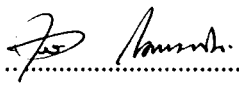
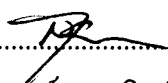
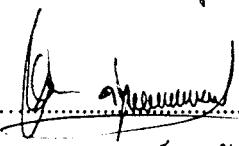


ชื่อวิทยานิพนธ์ การปรับใช้เทคนิคการเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอในหลอดแก้วเพื่อตรวจหาพาหะ
ของโรค Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency (BLAD) ในโคนมพันธุ์
โฮลสไตน์ฟรีเซียน

ชื่อผู้ทำวิทยานิพนธ์ นายอุทัย โศครค
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

 ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุกร กตเวทิน)

 กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุจินต์ สิมารักษ์)

 กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัลลา คิรุพงษ์พิชญ์)

บทคัดย่อ

การตรวจโรค BLAD ในโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซียนโดยเทคนิค PCR ซึ่งใช้สายนิวคลีโอไทด์เริ่มต้น PC 01 (3'- TCCGGAGGGCCAAGGGCTA - 5') และ PC 02 (5'- GAGTAGGAGAGTCCATCAGGTAGTACAGG-3') เป็นตัวกำหนดช่วงความยาวของ DNA เป้าหมายขนาด 58 bp ผลการศึกษาเปรียบเทียบปัจจัยต่าง ๆ ที่เหมาะสมที่ใช้ในเทคนิค PCR พบว่า ในสารละลายทั้งหมด 50 ไมโครลิตร ต้องใช้ $MgCl_2$ ความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมล dNTPs ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมล สายนิวคลีโอไทด์เริ่มต้นประกอบด้วย PC 01 และ PC 02 อย่างละ 12 พิโคโมล เอนไซม์ *Taq* DNA polymerase 3 ยูนิต DNA คั้นแบบ 150 นาโนกรัม การเพิ่มปริมาณกระทำภายใต้เงื่อนไข denaturation ที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วินาที annealing ที่ 69 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที การเพิ่มปริมาณใช้จำนวน 40 รอบ ปัจจัยที่เหมาะสมจากการศึกษาถูกนำมาใช้เพิ่มปริมาณ DNA เป้าหมายขนาด 58 bp จาก DNA คั้นแบบที่ได้จากโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซียนจำนวน 100 ตัว พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณ DNA เป้าหมายขนาด 58 bp จาก DNA คั้นแบบของโคทั้ง 100 ตัว ผลการตัดชิ้น DNA ขนาด 58 bp ที่เพิ่มปริมาณได้ของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซียนจำนวน 100 ตัว ภายหลังทำความสะอาดชิ้น DNA เป้าหมายขนาด 58 bp ด้วย phenol:chloroform:isoamyl alcohol

(25:24:1) ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Taq* I ปริมาณ 5 ยูนิต พบว่า โคทั้ง 100 ตัว ให้จีน DNA ที่ถูกตัด 2 จีนที่มีความยาว 32 และ 26 bp ซึ่งให้เห็นว่าไม่มีการกลายพันธุ์ของลำดับนิวคลีโอไทด์บนยีนที่ควบคุมการสร้างไกลโคโปรตีนบนผิวเซลล์เม็ดเลือดขาวของโคที่สุ่มตรวจ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสามารถใช้เทคนิคการเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอในหลอดแก้วที่ปรับปรุงยี่ห้อที่เหมาะสมแล้วตรวจหาพาหะของโรค BLAD ในโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนได้ และในการตรวจโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนจำนวน 100 ตัว ไม่พบโคที่เป็นพาหะของโรค BLAD