

**การศึกษาอิทธิพลของยีน Melanocortin 4 Receptor, Adenylosuccinate  
Lyase และยีน Micromolar Calcium Activated Neural Protease  
ต่อปริมาณพิวรีน และการเจริญเติบโตในไก่โคราช**



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี  
ปีการศึกษา 2560

**THE EFFECT OF MELANOCORTIN 4 RECEPTOR  
GENE, ADENYLOSUCCINATE LYASE GENE AND  
MICROMOLAR CALCIUM ACTIVATED NEURAL  
PROTEASE GENE ON PURINE CONTENT  
AND GROWTH OF KORAT CHICKEN**

**Achiraya Vandee**



**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the  
Degree of Master of Science in Animal Production Technology**

**Suranaree University of Technology**

**Academic Year 2017**



การศึกษาอิทธิพลของยีน Melanocortin 4 Receptor, Adenylosuccinate Lyase

และยีน Micromolar Calcium Activated Neural Protease

ต่อปริมาณพิวรีน และการเจริญเติบโตในไก่โคราช

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



(รศ. ดร.ปราโมทย์ แพงคำ)

ประธานกรรมการ



(รศ. ดร.อมรรัตน์ โมพี)

กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)



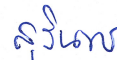
(รศ. ดร.พงษ์ชาญ ณ ลำปาง)

กรรมการ



(รศ. ดร.จิรวรรณ ยงสวัสดิกุล)

กรรมการ



(รศ. ดร.สุรินทร์ บุญอนันตสาร)

กรรมการ



(ศ. ดร.สันติ แม่นศิริ)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการและพัฒนาความเป็นสากล



(ศ. ดร.หนึ่ง เตียอำรุง)

คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

อชิรญาณ์ วันดี : การศึกษาอิทธิพลของยีน Melanocortin 4 Receptor, Adenylosuccinate Lyase และยีน Micromolar Calcium Activated Neural Protease ต่อปริมาณพิวรีน และการเจริญเติบโตในไก่โคราช (THE EFFECT OF MELANOCORTIN 4 RECEPTOR GENE, ADENYLOSUCCINATE LYASE GENE AND MICROMOLAR CALCIUM ACTIVATED NEURAL PROTEASE GENE ON PURINE CONTENT AND GROWTH OF KORAT CHICKEN) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. อมรรัตน์ โมพี, 74 หน้า.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ข้อที่ 1 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับพิวรีนกับน้ำหนักตัว (BW) และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) ข้อที่ 2 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* กับ BW ADG ระดับพิวรีนและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ และข้อที่ 3 เพื่อศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* ในการศึกษาทำการเก็บข้อมูล BW ADG จากไก่ทุกตัวที่ใช้ในการศึกษา และสุ่มตัวอย่างไก่จากแต่ละช่วงอายุ อายุละ 20 ตัว เพื่อนำและเก็บตัวอย่างเนื้อหน้าอก ใช้ในการวิเคราะห์พิวรีนด้วยเทคนิค HPLC ในการตรวจสอบระดับอนุพันธ์ของพิวรีน จากตัวอย่าง 20 ตัวในแต่ละช่วงอายุทำการสุ่มตัวอย่างอีกครั้งจำนวน 6 ตัว เพื่อนำตัวอย่างเนื้อหน้าอก และตัวอย่างสมองใช้ในการสกัด Total RNA และนำไปวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีน ในไก่ที่อายุ 10 สัปดาห์ ทำการสุ่มตัวอย่างจำนวน 200 ตัว เก็บตัวอย่างเนื้อหน้าอกและสะโพกเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อ ตัวอย่างเลือดจากไก่ทุกตัวที่ใช้ในการศึกษานำไปสกัด genomic DNA เพื่อใช้วิเคราะห์หาจีโนไทป์ของทั้งสามยีน ด้วยเทคนิค PCR-SSCP การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ใช้การวิเคราะห์ค่า correlation coefficient เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับพิวรีน BW และ ADG ใช้ General Linear Model ด้วยวิธี one-way analysis of variance (ANOVA) เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างอันเป็นผลมาจากอิทธิพลของยีนต่อ BW ADG ระดับพิวรีน ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ และวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีน ในไก่ที่อายุต่างกัน ( $P < 0.05$ ) ผลการศึกษาจากวัตถุประสงค์ข้อที่ 1 พบความสัมพันธ์ในทิศทางบวกระหว่าง guanine และ BW ในไก่ที่อายุ 8 สัปดาห์ จากวัตถุประสงค์ข้อที่ 2 ในกรณีของยีน *mc4r* ไม่เหมาะในการนำมาใช้เป็นยีนเครื่องหมายในฝูงประชากรไก่โคราช เนื่องจากมีความถี่ของ อัลลีล A ต่ำ (0.05) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงตัดยีน *mc4r* ออกจากการวิเคราะห์อิทธิพลของยีน ในขณะที่ยีน *adsl* พบอัลลีล 2 รูปแบบ (G, T) และจีโนไทป์ 3 รูปแบบ (GG, GT, TT) และยีน *capn1* พบอัลลีล 2 รูปแบบ (A, B) และจีโนไทป์ 3 รูปแบบ (AA, AB, BB) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ของยีน *adsl* ต่อ BW ADG ระดับพิวรีน และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ ( $P > 0.05$ ) ขณะที่ยีน *capn1* พบความสัมพันธ์ของจีโนไทป์ที่แตกต่างกันของยีนมีผลต่อ BW ที่อายุ 2-6 สัปดาห์ และ ADG ที่อายุ 2-4 สัปดาห์ และจีโนไทป์ AB มีอิทธิพลสูงสุดต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ ( $P < 0.05$ ) จาก



วัตถุประสงค์ข้อที่ 3 พบว่ายีน *mc4r* มีการแสดงออกสูงสุดในไก่ที่อายุ 8 สัปดาห์ ส่วนยีน *adsl* และ *capn1* มีการแสดงออกสูงสุดที่อายุ 2 สัปดาห์ ( $P < 0.05$ ) ผลการศึกษานี้สรุปได้ว่ายีน *capn1* มีความเหมาะสมในการนำไปเป็นยีนเครื่องหมายเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุกรรมให้ไก่มีการเจริญเติบโตที่ดี และระดับการแสดงออกของยีนทั้งสามมีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตและกระบวนการพัฒนาของร่างกาย



สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

ปีการศึกษา 2560

ลายมือชื่อนักศึกษา วิจิราณี วัฒนดี

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา [Signature]

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม [Signature]

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม [Signature]

ACHIRAYA VANDEE : THE EFFECT OF MELANOCORTIN 4  
RECEPTOR GENE, ADENYLOSUCCINATE LYASE GENE AND  
MICROMOLAR CALCIUM ACTIVATED NEURAL PROTEASE GENE  
ON PURINE CONTENT AND GROWTH OF KORAT CHICKEN. THESIS  
ADVISOR : ASSOC. PROF. AMONRAT MOLEE, Ph.D., 74 PP.

MELANOCORTIN 4 RECEPTOR GENE/ADENYLOSUCCINATE LYASE  
GENE/MICROMOLAR CALCIUM ACTIVATED NEURAL PROTEASE  
GENE/GROWTH/PURINE CONTENT

The objectives of this study were firstly, to study the correlation between purine content (PC), body weight (BW), and average daily gain (ADG); secondly, to study the association between genotypes of melanocortin 4 receptor gene (*mc4r*), adenylysuccinate lyase gene (*adsl*) and micromolar calcium activated neural protease gene (*capn1*) with BW, ADG, PC, and muscle fiber diameter (MFD); and thirdly, compare the level of expression of *mc4r*, *adsl*, and *capn1* at different ages. The BW and ADG were individually collected. 20 chickens were randomly sampled from each age group for slaughter to collect the breast meat for PC analysis by HPLC technique to investigate the levels of purine content. From those 20 samples, the brains of 6 chickens were extracted, and then the breast meat and brains were used for RNA extraction to investigate the expressions of the genes. At the age of 10 weeks, the breast and thigh meat of 200 chickens were collected for MFD analysis. Blood samples were collected from all of the chickens to extract genomic DNA and the PCR-SSCP technique was used to identify the genotype of genes. The relationship between PC, BW, and ADG were analyzed by a correlation coefficient. For a general linear model, one-way analysis



of variance (ANOVA) was used to estimate the effects of genes on the traits and estimate the effects of different ages on the gene expression. ANOVA was also used to test for any significant differences. The level of significance was defined at 0.05. The results found significant positive correlations between guanine, BW, and ADG at 8 weeks of age. The *mc4r* was not suitable for use as a gene marker for this population since allele A showed a very low frequency (0.05). Therefore, the gene was eliminated from the study. Regarding *adsl*, two alleles (G, T) and three genotypes (GG, GT, TT) were observed. Two alleles (A, B) and three genotypes (AA, AB, BB) were found in the *capn1*. The association between the *adsl* and BW, ADG, PC, and MFD showed no significant differences ( $P>0.05$ ). There were significant effects of *capn1* on the BW at 2-6 weeks of age and ADG 2-4 weeks of age. The genotype AB had the highest effect on MFD detected ( $P<0.05$ ). In this study, no associations between the genes and the PC were identified ( $P>0.05$ ). The level of expression of *mc4r* had the highest effect at 8 weeks of age, and the *adsl* and *capn1* had the highest effect detected at 2 weeks of age ( $P<0.05$ ). The results suggest that the *capn1* has the potential to be gene markers for growth improvement of the Korat Chickens and the expression of *mc4r*, *adsl* and *capn1* have associated with growth.

School of Animal Production Technology

Academic Year 2017

Student's Signature Achiraya Vandee

Advisor's Signature A

Co-advisor's Signature P. N. G.

Co-advisor's Signature Q. S. C.

## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณบุคคลและหน่วยงานที่มีส่วนช่วยให้เกิดวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ โมฬี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ชาญ ฌ ลำปาง และรองศาสตราจารย์ ดร.จิรวัดน์ ยงสวัสดิ์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้การอบรมสั่งสอนและให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย และการเขียนวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนสำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ปราโมทย์ แพงคำ รองศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ชาญ ฌ ลำปาง และรองศาสตราจารย์ ดร. สุรินทร์ บุญอนันตสาร อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ และรองศาสตราจารย์ ดร.จิรวัดน์ ยงสวัสดิ์กุล อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่สละเวลาในการเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ตลอดจนให้คำแนะนำ

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่อำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัย

ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยไก่โคราช และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณเพื่อน พี่ และน้องนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้ความช่วยเหลือ ตลอดระยะเวลาการทำวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจที่ดีแก่ข้าพเจ้าตลอดช่วงระยะเวลาการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาของข้าพเจ้าจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

อชิรญาณ์ วันดี

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ).....	ค
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญภาพ.....	ญ
<b>บทที่</b>	
<b>1 บทนำ.....</b>	<b>1</b>
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 สมมุติฐานของงานวิจัย.....	3
1.4 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
<b>2 ปรัชญ่วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....</b>	<b>3</b>
2.1 ความเป็นมาในการปรับปรุงพันธุกรรมการเจริญเติบโตและลักษณะของเนื้อ.....	4
2.2 การเจริญเติบโตและพันธุกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.3 melanocortin 4 receptor หรือ <i>mc4r</i> .....	5
2.4 ความสัมพันธ์ของยีน <i>mc4r</i> กับการเจริญเติบโตในไก่และคุณภาพเนื้อ.....	8
2.5 สารที่ทำให้เนื้อสัตว์เกิดรสชาติ.....	10
2.6 ความสัมพันธ์ของพิวรีนกับการเจริญเติบโต.....	13
2.7 ความสัมพันธ์ของพันธุกรรมที่แตกต่างกันและระดับพิวรีนในเนื้อ.....	13
2.8 Adenylosuccinate lyase gene หรือ <i>adsl</i> .....	16
2.9 ความสัมพันธ์ของยีน <i>adsl</i> และระดับพิวรีนในเนื้อ.....	16
2.10 คุณภาพเนื้อ (Meat quality).....	17
2.11 ปัจจัยกำหนดคุณภาพเนื้อสัตว์.....	17



## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.12	Micromolar calcium activated neural protease หรือ <i>capn1</i> .....	18
2.13	ความสัมพันธ์ของยีน <i>capn1</i> กับการเจริญเติบโต.....	19
<b>3</b>	<b>วิธีดำเนินงานวิจัยและการเก็บข้อมูล.....</b>	<b>22</b>
3.1	สัตว์ทดลอง.....	22
3.1.1	การให้อาหารและการจัดการไก่.....	22
3.2	แผนการทดลองและการเก็บข้อมูล.....	22
3.3	การตรวจวัดปริมาณพิวรีนในเนื้อ.....	23
3.4	การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวัดระดับกรดยูริกในเลือด.....	23
3.5	การศึกษา Histology ของเนื้อ.....	23
3.5.1	การเก็บและคงสภาพตัวอย่าง.....	23
3.5.2	การฝังเนื้อเยื่อในพาราฟิน.....	23
3.5.3	การตัดเนื้อเยื่อและย้อมสีตัวอย่าง.....	24
3.6	การศึกษาความสัมพันธ์ของรูปแบบ genotype.....	24
3.6.1	การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อสกัด Genomic DNA.....	24
3.6.2	การศึกษารูปแบบของยีน.....	25
3.7	การศึกษาระดับการแสดงออกของยีน.....	27
3.7.1	การเก็บตัวอย่างเพื่อสกัด Total RNA.....	27
3.7.2	การสกัด Total RNA.....	28
3.7.3	การสังเคราะห์ First stand cDNA.....	28
3.7.4	การศึกษาระดับการแสดงออกของยีน <i>mc4r</i> <i>adsl</i> และ <i>capn1</i> .....	28
3.8	การคำนวณค่าอัตราการเจริญเติบโต (Average daily gain; ADG).....	29
3.9	การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีทางสถิติ.....	30
3.9.1	การตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูล.....	30
3.9.2	การวิเคราะห์ค่า Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE).....	30
3.9.3	การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของการเจริญเติบโตและระดับพิวรีน.....	30



## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.9.4	การวิเคราะห์อิทธิพลของ genotype ของยีน <i>mc4r adsl</i> และ <i>capn1</i> ต่อการเจริญเติบโต น้ำหนักตัว ระดับพิวรีน และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	30
3.9.5	การตรวจสอบความสัมพันธ์ของระดับการแสดงออกของยีน ที่อายุแตกต่างกัน.....	31
4	<b>ผลการทดลองและอภิปรายผล.....</b>	<b>32</b>
4.1	การตรวจสอบข้อมูลและการกระจายของข้อมูล.....	32
4.2	ความสัมพันธ์ของน้ำหนักตัว ระดับพิวรีน และระดับกรดยูริก.....	37
4.3	ความถี่ Allele และ Genotype ของยีน <i>mc4r adsl</i> และ <i>capn1</i> และค่า Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE).....	41
4.4	ความสัมพันธ์ของรูปแบบ genotype ของยีน <i>mc4r adsl</i> และ <i>capn1</i> ต่อลักษณะการเจริญเติบโต ระดับพิวรีน และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	44
4.4.1	ความสัมพันธ์ของยีน <i>mc4r</i> ต่อการเจริญเติบโต ระดับพิวรีน และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	45
4.4.2	ความสัมพันธ์ของยีน <i>adsl</i> ต่อการเจริญเติบโต ระดับพิวรีน และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	45
4.4.3	ความสัมพันธ์ของยีน <i>capn1</i> ต่อการเจริญเติบโต ระดับพิวรีน และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	51
4.5	การแสดงออกของยีน <i>mc4r adsl</i> และ <i>capn1</i> ในไก่โคราชที่มีอายุแตกต่างกัน.....	56
5	<b>สรุปผลการศึกษา.....</b>	<b>59</b>
	รายการอ้างอิง.....	61
	ภาคผนวก.....	68
	ประวัติผู้เขียน.....	74

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	ยีนที่มีความเกี่ยวข้องกับลักษณะการเจริญเติบโตในไก่.....5
2.2	การแสดงออกในบริเวณที่แตกต่างกันของยีน MCRs.....6
2.3	ความสัมพันธ์ของ genotype ที่แตกต่างกันของยีน <i>mc4r</i> ต่อการเจริญเติบโต.....9
2.4	ความสัมพันธ์ของพันธุกรรมที่แตกต่างกัน และปริมาณการสะสม IMP ในเนื้อไก่.....14
2.5	ความสัมพันธ์ของยีน <i>adsl</i> และปริมาณการสะสม IMP ในเนื้อ.....17
2.6	ความสัมพันธ์ของยีน <i>capn1</i> กับการเจริญเติบโต และความหนาแน่นของเส้นใยกล้ามเนื้อ.....20
3.1	Primer ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Real time-PCR (RT-PCR) ของยีน <i>mc4r</i> .....29
4.1	ลักษณะข้อมูลไก่โคราชที่อายุต่างๆ ประกอบด้วย น้ำหนักตัว (BW) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) ระดับพิวรีน (Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total Purine) ค่าระดับ Uric acid และค่าเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ กับค่าเฉลี่ย (mean) ค่าต่ำสุด (Min) ค่าสูงสุด (Max) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (CV) ค่า P-Value of Normality ค่า Skewness และค่า Kurtosis.....33
4.2	ความสัมพันธ์ของ BW และ ADG กับระดับพิวรีน (Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total purine) ในไก่โคราชที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์.....38
4.3	ความสัมพันธ์ของระดับพิวรีน (Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total purine) และ Uric acid ในไก่โคราชที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์.....39
4.4	ความถี่ Allele และ Genotype ของยีน <i>mc4r adsl</i> และ <i>capn1</i> และค่า P-value ของ Hardy Weinberg Exact Tests (HWE).....42
4.5	ความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน <i>adsl</i> ต่อ BW (gram) และ ADG (gram/day) ในไก่โคราชที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ (least square mean $\pm$ standard error).....46
4.6	ความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน <i>adsl</i> ต่อระดับ Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total purine ในไก่โคราชที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ (least square mean $\pm$ standard error).....47

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.7 ความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน <i>adsl</i> กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ ( $\mu\text{m}$ ) (least square mean $\pm$ standard error).....	49
4.8 ความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน <i>capn1</i> ต่อ BW (gram) และ ADG (gram/day) ในไก่โคราชที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ (least square mean $\pm$ standard error).....	52
4.9 ความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน <i>capn1</i> ต่อระดับ Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total purine ในไก่โคราชที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ (least square mean $\pm$ standard error).....	53
4.10 ความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน <i>capn1</i> กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ ( $\mu\text{m}$ ) (least square mean $\pm$ standard error).....	55
4.11 การแสดงของยีน <i>mc4r adsl</i> และ <i>capn1</i> ในไก่โคราช ที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ (least square mean $\pm$ standard error).....	57

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ตำแหน่งของยีน <i>mc4r</i> ในไก่อ่บนโครโมโซมคู่ที่ 2 (GGA2).....	6
2.2 กลไกการกระตุ้นการทำงานของยีน <i>mc4r</i> .....	7
2.3 การทำงานของ <i>mc4r</i> ในการควบคุมสมดุลพลังงาน.....	8
2.4 กระบวนการการ Purine de novo biosynthetic และ salvage pathway.....	11
2.5 กระบวนการสังเคราะห์ IMP จาก PRPP โดยวิถี de novo biosynthetic pathway.....	12
2.6 การทำงานยีน <i>adsl</i> ในกระบวนการสังเคราะห์พิวรีน.....	16
4.1 เส้นใยกล้ามเนื้อบริเวณสะโพก (A) เส้นใยกล้ามเนื้อบริเวณหน้าอก (B).....	49
ก.1 รูปแบบชิ้นส่วน DNA สายเดี่ยวของยีน <i>mc4r</i> ที่พบในไก่อ่โคราช ด้วยเทคนิค PCR-SSCP โดยแถบที่ 1 (นับจากซ้ายมือ) คือ DNA marker 100 bp แถบที่ 2 คือ รูปแบบ AC แถบที่ 3 คือ รูปแบบ CC.....	69
ก.2 รูปแบบชิ้นส่วน DNA สายเดี่ยวของยีน <i>adsl</i> ที่พบในไก่อ่โคราช ด้วยเทคนิค PCR-SSCP โดยแถบที่ 1 (นับจากซ้ายมือ) คือ DNA marker 100 bp แถบที่ 2 คือ รูปแบบ GG แถบที่ 4 คือ รูปแบบ GT แถบที่ 5 คือ รูปแบบ TT.....	70
ก.3 รูปแบบชิ้นส่วน DNA สายเดี่ยวของยีน <i>capn1</i> ที่พบในไก่อ่โคราช ด้วยเทคนิค PCR-SSCP โดยแถบที่ 1 (นับจากซ้ายมือ) คือ DNA marker 100 bp แถบที่ 2 คือ รูปแบบ BB แถบที่ 4 คือ รูปแบบ AA แถบที่ 7 คือ รูปแบบ AB.....	70
ก.4 Amplification Curve กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Fluorescence กับ Cycles (A) Melting Curve กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Fluorescence กับอุณหภูมิ (B) โดยใช้ SYBR green (Applied Biosystems, Foster City, U.S.A) ด้วยเครื่อง Real-time PCR ของยีน <i>mc4r</i> .....	71
ก.5 Amplification Curve กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Fluorescence กับ Cycles (A) Melting Curve กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Fluorescence กับ อุณหภูมิ (B) โดยใช้ SYBR green (Applied Biosystems, Foster City, U.S.A) ด้วยเครื่อง Real-time PCR ของยีน <i>adsl</i> .....	72

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
ก.6 Amplification Curve กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Fluorescence	
กับ Cycles (A) Melting Curve กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Fluorescence	
กับ อุณหภูมิ (B) โดยใช้ SYBR green (Applied Biosystems, Foster City, U.S.A)	
ด้วยเครื่อง Real-time PCR ของ ยีน <i>capn1</i> .....	73



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันประเทศไทยจำเป็นต้องนำเข้า ทุเรียน ย่า ตา ยายพันธุ์ไก่เนื้อสายพันธุ์ทางการค้าจากต่างประเทศ โดยประเทศไทยนำเข้าพันธุ์ไก่เนื้อเข้ามาส่วนใหญ่เป็นประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปและอเมริกา (<http://fic.nfi.or.th/foodsectordatabank-detail.php?id=32>, 10 มีนาคม 2561) ปัจจุบันประเทศที่เป็นแหล่งใหญ่ในการผลิต ทุเรียน ย่า ตา ยายพันธุ์ไก่เนื้อสายพันธุ์ทางการค้า ยังมีการแพร่ระบาดของไข้หวัดนกอย่างต่อเนื่อง และยังคงอยู่ในสถานการณ์เฝ้าระวัง (<http://www.oie.int>, 8 กุมภาพันธ์ 2561) จึงส่งผลกระทบต่อประเทศไทยเนื่องจากต้องนำเข้า ทุเรียน ย่า ตา ยายพันธุ์จากกลุ่มประเทศดังกล่าว ดังนั้นเมื่อเกิดการระบาดของไข้หวัดนกจึงทำให้เกิดการชะลอการนำเข้า นำไปสู่การขาดแคลนแหล่งโปรตีนจากเนื้อไก่ในอนาคต หากปัญหาการแพร่ระบาดของไข้หวัดนกยังคงมีอยู่อย่างต่อเนื่องจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อภาคอุตสาหกรรมและเกษตรกรจนก่อให้เกิดการขาดความมั่นคงทางอาหาร จึงเป็นที่มาให้มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และกรมปศุสัตว์ได้ร่วมมือกันพัฒนาสายพันธุ์ไก่โคราช เป็นไก่ลูกผสมพื้นเมืองที่มีพ่อแม่พันธุ์เป็นของตนเอง การพัฒนาให้ไก่มีการเจริญเติบโตเร็วขึ้น ส่งผลทางลบต่อคุณภาพเนื้อทั้งในด้านเนื้อสัมผัสและรสชาติ (Mudalal et al., 2015; Petracci and Cavani, 2011) จึงจำเป็นต้องศึกษาความสัมพันธ์ของพันธุกรรมกับลักษณะที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพเนื้อว่าเกี่ยวข้องกันอย่างไร เพื่อใช้เป็นแนวทางการปรับปรุงพันธุกรรมไก่ให้มีการเจริญเติบโตที่ดีควบคู่กับการมีเนื้อที่มีคุณภาพ สร้างจุดแข็งให้ไก่โคราช และเกิดประโยชน์อย่างยิ่งกับเกษตรกรที่นำไปเลี้ยงเพื่อเป็นเครื่องมือในการประกอบอาชีพ เพื่อตอบสนองต่อความต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบันที่ให้ความสนใจ และเลือกรับประทานอาหารที่มีคุณภาพมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้สามารถทำการศึกษาได้เพียงบางลักษณะจึงเลือกศึกษาสารเคมีในเนื้อ ได้แก่ ระดับสารอนุพันธ์ของพิวรีน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ เนื้อไก่เป็นเนื้อสัตว์ที่มีปริมาณพิวรีนสูงเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อสัตว์ชนิดอื่น (Kaneko et al., 2014; Lockyer and Stanner, 2016) ผลผลิตสุดท้ายที่เกิดจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของพิวรีน คือ กรดยูริก เมื่อในร่างกายมีปริมาณกรดยูริกสูงจะถูกนำไปเก็บสะสมไว้บริเวณข้อต่อ และเส้นเอ็น อันเป็นสาเหตุของการเกิดโรคเกาต์ (Kaneko et al., 2014) ดังนั้นหากสามารถลดปริมาณพิวรีนในเนื้อไก่ให้มีระดับต่ำลง และเกิดเป็นเนื้อเพื่อสุขภาพที่เหมาะสมสำหรับผู้มีปัญหาสุขภาพ ผู้ป่วยโรคเกาต์ หรือผู้สูงอายุก็สามารถรับประทานได้ จะเป็นสิ่งที่สร้างมูลค่าให้กับเนื้อไก่ และสอดคล้องกับการรายงาน

ของ Dugarova and Gulasan (2017); Mujahid (2012) เกี่ยวกับสถานการณ์ของประเทศไทยและอีกหลายประเทศทั่วโลกว่าปัจจุบันและในอนาคตกำลังก้าวเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ ด้วยเหตุนี้จึงเกิดเป็นจุดขายที่น่าสนใจให้แก่กับเกษตรกรในการนำไปประกอบอาชีพ การศึกษานี้จะเป็นจุดเริ่มต้นที่นำไปสู่การพัฒนาสายพันธุ์ไก่ให้มีเนื้อเพื่อสุขภาพ

จากการรวบรวมเอกสารการศึกษายืนยันที่เกี่ยวข้องกับ Inosine Monophosphate (IMP) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสร้างอนุพันธ์ของพิวรีน เกี่ยวข้องกับการเกิดรสชาติของเนื้อและการเจริญเติบโต จากการศึกษาของ Wu et al. (2009) ยืนยัน *adsl* มีผลต่อปริมาณ IMP และสอดคล้องกับการศึกษาของ Hui-Fang et al. (2010) ว่ายีน *adsl* มีผลต่อปริมาณ IMP ที่แตกต่างกัน การศึกษาของ Yamaoka et al. (1997) พบว่ากระบวนการเมทาบอลิซึมของพิวรีน มีความสัมพันธ์กับการพัฒนาของกล้ามเนื้อ ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับการศึกษาของ Daneshmand et al. (2017) เมื่อเสริมสารพิวรีนในอาหารจะช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังมีการศึกษายืนยันที่เกี่ยวข้องกับลักษณะการเจริญเติบโต น้ำหนักตัว และการสะสมไขมันในร่างกาย ได้แก่ ยีน *mc4r* (Li and Li, 2006) และการศึกษาของ Piórkowska et al. (2015) รายงานว่ายีน *capn1* เกี่ยวข้องกับกระบวนการสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับความเหนียวนุ่มชุ่มฉ่ำของเนื้อ และการพัฒนาเพื่อให้เกิดการขยายตัวของกล้ามเนื้อ แต่ในปัจจุบันยังไม่พบการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* ในไก่พื้นเมืองหรือไก่ที่มีการเจริญเติบโตช้า ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าความสัมพันธ์ของยีนทั้งสามกับลักษณะอาจเป็นหนึ่งในแนวทางการนำไปใช้คัดเลือกไก่โคราชให้มีลักษณะดีที่เพิ่มขึ้นได้

ผลจากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สามารถนำไปใช้ในการอธิบายความสัมพันธ์ของลักษณะการเจริญเติบโต ระดับพิวรีน และลักษณะของเนื้อ เพื่อนำข้อมูลไปใช้วางแผนปรับปรุงพันธุ์กรรมและนำไปสู่การคัดเลือกไก่โคราชให้มีการเจริญเติบโตที่ดีควบคู่กับการได้เนื้อที่มีคุณภาพดี เพื่อเป็นเครื่องมือในการประกอบอาชีพของเกษตรกรต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาค้นคว้าความสัมพันธ์ของระดับพิวรีนในไก่โคราชและการเจริญเติบโตที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์

1.2.2 เพื่อศึกษาค้นคว้าความสัมพันธ์ของ genotype ที่แตกต่างกันของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* กับลักษณะการเจริญเติบโต ที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อที่อายุ 10 สัปดาห์ และกับระดับพิวรีนที่ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ ในไก่โคราช

1.2.3 เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* ในไก่โคราชที่มีอายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์



### 1.3 สมมุติฐานของงานวิจัย

- 1.3.1 การเจริญเติบโต และระดับพิวรีนเป็นลักษณะที่มีความสัมพันธ์กัน
- 1.3.2 Genotype ที่แตกต่างกันของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* มีผลต่อการเจริญเติบโต ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ และระดับพิวรีน
- 1.3.3 การแสดงออกของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* ในไก่โคราชที่มีอายุแตกต่างกันจะมีการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกัน

### 1.4 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้ใช้ไก่โคราชในการศึกษา (เป็นไก่ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุกรรมโดยผลงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีซึ่งเป็นไก่พื้นเมืองลูกผสมที่มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าไก่พื้นเมืองพันธุ์แท้ทั่วไป) โดยผลของงานวิจัยนี้นำไปใช้ทดสอบ genotype การแสดงออกของยีน และใช้ในการศึกษาการเจริญเติบโต ปริมาณสารพิวรีนในเนื้อ

### 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.5.1 เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการปรับปรุงพันธุกรรมของไก่โคราช ให้มีการเจริญเติบโตที่ดีควบคู่ไปกับการมีระดับพิวรีนในเนื้อต่ำ โดยไม่เสียลักษณะที่ดีของเนื้อ
- 1.5.2 เพื่อให้ทราบแนวทางการนำยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* ไปใช้ปรับปรุงพันธุกรรมต่อไปว่าควรศึกษาประเด็นใดเพิ่มเติมก่อนการนำไปใช้ประโยชน์ในการคัดเลือก



## บทที่ 2

### ปรีทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ความเป็นมาในการปรับปรุงพันธุกรรมการเจริญเติบโตและลักษณะของเนื้อ

อดีตที่ผ่านมา นักวิจัยส่วนใหญ่ให้ความสำคัญในการศึกษาหาแนวทางเพื่อปรับปรุงพันธุกรรมให้ไก่มีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้นมาอย่างยาวนาน และประสบความสำเร็จ ได้ไก่เนื้อสายพันธุ์ทางการค้าที่มีการเจริญเติบโตที่เร็วมากขึ้น (Zuidhof et al., 2014) แต่กลับให้ความสนใจถึงผลกระทบที่เกิดจากการเจริญเติบโตน้อยมาก มีการศึกษาที่พบว่าไก่ที่มีการเจริญเติบโตเร็วทำให้เกิดผลกระทบทางลบต่อลักษณะคุณภาพเนื้อ เกิดเนื้อที่มีลักษณะร่วนไม่เหนียวนุ่ม เกิดจากเนื้อไก่อมีขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อที่ใหญ่ และมีความสามารถในการอุ้มน้ำไว้ภายในเนื้อได้น้อย (Duclos et al., 2007) ค่า pH ของเนื้อต่ำ โดยค่า pH มีผลต่อการอุ้มน้ำ เนื้อที่มีค่า pH ต่ำจะมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำ การที่ค่า pH ของเนื้อลดลงอย่างรวดเร็วเป็นผลมาจากไก่ที่เจริญเติบโตเร็ว มีการตอบสนองต่อความเครียดได้ง่าย และความเครียดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของเนื้อ และลักษณะภายนอกของเนื้อจะมีสีซีดเนื้อแห้ง (Petracci and Cavani, 2011) และการที่เนื้อไก่อไม่เหนียวนุ่ม ยังสามารถเกิดได้จากในไก่ที่มีการเจริญเติบโตเร็วที่มีปริมาณเอนไซม์  $\mu$ -Calpain ซึ่งทำหน้าที่ในกระบวนการแคทาบอลิซึมของร่างกายและการสลายโปรตีนในเนื้ออยู่ในระดับต่ำ โดยอยู่ที่ 0.57 เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของเอนไซม์กับไก่ที่มีการเจริญเติบโตช้าอยู่ที่ 7.08 ทำให้เมื่อสัตว์ตายในเนื้อจะมีสารที่ช่วยย่อยสลายโปรตีนทำให้เนื้อเหนียวนุ่มอยู่น้อย (Dransfield and Sosnicki, 1999) จากที่กล่าวมาข้างต้นเห็นได้ว่าไก่ที่มีการเจริญเติบโตเร็วเกินไป มีผลทางลบต่อสารเคมีที่เกี่ยวข้องกับลักษณะของเนื้อ และเส้นใยกล้ามเนื้อ จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการศึกษความสัมพันธ์ของลักษณะดังกล่าวกับยีนที่มีความเกี่ยวข้องเพื่อนำไปใช้คัดเลือกสัตว์หาแนวทางลดผลกระทบที่จะเกิดขึ้นกับลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจต่อไป

#### 2.2 การเจริญเติบโตและพันธุกรรมที่เกี่ยวข้อง

กระบวนการเจริญเติบโตของร่างกายประกอบไปด้วย การเพิ่มจำนวนเซลล์ เพิ่มขนาดเซลล์ การเปลี่ยนแปลงสภาพ และการเกิดรูปร่างที่แน่นอน ในกลไกการพัฒนาของเซลล์แต่ละขั้นตอนจะถูกควบคุมโดยยีน และการทำงานของฮอร์โมน นอกจากนี้ปัจจัยด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมก็เป็นสิ่งหนึ่งที่มีผลร่วมด้วย ปัจจุบันมีการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับการเจริญเติบโตและพบยีนจำนวนมากทำหน้าที่ช่วยในการเจริญเติบโต และตำแหน่งที่แตกต่างกันของยีนส่งผลต่อการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ในบางตำแหน่งยังมีความเชื่อมโยงหรือทำงานร่วมกัน (Chen et al., 2015) ดังแสดงในตารางที่ 1

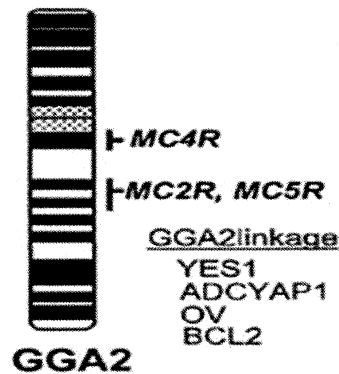
## ตารางที่ 2.1 ยีนที่มีความเกี่ยวข้องกับลักษณะการเจริญเติบโตในไก่

Gene	Function	References
<i>gh</i>	- กระตุ้นการเจริญเติบโตหลังจากเกิด	Tanaka et al. (2003)
<i>tgf-β</i>	- tissue homeostasis and development	Li et al. (2003)
<i>Igf1</i>	- muscle development and postnatal muscle growth	Oksbjerg et al. (2004)
<i>Myh10, fgf2, fgf16, fn, cfl2, mapk, irs, phka1, phkb, phkg1</i>	- genes inducing the difference in growth among the three developmental stages	Xue et al. (2017)
<i>mc4r</i>	- control of food intake, body weight and Energy homeostasis	Benoit et al. (2000)
<i>Igfbp2</i>	- modulate the growth promoting	Lei et al. (2005)
<i>ghrl</i>	- growth and carcass traits	Fang et al. (2007)

จากข้อมูลในตารางที่ 2.1 จะเห็นว่าลักษณะการเจริญเติบโตถูกควบคุมโดยยีนจำนวนมากแต่ในการศึกษาครั้งนี้ให้ความสนใจในการศึกษายีน *mc4r* ซึ่งเป็นที่มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตและทำหน้าที่ควบคุมการกินได้ และสมดุลของพลังงานของร่างกายอีกด้วย (Li and Li. 2006)

### 2.3 melanocortin 4 receptor หรือ *mc4r*

melanocortin 4 receptor หรือ *mc4r* ในไก่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 2 (GGA2) ดังแสดงในภาพที่ 1 (Schioth et al., 2003) ที่ตำแหน่ง NM\_001031514 เมื่อเกิดการ Transcription กลายเป็น mRNA จะมีความยาว 996 bp ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NM\\_001031514.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NM_001031514.1), 4 เมษายน 2558) โดย Melanocortin เป็นเปปไทด์ฮอร์โมนที่ถูกสร้างมาจาก pro-opiomelanocortin (POMC) (Wang et al., 2009) melanocortin receptor จัดอยู่ในกลุ่มของ G-Protein ทำหน้าที่เป็นตัวรับของฮอร์โมน alpha-melanocyte-stimulating hormone ( $\alpha$ -MSH) และ adrenocorticotropic hormone (ACTH) (ศุภมิตร. 2550) melanocortin receptor มีหลาย ligands ที่มาจาก POMC ซึ่ง MCRs สามารถแสดงออกได้ 5 ชนิด คือ mc1r, mc2r, mc3r, mc4r และ mc5r (จันทนา. 2549) โดยทำงานบน seventh transmembrane domain receptors ทำหน้าที่ควบคุมลักษณะต่างๆ และมีการแสดงออกในบริเวณที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.2



ภาพที่ 2.1 ตำแหน่งของยีน *mc4r* ในไก่อบนโครโมโซมคู่ที่ 2 (GGA2)

ที่มา : Schioth et al. (2003)

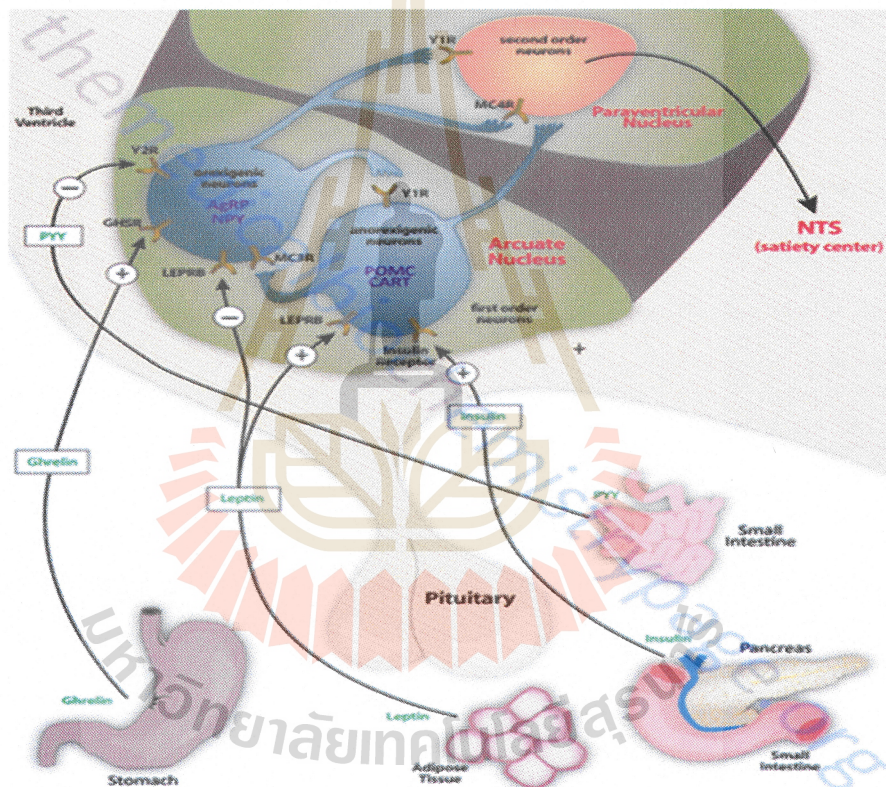
ตารางที่ 2.2 การแสดงออกในบริเวณที่แตกต่างกันของยีน MCRs

Receptor	Sites of expression	Presumed physiological role
MC1R	Melanocytes	Control of hair and skin pigmentation
MC2R	Adrenal cortex, Adipocytes	ACTH receptor, Control adrenal steroidogenesis
MC3R	Hypothalamus, Thalamus, Hippocampus, Placenta, Pancreas, Stomach, Duodenum	Energy homeostasis
MC4R	Hypothalamus, Thalamus, Limbic system, Hindbrain, Brainstem, Cortex, Spinal cord	Appetite control, Energy homeostasis
MC5R	Brain, Skeletal muscle, Adipocytes, Spleen, Thymus, Testis, Bone marrow, Pituitary, Heart, Lung, Kidney, Liver	Control of sebaceous gland secretion

ที่มา : พันธกรณ์. (2550)

POMC เป็น precursor หลักของ MC peptides เมื่อแตกตัวจะได้สารชีวภาพ ได้แก่  $\alpha$ - และ  $\gamma$ -melanocyte-stimulating hormone (Benoit et al., 2000) กลไกกระตุ้นการทำงานของ *mc4r* ในการควบคุมภาวะสมดุลพลังงานในร่างกายเกิดจากปลายประสาทใน Arcuate nucleus 2 ชนิด คือ 1. ปลายประสาท AgRp (Agouti-related protein) ทำงานร่วมกับ NPY (Neuropeptide Y) และ 2.  $\alpha$ -MSH ( $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone) ทำงานร่วมกับ CART (Cocaine amphetamine related

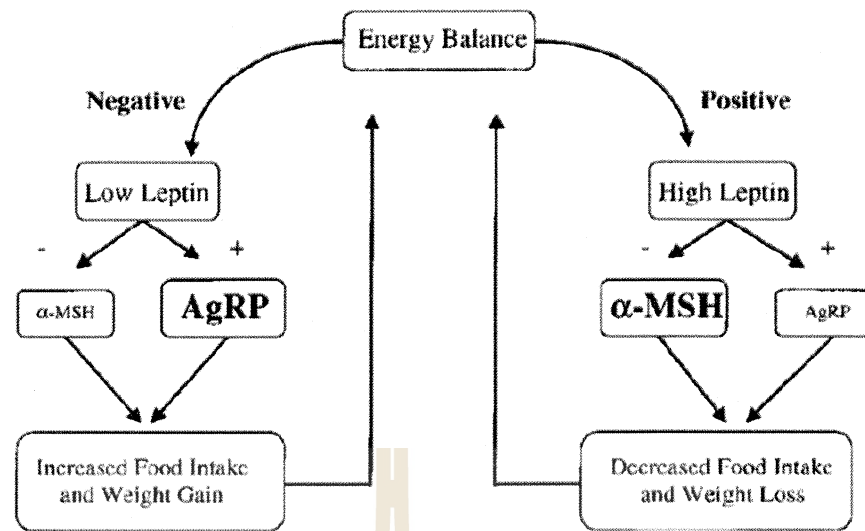
transcript) โดยปลายประสาท AgRP/NPY กระตุ้นให้เกิดการกินอาหารเพิ่มขึ้น ลดการใช้พลังงาน ในขณะที่ปลายประสาท  $\alpha$ -MSH/CART ทำให้เกิดการกินอาหารลดลง เพิ่มการใช้พลังงานของร่างกาย เมื่อร่างกายได้รับอาหารจะส่งผลกระทบต่อการทำงานของ Insulin และ Leptin ซึ่งเป็นฮอร์โมนควบคุมการสะสมไขมัน และมีผลยังยั้งการทำงานของปลายประสาท AgRP/NPY และกระตุ้นการทำงานของปลายประสาท  $\alpha$ -MSH/CART เมื่อ Insulin และ Leptin ส่งผลให้  $\alpha$ -MSH/CART ลดลง ส่วน AgRP/NPY จะมีระดับการแสดงออกเพิ่มขึ้น ดังนั้น *mc4r* จึงเปรียบเสมือนศูนย์กลางของตัวรับส่งสัญญาณต่อปริมาณการกินได้ (พันธุกรรม. 2550) ดังแสดงในภาพที่ 2.2 และยังพบกลไกควบคุมสมดุลพลังงานที่เกิดจากการทำงานของยีน *mc4r* ดังแสดงในภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.2 กลไกการกระตุ้นการทำงานของยีน *mc4r*

ที่มา : (<http://themedicalbiochemistrypage.org/gut-brain.php>, 4 เมษายน 2558)





ภาพที่ 2.3 การทำงานของ *mc4r* ในการควบคุมสมดุลพลังงาน

ที่มา : Benoit et al. (2000)

## 2.4 ความสัมพันธ์ของยีน *mc4r* กับการเจริญเติบโตในไก่และคุณภาพเนื้อ

จากการรวบรวมเอกสารที่เกี่ยวข้องกับยีน *mc4r* พบว่า genotype ที่แตกต่างกันของยีนส่งผลต่อการเจริญเติบโตแตกต่างกัน จากการศึกษานี้ของ Li and Li (2006) ไก่ที่มี genotype แบบ BB ส่งผลต่อการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเทียบกับ AA และ AB โดยในการศึกษาต้องการดูผลความแตกต่างของน้ำหนักตัว น้ำหนักซากหลังจากชำแหละ และความยาวช่วงขา ซึ่งสอดคล้องกับ Qiu et al. (2006) ทำการศึกษาผลของยีน *mc4r* ที่ตำแหน่ง 5' regulation region ด้วย Primer ที่แตกต่างกัน พบว่าตำแหน่ง และ genotype ที่แตกต่างกันของยีน *mc4r* ส่งผลให้ไก่มีน้ำหนักตัว น้ำหนักซากแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.3 และในการศึกษาของ Wang et al. (2009) พบ SNP ของยีน *mc4r* ที่มีผลกับลักษณะคุณภาพเนื้อ คือบริเวณ G923T และ C944T โดยทั้งสองตำแหน่งมีผลต่อความแน่นของเส้นใยกล้ามเนื้อ และปริมาณโปรตีนในเนื้อ จากข้อมูลดังกล่าวจึงเป็นไปได้ว่ายีน *mc4r* มีความสัมพันธ์กับลักษณะการเจริญเติบโต คุณภาพเนื้อในไก่ และทั้งสองลักษณะนั้นอาจมีความเป็นไปได้ที่จะมีความสัมพันธ์กัน

ตารางที่ 2.3 ความสัมพันธ์ของ genotype ที่แตกต่างกันของ ยีน *mc4r* ต่อการเจริญเติบโต

Genotype	Region	Carcass weight	Body weight	Shank length	Reference
AA	CDS region	2,313.5 ± 36.4 <sup>ab</sup>	2,257.8 ± 39.59 <sup>ab</sup>	9.146 ± 0.071 <sup>b</sup>	Li and Li (2006)
AB		2,254.6 ± 23.8 <sup>b</sup>	2,497.1 ± 25.7 <sup>b</sup>	9.168 ± 0.046 <sup>ab</sup>	
BB		2,337.0 ± 29.7 <sup>a</sup>	2,589.4 ± 32.1 <sup>a</sup>	9.365 ± 0.057 <sup>a</sup>	
Genotype	Region	Half carcass weight	Body weight	-	Referent
AA	5' regulation	1,167.62 ± 21.93 <sup>a</sup>	1,660.16 ± 27.53 <sup>a</sup>	-	Qiu et al. (2006)
AB	region	1,101.12 ± 33.53 <sup>a</sup>	1,599.20 ± 42.08 <sup>a</sup>	-	
BB		1,269.88 ± 55.92 <sup>b</sup>	1,777.62 ± 70.18 <sup>b</sup>	-	
CC	5' regulation	1,135.29 ± 16.67 <sup>a</sup>	1,623.49 ± 21.10 <sup>a</sup>	-	
CD	region	1,177.89 ± 17.69 <sup>b</sup>	1,685.45 ± 22.39 <sup>b</sup>	-	
DD		1,213.88 ± 38.78 <sup>b</sup>	1,717.62 ± 49.07 <sup>b</sup>	-	
EE	5' regulation	1,024.80 ± 20.85 <sup>a</sup>	1,605.84 ± 29.30 <sup>a</sup>	-	
EF	region	1,061.83 ± 14.98 <sup>b</sup>	1,665.94 ± 21.05 <sup>b</sup>	-	
FF		1,078.83 ± 18.52 <sup>b</sup>	1,697.45 ± 26.03 <sup>b</sup>	-	

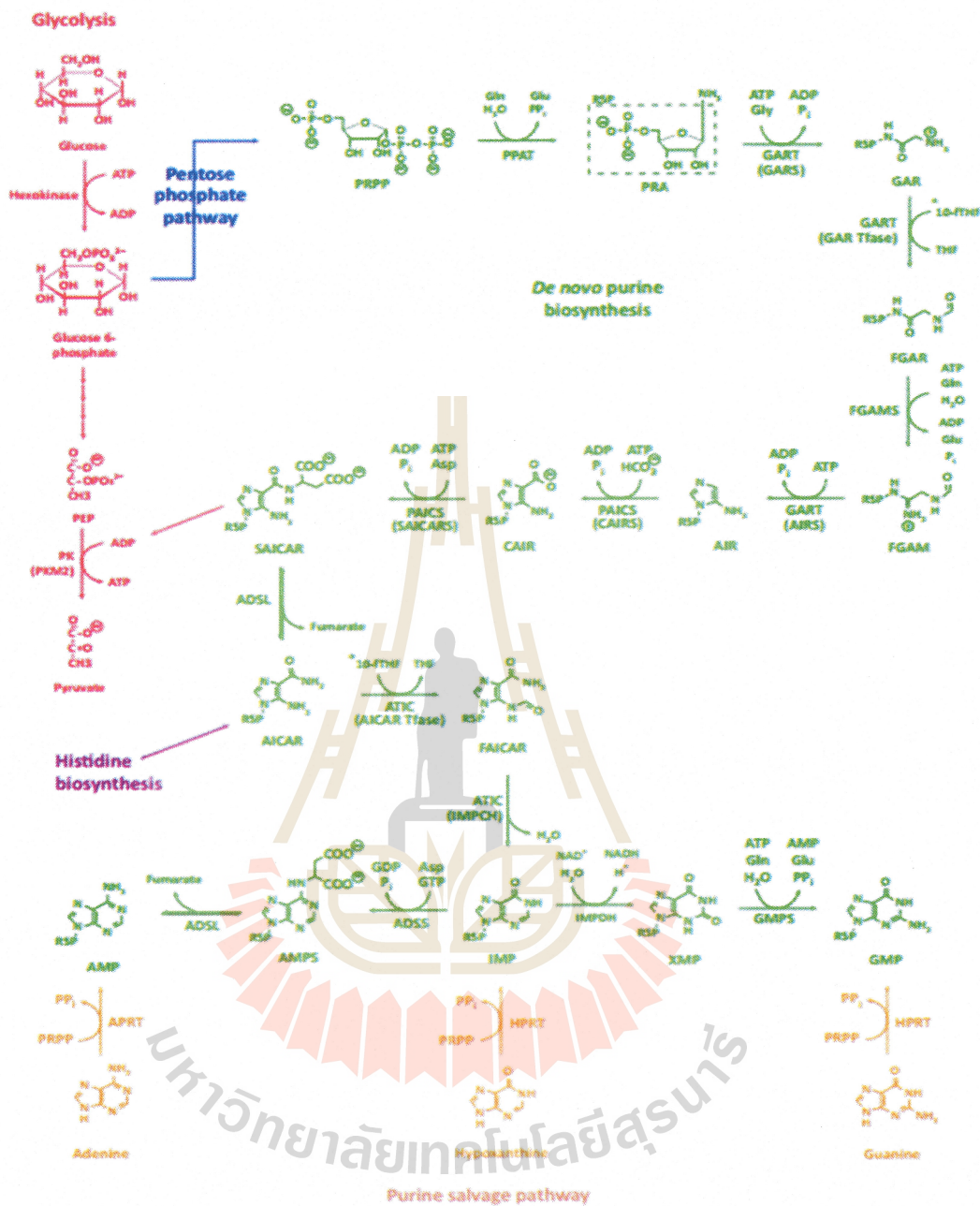
หมายเหตุ: <sup>a, b, ab</sup> ที่แตกต่างกันในตารางหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ( $P < 0.05$ )

## 2.5 สารที่ทำให้เนื้อสัตว์เกิดรสชาติ

เนื้อสัตว์จะมีรสชาติที่ดีได้นั้น เกิดขึ้นได้จากหลายองค์ประกอบ กระบวนการที่ทำให้เนื้อสัตว์มีรสชาติเกิดจากสารเคมีเป็นส่วนประกอบ เกิดจากกระบวนการทำงานที่ซับซ้อน และสารตั้งต้นที่ทำให้เกิดกระบวนการสร้างสารเคมีมาจากแหล่งที่แตกต่างกัน ทำให้ไม่อาจทราบกลไกในการสร้างรสชาติในเนื้อได้อย่างสมบูรณ์ หลายปีที่ผ่านมาได้มีการศึกษาเพื่อตรวจสอบสารที่หน้าที่ปรับเปลี่ยนหรือทำให้เกิดรสชาติในเนื้อ และพบว่า Monosodium glutamate (MSG) และ 5'-nucleotides ได้แก่ inosine 5'-monophosphate (IMP) และ guanosine 5'-monophosphate (GMP) เป็นสารที่ทำหน้าที่ดังกล่าว (Shahidi, 2012)

