(19) กรมทรัพย์สินทางปัญญา
กระทรวงพาณิชย์
เลขที่อนุสิทธิบัตร 19325

(10) เลขที่ประกาศโฆษณา 19325
(43) วันประกาศโฆษณา 17 กุมภาพันธ์ 2565
(40) วันออกอนุสิทธิบัตร 17 กุมภาพันธ์ 2565

(12) ประกาศโฆษณาการจดทะเบียนการประดิษฐ์และออกอนุสิทธิบัตร

(21) เลขที่คำขอ 1903000858
(22) วันที่ยื่นคำขอ 9 เมษายน 2562

(51) สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ Int.Cl.
C12Q 1/68

(31) เลขที่คำขอที่ยื่นครั้งแรก
-
(32) วันที่ยื่นคำขอครั้งแรก
-
(33) ประเทศที่ยื่นคำขอครั้งแรก
-

(71) ผู้ขอรับสิทธิบัตร
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
(72) ผู้ประดิษฐ์
นายธงชัย แก้วพินิจ และคณะ
(74) ตัวแทน
นางสาวนิยดา รุ่งเรืองผล
114 มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ซ.สุขุมวิท 23 แขวงคลองตันเหนือ เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110

(54) ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์ กรรมวิธีการตรวจสอบยีนของเชื้อคลามัยเดีย ทราโคมาทิส (Chlamydia trachomatis) ที่ก่อโรคหนองในเทียมแบบขั้นตอนเดียวด้วยแถบสี

(57) บทสรุปการประดิษฐ์

กรรมวิธีการตรวจสอบยีนของเชื้อ*คลามัยเดีย ทราโคมาทิส* (*Chlamydia trachomatis*) ที่ก่อโรคหนองในเทียมแบบขั้นตอนเดียวด้วยแถบสี เริ่มจากการออกแบบไพรเมอร์ 5 เส้น ที่จำเพาะต่อลำดับเบสของเชื้อ*คลามัยเดีย ทราโคมาทิส* (*Chlamydia trachomatis*) บนยีน*พลาสมิด* (*plasmid*) ซึ่งโดยให้ไพรเมอร์ 1 เส้นติดฉลากด้วยไบโอติน (biotin) หรือไดกอกซิเจนิน (Digoxigenin) และให้ไพรเมอร์อีก 1 เส้นติดฉลากด้วยสารเรืองแสง (FITC) ในการติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบนแผ่นดิพสติค (dipstick) ในระบบนี้ดีเอ็นเอเป้าหมายจะถูกเพิ่มปริมาณภายใต้อุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที ในกล่องให้ความร้อน (heating block) แล้วอ่านผลบนแผ่นดิพสติค (dipstick) เมื่อให้ผลบวก จะปรากฏเส้นทดสอบสีชมพู บริเวณแถบทดสอบ (T) และแถบควบคุม (C) แสดงว่า ในตัวอย่างพบเชื้อ*คลามัยเดีย ทราโคมาทิส* (*Chlamydia trachomatis*) แต่ถ้าผลลบ จะปรากฏเส้นทดสอบสีชมพู เฉพาะแถบควบคุม (C) เท่านั้น วิธีการนี้เทียบเท่ากับการตรวจสอบด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (PCR) แบบเรียลไทม์ (real time) อีกทั้งยังไม่ต้องใช้เครื่องพีซีอาร์ (PCR) และเครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยกระแสไฟฟ้าในการติดตามผลของปฏิกิริยา

