

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *MC2R* ด้วยเทคนิค SSCP และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

จากการค้นหาความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *MC2R* ในไก่พื้นเมือง ซึ่งมีความยาว 3,021 bp ถูกเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR ซึ่งได้แถบดีเอ็นเอ ที่มีส่วนปลายซ้อนทับกัน จำนวน 5 แถบ (*MC2R-1* ถึง *MC2R-5*) เพื่อใช้ศึกษารูปแบบของแถบ SSCP ที่ปรากฏแตกต่างกันรวมถึงการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างไก่พื้นเมืองที่มีน้ำหนักตัวมาก กับไก่พื้นเมืองที่มีน้ำหนักตัวน้อย พบ single nucleotide polymorphisms (SNPs) ทั้งหมดจำนวน 2 ตำแหน่ง โดย SNP พบอยู่ในบริเวณ coding region และ 3'-flanking region โดยในบริเวณ coding region พบ SNPs ที่ตำแหน่ง g.1780G>A ส่วน บริเวณ 3'-flanking region พบ SNPs ที่ตำแหน่ง g.1794A>G ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 2 ตำแหน่งเป็น silent mutation จากรายงานทางวิชาการยังไม่มียานงานในไก่พื้นเมือง แต่มีรายงานวิชาการพบ SNP ของยีน *MC2R* ในมนุษย์ พบ SNP ที่ตำแหน่ง 179A>G ซึ่งมีผลต่อการหลั่งฮอร์โมน cortisone บกพร่อง โดยจีโนไทป์ AA มีการตอบสนอง dehydroepiandrosterone สูงกว่า GG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) (Yuferov *et al.*, 2010)

5.2 การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลอย่างง่าย

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *MC2R* ระหว่างไก่ที่มีน้ำหนักตัวมาก และไก่ที่มีน้ำหนักตัวน้อย พบ SNPs จำนวน 2 ตำแหน่ง ซึ่งถูกนำมาพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเออย่างง่าย (PCR-RFLP) จำนวน 2 ตำแหน่ง คือ SNPs ที่ตำแหน่ง g.1780G>A และ g.1794A>G สามารถตัดได้ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *MspI* และ *AluI* ตามลำดับ โดยเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเออย่างง่ายดังกล่าว ถูกนำไปใช้วิเคราะห์จีโนไทป์ของ *MC2R* ในไก่พื้นเมืองด้วยเทคนิค PCR-RFLP

5.3 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ บนยีน *MC2R* กับลักษณะการเจริญเติบโตในไก่พื้นเมือง

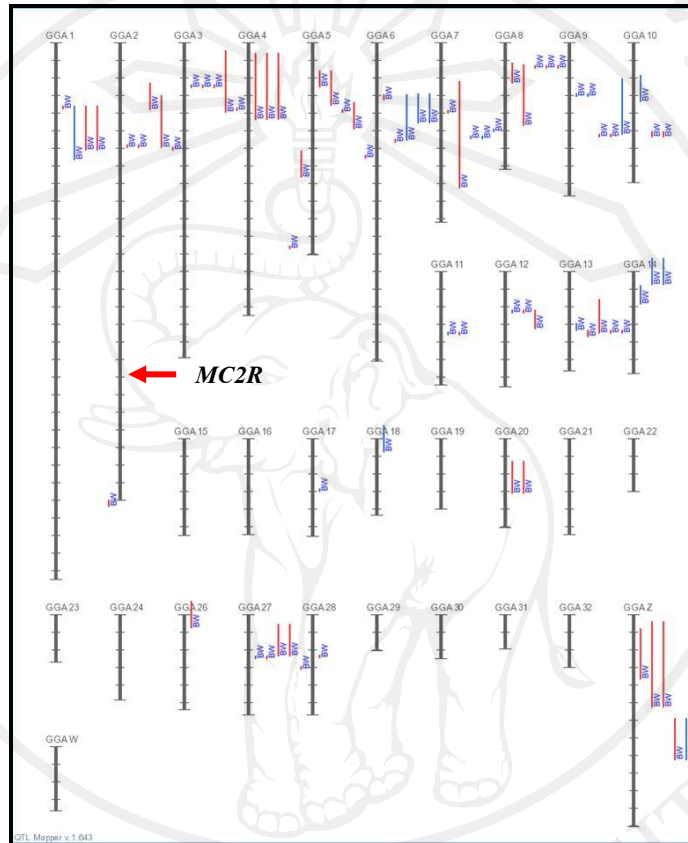
การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอบนยีน *MC2R* กับลักษณะการเจริญเติบโตในไก่พื้นเมือง โดยเครื่องหมายโมเลกุล *MspI* และ *AluI* มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และความยาวแข้งของไก่พื้นเมืองของไก่พื้นเมืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีผลต่อความกว้างหน้าอก จากการตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุล SNPs ทั้งสองบนยีน *MC2R* ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล *MspI* ร่วมกับ *AluI* พบว่าไก่พื้นเมืองที่มี genotype AABb มีน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุด และในไก่ที่มีจีโนไทป์ AaBB มีความยาวแข้งยาวที่สุด

ในการศึกษาครั้งนี้ ความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุล *MspI* และ *AluI* ที่ตำแหน่ง g.1780G>A และ g.1794A>G บนยีน *MC2R-5* มีอิทธิพลต่อน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโต น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และความยาวแข้งของไก่พื้นเมืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม เครื่องหมายโมเลกุล SNPs ในตำแหน่ง g.1780G>A และ g.1794A>G ที่ถูกเลือกมาศึกษาในครั้งนี้ ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน (silent mutation) ซึ่งแสดงว่าเครื่องหมายโมเลกุล SNPs ดังกล่าวอาจจะอยู่ในสภาพ linked อยู่กับ SNPs ในตำแหน่งอื่น (linkage disequilibrium) ที่มีผลกระทบโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงของลักษณะปรากฏ

จากหลักฐานทางวิชาการมีข้อมูลบ่งชี้ว่าความผันแปรของยีน *MC2R* มีผลต่อระดับการแสดงออกของฮอร์โมน glucocorticoid (Weber *et al.*, 1995) ซึ่งฮอร์โมน glucocorticoid มีผลโดยตรงต่อกระบวนการเผาผลาญพลังงานของเซลล์ (Seuires, 2003) สำหรับความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *MC2R* (c.306T>G) ในสุกร พบว่ามีผลต่อขนาดของต่อมหมวกไต โดยสุกรที่มีอัลลีลผันแปรจะมีต่อมหมวกไตขนาดใหญ่กว่าสุกรที่มีอัลลีลในรูปปกติ (Muráni *et al.*, 2010)

นอกจากยีน *MC2R* ที่แสดงความสัมพันธ์กับลักษณะการเจริญเติบโตและน้ำหนักตัวของไก่แล้ว ยังมียีนอื่นๆที่ตั้งอยู่บริเวณที่ควบคุมลักษณะทางปริมาณ (quantitative trait loci; QTL) ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะทางการเจริญเติบโตโดยกระจายอยู่บนโครโมโซมต่างๆของไก่ ซึ่งในปัจจุบันพบว่ามีมากกว่า 60 ตำแหน่ง ดังภาพ 21 QTL ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารในไก่ พบว่ายีนที่ตั้งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 1 (GGA1), 2 (GGA2), 4 (GGA4) และ 23 (GGA23) (van Kaam *et al.*, 2002) มีการศึกษา QTL ที่เกี่ยวข้องกับน้ำหนักตัวของไก่ในกลุ่มประชากรลูกผสมจาก Satsumadori (เป็นพันธุ์ลูกผสมของไก่พื้นเมืองญี่ปุ่น) เป็นพ่อพันธุ์ ผสมกับ White Plymouth Rock เป็นแม่พันธุ์ พบว่าตำแหน่ง QTL ที่มีผลต่อน้ำหนักตัวที่อายุ 13 และ 16 สัปดาห์

ตั้งอยู่บนโครโมโซมบน GGA1 และ GGA2 ที่ตำแหน่ง 220 และ 60 cM ตามลำดับ (Tatsuda and Fujinaka, 2001)



ภาพ 21 ตำแหน่ง QTLs เกี่ยวข้องกับลักษณะการเจริญเติบโต โดยเส้นสีแดงแสดง QTLs ที่มีนัยสำคัญทางสถิติ และเส้นสีน้ำเงินคือ QTLs ที่มีแนวโน้มแสดงนัยสำคัญทางสถิติ และลูกศรแสดงตำแหน่งของยีน *MC2R* บนโครโมโซมของไก่

(ที่มา: http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/GG/draw_traitmap?trait_ID=2042)