

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. สรุปผลการทดลอง

การศึกษาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน HSP70-2 ระหว่างโคพื้นเมืองไทย และ โคโฮลสไตน์ฟรีเซียน สามารถสรุปผลการทดลองได้ ดังนี้

1.1 ผลการศึกษารูปแบบ SSCP ของยีน HSP70-2 ระหว่างโคพื้นเมืองไทย และ โคโฮลสไตน์ฟรีเซียน พบรูปแบบ SSCP ทั้งหมด 32 รูปแบบ โดยรูปแบบ SSCP จากไพรเมอร์ มีความจำเพาะในโคแต่ละพันธุ์ และสายพันธุ์โคมีอิทธิพลต่อรูปแบบที่เกิดจากไพรเมอร์ HP1, HP5, HP8, HP9 และ HP10 ครอบคลุมตลอดทั้งยีน ซึ่งเป็นบริเวณที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมกระบวนการแปลรหัสจากลำดับเบสไปเป็นกรดอะมิโนเพื่อผลิตเป็นโปรตีน และควบคุมกระบวนการ post-transcription ซึ่งส่งผลต่อปริมาณการผลิตโปรตีน การคัดลอก mRNA การขดม้วนตัวของโปรตีนในโคสองสายพันธุ์ต่างกัน

1.2 ผลการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ พบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ตลอดทั้งยีนในโคสองสายพันธุ์สอดคล้องกับกลุ่มรูปแบบ SSCP ที่ปรากฏ และพบบริเวณที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างโคพื้นเมืองไทยและโคโฮลสไตน์ฟรีเซียน ได้แก่ ตำแหน่ง 1262 (M เป็น G), 2347 (T เป็น C), 2515 (K เป็น C), 2516 (Y เป็น G) และ 2556 (G เป็น T) ซึ่งเป็นช่วงศึกษาของไพรเมอร์ HP5, HP9 และ HP10 ครอบคลุมบริเวณ coding sequence และ 3' flanking region

1.3 ผลการจำแนกกลุ่มพันธุกรรมรายตัวด้วยข้อมูลจากรูปแบบ SSCP และลำดับนิวคลีโอไทด์ แล้วสร้างแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยการหาระยะห่างทางพันธุกรรมตามวิธี neighbor-joining พบว่าข้อมูลทั้งสองให้ผลที่สอดคล้องกันโดยสามารถจำแนกกลุ่มโคที่ใช้ในการศึกษาออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มชุดข้อมูลที่ได้จากโคพื้นเมืองไทย และกลุ่มชุดข้อมูลที่ได้จากโคโฮลสไตน์ฟรีเซียน ซึ่งจากข้อมูลจากโคทั้งสองกลุ่มสามารถใช้เป็นตัวแทนประชากรโคพื้นเมืองไทยและประชากรโคโฮลสไตน์ฟรีเซียนในประเทศไทยได้ อีกทั้งใช้เป็นตัวแทนในการสร้างแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน HSP70 จากสิ่งมีชีวิตอื่น พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่ใช้ศึกษามีความใกล้ชิดกับกลุ่มยีน HSP70 inducible ในระบบ MHC-linked วงจรชีวิตของเซลล์ และกระบวนการสร้างอสุจิในสิ่งมีชีวิตอื่นๆ

1.4 ผลการศึกษาเอนไซม์ตัดจำเพาะด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ พบว่าเอนไซม์ BfaI สามารถตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ของโคโฮลสไตน์ฟรีเซียนได้ 2 ตำแหน่ง โคพื้นเมืองไทยได้ 1 ตำแหน่ง และเอนไซม์ BcgI สามารถตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ของโคโฮลสไตน์ฟรีเซียนได้ 1 ตำแหน่ง แต่ไม่สามารถตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ในโคพื้นเมืองไทย ทำให้สามารถแยกความแตกต่างของยีน HSP70-2 ระหว่างโคพื้นเมืองไทยกับโคโฮลสไตน์ ฟรีเซียนได้

2. สรุปผลจากการศึกษาวิจัย

จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ทำให้ทราบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน HSP70-2 ในโคพื้นเมืองไทย ภาคอีสานซึ่งสามารถใช้เป็นตัวแทนของโคพื้นเมืองไทย และโคโฮลสไตน์ฟรีเซียนที่สามารถใช้เป็นตัวแทนโคโฮลสไตน์ฟรีเซียนในประเทศไทยได้ โดยพบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ ในยีน HSP70-2 จากบริเวณ 5'flanking region, coding sequence และ 3'flanking region ในโคนั้นเป็น ความหลากหลายที่พบเฉพาะในโคแต่ละตัว แต่อย่างไรก็ตามสามารถพบตำแหน่งเบสที่แยกความแตกต่างของยีน HSP70-2 ระหว่างโคสองสายพันธุ์ คือตำแหน่งที่ 1262, 2347, 2515, 2516 และ 2556 สามารถตัดได้ด้วยเอนไซม์ BfaI ตำแหน่งที่ 2347 และเอนไซม์ BcgI ตัดในบริเวณจำเพาะที่ครอบคลุม ตำแหน่งเบส 2515 และ 2516 ซึ่งจากการศึกษารูปแบบ SSCP ลำดับนิวคลีโอไทด์ และหาเอนไซม์ ตัดจำเพาะเพื่อใช้ออกแบบ marker อาจเป็นแนวทางสำหรับศึกษาความแตกต่างการตอบสนองของยีน HSP70-2 ระหว่างโคพื้นเมืองไทยและโคโฮลสไตน์ฟรีเซียนได้

3. ข้อเสนอแนะ

3.1 การทำ SSCP อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ผลของ SSCP มีการเปลี่ยนแปลงไม่ว่าจะเป็นอุณหภูมิภายในของเจลและบัฟเฟอร์ขณะทำ electrophoresis ของ SSCP และอุณหภูมิสภาพอากาศขณะทำการปฏิบัติการในขณะนั้น ดังนั้นจึงควรควบคุมอุณหภูมิขณะทำให้สม่ำเสมอตลอด การทดลอง อีกทั้งควรศึกษาวิธีการและปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลต่อรูปแบบ SSCP เพิ่มเติม เช่น การเติม สารกลุ่ม additive ความเข้มข้น ของเจล ระยะเวลาที่ใช้ในการทำ electrophoresis

3.2 จากการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน HSP70-2 ในโคสองสายพันธุ์ พบว่าลำดับ นิวคลีโอไทด์ในบริเวณ 5'flanking region และ coding sequence มีความหลากหลายระหว่างพันธุ์ ดังนั้นควรมีการศึกษาบริเวณดังกล่าวในระดับ โปรตีนว่าความหลากหลายที่พบส่งผลถึงปริมาณ หรือองค์ประกอบของโปรตีน HSP70ระหว่างโคสองสายพันธุ์ต่างกันอย่างไร

3.3 จากการศึกษากำหนดกลุ่มพันธุกรรมโคที่ศึกษาด้วยข้อมูล SSCP และลำดับ นิวคลีโอไทด์ของยีน HSP70-2 พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มพันธุกรรมระหว่างโคพันธุ์แท้ได้ 2 กลุ่ม



ซึ่งสามารถใช้เป็นตัวแทนประชากรของโคพื้นเมืองไทยภาคอีสานและโคไฮลสไตน์ฟรีเซียนในประเทศไทยได้ แต่ยังคงขาดข้อมูลของโคพื้นเมืองภาคอื่นและโคลูกผสม ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในกลุ่มโคพื้นเมืองไทยภาคอื่น และโคลูกผสมที่ระดับเลือดต่างๆ เพื่อศึกษาและตรวจสอบว่าโคกลุ่มดังกล่าวจะพบรูปแบบ SSCP และมีลำดับนิวคลีโอไทด์ เป็นอย่างไรมีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมของยีน HSP70-2 กับโคกลุ่มใด และสามารถใช้เป็นตัวแทนประชากรโคในประเทศไทยได้หรือไม่

3.4 จากการศึกษาเอนไซม์ตัดจำเพาะด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ เป็นเพียงแนวทางในการนำตำแหน่งที่แตกต่างระหว่าง โคสองสายพันธุ์ไปประยุกต์ใช้ในการคัดเลือกโคทนร้อน ซึ่งการศึกษาครั้งต่อไป ควรมีการทดสอบการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะในห้องปฏิบัติการจริง เพื่อตรวจสอบความแตกต่างของตำแหน่งเบสที่ศึกษา และอาจใช้เป็น marker เพื่อแยกความแตกต่างการตอบสนองของยีน HSP70-2 ระหว่างโคสองสายพันธุ์ได้