(11) เลขที่ประกาศโฆษณา 19325

ข้อถือสิทธิ

1. กรรมวิธีการตรวจสอบยืนของเชื้อ*คลามัยเดีย ทราโคมาทิส* (*Chlamydia trachomatis*) ที่ก่อโรคหนองในเทียมแบบขั้นตอนเดียวด้วยแถบสีที่ซึ่งประกอบด้วยการทำปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) ร่วมกับการประยุกต์ใช้แผ่นดิพสติค (dipstick) การทำปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย ฟอร์เวิร์ดอินเนอร์ไพรเมอร์ (FIP) และแบคเวิร์ดอินเนอร์ไพรเมอร์ (BIP) อย่างละ 50 พิโคโมล, ฟอร์เวิร์ดเอาเทอร์ไพรเมอร์ (F3), แบคเวิร์ดเอาเทอร์ไพรเมอร์ (B3) และโพรบไพรเมอร์ (probe) อย่างละ 5 พิโคโมล, ดีเอ็นทีพี (dNTP) 0.8 มิลลิโมลาร์ผสมด้วยสารเบตาอีน (betaine) 0.6 โมลาร์, สารแมกนีเซียมซัลเฟส ($MgSO_4$) 4 มิลลิโมลาร์, เอนไซม์ *บีเอสที* ดีเอ็นเอ โพลีเมอเรส (*Bst* DNA polymerase) 8 U และสารละลายบัฟเฟอร์ ด้วยการทำปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) ที่อุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นดูดสารละลายดังกล่าวปริมาตร 5 ไมโครลิตรใส่ในหลอดใหม่ที่มีสารละลายบัฟเฟอร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นจุ่มแผ่นดิพสติค (dipstick) ลงในสารละลาย รอเวลา 5 นาที แล้วอ่านผลบนแผ่นดิพสติค (dipstick) เมื่อให้ผลบวก จะปรากฏเส้นทดสอบสีชมพู บริเวณแถบทดสอบ (T) และแถบควบคุม (C) แสดงว่า ในตัวอย่างพบเชื้อ*คลามัยเดีย ทราโคมาทิส* (*Chlamydia trachomatis*) แต่ถ้าผลลบจะปรากฏเส้นทดสอบสีชมพู เฉพาะแถบควบคุม (C) เท่านั้น และเป็นการตรวจสอบหาเชื้อ*คลามัยเดีย ทราโคมาทิส* (*Chlamydia trachomatis*) ด้วยแผ่นดิพสติค (dipstick) ในผู้ป่วยที่สงสัยการติดเชื้อนี้ เพื่อการตรวจวินิจฉัยและป้องกันการระบาดของโรค กรรมวิธีนี้ออกแบบไพรเมอร์สำหรับเทคนิคแลมป์ (LAMP) ที่ใช้ในการตรวจเชื้อ*คลามัยเดีย ทราโคมาทิส* (*Chlamydia trachomatis*) ในปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) ประกอบด้วยไพรเมอร์ 5 เส้น ที่จำเพาะต่อลำดับเบสของเชื้อ*คลามัยเดีย ทราโคมาทิส* (*Chlamydia trachomatis*) บนยีน*พลาสมิด* (*plasmid*) โดยให้ฟอร์เวิร์ดอินเนอร์ไพรเมอร์ (FIP) ติดฉลากด้วยไบโอติน (biotin) หรือไดกอกซิเจนิน (Digoxigenin) และให้โพรบไพรเมอร์ (probe) ติดฉลากด้วยสารเรืองแสง (FITC) ในการติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบนแผ่นดิพสติค (dipstick) ดังนี้

ฟอร์เวิร์ดเอาเทอร์ไพรเมอร์ (F3) ลำดับเบส (5'-3') gAAAAggCgATTTAAAAACCAA

แบคเวิร์ดเอาเทอร์ไพรเมอร์ (B3) ลำดับเบส (5'-3') ggAACACATgATgCgAAgT

แบคเวิร์ดอินเนอร์ไพรเมอร์ (BIP) ลำดับเบส (5'-3')

gTTAgAgAAACgATAgATAAgTCTgTTTTTAATTggCgATTCTTCTCTgAA

ฟอร์เวิร์ดอินเนอร์ไพรเมอร์ (FIP) ลำดับเบส (5'-3')

ไบโอติน (biotin) /ไดกอกซิเจนิน (Digoxigenin; Dig) ATCCAACACCCTTATCgCCgTTTTggTCg ATgTgATAgggAAAg

โพรบไพรเมอร์ (probe) ลำดับเบส (5'-3')

FITC- TgAgTTCgACATTCCACATA

(ข้อถือสิทธิ 1 ข้อ, รูปเขียน 2 รูป)