly& Ser-Thr	R	30,81	H	H	H	X
25	305	102	CCC-CAC	Pro-His	R	0,06	L	L	ND	

Fig. 9 (tiếp)

26	331	111	GAC-AAC	Asp-Asn	R & S	0,12	L	M	ND
1	179	60	CAG-CGG	Gln-Arg	R	0,06	L	L	ND
2	202	68	CGC-GGC	Arg-Gly	R	0,12	L	M	ND
3	206	69	AGC-ACC	Ser-Thr	R	0,06	L	L	ND
4	209	70	CAC-CGC	His-Arg	R	0,23	L	M	ND
5	220	74	GCC-TCC	Ala-Ser	R	0,12	L	M	ND
8	263-264	88	GGC-GCG	Gly-Ala	R	0,12	L	L	ND
13	269-270	90	GCG-GTC	Ala-Val	R	0,23	L	M	ND
20	280-281	94	GAC-TTC	Asp-Phe	R	0,17	L	M	ND
21	280-281	94	GAC-ACC	Asp-Ser	R	0,06	L	L	ND
27	376-377	126	GCG-AGG	Ala-Arg	R	0,06	L	L	ND

MTB: *Mycobacterium tuberculosis*; FQ: Fluoroquinolon

a) R: Chủng kháng thuốc, S: chủng nhạy cảm; R & S: cả chủng kháng và nhạy;

** Mức độ kháng yếu, Khi đột biến này kết hợp với đột biến ở codon 90, chủng vi khuẩn sẽ siêu nhạy cảm đối với Fluoroquinolon

b) F: tần suất phát hiện trên thế giới

c) Mức độ kháng FQ (H: cao; L:thấp; L&H: thấp - cao)

d) Mức độ tần suất: L: thấp<0,1%; H: cao>1%; 0,1%<M: trung bình<1%; ND: chưa tìm thấy

e) X: được chọn để thiết kế mẫu dò; tiêu chí chọn: F≥0,5 và/hoặc xuất hiện ở quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia.

*Đột biến ở codon 95 là đột biến tự nhiên và không liên quan đến kháng FQ.

Fig. 9 (tiếp)

Bảng S1.10: Đột biến trên gen *gyrB* được tìm thấy trong những chủng kháng FQs trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt

Nam, Lào và Campuchia

STT	Vị trí đột biến (MTB)	Vị trí codon đột biến (MTB)	Nucleotit đột biến	Axit amin đột biến	Chủng (a)	F% (b)	Mức độ kháng FQ (c)	Mức tần suất trên thế giới (d)	Mức tần suất ở Đông & Đông Nam Á (d)	Chọn (e)
1	1336	446	CGT-TGT	Arg-Cys	R	0,22	U*	M	ND	
2	1337	446	CGT-CTT	Arg-Leu	R	0,11	U*	M	ND	
4	1375	459	GAA-CAA	Glu-Gln	R	0,33	U*	M	ND	
5	1375	459	GAA-AAA	Glu-Lys	R	0,22	U*	M	ND	
6	1381	461	GAC-AAC	Asp-Asn	R	0,89	U*	M	H	X
7	1381	461	GAC-CAC	Asp-His	R	0,44	U*	M	ND	
8	1382	461	GAC-GCC	Asp-Ala	R	0,11	U*	M	ND	
9	1408	470	GGT-TGT	Gly-Cys	R	0,11	U*	M	ND	
10	1409	470	GGT-GCT	Gly-Ala	R	0,22	U*	M	ND	
11	1495	499	AAC-GAC	Asn-Asp	R	0,22	U*	M	ND	
12	1496	499	AAC-ATC	Asn-Ile	R	0,22	U*	M	ND	
13	1496	499	AAC-AGC	Asn-Ser	R	0,11	U*	M	ND	
14	1496	499	AAC-ACC	Asn-Thr	R	0,44	U*	M	ND	
15	1497	499	AAC-AAA	Asn-Lys	R	0,11	U*	M	ND	
16	1498	500	ACC-GCC	Thr-Ala	R	0,11	U*	M	ND	
17	1498	500	ACC-CCC	Thr-Pro	R	0,11	U*	M	ND	
18	1499	500	ACC-AAC	Thr-Asn	R	0,44	U*	M	ND	
19	1502	501	GAA-GTA	Glu-Val	R	0,11	U*	M	ND	
20	1503	501	GAA-GAC	Glu-Asp	R	0,22	U*	M	ND	
21	1510	504	GCG-ACG	Ala-Thr	R	0,89	U*	M	ND	X
22	1511	504	GCG-GTG	Ala-Val	R	1,11	U*	H	H	X
23	1534	512	GGG-AGG	Gly-Arg	R	1,33	U*	H	H	X

57/59

Fig. 9 (tiếp)

MTB: *Mycobacterium tuberculosis*; FQs: Fluoroquinolone

- a) R: Chủng kháng thuốc, S: Chủng nhạy cảm; R & S: Cả chủng kháng và nhạy
- b) F: Tần suất phát hiện trên thế giới
- c) Mức độ kháng FQs (U*: không rõ, nếu đột biến xảy ra ở cả gen *gyrA* và *gyrB* thì chủng vi khuẩn sẽ kháng mạnh với FQ)
- d) Mức độ tàn suất: L: thấp <0,1%; H: cao >1%; 0,1% < M: trung bình <1%; ND: chưa tìm thấy
- e) X: được chọn để thiết kế mẫu dò, tiêu chí chọn: $F \geq 0,5$ và/hoặc xuất hiện ở quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia.

Fig. 9 (tiếp)

Bảng S1.11: Đột biến trên promoter của *eis* được tìm thấy trong những chủng kháng SIJs trên thế giới và trong quần thể nghiên cứu ở Việt Nam, Lào và Campuchia

STT	Vị trí đột biến (MTB)	Vị trí codon (MTB)	Nucleotit đột biến	Axit amin đột biến	Chủng (a)	F% (b)	Mức độ kháng SIJ (c)	Mức tần suất trên thế giới (d)	Mức tần suất ở Đông & Đông Nam Á (d)
1	-10	NA	G-A	NA	R	ND	Thấp	ND	ND
2	-12	NA	C-T	NA	R	ND	Thấp	ND	ND
3	-14	NA	C-T	NA	R	ND	Thấp đến trung bình	ND	ND
4	-37	NA	G-T	NA	R	ND	Trung bình	ND	ND

MTB: *Mycobacterium tuberculosis*

F: tần suất

SIJs: thuốc tiêm hàng hai

ND: không xác định

R: kháng

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Viện Vệ sinh dịch tễ Trung Ương

