ชนัดดา สุวรรณวิชนีย์: โปรติโอมิกส์โปรไฟล์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารคาร์โนซีนและอนุพันธ์ของสารคาร์โนซีนในไก่โคราช (PROTEOMIC PROFILE INVOLVED WITH CARNOSINE AND CARNOSINE DERIVATIVE SYNTHESIS OF KORAT CHICKEN) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. อมรรัตน์ โมพี, 96 หน้า.

คำสำคัญ: คาร์โนซีน/β-Alanine/L-Histidine/molecular pathway/โปรติโอมิกส์โปรไฟล์/ไก่กลุ่มโตช้า

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือ ศึกษากลไกทั้งหมดที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์คาร์โนซีนและผลที่เกิดขึ้นจากการสังเคราะห์คาร์โนซีนในไก่โคราช (KRC) โดยการใช้โปรติโอมิกส์เทคนิค ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้กระตุ้นการสังเคราะห์คาร์โนซีนในเนื้อไก่ด้วยการเสริมกรดอะมิโนที่เป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์คาร์โนซีนในอาหารเพื่อให้เนื้อไก่มีการสังเคราะห์คาร์โนซีนที่แตกต่างกัน โดยสุ่มไก่โคราชเพศเมียอายุ 3 สัปดาห์ จำนวน 400 ตัว แบ่งเป็น 4 กลุ่มปัจจัยทดลอง (กลุ่มละ 5 ซ้ำ/ซ้ำละ 20 ตัว) ได้แก่กลุ่มควบคุม, กลุ่มที่เสริม 0.5% L-histidine, 1% β-alanine และ 0.5% L-histidine+ 1% β-alanine ทำการเก็บข้อมูลประสิทธิภาพการเจริญเติบโตที่ช่วงอายุ 3-6 สัปดาห์ และ 6-10 สัปดาห์ เมื่อไก่อายุ 10 สัปดาห์ ไก่โคราช 5 ตัวต่อซ้ำ ถูกฆ่า และเก็บเนื้ออกเพื่อทำการวิเคราะห์ลักษณะคุณภาพเนื้อ ในขณะเดียวกันไก่โคราช 2 ตัวต่อซ้ำ ถูกฆ่า และเก็บเนื้ออกเพื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โนซีน, แอนเซอรีน, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อ และโปรติโอมิกส์โปรไฟล์

ผลการศึกษาพบว่าไก่โคราชสามารถสังเคราะห์สารคาร์โนซีนเพิ่มขึ้นได้ เมื่อถูกกระตุ้นด้วยกรดอะมิโนที่เป็นสารตั้งต้น และเพิ่มได้สูงที่สุดในกลุ่มที่เสริมด้วย L-histidine และ β-alanine ร่วมกัน ($P<0.05$) แต่ไม่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณแอนเซอรีน ($P>0.05$) นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของคาร์โนซีนไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ($P>0.05$) ในขณะที่การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis) แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของคาร์โนซีนมีความสัมพันธ์กับการชะลอการลดลงของ pH_{45} นาที, การเพิ่มขึ้นของ α-helix และการลดลงของ drip loss, cooking loss, shear force, TBARS และ β-sheet แต่อย่างไรก็ตามการเสริมกรดอะมิโนตัวใดตัวหนึ่งอาจส่งผลกระทบเชิงลบต่อลักษณะเนื้อสัตว์ เนื่องจากมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของ β-sheets, β-turns, และ aliphatic bending groups และการลดลงของ α-helix

ในการศึกษาโปรติโอมิกส์โปรไฟล์ตัวอย่างเนื้อไก่ในกลุ่มการทดลองที่เสริมด้วย β-alanine+L-histidine ถูกเลือกเพื่อเป็นตัวแทนของกลุ่มคาร์โนซีนสูงเปรียบเทียบกับเนื้อไก่จากกลุ่มควบคุมที่เป็นตัวแทนของกลุ่มคาร์โนซีนต่ำ ผลการศึกษาพบว่าในจำนวน 152 โปรตีนที่ระบุอยู่ใน common protein มี 6 โปรตีน ได้แก่โปรตีน HSPA8, MYOM2, FABP3, LUM, H4-VIII และ HSPA2 ที่มีการแสดงออกสูงในกลุ่ม high carnosine (HC) และ โปรตีน 2 ชนิด ได้แก่ โปรตีน Titin isoform Ch12

และ Connectin ที่แสดงออกสูงในกลุ่ม Low carnosine (LC) ($P<0.05$) จากการวิเคราะห์ function enrichment, Kyoto Encyclopedia of Genes และ Genomes pathway และ protein–protein network พบว่า HSPA2, HSPA8, PDIA6 และ ERP29 ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ Protein processing ใน endoplasmic reticulum pathway มีความสัมพันธ์กับการสังเคราะห์คาร์โนซีนใน Pectoralis major muscle ของไก่โคราช นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของคาร์โนซีนมีความสัมพันธ์กับการกระตุ้นการแสดงออกของโปรตีน Titin isoform Ch12 (TTN), Connectin, และ M-protein (MYOM2) เพื่อควบคุมสมดุลภายในเซลล์ และความเครียดในระหว่างกระบวนการหดตัวของกล้ามเนื้อ รวมถึงกล้ามเนื้อหัวใจ นำไปสู่การปรับปรุงการทำงานของกล้ามเนื้อและสุขภาพของสัตว์ ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้จากการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) พบว่าคาร์โนซีนมีความสัมพันธ์ในทิศทางบวกกับ Lumican, Fatty acid binding protein 3, HSPA8, HSPA2, MYOM2, β-turn, α-helix, และ pH45 min, และมีความสัมพันธ์เชิงลบกับ TTN, Connectin, β-sheet, drip loss, cooking loss, shear force, และ TBARS

ผลการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่าการสังเคราะห์คาร์โนซีนที่สูงขึ้นอาจเกิดขึ้นเมื่อเซลล์ต้องการที่จะคืนสภาพเข้าสู่สภาวะสมดุล ซึ่งส่งผลให้การทำงานของกล้ามเนื้อดีขึ้น นำไปสู่การไม่มีผลเสียต่อสุขภาพหรือลักษณะของเนื้อสัตว์ ดังนั้น การค้นพบนี้จึงสร้างความมั่นใจในการก้าวไปสู่การปรับปรุงพันธุกรรมเพื่อเพิ่มความสามารถในการสังเคราะห์คาร์โนซีนโดยไม่ส่งผลเสียต่อการทำงานระดับโมเลกุลในไก่

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์
ปีการศึกษา 2565

ลายมือชื่อนักศึกษา ชนิดดา สุวรรณวิชชุนี่ย์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

CHANADDA SUWANVICHANEE : PROTEOMIC PROFILE INVOLVED WITH CARNOSINE AND CARNOSINE DERIVATIVE SYNTHESIS OF KORAT CHICKEN. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. AMONRAT MOLEE, Ph. D., 96 PP.

Keyword: CARNOSINE/β-ALANINE/L-HISTIDINE/MOLECULAR PATHWAY/PROTEOMIC APPROACH/SLOW-GROWING CHICKEN

The objective of this study was to study the global mechanism and consequently related to carnosine synthesis using a proteomic approach in Korat chickens (KRCs). Thus, in this study, amino acids which are substrates of carnosine synthesis were used to activate different carnosine syntheses in the chicken meat. The 3-week-old female KRC were used in this study, and they were randomly allocated to 4 different diets: control (5 replicates per group/20 chickens per replicate), dietary supplementations 0.5% L-histidine, 1% β-alanine and 0.5% L-histidine+1% β-alanine. Each treatment included 5 replicates of 20 chicken per pen. The growth performances were measured at 3-6 weeks and 6-10 weeks of ages. At the 10 weeks of age, 5 chickens per replicate were slaughtered and breast meat were collected to measure meat quality. At the same time, 2 chickens per replicate were slaughtered and breast meat were collected to measure carnosine content, anserine content, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), biochemichal compound and proteomic profile.

The results showed that KRCs chickens synthesized more carnosine when they were supplemented with the substrates of carnosine synthesis and the highest carnosine content existed in the group which were supplemented with L-histidine and β-alanine together ($P<0.05$), but these did not have any effect on anserine synthesis ($P>0.05$). Moreover, an increase of carnosine showed no significant difference in growth performance ($P>0.05$). Principal component analysis (PCA) analysis revealed that the increase of carnosine was related to a gradual decline in $pH_{45\ min}$ with an increase in α-helix and decreasing drip loss, cooking loss, shear force, TBARS, and β-sheet. However, supplementation with only β-alanine or L-histidine was related to increased content of β-sheets, β-turns, and aliphatic bending groups

and decreased content of α-helix groups, which may negatively affect meat charesterictics.

Regarding the study of proteomics profiles, the meat in the group which was supplemented with β-alanine+L-histidine was selected to represent the high-carnosine content group compared with a control group that represented the low-carnosine content group. The result found that among 152 proteins listed in the common proteins, 6 proteins namely HSPA8, MYOM2, FABP3, LUM, H4-VIII, and HSPA2, were highly expressed in the high carnosine group (HC) and 2 proteins namely titin isoform Ch12 and connectin, were highly expressed in low carnosine (LC) group ($P<0.05$). From function enrichment, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway and protein–protein network analyses found that HSPA2, HSPA8, PDIA6, and ERP29 which was enriched in protein processing in the endoplasmic reticulum pathway are associated with carnosine synthesis in Pectoralis major muscle of the slow-growing KRC. Moreover, carnosine is mainly involved in stimulating Titin isoform Ch12 (TTN), Connectin, and M-protein (MYOM2) expressions for maintaing homeostasis and to regulate stress in skeletal and cardiac muscle cells that finally resulted in the desired meat characteristics and health. This result is consistent with the PCA result which found that carnosine content was positively loading correlated with LUM, FABP3, HSPA8, HSPA2, MYOM2, β-turn, α-helix, and $pH_{45\ min}$, and negative loading correlation with TTN, Connectin, β-sheet, drip loss, cooking loss, shear force, and TBARS.

From this study it can be concluded that higher carnosine synthesis may occur when cells need to recover homeostasis, leading to improved muscle function with no adverse effects on health or meat characteristics. Thus, these findings provide the confidence to step forward for genetic improvement to enhance the ability of carnosine synthesis without adverse impact on the molecular function in chickens.

School of Animal Technology and Innovation Student's Signature Chamadda Suwanvichanee
Academic Year 2022 Advisor's Signature
Co-advisor's Signature