บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 ไก่พื้นเมือง

ไก่พื้นเมือง (ภาพ 1) เป็นไก่ที่เลี้ยงไว้ตามบ้าน ปล่อยให้หากินเองตามธรรมชาติ เลี้ยงง่าย ไม่ต้องใช้ต้นทุนสูงในการเลี้ยง (บวรศักดิ์, 2537) นอกจากนี้ไก่พื้นเมืองยังเป็นที่นิยมของผู้บริโภค เนื่องจากเนื้อมีรสชาติอร่อย เนื้อแน่นและมีมันน้อย แต่อย่างไรก็ตามไก่พื้นเมืองมีอัตราการเจริญเติบโตช้าเมื่อเปรียบเทียบกับไก่เนื้อสายพันธุ์ทางการค้า (Wattanachant *et al*., 2004; 2005a; 2005b)

ภาพ 1 ไก่ประดู่หางดำตัวผู้ (ซ้าย) และ ไก่ประดู่หางดำตัวเมีย (ขวา)
(ที่มา: http://natres.psu.ac.th/radio/radio_article/radio47-48/47-480038.htm)

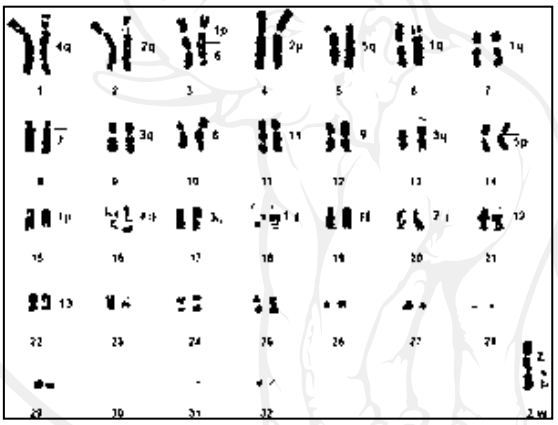
2.2 ลักษณะทางพันธุกรรมของไก่

ไก่ (*Gallus gallus*) มีจำนวนโครโมโซม 39 คู่ (2n=78) (Card and Nesheim, 1972) (ภาพ 2) ประกอบด้วย โครโมโซมร่างกาย (autosome) จำนวน 38 คู่ และโครโมโซมเพศจำนวน 1 คู่ โดยไก่เพศผู้มีโครโมโซมเพศแบบ homogametic (ZZ) ส่วนเพศเมียเป็นแบบ heterogametic (ZW) (Cheng *et al*., 2006) โครโมโซมของไก่จำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ macrochromosomes มีจำนวน 9 คู่ และ microchromosome มีจำนวน 30 คู่ (Habermann *et al*., 2001) จีโนมไก่มีขนาดประมาณ 1.2 x 10^9 bp หรือประมาณ 4,000 cM (Bloom *et al*., 1993; Groenen *et al*., 2003) และประมาณ 40% ของขนาดจีโนมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม บนจีโนมมีตำแหน่งที่ตั้งของยีนประมาณ 20,000-23,000 ยีน (International Chicken Genome Sequencing Consortium, 2004) ในปี ค.ศ. 2000 มีรายงานข้อมูลเกี่ยวกับเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ จำนวน 1,965 ตำแหน่ง ถูกระบุตำแหน่งที่ตั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บนโครโมโซมของไก่ได้ประมาณ 50 linkage group ซึ่งครอบคลุมระยะห่างประมาณ 4,000 cM (Emara and Kim, 2003)

แผนที่ยีน (genetic map) ของไก่มีประมาณ 2,000 loci โดยยีนเหล่านี้มีความเหมือน (homology) กับยีนของมนุษย์ หรือสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีจำนวนมากกว่า 235 loci (Masabanda *et al*., 2004) ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ Expressed Sequence Tags (ESTs) ของไก่ ประมาณ 510,000 โคลน (Carre *et al*., 2006) ถูกระบุ ตำแหน่งที่ตั้งบนโครโมโซมของไก่แล้ว จำนวน 447 ตำแหน่ง (Pitel *et al*., 2004; Leroux *et al*., 2005; Morisson *et al*., 2005) รวมทั้งข้อมูล protein sequence ของไก่มีมากกว่า 2,000 sequence ถูกเก็บไว้ที่ฐานข้อมูล SwissProt และ TrEMBL (Masabanda *et al*., 2004)



ภาพ 2 คาริโอไทป์ของไก่ (ที่มา: httpwww.springerimages.comImagesLifeSciences1-10.1007_s10577-010-9117-z-0)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3 สมรรถภาพการผลิตของไก่พื้นเมือง

2.3.1 น้ำหนักตัวของไก่พื้นเมือง

ไก่พื้นเมืองเมื่อกินอาหารตามอายุของไก่ (โปรตีน 13-19 %) พบว่าไก่มีอัตราการเจริญเติบโตในช่วงอายุ 0-12 สัปดาห์ เท่ากับ 13.39 กรัม โดยในช่วงอายุ 0-4, 4-8 และ 8-12 สัปดาห์ มีอัตราการเจริญเติบโตวันละ 6.51, 15.67 และ 18.00 กรัม (วราภรณ์, 2546) และการเจริญเติบโตของไก่พื้นเมืองในสภาพการเลี้ยงดูของเกษตรกรชนบท พบว่าไก่อายุ 1-4.5 เดือน ไก่โตวันหละ 10.48 กรัม และเมื่ออายุ 4.5 เดือน สามารถทำน้ำหนักได้ 1,218 กรัม

2.3.2 อัตราการเจริญเตอบโต ปริมาณอาหารที่กิน และ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร

ไก่พื้นเมืองในช่วงอายุ 0-4, 4-8, 8-12, 0-8 และ 0-12 สัปดาห์ มีปริมาณการกินอาหาร 24.13, 41.33, 61.97, 32.27 และ 41.64 กรัมต่อตัวต่อวัน (วราภรณ์, 2546) ไก่พื้นเมืองที่มีการคละเพศจะมีประสิทธิภาพการใช้อาหารในช่วงอายุ 0-4, 0-8, 0-12 และ 0-16 สัปดาห์ เท่ากับ 4.85, 4.51, 3.58 และ 3.44 กรัมต่อตัวต่อวัน ตามลำดับ (อำนวยและคณะ, 2540) และมีรายงานว่าไก่พื้นเมืองมีประสิทธิภาพการใช้อาหารในช่วงอายุ 0-6, 0-12 และ 0-16 สัปดาห์ เท่ากับ 3.5, 4.7 และ 5.9 ตามลำดับ (สุภาพรและคณะ, 2536)

ไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันในช่วงอายุ 0-8, 0-12 และ 0-16 สัปดาห์ เท่ากับ 12.8, 14.4 และ 14.2 กรัมต่อตัวต่อวันตามลาดับ ปริมาณอาหารที่กินของไก่พบว่าในช่วงอายุ 0- 8, 0-12 และ 0-16 สัปดาห์ มีการกินอาหารเฉลี่ยเท่ากับ 35.3, 45.0 และ 51.7 กรัมต่อตัวต่อวัน ตามลำดับ สาหรับประสิทธิภาพการใช้อาหารของไก่ในช่วงอายุ 0-8, 0-12 และ 0-16 อยู่ในช่วง 2.9-3.7 ดังตารางที่ 1 (อำนวยและคณะ, 2554)

ตาราง 1 ค่าค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอัตราการเจริญเติบโต, ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหารของไก่ประดู่หางดำ

ช่วงอายุ (สัปดาห์)	ADG*	FI*	FCR*
0-4	8.6 ± 1.3	31.6 ± 2.4	3.8 ± 0.7
0-8	12.8 ± 1.8	35.3 ± 2.9	2.9 ± 0.6
0-12	14.4 ± 2.2	45.0 ± 3.3	3.2 ± 0.6
0-16	14.2 ± 2.8	51.7 ± 3.9	3.7 ± 0.7

* ADG = การเจริญเติบโต, FI = ปริมาณอาหารที่กิน, FCR = ประสิทธิภาพการใช้อาหาร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.4 ตัวรับฮอร์โมน (hormone receptor)

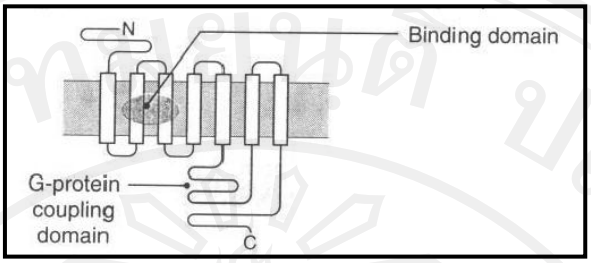
ตัวรับฮอร์โมนมีความจำเพาะเจาะจงกับฮอร์โมนแต่ละชนิด เสมือนแม่กุญแจกับลูกกุญแจ มีการจับกันระหว่างฮอร์โมน (hormone) กับ ตัวรับฮอร์โมน (receptor) โดยตัวรับฮอร์โมนมีหน้าที่นำเอาฮอร์โมนเข้ามาใช้ในเซลล์เป้าหมาย และ เมื่อฮอร์โมนจับกับตัวรับฮอร์โมน แล้วรวมตัวเป็นโครงสร้าง (hormone-receptor complex) ซึ่งโมเลกุล hormone-receptor complex นั้นจะจับเข้ากับ hormone responsive elements บนโครโมโซม ทำให้เกิดการกระตุ้นตัวถ่ายทอดสัญญาณภายในเซลล์ที่เรียกว่า secondary messenger และก่อให้เกิดผลทางชีวภาพของฮอร์โมนตามมา (Kacsoh, 2000) ตัวรับฮอร์โมนสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ (1) nuclear hormone receptors และ (2) plasma membrane receptors โดย nuclear hormone receptors จะจับกับ ฮอร์โมนที่อยู่ภายในนิวเคลียส (nucleus) หรือ ไซโทพลาสซึม (cytoplasm) ได้แก่ ตัวรับฮอร์โมนของสเตอรอยด์ สำหรับตัวรับฮอร์โมนในกลุ่มของ plasma membrane receptors ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ (1) extracellular domain (ปลายด้าน NH_2) เป็นตัวจับกับฮอร์โมน (2) transmembrane domain อยู่ระหว่าง lipid bilayer และ (3) intracellular cytoplasmic domain (ปลายด้าน COOH) เป็นตัวกระตุ้นการส่งสัญญาณภายในไซโทพลาสซึม และ ก่อให้เกิดสัญญาณ secondary messenger ไปยังภายในนิวเคลียส และมีผลโดยตรงต่อการแสดงออกของยีน (gene expression) (Hossner, 2005)

สำหรับตัวรับฮอร์โมนแบบ plasma membrane receptors ยังสามารถแบ่งย่อยออกเป็น 3 รูปแบบ คือ (1) ตัวรับฮอร์โมน intracellular domain แบบ insulin และ *IGF*-I receptor (2) ตัวรับฮอร์โมนแบบ cytokine receptor และ (3) ตัวรับฮอร์โมนแบบที่มี guanosine triphosphate (GTP)-binding regulation protein (G-protein) เป็นองค์ประกอบ (Hossner, 2005)

2.4.1 โครงสร้าง G-protein

โครงสร้างของ G-protein ประกอบด้วย (1) extracellular N-terminal คือ ส่วนที่อยู่นอกเซลล์เป็นส่วนปลายทางด้าน amino (N-terminal) (2) 7-transmenbrane α-helices เป็นส่วนที่ span ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane) ทั้งหมด 7 ครั้ง ในส่วนของ transmembrane α-helices นี้ จะเป็นบริเวณที่มี binding domain ให้ ligand มาจับ และ (3) intracellular C-terminal เป็นส่วนปลายทางด้าน carboxy (C-terminal) ในบริเวณนี้เป็นจุดเชื่อมกับ G-protein ในเซลล์ (ภาพ 3)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 3 โครงสร้างของ G-protein (ที่มา: ปวิตรา, 2552)

G-protein เป็นส่วนหนึ่งของ membrane protein ที่มีการเชื่อมต่อ กับ guanine nucleotide ซึ่งได้แก่ guanosine diphosphate (GDP) และ guanosine triphosphate (GTP) ทำหน้าที่เป็นตัวกลางเชื่อมต่อระหว่างตัวรับฮอร์โมน กับ เอนไซม์ ซึ่งเป็นโมเลกุลภายในเซลล์ที่จะทำให้เกิดการตอบสนองของเซลล์

G-protein ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ α, β และ γ subunit ทั้ง 3 subunit นี้อยู่ภายในเซลล์ โดยที่เกาะอยู่กับ cell membrane ส่วนของ α subunit เป็นส่วนที่ใช้ในการจับกับ guanine nucleotide ซึ่งเป็นส่วนที่มี enzyme activity โดยมีเอนไซม์ GTPase ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลง GTP ไปเป็น GDP ส่วน β และ γ subunit จะเกาะอยู่ด้วยกันเสมอเป็น βγ complex

กลไกการทำงานของ G-protein สามารถแบ่งออกเป็น 4 ระยะ (ภาพ 4) ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

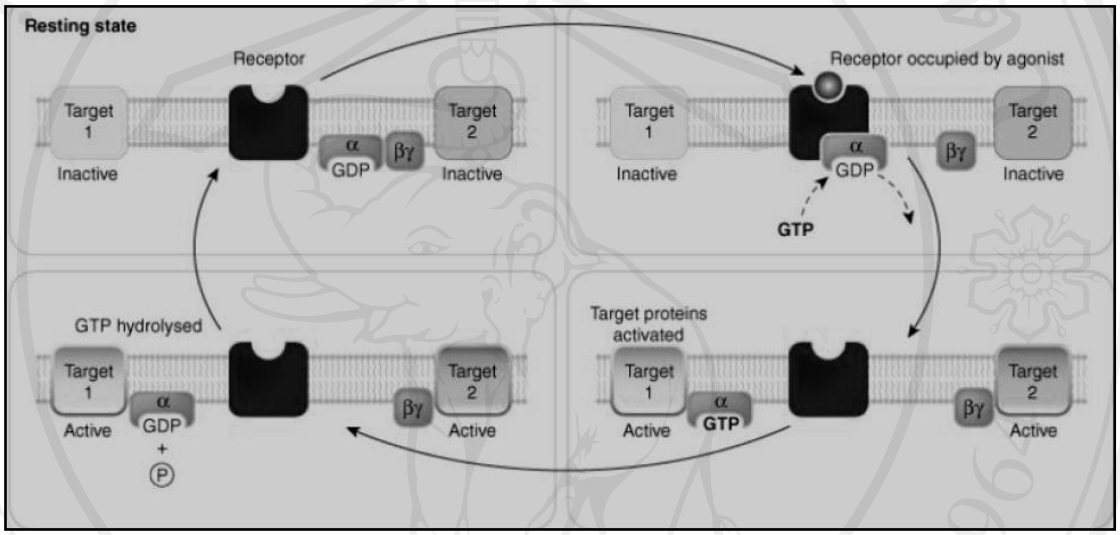
1. Resting state เป็นสภาวะพักซึ่งยังไม่มีการกระตุ้นตัวรับ (receptor) โปรตีน G-protein จะอยู่ในรูปของ trimer โดยมีทั้ง α, β และ γ อยู่รวมกัน และ ที่ α-subunit มี GDP มาเกาะอยู่โดยที่ G-protein จะอยู่เป็นอิสระยังไม่ได้เชื่อมต่อกับตัวรับ

2. Receptor occupied เมื่อมี ligand มาเข้าจับกับ G-protein coupled receptor ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยมีการเปลี่ยนแปลงที่ intracellular domain ของตัวรับโดย G-protein มาเชื่อมต่อกับ intracellular domain ของตัวรับหลังจากนั้น G-protein มาเชื่อมต่อกับ ตัวรับแล้วจะทำให้ GDP ที่จับกับ α subunit เปลี่ยนไป เป็น GTP แทน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้จะทำให้ subunit ของ G-protein เกิดการแยกออกจากกัน โดยที่ α subunit ที่มี GTP อยู่ (α-GTP) จะแยกออกจาก βγ subunit ซึ่ง α-GTP และ βγ subunit ที่แยกออกมานี้จัดเป็น active form โดยไปมีผลกระตุ้นต่อโมเลกุลต่างๆ ในเซลล์

3. Target protein activated α-GTP เป็น active form ของ G-protein ซึ่งจะไปมีผลต่อการทำงานของโปรตีนเป้าหมายต่างๆ ที่อยู่ภายในเซลล์ จะทำให้เกิดการสร้าง second messenger (สารที่ทำหน้าที่สื่อสัญญาณตัวที่ 2) ขึ้นภายในเซลล์ โดยมีผลทำให้เกิดการตอบสนองของเซลล์ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. Termination เมื่อ α-GTP กระตุ้นการทำงานของโปรตีนเป้าหมาย และยังมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ GTPase ทำให้มีการเปลี่ยน GTP เป็น GDP ภายใน α-subunit (α-GDP) โดย α-GDP จะหลุดออกจากโปรตีนเป้าหมาย แล้วกลับไปรวมกับ βγ complex กลายเป็น trimer ของ G-protein อีกครั้งหนึ่งและกลับเข้าสู่สภาวะพัก



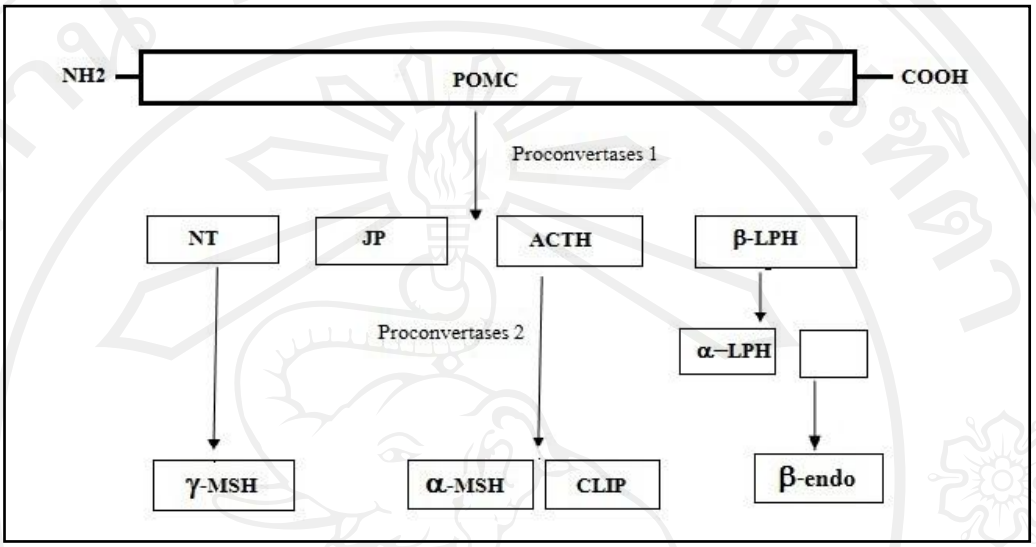
ภาพ 4 กลไกการทำงานของ G-protein (ที่มา: ปวิตรา, 2552)

2.5 ฮอร์โมน melanocortin

Melanocortin เป็นเปปไทด์ที่ ซึ่งประกอบไปด้วย adrenocorticotropic hormone (ACTH), α-melanocyte stimulating hormone (α-MSH), β-MSH และ γ-MSH ซึ่งมีขนาดโมเลกุลประมาณ 31-36 kDa (Mains and Eipper, 1976; Eipper and Mains, 1980) Melanocortin สร้างจาก propimeloanocortin (POMC) POMC เป็นโปรตีนที่ประกอบด้วย 231 กรดอะมิโน ถูกผลิตและหลั่งในต่อมใต้สมองภายใต้การควบคุมของ corticotrophin releasing hormone (CRH) จาก hypothalamus (Metherell *et al.*, 2006) POMC ให้ผลลัพท์และการทำงานที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับ เอนไซม์ Proconvertases 1 และ proconvertases 2 (Benjannet *et al.*, 1991) โดยเอนไซม์ proconvertases 1 จะย่อยโมเลกุล POMCให้แตกออกเป็น N-terminal region (NT), joining peptide (JP), ACTH และ β-LPH ส่วน เอนไซม์ proconvertases 2 จะย่อยโมเลกุล ACTH ให้แตกออกเป็น α-MSH และ corticotropin-like intermediate peptide (CLIP) (Metherell *et al.*, 2006) นอกจากนี้ β-LPH ยังแตกตัวให้ β-endrophin และ γ-LPH ในตำแหน่ง COOH-terminal (Grieco *et al.*, 2000) ในขณะที่ด้าน N-terminal ของ POMC สามารถแตกตัวเป็น γ-MSH (ภาพ 5) ทั้งนี้ในโครงสร้าง melonocortin มี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลำดับกรดอะมิโนคือ His-Phe-Arg-Trp (Grieco *et al.*, 2000) ซึ่งเป็นส่วนที่ออกฤทธิ์ไปกระตุ้นการทำงานของ melanocortin receptor



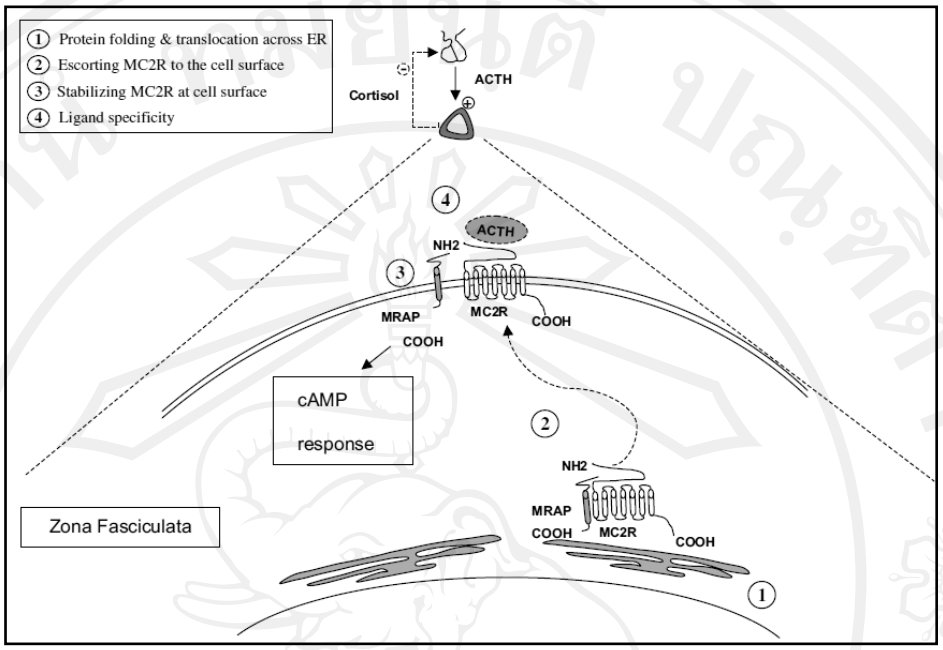
ภาพ 5 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกตัวจาก POMC (ที่มา: Metherell *et al.*, 2006)

2.6 ยีน melanocortin 2 receptor (*MC2R*)

ยีน Melanocortin 2 receptor (*MC2R*) เป็นส่วนหนึ่งของ G-Protein ซึ่งอยู่ในตำแหน่ง membrane receptors ที่เกี่ยวข้องกับการหลั่งฮอร์โมน adrenal cortisol เพื่อตอบสนองต่อความเครียด โดยการทำงานของยีน *MC2R* นั้นเมื่อเกิดความเครียดจะส่งผลต่อการกระตุ้นสมองส่วน hypothalamus ให้หลั่ง corticotrepin releasing hormone (CRH) ซึ่งทำหน้าที่กระตุ้น ต่อมใต้สมอง (pituitary gland) ให้หลั่งฮอร์โมน adrenocorticotropic hormone : adrenocortico trophic hormone เรียกย่อว่า ACTH ออกมา และ *MC2R* เป็นสารสื่อกลางของฮอร์โมน ACTH โดยมีผลต่อการหลั่งฮอร์โมน glucocorticoid ทำให้มีผลต่อกระบวนการเมทาบอลิซึมของพลังงานในเซลล์ต่างๆ (Yuferov *et al*., 2010) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับลักษณะการเจริญเติบโตในสัตว์เลี้ยง

MC2R มีลักษณะเป็นโพลีเพปไทด์จำนวน 7 ชิ้นส่วน ซึ่งฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ที่เรียกว่า seven transmembrane-domain receptor โดยที่โมเลกุล *MC2R* จะถูกรวบรวมไว้ที่บริเวณ golgi complex โดย *MC2R* ที่สร้างขึ้นมาจะติดกับ macroglobulin receptor-associated protein (MRAP) และโมเลกุล ดังกล่าวจะเคลื่อนตัวไปยังผนังเซลล์ จากนั้น MRAP จะแยกตัวออกไป ทำให้ *MC2R* อยู่ที่ผนังเซลล์ทำหน้าที่เป็นตัวรับฮอร์โมน ACTH ดังภาพที่ 6

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



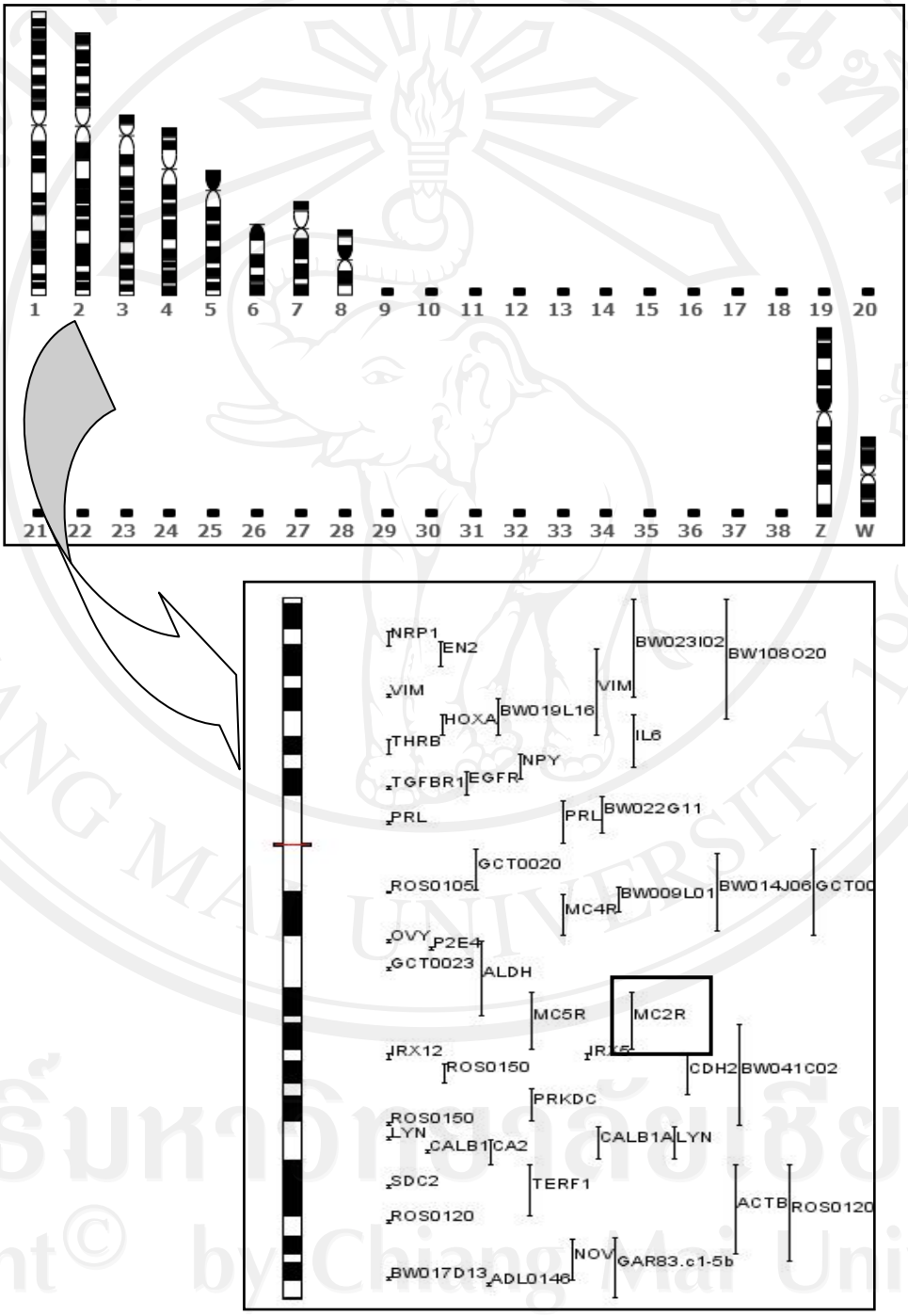
ภาพ 6 แสดงกลไกของ ACTH และบทบาทของ MRAP ต่อการแสดงออกของ *MC2R* (Metherell *et al*., 2006)

2.7 ความผันแปรทางพันธุกรรมในระดับโมเลกุล DNA ของยีน *MC2R* ในสัตว์

จากรายงานการศึกษาทางพันธุกรรมของยีน *MC2R* ในมนุษย์พบว่ายีน *MC2R* ตั้งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 18 (Schiöth *et al.,*2003) มีจุดกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง 179 เปลี่ยนจากเบส A > G โดย จีโนไทป์ของยีน *MC2R* แบบ AA มีผลทำให้ปริมาณ dehydroepiandrosterone (DHEA) สูงขึ้น ทำให้ลดการสะสมไขมัน และรักษาระดับน้ำตาลในเลือด แตกต่างจากจีโนไทป์แบบ GG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P<0.05) (Yuferov *et al*., 2010) นอกจากนี้ยังมีการศึกษายีน *MC2R* ในปลาคาร์ป พบว่ามีความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ 1,303 bp cDNA มีกรดอะมิโน 340 ตัว ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับปลาม้าลาย (83%) ปลาปักเป้า (54%) ไก่ (47%) คน (48%) และ วัว (45%) และพบว่ามีการแสดงออกในไต (Juriaan *et al*., 2004) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Alsop *et al*. (2009) ที่ศึกษาในปลา พบว่ามีการแสดงออกในไตเช่นกัน และยังพบการแสดงออกใน หัวใจ รังไข่ อัณฑะ ตา เหงือก กระเพาะอาหาร และ ลำไส้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษายีน *MC2R* ในสุกร พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ยาว 2,698 bp (GenBank accession no. AF064077) ซึ่งกรดอะมิโนมีความคล้ายคลึงกับคน (80%) หนู (79%) แกะ (83%) และ วัว (82%) (Jacobs *et al*., 2002)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สำหรับการศึกษายีน *MC2R* ในไก่ พบว่าตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 2 (Schiöth *et al.,*2003)โดยมีลำดับนิวคลีโอไทด์ยาว 1,074 bp (GenBank accession. No. NM001031515) และมีจำนวนกรดอะมิโน 357 ตัว (Sakae *et al.*,1998) (ภาพ 7)



ภาพ 7 ตำแหน่งที่ตั้งของยีน *MC2R* บนโครโมโซมที่ 2 ในไก่

(ที่มา: http://www.thearkdb.org/arkdb/do/getChromosomeDetails?accession=ARKSPC00000004)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved