สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฎ
อักษรย่อและสัญลักษณ์	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	1
1.2 ประโยชน์ที่ได้รับจากการศึกษา เชิงทฤษฎี และ/หรือเชิงประยุกต์	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
2.1 ไก่พื้นเมือง	3
2.2 ลักษณะทางพันธุกรรมของไก่	3
2.3 สมรรถภาพการผลิตของไก่พื้นเมือง	5
2.3.1 น้ำหนักตัวของไก่พื้นเมือง	5
2.3.2 อัตราการเจริญเตอบโต ปริมาณอาหารที่กิน และ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร	5
2.4 ตัวรับฮอร์โมน (Hormone Receptor)	6
2.4.1 โครงสร้าง G-Protein	6
2.5 ฮอร์โมน Melanocortin	8
2.6 ยีน Melanocortin-2 receptor	9
2.7 ความผันแปรทางพันธุกรรมในระดับโมเลกุลดีเอ็นเอ ของยีน *MC2R* ในสัตว์	10

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	12
3.1 สัตว์ทดลอง	12
3.1.1 การบันทึกลักษณะทางการผลิต	12
3.1.1.1 ชั่งน้ำหนักตัว (body weight)	12
3.1.1.2 วัดความกว้างหน้าอก (breast-wide)	12
3.1.1.3 วัดความยาวแข้ง (shank length)	12
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี	14
3.2.1 สารเคมี	15
3.2.2 สารละลาย	15
3.2.3 เอนไซม์	15
3.2.4 ชุดสารเคมีสำเร็จรูป	15
3.2.5 อุปกรณ์และเครื่องมือ	16
3.3 วิธีการทดลอง	16
3.3.1 การสกัดดีเอ็นเอ	18
3.3.2 การตรวจสอบคุณภาพและวัดปริมาณของดีเอ็นเอ	19
3.3.3 การออกแบบไพรเมอร์ (Primer design)	19
3.3.4 ปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR)	21
3.3.5 การค้นหาความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์บนยีน *MC2R* ด้วยเทคนิค Single Stranded Conformation Polymorphism (SSCP)	22
3.3.6 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (Sequencing analysis)	24
3.3.6.1 การโคลน *MC2R* fragments	24
3.3.6.2 การสกัดพลาสมิดดีเอ็นเอ (Plasmid DNA)	26
3.3.6.3 วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (Sequence Analysis)	26

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.7 การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเออย่างง่าย	28
3.3.7.1 การตรวจสอบความผันแปรของ SNPs ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Alu*I	28
3.3.7.2 การตรวจสอบความผันแปรของ SNPs ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Msp*I	28
3.3.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ	29
บทที่ 4 ผลการทดลอง	30
4.1 ลักษณะทางการผลิตของไก่พื้นเมือง	30
4.2 ผลผลิต PCR ของยีน *MC2R* ในไก่	34
4.3 ผลการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุล DNA บนยีน *MC2R* ของไก่พื้นเมืองด้วยเทคนิค SSCP	35
4.4 ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *MC2R* ในไก่พื้นเมือง	36
4.5 การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล DNA อย่างง่าย	36
4.5.1 การตรวจสอบความผันแปรของ SNPs ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Msp*I	37
4.5.2 การตรวจสอบความผันแปรของ SNPs ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Alu*I	38
4.6 ความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์	39
4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ ของยีน *MC2R* กับลักษณะการเจริญเติบโตในไก่พื้นเมือง	40
4.7.1 อิทธิพลของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ ของยีน *MC2R* กับน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโต และน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ในไก่พื้นเมือง	40
4.7.2 อิทธิพลของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ ของยีน *MC2R* กับความกว้างหน้าอกในไก่พื้นเมือง	46
4.7.3 อิทธิพลของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ ของยีน *MC2R* กับความยาวแข้งในไก่พื้นเมือง	46

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง	48
5.1 การค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ ของยีน *MC2R* ด้วยเทคนิค SSCP และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์	48
5.2 การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลอย่างง่าย	48
5.3 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ บนยีน *MC2R* กับลักษณะการเจริญเติบโตในไก่พื้นเมือง	49
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง	51
เอกสารอ้างอิง	53
ภาคผนวก	58
ประวัติผู้เขียน	62

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	ค่าค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอัตราการเจริญเติบโต, ปริมาณอาหารที่กิน และ ประสิทธิภาพการใช้อาหารของไก่ประดู่หางดำ	5
2	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR สำหรับเพิ่มปริมาณยีน *MC2R* ของไก่พื้นเมือง	21
3	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐานของน้ำหนักตัวไก่พื้นเมืองที่อายุแต่ละสัปดาห์	31
4	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐานของอัตราการเจริญเติบโต (ADG) ในไก่พื้นเมืองที่อายุแต่ละสัปดาห์	32
5	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐานของความกว้างหน้าอกในไก่พื้นเมือง	33
6	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐานของความยาวแข้งในไก่พื้นเมือง	33
7	ความถี่จีโนไทป์ ของเครื่องหมายโมเลกุล *Msp*I และ เครื่องหมายโมเลกุล *Alu*I บน *MC2R-5* ของไก่พันธุ์พื้นเมือง	39
8	ความถี่จีโนไทป์ ของเครื่องหมายโมเลกุล *Msp*I กับ *Alu*I บน *MC2R-5* ของไก่พันธุ์พื้นเมือง	39
9	ค่าเฉลี่ย±ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของน้ำหนักตัวในไก่พื้นเมือง	41
10	ค่าเฉลี่ย±ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) ในไก่พื้นเมือง	43
11	ค่าเฉลี่ย±ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นในไก่พื้นเมือง	45
12	ค่าเฉลี่ย±ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของความกว้างหน้าอกในไก่พื้นเมือง	47
13	ค่าเฉลี่ย±ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของความยาวแข้งในไก่พื้นเมือง	47

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
1	ไก่ประดู่หางดำตัวผู้ (ซ้าย) และ ไก่ประดู่หางดำตัวเมีย (ขวา)	3
2	คาริโอไทป์ (Karyotype) ของไก่	4
3	โครงสร้างของ G-protein	7
4	กลไกการทำงานของ G-protein	8
5	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกตัวจาก POMC	9
6	แสดงกลไกของ ACTH และบทบาทของ MRAP ต่อการแสดงออกของ *MC2R*	10
7	ตำแหน่งที่ตั้งของยีน *MC2R* บนโครโมโซมที่ 2 ในไก่	11
8	การชั่งน้ำหนักตัวไก่	12
9	การวัดความกว้างหน้าอกไก่	13
10	การวัดความยาวแข้งไก่	13
11	ขั้นตอนการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ บนยีน *MC2R* สำหรับบ่งชี้ลักษณะทางการผลิตของไก่พื้นเมือง	17
12	ผลการตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอ ที่สกัดได้บน Agarose gel ที่ความเข้มข้น 1.2%	19
13	ตำแหน่งไพรเมอร์ที่ใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ของยีน *MC2R* (AB009605.1)	20
14	การตรวจสอบรูปแบบ SSCP ของยีน *MC2R*	23
15	การย้อมแถบดีเอ็นเอ ด้วยวิธี Silver stained	23
16	ผลผลิต PCR ของยีน *MC2R*	34
17	รูปแบบ SSCP ของผลผลิต PCR ของยีน *MC2R*	35
18	แสดงผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *MC2R-5* ที่มีรูปแบบ SSCP ที่แตกต่างกันที่ตำแหน่ง g.1780G>A และ g.1794A>G	36
19	ผลการตัดแถบดีเอ็นเอ *MC2R*-5 ด้วยเอนไซม์ *Msp*I	37
20	ผลการตัดแถบดีเอ็นเอ *MC2R*-5 ด้วยเอนไซม์ *Alu*I	38
21	ตำแหน่ง QTLs เกี่ยวข้องกับลักษณะการเจริญเติบโต	50

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อักษรย่อและสัญลักษณ์

A	=	adenine
APS	=	ammonium persulfate
bp	=	base pair
C	=	cytosine
DNA	=	deoxyribonucleic acid
dNTP	=	deoxyribonuclotide triphosphate
E. coli	=	*Escherichia coli*
EDTA	=	disodium ethylene diamine tetraacetic acid
G	=	guanine
IPTG	=	isopropyl β-D-thiogalactopyranoside
mg	=	milligram
ml	=	milliliter
mM	=	millimolar
nM	=	nanometre
ng	=	nanogram
O.D.	=	optical density
°C	=	centigrade
PBS	=	phosphate-buffered saline
PCR	=	polymerase chain reaction
pmol	=	picomol
rpm	=	rotations per minute
SSCP	=	single stranded conformation polymorphism
T	=	thymine
TAE	=	Tris-acetate-EDTA
TE	=	Tris-EDTA

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อักษรย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

TEMED	=	N,N,N',N'-tetramethylenediamine
U	=	unit
µl	=	microliter
W	=	watt
w/v	=	weight by volume
%	=	percentage

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved