

## การทดสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของเมล็ดพันธุ์ (seed genetic purity test)

### I. วิธีการที่ใช้ทดสอบ

การทดสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของเมล็ดพันธุ์โดยวิธี In house method (I-NS-NOC-T001) based on SNP genotyping (United States Patent, Patent No.: US 9,689,030 B2, Patent No.: US 10,155,975 B2) ตามขอบข่ายของระบบบริหารคุณภาพ ISO 17025 โดยใช้เทคโนโลยี SNPs genotyping technology

### II. ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างทดสอบ

1. ตัวอย่างทดสอบที่ต้องนำส่งประกอบด้วย ลูกผสม F1 โดยจำนวนนำส่งเป็นไปตามจำนวนที่ต้องการทดสอบ บวก 10% ของจำนวนตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ เพื่อใช้ในกรณีคัดตัวอย่างที่ไม่สมบูรณ์ การตกหล่น หรือการทดสอบซ้ำ โดยการจัดส่งเป็นไปตามเกณฑ์ ดังนี้

- ตัวอย่างเมล็ดหรือต้นอ่อนจัดเก็บภายใต้สภาวะแวดล้อมอุณหภูมิห้อง
- ใบพืชและสารละลายดีเอ็นเอนำส่งโดยวางบนน้ำแข็ง หรือ น้ำแข็งแห้ง

#### ตัวอย่างเมล็ด (seed)

- ลักษณะของตัวอย่างเมล็ด ต้องมีรูปร่างสมบูรณ์ ไม่ลีบแบน ไม่ฝ่อ ไม่เน่าเสีย ไม่มีรอยโรคและมีแมลงกัดแทะ และไม่มีสิ่งเจือปนอื่นๆ
- การบรรจุตัวอย่าง ให้บรรจุในถุงบรรจุที่ปิดสนิท พร้อมทั้งระบุชื่อหรือรหัสของตัวอย่างให้ชัดเจน ด้วยดินสอหรือหมึกป้องกันน้ำ และบรรจุในถุงตัวอย่างภายในภาชนะที่ป้องกันอีกชั้นเพื่อป้องกันความเสียหายขณะนำส่ง
- เมล็ดพันธุ์ที่ไม่สามารถส่งได้ตามปกติ ได้แก่
  - ตัวอย่างเมล็ดที่มีส่วนของเปลือกแข็งมาก เช่น ถั่ว ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เป็นต้น จำเป็นต้องเพาะกล้าให้มีอายุ 3-5 วันหลังเพาะ ให้เมล็ดงอกรากและใบเลี้ยงแล้วก่อนนำส่งให้ห้องปฏิบัติการ (คุณภาพการเตรียมตัวอย่างการเพาะเมล็ด)
  - ตัวอย่างที่มี seed coat แข็งและหนามากจำเป็นต้องแกะเปลือกแล้วส่งส่วนของเนื้อเมล็ดที่มีเอมบริโอสมบูรณ์มาทดสอบ (คุณภาพการเตรียมตัวอย่างการเพาะเมล็ด) ได้แก่ มะระ บวบ ฟักทอง น้ำเต้า เป็นต้น

#### ตัวอย่างสารละลายดีเอ็นเอ (DNA)

- ความเข้มข้น 50 ng/ul ปริมาณไม่น้อยกว่า 20 ul
- ลักษณะของตัวอย่างต้องเป็น สารละลายใสสีขาวหรือขาวขุ่นเล็กน้อย ไม่ควรมีตะกอน ฝุ่น หรือสี สารละลายดีเอ็นเอที่ออกเหลือง/น้ำตาล
- การบรรจุสารละลาย ให้บรรจุในหลอด microtube ขนาด 1.5 หรือ 2 ml หรือ PCR plate ขนาด 96 wells ที่ปิดสนิท พร้อมทั้งระบุชื่อหรือรหัสของตัวอย่างให้ชัดเจน และบรรจุในภาชนะที่ป้องกันความเสียหายก่อนนำส่ง

### ตัวอย่างต้นอ่อนและใบพืช

- ลักษณะของตัวอย่าง ไม่เน่าเสีย ไม่มีรอยโรคและมีแมลงกัดแทะ และไม่มีสิ่งเจือปนอื่นๆ
- การบรรจุตัวอย่าง ให้บรรจุในถุงบรรจุที่ปิดสนิท พร้อมทั้งระบุชื่อหรือรหัสของตัวอย่างให้ชัดเจน ด้วยดินสอหรือหมึกป้องกันน้ำ และบรรจุในถุงตัวอย่างภายในภาชนะที่ป้องกันอีกชั้นเพื่อป้องกันความเสียหายขณะนำส่ง

2. ผู้ขอรับบริการต้องกรอกรายละเอียดคำขอรับบริการของศูนย์ไอมีกส์แห่งชาติ ให้ถูกต้อง ครบถ้วน โดยแจ้งความประสงค์ขอส่งตัวอย่างทดสอบ seed genetic purity test ด้วยวิธี SNP genotyping พร้อมทั้งลงนามผู้จัดส่งและระบุ วัน/เดือน/ปี

หมายเหตุ : แบบคำขอรับบริการต้องแนบส่งพร้อมตัวอย่างทุกครั้ง หรือสามารถส่งเป็นไฟล์สแกนมาที่ อีเมล [noc.th@nstda.or.th](mailto:noc.th@nstda.or.th)

### III. การตรวจรับตัวอย่างทดสอบเบื้องต้น

- การตรวจรับตัวอย่างทดสอบ โดยวิธีการตรวจนับตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ลูกผสม F1 และสภาพตัวอย่างโดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการก่อนดำเนินการทดสอบ

### IV. การอ่านค่าผลการทดสอบ

- ทำการนับจำนวนลักษณะจีโนไทป์ของลูกผสม F1 โดยไม่นับลักษณะจีโนไทป์ของตัวควบคุมบวกและตัวควบคุมลบ

### V. ระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบ

#### จำนวนตัวอย่างไม่เกิน 40 ตัวอย่าง

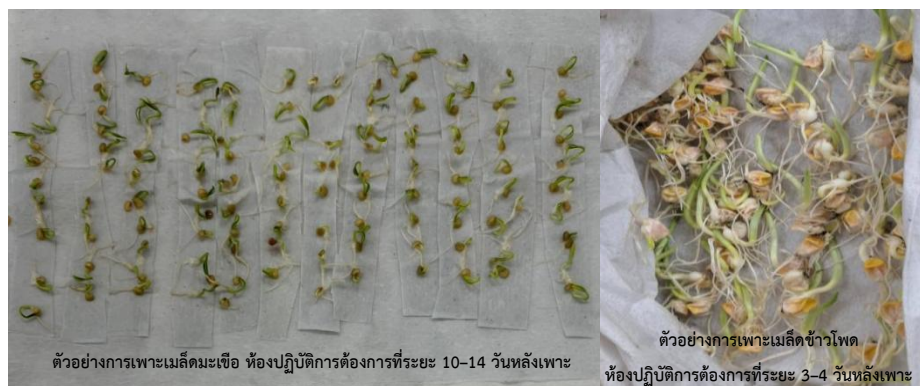
- ชนิดตัวอย่างที่เป็นเมล็ด จะรวมขั้นตอนการเพาะเมล็ดเพื่อเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอด้วย ผู้รับบริการจะได้รับผลการทดสอบภายใน 21 วันทำการ
- ชนิดตัวอย่างที่เป็นสารละลายดีเอ็นเอ ผู้รับบริการจะได้รับผลการทดสอบภายใน 7 วันทำการ

#### จำนวนตัวอย่างเกิน 40 ตัวอย่าง แต่ไม่เกิน 100 ตัวอย่าง

- ชนิดตัวอย่างที่เป็นเมล็ด จะรวมขั้นตอนการเพาะเมล็ดเพื่อเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอด้วย ผู้รับบริการจะได้รับผลการทดสอบภายใน 28 วันทำการ
- ชนิดตัวอย่างที่เป็นสารละลายดีเอ็นเอ ผู้รับบริการจะได้รับผลการทดสอบภายใน 14 วันทำการ

หมายเหตุ : วันทำการจะไม่รวมวันหยุด ส.-อ. และวันหยุดนักขัตฤกษ์

### ตัวอย่างการเพาะต้นอ่อน (seedling)



### ตัวอย่างการเตรียมเมล็ดที่ถูกกะเทาะเปลือก