MSG เป็นสารประกอบประเภทกรดอะมิโน เป็นเกลือของกรดกลูตามิก (Glutamic acid) และเป็นองค์ประกอบสำคัญของโปรตีนทั่วไป เช่น โปรตีนในเนื้อสัตว์ โปรตีนในนม กรดอะมิโนจะจับอยู่กับกรดอะมิโนตัวอื่นๆ เกิดเป็นโครงสร้างของโปรตีน (Bellisle, 1999) กรดอะมิโนที่อยู่ในรูปโปรตีนจะไม่มีกลิ่น รส และไม่มีคุณสมบัติที่ทำให้เกิดรสชาติในอาหาร แต่เมื่อเกิดกระบวนการย่อยสลายโปรตีน เช่น กระบวนการหมัก หรือทำให้สุกด้วยความร้อน ส่งผลให้กรดอะมิโนในโปรตีนสลายแยกตัวออกมาเป็นกรดอะมิโนอิสระ (Jayasena et al., 2013) เป็นสารที่ทำให้เกิดรสชาติในอาหารเช่นเดียวกับ Bellisle (1999) ที่กล่าวว่ากรดกลูตามิกเป็นกรดอะมิโนที่พบมากในอาหาร ในอาหารบางชนิดพบว่ามีกรดอะมิโนอิสระสูงและเป็นสารที่ทำให้เกิดรสชาติในเนื้อ โดยในเนื้อไก่พบว่ามีกรดอะมิโนอิสระสูงถึง 3,309 มิลลิกรัม/กรัม และมีกรดอะมิโนอิสระ 44 มิลลิกรัม/กรัม

พิวรีน (purine) เป็นสารสำคัญในโครงสร้าง DNA และ RNA และเป็นแหล่งพลังงานต่างๆ ในเซลล์ เป็นสารที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ได้ และได้รับมาจากอาหารที่รับประทานเข้าไป เมื่อร่างกายใช้สารพิวรีนแล้วเหลือสารปลายทางสุดท้าย คือกรดยูริก (Uric acid) กระบวนการสังเคราะห์พิวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์ (Purine ribonucleotide) มีอยู่สองกระบวนการ คือ de novo biosynthetic และ salvage pathway ดังแสดงในภาพที่ 2.4 ในกระบวนการ de novo pathway ได้สารอนุพันธ์ของพิวรีนตัวแรก คือ IMP มีเบส คือ Hypoxanthine เป็นส่วนประกอบ จากนั้น IMP ถูกเปลี่ยนเป็น Adenosine monophosphate (AMP) และ GMP

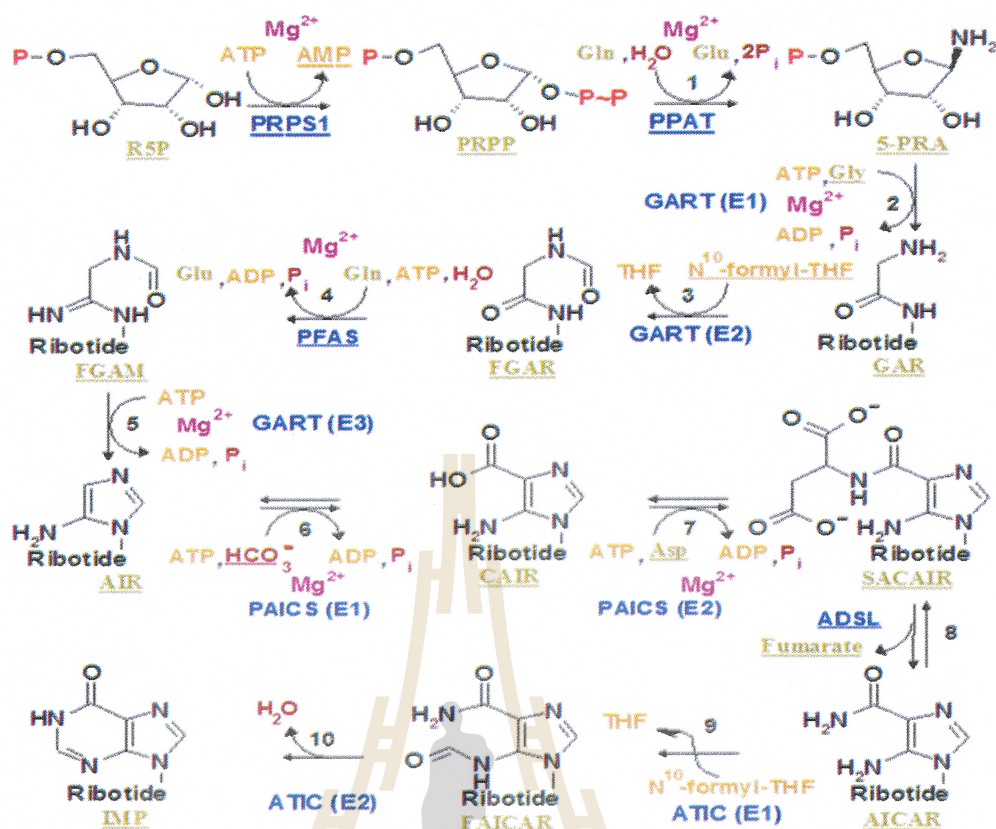


ภาพที่ 2.4 กระบวนการการ Purine de novo biosynthetic และ salvage pathway

ที่มา : Pedley and Benkovic (2017)

IMP สังเคราะห์จากสารตั้งต้น คือ 5-phosphoribosyl- $\alpha$ -pyrophosphate (PRPP) ในกระบวนการสังเคราะห์เกิดการทำปฏิกิริยาขึ้นโดยอาศัยเอนไซม์ที่ต่างกันหลายชนิด ดังแสดงในภาพที่ 2.5





ภาพที่ 2.5 กระบวนการสังเคราะห์ IMP จาก PRPP โดยวิถี de novo biosynthetic pathway  
ที่มา : [https://en.wikipedia.org/wiki/Purine\\_metabolism](https://en.wikipedia.org/wiki/Purine_metabolism), 14 กุมภาพันธ์ 2561

PRPP เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการการสังเคราะห์ IMP มีเอนไซม์ที่เข้าทำปฏิกิริยาทั้ง 10 ขั้นตอนดังนี้ 1. Glutamine aminotransferase 2. Glycinamide ribonucleotide (GAR) 3. Formyl glycinamide ribonucleotide (FGAR) 4. Formyl glycinamide ribonucleotide (FGAM) 5. 5'-Aminoimidazole ribonucleotide (AIR) 6. 4'-carboxy-5'-aminoimidazole ribonucleotide 7. N-Succinyl-5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide (SAICAR) 8. 5'-Aminoimidazole-4'-carboxamide ribonucleotide (AICAR) 9. N-Formyl aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide (FAICAR) และปฏิกิริยาในขั้นตอนที่ 10 เป็นขั้นตอนการควบแน่นเกิดเป็น IMP ซึ่ง IMP ไม่สะสมภายในเซลล์ จึงเปลี่ยนรูปเป็น AMP และ GMP การศึกษาของ Kawai et al. (2002) กล่าวว่า GMP เป็นสารเคมีที่มีความสัมพันธ์กับ MSG การศึกษาของ Aliani and Farmer (2005) พบว่าในเนื้อไก่มีปริมาณ GMP บริเวณกล้ามเนื้อหน้าอกอยู่ถึง 16.8 มิลลิกรัม/100 กรัม และมีการศึกษาที่พบว่า ยีน *adsl* เป็น candidate gene เกี่ยวข้องกับการสร้าง IMP ในกล้ามเนื้อ (Hui-Fang et al., 2010; Wu et al., 2009)

## 2.6 ความสัมพันธ์ของพิวรีนกับการเจริญเติบโต

พิวรีนถูกระบุว่าเป็นโครงสร้างพื้นฐานของ DNA และ RNA และมีความสำคัญต่อกระบวนการทางเคมีต่างๆ ของทุกเซลล์ในร่างกาย การศึกษาของ Jinnah and Van Den Berghe (2013) พบว่าหากกระบวนการสังเคราะห์พิวรีนมีความผิดปกติหรือไม่สามารถเกิดการสังเคราะห์ได้ส่งผลให้เกิดการพัฒนาสมองผิดปกติ และเจริญเติบโตช้า ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Yamaoka et al. (1997) ทำการศึกษาในหนู พบว่าสารพิวรีนส่งผลต่อการทำงานของ fibroblast growth factor (FGF) ซึ่งเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโต กระตุ้นการแบ่งตัว และเพิ่มจำนวนเซลล์หลายชนิด เช่น เซลล์ไฟโบร บลาสต์ เซลล์เยื่อผนังด้านในของหลอดเลือด แต่เนื่องจากปัจจุบันการศึกษาคือความสัมพันธ์ของพิวรีนและการเจริญเติบโตยังไม่ชัดเจนนัก จึงไม่ทราบกลไกที่ชัดเจนและมีข้อมูลเพียงเล็กน้อย

## 2.7 ความสัมพันธ์ของพันธุกรรมที่แตกต่างกันและระดับพิวรีนในเนื้อ

จากการศึกษาของ Tang et al. (2009) ที่ทำการศึกษาในไก่ที่มีการเจริญเติบโตช้าคือ Wen chang และ Xianju กับไก่ที่มีการเจริญเติบโตเร็ว คือ Avian และไก่สายพันธุ์ไข่ คือ Hy-Line Brown และ Lingnanhuang พบว่าไก่ที่มีการเจริญเติบโตช้ามีการสะสม IMP ซึ่งเป็นสารพิวรีน ในเนื้อมากกว่าไก่ที่มีการเจริญเติบโตเร็ว สอดคล้องกับการศึกษาของ Guan et al. (2013) และการศึกษาของ Jung et al. (2013) พบว่าในไก่ที่มีการเจริญเติบโตช้ามีระดับ IMP ในเนื้อใกล้เคียงกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.4 จากข้อมูลดังกล่าวต้องการชี้ให้เห็นว่าพันธุกรรมที่ต่างกันมีผลต่อระดับการสะสมพิวรีนแตกต่างกัน

ตารางที่ 2.4 ความสัมพันธ์ของพันธุกรรมที่แตกต่างกันและปริมาณการสะสม IMP ในเนื้อไก่

Breed	Slaughter (Day)	Sex	Unit	Leg muscle	Breast muscle	Reference
WCH	112	-	mg/g	1.52 ± 0.15 <sup>a</sup>	3.59 ± 0.39 <sup>a</sup>	Tang et al. (2009)
J	112	-		1.44 ± 0.12 <sup>a</sup>	3.39 ± 0.23 <sup>a</sup>	
HLB	112	-		1.35 ± 0.10 <sup>a</sup>	3.69 ± 0.25 <sup>a</sup>	
LNH	56	-		0.97 ± 0.12 <sup>b</sup>	3.25 ± 0.22 <sup>a</sup>	
AV	49	-		0.95 ± 0.13 <sup>b</sup>	2.40 ± 0.21 <sup>b</sup>	
NC	110	-	mg/g	-	2.49 ± 29.25 <sup>a</sup>	Guan et al. (2013)
FC	110	-		-	2.39 ± 17.62 <sup>b</sup>	
XC	110	-		-	2.51 ± 17.71 <sup>a</sup>	
LC	110	-		-	2.10 ± 15.72 <sup>c</sup>	
AAB	42	-		-	1.90 ± 19.89 <sup>d</sup>	
B	140	Male	mg/g	1.35 <sup>b</sup>	2.46 <sup>b</sup>	Jung et al. (2013)
G	140			1.45 <sup>a</sup>	2.53 <sup>a</sup>	
R	140			1.53 <sup>a</sup>	2.56 <sup>a</sup>	
W	140			1.48 <sup>a</sup>	2.62 <sup>a</sup>	
Y	140			1.51 <sup>a</sup>	2.68 <sup>a</sup>	

ตารางที่ 2.4 ความสัมพันธ์ของพืชรูปร่างที่แตกต่างกันและปริมาณการสะสม IMP ในเนื้อ (ต่อ)

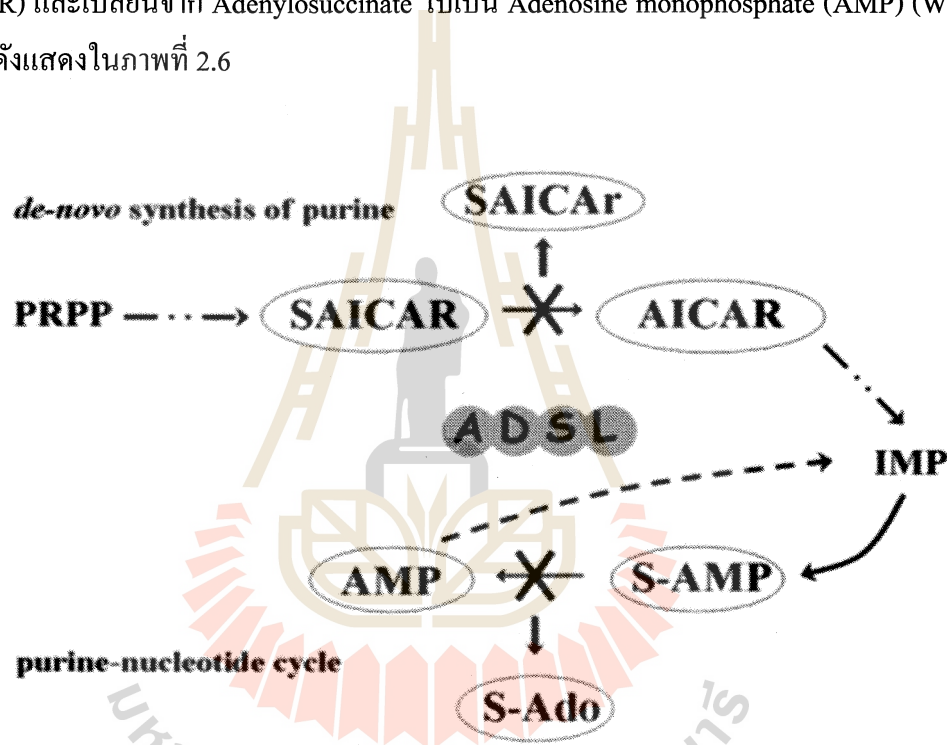
Breed	Slaughter (Day)	Sex	Unit	Leg muscle	Breast muscle	Reference
B	140	Female	mg/g	1.62 <sup>ab</sup>	2.61 <sup>b</sup>	Jung et al. (2013)
G	140			1.56 <sup>ab</sup>	2.64 <sup>ab</sup>	
R	140			1.68 <sup>a</sup>	2.67 <sup>ab</sup>	
W	140			1.53 <sup>b</sup>	2.66 <sup>ab</sup>	
Y	140			1.65 <sup>ab</sup>	2.68 <sup>a</sup>	

หมายเหตุ: WCH = Wenchang, XJ = Xianju, HLB = Hy-Line Brown, LNH = Lingnanhuang, AV = Avian, NC = Ninghai chicken, FC = frizzle chicken, XC = Ninghai xiang chicken, LC = Zhenning loquat chicken และ AAB: Arbor Acres plus broiler, B = Korean native chicken black, G = Korean native chicken gray-brown, R = Korean native chicken red-brown, W = Korean native chicken white, และ Y = Korean native chicken yellow-brown

a, b, c, d แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ( $P < 0.05$ )

## 2.8 Adenylosuccinate lyase gene หรือ *adsl*

Adenylosuccinate lyase gene หรือ *adsl* ในไก่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 1 ที่ตำแหน่ง NM\_205529 เมื่อเกิดการ Transcription เป็น mRNA มีความยาวอยู่ที่ 1,520 bp ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NM\\_205529.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NM_205529.1), 25 มีนาคม 2558) Adenylosuccinate lyase โปรตีนที่ได้จากการถอดรหัสของยีนทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ในกระบวนการสังเคราะห์พิวรีนด้วยกระบวนการ *de novo* purine biosynthesis ทำหน้าที่ช่วย catalyzes 2 ส่วนในกระบวนการสังเคราะห์เปลี่ยน Succinyl-Amino-Imidazole-Carboxamide Ribotide (SAICAR) ไปเป็น Amino-Imidazole-Carboxamide Ribotide (AICAR) และเปลี่ยนจาก Adenylosuccinate ไปเป็น Adenosine monophosphate (AMP) (Wu et al., 2009) ดังแสดงในภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 การทำงานยีน *adsl* ในกระบวนการสังเคราะห์พิวรีน  
ที่มา : <http://www1.lfl.cuni.cz/udmp/adsl/>, 10 เมษายน 2558

## 2.9 ความสัมพันธ์ของยีน *adsl* และระดับพิวรีนในเนื้อ

จากการรวบรวมเอกสารเกี่ยวกับยีน *adsl* พบว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิด IMP ในเนื้อ และ genotype ที่แตกต่างกันของยีน มีผลต่อปริมาณพิวรีนในเนื้อแตกต่างกัน (Hui-Fang et al., 2010; Wu et al., 2009) ทำให้สนใจศึกษายีน *adsl* ในครั้งนี้ ดังแสดงในตารางที่ 2.5



ตารางที่ 2.5 ความสัมพันธ์ของยีน *adsl* และปริมาณการสะสม IMP ในเนื้อ

Genotype	IMP (mg g <sup>-1</sup> )	Reference
TT	2.465 ± 0.026 <sup>b</sup>	Hui-Fang et al. (2010)
CT	2.034 ± 0.055 <sup>a</sup>	
CC	1.970 ± 0.061 <sup>a</sup>	
CC	3.395 ± 0.112 <sup>a</sup>	Wu et al. (2009)
CT	3.517 ± 0.127 <sup>a</sup>	
TT	4.275 ± 0.231 <sup>b</sup>	

หมายเหตุ : <sup>a,b</sup> ในตารางแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ( $P < 0.05$ )

## 2.10 คุณภาพเนื้อ (Meat quality)

คุณภาพเนื้อแบ่งเป็น 3 ประเภท ได้แก่ 1. ลักษณะปรากฏ เช่น สีของเนื้อ 2. ลักษณะทางกายภาพ เช่น ความเป็นกรด - ด่างของเนื้อ ความสามารถในการอุ้มน้ำ โครงสร้างของเนื้อซึ่งมีผลต่อความเหนียวนุ่ม 3. ลักษณะทางเคมี เช่น องค์ประกอบของปริมาณโปรตีนและไขมันในเนื้อ พันธุกรรมก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญและมีผลต่อลักษณะต่างๆ (Zhao et al., 2007) แต่อย่างไรก็ตามคุณภาพเนื้อสัตว์อาจมีความหมายแตกต่างกันไปตามความต้องการของผู้บริโภคหรือผู้ใช้ประโยชน์จากเนื้อสัตว์ซึ่งมีจุดประสงค์ในการนำเนื้อไปใช้แตกต่างกัน (Williams, 2008)

## 2.11 ปัจจัยกำหนดคุณภาพเนื้อสัตว์

การกำหนดคุณภาพของเนื้อขึ้นอยู่กับปัจจัยได้แก่ คุณภาพทางโภชนาการ ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เกลือแร่ และวิตามิน คุณภาพทางการบริโภคเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติที่ใช้ตัดสินความน่ารับประทานของเนื้อสัตว์นั้นๆ เช่น สีของเนื้อขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ อายุ การทำงานของกล้ามเนื้อ ปริมาณเม็ดสีในเลือด เม็ดสีในกล้ามเนื้อ และการเปลี่ยนแปลงสีภายในกล้ามเนื้อ ไขมันแทรกระหว่างเส้นใยกล้ามเนื้อ การมีไขมันแทรกอยู่ระหว่างเส้นใยกล้ามเนื้อสามารถช่วยเพิ่มความนุ่ม กลิ่น และรสชาติที่เป็นลักษณะเฉพาะในเนื้อแต่ละประเภทได้ ความนุ่มของเนื้อ ขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ พันธุ์สัตว์ อายุ ชนิดของกล้ามเนื้อ ปริมาณไขมันที่แทรกอยู่ในเนื้อ การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในกล้ามเนื้อสัตว์ภายหลังการฆ่า เวลาในการบ่มซึ่งมีผลโดยตรงต่อเนื้อสัมผัส และส่งผลต่อความน่ารับประทาน กลิ่นและรสชาติ เนื้อสัตว์แต่ละชนิดมีกลิ่นและรสชาติที่เป็นลักษณะเฉพาะตัว ขึ้นอยู่กับสัดส่วนของสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่น ความชุ่มฉ่ำ คือเมื่อเคี้ยวแล้วรู้สึกไม่เหนียว และเนื้อไม่แห้ง จะเป็นลักษณะของเนื้อจากสัตว์ที่มีอายุน้อย เนื้อที่มีความสามารถอุ้มน้ำได้ดี ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ เนื้อที่มีความนุ่มเป็นเนื้อที่มีเส้นใยกล้ามเนื้อค่อนข้างละเอียด ความ

ละเอียดของเส้นใยกล้ามเนื้อขึ้นอยู่กับอายุ ชนิดของสัตว์ และลักษณะการใช้งานของกล้ามเนื้อ ([http://elearning.nsruc.ac.th/web\\_elearning/meattech/lesson/less8\\_2.html](http://elearning.nsruc.ac.th/web_elearning/meattech/lesson/less8_2.html), 11 เมษายน 2558) การควบคุมลักษณะดังกล่าว นอกจากปัจจัยด้านอาหาร การเลี้ยงดู และสิ่งแวดล้อมแล้ว ปัจจัยด้านพันธุกรรมถือเป็นส่วนหนึ่งที่มีความสำคัญ และในการศึกษาค้างนี้สนใจศึกษาประเด็นของพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับลักษณะการเจริญเติบโต ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ จากปัจจัยที่กล่าวข้างต้นเห็นได้ว่าคุณภาพเนื้อถูกกำหนดด้วยหลายลักษณะ แต่ในการศึกษาค้างนี้สนใจเกี่ยวกับขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อ เนื่องจากมีผลต่อความนุ่มของเนื้อ และยีน *capn1* เป็นหนึ่งในยีนที่ทำงานในกระบวนการเกิดความนุ่มของเนื้อ (ภูมิพงศ์, 2555) และมีความสัมพันธ์กับขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ (Felicio et al., 2013; Shu et al., 2015; Smith et al., 2000; White et al., 2005; Williams, 2008) สอดคล้องกับการศึกษาของ Lee et al. (2014) พบว่า SNPs หลายตำแหน่งของยีน *capn1* มีผลต่อความชุ่มฉ่ำในเนื้อวัว และบริเวณ SNPs g.2554T เกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวที่อายุ 35 41 และ 42 วัน ซึ่งน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นนั้นสัมพันธ์กับความสามารถในการอุ้มน้ำ (Felicio et al., 2013)

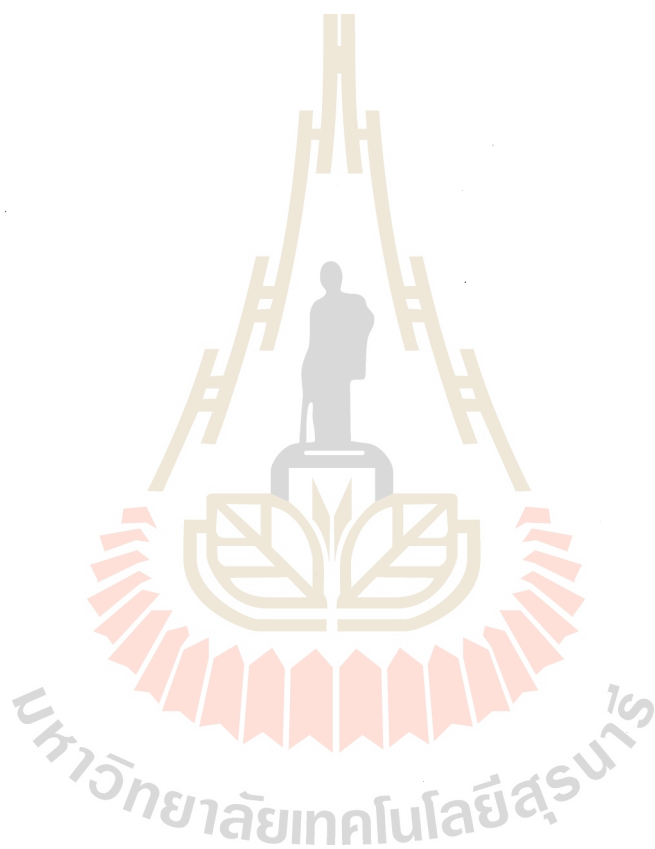
## 2.12 Micromolar calcium activated neural protease หรือ *capn1*

Micromolar calcium activated neural protease gene หรือยีน *capn1* ในไก่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 3 บริเวณ NM\_205303 เมื่อเกิดการ Transcription เป็น mRNA มีความยาว 3,381 bp ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM\\_205303.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM_205303.1), 12 เมษายน 2558) ทำหน้าที่สร้างเอนไซม์ Calpain หรือ  $\mu$ -Calpain เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม Proteolytic enzymes เรียกว่า calpains (Williams, 2008) หรืออีกชื่อที่ใช้เรียกโปรตีนที่ได้จากการถอดรหัสของยีน *capn1* คือ Cysteine protease ทำหน้าที่ในการย่อยสลาย Myofibrillar proteins หลังจากสัตว์ตาย และเป็นเอนไซม์หลักในกระบวนการเกิดความเหนียวนุ่มของเนื้อหลังจากสัตว์ตาย ในไก่ยีน *capn1* พบว่ามี 118 SNPs (Felicio et al., 2013) การทำงานของยีนในกลุ่ม Calpain มีสารหลายตัวช่วยกระตุ้นการทำงาน เช่น Acyl-CoA-binding protein, Calcium, Calpain activator protein, Phospholipids และ p-Ser50 by ERK และมีสารที่ยับยั้งการทำงานคือ Calpastatin (Goll et al., 1998)

## 2.13 ความสัมพันธ์ของยีน *capn1* กับการเจริญเติบโต

จากการรวบรวมเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา ยีน *capn1* และการเจริญเติบโต และเส้นใยกล้ามเนื้อพบว่า genotype ที่แตกต่างกันของยีนมีผลต่อการเจริญเติบโตแตกต่างกัน (Zhang et al., 2007) และการเข้าสู่ของ Haplotype ที่แตกต่างกันส่งผลต่อการเจริญเติบโตและเส้นใยกล้ามเนื้อที่แตกต่างกัน (Zhang et al., 2008) และสอดคล้องกับการศึกษาของ Goll et al. (1998) ที่กล่าวว่าการทำงานของยีน *capn1* ช่วยในการสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อเมื่อสัตว์ตาย และมีผลต่อการเจริญเติบโต

ในการเพิ่มความหนาแน่นของกล้ามเนื้อ จากข้อมูลดังกล่าวเห็นได้ว่าการทำงานของยีน *capn1* เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต ดังแสดงในตารางที่ 2.6 แต่ปัจจุบันข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ของ *capn1* กับการเจริญเติบโตในไก่ยังมีน้อยจึงไม่ทราบกลไกที่เกี่ยวข้องอย่างชัดเจน





ตารางที่ 2.6 ความสัมพันธ์ของยีน *capn1* กับการเจริญเติบโตและความหนาแน่นของเส้นใยกล้ามเนื้อ

