เลขที่อนุสิทธิบัตร 18131

อสป/200 - ข

# อนุสิทธิบัตร

อาศัยอำนาจตามความในพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522
ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร ( ฉบับที่ 3 ) พ.ศ. 2542
อธิบดีกรมทรัพย์สินทางปัญญาออกอนุสิทธิบัตรฉบับนี้ให้แก่

## นางสาวปาริยา ณ นคร

สำหรับการประดิษฐ์ตามรายละเอียดการประดิษฐ์ ข้อถือสิทธิ และรูปเขียน (ถ้ามี) ดังที่ปรากฏในอนุสิทธิบัตรนี้

| | |
|---|---|
| เลขที่คำขอ | 1803000866 |
| วันขอรับอนุสิทธิบัตร | 9 เมษายน 2561 |
| ผู้ประดิษฐ์ | นางสาวปาริยา ณ นคร |
| ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์ | กรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์พืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมจากกระบวนการพันธุวิศวกรรมด้วยอนุภาคทองนาโน |

ให้ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรนี้มีสิทธิและหน้าที่ตามกฎหมายว่าด้วยสิทธิบัตรทุกประการ

ออกให้ ณ วันที่ 16 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2564

หมดอายุ ณ วันที่ 8 เดือน เมษายน พ.ศ. 2567

(นายวุฒิไกร ลีวีระพันธุ์)
อธิบดีกรมทรัพย์สินทางปัญญา
ผู้ออกอนุสิทธิบัตร

พนักงานเจ้าหน้าที่

หมายเหตุ 1 ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรต้องชำระค่าธรรมเนียมรายปีเริ่มตั้งแต่ปีที่ 5 ของอายุอนุสิทธิบัตร มิฉะนั้น อนุสิทธิบัตรนี้จะสิ้นอายุ
2 ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรจะขอชำระค่าธรรมเนียมรายปีล่วงหน้าโดยชำระทั้งหมดในคราวเดียวได้
3 ภายใน 90 วันก่อนวันสิ้นอายุอนุสิทธิบัตร ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรมีสิทธิขอต่ออายุอนุสิทธิบัตรได้ 2 คราว มีกำหนดคราวละ 2 ปี โดยยื่นคำขอต่ออายุ ต่อพนักงานเจ้าหน้าที่

001455 การอนุญาตให้ใช้สิทธิตามอนุสิทธิบัตรและการโอนอนุสิทธิบัตรต้องทำเป็นหนังสือและจดทะเบียนต่อพนักงานเจ้าหน้าที่

Ref 256401014526598

## รายละเอียดการประดิษฐ์

### ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

กรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์พืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมจากกระบวนการพันธุวิศวกรรมด้วยอนุภาคทองนาโน

### ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์

การประดิษฐ์นี้เกี่ยวข้องกับเทคนิคการตรวจวิเคราะห์พืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมจากกระบวนการพันธุวิศวกรรมด้วยอนุภาคทองนาโน โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. เตรียมกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (Deoxyribonucleic Acid) จากพืชด้วยวิธีการสกัดของ Doyle และ Doyle (1987) และทำการตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร

2. เตรียมโพรบ (Probe) สำหรับการตรวจจับกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกของพืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมจากกระบวนการพันธุวิศวกรรมด้วย 35S-F / R และ NOS-F /R

3. เตรียมอนุภาคทองนาโนจาก 5 มิลลิโมลาร์ ของเตตระคลอโรออเรท ($HAuCl_4$) ด้วยวิธีของ Nath และ Chilkoti (2002) เพื่อให้ได้ขนาดอนุภาคทองนาโนที่ 18 - 20 นาโนเมตร

4. จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์โดยนำโพรบ (Probe) 1 ไมโครโมลาร์ ผสมกับอนุภาคทองนาโน 500 ไมโครลิตร และโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ 0.05 โมลาร์ เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเติมกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกของตัวอย่างพืชที่ต้องการตรวจ 1 ไมโครโมลาร์ และปรับปริมาตรด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดไอออนเป็น 700 ไมโครลิตร

5. ถ้ามีกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกที่ต้องการ จะให้ผลการวิเคราะห์เป็นสีน้ำเงินถึงม่วง

ความมุ่งหมายของการประดิษฐ์ครั้งนี้ คือ เพื่อการตรวจวิเคราะห์พืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมจากกระบวนการพันธุวิศวกรรมด้วยอนุภาคทองนาโนที่ให้ระยะเวลาการตรวจวิเคราะห์ที่รวดเร็วกว่าวิธีปกติทั่วไป

### สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

การประดิษฐ์นี้เกี่ยวข้องกับสาขาเทคโนโลยีชีวภาพและเคมี

### ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

ไบโอเซนเซอร์เป็นเครื่องมือที่ปัจจุบันนี้นิยมใช้ในการการวิเคราะห์ /ตรวจวัดซึ่งมีข้อได้เปรียบกว่าวิธีการในห้องปฏิบัติการโดยทั่วไปคือ ความรวดเร็วและความง่ายในการตรวจวัดนั้น นอกจากนี้ยังมีความแม่นยำและจำเพาะเจาะจงสูงกับสารที่ต้องการวัด (specificity) ด้วยความสามารถที่ใช้วิเคราะห์สารได้ในทุกๆสภาวะที่ต้องการ (selectivity) แม้ว่าจะมีสารปนเปื้อนอื่นๆอยู่ก็ตาม ประกอบกับการที่เครื่องมือวัดประเภทนี้ยังสามารถใช้งานได้นาน (stability) และใช้ซ้ำๆ (reproducible)ได้ จึงยิ่งเป็นข้อได้เปรียบที่ให้มีการวิจัยและพัฒนานำเอาหลักการทางไบโอเซนเซอร์มาใช้กันมากขึ้นในทุกๆด้าน ไม่ว่าจะเป็นอาหาร, ยา, การแพทย์, อุตสาหกรรม, สิ่งแวดล้อม รวมทั้งด้านความปลอดภัยต่างๆโดยเฉพาะทางการทหาร เป็นต้น จากการรายงานของ Luo และคณะ ในปี 2004

ลักษณะเด่นที่สำคัญอีกอย่างของเครื่องมือวิเคราะห์ / ตรวจวัดนี้ คือ ความไวสูงที่มีต่อสารตรวจวัดสารต่างๆ (sensitivity) ซึ่งในปัจจุบันนี้มีการวิจัยและผลิตเครื่องมือตรวจวัดที่ใช้ทดแทนการตรวจวัดสารจำพวกกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกหรือโปรตีนกันมากขึ้น เนื่องจากวิธีเดิมที่ใช้ในการตรวจวัดสารจำพวกนี้นั้นในห้องปฏิบัติการโดยทั่วไป ได้แก่ ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction) สำหรับกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก หรือ ปฏิกิริยาที่เฉพาะเจาะจงของแอนติบอดี (antibody) และแอนติเจน (antigen) โดยใช้เอนไซม์ (enzyme) (Enzyme-linked immunosorbent assay) สำหรับโปรตีน นั้นมีข้อเสียเปรียบต่างๆ เช่น ขั้นตอนยุ่งยากในการ ตรวจวัด, ระยะเวลาในการตรวจวัดนาน, ต้องการสารที่ใช้ในการติดฉลากที่เป็นฟลูออเรนเซนส์, ผลผลิตที่ได้ไม่เสถียร หรือ ระดับความเข้มข้นในการตรวจวัดได้ต่ำ (10-12โมลาร์) จากการรายงานของ Shan ในปี 2007, Xu และคณะ ในปี 2006, Tan และคณะ ในปี 2005 และ Luo และคณะ ในปี 2004 ซึ่งข้อเสียเปรียบเหล่านี้สามารถชดเชยได้ด้วยวิธีการทางไบโอเซนเซอร์

นอกจากนี้การนำนาโนเทคโนโลยีที่ปัจจุบันมีการพัฒนาอย่างกว้างไกลมาก มาประยุกต์ใช้ร่วมกับการตรวจวิเคราะห์ที่สะดวกและรวดเร็วได้มากยิ่งขึ้น ดังนั้นกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์พืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมจากกระบวนการพันธุวิศวกรรมด้วยอนุภาคทองนาโน มีความสำคัญเพื่อให้สามารถตรวจวิเคราะห์พืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมจากกระบวนการพันธุวิศวกรรมได้ด้วยการใช้อนุภาคทองนาโนที่ให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่สะดวก แม่นยำ และรวดเร็วกว่าวิธีอื่น

<u>คำอธิบายรูปเขียนโดยย่อ</u>

**รูปที่ 1** ค่าการตรวจวิเคราะห์ของช่วงความเข้มข้นของตัวอย่างกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกของพืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมที่สามารถใช้วิธีการวิเคราะห์นี้ได้

<u>การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์</u>

1. เตรียมกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (Deoxyribonucleic Acid) จากพืชด้วยวิธีการสกัดของ Doyle และ Doyle (1987) และทำการตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร

2. เตรียมโพรบ (Probe) สำหรับการตรวจจับกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกของพืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมจากกระบวนการพันธุวิศวกรรมด้วย 35S-F / R และ NOS-F /R

3. เตรียมอนุภาคทองนาโนจาก 5 มิลลิโมลาร์ ของเตตระคลอโรออเรท ($HAuCl_4$) ด้วยวิธีของ Nath และ Chilkoti (2002) เพื่อให้ได้ขนาดอนุภาคทองนาโนที่ 18 - 20 นาโนเมตร

4. จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์โดยนำโพรบ (Probe) 1 ไมโครโมลาร์ ผสมกับอนุภาคทองนาโน 500 ไมโครลิตร และโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ 0.05 โมลาร์ เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเติมกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกของตัวอย่างพืชที่ต้องการตรวจ 1 ไมโครโมลาร์ และปรับปริมาตรด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดไอออนเป็น 700 ไมโครลิตร

5. ถ้ามีกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกที่ต้องการ จะให้ผลการวิเคราะห์เป็นสีน้ำเงินถึงม่วง

**ผลการตรวจวิเคราะห์พืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมจากกระบวนการพันธุวิศวกรรมด้วยอนุภาคทองนาโน**

จากการนำพืชตัวอย่างในท้องตลาดมาทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยอนุภาคทองนาโน แล้ว พบว่า กรรมวิธีดังกล่าว สามารถตรวจวัดพืชที่มีการตัดต่อพันธุกรรมได้ โดยมีการเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีน้ำเงินอมม่วง และเมื่อเปรียบเทียบกับค่าการตรวจวิเคราะห์ของช่วงความเข้มข้นของตัวอย่างกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกของพืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมที่สามารถใช้วิธีการวิเคราะห์นี้แล้ว ได้ผลการวิเคราะห์ที่เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้อยู่ในระดับที่มีความถูกต้อง และยอมรับได้ ดังแสดงใน **รูปที่ 1**

<u>วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด</u>

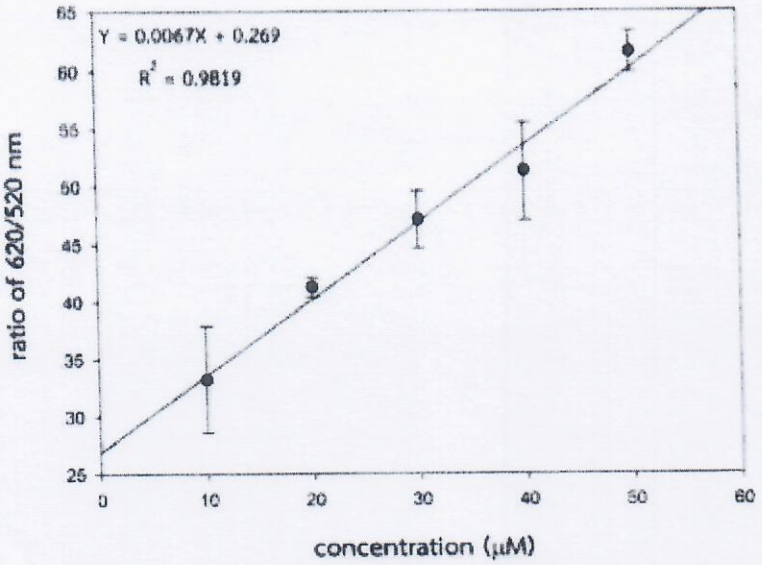
เหมือนกับที่ได้กล่าวไว้แล้วในหัวข้อการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

## ข้อถือสิทธิ

1. กรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์พืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมจากกระบวนการพันธุวิศวกรรมด้วยอนุภาคทองนาโน

เตรียมกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (Deoxyribonucleic Acid) จากพืชด้วยวิธีการสกัดของ Doyle และ Doyle (1987) และทำการตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร จากนั้นเตรียมโพรบ (Probe) สำหรับการตรวจจับกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกของพืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมจากกระบวนการพันธุวิศวกรรมด้วย 35S-F / R และ NOS-F /R แล้วเตรียมอนุภาคทองนาโนจาก 5 มิลลิโมลาร์ ของเตตระคลอโรออเรท ($HAuCl_4$) ด้วยวิธีของ Nath และ Chilkoti (2002) เพื่อให้ได้ขนาดอนุภาคทองนาโนที่ 18 - 20 นาโนเมตร จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์โดยนำโพรบ (Probe) 1 ไมโครโมลาร์ ผสมกับอนุภาคทองนาโน 500 ไมโครลิตร และโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ 0.05 โมลาร์ เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเติม กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกของตัวอย่างพืชที่ต้องการตรวจ 1 ไมโครโมลาร์ และปรับปริมาตรด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดไอออนเป็น 700 ไมโครลิตร ถ้ามีกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกที่ต้องการ จะให้ผลการวิเคราะห์เป็นสีน้ำเงินถึงม่วง

หน้า 1 ของจำนวน 1 หน้า




**รูปที่ 1**

## บทสรุปการประดิษฐ์

เตรียมกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (Deoxyribonucleic Acid) จากพืชด้วยวิธีการสกัดของ Doyle และ Doyle (1987) และทำการตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร จากนั้นเตรียมโพรบ (Probe) สำหรับการตรวจจับกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกของพืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมจากกระบวนการพันธุวิศวกรรมด้วย 35S-F / R และ NOS-F /R แล้วเตรียมอนุภาคทองนาโนจาก 5 มิลลิโมลาร์ ของเตตระคลอโรออเรท ($HAuCl_4$) ด้วยยวิธีของ Nath และ Chilkoti (2002) เพื่อให้ได้ขนาดอนุภาคทองนาโนที่ 18 - 20 นาโนเมตร จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์โดยนำโพรบ (Probe) 1 ไมโครโมลาร์ ผสมกับอนุภาคทองนาโน 500 ไมโครลิตร และโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ 0.05 โมลาร์ เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเติม กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกของตัวอย่างพืชที่ต้องการตรวจ 1 ไมโครโมลาร์ และปรับปริมาตรด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดไอออนเป็น 700 ไมโครลิตร ถ้ามีกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกที่ต้องการ จะให้ผลการวิเคราะห์เป็นสีน้ำเงินถึงม่วง พบว่ากรรมวิธีนี้ให้การตรวจวิเคราะห์พืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมจากกระบวนการพันธุวิศวกรรมได้เป็นอย่างดี ที่ช่วงการตรวจวิเคราะห์ที่ช่วง 10 – 50 ไมโครโมลาร์