Insitut de Recherche pour le Développement, IRD

<120> BỘ SINH PHẨM CHIP ADN CHẨN ĐOÁN NHANH VI KHUẨN LAO KHÁNG THUỐC VÀ QUY

TRÌNH SẢN XUẤT BỘ SINH PHẨM CHIP ADN CHẨN ĐOÁN NHANH VI KHUẨN LAO KHÁNG THUỐC

<160> 254

<210> 1

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 1

ccagctggct gaccaccaca cgctc

<210> 2

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 2

ccagctggct gaacaccaca cgctc

<210> 3

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 3

tggtgccgaa gaactccttg atcgcg

<210> 4

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 4

ccgaagaact ccgtgatcgc ggcgac

<210> 5

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 5

ctggtgccga agacctcctt gatcgcg

<210> 6

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 6

gctcagctgg ctggtgccga agaactc

<210> 7

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 7

ctcagctggc tgtggccgaa gaactcc

<210> 8

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 8

gctcagctgg atggtgccga agaact

<210> 9

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 9

gcaccagcca gctgagccaa ttcattg

<210> 10

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 10

gcaccagcca cctgagccaa ttcattg

<210> 11

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 11

gcaccagcca ggtgagccaa ttcattg

<210> 12

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 12

gcaccagcca gccgagccaa ttcatt

<210> 13

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 13

caccagccag cggagccaat tcatg

<210> 14

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 14

gtccatgaat tggcccagct ggctg

<210> 15

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 15

tccatgaatt gggtcagctg gctgg

<210> 16

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 16

gcaccagcca gccgacccaa ttcattg

<210> 17

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 17

caccagccag ccgggccaat tcatg

<210> 18

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 18

gtccatgaat tggcggctcag ctggc

<210> 19

<211> 28

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 19

tctgggtccat gaattggctc agctggct

<210> 20

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 20

tctgggtccat gaatttgctc agctggc

<210> 21

<211> 28

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 21

cagccagctg agcgaattca tggaccag

<210> 22

<211> 28

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 22

tctgggtccat gaatgggctc agctggct

<210> 23

<211> 29

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 23

gttctgtgtcc atgaataggc tcagctggc

<210> 24

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 24

ctgggtccatg aagtggctca gctggc

<210> 25

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 25

gttctgtgtcc aggaattggc tcggctg

<210> 26

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 26

tggtccacga attggctcgg ctggc

<210> 27

<211> 28

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 27

cagccagccg agccaattca tagaccag

<210> 28

<211> 31

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 28

cgggttggtc tgggtccatga attggctcag c

<210> 29

<211> 29

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 29

gcgggttggtt ctggtcgatg aattggctc

<210> 30

<211> 31

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 30

cgggttggttc tggatcaatga attggctcag c

<210> 31

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 31

gggttggttct ggtccaggaa ttggctcagc

<210> 32

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 32

ggttggttctg gtccacgaat ttggctcagct

<210> 33

<211> 31

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 33

gcgggttggt ctggttcacg aattggctca g

<210> 34

<211> 31

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 34

gcgggttggt ctggtacacg aattggctca g

<210> 35

<211> 31

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 35

gcgggttggt ctggcacacg aattggctca g

<210> 36

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 36

gcccaattcat ggcccagaac aacccgc

<210> 37

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 37

agccaattca tgggccagaa caaccg

<210> 38

<211> 33

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 38

cgggttggtc tggaccatga attggctcag ctg

<210> 39

<211> 29

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 39

gacagcgggt tgttctgctc catgaattg

<210> 40

<211> 31

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 40

gttggtctgg tccatgaaga attggctcag c

<210> 41

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 41

gctgagccaa ttcgaccaga acaaccc

<210> 42

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 42

gggttgttct ggaccatcaa ttggctcagc

<210> 43

<211> 29

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 43

gttggttctgg accatgagtt ggctcagct

<210> 44

<211> 28

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 44

gggttggttct ggtacgtgaa ttggctca

<210> 45

<211> 31

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 45

gcgggttggt ctggactatg aattggctca g

<210> 46

<211> 28

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 46

cgacagcggg ttgttctggt ccatgaat

<210> 47

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 47

agcgggttgt gctggtccat gaattg

<210> 48

<211> 29

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 1

gacagcgggt tgtcctgggc catgaattg

<210> 49

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 49

cgacagcggg ttgctctggc ccatgaa

<210> 50

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 50

cgacagcggg ttggtctggc ccatgaa

<210> 51

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 51

attcatggac cagaacccgc tgtcg

<210> 52

<211> 28

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 52

agcgggttgg tctggacat gaattggc

<210> 53

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 53

gccaatcat gtaccagcac aacccgc

<210> 54

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 54

gccagctgag ccaccagaac aaccc

<210> 55

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 55

cttgtgggtc aaccccgaca gcgg

<210> 56

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 56

gggtcaaccc cgtcagcggg ttg

<210> 57

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 57

gtgggtcaac ccctgcagcg ggt

<210> 58

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 58

tgggtcaacc ccaacagcgg gtt

<210> 59

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 59

tgtgggtcaa ccacgacagc gggtt

<210> 60

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 60

acccgctgtc ggcgttgacc cacia

<210> 61