Genotype/ Haplotype	Live weight (g)	Breast muscle weight (g)	Leg muscle weight (g)	Breast fiber density (mm <sup>2</sup> )	Reference
A1A1	1,837 ± 51.99 <sup>a</sup>	200.61 ± 8.15 <sup>a</sup>	286.78 ± 11.08 <sup>a</sup>	987.54 ± 95.09 <sup>b</sup>	Zhang et al. (2007)
A1A2	1,874 ± 20.93 <sup>a</sup>	199.10 ± 3.28 <sup>ab</sup>	291.36 ± 4.46 <sup>b</sup>	859.14 ± 37.92 <sup>a</sup>	
A2A2	1,767 ± 36.40 <sup>b</sup>	191.89 ± 5.71 <sup>b</sup>	275.12 ± 7.76 <sup>b</sup>	765.19 ± 88.82 <sup>ab</sup>	
H1H1	1791.70 ± 51.73	187.51 ± 7.87	295.10 ± 10.98	<b>910.82 ± 43.42*</b>	Zhang et al. (2008)
H1H2	1827.78 ± 77.32	207.81 ± 11.77	286.37 ± 16.42	885.27 ± 12.35*	
H1H3	<b>1918.60 ± 39.76</b>	<b>208.78 ± 6.05</b>	297.04 ± 8.44	851.41 ± 75.85*	
H1H4	1833.39 ± 54.97	195.72 ± 8.37	282.77 ± 11.67	814.53 ± 88.20*	
H1H5	1823.97 ± 55.89	206.61 ± 8.51	286.16 ± 11.86	827.15 ± 96.73*	
H1H6	1658.94 ± 89.72	176.39 ± 13.66	<u>248.02 ± 19.05</u>	831.16 ± 54.52*	
H1H7	1826.75 ± 45.03	196.67 ± 6.85	278.24 ± 9.56	791.71 ± 43.47*	
H1H8	1781.58 ± 89.31	193.72 ± 13.59	269.88 ± 18.96	759.84 ± 40.45*	

ตารางที่ 2.6 ความสัมพันธ์ของยีน *capn1* กับการเจริญเติบโตและความหนาแน่นของเส้นใยกล้ามเนื้อ (ต่อ)

Genotype/ Haplotype	Live weight (g)	Breast muscle weight (g)	Leg muscle weight (g)	Breast fiber density (mm <sup>2</sup> )	Reference
H2H4	1850.16 ± 74.07	206.11 ± 11.28	273.05 ± 15.72	840.34 ± 25.27*	Zhang et al. (2008)
H3H3	1849.51 ± 63.84	178.42 ± 9.72	284.94 ± 13.55	799.03 ± 95.53*	
H3H4	1910.03 ± 88.80	194.73 ± 13.52	<b>299.82 ± 18.85</b>	<u>634.27 ± 22.17*</u>	
H3H7	<u>1622.80 ± 96.43</u>	164.03 ± 14.68	256.78 ± 20.47	786.93 ± 20.52*	
H4H7	1891.27 ± 90.35	202.74 ± 13.75	292.33 ± 19.18	808.89 ± 19.31*	

หมายเหตุ :

<sup>a, ab, b</sup> ในตารางแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ( $P < 0.05$ )

\* ในตารางแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ( $P < 0.01$ ) ของแต่ละ Haplotype

ตัวอักษรที่ถูกระบุในตารางแสดงถึง Haplotype นั้นมีความสัมพันธ์กับลักษณะดังกล่าวสูงที่สุด  
ตัวอักษรที่ถูกระบุในตารางแสดงถึง Haplotype นั้นมีความสัมพันธ์กับลักษณะดังกล่าวต่ำที่สุด

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินงานวิจัยและการเก็บข้อมูล

#### 3.1 สัตว์ทดลอง

การศึกษานี้ใช้ไก่โคราชจำนวน 610 ตัว ไก่ทุกตัวมาจากการผสมพันธุ์ด้วยวิธีการผสมเทียมระหว่างแม่ไก่ มทส. และพ่อไก่เหลืองหางขาวด้วยอัตราการผสมพ่อ 1 ตัว : แม่ไก่ 5 ตัว โดยทำการผสมแบบสุ่ม ในการศึกษาครั้งนี้ใช้แม่ไก่ มทส. รุ่นที่ 5 และพ่อพันธุ์ไก่เหลืองหางขาวรุ่นที่ 3

##### 3.1.1 การให้อาหารและการจัดการไก่

- ไก่อายุ 0–4 สัปดาห์ โปรตีนไม่ต่ำกว่า 21%
- ไก่อายุ 5–8 สัปดาห์ โปรตีนไม่ต่ำกว่า 19%
- ไก่อายุ 9–12 สัปดาห์ โปรตีนไม่ต่ำกว่า 17%
- การเลี้ยงมีการให้อาหารเต็มที่ มีน้ำสะอาดให้กินตลอดทั้งวัน และทำการป้องกันโรคตามโปรแกรมการให้วัคซีนของกรมปศุสัตว์

#### 3.2 แผนการทดลองและการเก็บข้อมูล

การศึกษาใช้ไก่โคราชจำนวน 610 ตัว โดยลูกไก่ที่อายุ 1 วัน ทุกตัวจะถูกติดเบอร์ที่ขาเพื่อใช้ในการบันทึกข้อมูลรายตัว

- เก็บข้อมูลเบอร์ไก่ 610 ตัว ซึ่งนำหนักที่อายุ 1 วัน และ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ เพื่อใช้ในการประเมินการเจริญเติบโต
- เก็บตัวอย่างเลือดจากไก่ 610 ตัว เพื่อนำมาตรวจสอบและวิเคราะห์หา genotype ของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1*
- ในไก่ที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ จะทำการสุ่มตัวอย่างไก่จำนวน 20 ตัว จากแต่ละอายุ และเก็บตัวอย่างเนื้อหน้าอก เพื่อนำมาวิเคราะห์ระดับพิวรีนในเนื้อ
- ในไก่ที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ ทำการสุ่มตัวอย่างไก่จำนวน 6 ตัว จากแต่ละอายุและเก็บตัวอย่างเนื้อหน้าอก เพื่อนำมาวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *mc4r* เก็บตัวอย่างสมอง เพื่อวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *adsl* และ *capn1*
- ในไก่ที่อายุ 10 สัปดาห์ ทำการสุ่มตัวอย่างไก่จำนวน 200 ตัว เพื่อเก็บตัวอย่างเนื้ออก และสะโพกนำไปส่งกลั่นวัดขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ

### 3.3 การตรวจวัดปริมาณพิวรีนในเนื้อ

นำตัวอย่างเนื้อหน้าอกไป Freeze dry โดยใช้เวลาประมาณ 3 วัน แล้ววัดตัวอย่างให้ละเอียด ชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 100 มิลลิกรัม เติม TFA + Formic (1:1) ปริมาณ 2:2 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มในตู้ดูดควันที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อย่อยตัวอย่างจนใส จากนั้นนำไปประเหยกรดออกที่อุณหภูมิ 50 °C เติม DI water ปริมาณ 5 มิลลิลิตร เพื่อกลั้วขวดอีกครั้ง แล้วจึงนำมาละลายด้วย Buffer A (150 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + 150 mM KCl pH6.0) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร จากนั้นถ่ายของเหลวใส่ในขวด Volumetric ปริมาณ 10 มิลลิลิตร นำมาละลายด้วย Buffer A อีกครั้งปริมาณ 2 มิลลิลิตร จากนั้นถ่ายใส่ขวด Volumetric ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ละลายด้วย Buffer A ที่ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ซ้ำอีก 1 ครั้ง แล้วถ่ายใส่ขวด Volumetric ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Buffer A ให้ครบปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำของเหลวที่ได้มากรองผ่านตัวกรองขนาด 0.45 µm ใส่ขวด Vial สำหรับนำไปวิเคราะห์ HPLC (ตัวอย่างสดแบ่งใส่ Microcentrifuge tube (2-3 หลอด/ตัวอย่าง) แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 rpm เป็นเวลา 30 วินาทีก่อนจึงนำมากรอง) แล้วนำมาตรวจสอบระดับพิวรีนโดยใช้ HPLC-Purine วิเคราะห์โดยใช้คอลัมน์ Hypersil ODS C18

### 3.4 การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวัดระดับกรดยูริกในเลือด

การตรวจวัดระดับกรดยูริกในเลือด ทำโดยเก็บตัวอย่างเลือดจากไก่ที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ ปริมาณ 3 มิลลิลิตร โดยเก็บใส่หลอดที่เคลือบด้วยสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด จากนั้นทำการตรวจโดยใช้หลักการ Enzymatic colorimetric assay โดยกรดยูริกในตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับ เอนไซม์ uricase ซึ่งมีความจำเพาะกับกรดยูริก ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการส่งตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจระดับกรดยูริกในเลือดที่โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

### 3.5 การศึกษา Histology ของเนื้อ

#### 3.5.1 การเก็บและคงสภาพตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างเนื้อหน้าอกและสะโพกจากไก่โคราชจำนวน 200 ตัว ตัดเนื้อแนวขวางกับเส้นใยกล้ามเนื้อเป็นรูปทรงสี่เหลี่ยมขนาด กว้าง 1 : ยาว 2 : สูง 0.5 เซนติเมตร จากนั้นล้างด้วยน้ำเกลือเพื่อนำสิ่งสกปรกและเลือดออกจากตัวอย่าง ก่อนนำใส่โหลที่บรรจุด้วย 10% ฟอर्मาลิน ทำการแช่ตัวอย่างเป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง เพื่อรักษาโครงสร้างและเป็นการนำน้ำออกจากเซลล์

#### 3.5.2 การฝังเนื้อเยื่อในพาราฟิน

หลังจากคงสภาพตัวอย่างแล้ว นำเนื้อมาทำการฝังในพาราฟินเพื่อให้พาราฟินเข้าไปแทนที่น้ำในโครงสร้างของตัวอย่าง ทำการล้างเนื้อเยื่อโดยการแช่ในแอลกอฮอล์ 70% 2 ครั้ง ครั้งละ 40 นาที แอลกอฮอล์ 80% 2 ครั้ง ครั้งละ 40 นาที แอลกอฮอล์ 95% 2 ครั้ง ครั้งละ 40 นาที แอลกอฮอล์

100% 2 ครั้ง ครั้งละ 1 ชั่วโมง เมื่อแช่แอลกอฮอล์จนครบจึงนำมาแช่ใน Xylene เพื่อให้เนื้อเยื่อใส อีก 2 ครั้ง ครั้งละ 40 นาที เสร็จแล้วจึงนำไปแช่ในพาราฟินหลอมเหลว 2 ครั้ง ครั้งละ 40 นาที จากนั้นนำมาหล่อใส่บล็อกเพื่อทำการฝังพาราฟิน

### 3.5.3 การตัดเนื้อเยื่อและย้อมสีตัวอย่าง

นำเนื้อที่ฝังด้วยพาราฟินมาตัดด้วยเครื่อง Microtome ให้มีความหนา 4-7 ไมครอน จากนั้นมาติดบนสไลด์ที่เคลือบด้วย Polysine ให้เนื้อเยื่อติดติดกับสไลด์ จากนั้นย้อมด้วยสี Hematoxylin ก่อนทำการย้อมนำตัวอย่างมาล้างโดยแช่ใน Xylene 4 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที แช่ใน Ethanol 100% 2 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที แช่ใน Ethanol 95% 2 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที แล้วนำมาผ่านน้ำประปา โดยเปิดให้น้ำไหลผ่านตัวอย่างทำให้สไลด์ใสขึ้นเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นย้อมด้วยสี Hematoxylin เป็นเวลา 5 นาที นำสไลด์ถูกย้อมมาล้างสีส่วนเกินด้วยน้ำประปาไหลผ่านเป็นเวลา 2 นาที ย้อมอีกครั้งด้วย Eosin เป็นเวลา 3 นาที และล้างสีส่วนเกินอีกครั้งเป็นเวลา 1 นาที นำมาล้างซ้ำด้วย Ethanol 95% 3 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที ล้างขั้นสุดท้ายอีกครั้งเพื่อขจัดพาราฟินด้วย Xylene 3 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที และปิดสไลด์ด้วยแผ่นปิดสไลด์เพื่อนำไปวิเคราะห์ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อต่อไป ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่เชื่อมต่อกับจอ ภาพและบันทึกภาพด้วยโปรแกรม Zen 2011 (blue edition) (Zeiss; Germany)

## 3.6 การศึกษาความสัมพันธ์ของรูปแบบ genotype

### 3.6.1 การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อสกัด Genomic DNA

เก็บตัวอย่างเลือดปริมาณ 3 มิลลิลิตร จากเส้นเลือดดำบริเวณคอ (Jugular vein) ของไก่โคราชคณะแพศ จำนวน 610 ตัว โดยเก็บตัวอย่างเลือดที่บรรจุสารป้องกันเลือดแข็งตัว (EDTA) และเก็บที่อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะทำการสกัด Genomic DNA ซึ่งขั้นตอนในการสกัด DNA มีดังนี้

#### - การย่อยสลายเม็ดเลือดแดง

1. นำตัวอย่างเลือดปริมาณ 200 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอด microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม RBC Lysis Buffer ปริมาณ 600 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที นำไป Centrifuge ที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 2 นาที ดูดส่วนใสด้านบนทิ้ง
2. ทำซ้ำขั้นตอนที่ 1 อีกครั้ง จากนั้นเติม RBC Lysis buffer ปริมาณ 100 ไมโครลิตร

#### - การย่อยโปรตีน

3. เติม Proteinase K ปริมาณ 20 ไมโครลิตร แล้วนำไปผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง Vortex จากนั้นนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 10 นาที
4. เติม GB buffer ปริมาณ 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 10 นาที โดยทำการพลิกตลอดไปมาทุกๆ 3 นาที ระหว่างนี้เตรียม Elution Buffer นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 60 °C เพื่อใช้ในขั้นตอน DNA Elution ปริมาณ 100 ไมโครลิตรต่อ 1 ตัวอย่าง

### - การล้างตะกอน

5. เติม Ethanol 100% ปริมาณ 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นดูดสารละลาย ส่วนใสลงใน GD colume collection tube ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไป Centrifuge ที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที

6. เติม W1 Buffer ปริมาณ 400 ไมโครลิตร ลงไปใน GD column นำไป Centrifuge ที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นทิ้งสารละลายที่ใช้ในการล้างออก

7. เติม Wash Buffer ปริมาณ 600 ไมโครลิตร ลงใน GD column แล้วนำไป centrifuge ที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 30 วินาที ทิ้งสารละลายที่ใช้ในการล้างออก แล้วนำไป centrifuge ที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 3 นาทีอีกครั้ง เพื่อให้ GD colume แห้งและเหลือเฉพาะส่วนที่เป็นดีเอ็นเอ

### - DNA Elution

8. ทำการย้าย GD colume ลงไปใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่ จากนั้นเติม Elution Buffer ที่เตรียมไว้ในขั้นตอนที่ 4 ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงใน GD colume ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3-5 นาที แล้วนำไป Centrifuge ที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นจะได้ DNA บริสุทธิ์

ตรวจสอบคุณภาพ DNA โดยใช้ Agarose gel electrophoresis นำไปส่องในตู้ภายใต้แสง UV จากนั้นเก็บรักษา DNA ที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อทำการเพิ่มปริมาณ DNA และตรวจหารูปแบบ ด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) ต่อไป

### 3.6.2. การศึกษารูปแบบของยีน

#### 3.6.2.1 การศึกษา Genotype ของยีน *mc4r* ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction-Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP)

นำ Genomic DNA ซึ่งมีรายละเอียดลำดับเบสของ Forward และ Reverse primer ตามการศึกษาของ Wang et al. (2009) ดังนี้

*mc4r* - F: 5'- TTCGCCCATGTACTTC -3'

*mc4r* - R: 5'- CTGGAGGGCATAAAAGATAGT -3'

สำหรับ PCR Reaction mix รวมทั้งหมดเท่ากับ 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย genomic DNA เข้มข้น 10 นาโนกรัม ปริมาณ 1 ไมโครลิตร เติมสารประกอบต่างๆ ในปฏิกิริยาซึ่งประกอบด้วย Taq DNA polymerase ปริมาณ 12.5 ไมโครลิตร F' และ R' primer อย่างละ 0.5 ไมโครลิตร จากนั้นเติม Nuclease free water ปริมาณ 10.5 ไมโครลิตร



ขั้นตอน Initial denaturation เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 6 นาที จากนั้นทำปฏิกิริยา 35 รอบ รายละเอียดในปฏิกิริยา 1 รอบดังนี้ เริ่มที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 40 วินาที Primer annealing ที่อุณหภูมิ 56 °C เป็นเวลา 35 วินาที และ Primer extension ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 50 วินาที และจบด้วยขั้นตอนสุดท้าย (Final extension) ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 9 นาที จากนั้นนำ PCR product มาทำ SSCP analysis โดยอาศัยหลักการ denature PCR product และใช้ denaturing buffer mix รวมทั้งหมด 2 µl (98% formamide 0.09% xylene cyanole FF และ 0.09% bromophenol blue) ผสมกับ PCR product ตัวอย่างละ 8 ไมโครลิตร จากนั้นทำการ denature ที่อุณหภูมิ 98 °C เป็นเวลา 10 นาที และลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว ด้วยการนำไปแช่บนน้ำแข็งเป็นเวลา 5 นาที จึงนำไปตรวจสอบด้วย Polyacrylamide gels electrophoresis 10% gel ที่ 120 V เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำแผ่น gel ที่ได้ไปแช่ใน 0.5 XTBE ที่ผสมด้วย ethidium bromide ประมาณ 15 นาที แล้วจึงนำแผ่น gel มาตรวจสอบรูปแบบของ genotype โดยการนำไปส่องในตู้ภายใต้แสง UV

### 3.6.2.2 การศึกษารูปแบบ Genotype ของยีน *adsl* ด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction-Single strand conformation polymorphism (SSCP)

นำ Genomic DNA ซึ่งมีรายละเอียดลำดับเบสของ Forward และ Reverse primer ตามการศึกษาของ Wu et al. (2009) ดังนี้

*adsl* - F: 5'- CTT TCT CCT CCG CAG TCA C -3'

*adsl* - R: 5'- AGC ACC TTC GTC TTC GTT TT -3'

สำหรับ PCR Reaction mix รวมทั้งหมดเท่ากับ 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย genomic DNA เข้มข้น 10 นาโนกรัม ปริมาณ 1 ไมโครลิตร เติมสารประกอบต่างๆ ในปฏิกิริยาซึ่งประกอบด้วย Taq DNA polymerase ปริมาณ 12.5 ไมโครลิตร F' และ R' primer อย่างละ 0.5 ไมโครลิตร จากนั้นเติม Nuclease free water ปริมาณ 10.5 ไมโครลิตร

ในขั้นตอน Initial denaturation เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 6 นาที จากนั้นทำปฏิกิริยา 35 รอบ รายละเอียดในปฏิกิริยา 1 รอบดังนี้ เริ่มที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 40 วินาที Primer annealing ที่อุณหภูมิ 56 °C เป็นเวลา 35 วินาที และ Primer extension ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 50 วินาที และจบด้วยขั้นตอนสุดท้าย (Final extension) ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 9 นาที จากนั้นนำ PCR product มาทำ SSCP analysis โดยอาศัยหลักการ denature PCR product และใช้ denaturing buffer mix รวมทั้งหมด 2 ไมโครลิตร (98% formamide 0.09% xylene cyanole FF และ 0.09% bromophenol blue) ผสมกับ PCR product ตัวอย่างละ 8 µl จากนั้นทำการ denature ที่อุณหภูมิ 98 °C เป็นเวลา 10 นาที และลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็วโดยการนำไปแช่บนน้ำแข็งเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปตรวจสอบใน

Polyacrylamide gels electrophoresis 10% gel ที่ 120 V เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำแผ่น gel ที่ได้ไปแช่ใน 0.5 XTBE ที่ผสมด้วย ethidium bromide ประมาณ 15 นาที แล้วจึงนำแผ่น gel มาตรวจสอบรูปแบบของ genotype โดยการนำไปส่องในตู้ภายใต้แสง UV

### 3.6.2.3 การศึกษารูปแบบ Genotype ของยีน *capn1* ด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction-Single strand conformation polymorphism (SSCP)

นำ Genomic DNA ซึ่งมีรายละเอียดลำดับเบสของ Forward และ Reverse primer ตามการศึกษาของ (Zhang et al., 2008) ดังนี้

*capn1* - F: 5'- AGG GGT AGG GTA ATA GAA CTA -3'

*capn1* - R: 5'- ACC GCC AGC CAT CAA AT -3'

สำหรับ PCR Reaction mix รวมทั้งหมดเท่ากับ 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย genomic DNA เข้มข้น 10 นาโนกรัม ปริมาณ 1 ไมโครลิตร เติมสารประกอบต่างๆ ในปฏิกิริยาซึ่งประกอบด้วย Taq DNA polymerase ปริมาณ 12.5 ไมโครลิตร F' และ R' primer อย่างละ 0.5 ไมโครลิตร จากนั้นเติม Nuclease free water ปริมาณ 10.5 ไมโครลิตร

ในขั้นตอน Initial denaturation เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 6 นาที จากนั้นทำปฏิกิริยา 35 รอบ รายละเอียดในปฏิกิริยา 1 รอบดังนี้ เริ่มที่อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 45 วินาที Primer annealing ที่อุณหภูมิ 58 °C เป็นเวลา 45 วินาที และ Primer extension ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 1 นาที และจบด้วยขั้นตอนสุดท้าย (Final extension) ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 9 นาที จากนั้นนำ PCR product มาทำ SSCP analysis โดยอาศัยหลักการ denature PCR product และใช้ denaturing buffer mix รวมทั้งหมด 2 ไมโครลิตร (98% formamide 0.09% xylene cyanole FF และ 0.09% bromophenol blue) ผสมกับ PCR product ตัวอย่างละ 8 µl จากนั้นทำการ denature ที่อุณหภูมิ 98 °C เป็นเวลา 10 นาที และลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็วโดยการนำไปแช่น้ำแข็งเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปตรวจสอบใน Polyacrylamide gels electrophoresis 10% gel ที่ 120 V เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำแผ่น gel ที่ได้ไปแช่ใน 0.5 XTBE ที่ผสมด้วย ethidium bromide ประมาณ 15 นาที แล้วจึงนำแผ่น gel มาตรวจสอบรูปแบบของ genotype โดยการนำไปส่องในตู้ภายใต้แสง UV

## 3.7 การศึกษาระดับการแสดงออกของยีน

### 3.7.1 การเก็บตัวอย่างเพื่อสกัด Total RNA

เก็บตัวอย่างจากไก่โคราชจำนวน 6 ตัว ที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ โดยการสุ่มและชำแหละเพื่อเก็บตัวอย่างเนื้ออกเพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน *capn1* และยีน *adsl* (Gandolfi et al.,

2011) และ (Zhu et al., 2017) ตัวอย่างสมองเพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน *mc4r* (Sintubin et al., 2014) โดยใช้ปริมาณ 0.02 กรัม เก็บตัวอย่างอวัยวะในถังไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิประมาณ  $-60^{\circ}\text{C}$  ทันที เพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพของ RNA ในเนื้อเยื่อ

### 3.7.2 การสกัด Total RNA

การสกัด Total RNA จากอวัยวะต่างๆ เพื่อศึกษาระดับการแสดงออกของยีนอธิบายเป็นขั้นตอนอย่างละเอียดได้ดังนี้

- ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอด microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นใส่ TriZol ปริมาณ 200 ไมโครลิตร บดตัวอย่างให้ละเอียดจนเปลี่ยนเป็นลักษณะใส ไม่มีตะกอน จึงเติม TriZol จนครบปริมาณ 1,000 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที
- เติมคลอโรฟอร์มปริมาณ 200 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อให้เกิดตะกอนที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  ด้วยความเร็ว 12,500 rpm เป็นเวลา 5 นาที
- คูตสารละลายส่วนใสมาตัวอย่างละ 500 ไมโครลิตร ลงในหลอด microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตรหลอดใหม่ และเติมไอโซโพรพานอลปริมาณ 500 ไมโครลิตร ทำการพลิกหลอดอย่างช้าๆ เพื่อให้ตัวอย่างเข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  ด้วยความเร็ว 12,500 rpm เป็นเวลา 10 นาที
- คูตสารละลายในหลอดออกยกเว้นตะกอนสีขาวขุ่นที่ติดบริเวณข้างหลอดจากนั้นเติม ethanol ปริมาณ 1,000 ไมโครลิตร และทำการพลิกตัวอย่างช้าๆ ซ้ำอีกครั้งเพื่อให้ตัวอย่างเข้ากัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  ด้วยความเร็ว 12,500 rpm เป็นเวลา 10 นาที
- คูต ethanol ในหลอดออกจนหมด เหลือตะกอนสีขาวขุ่นไว้ และทำการ Air dry เป็นเวลา 2-5 นาที เพื่อผึ่งตะกอนในหลอดให้แห้ง
- เติม diethyl pyro carbonate (DEPC) ปริมาณ 30 ไมโครลิตร จะได้ Total RNA จากนั้นคูต Total RNA ที่ได้ปริมาณ 2 ไมโครลิตร เพื่อนำไปวัดความเข้มข้นของ RNA ที่ค่าการดูดกลืนแสง 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer รุ่น Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, U.S.A)

### 3.7.3 การสังเคราะห์ First strand cDNA

เมื่อทำการสกัด Total RNA แล้วจึงนำมาทำการสังเคราะห์ First Strand cDNA จาก Total RNA มีวิธีการดังนี้

นำ Total RNA มาสังเคราะห์ First Strand cDNA ด้วยชุดสังเคราะห์ First Strand cDNA สำเร็จรูป (Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit; Applied Biosystems, Foster City, U.S.A) การเตรียมสารละลายสำหรับสังเคราะห์ first strand cDNA มีดังนี้ Transcriptor RT Reaction Buffer (10x) ปริมาณ 2 ไมโครลิตร 25x dNTP mix ปริมาณ 0.8 ไมโครลิตร 10x RT Random Primers

ปริมาณ 2 ไมโครลิตร Multiscribe™ Reverse Transcriptase ปริมาณ 1 ไมโครลิตร และ Nuclease-free water ปริมาณ 4.2 ไมโครลิตร กับ Total RNA ที่เตรียมไว้ปริมาณ 10 ไมโครลิตร นำมาผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 120 นาที และทำลายเอนไซม์ด้วยการบ่มที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 5 นาที เมื่อแล้วเสร็จจึงทำการเก็บตัวอย่าง First Strand cDNA ไว้ที่ -20 °C เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

### 3.7.4 การศึกษาปริมาณการแสดงออกของยีน *mc4r*, *adsl* และ *capn1*

นำ First Strand cDNA ซึ่งมีรายละเอียดลำดับเบสของ Forward และ Reverse primer ที่ได้มาจาก Alignment ของ Gallus Gallus โดยการใช้โปรแกรม NCBI Primer BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 Primer ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Real time-PCR (RT-PCR) ของยีน *mc4r*, *adsl* และ *capn1*

