บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1ประวัติการนำสุกรเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทย

สมัยพระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัวได้มีผู้นำสุกรจากประเทศอังกฤษเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทยจำนวน 2 พันธุ์ได้แก่พันธุ์ลาร์จแบล็ค (Large black) และพันธุ์เอสเสก (Essex) ต่อมา พ.ศ. 2461 สุกรทั้ง 2 พันธุ์นี้ได้นำไปเลี้ยงที่โรงเรียนเกษตรกรรมนครปฐมและสูญพันธุ์ไปในที่สุดในปีพ.ศ. 2482 โดยพระนรราชจำนงและคณะทูตสันถวไมตรีได้มีการนำเข้าสุกรมาจากประเทศออสเตรเลียและสุกรดังกล่าวได้ถูกนำไปเลี้ยงที่สถานีกสิกรรมแม่โจ้จังหวัดเชียงใหม่ได้แก่พันธุ์เบอร์กเชียร์ (Berkshire) ลาร์จไวท์ (Large White) มิดเดิลไวท์ (Middle White) และพันธุ์แทมเวอร์ท (Tam Worth) หลังจากนั้นในปีพ.ศ. 2484 สุกรดังกล่าวได้ถูกแบ่งมาเลี้ยงที่สถานีเกษตรกรรมกลางบางเขนและได้สูญพันธุ์ไปจากสงครามมหาเอเชียบูรพา (สงครามโลกครั้งที่ 2) และในปี พ.ศ. 2492 กองสัตวบาลกรมปศุสัตว์ได้สั่งซื้อสุกรทั้ง 4 พันธุ์ดังที่กล่าวจากประเทศออสเตรเลียมาเพิ่มอีกจำนวน 86 ตัวต่อมาในปี พ.ศ. 2497กรมปศุสัตว์โดยความช่วยเหลือขององค์การยูซ่อม (united states operation mission, USOM)ได้ส่งนายประยูรสิทธิชัยนายยอดวัฒนสินธุ์และนายจอมวิลเลียมไปซื้อสุกรพันธุ์ดูรอค (Doroc)เบอร์กเชียร์และแฮมเชียร์ (Hamshire) จากประเทศสหรัฐอเมริกาในปี พ.ศ.2500 โดยการช่วยเหลือของแผนการโคลัมโบได้จัดซื้อสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์จากฟาร์มที่มีชื่อเสียงของประเทศอังกฤษจำนวน 25 ตัวเป็นสุกรที่มีลักษณะการให้เนื้อดีลำตัวยาวเต้านมมากกว่าสุกรที่มีการเลี้ยงอยู่เดิมและในปีพ.ศ. 2504 กรมปศุสัตว์ให้นายอิสระกรีชาพลเป็นเจ้าหน้าที่จัดซื้อสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์เพิ่มอีกจำนวน 15 ตัวซึ่งต่อมากรมปศุสัตว์ให้นายสมจิตรยอดเศรณีและนายศิริพงษ์สุคนธสรรพ์เป็นเจ้าหน้าที่จัดซื้อสุกรพันธุ์ดูรอคเพื่อเปลี่ยนสายเลือดอีกจำนวน 5 ตัวเมื่อปี พ.ศ. 2505 ต่อมามีบริษัทเอกชนนำเข้าสุกรอีกเป็นจำนวนมากจนกระทั่งปัจจุบันสุกรที่นำเข้ามาเลี้ยงส่วนใหญ่มี 4 พันธุ์คือลาร์จไวท์แลนด์เรซดูรอคและเพียเทรน (บัญชา, 2552)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2สุกรพันธุ์ลาร์จไวท์(Large White)

สุกรสายพันธุ์ Large White (ภาพ 1) เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ Lechesterกับสุกรพันธุ์ Yerkshireเป็นสุกรพันธุ์ดั้งเดิมในเมืองยอร์คชายร์ นำเข้าไปที่อเมริกา แคนนาดาในคตวรรษที่ 19(พงศ์พิชาญ, 2554)สุกรพันธุ์นี้มีความยาวจมูกปานกลาง หน้ากว้างและหักปานกลาง คางหลิมหูตั้งปานกลางเอนไปข้างหน้าเล็กน้อย หัวโตขนาดกลางคอยาวปานกลาง ลำตัวยาวแคบลึก ไหล่โตโดยเพศผู้มีน้ำหนักเมื่ออายุโตเต็มที่ประมาณ350 กิโลกรัมส่วนเพศเมียจะมีน้ำหนักประมาณ250 - 300 กิโลกรัมและมีอัตราการให้ลูกประมาณ10 -15 ตัว เลี้ยงลูกเก่ง มีน้ำนมมาก แต่สำหรับแม่สุกรที่ขนาดใหญ่มากๆมักจะอุ้ยอ้ายและมีการทับลูกตัวเองทำให้มีอัตราการสูญเสียเพิ่มขึ้น ส่วนใหญ่แล้วสุกรสายพันธุ์นี้จะมีการเจริญเติบโตและมีประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อได้ดี (feed conversion rate, FCR)สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของประเทศไทยได้ดี(ประไพพรรณ, 2554)

ภาพ1ลักษณะสุกรสายพันธุ์Large White

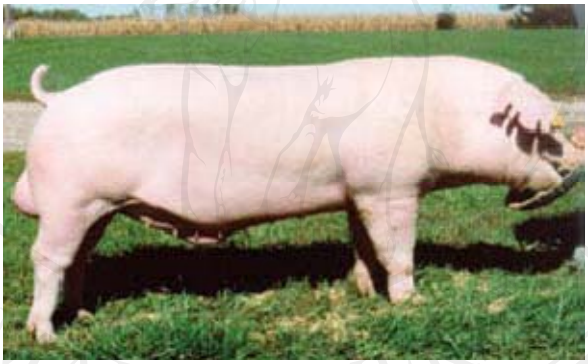
(ที่มา: http://www.swinegenetics.com/)

2.3สุกรพันธุ์แลนด์เรซ(Landrace)

ต้นกำเนิดของสุกรพันธุ์ Landrace(ภาพ 2) มาจากประเทศเดนมาร์กโดยเกิดจากการผสมระหว่างสุกรพันธุ์ Large White กับพันธุ์ดั้งเดิมของเดนมาร์กจึงตั้งชื่อว่า DamishLandraaceส่วนใหญ่แล้วสุกรพันธุ์นี้จะมีการปรับปรุงพันธุ์ที่เน้นให้สุกรมีเนื้อ 3 ชั้นที่สวย(พงศ์พิชาญ, 2554) มีการรับรองเป็นพันธุ์แท้เมื่อปี พ.ศ2433 โดยเป็นพันธุ์ที่มีชื่อเสียงมากด้านคุณภาพซากส่วนใหญ่สุกร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

พันธุ์ Landraceจะมีจมูกยาว คางหลิมเล็ก หูปรก สีของขนและหนังขาว อาจมีจุดดำปรากฏบ้าง ลำตัวยาว หนาลึก ไหล่กว้างสะโพกโตเห็นชัดเพสเมียมีจำนวนลูกดกปานกลาง เลี้ยงลูกเก่งมีความสามารถในการให้นมดีเป็นพิเศษ และสามารถให้นมได้ทนกว่าสุกรพันธุ์อื่นๆซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะนิยมใช้เป็นแม่พันธุ์ในการผลิตลูกผสม โดยยังคงลักษณะความสามารถในการเป็นแม่พันธุ์ที่ดีมีการเจริญเติบโตเร็วและมีประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อได้สูงเป็นสุกรที่มีคุณภาพของซากที่ถูกต้องในแง่ประเภทเบคอนที่สมบูรณ์มากประเทศอเมริกาได้นำเข้าสุกรสายพันธุ์นี้ในศตวรรษที่ 19 โดยผสมกับพันธุ์ Poland China ได้ลักษณะ จมูกยาวหัวเรียวเล็ก หูปรกใหญ่ลำตัวยาว จำนวนซี่โครงประมาณ 14 - 17 คู่ไหล่กว้างหนา ขาสั้น กระดูกเท้าอ่อนกว่าพันธุ์อื่น ให้ลูกดก เลี้ยงลูกเก่ง ให้นมมากและเติบโตเร็ว สุกรสายพันธุ์ Landrace ถูกนำเข้ามาในประเทศไทยตั้งแต่ปี 2506 และเป็นหนึ่งในสุกรสายพันธุ์ทางการค้าที่ได้รับความนิยมเลี้ยง(ประไพพรรณ, 2554)



ภาพ2ลักษณะสุกรสายพันธุ์Landrace
(ที่มา: http://www.swinegenetics.com/)

2.4ลักษณะจำนวนลูกต่อครอก (Litter size)

ลักษณะจำนวนลูกต่อครอก (litter size)(ภาพ3)เป็นลักษณะที่ภาคอุตสาหกรรมการผลิตสุกรให้ความสำคัญเป็นอย่างยิ่งและต้องการปรับปรุงประสิทธิภาพให้สูงขึ้น เนื่องจากลักษณะจำนวนลูกต่อครอกส่งผลกระทบโดยตรงต่อประสิทธิภาพการผลิต ดังนั้นลักษณะจำนวนลูกต่อครอกจึงเป็นเป้าหมายหลักอันหนึ่งของนักปรับปรุงพันธุ์สุกร ในอดีตที่ผ่านมาการปรับปรุงพันธุ์ของลักษณะจำนวนลูกต่อครอกด้วยวิธีมาตรฐานนั้น (คัดเลือกและผสมพันธุ์) มีข้อจำกัดเพราะต้องใช้ระยะเวลาในการคัดเลือกนานถึง 14 ชั่วอายุ ซึ่งพบว่าสุกรกลุ่มคัดเลือกมีอัตราการตกไข่สูงกว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กลุ่มควบคุมที่ไม่มีการคัดเลือก ประมาณ 6.7-7.4 ฟอง และมีจำนวนลูกแรกคลอดเพิ่มขึ้น 1.4 ตัว/ครอก (Johnson *et al*., 1999) หรือมีการคัดเลือกนานกว่า 20 ปี (Rothschild, 1996) จึงจะสามารถเพิ่มจำนวนลูกต่อครอกได้ประมาณ 2.8 ตัว/แม่ ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายสูง ลักษณะจำนวนลูกต่อครอกมักให้ผลตอบสนองในการคัดเลือกค่อนข้างต่ำ ทำให้เป็นอุปสรรคต่อการคัดเลือกเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ ทั้งนี้เนื่องจากลักษณะดังกล่าวขึ้นอยู่กับอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมค่อนข้างสูง และมีค่าอัตราพันธุกรรม (heritability, h^2) อยู่ในระดับต่ำ ประมาณ 0.10 - 0.15(Roehe and Kennedy, 1995) อีกทั้งลักษณะจำนวนลูกต่อครอกยังถูกควบคุมด้วยยีนจำนวนหลายคู่ (Caetano *et al*., 2004; Gladney*et al*., 2004) นอกจากนี้ยังเป็นลักษณะที่แสดงออกได้เฉพาะในสุกรเพศเมียเท่านั้นและจะแสดงออกได้ก็ต่อเมื่อถึงวัยเจริญพันธุ์แล้ว(Spötter and Distl, 2006)

ภาพ 3ลักษณะจำนวนลูกต่อครอก (ที่มา: http://www.pigprogress.net/)

2.5พันธุกรรมของสุกร

จีโนมของสุกรมีขนาดประมาณ 3 x 10^9bpซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมร่างกาย (autosome)จำนวน 18 คู่และโครโมโซมเพศ (sex chromosome) X และ Y (2n = 38)โดย Wodasedalek (1913) เป็นคนแรกที่รายงานการศึกษาโครโมโซมในสุกรเพศผู้เท่ากับ18 แท่งในขณะที่เพศเมียมีโครโมโซมเท่ากับ 20 แท่ง ต่อมา Hance (1917) พบว่าจำนวนโครโมโซมของสุกรเท่ากับ 40 แท่ง รายงานฉบับแรกที่กล่าวถึงจำนวนโครโมโซมของสุกรได้ถูกต้องคือ Krallinger (1931)โดยมีจำนวนของโครโมโซมเท่ากับ 38 แท่งโดยแบ่งได้เป็นโครโมโซม ชนิด submetacentric และ metacentric เท่ากับ26 แท่ง(รวมถึงโครโมโซม x และ y) ในขณะที่อีก 12 แท่งที่เหลือเป็นโครโมโซม ชนิด acrocentric (Halnan, 1989;Eldridge, 1985)

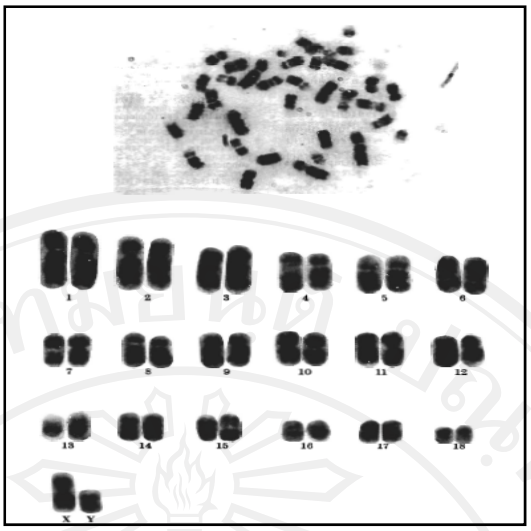
แผนที่ยีน (genetic map) ของสุกรเริ่มมีการศึกษาตั้งแต่ปี 1995 ซึ่งส่วนใหญ่เครื่องหมายโมเลกุลสำหรับใช้ในการสร้างแผนที่ทางพันธุกรรมได้แก่microsatellite, restriction fragment

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

length polymorphism (RFLP), single-stranded conformation polymorphism (SSCP)ซึ่งสามารถสร้างแผนที่ทางพันธุกรรมของสุกรรวมกันได้ประมาณ2,000 ตำแหน่งและในปัจจุบันมีการพัฒนาแผนที่ยีนดังกล่าวอย่างต่อเนื่องโดยมีการเพิ่มเติมเครื่องหมายโมเลกุล microsatellite, AFLP และ single nucleotide polymorphism (SNP)ลงในแผนที่ทางพันธุกรรมของสุกรซึ่งมีจำนวนมากกว่า 5,000 ตำแหน่ง(Rothschild, 2004) นอกจากนี้มีการใช้เทคนิค somatic cell hybrid map (Robic*et al*., 1996) และradiation hybrid (RH) panel (3000, 7000 หรือ 12000 rad) ในสุกร (Yerle*et al*., 1998; 2002;Hawken*et al*., 1999) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา PCR นั้นโดยเฉพาะ RH panel สามารถระบุตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลบนแผนที่ยีนได้เป็นจำนวนมากและรวดเร็วขึ้น (ประมาณ 4,000 ตำแหน่ง) ต่อมามีการพัฒนาแผนที่ยีนแบบเปรียญเทียบ(comparative mapping) ของสุกรกับมนุษย์โดยอาศัยเทคนิคchromosome painting ซึ่งใช้โพรบจากมนุษย์พบว่าโครโมโซมของสุกรเหมือนกับโครโมโซมของมนุษย์ประมาณ 47 ตำแหน่ง (Rettenberger*et al*.,1995;Frönicke*et al*., 1996) และถูกยืนยันด้วยวิธี bidirectional chromosome painting โดยเตรียมโพรบแบบ priming authorizing random mismatches(PARM-PCR)ซึ่งพบว่าโพรบของมนุษย์สามารถจับกับโครโมโซมของสุกรได้ประมาณ 95เปอร์เซ็นต์ในขณะที่โพรบของสุกรสามารถจับโครโมโซมของมนุษย์ได้เท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์(Goureau*et al*., 1996) จากการศึกษาวิจัยด้านต่างๆทำให้การพัฒนาแผนที่ยีนของสุกรก้าวหน้ามากยิ่งขึ้น

นอกจากนี้ การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์สายสั้นๆของยีน(expressed sequence tag,EST)ในเนื้อเยื่อเป้าหมายจากอัณฑะรังไข่ต่อมpituitary ต่อมใต้สมอง (hypothalamus) รก (placenta) ลำไส้เล็กและ endometrium รวมถึงเซลล์ไขมันสันหลัง (Winterø*et al*., 1996; Tuggle*et al*., 2003; Kim*et al*., 2006) ทำให้ทราบกลุ่มยีนที่มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมหรือเกี่ยวข้องกับลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจของสุกรซึ่งเครื่องหมายโมเลกุล EST ดังกล่าวถูกระบุลงบนแผนที่ยีนของสุกรไปแล้วประมาณ 1,060 ตำแหน่ง (Rink *etal*., 2002) ในส่วนการถอดรหัสพันธุกรรมทั้งหมด(Whole-genome sequencing) ของสุกรได้ถอดรหัสพันธุกรรมของสุกรพันธุ์Duroc 1 ตัวได้ประมาณ 550,000 โคลนซึ่งครอบคลุมจีโนมของสุกรประมาณ 13เปอร์เซ็นต์ (Schook*et al*., 2005) ต่อมาได้พัฒนาการถอดรหัสพันธุกรรมด้วยวิธีผสมผสานระหว่างhierarchical shotgun sequencingกับwhole genome shotgun sequencing ทำให้ได้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ครอบคลุมจีโนมสุกรมากกว่า 30 เท่า (Archibald *et al*., 2010)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ4คาริโอไทป์ (Karyotype) ของสุกร (ที่มา:เรืองวิทย์ และคณะ, 2542)

2.6 ระบบคอมพลีเมนต์ (complement system)

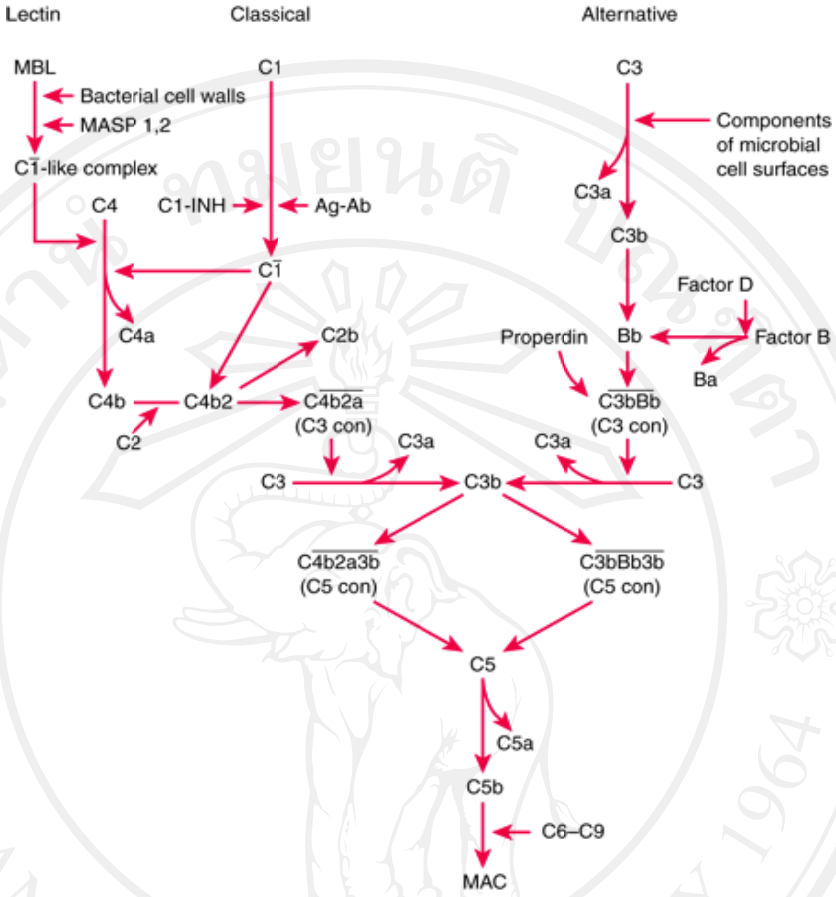
ระบบคอมพลีเมนต์ (complement system) เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่มีแต่กำเนิด (innate immunity) ซึ่งถูกค้นพบโดย Jules Bordet เมื่อปี ค.ศ. 1898 โดยเป็นกลุ่มโปรตีนที่อยู่ในกระแสเลือดมากกว่า 35 ชนิด ประกอบด้วยโปรตีนอย่างน้อย 11 ชนิดได้แก่ C1q, C1r, C1s, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8 และ C9 ซึ่งมีหน้าที่ในการทำลายแบคทีเรียและเชื้อโรคต่างๆที่เข้าสู่ร่างกาย (Boshra and Sonyer, 2006)โดยการกระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์จนได้ macromolecular membrane attack complex (MAC) จะสามารถทำให้เซลล์เป้าหมายแตก (cytolysis) เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อ (inflammation)โดยอาศัย C3a, C4a, C5a เป็นสาร anaphylatoxinsจะจับกับ receptor บน mast cell และ basophils กระตุ้นให้แกรนนูลแตก(degranulation) ปล่อย histamine และ mediators ที่มีผลต่อการเกิดภูมิแพ้ anaphylatoxinsนี้ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ เพิ่มการซึมผ่านของของเหลวในหลอดเลือด ทำให้แอนติบอดีและ phagocytic cells เคลื่อนที่ไปยังบริเวณที่มีแอนติเจน (ไหม, 2543) นอกจากนี้ยังเคลือบเซลล์แปลกปลอม(opsonization) เพื่อดึงดูดให้ phagocytic cells มาจับกินเซลล์แปลกปลอมได้ง่ายขึ้น โดยโปรตีนเหล่านี้อยู่ในรูปของ inactive form ปฏิกิริยาจะเริ่มจากโปรตีน C1 ถูกกระตุ้นด้วยแอนติบอดีที่จับกับแอนติเจนเป็นแอนติบอดีคอมเพล็กซ์ (antigen-antibody complex) แล้วจึงมีการกระตุ้นโปรตีนในระบบอย่างต่อเนื่อง จนทำให้เซลล์เสียสมดุลของภายในเซลล์ด้วยการเกิดรูที่ผิวเซลล์เซลล์จึงถูกทำลาย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.7 การกระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์

การทำงานของระบบคอมพลีเมนต์ จะทำงานคล้ายๆการทำงานของเอนไซม์ โดยโปรตีนในระบบคอมพลีเมนต์ทุกตัวจะอยู่ในรูป inactive form เมื่อถูกกระตุ้นโดยแบคทีเรีย ไวรัส หรือสิ่งแปลกปลอมต่างๆ ระบบคอมพลีเมนต์จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป active form เข้าทำปฏิกิริยาทางชีวภาพต่างๆ โดยการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์ แบ่งออกเป็น 3 ทาง คือ (1)classical complement pathway (2) alternative complement pathway (3) lectin complement pathway ซึ่งการกระตุ้นทั้ง 3 ทางนี้จะให้ปฏิกิริยาช่วงท้ายคล้ายกันคือterminal หรือ membrane attack pathway (ภาพ5)ก่อให้เกิดการสร้างสารโมเลกุลใหญ่ที่จะเข้าทำลายเซลล์เมมเบนเรียกว่า(MAC) ทำให้เกิดการแตกสลาย (lysis) ของเซลล์ แบคทีเรียไวรัสหรือสารที่กระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์ได้(ศักดิ์ชัย, 2553)การกระตุ้นของระบบคอมพลีเมนต์ทาง classical pathway เป็นการกระตุ้นที่อาศัย องค์ประกอบของคอมพลีเมนต์ทั้ง 11 ชนิด โดยเริ่มจากการกระตุ้น C1q, C1r และ C1s ก่อนแล้วต่อไปยัง C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8 และ C9 ตามลำดับส่วนใหญ่แล้วตัวกระตุ้นในส่วนของclassical complement pathway ได้แก่สารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี (antigen-antibody complex) ส่วนการกระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์ทาง alternative pathwayเป็นการกระตุ้นที่ต้องอาศัยสารประกอบที่อยู่บนผิวของเชื้อโรค เช่น lipopolysaccharide และโพลี-แซคคาไรด์บนผิวเซลล์ของแบคทีเรีย หรือปรสิตบางชนิด และ และต้องการโปรตีนในระบบคอมพลีเมนต์คือ C3, C5, C6, C7, C8 และ C9 โดยไม่ต้องอาศัย C1q,C1r, C1s และ C2 และยังมีโปรตีนชนิดอื่นอีกหลายชนิดเข้ามาเกี่ยวข้องด้วยเช่น Factor B, Factor D,Factor H, Factor I, Factor P สำหรับการกระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์ทาง lectinpathwayนั้นเกิดจากการจับกันระหว่าง mannose-binding lectinซึ่งเป็นโปรตีนในซีรัมชนิดหนึ่งกับ mannose ที่อยู่บนผิวของแบคทีเรีย โดยlectinpathway นี้จะอาศัยโปรตีนทุกตัวในระบบคอมพลีเมนต์เช่นเดียวกับclassical pathway(ศักดิ์ชัย, 2553)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



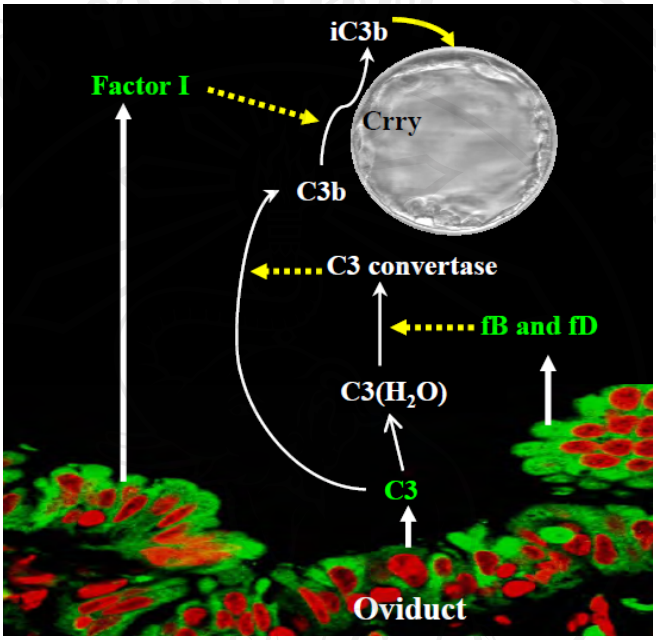
ภาพ 5กลไกของระบบคอมพลีเมนต์(ที่มา: http://www.merckmanuals.com)

2.8 ความสัมพันธ์ของระบบคอมพลีเมนต์แฟคเตอร์บีกับลักษณะจำนวนลูกต่อครอก

คอมพลีเมนต์แฟคเตอร์บี เป็นหนึ่งในโปรตีนที่มีความสำคัญในระบบคอมพลีเมนต์ทาง alternative pathway โดยความสัมพันธ์ของคอมพลีเมนต์แฟคเตอร์บีกับลักษณะจำนวนลูกต่อครอก (ภาพ 6) เริ่มจาก C3, factor I, factor B และ factor D ที่พบว่ามีการแสดงออกที่ epithelium cell ของท่อไข่ (oviduct) ในมนุษย์ (Tse*et al*., 2008) โดย C3 จากท่อนำไข่จะเกิดการ hydrolyzed เพื่อให้มันเสถียร C3(H_2O) จากนั้นจะมี factor B เข้ามาจับได้เป็น C3bB และจะถูกย่อยต่อด้วย factor D ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์โดยตัดส่วน Ba ออกจาก C3bB และได้ C3bBb ที่มีคุณสมบัติเป็น C3 convertaseซึ่ง C3 convertaseนี้จะกลับไปย่อย C3 เพื่อให้ C3b เพิ่มขึ้นอีกจากนั้นจะมี factor I ที่มาจากoviduct epithelium cell เข้ามาจับและมี embryonic complement receptor 1- related

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

gene/protein y (Crry) เข้าร่วมด้วย โดยเปลี่ยนเป็น iC3b ซึ่งเกี่ยวข้องกับการพัฒนาการของตัวอ่อน (embryotrophic) ก่อนการฝังตัวในมดลูก (preimplantation)(Tse*et al*., 2008)



ภาพ 6วงจรการทำงานของ C3 embryotrophic pathways (ที่มา: Tse*et al*., 2008)

2.9 ยีนคอมพลีเมนต์แฟคเตอร์บี (complement factor B, *BF* gene)

คอมพลีเมนต์แฟคเตอร์บี (complement factor B, *BF*) หรือโพรเพอร์ดิน (properdin) หรือ glycine-rich beta-glycoprotein (GBG)ซึ่งจากรายงานของ Alper*et al*.(1973)แสดงให้ว่าGBG ของมนุษย์มีระบบการทำงานเดียวกันกับคอมพลีเมนต์แฟคเตอร์บี และยังเป็นที่รู้จักในชื่อC3 proaccelerator คอมพลีเมนต์แฟคเตอร์บีเป็นโปรตีนในระบบคอมพลีเมนต์ที่สำคัญของสัตว์ซึ่งมีกลไกในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆที่เข้าสู่ร่างกาย โดยการทำให้เกิดการอักเสบ และช่วยในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน(Rother and Till, 1988) ส่วนใหญ่แล้วยีน *BF*มีโครงสร้างเป็นสายเดี่ยวโดยมีน้ำหนักประมาณ 93,000 dalton (Seeger *et al*.,1996) และยังเป็นเอ็นไซม์ B-globulin Zymogen serine protease หรือ serine protease ซึ่งเป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่อาศัยกรดอะมิโน serine เป็นตัวที่สำคัญในการทำปฏิกิริยา (Taylor*et al*., 1998; Hasty *et al*., 1993) กระตุ้นการทำงานของโปรตีนคอมพลีเมนต์แฟคเตอร์บีมีบทบาทสำคัญในการควบคุมขั้นตอนของระบบภูมิคุ้มกันที่ใช้ต่อต้านเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โรค อย่างไรก็ตามชิ้นส่วน Ba และ Bb มีผลต่อการกระตุ้นและการยับยั้งการขยายตัวของ B lymphocyte (Peter*et al*., 1988; Ambrus*et al*., 1990)โดยยีน *BF*มีความยาวเท่ากับ 1,165 bpซึ่งมีส่วนของ intron และ exon เท่ากับ 4 intron และ 3 exon (Peelman*et al*., 1991)
โดยมีตำแหน่งความหลากหลายของยีน(polymorphism site) ที่พบบนจุดตัดของเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Sma*I ที่ตำแหน่ง 349 (A>G)ของ accession no. M5924 (Jiang and Gibson, 1998)ดังภาพที่ 7

ปัจจุบันความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *BF* ถูกค้นพบในหนู แกะ สุกร และ มนุษย์ โดยพบว่ายีน *BF* ในหนูตั้งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 17 และยังพบว่าตั้งอยู่บนตำแหน่ง S region ของ major histocompatibility complex class III region (MHC) ซึ่งเป็นสาร glycoprotein และเป็นยีนที่ควบคุมการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (Chaplin *et al*., 1983) มีการค้นพบการแสดงออกของ mRNA ของยีน *BF*ในเนื้อเยื่อชั้น endometrium ในมดลูกของหนู (Li *et al*., 2002) และพบการแสดงออกของ C3 สูงในช่วงเป็นการสัด (estrus stage)ของหนู (Lee *et at*., 2004) นอกจากนี้มีการค้นพบจุดกลายพันธุ์ (single nucleotide polymorphism, SNP) ของยีน*BF*จำนวน 30 ตำแหน่งในแกะพันธุ์ merino ซึ่งตั้งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 20 พบว่า SNP นี้ส่งผลต่อลำดับเบสที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโน (Qin et al., 2011) และยังสามารถบอกความสัมพันธ์ของ haplotype MHC ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะการผลิตของแกะ (Bot, 2000)

ยีน *BF* ในสุกรตั้งอยู่บนตำแหน่งโครโมโซมคู่ที่ 7 (Ponsuksili*et al*., 2001) ในตำแหน่ง 1/2p11-p12 (Pinton*et al*., 2000) (ภาพ 8) และอยู่ในตำแหน่งของ SLA (Swine Leucocyte Antigen) complex class III (Wu *et al*., 1995)ซึ่งจากการศึกษาความผันแปรของยีน *BF*ที่มี SNP อยู่ตำแหน่ง intron2 (A394G)ในสุกรลูกผสมพันธุ์(Large White × Landrace)× Leicomaพบว่ามีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนลูกต่อครอก โดยมีผลต่อจำนวนลูกแรกคลอดทั้งหมดและจำนวนลูกแรกคลอดที่มีชีวิตประมาณ 2.64 และ 2.11ตัวต่อครอก ตามลำดับ (Buske*et al*., 2005) เช่นเดียวกับรายงานของ Wang *et al*. (2008) ที่ศึกษาความผันแปรของยีน *BF* กับลักษณะจำนวนลูกต่อครอกในสุกรสายพันธุ์ Beijing Blackพบว่าแม่สุกรที่มีจีโนไทป์ AB มีจำนวนลูกแรกคลอดที่มีชีวิต สูงกว่าแม่สุกรที่มีจีโนไทป์ AA และ BB เท่ากับ 0.16-0.77 ตัวต่อครอก เช่นเดียวกันกับรายงานของ Chen *et al*. (2009) ที่พบความผันแปรของยีน *BF*ใน intron 1 (C79T) ในสุกรสายพันธุ์ Large White มีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนลูกต่อครอก โดยแม่สุกรที่มีจีโนไทป์ CC มีความสัมพันธ์กับจำนวนลูกแรกคลอดทั้งหมด จำนวนลูกแรกคลอดที่มีชีวิตและประสิทธิภาพการทำงานของรก (placenta efficacy, PE) มากกว่าแม่สุกรที่มีจีโนไทป์ TT มีค่าเท่ากับ 3.45, 3.92และ 23.80 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับและจากรายงานของ Jiang andGibson (1998) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความถี่ของยีน *BF*ระหว่างประชากร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สุกรสายพันธุ์Erhualian,Landrace, Pietrain,Durocและ Hampshire โดยอาศัยเทคนิค PCR-RFLP (*Sma*I) พบว่ามีความถี่อัลลีลของแต่ละสายพันธุ์เท่ากับ 0.53, 0.18, 0.06, 0.02, 0.72 ตามลำดับ

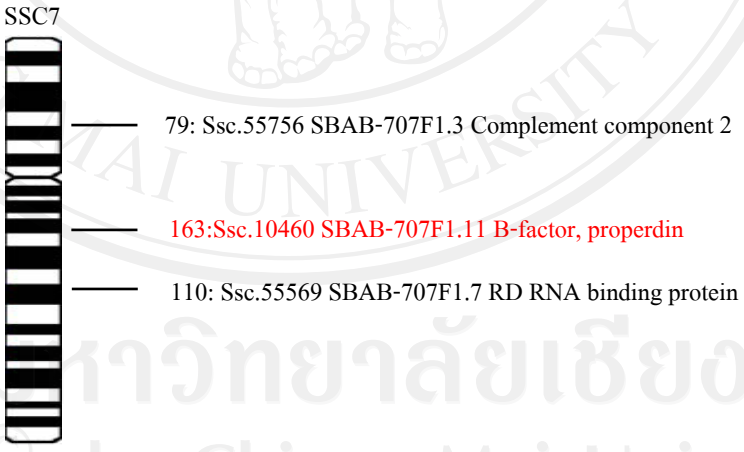
```
   1 cggggatcctgagggacccagtgacaggtccctgagaccgggaggggtaccccaaaggca
  61 gcccttcccggttggtgacttctacatgttccccgcccccaaagcaatccgctgccccag
 121accgcacgacttcgagaatggggagtattggccccgggcgccctactacaacttaagtga
 181cgagatctccttccactgctatgacggttacactctccggggctctgccaatcgcacctg
 241ccaagtgactggtcggtgggatgggcaaacggccatctgcgatgatggaggtgagaagca
 301 ttgcctcctcccacgatagtaccctctccctggccgcccctcagcccgaggaactggcag
 361 cgtacgacgtatgtctgccctcgcccttccggcctcaggctttggcctcatctccatgtc
 421 tcatgcttctgcagcggggtactgcccgaacccaggcatccccattggcacgaggaaggt
 481gggcacccagtaccgccttgaagacagtgtcacctactactgcacgcgagggctcaccct
 541acgtggctcccagcggcgaacgtgccaggaaggtggctcttggagtggaacagagccttc
 601ctgccaaggtgaccctcgattggtaccctcaagtcagatcctgctctcccatcttcacat
 661 ccccacaccaggcaccgccttccccctgccgcaacccagcgccttccctacttctgaacc
 721 tccctgtcagaccttgctcgcttctgagcccttctcacccttgaaacccaccgtcccctc
 781 tctctggtcactctgtccttgaccctcccagacatttgacctgctttctgacccctccca
 841 agactcctttatgtacgacacccctgcagaggtggccgaggctttcctgtcttccctgac
 901agagaccatagaaggcgttgatgctgaggatgggcacatccaggtttggaggcgagaggg
 961 gaggcggggcagagaatggtggagggatggagacggggcaggagaaccacccatgctgga
1021 gcctgaatctctctggtggcatccaggggccaacagaagaggaagattgtcttggacccc
1081 tcttggtacctggtgctggatggatcagacacgattggggcacgcaacttcacaggggcc
1141 aagaattgctcaagacttattgaaa
```

ภาพ 7ความยาวของยีน *BF*โดยสีแดงคือ ตำแหน่งของ exon1(104-289 bp), exon 2(434-607 bp), exon3(842-934 bp) ส่วนสีเขียว คือ ตำแหน่งpolymorphism site ที่พบบนจุดตัดของเอนไซม์ตัดภาพ X ความยาวของยีน *BF*โดยสีแดงคือ ตำแหน่งของ exon1(104-289 bp), exon 2(434-607 bp), exon3(842-934 bp) ส่วนสีเขียว คือ ตำแหน่งpolymorphism site ที่พบบนจุดตัดของเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Sma*I ที่ตำแหน่ง 349 (A>G) (ที่มา: http://www.ncbi.nlm.nih.gov /nuccore/M59240)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ยีน *BF*ตั้งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6 ของมนุษย์ โดยมีความยาวประมาณ 6 kb (Campbell, 1987) และสามารถสร้างเป็นกรดอะมิโนได้ประมาณ 87-505 ตัว (Campbell and Porter ,1983)โดยพบว่ามียีน *BF*มีบทบาทสำคัญในการเหนี่ยวนำการเจริญของเนื้อเยื่อชั้น Epithelium ในมดลูก (Hasty *et al*., 1993) และยังพบว่ามีความสัมพันธ์กับโรคHemolytic-uremic syndrome (HUS) ซึ่ง

เป็นโรคที่ทำให้มีการแตกของเม็ดเลือดแดงไตวายเฉียบพลัน และเกล็ดเลือดต่ำ โดยการเกิด SNP ของยีน*BF* บนตำแหน่ง exon ที่ 12 เปลี่ยนกรดอะมิโน lysineให้เป็น arginine (c.1598A>G p.Lys533Arg)(Tawadrous*et al*., 2010)และ de Jorge *et al.* (2007) ยังชี้ให้เห็นว่าการเกิด SNP บนยีน *BF* แบบ heterozygous นั้นส่งผลต่อการแสดงออกของยีน *BF*ซึ่งทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ C3bBb complexทำให้มีการสร้าง C3b เพิ่มขึ้นตาม ส่งผลต่อการเกิดโรค HUSส่วน Raum*et.al*.(1979) พบว่ามีผู้ป่วยโรคเบาหวานที่เกิดจากความผิดปกติของยีน *BF* เท่ากับ 22.6 % ของผู้ป่วยโรคเบาหวานทั่วไปหรือ 1.9% จากคนปกติและจากรายงานของ Hauptmann *et al.* (1980) พบว่าผู้ป่วยที่มีการทำงานของยีน *BF*บกพร่องทั้ง 3 ชั่วอายุคน อาจมีจีโนไทป์เป็นแบบ heterozygotes ที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับ haplotype ของ Human Leukocyte Antigen (HLA) ที่ตำแหน่ง A11และB27นอกจากนี้ Gold *et al.* (2006)ได้วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของ haplotype ทั้งยีน *BF*และ ยีน *C2*กับการเสื่อมสภาพของอายุแล้วพบว่ายีน *BF*และ ยีน *C2*ส่งผลต่อการลดการเสื่อมสภาพของอายุได้อย่างมีนัยสำคัญ($p<0.05$)โดยมีค่า odds ratio เท่ากับ 0.36 และ 0.45 ตามลำดับ



ภาพ8 ตำแหน่งของยีน *BF*ในสุกรบนโครโมโซมที่ 7(ที่มา: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/mas.cgi?taxid=9823&chr=7&query=uid(2146326392)&QSTR=100124383%5Bgene%5Fid%5D&maps= gene_set&cmd=focus)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.10ยีนอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับลักษณะจำนวนลูกต่อครอก

ปัจจุบันความรู้ทางด้านเทคโนโลยีอณูพันธุศาสตร์ ถูกนำมาช่วยค้นหาเครื่องหมายทางพันธุกรรม หรือเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนลูกต่อครอก และอัตราการตกไข่ ซึ่งมียีนและ QTLs รวมถึงกลุ่มยีนที่มีการแสดงออก (gene expression) ในเนื้อเยื่อ หรืออวัยวะเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับระบบการสืบพันธุ์ของสุกรซึ่งถูกค้นพบเป็นจำนวนมากและเป็นประโยชน์ต่อการคัดเลือกแม่พันธุ์ที่มียีนที่ให้ลักษณะลูกดก จากรายงานการศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ (DNA markers) ของยีน (candidate gene) ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนต่อครอก ได้แก่ *ESR*, *PRLR, FSHB, GNRHR* , *OPN,RBP4, LIF* และ*EPOR*ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

(1)ความผันแปรทางพันธุกรรมของยีนEstrogen receptor gene (*ESR*) มีความสัมพันธ์กับจำนวนลูกต่อครอกของสุกรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)โดยพบว่าอิทธิพลของยีน*ESR*มีผลต่อลักษณะจำนวนลูกต่อครอกในสุกรพันธุ์ Large White, Czech Large White และลูกผสม Meishan เท่ากับ 0.42, 0.50 และ 1.15 ตัวต่อครอก ตามลำดับ (Rothschild *et al.*, 1996; Short *et al.*, 1997; Van Rens*et al.*, 2002; GoliáŠová and Wolf, 2004) อย่างไรก็ตามมีบางรายงานที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีน*ESR*กับลักษณะจำนวนลูกต่อครอกของสุกร (Gibson *et al.*, 2002; Linville*et al.*, 2001; Isler*et al.*,2002; Nogueira*et al.*, 2003)

(2) ยีน Prolactin receptor (*PRLR*) ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 16 (16q1.4-16q2.2-2.3) ของสุกร (Vincent *et al.*, 1998) ซึ่งความผันแปรของยีน *PRLR* (*Alu*I)มีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนลูกแรกคลอดทั้งหมด และจำนวนลูกแรกคลอดที่มีชีวิตในสุกร Large White synthetics และLandrace syntheticsประมาณ0.66- 1.02 ตัว/ครอก (Rothschild *et al.*, 1998; Vincent *et al.*, 1998; Van Rens and Van der Lende, 2000; Korwin-Kossakowska *et al.*, 2003; Terman, 2005) เช่นเดียวกับ DrögemÜller*et al.* (2001) พบความผันแปรของยีน*PRLR*มีอิทธิพลต่อจำนวนลูกสุกรที่มีชีวิต ในสุกรสายพันธุ์ Duroc ประมาณ 0.71 ตัว/ครอก ในขณะที่ Linville *et al.*(2001) ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีน *PRLR*กับลักษณะจำนวนลูกต่อครอกในสุกรพันธุ์ Landrace ×Large White composite

(3)ยีนFollicle stimulating hormone-β (*FSHB*) เป็นฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับพัฒนาการของฟอลลิเคิล เพื่อนำไปสู่การตกไข่ ยีน *FSHB* ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 2 (2p1.6-p1.2) ของสุกรความผันแปรของยีน *FSHB* มีความสัมพันธ์กับจำนวนลูกต่อครอกในสุกร(Li *et al.*, 1998) อย่างไรก็ตามรายงานของLinville *et al.*(2001) ไม่พบความสัมพันธ์ของยีน *FSHB* กับลักษณะจำนวนลูกต่อครอก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในสุกรพันธุ์ Landrace x Large White composite เช่นเดียวกันกับรายงานของKorwin-Kossakowska (2003) ที่ไม่พบความสัมพันธ์นี้ในสุกรพันธุ์ Polish synthetic

(4) ยีนgonadotropin-releasing hormone receptor gene (*GNRHR*) ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่8 ของสุกร(Rohrer 1999; Campbell *et al*., 2003) ความผันแปรของยีน*GNRHR*ในบริเวณ3′untranslated region (3′UTR) ที่ตำแหน่ง 1721 bp (C/G) มีความสัมพันธ์กับจำนวนcorpora letea ในสุกรลูกผสม Meishan x European Large White โดยallele G มีอัตราการตกไข่มากกว่า allele C และมีแนวโน้มการให้ลูกต่อครอกเพิ่มขึ้น(Jiang *et al*., 2001) ในขณะเดียวกันพ่อสุกรพันธุ์ Pietrainหรือ Pietrain x Hampshireที่มีจีโนไทป์เป็น CG พบว่ามีคุณภาพน้ำเชื้อดีกว่าพ่อพันธุ์ที่มีจีโนไทป์ เป็น CC (Lin *et al*., 2006)

(5)ยีนOsteopontin (*OPN*) ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่8ของสุกรความผันแปรของยีน *ONP*มีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนลูกต่อครอกในสุกรสายพันธุ์ทางการค้า และสายพันธุ์ลูกผสมเหยมซาน x สุกรสายพันธุ์ทางการค้า (Large White, Landrace, Duroc)(Short *et al*., 1997b; Korwin-Kossakowska*et al*., 2003; Shouthwood *et al*., 1998) โดยยีน *OPN* แสดงอิทธิพลต่อลักษณะจำนวนลูกต่อครอกในสุกรพันธุ์ผสมเหมยซานอย่างเด่นชัด มีผลทำให้จำนวนลูกแรกคลอดทั้งหมด และจำนวนลูกแรกคลอดที่มีชีวิตเพิ่มขึ้น ประมาณ 1.50-1.60 และ 0.71–1.40 ตัว/ครอก ตามลำดับ (Shouthwood*et al*., 1998)

(6)ยีน Retinol binding protein (*RBP4*) ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่14 ของสุกรความผันแปรของยีน *RBP4*มีผลต่อลักษณะจำนวนลูกแรกคลอดทั้งหมดและจำนวนลูกแรกคลอดที่มีชีวิต ประมาณ 0.5 และ 0.26 ตัว/ครอก ตามลำดับ (Rothschilds *et al*., 2000) เช่นเดียวกันกับ Olliver*et al*. (1997) รายงานว่ายีน *RBP4*มีอิทธิพลต่อลักษณะจำนวนลูกประมาณ 0.4 ตัวต่อครอก ในขณะที่บางรายงานไม่พบอิทธิพลของ *RBP4* marker ที่มีต่อลักษณะจำนวนลูกต่อครอกในสุกรสายพันธุ์ Duroc, German Landrace, Duroc x Largw White synthetics หรือ Landrace x Large White composite (DrögemÜller*et al*., 2001; Linville *et al*., 2001)

(7) ยีน Leukemia inhibitory factor (*LIF*) ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 14 (14q2.1-q2.2) ของสุกร (Spötter*et al*., 2001)ควบคุมการสร้างสาร pleiotropic cytokineซึ่งมีความสำคัญต่อการพัฒนาของตัวอ่อนในระยะ blastocyteและการฝังตัวของตัวอ่อน (Stewart *et al*., 1992; Stewart, 1994) ความผันแปรของยีน *LIF*มีความสัมพันธ์กับจำนวนลูกต่อครอกในสุกรพันธุ์ Duroc และ Large White synthetic โดยพบว่าอัลลีล C มีอิทธิพลสูงกว่าอัลลีลT ประมาณ 0.93-1.26 ตัว/ครอก(Spötter *et al*., 2005)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(8)ยีนErythropoietin receptor (*EPOR*)ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 2 (Fahrenkrug*et al*., 2000) จากรายงานของ Vallet *et al.* (2005) พบความผันแปรของยีน*EPOR* (C/T)มีความสัมพันธ์กับจำนวนลูกต่อครอกในสุกรสายพันธุ์ทางการค้า (Yorkshire x Landrace) ทั้งนี้มีผลต่อจำนวนลูกแรกคลอดทั้งหมด และจำนวนลูกแรกคลอดที่มีชีวิต โดยแม่สุกรที่มีจีโนไทป์เป็น CT มีจำนวนลูกแรกคลอดทั้งหมด และจำนวนลูกแรกคลอดที่มีชีวิต เท่ากับ 13.6 และ 12.8 ตัวต่อครอก ตามลำดับ ในขณะที่แม่สุกรที่มีจีโนไทป์เป็น CC มีจำนวนลูกแรกคลอดทั้งหมด และจำนวนลูกแรกคลอดที่มีชีวิต เท่ากับ 10.8$\pm$0.3 และ 10.1$\pm$0.3 ตัวต่อครอกตามลำดับ ซึ่งค่าการทำนายความแตกต่างระหว่าง homozygous TT กับ CC ของยีน *EPOR*มีผลต่อลักษณะจำนวนลูกที่มีชีวิต ประมาณ 2.6$\pm$1.0 ตัว/ครอก ($p<0.01$) นอกจากนี้ความผันแปรของยีน *EPOR*มีความสัมพันธ์กับความจุของมดลูก(Vallet *et al.*, 2005)

ในปัจจุบันมีการค้นพบตำแหน่งที่ตั้งของยีน(QTLs)บนโครโมโซมสุกร ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนลูกต่อครอก ซึ่งประกอบไปด้วย จำนวนลูกแรกคลอดทั้งหมดจำนวนลูกแรกคลอดที่มีชีวิต อัตราการตกไข่ (ovulation rate)จำนวนลูกตายแรกคลอด (number of stillbirth)การมีชีวิตรอดของตัวอ่อน (embryo survival)รวมถึงความจุของมดลูก (uterine length)โดยพบว่าQTLs ของลักษณะอัตราการตกไข่ของสุกรตั้งอยู่บนโครโมโซมที่3 (36 cM), โครโมโซมที่8 (5, 99, 101 และ 110 cM), โครโมโซมที่ 9 (67 cM), โครโมโซมที่10 (89 cM)และโครโมโซมที่15 (79 cM) (Rathje *et al.*, 1997; Rohrer*et al.*, 1999; Wilkie *et al.*, 1999; Campbell *et al.*, 2003) ตำแหน่ง QTLs ของลักษณะจำนวนลูกแรกคลอดทั้งหมดตั้งอยู่บนโครโมโซมที่7 (10 cM), โครโมโซมที่8 (127 cM), โครโมโซมที่12 (71 cM), โครโมโซมที่14 (62 cM) และ โครโมโซมที่17 (43 cM) (de Koning *et al.*, 2001; King *et al.*, 2003) นอกจากนี้ตำแหน่ง QTLs ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะจำนวนลูกตายแรกคลอดตั้งอยู่บนโครโมโซมที่4 (1 cM) และโครโมโซมที่13 (101 cM) (Wilkie *et al.*, 1999; Cassady *et al.*, 2001)สำหรับตำแหน่ง QTLs ที่เกี่ยวข้องกับการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนนั้น พบว่าตั้งอยู่บนโครโมโซมที่8 (125 cM) (King *et al.*, 2003) นอกจากนี้ QTLs ของลักษณะความจุของมดลูก ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 8 (71 cM) (Rohrer *et al.*, 1999)จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น Spötter and Distl(2006) ได้รวบรวมกลุ่มยีนที่มีศักยภาพต่อลักษณะจำนวนลูกแรกคลอกที่มีชีวิตซึ่งมีผลต่อลักษณะจำนวนลูกต่อครอก พบว่าตั้งอยู่ในบริเวณ QTLs ดังกล่าว ได้แก่ ยีน*ESR1, PRLR, RBP4, OPN , FSHB, EGF, PTGS2, LIF, EPOR*และ *EGF*โดยมีรายละเอียดแสดงดังตารางที่1

นอกจากนี้ Bertani*et al.* (2004)ค้นหายีนที่มีศักยภาพต่อการควบคุมลักษณะทางการสืบพันธุ์จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า (anterior pituitary) ของสุกรสายพันธุ์ทางการค้า ที่ผ่านการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คัดเลือกให้มีอัตราการตกไข่และมีอัตราการรอดชีวิตของตัวอ่อนสูง เปรียบเทียบกับสุกรกลุ่มควบคุม โดยใช้เทคนิค differential display PCR (ddPCR) พบว่ามียีนในต่อมใต้สมอง ที่มีการแสดงออกแตกต่างกันระหว่างสุกรทั้งสองกลุ่ม คือ G-beta like protein, ferritin heavy-chain และ *FSHB* เช่นเดียวกันกับ Gladney *et al.* (2004) ที่ศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาของ Ovarian follicles ในสุกรสายพันธุ์ทางการค้า ที่ผ่านการคัดเลือกให้มีอัตราการตกไข่จำนวนมาก และมีลักษณะการรอดชีวิตของตัวอ่อนสูง เปรียบเทียบกับสุกรกลุ่มควบคุม โดยใช้เทคนิค ddPCRและ microarray พบว่ายีนที่มีการแสดงออกแตกต่างกัน คือ Calpain I light subunit (*CAPN4*), Cytochrome C oxidase subunit III, Cytochrome P450 aromatase (*CYP19*) และ Cytochrome P450 side chain cleavage (*CYP11A*) ซึ่งถูกค้นพบโดยวิธี ddPCRส่วน ยีน follistatin (*FST*) และยีน nuclear receptor subfamily 4 group A member 1 (*NR4A1*)ถูกค้นพบโดยเทคนิค microarray และ Caetano *et al.* (2004) พบว่ามีการแสดงออกยีนCollagen type I receptor (CD36 antigen-like I /*CD36L1*), Cytochrome P450 side chain cleavage enzyme (*CYP11A*), Steroidogenic actue regulatory protein (*STAR*), Cytochrome C oxidase (*CCO*), 3-β-hydroxysteroid dehydrogenase (*3βHSD*), Cytochrome P450 17-β-hydroxylase (*CYP17*), Cytochrome P450 aromatase (*CYP19*)และ Plasminogen activator inhibitor (*PAI1*)ในรังไข่(ovary) ของสุกรที่ผ่านการคัดเลือกให้มีการตกไข่เพิ่มขึ้น และอัตราการรอดชีวิตของตัวอ่อนที่สูง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยอาศัยเทคนิคmicroarrayพบการแสดงออกยีนดังกล่าว อาจมีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนลูกต่อครอกของสุกรสายพันธุ์ทางการค้าได้

ตาราง1กลุ่มยีนที่มีศักยภาพต่อลักษณะจำนวนลูกแรกคลอกที่มีชีวิต(number of piglets born alive, NBA) (ดัดแปลงจากSpötter and Distl, 2006)

Reference	**DNA marker**	**No. of sows No. of litters**	**Breed/line**	**Additive(a)anddominance(d) effects**
Rothschild *et al.* (1996)	ESR1	276 litters	PIC lines with Meishan contribution	a = 0.8 (P < 0.01)d = 0.6 (P < 0.01)
Short *et al.*(1997a)	ESR1	4262 sows 9015 litters	Large White synthetic line	a = 0.31 (P < 0.01)d = 0.14 (P < 0.05)
Chen *et al.*(2000)	ESR1	262 sows	5 populations of Chinese andwestern breeds	a = 0.315–1.79 (P < 0.001) depending on the breed

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง1 (ต่อ)

Noguera*et al.* (2003)	ESR1	287 sows 962 litters	Landrace	a = 0.61 (n.s.) d = not estimable
Van Rens*et al.* (2002)	ESR1	275 sows	Large White ×Meishan F2 crossbreed	AB gilts had 1.22 NBA per litter more than BB gilts (P < 0.05)
GoliáŠová and Wolf (2004)	ESR1	1250 sows 3600 litters	Czech Large White	a = 0.5 (first parity, P < 0.05) a = 0.25 (second and subsequent litters, P < 0.05)
Vincent *et al.* (1998)	PRLR	1077 sows 2714 litters	5 PIC lines	a = - 0.33 to 0.47 (P < 0.05) d = - 0.33 to 0.63 (P < 0.01)
Southwood*et al.* (1999)	PRLR	2615 litters	5 PIC lines	a = 0.1 – 0.9
Drögemuller*et al.* (2001)	PRLR	2159 sows 8336 litters	German Landrace, Duroc and synthetic lines	a = 0.71 (P < 0.05) for Duroc
Linville *et al.* (2001)	PRLR	524 sows	3 PIC lines	a = - 0.007(n.s.) d = - 0.466(n.s.)
Ollivier*et al.* (1997)	RBP4	129 sows	Large White hyperprolifique line	a = 0.08 (n.s.)
Rothschild *et al.* (2000)	RBP4	1300 sows 2555 litters	Large White, Landrace and synthetic lines	a = 0.15 (n.s.) d = - 0.01 (n.s.)
Linville *et al.* (2001)	RBP4	190 sows	3 PIC lines	a = 0.526 (n.s.) d = 0.313 (n.s.)
Steinheuer*et al.* (2003)	RBP4	51 boars	German Landrace	a = - 0.472 (P < 0.001) d = 0.604 (P < 0.001)
Short *et al.* (1997b)	OPN	n/a	n/a	One allele showed an association with NBA (P < 0.05)
Hamann*et al.* (2000)	OPN	2144 sows 8300 litters	German Landrace, Duroc and synthetic lines	Some genotypes showed a significant association with NBA
Li *et al.* (1998)	FSHB	n/a	n/a	a = 1.06 (first parity) a = 1.01 (second parity)
Linville *et al.* (2001)	FSHB	520	3 PIC lines	a = 0.12 (n.s.) d = 0.759 (n.s.)
Linville *et al.* (2001)	EGF	189	3 PIC lines	Could not be estimated with contrasts because only two genotypes occurred
Linville *et al.* (2001)	PTGS2	523	3 PIC lines	a = 0.403 (n.s.) d = 0.076 (n.s.)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 1 (ต่อ)

Spötter*et al.* (2005)	LIF	273 sows	German synthetic line	d = - 0.73 (first parity, P < 0.05) d = - 0.77 (second parity, n.s.)
Valllet*et al.* (2005)	EPOR	402	Yorkshire, Landrace, Duroc, crossbred line	a = 1.3 (P < 0.01)

a = อิทธิพลแบบบวกสะสม (additive effect); d = อิทธิพลแบบข่ม (dominance effect); n/a = not available; n.s. = not significant.PIC (Pig Improvement Company, Franklin, USA). ESR1 (estrogen receptor 1), PRLR (prolactin receptor), RBP4 (retinol-binding protein 4), OPN (osteopontin), FSHB (follicle-stimulating hormone b), EGF (epidermal growth factor), PTGS2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2), LIF (leukemia inhibitory factor), EPOR (erythropoietin receptor).

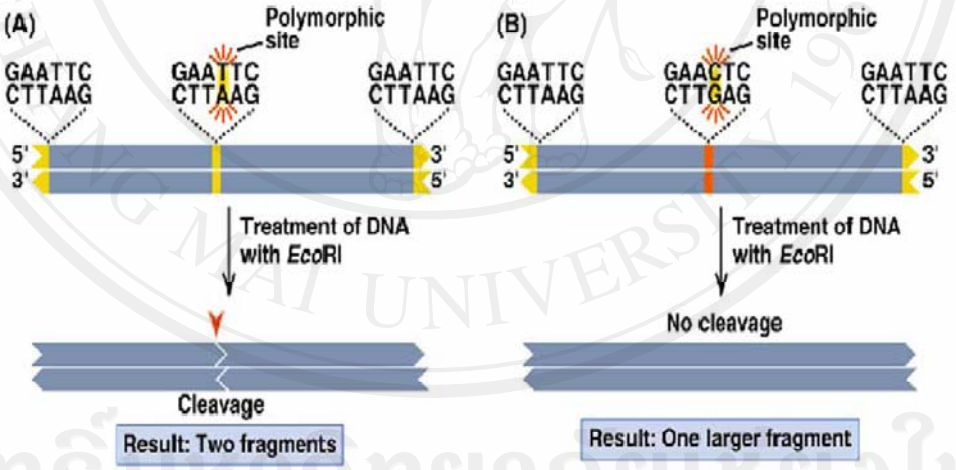
2.11การตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมโดยวิธีการทางพันธุศาสตร์โมเลกุล

การตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมมีอยู่หลายวิธีเช่นเทคนิค single-stranded conformation polymorphism (SSCP), การวิเคราะห์ลำดับเบส (DNA-sequence) และเทคนิค PCR restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) โดยเทคนิค SSCP เป็นเทคนิคที่ถูกใช้งานกันอย่างแพร่หลายเนื่องจากขั้นตอนง่ายไม่ยุ่งยาก (วสันต์และคณะ, 2539) ซึ่งอาศัยหลักการการเคลื่อนที่ของ DNA ที่เป็น single strand ที่มีลำดับเบสต่างกันเพียงเบสเดียวใน non-denaturing polyacrylamide gel จะมี conformation แตกต่างกันและมีการเคลื่อนที่ภายในเจลด้วยความเร็วที่แตกต่างกัน (Orita*et al*., 1989) ทั้งนี้เทคนิค SSCP สามารถบอกได้เพียงว่ามีความผันแปรทางพันธุกรรมเกิดขึ้นแต่ไม่สามารถบอกให้ทราบถึงตำแหน่งของความผันแปรทางพันธุกรรมหากต้องการทราบตำแหน่งที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสต้องอาศัยเทคนิค DNA-sequence ซึ่งเป็นเทคนิคในการวิเคราะห์หาลำดับเบสหรือลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA สำหรับเทคนิคPCR-RFLP เป็นการตรวจสอบความแตกต่างจากขนาดของ DNA เป้าหมายที่เกิดจากการตัดได้หรือไม่ได้ของเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ได้หรือไม่ได้(ภาพ 9)ทำให้ได้ขนาดและจำนวนชิ้น DNA ที่แตกต่างกันซึ่งเทคนิค PCR-RFLP จำเป็นต้องทราบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงเพื่อค้นหาเอนไซม์ตัดจำเพาะ(ตาราง 2)ในการตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 2ตัวอย่างเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzymes) (Nicholas, 1996)

Source	Enzyme	Recognition sequence
Arthrobacterluteus	*Alu*I	AG▼CT TC▲GA
*Bacillus amyloliquefaciens*HI	*Bam*HI	G▼GATCC CCTAG▲G
Escherichia coli RI	*Eco*RI	G▼AATTC CTTAA▲G
Serratiamarcescens	*Sma*I	CCC▼GGG GGG▲CCC



ภาพ9ภาพจำลองการใช้เทคนิค Restriction fragment length polymorphism (RFLP) ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ*Eco*RIซึ่งมีจุดตัดจำเพาะคือ G▼AATT▲C ในการตัด DNA เป้าหมายที่มีจุดตัดจำเพาะต่อ*Eco*RI (A) และไม่มีจุดตัดจำเพาะต่อ*Eco*RI (B)
(ที่มา:http://www.andrew.cmu.edu/course/03-F2F/lecture05-2004.ppt#20)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved