

กษรรัตน์ พรหมคุณ : ทรานสคริปโตมิกส์และเมตาโบโลมิกส์โปรไฟล์ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการสังเคราะห์คาร์โนซีนในไก่โคราช (TRANSCRIPTOMIC AND METABOLOMIC PROFILE INVOLVED WITH MECHANISM OF CARNOSINE SYNTHESIS IN KORAT CHICKEN)
อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. อมรรรัตน์ โมฬี, 100 หน้า.

คำสำคัญ: คาร์โนซีน/ β -Alanine/L-Histidine/ทรานสคริปโตมิกส์/เมตาโบโลมิกส์/ลำไส้ส่วน
เจริญนม/ไก่อกลุ่มโตช้า

ไก่โคราช (KR) ได้รับการพัฒนาเพื่อเป็นทางเลือกสำหรับเกษตรกรรายย่อยในประเทศไทย การเสริมคาร์โนซีนในเนื้อทำให้สามารถแยกไก่โคราชออกจากไก่สายพันธุ์อื่นๆ การสังเคราะห์คาร์โนซีนในไก่สามารถปรับปรุงได้โดยกรดอะมิโนที่เป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์คาร์โนซีน แต่อย่างไรก็ตามยีนและกลไกทางชีวภาพของการดูดซึมและการขนส่งคาร์โนซีนในไก่โตช้ายังมีการศึกษาเพียงเล็กน้อย ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบผลของการสังเคราะห์คาร์โนซีนโดยได้จากการเสริมสารตั้งต้นของ β -alanine และ L-histidine ต่อการเปลี่ยนแปลงของทรานสคริปโตมิกส์โปรไฟล์ และความสัมพันธ์ระหว่างเมตาโบโลมิกส์โปรไฟล์และสารประกอบทางชีวเคมีในเนื้อเยื่อส่วนเจริญนมของไก่โคราช ไก่โคราชตัวเมีย 400 ตัว อายุ 21 วัน ถูกแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มการทดลอง (กลุ่มละ 5 ซ้ำ/ซ้ำละ 20 ตัว ได้แก่ กลุ่มควบคุม (A) กลุ่มที่เสริมด้วย 1.0% β -alanine (B), 0.5% L-histidine (C) และกลุ่มที่เสริมร่วมกันของ 1.0% β -alanine + 0.5% L-histidine (D) เมื่อไก่อายุ 70 วัน ไก่จะถูกคัดเลือกแบบสุ่มจำนวน 10 ตัวจากแต่ละกลุ่มจะถูกฆ่า และเก็บเนื้อเยื่อลำไส้ส่วนเจริญนม

เมตาโบโลมิกส์โปรไฟล์จากการสกัดลำไส้เล็กเจริญนมถูกวิเคราะห์โดยใช้ ^1H นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) มีการระบุสารเมตาบอไลต์ทั้งหมด 28 ชนิด โดยตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของสารเหล่านี้ระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ Partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) สามารถจำแนกสารเมตาบอไลต์ระหว่างกลุ่มทดลองได้ จากสารเมตาบอไลต์พบ metabolic pathways ที่เป็นไปได้ 34 pathways ที่แสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่ม และ 8 pathways (โดยมีค่า impact value สูงกว่า 0.05, $P < 0.05$ และ FDR < 0.05) ที่เป็นผลจากปริมาณสารเมตาบอไลต์ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี โดยใช้ synchrotron radiation-based Fourier transform infrared (SR-FTIR) microspectroscopy การเสริม β -alanine เพียงอย่างเดียวในอาหารเพิ่ม β -sheets และลดปริมาณ α -helix และการเสริม L-histidine เพียงอย่างเดียวในอาหารก็เพิ่ม β -sheets เช่นกัน นอกจากนี้ ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเมตาบอไลต์และสารประกอบทางชีวเคมีได้รับการยืนยันโดยใช้การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) ผลลัพธ์จาก PCA ระบุว่ากลุ่ม D มีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมากกับ amide I, amide II, creatine, tyrosine, valine, isoleucine, และ aspartate การค้นพบนี้สามารถช่วยให้เข้าใจความสัมพันธ์และ

รูปแบบระหว่างกระบวนการทางสเปกตรัมและกระบวนการเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต

ในการศึกษาทรานสคริปโตมิกส์โปรไฟล์ เนื่องจากเนื้อในกลุ่มที่ได้รับการเสริมด้วยสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตทั้งสองชนิดจัดเป็นตัวแทนของไก่อกลุ่มที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เป็นตัวแทนของไก่อกลุ่มคาร์โบไฮเดรตต่ำ โดยตัวอย่างลำไส้เล็กทั้งหมดของไก่โคราช จากกลุ่มควบคุม 5 ตัวและ 5 ตัวได้รับอาหารเสริมด้วยกลุ่ม 1.0% β -alanine + 0.5% L-histidine ผลการวิจัยพบว่า มีการระบุยีนที่แสดงออกแตกต่างกันทั้งหมด 407 ยีน ($P < 0.05$, \log_2 fold change ≥ 2) โดยยีน 272 ยีนมีการแสดงออกต่ำ และยีน 135 ยีนมีการแสดงออกสูง ในกลุ่มที่เสริมสารตั้งต้นของการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม การวิเคราะห์ Gene Ontology (GO) แสดงให้เห็นว่ามีการระบุ GO ทั้งหมด 87 GO terms ในลำไส้เล็กส่วนเจจุน้ำ ($P < 0.05$) การวิเคราะห์ Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) แสดงให้เห็นว่าวิถีทาง KEGG 6 เส้นทางที่มีความสำคัญ ($P < 0.05$) ได้แก่ Neuroactive ligand-receptor interaction, PPAR signaling pathway, Linoleic acid metabolism, MAPK signaling pathway, Calcium signaling pathway และ Arachidonic acid metabolism การวิเคราะห์ลำไส้เล็กส่วนเจจุน้ำผ่านการวิเคราะห์ protein-protein interaction network โดยใช้ STRING database ระบุยีน 6 ยีน ได้แก่ *KCND3*, *OPRM1*, *CCK*, *GCG*, *TRH* และ *GABBR2* ที่ใช้การตรวจสอบรูปแบบการแสดงออกของยีน ผลลัพธ์เหล่านี้ช่วยให้เข้าใจความสัมพันธ์และรูปแบบระหว่างสเปกตรัมและกระบวนการเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตได้ดีขึ้น และเผยให้เห็นเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับอำนวยความสะดวกในการพัฒนาโปรแกรมการคัดเลือกเพื่อปรับปรุงการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตในไก่ที่โตช้า

สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์
ปีการศึกษา 2566

ลายมือชื่อนักศึกษา Kasrut B.
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา A
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม Masan Ossana

KASARAT PROMKHUN : TRANSCRIPTOMIC AND METABOLOMIC PROFILE
INVOLVED WITH MECHANISM OF CARNOSINE SYNTHESIS IN KORAT CHICKEN :
ASSOC. PROF. AMONRAT MOLEE, Ph. D., 100 PP.

Keyword: CARNOSINE/ β -ALANINE/L-HISTIDINE/ TRANSCRIPTOMIC/METABOLOMIC/
JEJUNUM TISSUE/SLOW-GROWING CHICKEN

The Korat chicken (KR) has been developed to provide an alternative breed for smallholder farmers in Thailand. The enrichment of carnosine in meat can distinguish KR from other chicken breeds. Carnosine synthesis in chicken can be improved by amino acids which are substrates of carnosine synthesis. However, there are few studies of the genes and biological pathways of carnosine absorption and transportation in slow-growing chickens. Therefore, this study aimed to investigate the effect of enriched carnosine synthesis, obtained by the β -alanine and L-histidine precursor supplementation, on changes in transcriptomic profiles, and the correlation between metabolomic profiles and biochemical compounds in KR jejunum tissue. Four hundred 21-day-old female KR chickens were divided into 4 experimental groups (5 replicates per group/20 chickens per replicate): a control group (A), dietary supplementation with 1.0% β -alanine (B), 0.5% L-histidine (C), and a mix of 1.0% β -alanine and 0.5% L-histidine (D) group. At 70 days, ten randomly selected chickens from each group were slaughtered and whole jejunum tissues were collected.

The metabolomic profiles of jejunum extraction were analyzed using ^1H nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. In total, 28 metabolites were identified. Significant changes in the concentrations of these metabolites were detected between the groups. Partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) was able to distinguish the metabolites between the experimental groups. Based on the metabolites, 34 potential metabolic pathways showed differentiation between groups and eight pathways (with impact value higher than 0.05, $P < 0.05$, and FDR < 0.05) were affected by metabolite content. Moreover, biochemical changes were monitored using synchrotron radiation-based Fourier transform infrared (SR-FTIR) micro spectroscopy. Supplementation of β -alanine alone in the diet increased β -sheets and decreased α -

helix content and supplementation of L-histidine alone in the diet increased β -sheets as well. Furthermore, the relationship between metabolite contents and biochemical compounds were confirmed using principal component analysis (PCA). Results from PCA indicated that group D was highly positively correlated to amide I, amide II, creatine, tyrosine, valine, isoleucine, and aspartate. These findings can help to understand relationships and patterns between the spectral and metabolic processes related to carnosine synthesis.

Regarding the study of transcriptomic profiles, Owing to the meat in the group that was supplemented with both carnosine synthesis precursors was selected to represent the high-carnosine content group compared with a control group that represented the low-carnosine content group. Whole jejunum samples of KR chicken from 5 control and 5 were fed diet supplemented with 1% β -alanine and 0.5% L-histidine group. The result found that A total of 407 differentially expressed genes ($P < 0.05$, \log_2 fold change ≥ 2) were identified, 272 that were down-regulated and 135 that were up-regulated in supplementation of carnosine synthesis precursors, as compared with a control group. The Gene Ontology (GO) analysis showed that a total of 87 GO terms were identified in the jejunum ($P < 0.05$). According to the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis, 6 pathways were significantly different ($P < 0.05$), Neuroactive ligand-receptor interaction, PPAR signaling pathway, Linoleic acid metabolism, MAPK signaling pathway, Calcium signaling pathway and Arachidonic acid metabolism. The protein-protein interaction network was analyzed using STRING database. The six genes related to Neuroactive ligand-receptor interaction pathway including *KCND3*, *OPRM1*, *CCK*, *GCG*, *TRH*, and *GABBR2* were performed in the gene expression pattern. These results contribute to a better understanding of relationships and patterns between the spectral and metabolic processes related to carnosine synthesis and reveal the molecular marker for facilitating the development of selection programs for improving carnosine synthesis in slow-growing chickens.

School of Animal Technology and Innovation
Academic Year 2023

Student's Signature

Kasorn P.

Advisor's Signature

A.

Co-advisor's Signature

Dr. N. N. N. N.