Genes	Sequence of primer	Annealing temperatures	PCR size (bp)	Accession no.
<i>mc4r</i>	F: 5'- GTCAAGCGTGTAGGGGTCAT -3'	59 °C	241	NM_001031514.1
	R: 5'- CTTTCATGTTGGCCCCTTGG -3'			
<i>adsl</i>	F: 5'- CGAGAGGAAGAAGTTCGGCA -3'	59 °C	80	NM_205529.1
	R: 5'- TGATGGGAAGCCCAAGTGAC -3'			
<i>capn1</i>	F: 5'- CGAGGGCGAAATCGATGAGA -3'	60 °C	299	NM_001044672.1
	R: 5'- CATAGGCGCTCATACTGCCA -3'			

จากนั้นนำ First Strand cDNA ปริมาณ 2 ไมโครลิตร ผสมเข้ากับน้ำ Deionized ปริมาณ 6 ไมโครลิตร และ SYBR Green I Master ปริมาณ 10 ไมโครลิตร (Applied Biosystems, Foster City, U.S.A) จากนั้นนำเข้าเครื่อง RT-PCR รุ่น LightCycler 480 (Roche; Penzberg, Germany) เพื่อวัดปริมาณการแสดงออกของยีน โดยหักล้างกับการแสดงออกของ housekeeping gene (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; *gapdh*) ในการเปรียบเทียบระดับการแสดงออกของทั้งสามยีน

### 3.8 การคำนวณค่าอัตราการเจริญเติบโต (Average daily gain; ADG)

การคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโต ใช้ค่าน้ำหนักตัวไก่รายตัวในการคำนวณค่า ADG ที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้น ดังแสดงในสมการที่ 1

$$ADG = \frac{\text{น้ำหนักสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเริ่มต้น}}{\text{จำนวนวันที่เริ่มให้อาหาร}}$$

1

โดย

น้ำหนักสุดท้าย = น้ำหนักสุดท้ายที่ทำการศึกษาในแต่ละอายุในที่นี้คือ อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์

น้ำหนักเริ่มต้น = น้ำหนักเริ่มต้นที่ทำการศึกษาในที่นี้คือ อายุ 0 สัปดาห์

### 3.9 การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีทางสถิติ

#### 3.9.1 การตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูล

ทำการตรวจสอบข้อมูลด้วยวิธี Descriptive statistics โดยพิจารณา ค่าเฉลี่ย (mean) ค่าต่ำสุด (minimum; min) ค่าสูงสุด (maximum; max) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation; SD) สัมประสิทธิ์ความผันแปร (Coefficient of Variation; CV) และใช้วิธี Normality plot with test เพื่อตรวจสอบข้อมูลที่ทำการศึกษาว่ามีการแจกแจงแบบปกติหรือไม่โดยพิจารณาจากค่า *P*-Value ในตาราง Test of Normality ถ้าข้อมูลมีค่า  $P > 0.05$  แสดงว่ามีการแจกแจงแบบปกติ และจะพิจารณาร่วมกับค่าความเบ้ (skewness) ที่อยู่ในช่วง -0.8 ถึง 0.8 และความโด่ง (kurtosis) ที่อยู่ในช่วง -3 ถึง 3 (Park, 2015)

#### 3.9.2 การวิเคราะห์ค่า Hardy - Weinberg Equilibrium (HWE)

เพื่อเป็นการตรวจสอบลักษณะความสมดุลความถี่ genotype ของประชากรที่ใช้ในการศึกษาจึงทำการทดสอบโดยการใช้โปรแกรมสำเร็จรูป GENEPOP version 3.4 (Francois, 2008)

#### 3.9.3 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของการเจริญเติบโตและระดับพิวรีน

เพื่อเป็นการทดสอบสมมติฐานข้อที่ 1 คือ การเจริญเติบโต และระดับพิวรีนเป็นลักษณะที่มีความสัมพันธ์กัน จึงทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตัวที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ กับปริมาณพิวรีนที่อายุเดียวกันด้วยวิธี correlation

#### 3.9.4 การวิเคราะห์อิทธิพลของ genotype ของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* ต่อการเจริญเติบโต น้ำหนักตัว ระดับพิวรีน และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ

เพื่อเป็นทดสอบสมมติฐานข้อที่ 2 คือ genotype ที่แตกต่างกันของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* มีผลต่อการเจริญเติบโต ระดับพิวรีน และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ โดยวิเคราะห์อิทธิพลของ genotype ที่แตกต่างกันของยีนกับลักษณะดังกล่าวโดยใช้ General linear model (GLM) ด้วยวิธี Univariate Analysis ในการวิเคราะห์ ซึ่งตัวแบบที่ใช้คือ Linear model มีรูปแบบดังนี้



$$y = X\beta + \varepsilon$$

โดย

$y$  = Vector ของค่าสังเกต ซึ่งประกอบด้วย น้ำหนักตัวของไก่ ระดับของพิวรีน และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ

$X$  = Metrix ของการปรากฏของอิทธิพลคงที่มีต่อค่าสังเกต (รูปแบบของ genotype ที่แตกต่างกันของแต่ละยีน และเพศที่แตกต่างกัน)

$\beta$  = Vector ของอิทธิพลคงที่ ซึ่งได้จากการประมาณค่า (ค่าของอิทธิพลจากรูปแบบ genotype ที่แตกต่างกันของยีน และความแตกต่างกันของเพศส่งผลต่อลักษณะการเจริญเติบโต ระดับพิวรีน และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ)

$\varepsilon$  = ค่าของอิทธิพลอื่นๆ ซึ่งเป็นอิทธิพลที่ไม่สามารถจำแนกได้

### 3.9.5 การตรวจสอบความสัมพันธ์ของระดับการแสดงออกของยีนที่อายุแตกต่างกัน

เพื่อเป็นการทดสอบสมมุติฐานข้อที่ 3 คือ ระดับการแสดงออกของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* ในไก่โคราชที่มีอายุแตกต่างกันจะมีการแสดงออกที่แตกต่างกัน โดยวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับการแสดงออก โดยใช้ General linear model (GLM) ด้วยวิธี One way repeated measures ANOVA ในการวิเคราะห์

$$y = X\beta + \varepsilon$$

โดย

$y$  = Vector ของค่าสังเกต ได้แก่ค่าการแสดงออกของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* มี

$X$  = Metrix ของการปรากฏของอิทธิพลคงที่มีต่อค่าสังเกต (อายุที่แตกต่างกันของไก่ในการศึกษานี้ทำการศึกษาที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์)

$\beta$  = Vector ของอิทธิพลคงที่ ซึ่งได้จากการประมาณค่า (ค่าของอิทธิพลจากอายุที่ต่างกันที่ส่งผลต่อระดับการแสดงออกของยีน)

$\varepsilon$  = ค่าของอิทธิพลอื่นๆ ซึ่งเป็นอิทธิพลที่ไม่สามารถจำแนกได้

การวิเคราะห์ทั้งหมด ขอมรับว่ามีนัยสำคัญทางสถิติที่  $P < 0.05$  และใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 18.0 ในการวิเคราะห์ทางสถิติทั้งหมด



## บทที่ 4

### ผลการทดลองและอภิปรายผล

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อประเมินความเป็นไปได้ของยีน *mc4r adsl* และ *capn1* ในการนำไปใช้เป็นเครื่องมือการคัดเลือกเพื่อให้ได้ไก่โคราชที่มีลักษณะการเจริญเติบโตที่ดีและมีเนื้อเป็นเนื้อเพื่อสุขภาพ โดยการศึกษาครั้งนี้มีสมมุติฐานงานวิจัยอยู่สามข้อด้วยกันคือ

ข้อที่หนึ่ง การเจริญเติบโต และระดับพิวรีนเป็นลักษณะที่มีความสัมพันธ์กัน

ข้อที่สอง genotype ที่แตกต่างกันของยีน *mc4r adsl* และ *capn1* มีผลต่อการเจริญเติบโต ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ และระดับพิวรีน

ข้อที่สาม การแสดงออกของยีน *mc4r adsl* และ *capn1* ในไก่โคราชที่มีอายุแตกต่างกันจะมีการแสดงออกที่แตกต่างกัน

ซึ่งผลการศึกษาในแต่ละประเด็นดังที่กล่าวข้างต้นมีรายละเอียดของข้อมูลและผลการศึกษาดังนี้

#### 4.1 การตรวจสอบข้อมูลและการกระจายของข้อมูล

การตรวจสอบข้อมูลและการกระจายของข้อมูลจะใช้ ค่าเฉลี่ย (mean) ค่าต่ำสุด (minimum; min) ค่าสูงสุด (maximum; max) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation; SD) สัมประสิทธิ์ความผันแปร (Coefficient of Variation; CV) ค่า *P*-Value of Normality ค่า Skewness และค่า Kurtosis ในการตรวจสอบข้อมูล น้ำหนักตัว (BW) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) ข้อมูล พิวรีนซึ่งประกอบไปด้วย ข้อมูลของค่า Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total purine ค่าระดับ Urid acid และค่าเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อหน้าอก และสะโพก ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 4.1

**ตารางที่ 4.1** ลักษณะข้อมูล ไก่โคราชที่อายุต่างๆ ประกอบด้วย น้ำหนักตัว (BW) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) ระดับพิวรีน (Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total Purine) ค่าระดับ Uric acid และค่าเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ กับค่าเฉลี่ย (mean) ค่าต่ำสุด (Min) ค่าสูงสุด (Max) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (CV) ค่า P-Value of Normality ค่า Skewness และค่า Kurtosis

Trait	Age (weeks)	Number of sample (N)	Mean (grams)	Min (grams)	Max (grams)	SD (grams)	CV (%)	P-value of normality	Skewness	Kurtosis
BW	0	586	43.25	31.55	57.50	4.42	10.22	0.198	0.122	-0.081
	2	581	169.77	105.00	265.00	24.98	14.71	0.000	0.258	-0.108
	4	556	404.47	270.00	660.00	64.02	15.83	0.000	0.455	0.105
	6	535	730.07	450.00	1,180.00	117.38	16.08	0.000	0.378	0.006
	8	517	1,017.30	620.00	1,750.00	180.19	17.71	0.000	0.411	0.160
	10	452	1,296.70	820.00	2,120.00	241.91	18.66	0.000	0.520	0.043
ADG	2	581	9.04	4.82	15.48	1.68	18.58	0.006	0.237	-0.105
	4	556	12.90	7.86	21.85	2.24	17.36	0.000	0.448	0.108
	6	535	16.36	9.83	26.95	2.77	16.93	0.000	0.374	-0.021
	8	517	17.40	10.21	30.39	3.20	18.39	0.000	0.408	0.147
	10	452	17.92	11.10	29.60	3.44	19.20	0.000	0.519	0.030

**ตารางที่ 4.1** ลักษณะข้อมูล โคโรราที่อายุต่างๆ ประกอบด้วย น้ำหนักตัว (BW) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) ระดับพิวรีน (Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total Purine) ค่าระดับ Uric acid และค่าเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ กับค่าเฉลี่ย (mean) ค่าต่ำสุด (Min) ค่าสูงสุด (Max) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (CV) ค่า P-Value of Normality ค่า Skewness และค่า Kurtosis (ต่อ)

Trait	Age (weeks)	Number of sample (N)	Mean (mg/100g)	Min (mg/100g)	Max (mg/100g)	SD (mg/100g)	CV (%)	P-value of normality	Skewness	Kurtosis
<b>Purine</b>	Adenine	20	41.81	34.86	50.36	4.21	10.07	0.242	0.111	-0.880
		20	31.15	26.77	34.19	1.98	6.36	0.063	-0.938	0.593
		19	25.44	21.65	28.71	1.93	7.59	0.699	0.068	-0.515
		20	20.59	17.54	24.16	1.69	8.21	0.956	0.031	-0.283
		20	23.49	21.38	27.20	1.37	5.83	0.304	0.907	1.422
<b>Guanine</b>		20	74.36	61.57	86.54	6.96	9.36	0.865	-0.074	-0.654
		20	38.39	31.24	42.61	2.76	7.19	0.213	-0.568	0.823
		19	42.47	39.89	46.18	1.71	4.03	0.204	0.068	0.454
		20	29.69	24.70	33.60	2.80	9.57	0.169	-0.499	-0.875
		20	31.99	29.06	37.01	1.82	5.69	0.225	0.886	1.974

**ตารางที่ 4.1** ลักษณะข้อมูลที่ได้จากรายชื่อยาต่างๆ ประกอบด้วย น้ำหนักตัว (BW) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) ระดับพิวรีน (Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total Purine) ค่าระดับ Uric acid และค่าเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ กับค่าเฉลี่ย (mean) ค่าต่ำสุด (Min) ค่าสูงสุด (Max) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (CV) ค่า P-Value of Normality ค่า Skewness และค่า Kurtosis (ต่อ)

Trait	Age (weeks)	Number of sample (N)	Mean (mg/100g)	Min (mg/100g)	Max (mg/100g)	SD (mg/100g)	CV (%)	P-value of normality	Skewness	Kurtosis
Hypoxanthine	2	20	134.90	121.49	155.11	9.92	7.35	0.136	0.482	-0.961
	4	20	123.38	103.78	137.57	8.58	6.95	0.734	-0.225	-0.113
	6	19	141.93	128.26	151.51	6.66	4.69	0.313	-0.354	-0.912
	8	20	126.43	116.97	133.30	4.72	3.73	0.060	-0.753	-0.500
	10	20	116.40	104.77	124.98	5.78	4.97	0.266	-0.508	-0.816
Total purine	2	20	251.07	226.10	280.50	15.36	6.12	0.777	0.314	-0.464
	4	20	192.92	162.78	209.97	11.47	5.95	0.332	-0.623	1.043
	6	19	209.85	198.51	223.14	7.41	3.53	0.165	-0.109	-1.200
	8	20	176.72	163.94	183.70	5.02	2.84	0.237	-0.926	1.040
	10	20	171.88	163.01	179.58	5.00	2.91	0.470	-0.224	-0.982

**ตารางที่ 4.1** ลักษณะข้อมูลได้โคราซที่อายุต่างๆ ประกอบด้วย น้ำหนักตัว (BW) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) ระดับพิวรีน (Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total Purine) ค่าระดับ Uric acid และค่าเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ กับค่าเฉลี่ย (mean) ค่าต่ำสุด (Min) ค่าสูงสุด (Max) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (CV) ค่า P-Value of Normality ค่า Skewness และค่า Kurtosis (ต่อ)

Trait	Age (weeks)	Number of sample (N)	Mean (mg%)	Min (mg%)	Max (mg%)	SD (mg%)	CV (%)	P-value of normality	Skewness	Kurtosis
Uric	2	21	4.43	1.90	12.50	2.50	56.43	0.543	0.477	-0.131
	4	22	4.37	2.10	13.20	2.46	56.29	0.147	0.697	0.553
	6	22	4.73	1.90	8.90	1.55	32.77	0.070	1.047	1.970
	8	22	3.74	1.60	5.60	1.04	27.81	0.898	-0.135	-0.305
	10	22	4.38	2.70	7.50	1.08	24.66	0.178	1.079	1.976
Trait	Age (weeks)	Number of sample (N)	Mean (µm)	Min (µm)	Max (µm)	SD (µm)	CV (%)	P-value of normality	Skewness	Kurtosis
<b>Muscle fiber diameter</b>										
Breasts	10	200	198.55	134.69	278.76	25.13	12.75	0.200	0.171	-0.057
Tights	10	198	184.55	115.22	251.73	25.03	13.56	0.200	-0.046	0.065



จากตารางที่ 4.1 เมื่อพิจารณาค่าการแจกแจงปกติของข้อมูล BW ที่อายุ 0 สัปดาห์ พบว่ามีค่า  $P$ -value ที่แสดงถึงการแจกแจงที่เป็นปกติ และที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ข้อมูล BW และ ADG มีค่า  $P < 0.05$  หมายความว่าข้อมูลดังกล่าวมีการแจกแจงข้อมูลที่ไม่ปกติ แต่เมื่อพิจารณาที่ค่า Skewness อยู่ในช่วง  $-0.8$  ถึง  $0.8$  และค่า Kurtosis อยู่ในช่วง  $-3$  ถึง  $3$  แสดงถึงการแจกแจงข้อมูลอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ (Park, 2015) ส่วนข้อมูลระดับพิวรีน ระดับ Uric acid และค่าเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ มีค่า  $P > 0.05$  แสดงถึงการแจกแจงที่ปกติของข้อมูล ซึ่งมีความสำคัญในการนำไปใช้วิเคราะห์ต่อไปเนื่องจากหากข้อมูลที่ใช้มีการกระจายของข้อมูลที่ไม่ปกติ อาจส่งผลให้เกิดความผิดพลาดหรือความคลาดเคลื่อนของข้อมูล เมื่อถูกนำไปใช้ในการวิเคราะห์ค่าทางสถิติต่อไป

#### 4.2 ความสัมพันธ์ของน้ำหนักตัว ระดับพิวรีน และระดับกรดยูริก

ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (correlation) ของการเจริญเติบโต และระดับพิวรีนในเนื้อ มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบความสัมพันธ์ของลักษณะดังกล่าว และนำไปใช้เป็นข้อมูลในการตอบคำถามและประกอบการอภิปรายผลการทดสอบสมมุติฐานข้อที่หนึ่ง ที่กล่าวว่า การเจริญเติบโตและระดับพิวรีนเป็นลักษณะที่มีความสัมพันธ์กัน ดังแสดงในตารางที่ 4.2 นอกจากนี้ยังวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของระดับพิวรีนในเนื้อ และระดับกรดยูริกในเลือด ดังแสดงในตารางที่ 4.3 เพื่อให้ทราบข้อมูลความสัมพันธ์ของลักษณะดังกล่าว เนื่องจาก Uric acid เป็นผลผลิตสุดท้ายจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของพิวรีนในร่างกาย จึงคาดว่าจะพบความสัมพันธ์ของทั้งสองลักษณะ และนำมาประยุกต์ใช้เพื่อประโยชน์ในการเก็บข้อมูลเนื่องจากการเก็บค่าระดับพิวรีนมีวิธีการที่ยุ่งยาก ซับซ้อน และมีค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นหากพบความสัมพันธ์จะก่อให้เกิดข้อมูลที่เป็นประโยชน์ และสามารถนำมาใช้ในการเก็บข้อมูลด้วยวิธีที่สะดวก และมีค่าใช้จ่ายน้อยลง

ตารางที่ 4.2 ความสัมพันธ์ของ BW และ ADG กับระดับพิวรีน (Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total purine) ในไก่โคราชที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์

Trait	Adenine		Guanine		Hypoxanthine		Total purine	
	R	P-value	R	P-value	R	P-value	R	P-value
BW2	-0.369	0.11	0.247	0.29	-0.098	0.68	-0.052	0.83
BW4	-0.134	0.57	-0.216	0.36	-0.360	0.12	-0.344	0.14
BW6	0.083	0.74	-0.355	0.14	0.251	0.30	0.165	0.50
BW8	-0.061	0.80	0.554	0.01**	-0.342	0.14	-0.033	0.89
BW10	-0.199	0.40	-0.348	0.13	0.333	0.15	0.204	0.39
ADG2	-0.438	0.61	0.309	0.20	-0.037	0.88	-0.005	0.98
ADG4	-0.083	0.74	-0.292	0.24	-0.397	0.10	-0.379	0.12
ADG6	0.272	0.28	-0.343	0.16	0.110	0.66	0.085	0.74
ADG8	0.098	0.69	0.555	0.01**	-0.397	0.09	-0.034	0.89
ADG10	-0.174	0.48	-0.347	0.15	0.320	0.18	0.196	0.42

หมายเหตุ: \*\* แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $P < 0.05$

ตารางที่ 4.3 ความสัมพันธ์ของระดับพิวรีน (Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total purine) และ Uric acid ในไก่โคราชที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์

Trait	Adenine		Guanine		Hypoxanthine		Total purine	
	R	P-value	R	P-value	R	P-value	R	P-value
Uric2	-0.154	0.52	-0.156	0.51	0.051	0.83	-0.080	0.74
Uric4	0.074	0.76	-0.039	0.87	-0.054	0.82	-0.037	0.88
Uric6	0.088	0.72	0.039	0.87	0.214	0.38	0.224	0.36
Uric8	0.308	0.19	0.154	0.52	-0.245	0.30	-0.041	0.86
Uric10	-0.008	0.97	0.129	0.59	0.024	0.92	0.073	0.76

จากตารางที่ 4.2 พบความสัมพันธ์ในทางบวก (positive correlation) ที่มีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างระดับ Guanine ซึ่งเป็นอนุพันธ์ตัวหนึ่งของพิวรีน กับ BW และ ADG ที่อายุ 8 สัปดาห์เพียงอายุเดียวเท่านั้น ( $P < 0.05$ ) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง BW และ ADG กับ Adenine Hypoxanthine และ Total purine ในไก่ที่อายุอื่นๆ

ปัจจุบันพบข้อมูลการศึกษากลไกการทำงานของ guanine และ BW อยู่บ่อยจึงไม่สามารถทราบความสัมพันธ์ของลักษณะดังกล่าวได้อย่างชัดเจน แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Liu et al. (2017) ในการศึกษาโปรตีนที่มีความสัมพันธ์กับการพัฒนาของกล้ามเนื้อในระยะเอ็มบริโอจนถึงการเจริญเติบโตของกล้ามเนื้อพบว่า guanine และ guanosine มีการทำงานในช่วงกระบวนการพัฒนากล้ามเนื้อไปจนถึงการพัฒนาเพื่อให้เกิดความหนาแน่นของของเส้นใยกล้ามเนื้อ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ในไก่ที่อายุ 6-8 สัปดาห์เป็นช่วงที่มีการพัฒนาการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว และมีความเป็นไปได้ว่าเป็นช่วงของการพัฒนาความหนาแน่นของเส้นใยกล้ามเนื้อ ซึ่งเป็นลักษณะที่ส่งผลต่อน้ำหนักตัว และสอดคล้องกับ Schmidt et al. (2007) ที่พบว่าการทำงานของ guanine เกี่ยวข้องกับกระบวนการแบ่งเซลล์เพื่อการเจริญเติบโตของร่างกาย

ในกรณีความสัมพันธ์ของระดับพิวรีนในเนื้อและระดับ Uric acid ในไก่ที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างลักษณะดังกล่าว ( $P > 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.3

สาเหตุที่เป็นเช่นนี้นั้นสามารถอธิบายได้จากการศึกษาของ Bobulescu and Moe (2012); Lipkowitz (2012); Maiuolo et al. (2016) ซึ่งระบุว่า เมื่อร่างกายมี Uric acid อยู่ในระดับสูงเกินไป ร่างกายจะทำการขับส่วนที่เกินออกจากร่างกายด้วย 2 กระบวนการคือ 1. เมื่อเกิด Uric acid ขึ้นและร่างกายต้องการกำจัดสารต่างๆ จะเกิดการแพร่เข้าสู่หลอดเลือด และขนส่งมาที่ไตเพื่อเข้าสู่กระบวนการขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะ คิดเป็นสัดส่วนประมาณ 60-70% ของ Uric acid ที่ร่างกายต้องการขับออก และ 2. Uric acid เป็นสัดส่วนประมาณ 30-40% จะถูกขับออกมาจากระบบขับถ่ายผ่านทางลำไส้ ดังนั้น แม้ว่า Uric acid จะเป็นผลผลิตที่เกิดจากพิวรีนแต่ Uric acid ทั้งหมดไม่ได้อยู่เพียงในกระแสเลือดเท่านั้น แต่ยังถูกส่งผ่านเข้าสู่ลำไส้และขับถ่ายออกมา จึงเป็นไปได้ที่จะไม่พบความสัมพันธ์ของทั้งสองลักษณะ

#### 4.3 ความถี่ Allele และ Genotype ของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* และค่า Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE)

ในการวิเคราะห์ประเด็นความถี่ของ Allele และ Genotype ของยีนนั้นเพื่อตรวจสอบและพิจารณาความถี่ของยีนทั้งสามในฝูงประชากร และประเมินความเหมาะสมในการนำไปใช้เป็น gene marker ว่ามีความเหมาะสมหรือไม่สำหรับประชากรนี้ และทำการวิเคราะห์ค่า Hardy-Weinberg equilibrium เพื่อประเมินว่าความถี่ genotype ของประชากรนี้มีการเบี่ยงเบนออกจาก HWE หรือไม่ เพื่อวิเคราะห์ถึงปัจจัยต่างๆ ที่ผ่านมาและมีผลต่อการเบี่ยงเบนดังกล่าว ดังแสดงในตารางที่ 4.4





ตารางที่ 4.4 ความถี่ Allele และ Genotype ของยีน *mc4r adsl* และ *capn1* และค่า P-value ของ Hardy Weinberg Exact Tests (HWE)

Gene	Total No.	Genotype of gene			Allele		Locus equilibrium $\chi^2$ test
<i>mc4r</i>		CC	CA	AA	C	A	
		(n = 529) 0.907	(n = 54) 0.093	(n = 0) 0	(n = 1,112) 0.954	(n = 54) 0.046	$P > 0.05$
<i>adsl</i>		GG	GT	TT	G	T	
		(n = 180) 0.309	(n = 184) 0.316	(n = 219) 0.376	(n = 544) 0.466	(n = 622) 0.533	$P < 0.05$
<i>capn1</i>		AA	AB	BB	A	B	
		(n = 261) 0.448	(n = 103) 0.177	(n = 219) 0.376	(n = 625) 0.536	(n = 541) 0.464	$P < 0.05$

จากตารางที่ 4.4 แสดงให้เห็นว่ายีน *mc4r* ไม่เหมาะสมในการนำไปใช้เป็นยีน gene marker เนื่องจากในฝูงประชากร genotype AA สูญหายไป และความถี่ระหว่าง genotype AC และ CC แตกต่างกันมาก กล่าวคือ genotype CA มีความถี่ต่ำมาก (0.093) เมื่อเทียบกับ genotype CC (0.907) ซึ่งเกิดจากในฝูงประชากรไม่พบการเข้าคู่กันของ genotype AA และมีการเข้าคู่กันของจี genotype CA ที่ต่ำมาก จากข้อมูลดังกล่าวสามารถแยกสาเหตุออกมาได้ดังนี้