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 61

gcgcttgtgg gtcaaccccc acagc

<210> 62

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 62

gcgcttgtgg gtccaccccc acag

<210> 63

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 63

ggcgcttgat gatcaacccc gacag

<210> 64

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 64

gcttgatgat caaccacgac agcg

<210> 65

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 65

gggttgaccc acaagcgccg actgt

<210> 66

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 66

ggggttgacc aacaagcgcc gact

<210> 67

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 67

ggggttgacc gacaagcgcc gact

<210> 68

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 68

ggggttgacc tacaagcgcc gactg

<210> 69

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 69

ggggttgacc tgcaagcgcc gactg

<210> 70

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 70

ggggttgacc accaagcgcc gactg

<210> 71

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 71

gggttgaccc ccaagcgccg actg

<210> 72

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 72

ggggttgacc cgcaagcgcc gact

<210> 73

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 73

ggggttgacc ctcaagcgcc gactg

<210> 74

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 74

gggttgaccc aaaagcgccg actgt

<210> 75

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 75

gggttgaccc agaagcgccg actgt

<210> 76

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 76

gacagtcggc gctgggtgggt caac

<210> 77

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 77

gggttgaccc accgccgact gtc

<210> 78

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 78

ggggtggccc cagcgccgac tg

<210> 79

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 79

ggttgacccc ccagcgccga ctgtc

<210> 80

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 80

ggggttgacg taccagcgcc gactg

<210> 81

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 81

ggggttgacc tacaagcacc gactgtc

<210> 82

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 82

ggttgacctt caagccccga ctgtc

<210> 83

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 83

ccgacagttg gcgcttgctg gtcaa

<210> 84

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 84

gttgacccgc aagcgctgc tgtcg

<210> 85

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 85

ggggttgacc tcccagcgcc gactg

<210> 86

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 86

ccgacagtcg gcgcttgtgg gtca

<210> 87

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 87

ccgacagtcg gggcttgtgg gtca

<210> 88

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 88

ccgacagtcg gtgcttgtgg gtca

<210> 89

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 89

gccgacagtt ggcgcttggtg gg

<210> 90

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 90

cccacaagcg cctgctgtcg gc

<210> 91

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 91

cacaagcacc gactgtgggc gctgg

<210> 92

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 92

gcgccaacag tcgacgcttg tgggtc

<210> 93

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 93

ccgactgtcg gcgctggggc ccgg

<210> 94

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 94

ggccccagcg cctgcagtcg gc

<210> 95

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 95

gccgactgct ggcgctgggg c

<210> 96

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 96

ccgactggcg gcgctggggc c

<210> 97

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 97

cgccgactgt gggcgctggg gc

<210> 98

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 98

cgccgactgt tggcgctggg gc

<210> 99

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 99

cgccgactgt gtgcgctggg gcc

<210> 100

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 100

gcgccgactg ttgcgctgg gg

<210> 101

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 101

cgccgactgt ttgcgctggg gcc

<210> 102

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 102

gccccagcgc gaagattcgg cg

<210> 103

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 103

cgccgaatgt tcgcgctggg gcc

<210> 104

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 104

ccgggccccg gcgccgacag tc

<210> 105

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 105

gactgtcggc gtcggggccc ggc

<210> 106

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 106

ccgactgttg gcacttgggc ccggc

<210> 107

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 107

gcgctggggc ccggcggtc tgt

<210> 108

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 108

gcgctgggggt ccggcggtc tgt

<210> 109

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 109

gagcgtgccg ggctggaggt cc

<210> 110

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 110

gagcgtgccg ggatggaggt cc

<210> 111

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 111

ggatgtgccc gatcgaaacc cctgag

<210> 112

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 112

ggatgtgccc ggtcgaaacc cctga

<210> 113

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 113

caacatcggt ctgatcggt cgctgt

<210> 114

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 114

aacatcggtc tgatgggctc gctgtc

<210> 115

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 115

caacatcggt ctgttcggct cgctgt

<210> 116

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 116

tgatcggctc gctgtcgggtg tacgc

<210> 117

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 117

tgatcggctc gcgggtcgggtg tac

<210> 118

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 118

ggtcaaccgcg ttcgggttca tcgaaac

<210> 119

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 119

gggtcaaccc gtccgggttc atcga

<210> 120

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 120

accggttcgg ggtcatcgaa acgcc

<210> 121

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 121

cgaccacctt gcggtacggc gtttcg

<210> 122

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 122

tcgaccacct tgcagtacgg cgtttc

<210> 123

<211> 28

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 123

gttagcgacg agatcgtgta cctgaccg

<210> 124

<211> 28

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 124

gttagcgacg acatcgtgta cctgaccg

<210> 125

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 125

cctgtgccac cacgtggcgg tcctc

<210> 126

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 126

cctgtgccac catgtggcgg tcctc

<210> 127

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 127

ccgcatcgat cggcgaattg gcctg

<210> 128

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 128

cgcatcgatc gccgaattgg cctgtg

<210> 129

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 129

gaagcgaccg tccgcatcga tcg

<210> 130

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 130

gaagcgaccc tccgcatcga tcg

<210> 131

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 131

cttcgtcgag ccgcgcgtgc tggtc

<210> 132

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 132

ttcgtcgagc cgtgcgtgct ggt

<210> 133

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 133

ccaccactcc gaagaagccg aactc

<210> 134

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 134

ccaccactcc gaggaagccg aactc

<210> 135

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 135

gccgggtgaa ggacctgcct gg

<210> 136

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 136

aggcaggtcc tgcacccggc cgc

<210> 137

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 137

gccgggtgag ggacctgcct gg

<210> 138

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 138

gccgggtgac ggacctgcct gg

<210> 139

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 139

gccgggtgat ggacctgcct gg

<210> 140

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 140

ctacgtgcca gcagccgcgg taatacg

<210> 141

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 141

ctacgtgcca gccgccgcgg taata

<210> 142

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 142

actacgtgcc agctgccgcg gtaatac

<210> 143

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 143

cgtgccagca gctgccgtaa tacgt

<210> 144

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 144

ggccgtactc cccaggcggg gtact

<210> 145

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 145

gtaccccgcc tagggagtac ggcc

<210> 146

<211> 31

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 146

gcaaggctaa aactcaaagg aattgacggg g

<210> 147

<211> 31

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 147

cgcaaggcta aaactgaaag gaattgacgg g

<210> 148

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 148

caaggctaaa actcatagga attgacgggg

<210> 149

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 149

aaggctaaaa ctcaacggaa ttgacggggg

<210> 150

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 150

aaggctaaaa ctcaagggaa ttgacggggg

<210> 151

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 151

cctcatcggg ctcccactgg tcgac

<210> 152

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 152

acctcatcgg gctccactggg cgac

<210> 153

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 153

cgggccctcc gggttcacgt agatc

<210> 154

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 154

cgggccctcc gcgttcacgt agatc

<210> 155

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 155

ccgatctggc cgccccgaa cccg

<210> 156

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 156

gccgatctgg tctgccccga acccg

<210> 157

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 157

gagctctttcc agccccaagcc catctgc

<210> 158

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 158

gagctctttcc agctcaagcc catctgc

<210> 159

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 159

gcgatcacca gcggcatcga ggt

<210> 160

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 160

acgcgatcac caacggcatc gaggt

<210> 161

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 161

acgcgatcac caccggcatc gaggt

<210> 162

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 162

acgcgatcac catcggcatc gaggt

<210> 163

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 163

cgcgatcacc acaggcatcg aggtc

<210> 164

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 164

gacgcgatca ccacgggcat cgagg

<210> 165

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 165

acgcgatcac cactggcatc gaggtc

<210> 166

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 166

ggacgaacac cccgacgaaa tgggac

<210> 167

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 167

ggacgaacac cctgacgaaa tgggac

<210> 168

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 168

cagggaccgg atcctgccac agc

<210> 169

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 169

ccctgctgtg gccggatccg gtccc

<210> 170

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 170

catgggcggc ggcgtcgtcg ttccg

<210> 171

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 171

gcatgggcgg cgtcgtcgtt ccgtg

<210> 172

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 172

gcgagacgat aggatgtcgg ggtgac

<210> 173

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 173

cgagacgata ggctgtcggg gtgac

<210> 174

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 174

gccgcggcga gacgataggt tgtcg

<210> 175

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 175

gccgcggcga gatgataggt tgtcg

<210> 176

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 176

ggccgcggcg atacgatagg ttgtc

<210> 177

<211> 28

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 177

gacaaacgtc acgagcgtaa ccccgatg

<210> 178

<211> 28

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 178

gacaaacgtc acgaacgtaa ccccgatg

<210> 179

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 179

cgactcgtcg atcgcgtttc acat

<210> 180

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 180

cgactcgtcg gtcgcgtttc acat

<210> 181

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 181

ccgactcgtc gaccgcgttt cacat

<210> 182

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 182

cgcgtttcac atcgcacggg tagcc

<210> 183

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 183

cgcgtttcac accgcacggg tagcc

<210> 184

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 184

gggtggtgca ttcgattggg ttcac

<210> 185

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 185

gggtggtgc atgcgattgg gttca

<210> 186

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 186

gtggtgcatt cggttgggtt catgc

<210> 187

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 187

ccgcaggccc tatccggacg ctg

<210> 188

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 188

cgcaggccct acccggacgc tg

<210> 189

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 189

ccgtcggcgt agatgatgtc acccg

<210> 190

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 190

gtcggcgtag gtgatgtcac ccg

<210> 191

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 191

ggatgtagcc gtogtccgac gaattcg

<210> 192

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 192

ggatgtagcc gtcttccgac gaattcg

<210> 193

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 193

atcctgggca tggcccgagt cgc

<210> 194

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 194

tacatcctgg gcgtggcccg agtcg

<210> 195

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 195

tacatcctgg gcctggcccg agtcg

<210> 196

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 196

catcctgggc attgcccag tcgcc

<210> 197

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 197

catcctgggc atagcccag tcgcc

<210> 198

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 198

catcctgggc atgcccagag tcgcc

<210> 199

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 199

acatgtccaa ctatttccgc tggttc

<210> 200

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 200

acatgtccaa ctgtttccgc tggtt

<210> 201

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 201

ggcagcccgg aggatccctt cggct

<210> 202

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 202

ggcagcccgg agtatccctt cggct

<210> 203

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 203

ggaggatccc ttcggctggt attac

<210> 204

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 204

ggaggatccc tccggctggt attac

<210> 205

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 205

tgcggccgga gggcatcatc gcg

<210> 206

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 206

cctgcggccg gatggcatca tcgcg

<210> 207

<211> 20

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 207

gccggagagc atcatcgcgc

<210> 208

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 208

ctgcggccgg agtgcacatc cg

<210> 209

tgcggccgga ggacatcatc gcgct

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 210

gtgttcgccg accagacct gtcaac

<210> 211

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 211

gttgacaggg tcttgtcggc gaacacc

<210> 212

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 212

tgttcgccga cccgaccctg tcaac

<210> 213

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 213

tgttcgccga ccggaccctg tcaac

<210> 214

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 214

cttgcgccgc aacatgatga acacc

<210> 215

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 215

cttgcgccgc aagatgatga acacc

<210> 216

<211> 29

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 216

tgatctgcga ttactagcga ctccgactt

<210> 217

<211> 29

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 217

tgatctgcga ttacgagcga ctccgactt

<210> 218

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 218

cacaccgccc gtcacgtcat gaaag

<210> 219

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 219

cacaccgccc gtcacgtcat gaaag

<210> 220

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 220

acaccgcccg tcgcatcatg aaagt

<210> 221

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 221

ggcgattggg acgaagtcgt aacaa

<210> 222

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 222

ggcgattggg actaagtcgt aacaa

<210> 223

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 223

cgcgggcatat gccacagtcg gattctg

<210> 224

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 224

cgcgggcatat gccacaatcg gattctg

<210> 225

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 225

cgcgggcatat gccatagtcg gattctg

<210> 226

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 226

ccgcggcata tgctacagtc ggattct

<210> 227

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 227

cacgtgcacg tgaatattac gacgac

<210> 228

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 228

gcggccacgt gcaagtgaat attacg

<210> 229

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 229

tcgacgcgtc gccgtgcggg tggta

<210> 230

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 230

taccacccgc actgcgacgc gtcga

<210> 231

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 231

accacccgca cgccgacgcg tcgat

<210> 232

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 232

gcacggcgac gcgtcgatct acgac

<210> 233

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 233

cgcacggcga cgtgtcgatc tacga

<210> 234

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 234

ggcgacgcgc cgatctacga ca

<210> 235

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 235

cgtcgatctac gacagcctgg tgcg

<210> 236

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 236

cgcaccaggc tggtgtagatc gacgcg

<210> 237

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 237

gcaccaggct gtggtagatc gacgc

<210> 238

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 238

cgcaccaggc tgtagtagat cgacgcg

<210> 239

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 239

cgtcgatcta cgccagcctg gtgcg

<210> 240

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 240

cgtcgatcta cggcagcctg gtgcg

<210> 241

<211> 26

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 241

gtcgatctac gacaccctgg tgcgca

<210> 242

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 242

tgcgaccag ggtgtttag atcgacg

<210> 243

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 243

tgcgaccag ggtgtagtag atcgacg

<210> 244

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 244

tgcgaccag ggtgtggtag atcgacg

<210> 245

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 245

gcgcaccagg gtggcgtaga tcg

<210> 246

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 246

gcgtcgatct acggcaccct ggt

<210> 247

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 247

cgccggccga gtcaccttct acgac

<210> 248

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 248

cgccggccga gttaccttct acgac

<210> 249

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 249

ccgaagttca ggcgatcatc acggc

<210> 250

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 250

aacaccgaag ttcagacgat catcacg

<210> 251

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 251

cgccgtgatg atcacctgaa cttcggc

<210> 252

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 252

gtcgtggatc ccggtgcca gcg

<210> 253

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 253

cgtcgtggat cctgggtgcc agcgc

<210> 254

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mẫu dò

<400> 254

ggtgcggtcg cccggggtgt acttc