

โรคเต้านมอักเสบในโคนมก่อให้เกิดผลเสียกับอุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนมเป็นอย่างมาก ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาและศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับใช้บ่งชี้โรคเต้านมอักเสบในโคนม โดยอาศัยเทคนิค Amplified fragment length polymorphism (AFLP) โดยใช้คู่ไพรเมอร์ของเอนไซม์ตัดจำเพาะ *EcoRI* และ *TaqI* พบแถบ DNA ที่แตกต่างกันระหว่างโคนมกลุ่มที่เคยเป็นโรคร่วมไม่เคยเป็นโรค จำนวน 12 แถบ นำแถบ DNA ไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ ลำดับเบสที่ได้ถูกนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลจีโนมของโคใน GenBank ด้วยโปรแกรม BLAST พบแถบ DNA จำนวน 3 ชิ้นส่วน ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับยีนที่เคยมีรายงานเกี่ยวกับเซลล์มะเร็งเต้านมและระบบภูมิคุ้มกัน คือ แถบ DNA A3 A7 และ A8 โดยแถบ DNA A3 และ A8 มีความเหมือนกับยีน PDZ domain containing 1 (PDZK1) และยังพบว่า แถบ DNA A3 และ A8 เกิด complementary ซึ่งกันและกัน และแถบ DNA A7 มีความเหมือนกับยีน Sodium channel protein type 8 subunit alpha (SCN8A) โดยยีนทั้งสองนั้นเคยมีรายงานว่า เป็นยีนที่มีการแสดงออกที่มากเกินไปในเซลล์มะเร็งเต้านมและมีความเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย นอกจากนี้ยังพบ Single nucleotide polymorphism (SNP) บนแถบ DNA A3, A8 และ A7 ทั้งหมดจำนวน 4 ตำแหน่ง คือ ยีน PDZK1 จำนวน 2 ตำแหน่ง (T deletion และ G>T) และยีน SCN8A จำนวน 2 ตำแหน่ง (SCN8A-10 และ SCN8A-54) (C>T) SNP ทั้งหมดถูกศึกษา genotype ด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) และ allele specific primer amplification (ASPA) พบว่า SNP (T deletion) ให้รูปแบบ genotype เพียงชนิดเดียว คือ T/- ส่วน SNP อื่นๆ ให้รูปแบบ genotype 3 รูปแบบ (GG/CC, GT/CT และ TT) ข้อมูล genotype ที่ได้ถูกนำไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลกับการเป็นโรคเต้านมอักเสบและค่า Somatic cell count (SCC) ด้วยโปรแกรม Chi-square (χ^2) และ General linear model (GLM) พบว่า SNP SCN8A-54 มีความสัมพันธ์กับการเป็นโรคเต้านมอักเสบอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ความเชื่อมั่น 99% และการเป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ความเชื่อมั่น 99%

Mastitis affects economic losses for dairy cow production. Thus, the objective of this research is finding molecular marker which associated with disease and non-disease cow for mastitis in Chiang Mai and Lumphun by Amplified fragment length polymorphism (AFLP) for utilizing in dairy cow breeding. *EcoRI* and *TaqI* were used to generate molecular markers in AFLP which showed different 12 DNA fragments between cow with and without mastitis groups. All different fragments were isolated, re-amplified, cloned and sequenced. Among these sequences, three DNA sequences (A3, A7 and A8) showed a similarity with previously described genes: PDZ domain containing 1 (PDZK1) and Sodium channel protein type 8 subunit alphas (SCN8A). Both genes were reviewed over-expression in breast cancer and associated with immune system, respectively. The 2 sequences (A3 and A8) which homolog with PDZK1 gene complement each other that showed 2 single nucleotide polymorphism (SNP): a point mutation (G>T) and single base deletion (T deletion) which found differentially in each group of mastitis. Besides, DNA fragments homolog with SCN8A (A7) had 2 SNP of point mutation (both C>T: SCN8A-10 and SCN8A-54). Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) and allele specific primer amplification (ASPA) were used for genotyping which showed only one genotype (T/-) in T deletion of PDZK1 and 3 genotypes (GG/CC, GT/CT and TT) in the other SNP. Association analysis between genotypes of each gene and phenotype (disease or nondisease and Somatic cell count (SCC)) was evaluated using Chi-square and General linear model. The results showed that SNP SCN8A-54 associated with mastitis ($p<0.01$) and subclinical mastitis ($p<0.01$).