การหายไปของบาง genotype ของยีน *mc4r* ในไก่โคราชอาจเกิดจากการคัดเลือก เนื่องจากไก่โคราชเป็นไก่ที่ถูกปรับปรุงพันธุกรรม โดยพ่อและแม่ถูกคัดเลือกให้มีการเจริญเติบโตที่ดี ซึ่งเป็นลักษณะที่มีความสัมพันธ์กับการทำงานของยีน *mc4r* และสอดคล้องกับการศึกษาของ Wang et al. (2009) ทำการศึกษาบริเวณ SNP C944T เป็นตำแหน่งเดียวกับการศึกษาครั้งนี้และ Li and Li (2006) และ Qiu et al. (2006) พบว่า genotype ที่แตกต่างกันของยีนมีผลต่อน้ำหนักตัว น้ำหนักซาก เนื่องจาก *mc4r* เป็นยีนที่ทำหน้าที่ในการควบคุมสมดุลพลังงานของร่างกาย และควบคุมความอยากอาหาร และสัดส่วน genotype ของยีน *mc4r* ที่ทำการศึกษาในไก่ลูกผสมและไก่สายพันธุ์ทางการค้ามีความแตกต่างกันมาก โดยในไก่ลูกผสมมีสัดส่วนของ CT : CC : TT เป็น 118 : 74 : 33 ในไก่สายพันธุ์ทางการค้ามีสัดส่วนของ AB : AA : BB เป็น 101 : 41 : 72 และ CD : CC : DD เป็น 260 : 310 : 37 จากสัดส่วนดังกล่าวในไก่แต่ละสายพันธุ์ที่ถูกปรับปรุงพันธุกรรมให้มีการเจริญเติบโต และน้ำหนักตัวที่ดี พบสัดส่วนของบาง genotype ต่ำมากและมีโอกาสหายไป แสดงถึงความสัมพันธ์ของ genotype ที่แตกต่างกันมีผลต่อการเจริญเติบโต จากข้อมูลดังกล่าวจึงทำการตรวจสอบข้อมูล genotype ของพ่อไก่เหลืองหางขาว และแม่ มทส. โดยสุ่มทดสอบพบว่าจากการสุ่มไก่ 30 ตัว ไม่พบไก่ที่มี genotype ในรูปแบบ CA และ AA ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลความถี่ของยีน *mc4r* ในประชากรไก่โคราชเนื่องจากในรุ่นของพ่อและแม่มีความถี่ allele A ต่ำจึงส่งผลให้ในรุ่นลูกมี genotype CA ต่ำ และเป็นไปได้ที่จะไม่พบ genotype AA ในประชากร

การหายไปของบาง genotype อาจเกิดจากปรากฏการณ์ Founder effect คือเกิดจากการที่ประชากรที่ใช้เป็นฝูงตั้งต้นมีสัดส่วนของ allele A ที่ต่ำอยู่แล้ว เมื่อทำการคัดเลือกหรือทำการผสมพันธุ์จึงมีโอกาสพบหรือมีโอกาสในการกระจายพันธุกรรมได้น้อย ดังนั้นเมื่อนำมาขยายฝูงต่อไปทำให้ allele A ไม่หายไปจากฝูงประชากร และไม่มีความถี่ที่เพิ่มมากขึ้น

ยีน *mc4r* มีค่า  $P > 0.05$  แสดงถึงการที่ยีน *mc4r* อยู่ใน HWE แม้ว่ายีนจะได้รับผลกระทบจากการคัดเลือกจนทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงความถี่ของ genotype อย่างมาก แต่จากการวิเคราะห์ HWE มีความเป็นไปได้ว่าไก่รุ่นต่อไปจะพบความถี่ genotype ของยีนในรูปแบบเดิมไม่เปลี่ยนแปลง ในกรณีของยีน *adsl* และ *capn1* เมื่อวิเคราะห์ค่า HWE พบว่ามีค่า  $P < 0.05$  หมายถึง ความถี่ของยีนดังกล่าวมีค่าที่เบี่ยงเบนออกจากค่ากลาง ทำให้ไม่อยู่ใน HWE เนื่องจากไก่โคราชเป็นไก่ลูกผสมที่เกิดจากพ่อพันธุ์ไก่เหลืองหางขาวที่ได้รับการคัดเลือกให้มีการเจริญเติบโตที่ดี และแม่ มทส. ที่ได้รับ

การคัดเลือกให้มีการเจริญเติบโตที่ดีและความสามารถในการให้ลูกดก ในการคัดเลือกพ่อและแม่ที่มีลักษณะดังกล่าว ใช้ข้อมูลการเจริญเติบโตของลูกช่วยในการคัดเลือกพ่อและแม่ ยีน *adsl* ควบคุมกระบวนการเมทาบอลิซึมของพิวรีน มีผลต่อการเกิดสารพิวรีน และพบว่า genotype ที่แตกต่างกันส่งผลต่อน้ำหนักตัวที่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของยีนกับระดับพิวรีนและการเจริญเติบโต (Hui-Fang et al., 2010) ในกระบวนการพัฒนาการเจริญเติบโตพบว่านิวคลีโอไทด์จากกระบวนการเมทาบอลิซึมของพิวรีน มีความสำคัญในการพัฒนากล้ามเนื้อช่วงระยะเอ็มบริโอ และการพัฒนากล้ามเนื้อระยะแรกเกิด (Liu et al., 2017) ดังนั้นเมื่อไก่โคราชถูกนำมาใช้คัดเลือกด้วยลักษณะการเจริญเติบโตจึงเป็นไปได้ว่าการคัดเลือกส่งผลกระทบต่อเกิดการเปลี่ยนแปลงความถี่ของยีน *adsl* จนเบี่ยงเบนออกจากค่ากลาง และไม่อยู่ใน HWE เช่นเดียวกับกรณีของยีน *capn1* ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุม proteolytic enzyme (Franco and Huttenlocher, 2005) ช่วยในกระบวนการย่อยสลายโปรตีน ในกระบวนการ Protein turnover ซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการรักษาสมดุลระหว่างกระบวนการสร้างและสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อเพื่อการเจริญเติบโต (Schutz, 2011) genotype ที่แตกต่างกันของยีน *capn1* มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโต (Zhang et al., 2008) จากข้อมูลดังกล่าวแสดงถึงความสัมพันธ์ของยีนกับการเจริญเติบโต ดังนั้นเมื่อทำการคัดเลือกการเจริญเติบโตของไก่โคราช จึงเกิดผลกระทบต่อเกิดการเปลี่ยนแปลงความถี่ของยีน อันเป็นสาเหตุให้ยีน *capn1* ไม่อยู่ใน HWE แม้จะไม่ได้ทำการคัดเลือกจากยีน โดยตรงแต่เมื่อยีน *adsl* และ *capn1* มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตจึงเป็นไปได้ที่เมื่อคัดเลือกด้วยลักษณะการเจริญเติบโตจึงส่งผลกระทบต่อความถี่ของยีน

#### 4.4 ความสัมพันธ์ของรูปแบบ genotype ของยีน *mc4r*, *adsl* และ *capn1* ต่อลักษณะการเจริญเติบโต ระดับพิวรีน และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ

สมมุติฐานข้อที่สองคือ ยีน *mc4r*, *adsl* และ *capn1* มีผลต่อการเจริญเติบโต ระดับพิวรีน (ตรวจสอบระดับอนุพันธ์ของพิวรีน ได้แก่ Adenine, Guanine, Xanthine, Hypoxanthine และ Total purine) และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ จากการศึกษาพบว่า ยีน *mc4r* เป็นไปตามสมมุติฐานในประเด็นอิทธิพลของยีนต่อการเจริญเติบโต แต่ไม่เป็นไปตามสมมุติฐานในประเด็นของระดับพิวรีนและเส้นใยกล้ามเนื้อขณะที่ยีน *capn1* เช่นกันเป็นไปตามสมมุติฐานในประเด็นอิทธิพลของยีนต่อการเจริญเติบโต และเส้นใยกล้ามเนื้อ แต่ไม่เป็นไปตามสมมุติฐานในประเด็นอิทธิพลของยีนต่อระดับพิวรีน ส่วนยีน *adsl* ไม่เป็นไปตามสมมุติฐานในทั้งสามประเด็น แต่จากการตรวจสอบระดับอนุพันธ์ของพิวรีนในไก่โคราชพบ Xanthine ในระดับต่ำมากจนไม่สามารถตรวจสอบได้ จึงตัดออกจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของยีนกับระดับ Xanthine การศึกษาในประเด็นที่กล่าวมามีรายละเอียดดังนี้

#### 4.4.1 ความสัมพันธ์ของยีน *mc4r* ต่อการเจริญเติบโต ระดับพิวรีนและขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ

จากการวิเคราะห์ความถี่ genotype ของยีน *mc4r* พบว่าไม่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการนำมาใช้คัดเลือกเพื่อเป็น gene marker และใช้ในประชากรไก่โคราช ดังที่ได้อธิบายไว้ในหัวข้อความถี่ Allele และ Genotype ของยีน *mc4r* ดังนั้นจึงตัดยีนดังกล่าวออกจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของยีนกับการเจริญเติบโต ระดับพิวรีน และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ

#### 4.4.2 ความสัมพันธ์ของยีน *adsl* ต่อการเจริญเติบโต ระดับพิวรีนและขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ

**การเจริญเติบโต :** ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *adsl* ต่อการเจริญเติบโต พบว่าไม่เป็นไปตามสมมุติฐาน กล่าวคือ genotype ที่แตกต่างกันของยีนไม่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของไก่โคราช โดยการวัดการเจริญเติบโตในการศึกษาครั้งนี้ใช้ข้อมูล น้ำหนักตัว (BW) และ อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) ทำการเก็บข้อมูลในไก่ที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ ดังแสดงในตารางที่ 4.5

**ระดับพิวรีน :** ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *adsl* ต่อระดับอนุพันธ์ของพิวรีน พบว่าไม่เป็นไปตามสมมุติฐาน กล่าวคือ genotype ที่แตกต่างกันของยีน *adsl* ไม่มีอิทธิพลต่อระดับพิวรีน ในการศึกษาครั้งนี้ทำการตรวจสอบระดับอนุพันธ์ของพิวรีน ได้แก่ Adenine, Guanine, Hypoxanthine และ Total purine ในไก่ที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ ดังแสดงในตารางที่ 4.6

**ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ :** ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *adsl* ต่อขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ พบว่าไม่เป็นไปตามสมมุติฐาน กล่าวคือ genotype ที่แตกต่างกันของยีน *adsl* ไม่มีอิทธิพลต่อขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ การศึกษาครั้งนี้ทำการศึกษขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อหน้าอกและสะโพกในไก่ที่อายุ 10 สัปดาห์ ดังแสดงในตารางที่ 4.7 และรูปเส้นใยกล้ามเนื้อดังแสดงในภาพที่ 4.1

ตารางที่ 4.5 ความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *adsl* ต่อ BW (gram) และ ADG (gram/day) ในไก่โคราชที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ (least square mean  $\pm$  standard error)

Trait (Age)	Genotype of <i>adsl</i> gene			P-value
	GT (n)	GG (n)	TT (n)	
BW (2)	170.24 $\pm$ 1.91 (183)	173.29 $\pm$ 1.90 (178)	172.13 $\pm$ 1.82 (217)	0.46
BW (4)	407.49 $\pm$ 4.56 (179)	409.71 $\pm$ 4.39 (181)	414.86 $\pm$ 4.22 (217)	0.40
BW (6)	743.77 $\pm$ 11.15 (177)	736.40 $\pm$ 11.19 (166)	745.91 $\pm$ 10.51 (213)	0.65
BW (8)	1,024 $\pm$ 16.17 (165)	1,032 $\pm$ 15.86 (165)	1,048 $\pm$ 15.23 (208)	0.26
BW (10)	1,285 $\pm$ 27.39 (142)	1,290 $\pm$ 27.98 (135)	1,323 $\pm$ 27.15 (175)	0.15
ADG (2)	9.09 $\pm$ 0.13 (183)	9.26 $\pm$ 0.13 (178)	9.19 $\pm$ 0.12 (217)	0.60
ADG (4)	13.04 $\pm$ 0.16 (178)	13.10 $\pm$ 0.15 (180)	13.28 $\pm$ 0.15 (217)	0.44
ADG (6)	16.67 $\pm$ 0.26 (177)	16.48 $\pm$ 0.26 (166)	16.68 $\pm$ 0.25 (212)	0.68
ADG (8)	17.51 $\pm$ 0.29 (164)	17.63 $\pm$ 0.28 (165)	17.93 $\pm$ 0.27 (208)	0.27
ADG (10)	17.74 $\pm$ 0.39 (142)	17.78 $\pm$ 0.40 (134)	18.27 $\pm$ 0.39 (175)	0.15

หมายเหตุ : BW หมายถึง น้ำหนักตัว (Body weight)

ADG หมายถึง อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (Average Daily Gain)

(n) หมายถึง จำนวนตัวอย่างที่พบในแต่ละ genotype



**ตารางที่ 4.6** ความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *adsl* ต่อระดับ Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total purine ในไก่โคราชที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ (least square mean  $\pm$  standard error)

Age (Week)	Trait (mg/100g)	Genotype of <i>adsl</i> gene			P-value
		GT (n)	GG (n)	TT (n)	
8	Adenine	21.43 $\pm$ 0.67 (7)	19.75 $\pm$ 0.80 (5)	20.39 $\pm$ 0.60 (8)	0.30
	Guanine	29.57 $\pm$ 1.03 (7)	31.97 $\pm$ 1.24 (5)	28.38 $\pm$ 0.93 (8)	0.10
	Hypoxanthine	125.35 $\pm$ 1.81 (7)	127.77 $\pm$ 2.17 (5)	126.54 $\pm$ 1.63 (8)	0.72
	Total purine	176.35 $\pm$ 1.94 (7)	179.49 $\pm$ 2.33 (5)	175.30 $\pm$ 1.75 (8)	0.38
10	Adenine	23.64 $\pm$ 0.73 (4)	23.18 $\pm$ 0.42 (12)	24.15 $\pm$ 0.73 (4)	0.51
	Guanine	31.46 $\pm$ 0.99 (4)	32.01 $\pm$ 0.56 (12)	32.73 $\pm$ 0.99 (4)	0.65
	Hypoxanthine	119.82 $\pm$ 2.97 (4)	114.85 $\pm$ 1.68 (12)	116.21 $\pm$ 2.97 (4)	0.36
	Total purine	174.91 $\pm$ 2.46 (4)	170.03 $\pm$ 1.40 (12)	173.08 $\pm$ 2.46 (4)	0.21

หมายเหตุ : (n) หมายถึง จำนวนตัวอย่างที่พบในแต่ละ genotype

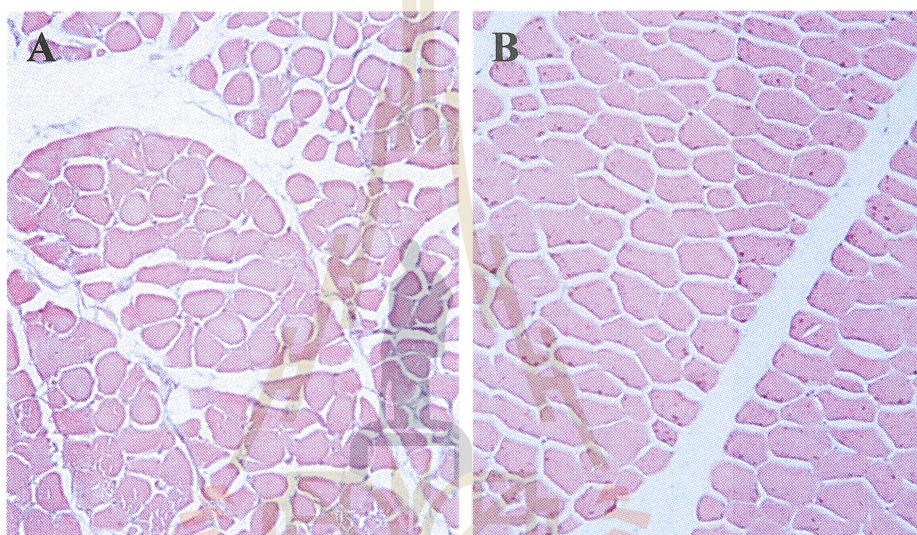
**ตารางที่ 4.6** ความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *adsl* ต่อระดับ Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total purine ในไก่โคราชที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ (least square mean  $\pm$  standard error)

Age (Week)	Trait (mg/100g)	Genotype of <i>adsl</i> gene			P-value
		GT (n)	GG (n)	TT (n)	
2	Adenine	42.18 $\pm$ 1.61 (8)	42.61 $\pm$ 1.72 (7)	41.05 $\pm$ 2.62 (3)	0.88
	Guanine	75.42 $\pm$ 2.55 (8)	74.64 $\pm$ 2.73 (7)	72.70 $\pm$ 4.17 (3)	0.86
	Hypoxanthine	137.35 $\pm$ 3.57 (8)	132.45 $\pm$ 3.81 (7)	134.80 $\pm$ 5.83 (3)	0.65
	Total purine	254.95 $\pm$ 5.46 (8)	249.70 $\pm$ 5.84 (7)	248.55 $\pm$ 8.92 (3)	0.75
4	Adenine	31.03 $\pm$ 0.85 (6)	31.10 $\pm$ 0.66 (10)	31.48 $\pm$ 1.04 (4)	0.94
	Guanine	38.80 $\pm$ 1.18 (6)	38.12 $\pm$ 0.92 (10)	38.44 $\pm$ 1.45 (4)	0.90
	Hypoxanthine	123.37 $\pm$ 3.67 (6)	122.49 $\pm$ 2.84 (10)	125.61 $\pm$ 4.49 (4)	0.84
	Total purine	193.20 $\pm$ 4.91 (6)	191.72 $\pm$ 3.81 (10)	195.53 $\pm$ 6.02 (4)	0.87
6	Adenine	25.35 $\pm$ 0.80 (7)	25.40 $\pm$ 0.95 (5)	25.47 $\pm$ 0.80 (7)	0.99
	Guanine	42.66 $\pm$ 0.70 (7)	42.81 $\pm$ 0.83 (5)	42.05 $\pm$ 0.70 (7)	0.74
	Hypoxanthine	141.31 $\pm$ 2.72 (7)	143.20 $\pm$ 3.22 (5)	141.27 $\pm$ 2.72 (7)	0.88
	Total purine	209.32 $\pm$ 3.01 (7)	211.40 $\pm$ 3.57 (5)	208.79 $\pm$ 3.01 (7)	0.85

ตารางที่ 4.7 ความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *adsl* กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ ( $\mu\text{m}$ ) (least square mean  $\pm$  standard error)

Type of muscle	Genotype of <i>adsl</i> gene			P-value
	GT (n)	GG (n)	TT (n)	
Breast	201.88 $\pm$ 5.39 (71)	196.06 $\pm$ 5.57 (70)	200.01 $\pm$ 6.01 (53)	0.38
thigh	182.98 $\pm$ 5.42 (71)	177.93 $\pm$ 5.63 (67)	180.43 $\pm$ 6.03 (54)	0.51

หมายเหตุ : (n) หมายถึง จำนวนตัวอย่างที่พบในแต่ละ genotype



ภาพที่ 4.1 เส้นใยกล้ามเนื้อบริเวณสะโพก (A) เส้นใยกล้ามเนื้อบริเวณหน้าอก (B)

จากการศึกษาก่อนหน้านี้ Guan et al. (2013), Jung et al. (2013) และ Tang et al. (2009) พบว่าไก่ต่างสายพันธุ์มีระดับของการสะสม IMP ที่แตกต่างกัน จากข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นถึงพันธุกรรมที่แตกต่างกันของสัตว์ มีผลต่อการสะสมสารดังกล่าว และจากการศึกษาของ Ma et al. (2015) พบว่า IMP มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับลักษณะการเจริญของกล้ามเนื้อ และสอดคล้องกับการศึกษาของ Ye et al. (2010) ที่พบว่า genotype ที่ต่างกันของยีน *adsl* มีผลต่อระดับการสะสม IMP ที่แตกต่างกัน และใน genotype ที่มีการสะสม IMP มีน้ำหนักตัวที่สูงเช่นกัน จึงเป็นที่มาของสมมติฐานที่เกิดขึ้นแต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ไม่เป็นไปตามสมมติฐาน จากการวิเคราะห์มีความเป็นไปได้หลายสาเหตุดังนี้

**ประเด็นที่ 1** ความสัมพันธ์ของยีน *adsl* กับการเจริญเติบโต เมื่อวิเคราะห์ค่าความสัมพันธ์ของ genotype ที่แตกต่างกันของยีน ไม่พบว่ามีอิทธิพลต่อน้ำหนักตัว เนื่องจากยีน *adsl* ทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการสังเคราะห์พิวรีนอยู่สองส่วน โดยทำหน้าที่เปลี่ยน Succinyl aminoimidazole carboxamide ribotide (SAICAR) และ adenylo succinate (S-AMP) (Marie et al., 2002) การศึกษา



ของ Jinnah and Van Den Berghe (2013) พบว่าหากการทำงานของยีน *adsl* เกิดความผิดปกติส่งผลให้การเจริญเติบโตล่าช้าหรือเจริญเติบโตผิดปกติเนื่องจาก *adsl* ช่วยกระตุ้นการพัฒนาและการทำงานของระบบประสาทต่างๆ สอดคล้องกับการศึกษาของ Jurecka et al. (2015) ที่พบว่าเมื่อการทำงานของ *adsl* ผิดปกติทำให้กระบวนการพิวรีนเมทาบอลิซึมเกิดความผิดปกติทำให้เกิดการขาดพิวรีน ส่งผลต่อการเจริญของสมองที่ผิดปกติ การศึกษาของ Liu et al. (2017) พบว่าพิวรีนเป็นนิวคลีโอไทด์ที่สำคัญต่อการพัฒนาร่างกายในช่วงระยะเอ็มบริโอ จนถึงช่วงต้นในการพัฒนากล้ามเนื้อ จากข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่ายีน *adsl* มีหน้าที่ช่วยพัฒนาและกระตุ้นระบบประสาทและการพัฒนากล้ามเนื้อซึ่งเป็นกระบวนการกระตุ้นการเจริญเติบโต แต่ไม่เกี่ยวข้องโดยตรงกับ BW และ ADG และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ

**ประเด็นที่ 2** การศึกษาครั้งนี้ศึกษาที่ exon 2 บริเวณ C3484T เป็นตำแหน่งที่มีการเปลี่ยนไปของลำดับเบสจาก C เป็น T ซึ่งไม่ทราบอย่างแน่ชัดว่าการเปลี่ยนไปของลำดับเบสมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโปรตีนที่เกิดขึ้น แล้วส่งผลต่อการเจริญเติบโตอย่างไร แต่เป็นไปได้ที่ลำดับเบสเปลี่ยนแปลงไปส่งผลต่อโปรตีนที่เกิดขึ้น และส่งผลต่อการเจริญเติบโตแตกต่างกัน สอดคล้องกับการศึกษาของ Hui-Fang et al. (2010) พบว่า genotype ที่ต่างกันของยีน *adsl* ไม่มีผลต่อน้ำหนักตัวเมื่อแรกเกิดและที่อายุ 90 วัน โดยตำแหน่งที่ใช้ในการศึกษามีลำดับเบสเปลี่ยนไปจาก T เป็น C แตกต่างจากการศึกษาของ Ye et al. (2010) ที่พบว่า genotype ที่แตกต่างกันของยีน *adsl* มีผลต่อน้ำหนักตัวน้ำหนักซาก โดยตำแหน่งที่ใช้ในการศึกษามีการเปลี่ยนไปของลำดับเบสจาก T เป็น A จากข้อมูลชี้ให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสส่งผลต่อการเจริญเติบโตแตกต่างกัน เส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อเป็นลักษณะที่มีผลต่อน้ำหนักตัว (Koomkrong et al., 2015) ดังนั้นจากการศึกษานี้เมื่อพบว่า genotype ที่แตกต่างกันไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตจึงเป็นไปได้ว่าจะไม่พบความสัมพันธ์กับขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ประชากรที่ใช้ศึกษายังมีโครงสร้างพันธุกรรมแตกต่างกัน ในที่นี้หมายถึงโครงสร้างในโมเลกุลที่ระดับ DNA และ RNA ซึ่งความแตกต่างทำให้เกิดการสร้างโปรตีนหรือการทำงานของยีนที่แตกต่างกัน จึงเป็นเหตุให้ไม่พบความสัมพันธ์

**ประเด็นที่ 3** ความสัมพันธ์ของยีน *adsl* ต่อดัชนีพันธุของพิวรีน กระบวนการสังเคราะห์พิวรีนประกอบด้วยสองกระบวนการคือ Salvage pathway และ De novo synthesis ยีน *adsl* ทำหน้าที่ในกระบวนการ Salvage pathway ในการ encode เอนไซม์เปลี่ยน succinyl aminoimidazole carboxamide ribotide (SAICAR) และ adenylosuccinate (S-AMP) (Marie et al., 2002) เพื่อให้เกิดกระบวนการสังเคราะห์และสร้างสาร IMP และเปลี่ยนไปเป็น AMP (Adam, 2005) ซึ่งเป็นตัวกลางในการสังเคราะห์พิวรีนนิวคลีโอไทด์ (Adenine Guanine Hypoxanthine) จากนั้นเมื่อเกิดกระบวนการสังเคราะห์พิวรีนนิวคลีโอไทด์จะมีเอนไซม์ 5'-nucleotidase เข้าทำปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยน AMP เป็น adenine เปลี่ยน IMP เป็น inosine และเปลี่ยนเป็น Hypoxanthine และเอนไซม์ IMP-dehydrogenase

และ GMP-synthase ในการเปลี่ยน IMP เป็น GMP และเอนไซม์ 5'-nucleotidase เข้าทำปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยน GMP เป็น Guanine (Jinnah and Van Den Berghe, 2013) จากกระบวนการดังกล่าวจะเห็นว่า *adsl* มีการทำงานเพียงในขั้นตอนการเปลี่ยน SAICAR และ S-AMP จึงเป็นไปได้ว่าจากสาเหตุนี้จึงไม่พบความสัมพันธ์ของยีนกับอนุพันธ์ของพิวรีน

#### 4.4.3 ความสัมพันธ์ของยีน *capn1* ต่อการเจริญเติบโต ระดับพิวรีน และขนาดเส้นใย

##### กล้ามเนื้อ

**การเจริญเติบโต :** ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *capn1* ต่อการเจริญเติบโต พบว่าเป็นไปตามสมมุติฐาน กล่าวคือ genotype ที่แตกต่างกันของยีนมีอิทธิพลต่อ BW ที่อายุ 24 และ 6 สัปดาห์ และ ADG ที่อายุ 2 และ 4 สัปดาห์ ในการศึกษาทำการเก็บข้อมูลในไก่ที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ ดังแสดงในตารางที่ 4.8

**ระดับพิวรีน :** ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *capn1* ต่อระดับอนุพันธ์ของพิวรีน พบว่าไม่เป็นไปตามสมมุติฐาน กล่าวคือ genotype ที่แตกต่างกันของยีน *capn1* ไม่มีอิทธิพลต่อระดับพิวรีน การศึกษาครั้งนี้ทำการตรวจสอบระดับอนุพันธ์ของพิวรีน ได้แก่ Adenine, Guanine, Hypoxanthine และ Total purine ในไก่ที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ แต่ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์ ตัวอย่างที่ถูกสุ่มเพื่อนำมาใช้วิเคราะห์ระดับอนุพันธ์ของพิวรีนไม่ปรากฏไก่ที่ genotype AB ในการสุ่มตัวอย่าง จึงไม่สามารถแสดงผลระดับอนุพันธ์ของพิวรีน ดังแสดงในตารางที่ 4.9

**ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ :** ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *capn1* ต่อขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ พบว่าเป็นไปตามสมมุติฐาน กล่าวคือ genotype ที่แตกต่างกันของยีน *capn1* มีอิทธิพลต่อขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ การศึกษาครั้งนี้ศึกษาขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อหน้าอกและสะโพก ในไก่ที่อายุ 10 สัปดาห์ ดังแสดงในตารางที่ 4.10



**ตารางที่ 4.8** ความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *capn1* ต่อ BW (gram) และ ADG (gram/day) ในไก่โคราชที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ (least square mean  $\pm$  standard error)

Trait (Age)	Genotype of <i>capn1</i> gene			P-value
	AA (n)	AB (n)	BB (n)	
BW (2)	170.67 $\pm$ 1.66 <sup>ab</sup> (258)	165.04 $\pm$ 2.48 <sup>b</sup> (103)	175.85 $\pm$ 1.72 <sup>a</sup> (217)	0.00
BW (4)	408.28 $\pm$ 3.88 <sup>ab</sup> (261)	395.59 $\pm$ 6.10 <sup>b</sup> (98)	418.27 $\pm$ 3.97 <sup>a</sup> (219)	0.00
BW (6)	733.02 $\pm$ 10.58 <sup>b</sup> (247)	721.46 $\pm$ 13.30 <sup>b</sup> (97)	755.11 $\pm$ 10.03 <sup>a</sup> (212)	0.01
BW (8)	1030 $\pm$ 15.30 (235)	1002 $\pm$ 18.76 (103)	1051 $\pm$ 14.50 (200)	0.03
BW (10)	1307 $\pm$ 26.71 (204)	1254 $\pm$ 30.92 (92)	1307 $\pm$ 26.36 (156)	0.05
ADG (2)	9.10 $\pm$ 0.11 <sup>ab</sup> (258)	8.72 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup> (103)	9.44 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup> (217)	0.00
ADG (4)	13.06 $\pm$ 0.14 <sup>ab</sup> (260)	12.62 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup> (97)	13.40 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup> (218)	0.00
ADG (6)	16.41 $\pm$ 0.25 (247)	16.14 $\pm$ 0.31 (97)	16.90 $\pm$ 0.24 (211)	0.02
ADG (8)	17.61 $\pm$ 0.27 (235)	17.12 $\pm$ 0.33 (103)	17.97 $\pm$ 0.26 (199)	0.03
ADG (10)	18.05 $\pm$ 0.38 (204)	17.27 $\pm$ 0.44 (91)	18.04 $\pm$ 0.38 (156)	0.05

หมายเหตุ : BW หมายถึง น้ำหนักตัว (Body weight) ADG หมายถึง อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (Average Daily Gain)

(n) หมายถึง จำนวนตัวอย่างที่พบในแต่ละ genotype

<sup>a, b, ab</sup> แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $P < 0.01$

**ตารางที่ 4.9** ความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *capn1* ต่อระดับ Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total purine ในไก่โคราชที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ (least square mean  $\pm$  standard error)

Age (Week)	Trait (mg/100g)	Genotype of <i>capn1</i> gene			P-value
		AA (n)	AB (n)	BB (n)	
2	Adenine	41.34 $\pm$ 1.41 (10)	43.65 $\pm$ 2.23 (4)	42.71 $\pm$ 2.23 (4)	0.66
	Guanine	73.74 $\pm$ 2.07 (10)	79.93 $\pm$ 3.28 (4)	71.70 $\pm$ 3.28 (4)	0.20
	Hypoxanthine	131.21 $\pm$ 2.93 (10)	140.53 $\pm$ 4.63 (4)	139.03 $\pm$ 4.63 (4)	0.18
	Total purine	246.30 $\pm$ 4.33 (10)	264.11 $\pm$ 6.84 (4)	253.44 $\pm$ 6.84 (4)	0.12
4	Adenine	30.50 $\pm$ 0.61 (10)	-	31.81 $\pm$ 0.61 (10)	0.15
	Guanine	37.19 $\pm$ 0.80 (10)	-	39.59 $\pm$ 0.80 (10)	0.05
	Hypoxanthine	122.54 $\pm$ 2.77 (10)	-	124.22 $\pm$ 2.77 (10)	0.67
	Total purine	190.23 $\pm$ 3.62 (10)	-	195.62 $\pm$ 3.62 (10)	0.31
6	Adenine	25.62 $\pm$ 0.72 (8)	-	25.24 $\pm$ 0.63 (11)	0.70
	Guanine	42.09 $\pm$ 0.63 (8)	-	42.77 $\pm$ 0.55 (11)	0.43
	Hypoxanthine	144.29 $\pm$ 2.33 (8)	-	139.89 $\pm$ 2.03 (11)	0.17
	Total purine	212.00 $\pm$ 2.63 (8)	-	207.89 $\pm$ 2.30 (11)	0.26

**ตารางที่ 4.9** ความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *capn1* ต่อระดับ Adenine Guanine Hypoxanthine และ Total purine ในไก่โคราชที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ (least square mean  $\pm$  standard error) (ต่อ)

Age (Week)	Trait (mg/100g)	Genotype of <i>capn1</i> gene			P-value
		AA (n)	AB (n)	BB (n)	
8	Adenine	20.57 $\pm$ 1.14 (3)	20.03 $\pm$ 0.85 (5)	20.83 $\pm$ 0.52 (12)	0.72
	Guanine	32.52 $\pm$ 1.74 (3)	28.33 $\pm$ 1.31 (5)	29.55 $\pm$ 0.80 (12)	0.22
	Hypoxanthine	125.03 $\pm$ 2.91 (3)	128.03 $\pm$ 2.18 (5)	126.11 $\pm$ 1.33 (12)	0.69
	Total purine	178.11 $\pm$ 3.30 (3)	176.40 $\pm$ 2.47 (5)	176.50 $\pm$ 1.51 (12)	0.90
10	Adenine	22.78 $\pm$ 0.54 (6)	22.05 $\pm$ 1.37 (1)	23.88 $\pm$ 0.39 (13)	0.17
	Guanine	31.70 $\pm$ 0.80 (6)	31.66 $\pm$ 2.01 (1)	32.24 $\pm$ 0.57 (13)	0.84
	Hypoxanthine	117.54 $\pm$ 2.46 (6)	117.51 $\pm$ 6.21 (1)	115.15 $\pm$ 1.76 (13)	0.71
	Total purine	172.02 $\pm$ 2.15 (6)	171.22 $\pm$ 5.43 (1)	171.27 $\pm$ 1.54 (13)	0.96

หมายเหตุ : (น) หมายถึง จำนวนตัวอย่างที่พบในแต่ละ genotype

ตารางที่ 4.10 ความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *capn1* กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ (μm) (least square mean ± standard error)

Type of muscle	Genotype of <i>capn1</i> gene			P-value
	AA (n)	AB (n)	BB (n)	
Breast	202.61 ± 5.34 <sup>ab</sup> (94)	206.24 ± 6.21 <sup>a</sup> (41)	193.87 ± 5.42 <sup>b</sup> (59)	0.03
Thigh	177.79 ± 5.45 (92)	179.02 ± 6.28 (42)	184.39 ± 5.52 (58)	0.29

หมายเหตุ : (n) หมายถึง จำนวนตัวอย่างที่พบในแต่ละ genotype

จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า genotype ที่แตกต่างกันของยีน *capn1* มีผลต่อน้ำหนักตัว น้ำหนักซาก ความแน่นของเส้นใยกล้ามเนื้อ (Zhang et al., 2008) จากข้อมูลดังกล่าวจึงเป็นที่มาของสมมุติฐานที่กล่าวว่า genotype ที่แตกต่างกันของยีน *capn1* มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโต และระดับพิวรีน และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อที่แตกต่างกัน ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 4.8 4.9 และ 4.10 สามารถอธิบายความเป็นไปได้ของความสัมพันธ์ในประเด็นต่างๆ ดังนี้

**ประเด็นที่ 1** ในกรณีความสัมพันธ์ของ genotype ที่แตกต่างกันของยีน *capn1* กับ BW พบว่า genotype ที่แตกต่างกันมีอิทธิพลต่อ BW ที่อายุ 2 4 และ 6 สัปดาห์ และ ADG ที่อายุ 2 และ 4 สัปดาห์ ซึ่งยีน *capn1* ทำหน้าที่ในการสร้างเอนไซม์จำพวก proteolytic enzyme ทำหน้าที่ช่วยย่อยสลายโปรตีนและในกระบวนการสะสมโปรตีนเพื่อพัฒนากล้ามเนื้อต้องอาศัยกระบวนการเกิด protein turnover ในการรักษาสมดุลระหว่างการสังเคราะห์โปรตีนใหม่และการสลายโปรตีนเก่า เพื่อให้เกิดกรดอะมิโน ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบต่างๆ ในร่างกายถือเป็นปัจจัยหนึ่งในการเกิด protein turnover (Franco and Huttenlocher, 2005), (Kemp et al., 2013) และ (Schutz, 2011) จากเหตุผลดังกล่าวเห็นได้ว่าสอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบความสัมพันธ์ที่อายุ 2 4 และ 6 สัปดาห์ ซึ่งเป็นช่วงที่ร่างกายเริ่มพัฒนาการเจริญเติบโต เป็นช่วงที่เกิดกระบวนการในการสังเคราะห์โปรตีนเพื่อการเจริญเติบโตสูง และเมื่อเกิดการสังเคราะห์มาก จะทำให้เกิดกระบวนการสลายโปรตีนมากขึ้นเช่นกัน และสอดคล้องกับการศึกษาของ Maeda (1991) พบว่าที่อายุ 3 สัปดาห์เกิดกระบวนการสร้างและสลายโปรตีนที่มากกว่าช่วงอายุ 8 สัปดาห์ และ genotype ที่ต่างกันของยีนมีผลต่อการอัตราการสร้างและสลายโปรตีนต่างกัน เกิดจากลำดับเบสที่เปลี่ยนไปทำให้เกิดความแตกต่างในการสร้างโปรตีนหรือเอนไซม์จึงทำให้ genotype ที่แตกต่างกันส่งผลต่อน้ำหนักตัวที่ต่างกัน

**ประเด็นที่ 2** ในกรณีความสัมพันธ์ของ genotype ที่แตกต่างกันของยีน *capn1* กับระดับพิวรีน จากสมมุติฐานที่คาดว่าจะพบความสัมพันธ์ระหว่างยีน *capn1* กับระดับพิวรีน เนื่องจากมีการทำงานเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต จากผลการศึกษาไม่พบความสัมพันธ์ของลักษณะดังกล่าว เกิดจากการกระบวนการทำงานของยีน *capn1* ไม่มีผลโดยตรงต่อกระบวนการสร้างหรือสลายพิวรีน แต่

มีผลโดยตรงในการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนในร่างกายเท่านั้น จึงทำให้ไม่พบความสัมพันธ์ของลักษณะดังกล่าว

**ประเด็นที่ 3** ในกรณีความสัมพันธ์ของ genotype ที่แตกต่างกันของยีน *capn1* กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ พบความสัมพันธ์ของลักษณะดังกล่าว เกิดจากยีน *capn1* ทำงานในกระบวนการสร้างสมดุลระหว่างการสร้างและสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อ ส่งผลต่อการสร้างความหนาแน่นในการสะสมโปรตีนในเนื้อ และมีผลต่อการเจริญเติบโต จึงเป็นเหตุให้พบความสัมพันธ์กับขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ แต่พบความสัมพันธ์เพียงในเนื้อหน้าอกเท่านั้น เนื่องจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อเป็นลักษณะที่นอกจากเกิดจากอิทธิพลของพันธุกรรมแล้วการทำงาน และการใช้งานกล้ามเนื้อในแต่ละบริเวณก็ส่งผลต่อขนาดของกล้ามเนื้อเช่นกัน และ genotype ที่ต่างกันของยีนมีผลต่อขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อที่แตกต่างกัน เป็นผลมาจากลำดับเบสที่แตกต่างกันของยีนในแต่ละ genotype

#### 4.5 การแสดงออกของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* ในไก่โคราชที่มีอายุแตกต่างกัน

สมมุติฐานข้อที่สามคือ การแสดงออกของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* ในไก่โคราชที่อายุแตกต่างกันมีการแสดงออกที่ต่างกัน ผลการศึกษาพบว่า เป็นไปตามสมมุติฐาน ยีน *mc4r* มีการแสดงออกสูงสุดที่อายุ 8 สัปดาห์ ที่อายุ 2 4 และ 6 สัปดาห์มีการแสดงออกที่ไม่แตกต่างกัน และมีการแสดงออกต่ำสุดในอายุ 10 สัปดาห์ ยีน *adsl* มีการแสดงออกสูงสุดที่อายุ 2 สัปดาห์ ที่อายุ 10 สัปดาห์ มีการแสดงออกรองลงมา และมีการแสดงออกต่ำที่สุดที่อายุ 4 6 และ 8 สัปดาห์ ยีน *capn1* มีการแสดงออกสูงสุดที่อายุ 2 สัปดาห์ และมีการแสดงออกที่รองลงมาที่อายุ 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ ดังแสดงในตารางที่ 4.11



ตารางที่ 4.11 การแสดงของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* ในไก่โคราชที่อายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์  
(least square mean  $\pm$  standard error)

Age (Week)	<i>mc4r</i>	<i>adsl</i>	<i>Capn1</i>
2	0.852 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>	1.635 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	0.295 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
4	0.536 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>	0.925 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	0.029 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
6	0.574 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>	0.882 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	0.023 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
8	1.357 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	0.934 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	0.029 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
10	0.271 $\pm$ 0.67 <sup>b</sup>	1.228 $\pm$ 0.16 <sup>ab</sup>	0.027 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
<b>P-value</b>	0.054	0.013	0.000

หมายเหตุ : <sup>a, ab, c</sup> แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $P < 0.05$

การเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาค่า

Relative expression ratio ระหว่างยีนที่ใช้ในการศึกษา กับ housekeeping gene

โดยใช้อายุ 2 สัปดาห์เป็นกลุ่มควบคุม

จากผลการศึกษพบความแตกต่างของระดับการแสดงออกของยีนในไก่ที่อายุแตกต่างกัน ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวสามารถแยกการอธิบายผลเป็นประเด็นได้ดังนี้

**ประเด็นที่ 1** การแสดงออกที่แตกต่างกันของยีน *mc4r* มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโต ในไก่ที่อายุ 2 4 และ 6 สัปดาห์มีการแสดงออกในระดับปานกลางเมื่อดูจากทุกช่วงอายุเป็นไปได้ว่า ในช่วงพัฒนาการเจริญเติบโตยีน *mc4r* มีบทบาทเนื่องจากทำหน้าที่ควบคุมสมดุลของร่างกาย และการกินได้ เมื่อเข้าสู่ช่วงอายุไก่อุ่นพบการแสดงออกของยีนสูงที่สุดเป็นช่วงในการเร่งอัตราการเจริญเติบโตในร่างกาย สอดคล้องกับการศึกษาของ Hanusova et al. (2017) ที่ทำการศึกษาในไก่พื้นเมือง แล้วพบว่าในช่วงไก่อุ่นมีการเจริญเติบโตที่เร็วกว่าในช่วงต้น จึงพบการแสดงออกของยีนสูงที่สุดในช่วง 8 สัปดาห์ และมีการแสดงออกที่เริ่มลดลงเมื่อไก่อุ่นมีการเจริญเติบโตของร่างกายที่สมบูรณ์

**ประเด็นที่ 2** การแสดงออกที่แตกต่างกันของยีน *adsl* มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโต โดยยีน *adsl* ทำงานในกระบวนการสังเคราะห์พิวรีน ซึ่งเป็นโครงสร้างของ DNA RNA และกระบวนการเมทาบอลิซึมของพิวรีนยังเป็นแหล่งพลังงานให้แก่เซลล์ สอดคล้องกับระดับการแสดงออกของยีนสูงสุดที่อายุ 2 สัปดาห์ เป็นช่วงที่การพัฒนาของร่างกายเพื่อการเจริญเติบโตที่สูง และเริ่มลดลงที่ 4 6 และ 8 สัปดาห์ และเมื่อไก่เข้าสู่อายุ 10 สัปดาห์พบว่าการแสดงออกที่เริ่มสูงขึ้นอีกครั้ง เกิดจากที่อายุ 10 สัปดาห์ ร่างกายของไก่เริ่มเตรียมความพร้อมเข้าสู่การพัฒนาความสมบูรณ์พันธุ์ของร่างกาย ทำให้เกิดการทำงานของยีนที่สูงขึ้นอีกครั้งและสอดคล้องกับผล correlation coefficient ที่พบความสัมพันธ์ของ Guanine ในไก่ที่อายุ 8 สัปดาห์ กับ BW และ ADG จากเหตุผลดังกล่าวจึงเป็น

เหตุให้พบการแสดงออกของยีนดังตารางที่ 4.11

**ประเด็นที่ 3** การแสดงออกที่แตกต่างกันของยีน *capn1* มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตในไก่ เนื่องจากเป็นยีนที่ทำงานควบคุมกระบวนการเกิด Protein turnover (Schutz, 2011) และ (Kemp et al., 2013) เป็นกระบวนการเพื่อรักษาสมดุลการสะสมโปรตีนเพื่อการเจริญเติบโตของร่างกาย สอดคล้องกับผลการศึกษา ที่พบการแสดงออกสูงสุดที่อายุ 2 สัปดาห์ ซึ่งเป็นช่วงเริ่มการพัฒนาการเจริญเติบโต และมีการแสดงออกลดลงเมื่ออายุเพิ่มมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาการแสดงออกของยีนเป็นหนึ่งในแนวทางที่จะทำให้พบความเปลี่ยนแปลงของการแสดงออกเมื่ออายุเปลี่ยนไปว่าเป็นอย่างไรเพื่อนำไปใช้ประกอบการพิจารณาในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป



## บทที่ 5

### สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาอิทธิพลของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* ต่อปริมาณพิวรีน และการเจริญเติบโต ในไก่โคราช สามารถสรุปประเด็นต่างๆ ได้ดังนี้

1. การศึกษาในประเด็นความสัมพันธ์ของระดับพิวรีนกับการเจริญเติบโต และ Uric acid พบความสัมพันธ์ของระดับ guanine กับน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน ที่อายุ 8 สัปดาห์ เพียงอายุเดียว จากข้อมูลดังกล่าวเป็นไปได้ที่จะพบความสัมพันธ์ต่อการเจริญเติบโต แต่ยังคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในประเด็นนี้หากต้องการนำไปใช้ประโยชน์

2. การศึกษาในประเด็นความถี่ Allele และ Genotype ของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* และค่า Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) พบความถี่ genotype ของยีน *mc4r* หายไปและไม่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็น gene marker และยีนดังกล่าวยังอยู่ใน HWE แสดงว่าในรุ่นต่อไปจะพบความถี่ genotype ที่ไม่เปลี่ยนแปลง ส่วนยีน *adsl* และ *capn1* มีความถี่ของยีนที่เหมาะสมและยังสามารถใช้เป็น gene marker ได้ เนื่องจากยังพบความหลากหลายในประชากรที่ใช้ในการศึกษา และยีนทั้งสองไม่อยู่ใน HWE แสดงว่าในรุ่นต่อไปอาจพบการเปลี่ยนแปลงความถี่ของ genotype

3. การศึกษาในประเด็นความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *mc4r* กับน้ำหนักตัว ระดับพิวรีน และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ เนื่องจากยีนมีความถี่ของบาง genotype ที่หายไป จึงตัดยีนดังกล่าวออกจากการวิเคราะห์ผลเนื่องจากไม่มีความเหมาะสมในการใช้เป็น gene marker

4. การศึกษาในประเด็นความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *adsl* กับน้ำหนักตัว ระดับพิวรีน และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ พบว่า genotype ที่แตกต่างกันของยีนไม่มีอิทธิพลต่อต่อลักษณะดังกล่าว เนื่องจากการทำงานของพิวรีนมีผลโดยตรงต่อการพัฒนาระบบต่างๆ ในร่างกายเพื่อรองรับการเจริญเติบโต แต่ไม่ได้ส่งผลโดยตรงต่อการเพิ่มน้ำหนักตัว และลำดับเบสที่เปลี่ยนไปในโครงสร้างพันธุกรรมของไก่ อาจส่งผลต่อการสร้างโปรตีนที่มีผลต่อการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันจึงทำให้ไม่พบความสัมพันธ์ และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อเป็นลักษณะที่มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโต จึงไม่พบความสัมพันธ์ในการศึกษาครั้งนี้เช่นกัน ด้วยเหตุนี้ยีน *adsl* จึงไม่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็น gene marker เพื่อปรับปรุงลักษณะการเจริญเติบโต และพิวรีนในเนื้อ แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากกลไกต่างๆ ที่เกี่ยวข้องยังไม่ชัดเจนจึงมีความจำเป็นต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมหากต้องการนำมาใช้ในการศึกษาต่อไป

5. การศึกษาในประเด็นความสัมพันธ์ของ genotype ของยีน *capn1* กับน้ำหนักตัว ระดับพิวรีน และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ พบว่า genotype ที่แตกต่างกันของยีนมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโต ที่อายุ 24 และ 6 สัปดาห์ และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อ เนื่องจากเป็นยีนที่ทำงานในการบวนการ protein turnover เพื่อรักษาสมดุลในกระบวนการสร้างและสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อ กระบวนการดังกล่าวเกิดขึ้นมากในช่วงการพัฒนาของร่างกาย และการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสะสมโปรตีนส่งผลต่อขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อ แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับระดับพิวรีนเนื่องจากยีนดังกล่าวไม่เกี่ยวข้องโดยตรงกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของพิวรีน

6. การศึกษาในประเด็นการแสดงออกของยีน *mc4r* *adsl* และ *capn1* ในไก่ที่อายุแตกต่างกัน พบการแสดงออกที่แตกต่างกัน ในแต่ละช่วงอายุแสดงถึงความสัมพันธ์ของการทำงานของยีนอาจมีความเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตแต่เนื่องจากลักษณะการเจริญเติบโตเป็นลักษณะเชิงปริมาณที่ถูกควบคุมด้วยยีนหลายตำแหน่ง จึงจำเป็นต้องมีการทำการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป



## รายการอ้างอิง

- จันทนา เมฆวิลัย. (2549). การศึกษายีนเมลาโนคอร์ติน-4 รีเซพเตอร์ในสุกรพันธุ์คูร์โรค. รายงานปัญหาพิเศษ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร คณะเกษตร กำแพงแสน.
- พันธกรณ์ สุภักฎาญจน์กุล. (2550). ความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *mc4r* ต่อสมรรถภาพการผลิตในไก่พื้นเมือง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ภุมพงค์ บุญแสน, ธิดารัตน์ สุพิภักดิ์, ปฐมา แทนนาค, บุญพา ปานภักดี, ภาวิณี จำปาคำ และ สุริยะ สะวานนท์. (2555). การตรวจสอบเครื่องหมายพันธุกรรมที่สัมพันธ์กับลักษณะความนุ่มของเนื้อและไขมันแทรกในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน. การประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50. สาขาสัตว. สาขาสัตวแพทยศาสตร์. สาขาประมง. 117-124.
- ศุภมิตร เมฆฉาย. (2550). การค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *mc5r* ในไก่. รายงานฉบับสมบูรณ์. ภาควิชาสัตวศาสตร์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Aliani, M., and Farmer, L. J. (2005). Precursors of chicken flavor. II. Identification of key flavor precursors using sensory methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(16), 6455-6462.
- Bellisle, F. (1999). Glutamate and the UMAMI taste: sensory, metabolic, nutritional and behavioural considerations. A review of the literature published in the last 10 years. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 23(3), 423-438.
- Benoit, S., Schwartz, M., Baskin, D., Woods, S. C., and Seeley, R. J. (2000). CNS melanocortin system involvement in the regulation of food intake. *Hormones and Behavior*, 37(4), 299-305.
- Bobulescu, I. A., and Moe, O. W. (2012). Renal transport of uric acid: evolving concepts and uncertainties. *Advances in Chronic Kidney Disease*, 19(6), 358-371.
- Chen, B., Xu, J., He, X., Xu, H., Li, G., Du, H., Zhang, X. (2015). A genome-wide mRNA screen and functional analysis reveal FOXO3 as a candidate gene for chicken growth. *Plos One*, 10(9), e0137087.



- Daneshmand, A., Kermanshahi, H., Danesh Mesgaran, M., King, A., and Ibrahim, S. (2017). Effect of purine nucleosides on growth performance, gut morphology, digestive enzymes, serum profile and immune response in broiler chickens. **British Poultry Science**, 58(5), 536-543.
- Dransfield, E., and Sosnicki, A. (1999). Relationship between muscle growth and poultry meat quality. **Poultry Science**, 78(5), 743-746.
- Duclos, M., Berri, C., and Le Bihan-Duval, E. (2007). Muscle growth and meat quality. **Journal of Applied Poultry Research**, 16(1), 107-112.
- Dugarova, E., and Gulasan, N. (2017). Challenges and Opportunities in the Implementation of the Sustainable Development Goals: **United Nations Development Programme and United Nations Research Institute for Social Development**.
- Felício, A., Boschiero, C., Balieiro, J., Ledur, M., Ferraz, J., Michelan Filho, T., Coutinho, L. (2013). Identification and association of polymorphisms in *capn1* and *capn3* candidate genes related to performance and meat quality traits in chickens. **Genetics and Molecular Research**, 472-482.
- Franco, S. J., and Huttenlocher, A. (2005). Regulating cell migration: calpains make the cut. **Journal of Cell Science**, 118(17), 3829-3838.
- Francois, R. (2008). genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. **Molecular Ecology Resources**, 8(1), 103-106.
- Gandolfi, G., Cinar, M., Ponsuksili, S., Wimmers, K., Tesfaye, D., Looft, C., Schellander, K. (2011). Association of PPARGC1A and CAPNS1 gene polymorphisms and expression with meat quality traits in pigs. **Meat Science**, 89(4), 478-485.
- Goll, D. E., Thompson, V. F., Taylor, R. G., and Ouali, A. (1998). The calpain system and skeletal muscle growth. **Canadian Journal of Animal Science**, 78(4), 503-512.
- Guan, R.-f., Lyu, F., Chen, X.-q., Ma, J.-q., Jiang, H., and Xiao, C.-g. (2013). Meat quality traits of four Chinese indigenous chicken breeds and one commercial broiler stock. **Journal of Zhejiang University Science B**, 14(10), 896-902.
- Hanusova, E., Oravcova, M., Hanus, A., and Hrnčar, C. (2017). Factors Affecting Growth in Native Oravka Chicken Breed. **Slovak Journal Animal Science**, 50(3), 112-117.

- Hui-Fang, L., Wei, H., Jing-Ting, S., Yun-Fen, Z., Xue-Yu, Z., and Kuan-Wei, C. (2010). Improving muscle inosine monophosphate (IMP) contents in wenchang chicken by pyramiding favorable genotypes of *adsl* and *gar – airs – gart* genes. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, 9(13), 1791-1795.
- Jayasena, D. D., Ahn, D. U., Nam, K. C., and Jo, C. (2013). Flavour chemistry of chicken meat: a review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 26(5), 732.
- Jinnah, H., and Van Den Berghe, G. (2013). Metabolic disorders of purine metabolism affecting the nervous system Handbook of clinical neurology. **Elsevier**, 113, 1827-1836.
- Jung, S., Bae, Y. S., Kim, H. J., Jayasena, D. D., Lee, J. H., Park, H. B., Jo, C. (2013). Carnosine, anserine, creatine, and inosine 5'-monophosphate contents in breast and thigh meats from 5 lines of Korean native chicken. **Poultry Science**, 92(12), 3275-3282.
- Kaneko, K., Aoyagi, Y., Fukuuchi, T., Inazawa, K., and Yamaoka, N. (2014). Total purine and purine base content of common foodstuffs for facilitating nutritional therapy for gout and hyperuricemia. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 37(5), 709-721.
- Kawai, M., Okiyama, A., and Ueda, Y. (2002). Taste enhancements between various amino acids and IMP. **Chemical Senses**, 27(8), 739-745.
- Kemp, C., Oliver, W., Wheeler, T., Chishti, A., and Koohmaraie, M. (2013). The effects of *capn1* gene inactivation on skeletal muscle growth, development, and atrophy, and the compensatory role of other proteolytic systems. **Journal of Animal Science**, 91(7), 3155-3167.
- Koomkroong, N., Theerawatanasirikul, S., Boonkaewwan, C., Jaturasitha, S., and Kayan, A. (2015). Breed-related number and size of muscle fibres and their response to carcass quality in chickens. **Italian Journal of Animal Science**, 14(4), 4145.
- Lee, S.-H., Kim, S.-C., Chai, H.-H., Cho, S.-H., Kim, H.-C., Lim, D., Gondro, C. (2014). Mutations in calpastatin and  $\mu$ -calpain are associated with meat tenderness, flavor and juiciness in Hanwoo (Korean cattle): Molecular modeling of the effects of substitutions in the calpastatin/ $\mu$ -calpain complex. **Meat science**, 96(4), 1501-1508.
- Li, and Li, H. (2006). Association of *mc4r* gene polymorphisms with growth and body composition traits in chicken. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, 19(6), 763.

- Li, H., Deeb, N., Zhou, H., Mitchell, A., Ashwell, C., and Lamont, S. J. (2003). Chicken quantitative trait loci for growth and body composition associated with transforming growth factor-beta genes. **Poultry Science**, 82(3), 347-356.
- Lipkowitz, M. S. (2012). Regulation of Uric Acid Excretion by the Kidney. **Current Rheumatology Reports**, 14(2), 179-188.
- Liu, R., Wang, H., Liu, J., Wang, J., Zheng, M., Tan, X., Zhao, G. (2017). Uncovering the embryonic development-related proteome and metabolome signatures in breast muscle and intramuscular fat of fast-and slow-growing chickens. **BMC genomics**, 18(1), 816.
- Lockyer, S., and Stanner, S. (2016). Diet and gout—what is the role of purines. **Nutrition Bulletin**, 41(2), 155-166.
- Ma, T., Xu, L., Wang, H., Chen, J., Liu, L., Chang, G., and Chen, G. (2015). Mining the key regulatory genes of chicken inosine 5'-monophosphate metabolism based on time series microarray data. **Journal Animal Sciences Biotechnology**, 6(1), 21.
- Maeda, Y. (1991). Genetical studies on muscle protein turnover rate and calcium activated neutral protease activity in the skeletal muscle of the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Animal Science and Technology**, 62, 813-821.
- Maiuolo, J., Oppedisano, F., Gratteri, S., Muscoli, C., and Mollace, V. (2016). Regulation of uric acid metabolism and excretion. **International Journal of Cardiology**, 213, 8-14.
- Mudalal, S., Lorenzi, M., Soglia, F., Cavani, C., and Petracci, M. (2015). Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat. **Animal**, 9(4), 728-734.
- Mujahid, G. (2012). Social protection for older persons in asia and the pacific. **Asian Development Bank**.
- Park, H. M. (2015). Univariate analysis and normality test using SAS, Stata, and SPSS. **The Trustees of Indiana University**.
- Pedley, A. M., and Benkovic, S. J. (2017). A New View into the Regulation of Purine Metabolism: The Purinosome. **Trends Biochemistry Science**, 42(2), 141-154.
- Petracci, M., and Cavani, C. (2011). Muscle growth and poultry meat quality issues. **Nutrients**, 4(1), 1-12.

- Piorowska, K., Nowak, J., Poltowicz, K., Ropka-Molik, K., and Sztatola, T. (2015). Effect of newly found polymorphisms in the promoter region of the *capn1* gene on transcript abundance in broiler chicken breast muscle. **Animal Science Papers & Reports**, 33(3).
- Qiu, X., Li, N., Deng, X., Zhao, X., Meng, Q., and Wang, X. (2006). The single nucleotide polymorphisms of chicken melanocortin-4 receptor (*mc4r*) gene and their association analysis with carcass traits. **Science in China Series C: Life Sciences**, 49(6), 560-566.
- Schioth, H. B., Raudsepp, T., Ringholm, A., Fredriksson, R., Takeuchi, S., Larhammar, D., and Chowdhary, B. P. (2003). Remarkable synteny conservation of melanocortin receptors in chicken, human, and other vertebrates. **Genomics**, 81(5), 504-509.
- Schmidt, A. P., Lara, D. R., and Souza, D. O. (2007). Proposal of a guanine-based purinergic system in the mammalian central nervous system. **Pharmacology & therapeutics**, 116(3), 401-416.
- Schutz, Y. (2011). Protein turnover, ureagenesis and gluconeogenesis. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, 81(2), 101.
- Shahidi, F. (2012). Flavor of meat and meat products: **Springer Science & Business Media**.
- Shu, J., Zhang, M., Shan, Y., Xu, W., Chen, K., and Li, H. (2015). Analysis of the genetic effects of *capn1* gene polymorphisms on chicken meat tenderness. **Genetics and Molecular Research**, 14(1), 1393-1403.
- Sintubin, P., Greene, E., Collin, A., Bordas, A., Zerjal, T., Tesseraud, S., Dridi, S. (2014). Expression profile of hypothalamic neuropeptides in chicken lines selected for high or low residual feed intake. **Neuropeptides**, 48(4), 213-220.
- Smith, T., Casas, E., Rexroad III, C., Kappes, S., and Keele, J. (2000). Bovine *capn1* maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness. **Journal of Animal Science**, 78(10), 2589-2594.
- Tanaka, M., Miyazaki, T., Yamamoto, I., Nakai, N., Ohta, Y., Tsushima, N., Shimada, K. (2003). Molecular characterization of chicken growth hormone secretagogue receptor gene. **General and Comparative Endocrinology**, 134(2), 198-202.
- Tang, H., Gong, Y., Wu, C., Jiang, J., Wang, Y., and Li, K. (2009). Variation of meat quality traits among five genotypes of chicken. **Poultry Science**, 88(10), 2212-2218.

- Wang, Y., Su, Y., Jiang, X., Liu, Y., Li, X., Zhang, Z., Zhu, Q. (2009). Study on association of single nucleotide polymorphism of *mc3r* and *mc4r* genes with carcass and meat quality traits in chicken. **The Journal of Poultry Science**, 46(3), 180-187.
- White, S., Casas, E., Wheeler, T., Shackelford, S., Koohmaraie, M., Riley, D., Smith, T. (2005). A new single nucleotide polymorphism in *capn1* extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent 1. **Journal of Animal Science**, 83(9), 2001-2008
- Williams, J. L. (2008). Genetic control of meat quality traits Meat Biotechnology. **Springer**, 21-60.
- Wu, X., Bao, W., Shu, J., Xu, Q., Zhang, X., Han, W., and Chen, G. (2009). Correlation analysis between single nucleotide polymorphisms in exon 2 of *adsl* gene and inosine monophosphate acid content in chicken. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, 8(12), 2438-2441.
- Yamaoka, T., Kondo, M., Honda, S., Iwahana, H., Moritani, M., Ii, S., Itakura, M. (1997). Amidophosphoribosyltransferase limits the rate of cell growth-linked de novo purine biosynthesis in the presence of constant capacity of salvage purine biosynthesis. **Journal of Biological Chemistry**, 272(28), 17719-17725.
- Ye, M., Chen, J., Zhao, G., Zheng, M., and Wen, J. (2010). Correlation between polymorphisms in *adsl* and *gars - airs - gart* genes with inosine 5'-monophosphate (IMP) contents in Beijing-you chickens. **British Poultry Science**, 51(5), 609-613.
- Zhang, Liu, Y., Jiang, X., Du, H., and Zhu, Q. (2008). Study on association of single nucleotide polymorphism of *capn1* gene with muscle fiber and carcass traits in quality chicken populations. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, 125(4), 258-264.
- Zhang, Zhu, Q., and Liu, Y.-p. (2007). Correlation Analysis on Single Nucleotide Polymorphism of *capn1* Gene and Meat Quality and Carcass Traits in Chickens. **Agricultural Sciences in China**, 6(6), 749-754.
- Zhao, G., Chen, J., Zheng, M., Wen, J., and Zhang, Y. (2007). Correlated responses to selection for increased intramuscular fat in a Chinese quality chicken line. **Poultry Science**, 86(11), 2309-2314.



Zhu, R., Wang, Y., Wang, H., Lin, S., Sun, S., Huang, B., and Hu, H. (2017). *adsl*, *ampd1*, and *atic* Expression Levels in Muscle and Their Correlations with Muscle Inosine Monophosphate Content in Dapulian and Hybridized Pig Species. **Journal of Animal Sciences**, 07(04), 393-404.

Zuidhof, M., Schneider, B., Carney, V., Korver, D., and Robinson, F. (2014). Growth, efficiency, and yield of commercial broilers from 1957, 1978, and 2005. **Poultry Science**, 93(12), 2970-2982.

<http://fic.nfi.or.th/foodsectordatabank-detail.php?id=32>, 10 มีนาคม 2561

<http://www.oie.int>, 8 กุมภาพันธ์ 2561

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM\\_001031514.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM_001031514.1), 4 เมษายน 2558

<http://themedicalbiochemistrypage.org/gut-brain.php>, 4 เมษายน 2558

[https://en.wikipedia.org/wiki/Purine\\_metabolism](https://en.wikipedia.org/wiki/Purine_metabolism), 14 กุมภาพันธ์ 2561

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM\\_205529.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM_205529.1), 25 มีนาคม 2558

<http://www1.lfl.cuni.cz/udmp/adsl/>, 10 เมษายน 2558

[http://elearning.nsrh.ac.th/web\\_elearning/meattech/lesson/less8\\_2.html](http://elearning.nsrh.ac.th/web_elearning/meattech/lesson/less8_2.html), 11 เมษายน 2558

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM\\_205303.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM_205303.1), 12 เมษายน 2558

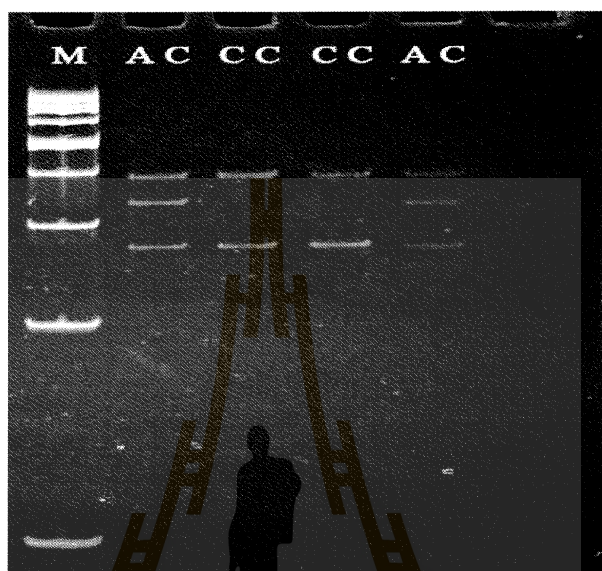
ภาคผนวก

ภาพประกอบการศึกษารูปแบบ และการแสดงออกของยื่น

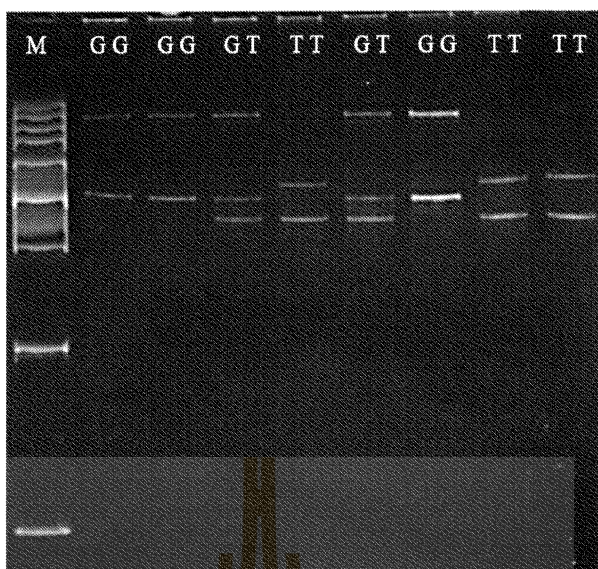
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

## ภาคผนวก ก

## ภาพประกอบการศึกษารูปแบบยีน



ภาพที่ ก.1 รูปแบบชิ้นส่วน DNA สายเดี่ยวของยีน *mc4r* ที่พบในไก่โคราช ด้วยเทคนิค PCR-SSCP โดยแถบที่ 1 (นับจากซ้ายมือ) คือ DNA marker 100 bp แถบที่ 2 คือ รูปแบบ AC แถบที่ 3 คือ รูปแบบ CC

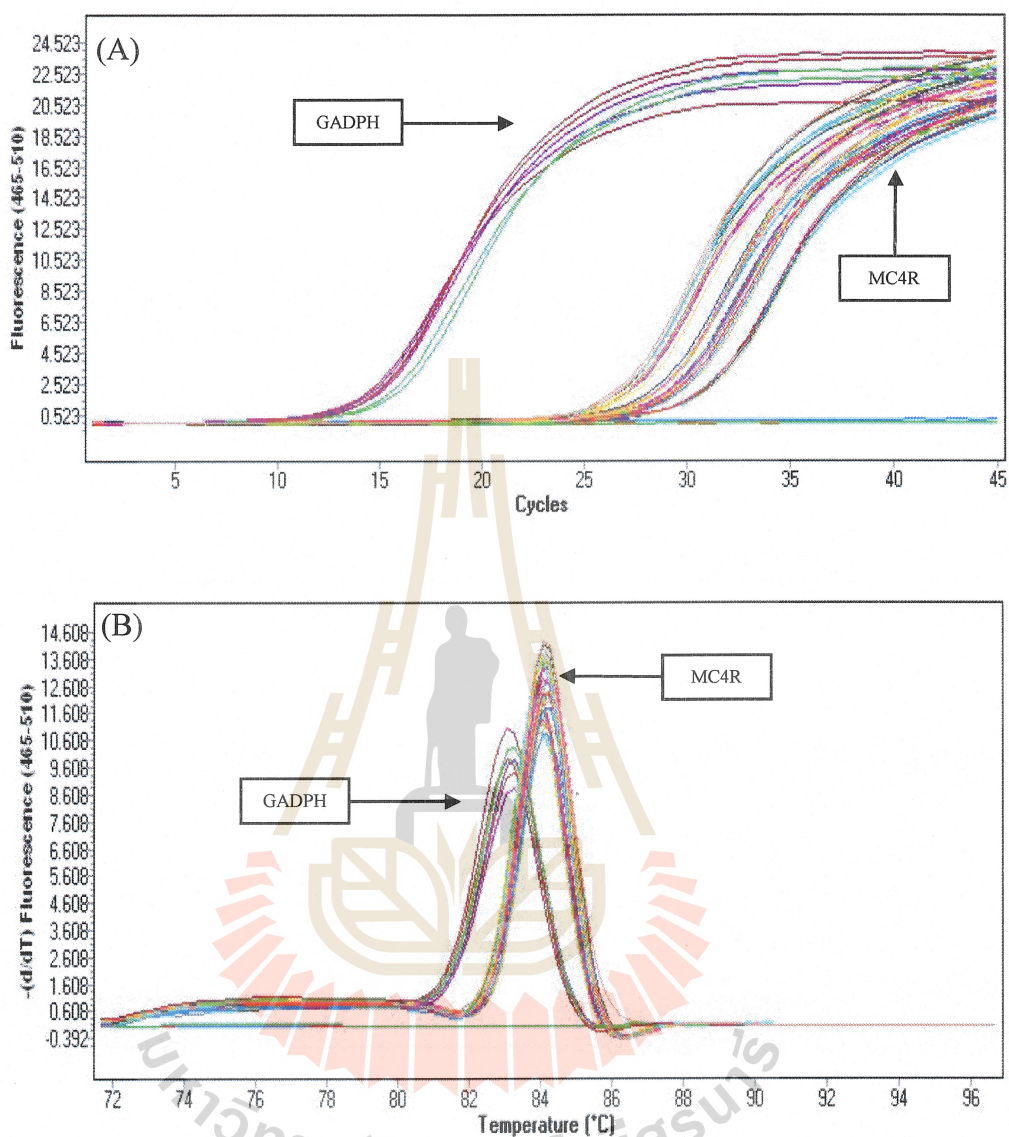


ภาพที่ ก.2 รูปแบบชิ้นส่วน DNA สายเดี่ยวของยีน *adsl* ที่พบในไก่โครราช ด้วยเทคนิค PCR-SSCP โดยแถบที่ 1 (นับจากซ้ายมือ) คือ DNA marker 100 bp แถบที่ 2 คือ รูปแบบ GG แถบที่ 4 คือ รูปแบบ GT แถบที่ 5 คือ รูปแบบ TT



ภาพที่ ก.3 รูปแบบชิ้นส่วน DNA สายเดี่ยวของยีน *capn1* ที่พบในไก่โครราช ด้วยเทคนิค PCR-SSCP โดยแถบที่ 1 (นับจากซ้ายมือ) คือ DNA marker 100 bp แถบที่ 2 คือ รูปแบบ BB แถบที่ 4 คือ รูปแบบ AA แถบที่ 7 คือ รูปแบบ AB

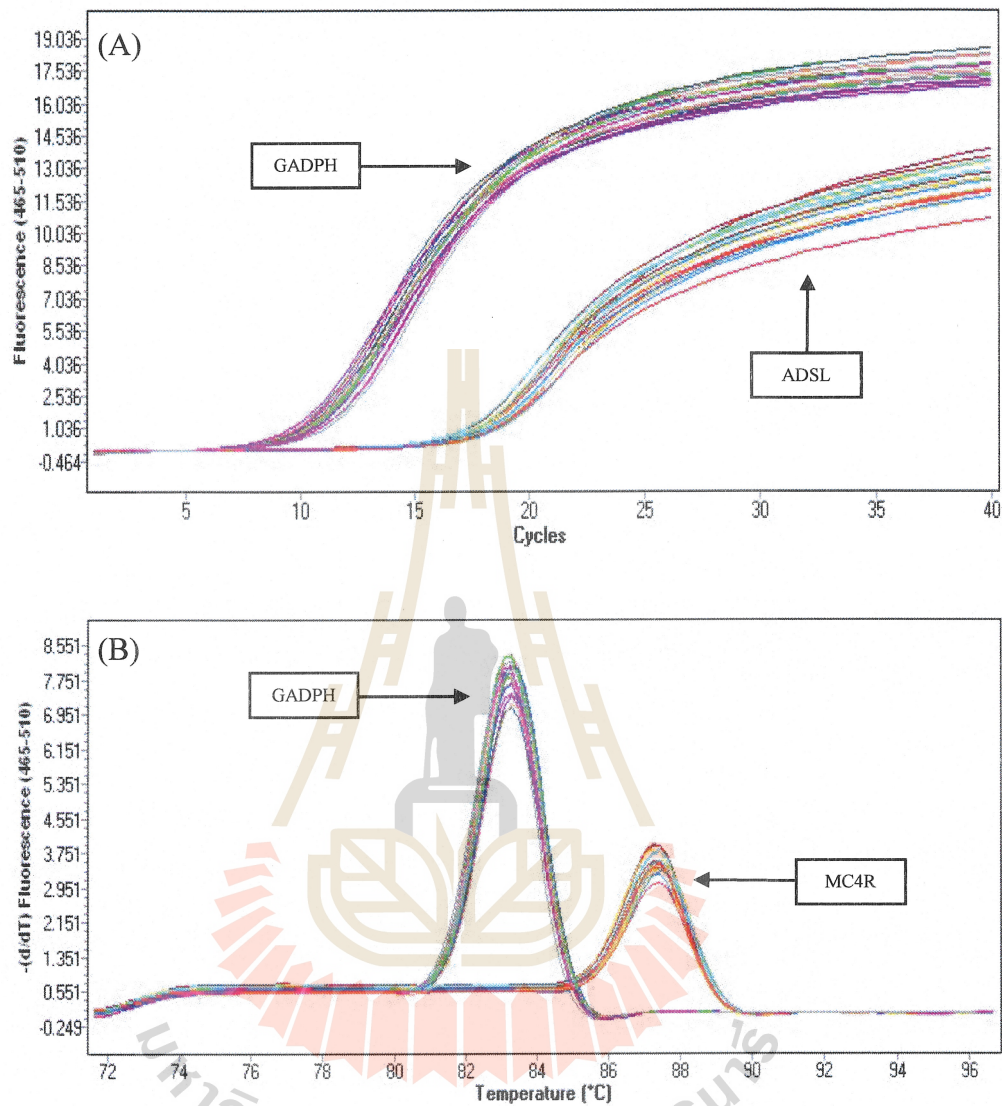
ภาพประกอบการศึกษาเพื่อดูระดับการแสดงออกของยีน *mc4r*



ภาพที่ 4.4 Amplification Curve กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Fluorescence กับ Cycles (A) Melting Curve กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Fluorescence กับ อุณหภูมิ (B) โดยใช้ SYBR green (Applied Biosystems, Foster City, U.S.A) ด้วยเครื่อง Real - time PCR ของ ยีน *mc4r*

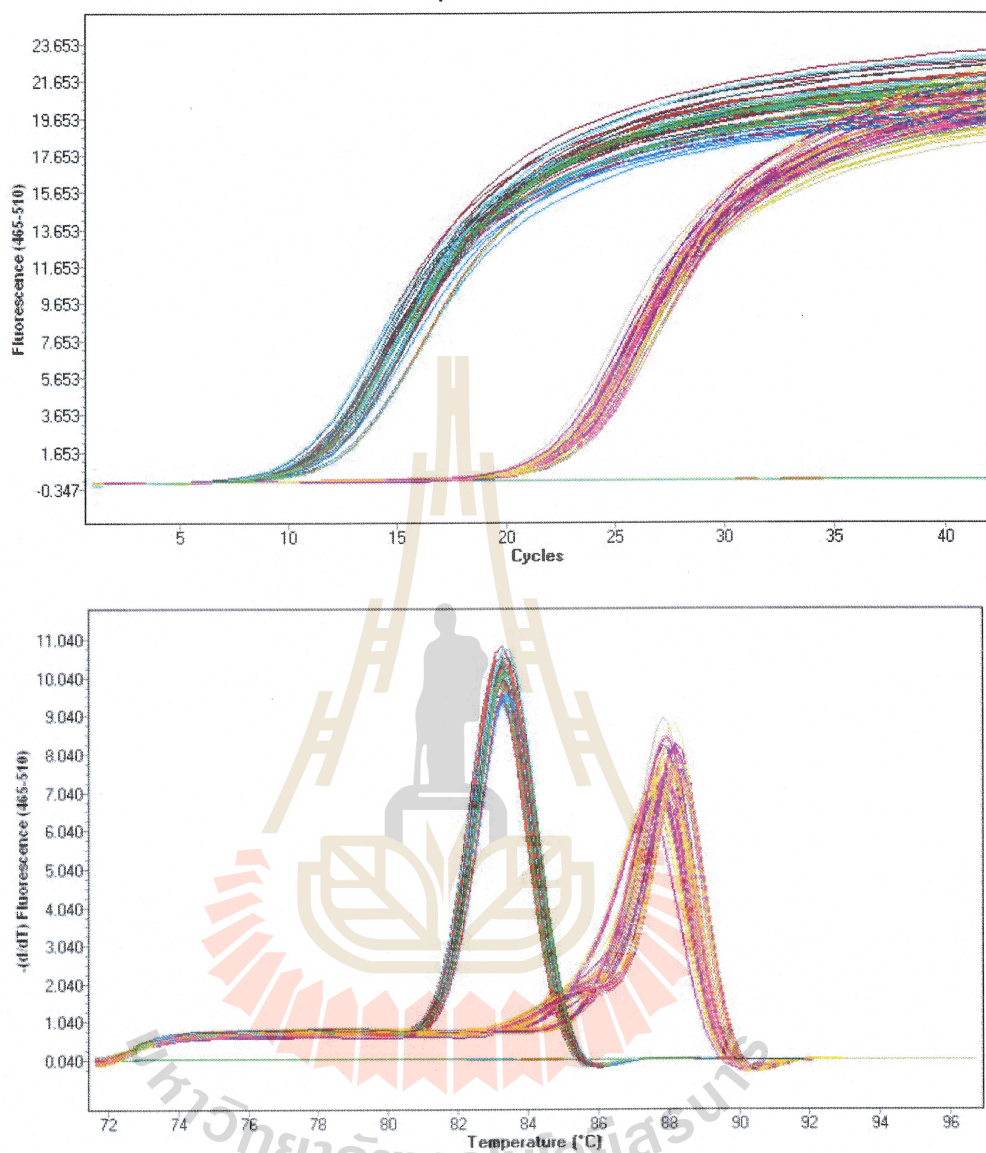


ภาพประกอบการศึกษาเพื่อดูระดับการแสดงออกของยีน *adsl*



ภาพที่ ๕.5 Amplification Curve กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Fluorescence กับ Cycles (A) Melting Curve กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Fluorescence กับ อุณหภูมิ (B) โดยใช้ SYBR green (Applied Biosystems, Foster City, U.S.A) ด้วยเครื่อง Real - time PCR ของ ยีน *adsl*

ภาพประกอบการศึกษาเพื่อระดับการแสดงออกของยีน *capn1*



ภาพที่ ก.6 Amplification Curve กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Fluorescence กับ Cycles (A) Melting Curve กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Fluorescence กับ อุณหภูมิ (B) โดยใช้ SYBR green (Applied Biosystems, Foster City, U.S.A) ด้วยเครื่อง Real - time PCR ของ ยีน *capn1*

## ประวัติผู้เขียน

นางสาวอชิรญาณ์ วันดี เกิดเมื่อวันที่ 12 กันยายน พ.ศ. 2534 ที่จังหวัดนครราชสีมา เข้าศึกษาชั้นอนุบาลและชั้นประถมศึกษาที่โรงเรียนพิทักษ์ภูเบนทร์ อ.โนนสูง จังหวัดนครราชสีมา จนถึงชั้นประถมศึกษาที่ 6 จากนั้นเข้าศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายที่โรงเรียนราชสีมาวิทยาลัย 2 อ.เมือง จังหวัดนครราชสีมา และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2552 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมาในปี พ.ศ. 2556 และเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในปีการศึกษา 2557



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี