Thesis Title	Molecular Marker Analysis of Ferritin and Follicle Stimulating Hormone for Litter Size Traits in Pigs
Author	Mr. Nakarin Pripwai
Degree	Doctor of Philosophy (Biotechnology)
Thesis Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Supamit Mekchay — Advisor Asst. Prof. Dr. Siriwadee Chomdej — Co-advisor Asst. Prof. Dr. Korakot Nganvongpanit — Co-advisor

Abstract

The objective of this study was to identify the novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) on porcine *ferritin heavy chain* (*FTH*) and *follicle stimulating hormone β subunit* (*FSHβ*) genes. Moreover, association of these genes with litter size traits was analyzed in commercial pigs. A total of 1,155 Large White x Landrace crossbred sows were bled and DNA was extracted. The litter size traits were recorded, including total number of piglets born (TNB), number of piglets born alive (NBA), number of piglets stillbirth (SB) and number of piglets mummified (MM). For *FTH* gene, the PCR primers were designed throughout the porcine *FTH*. PCR products were analyzed and screened for SNPs by using polymerase chain reaction – single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP). Consequently, differentially heteroduplex shift was cloned and sequenced. The SNPs of porcine *FSHβ* was screened within known sequences of express sequenced tags (ESTs) in public domain of the GenBank database. The results indicated that three polymorphic sites were found in porcine *FTH* gene, consisting of

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

c.596C>T, c.643A>G and c.699T>C. These polymorphic sites were detected with restriction enzyme by PCR-RFLP technique, *BsuR*I-c.596C>T-*FTH*, *Hin*6I-c.643A>G-*FTH* and *Msp*I-c.699T>C-*FTH*. Only the polymorphism of *Msp*I-c.699T>C-*FTH* was found to be segregated in this crossbred pig population. Additionally, a polymorphic site at position c.677T>C was also found in this population. A total of 6 different genotypes for the SNPs of *Msp*I-*FTH* at nucleotide position *Msp*I–c.677T>C and *Msp*I-c.699T>C were observed. The unfavorable TCTC haplotype was significantly associated with increased SB. For *FSHβ* gene, the primer was designed to amplify the novel *in silico Bsu*RI-c.930A>G-*FSHβ* fragment which was confirmed by PCR-RFLP and nucleotide sequencing then genotyping. The favorable homozygous *G/G* allele was highly significant that is higher than *A/G* allele in terms of TNB and NBA. Combination analysis of *FSH* and *FTH* genes revealed 2 antagonist combinations in the Large White x Landrace commercial sows: the GG/CCCC combination on the *FSH* and *FTH* markers was significantly associated with high litter traits and the GG/TTTT combination was adversely associated with the population level. The study concluded that the *Bsu*RI-c.930A>G-*FSHβ,* the haplotype of *Msp*I-c.677T>C-*FTH* and *Msp*I-c.699T>C-*FTH*, and its combinations may be used as a tool for marker-assisted selection in a breeding program.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลของยีนเฟอร์ริทินและฮอร์โมนกระตุ้นฟอลลิเคิลสำหรับลักษณะจำนวนลูกต่อครอกในสุกร
ผู้เขียน	นายนครินทร์ พริบไหว
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ. ดร. ศุภมิตร เมฆฉาย อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผศ.ดร. สิริวดี ชมเดช อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ. ดร. นสพ. กรกฎ งานวงศ์พาณิชย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ ต้องการค้นหาความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *ferritin heavy chain* (*FTH*) และ *follicle stimulating hormone β subunit* (*FSHβ*) และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความผันแปรทางพันธุกรรมของยีนดังกล่าวกับลักษณะจำนวนลูกต่อครอกในสุกรสายพันธุ์การค้า เก็บตัวอย่างเลือดสุกรสายพันธุ์การค้าจำนวน 1,155 ตัว แล้วสกัด DNA พร้อมทั้งบันทึกข้อมูลจำนวนลูกที่คลอดทั้งหมด (TNB) จำนวนลูกคลอดที่มีชีวิต (NBA) จำนวนลูกตายขณะคลอด (SB) และจำนวนลูกตายมัมมี่ (MM) สำหรับยีน *FTH* ออกแบบไพรเมอร์ให้ครอบคลุมทั้งยีน ผลผลิต PCR ถูกนำไปค้นหาความผันแปรทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) หลังจากนั้นนำ heteroduplex shift ไปโคลนและถอดรหัสพันธุกรรม ส่วนยีน *FSHβ* ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *FSHβ* ถูกนำไปเปรียบเทียบกับ ESTs เพื่อหาความผันแปรทางพันธุกรรมตลอดทั้งยีน ผลการทดลองพบ ความผันแปรของยีน *FTH* ที่ตำแหน่ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

*Bsu*RI-c.596C>T-*FTH*, *Hin*6I-c.643A>G-*FTH* และ *Msp*I-c.699T>C-*FTH* และถูกตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค PCR-RFLP พบว่า มีเพียง *Msp*I-c.699T>C-*FTH* ที่พบความผันแปรทางพันธุกรรมในฝูงประชากร นอกจากนี้ ยังพบ SNP เพิ่มเติมที่ c.677T>C ซึ่งสามารถตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Msp*I ผลการวิเคราะห์ haplotype จำนวน 6 รูปแบบของยีน *FTH* ที่ตำแหน่ง *Msp*I–c.677T>C กับตำแหน่ง *Msp*I-c.699T>C พบว่า รูปแบบ haplotype TCTC มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของลักษณะ SB อย่างมีนัยสำคัญ สำหรับยีน *FSHβ* พบ ความผันแปรทางพันธุกรรมที่ตำแหน่ง c.930A>G ไพรเมอร์ถูกออกแบบเพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ครอบคลุม *Bsu*RI-c.930A>G-*FSHβ* ตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค PCR-RFLP และยืนยันผลด้วยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ หลังจากนั้นจึงตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมในฝูงประชากร พบว่า อัลลีล *G/G* สัมพันธ์กับลักษณะ TNB และ NBA สูงกว่า อัลลีล *A/G* อย่างมีนัยสำคัญ การวิเคราะห์ combination พบ combination รูปแบบ GG/CCCC มีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนลูกต่อครอกสูง ในขณะที่ haplotype รูปแบบ GG/TTTT ให้ผลตรงกันข้ามในฝูงประชากรนี้ การศึกษาในครั้งนี้ พบว่า ยีน *Bsu*RI-c.930A>G-*FSHβ* haplotype ของยีน *Msp*I-c.677T>C-*FTH* and *Msp*I-c.699T>C-*FTH* และความสัมพันธ์ระหว่างยีนทั้งสอง อาจใช้เป็นเครื่องมือในการคัดเลือกสำหรับโปรแกรมการปรับปรุงพันธุกรรมสุกร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved