Mycology Laboratory
113 Thailand Science Park, Paholyothin Road,
Klong 1, Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
Tel: +66-2-564-6700 ext 3202 Fax: +66-2-564-6707

BIOTEC
a member of NSTDA

# รายงานผลการจำแนกจุลินทรีย์

## IDENTIFICATION'S REPORT

| | |
|---|---|
| ชื่อผู้ขอรับบริการ / Customer's name: นางอรัญญา ภิญโญรัตนโชติ | เลขที่ / No. : MY07-08 |
| องค์กรและที่อยู่ / Institute and address: บริษัท โปรไบโอติกแอนด์เฮอร์บัล จำกัด 59 ม.5 ต.ชะเมา อ.ปากพนัง จ.นครศรีธรรมราช 80330 | วันที่ได้รับตัวอย่าง / Sample receive date : 10 กรกฎาคม 2558<br>วันที่รายงานผล/ Report date: 21 ส.ค. 2558 |

| ลำดับที่ No. | รหัสตัวอย่าง Sample No. | วิธีการจำแนกชนิด Method of identification | ผลการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ BLAST result | % ความเหมือน % similarity | หมายเหตุ Note |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | WY2/7 | อณูชีววิทยา | *Fomitopsis cf. meliae* | 99% | ITS1/ITS4 |
| | | | *Fomitopsis meliae* | 99% | LROR/LR5 |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

โปรดทำเครื่องหมาย ✓ ในช่อง ○ ที่ต้องการ

เอกสารแนบ: ☑ วิธีการวิเคราะห์ ☑ ลำดับนิวคลีโอไทด์ ☑ ข้อมูลการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์
④ อื่นๆ (โปรดระบุ) .....

ผู้ปฏิบัติงาน สลิลาพร นวลแก้ว
(นางสาวสลิลาพร นวลแก้ว)

ผู้รายงานและวิเคราะห์ผล สลิลาพร นวลแก้ว
(นางสาวสลิลาพร นวลแก้ว)

Disclaimer:
ผลการตรวจสอบเป็นผลจากการตรวจสอบสำหรับชิ้นตัวอย่างที่ได้รับภายใต้สภาวะที่ระบุไว้เท่านั้น ไม่สามารถใช้คาดคะเนผลที่นอกเหนือจากนี้ได้ ทั้งนี้ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) จะไม่รับผิดชอบต่อผลแห่งการกระทำหรือความเสียหายใดๆที่เกิดจากข้อมูลนี้ และโปรดทราบว่าศูนย์ฯไม่ใช่หน่วยงานที่มีอำนาจในการรับรองผลการตรวจสอบใดๆทั้งสิ้น ตลอดจนไม่อนุญาตให้ใช้ชื่อ ตราหรือสัญลักษณ์ของศูนย์ฯในการกล่าวอ้างใดๆ ทั้งสิ้น เว้นแต่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรก่อน

The results reported herein are for the test specimens and specified condition only and cannot be used to certify the goods not tested. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC) will not take any responsibility for any consequence or damage, which may result from this information. Please note that BIOTEC is not a certification body. Use of the Center name or symbol (Logo) in any case without written permission is prohibited.

## MOLECULAR TECHNIQUE

### DNA extraction

Genomic DNA was extracted from fresh mycelia using E.Z.N.A. Forensic DNA Isolation Kit (Omega Bio-Tek), following the manufacturer's manual.

### PCR: ITS

The internal transcribed spacer (ITS) region was amplified in a 50-μl reaction volume containing 1X buffer, 2.5 mM $MgCl_2$, 0.2 mM dNTPs, 0.2 μM of each primer (ITS5 and ITS4), and 1 U *Taq* DNA polymerase. The PCR temperature profile began with an initial denaturation at 96°C for 2 min, followed by 35 cycles of 96°C for 1 min, 53°C for 1 min and 72°C for 1:30 min. The final extension was carried out for 10 min at 72°C.

### PCR: LSU

The large subunit (LSU) nuclear ribosomal DNA region was amplified in a 50-μl reaction volume containing 1X buffer, 2.5 mM $MgCl_2$, 0.2 mM dNTPs, 0.2 μM of each primer (LROR and LR7), and 1 U *Taq* DNA polymerase. The PCR temperature profile began with an initial denaturation at 95°C for 2 min, followed by 35 cycles of 95°C for 1 min, 53°C for 1:30 min and 72°C for 2:30 min. The final extension was carried out for 10 min at 72°C.

### Gel Electrophoresis and Sequencing

PCR product was checked by 1% agarose gel electrophoresis, stained with ethidium bromide, and visualized under ultraviolet (UV) transilluminator. The PCR product was sent to be sequenced for both directions on an automated DNA sequencer (Macrogen Inc., Korea).