Thesis Title Identification of Drug-type and Fiber-type of Hemp (*Cannabis sativa* L.) by Multiplex PCR

Author Mr. Somkhid Thichak

Degree Master of Science (Pharmaceutical Sciences)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Surapol Natakankitkul	Advisor
Asst. Prof. Dr. Sunee Chansakaow	Co-advisor
Dr. Salakchit Chutipongvivate	Co-advisor

ABSTRACT

The multiplex PCR method for identification of drug-type and fiber-type of hemp was developed and evaluated. Two loci of DNA targets were simultaneously amplified with two pairs of primers. The first pair was designed herein to be specific to a locus on *rbcL* gene of *Cannabis* genus. It was expected to produce 700 bp-amplified fragment called "*Cannabis* marker", and used as internal control. The second pair has been designed to be specific to a locus on THCA synthase gene of drug-type plant, and it produced 1.2 kb-amplified product named "drug-type marker". In this study, 100 hemp samples were used. The results showed that *Cannabis* marker was detected in all samples and it confirmed the presence of *Cannabis* plant. Among these, 63 samples simultaneously presented drug-type marker, and they were identified to be drug-type plants. The others with occurrence of *Cannabis* marker only were considered fiber-type. The developed multiplex PCR method was compared with the CBD/THC ratio-based reference method. The relative accuracy between them was 93%.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การพิสูจน์เอกลักษณ์ของเฮมพ์ (*Cannabis sativa* L.) ประเภทเสพติดและประเภทเส้นใยโดยมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์

ผู้เขียน นายสมคิด ธิจักร์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ.ดร. สุรพล นธการกิจกุล อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

ผศ.ดร. สุนีย์ จันทร์สกาว อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ดร. สลักจิต ชุติพงษ์วิเวท อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและประเมินวิธีมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์สำหรับใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของเฮมพ์ ประเภทเสพติดและประเภทเส้นใย โดยวิธีมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์อาศัยหลักการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอเป้าหมายสองตำแหน่งพร้อมกันด้วยไพรเมอร์สองคู่ ไพรเมอร์คู่แรกออกแบบในที่นี้ให้สามารถจับได้แบบจำเพาะกับตำแหน่งบนยีน *rbcL* ของพืชสกุล *Cannabis* คาดว่าจะได้ผลผลิตชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 700 คู่เบส เรียกว่า “*Cannabis* marker” ซึ่งใช้เป็นตัวควบคุมคุณภาพภายใน ไพรเมอร์คู่ที่สองถูกออกแบบให้สามารถจับได้แบบจำเพาะกับตำแหน่งบนยีน THCA synthase ของพืชประเภทเสพติด และผลผลิตที่ได้เป็นชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 1.2 กิโลเบส เรียกว่า “drug-type marker” ผลการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างเฮมพ์จำนวน 100 ตัวอย่าง พบว่าสามารถตรวจพบ *Cannabis* marker ในทุกตัวอย่างซึ่งสามารถใช้ยืนยันพืชสกุล *Cannabis* ได้ ในจำนวนนี้มี 63 ตัวอย่างตรวจพบ drug-type marker ร่วมด้วย จึงจัดเฮมพ์กลุ่มนี้เป็นประเภทเสพติด สำหรับ 37 ตัวอย่างที่เหลือจัดเป็นเฮมพ์ประเภทเส้นใย เมื่อเปรียบเทียบวิธีมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์กับวิธีอ้างอิงซึ่งอิงค่า CBD/THC ratio พบว่าวิธีทั้งสองมีความถูกต้องสัมพัทธ์ร้อยละ 93

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved