

249666

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



249666



การศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบและลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน HSP70-2  
ระหว่างโคพื้นเมืองไทยและโคโฮลสไตน์ฟรีเซียน  
COMPARATIVE STUDY OF HSP70-2 GENE'S PATTERNS AND  
NUCLEOTIDE SEQUENCES BETWEEN THAI NATIVE AND  
HOLSTEIN FRIESIAN CATTLE

นางสาวอุษานีย์ น่วมจิตร

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2533



การศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบและลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน HSP70-2  
ระหว่างโคพื้นเมืองไทยและโคโฮลสไตน์ฟริเซียน  
COMPARATIVE STUDY OF HSP70-2 GENE'S PATTERNS AND  
NUCLEOTIDE SEQUENCES BETWEEN THAI NATIVE AND  
HOLSTEIN FRIESIAN CATTLE



นางสาวจุฬานีย์ น่วมจิตร

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2553

การศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบและลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน HSP70-2  
ระหว่างโคพื้นเมืองไทยและโคโฮลสไตน์ฟรีเชียน

นางสาวจุพานีย์ น่วมจิตร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

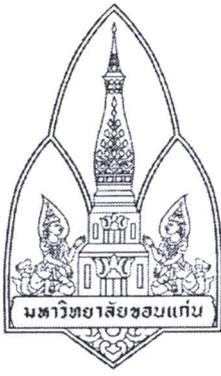
พ.ศ. 2553

**COMPARATIVE STUDY OF HSP70-2 GENE'S PATTERNS AND  
NUCLEOTIDE SEQUENCES BETWEEN THAI NATIVE AND  
HOLSTEIN FRIESIAN CATTLE**

**MISS JULANEE NUAMCHIT**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS  
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN ANIMAL SCIENCE  
GRADUATE SCHOOL KHON KAEN UNIVERSITY**

**2010**



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

หลักสูตร

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ : การศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบและลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน HSP70-2 ระหว่างโคพื้นเมืองไทยและโคโฮลสไตน์ฟรีเซียน

ชื่อผู้ทำวิทยานิพนธ์ : นางสาวจุฬานีย์ น่วมจิตร

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ :  
ดร. สาวิตรี วงศ์ตั้งถิ่นฐาน ประธานกรรมการ  
ดร. อมรรัตน์ โมพี กรรมการ  
ผศ.ดร. ยूपิน ผาสูข กรรมการ  
รศ.ดร. เทวินทร์ วงษ์พระลับ กรรมการ  
ผศ.ดร. สุภร กตเวทิน กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ :

  
.....  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยूपิน ผาสูข) อาจารย์ที่ปรึกษา

  
.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร. เทวินทร์ วงษ์พระลับ) อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

  
.....  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภร กตเวทิน) อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

  
.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ลำปาง แม่นมาตย์)  
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

  
.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร. อนันต์ พลธานี)  
คณบดีคณะเกษตรศาสตร์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยขอนแก่น

จุฬานีย์ น่วมจิตร. 2553. การศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบและลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน HSP70-2 ระหว่างโคพื้นเมืองไทยและโคโฮลสไตน์ฟรีเซียน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.  
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผศ. ดร. ยุพิน ผาสุข, รศ. ดร. เทวินทร์ วงษ์พระลับ,  
ผศ. ดร. สุภร กตเวทิน

### บทคัดย่อ

249666

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบรูปแบบและลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน HSP70-2 ระหว่างโคพื้นเมืองไทย (NT) จำนวน 70 ตัวอย่าง และพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซียน (HF) จำนวน 52 ตัวอย่าง เพิ่มปริมาณยีน HSP70-2 ของตัวอย่าง DNA ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction Single-Strand Conformation Polymorphism (PCR-SSCP) ด้วยไพรเมอร์ที่ออกแบบจำเพาะกับยีน HSP70-2 จำนวน 10 คู่ (HP1-HP10) ครอบคลุมบริเวณต่าง ๆ ของยีนดังนี้ 1) 5' flanking region, 2) coding sequence และ 3) 3' flanking region ผลจาก PCR พบแถบดีเอ็นเอของ HP1-HP10 มีขนาด 517, 230, 247, 271, 253, 646, 260, 271, 290 และ 238 คู่เบส ตามลำดับ นำ PCR product ไปแยกความแตกต่างด้วยวิธี SSCP พบว่าในโคทั้งสองสายพันธุ์มีรูปแบบ SSCP ใน 10 คู่ไพรเมอร์จำนวน 6, 4, 2, 1, 2, 1, 2, 4, 8 และ 2 รูปแบบ ตามลำดับ จากนั้นวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ พบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ตลอดทั้งยีนในโคทั้งสองสายพันธุ์ และพบตำแหน่งที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างโคสองสายพันธุ์รวม 5 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งที่ 1262, 2347, 2515, 2516 และ 2556 เมื่อจำแนกกลุ่มพันธุกรรมระหว่างสัตว์แต่ละตัวด้วยข้อมูลจากรูปแบบ SSCP และลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยการสร้างแผนภาพความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการด้วยวิธี neighbor-joining พบว่าสามารถจำแนกกลุ่มโคออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มชุดข้อมูลที่ได้จาก NT และกลุ่มชุดข้อมูลที่ได้จาก HF ซึ่งบริเวณที่ทำให้แยกความแตกต่างของโคสองสายพันธุ์ด้วยรูปแบบ SSCP ลำดับนิวคลีโอไทด์ และจำแนกกลุ่มพันธุกรรมเกิดจากไพรเมอร์ HP5, HP9 และ HP10 ที่ครอบคลุมบริเวณ coding sequence และ 3' flanking region ซึ่งเป็นบริเวณที่ใช้ในการแปลรหัส DNA เป็นโปรตีนและเกี่ยวข้องกับกระบวนการ post-transcription ของยีน HSP70-2 แตกต่างกัน จึงอาจเป็นปัจจัยที่ทำให้โคสองสายพันธุ์มีการตอบสนองของยีน HSP70-2 ที่ต่างกัน บริเวณไพรเมอร์ HP9 และ HP10 พบความแตกต่างซึ่งสามารถแยกความแตกต่างของสองสายพันธุ์ที่ตำแหน่ง 2347 ด้วยเอนไซม์ BfaI และตำแหน่งที่ 2515 และ 2516 ด้วยเอนไซม์ BcgI ส่วนอีก 2 ตำแหน่งไม่พบตำแหน่งจำเพาะกับเอนไซม์ การศึกษาความแตกต่างของรูปแบบ SSCP ลำดับนิวคลีโอไทด์จากไพรเมอร์ HP5, HP9 และ HP10 และหาเอนไซม์ตัดจำเพาะ อาจเป็นแนวทางสำหรับศึกษาความแตกต่างการตอบสนองของยีน HSP70-2 ระหว่าง NT และ HF ได้

Julanee Nuamchit. 2010. **Comparative Study of HSP70-2 Gene's Patterns and Nucleotide Sequences between Thai Native and Holstein Friesian Cattle.** Master of Science Thesis in Animal Science, Graduate School, Khon Kaen University.

**Thesis advisors :** Asist. Prof. Dr. Yupin Phasuk, Assoc. Prof. Dr. Thevin Vongpralub, Asist. Prof. Dr. Suporn Katawatin

## ABSTRACT

249666

The objective of this study was to compare pattern and nucleotide sequence of heat shock protein 70-2 gene (HSP70-2) between Thai Native (NT) and Holstein Friesian (HF) cattle using Polymerase Chain Reaction Single-Strand Conformation Polymorphism (PCR-SSCP) method. DNA were extracted from 70 and 52 samples of NT and HF, respectively. Ten primers specifically (HP1-HP10) designed to HSP 70-2 include 3 regions : 1) 5' flanking region, 2) coding sequence, and 3) 3' flanking region. The PCR products size were 517, 230, 247, 271, 253, 646, 260, 271, 290 and 238 base pair in both NT and HF. The SSCP of PCR products were then performed to test the polymorphism of the HSP70-2. The results of ten primers were 6, 4, 2, 1, 2, 1, 2, 4, 8 and 2 patterns, respectively in both NT and HF. Sequence analysis had polymorphism in HSP70-2 gene and mutation sequence at 1262, 2347, 2515, 2516 and 2556. BfaI was restriction enzyme had recognize at position 2347 in HP9 and BcgI was restriction enzyme had recognize at position 2515 and 2516 in HP10. The results from cluster analysis and neighbor-join's genetic distance of SSCP patterns and nucleotide sequence data showed that the cattle can be classified into 2 group. Difference species cattle by SSCP pattern and nucleotide sequence in HP5, HP9 primer cover coding sequence and HP10 primer cover 3' flanking region, those affect primers translation protein and post-transcription of HSP70-2 respectively. Therefore, the polymorphisms on HP5, HP9 and HP10 would used association with the expression of HSP70-2 in each cattle species.

งานวิทยานิพนธ์นี้มอบส่วนดีให้แก่บุพการีและคณาจารย์

## กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาในระดับปริญญาโทและวิทยานิพนธ์มหาบัณฑิตในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วย ความกรุณาเป็นอย่างยิ่งของ ผศ.ดร. ชูพิน ผาสุข อาจารย์ที่ปรึกษาหลักวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ความกรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ ช่วยเหลือ สนับสนุน ดูแลเอาใจใส่ในการทำงานวิจัยและการดำเนินชีวิต รวมทั้งเป็นผู้ประสิทธิ์ประสาทวิชาด้านเทคโนโลยีชีวภาพ สรีรวิทยาและวิชาการแขนงอื่นๆ ให้แก่ข้าพเจ้าด้วยความรัก และเอาใจใส่ ทำให้ข้าพเจ้ารู้สึกภูมิใจที่ได้เป็นนักศึกษาภายใต้การดูแลของอาจารย์ และภูมิใจที่ได้ศึกษาเล่าเรียน ณ มหาวิทยาลัยขอนแก่นแห่งนี้ ข้าพเจ้าใคร่ขอขอบพระคุณอาจารย์ ณ โอกาสนี้ด้วยความเคารพและนับถือตลอดไป

ใคร่ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. เทวินทร์ วงษ์พระลับ และ ผศ.ดร.สุภร กตเวทิน อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ให้ความเมตตากรุณา คำปรึกษา ฝึกทักษะการทำงานอันเป็นประโยชน์แก่งานวิจัยและตัวข้าพเจ้าเอง ขอขอบพระคุณ อ.ดร.สาวิตรี วงศ์ตั้งถิ่นฐาน ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อ.ดร. อมรรัตน์ โมฬี กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ที่กรุณาให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ตลอดจนช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกๆ ท่าน เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่ประจำหมวดต่างๆ รวมทั้งภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ให้ความช่วยเหลือ สนับสนุนด้านสัตว์ทดลอง สถานที่ และวัสดุอุปกรณ์ในการทดลองระหว่างที่ทำการศึกษาวิจัย ตลอดจนเพื่อน พี่น้อง ชาวสัตวศาสตร์ทุกๆ ท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือและกำลังใจแก่ข้าพเจ้าด้วยดีเสมอมา

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.มนต์ชัย ดวงจินดา ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเลือด และ DNA โคพันธุโซลสไตน์ฟรีเซียน และคุณนันทมน ตั้งจิตวัฒนาชัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างชิ้นเนื้อ โคพันธุพื้นเมืองไทย

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่ง จากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพ เกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สบว.) สำนักคณะกรรมการอุดมศึกษา กระทรวง ศึกษาธิการและศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สุดท้ายนี้ขอโน้มระลึกถึงพระคุณ คุณพ่อชานี คุณแม่สุรณี น่วมจิตร ครอบครัวน่วมจิตร ครอบครัวยุทธพร อารักษ์ ผู้มีพระคุณ มิตรสหาย ตลอดจนกัลยาณมิตรของข้าพเจ้าทุกท่าน ที่ให้การช่วยเหลือ กำลังใจ และสนับสนุนข้าพเจ้าในทุกๆ ด้าน จนประสบความสำเร็จในสิ่งที่ตั้งใจตั้งแต่วันนี้

จุฬานิชย์ น่วมจิตร

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
คำอุทิศ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฅ
บทที่ 1 บทนำ	1
1. ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
2. วัตถุประสงค์การวิจัย	3
3. ขอบเขตของงานวิจัย	3
4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 เอกสารที่เกี่ยวข้อง	4
1. คุณสมบัติการทนร้อนระหว่างโคเซตร้อนและโคเซตหนาว	4
2. หลักการเพิ่มขยายชิ้นส่วนยีนด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)	13
3. Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP)	15
4. ความสำคัญของรูปแบบ SSCP และการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์	19
5. การประยุกต์ใช้ PCR-SSCP ในการหาความหลากหลายของยีน HSP70 ในโค	22
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	24
1. สัตว์ทดลอง	24
2. การเก็บตัวอย่างจากสัตว์ทดลอง	24
3. การสกัด DNA	25
4. การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของ DNA ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis	25
5. การออกแบบไพรเมอร์	26
6. การเพิ่มปริมาณ DNA เป้าหมายด้วยปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction	28
7. การตรวจสอบ PCR product ด้วย Agarose gel electrophoresis	29

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
8. การตรวจสอบความหลากหลายของ DNA ด้วย Single Strand Conformation Polymorphism	29
9. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA	30
10. การจำแนกกลุ่มด้วยค่าความต่างทางพันธุกรรมและสร้างแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม	30
11. การวิเคราะห์หาเอนไซม์ตัดจำเพาะ	31
12. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	31
13. สถานที่ทำงานวิจัย	31
14. ระยะเวลาทำงานวิจัย	31
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	32
1. ผลการเพิ่มปริมาณ DNA เป้าหมายด้วยเทคนิค PCR	32
2. ผลการตรวจสอบความหลากหลายของ DNA ด้วยวิธี SSCP	33
3. ผลการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน HSP70-2	42
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	64
1. สรุปผลการทดลอง	64
2. สรุปผลจากการศึกษาวิจัย	65
3. ข้อเสนอแนะ	65
เอกสารอ้างอิง	67
ภาคผนวก	74
ภาคผนวก ก ภาพประกอบผลการทดลอง	75
ภาคผนวก ข ภาพและตารางประกอบผลทดลอง	78
ประวัติผู้เขียน	94

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 สัญลักษณ์ต่างๆ ของเบสที่ใช้ในการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์	20
ตารางที่ 3.2 ไพรมอร์ที่ใช้ในการศึกษายีน HSP70-2	28
ตารางที่ 3.1 ขนาดคู่เบสและความเข้มข้น โดยประมาณของ $\lambda$ DNA/ <i>HIND</i> III	26
ตารางที่ 4.1 บริเวณศึกษาของยีน HSP70-2 ขนาด PCR product และ จำนวนรูปแบบที่พบ จากวิธี SSCP ในแต่ละไพรมอร์	33
ตารางที่ 4.2 เปอร์เซนต์การกระจายตัวของรูปแบบ SSCP จากยีน HSP70-2 ใน โคนพื้นเมืองไทย (NT) และ โคนโฮลสไตน์ฟรีเซียน (HF)	34
ตารางที่ 4.3 ตำแหน่งเบสที่แตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในแต่ละรูปแบบจากไพรมอร์ HP1	44
ตารางที่ 4.4 ตำแหน่งเบสที่แตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในแต่ละรูปแบบจากไพรมอร์ HP2	45
ตารางที่ 4.5 ตำแหน่งเบสที่แตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในแต่ละรูปแบบจากไพรมอร์ HP3	45
ตารางที่ 4.6 ตำแหน่งเบสที่แตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในแต่ละรูปแบบจากไพรมอร์ HP5	45
ตารางที่ 4.7 ตำแหน่งเบสที่แตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในแต่ละรูปแบบจากไพรมอร์ HP7	45
ตารางที่ 4.8 ตำแหน่งเบสที่แตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในแต่ละรูปแบบจากไพรมอร์ HP8	46
ตารางที่ 4.9 ตำแหน่งเบสที่แตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในแต่ละรูปแบบจากไพรมอร์ HP9	47
ตารางที่ 4.10 ตำแหน่งเบสที่แตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในแต่ละรูปแบบจากไพรมอร์ HP10	48
ตารางที่ 4.11 ตำแหน่งที่เกิดความแตกต่างของเบสใน โคนพื้นเมืองไทย (NT) และ โคนโฮลสไตน์ฟรีเซียน (HF) บริเวณ 5'flanking region	49

## สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2.1 โครงสร้างโมเลกุลของ HSP70	9
ภาพที่ 2.2 กลไกการกระตุ้นให้เกิดการสร้าง HSP70 ภายในเซลล์ด้วยปัจจัยเหนี่ยวนำชนิดต่าง ๆ	11
ภาพที่ 2.3 ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเทคนิค PCR	15
ภาพที่ 2.4 การตรวจสอบ DNA ด้วยวิธี SSCP เมื่อแยก DNA เป็นสายเดี่ยวแล้ว DNA สายเดี่ยวแต่ละสายจะมีโครงรูปแตกต่างกัน	16
ภาพที่ 3.1 บริเวณที่ใช้ในการศึกษาฮีน HSP70-2 ของแต่ละไพรเมอร์	27
ภาพที่ 4.1 รูปแบบ SSCP ในไพรเมอร์ HP1	35
ภาพที่ 4.2 รูปแบบ SSCP ในไพรเมอร์ HP2	36
ภาพที่ 4.3 รูปแบบ SSCP ในไพรเมอร์ HP3	36
ภาพที่ 4.4 รูปแบบ SSCP ในไพรเมอร์ HP4	37
ภาพที่ 4.5 รูปแบบ SSCP ในไพรเมอร์ HP5	37
ภาพที่ 4.6 รูปแบบ SSCP ไพรเมอร์ HP6	38
ภาพที่ 4.7 รูปแบบ SSCP ในไพรเมอร์ HP7	38
ภาพที่ 4.8 รูปแบบ SSCP ในไพรเมอร์ HP8	39
ภาพที่ 4.9 รูปแบบ SSCP ในไพรเมอร์ HP9	40
ภาพที่ 4.10 รูปแบบ SSCP ในไพรเมอร์ HP10	41
ภาพที่ 4.11 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 5'flanking region ของฮีน HSP70-2 แสดงบริเวณ Invert CCAAT, promoter, SP1 binding site/GC box, HSE, TATA box (ขีดเส้นใต้) และตำแหน่งที่เกิดความแตกต่างของเบสในโคทั้งสองพันธุ์	49
ภาพที่ 4.12 Multiple sequence alignment ของลำดับนิวคลีโอไทด์ในตำแหน่งที่ 1260 ถึง 1330 และตำแหน่ง ที่ 2345 ถึง 2405 ของตัวอย่างสุนัขในโคพื้นเมืองไทย (NT) 2 ตัว แลโคโฮลสไตน์ฟรีเซียน (HF) 2 ตัว	50
ภาพที่ 4.13 Multiple sequence alignment ของลำดับนิวคลีโอไทด์ในตำแหน่งที่ 2450 ถึง 2590 ของตัวอย่าง สุนัขในโคพื้นเมืองไทย (NT) 2 ตัว และโคโฮลสไตน์ฟรีเซียน (HF) 2 ตัว	50

## สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 4.14 การจัดกลุ่มพันธุกรรมโครายตัวจากข้อมูลรูปแบบ SSCP โดยวิธี NJ ด้วย NTSYSpc 2.1	54
ภาพที่ 4.15 การจัดกลุ่มพันธุกรรมโครายตัวจากลำดับนิวคลีโอไทด์โดย DNAMAN version 5.2.2	56
ภาพที่ 4.16 ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน HSP70 ระหว่างตัวแทนโคที่ศึกษากับสิ่งมีชีวิตอื่นด้วยโปรแกรม DNAMAN version 5.2.2	59
ภาพที่ 4.17 บริเวณตัดจำเพาะของเอนไซม์ BfaI	60
ภาพที่ 4.18 ตำแหน่งตัดจำเพาะของเอนไซม์ BfaI (ขีดเส้นใต้) ในลำดับนิวคลีโอไทด์โคพื้นเมืองไทย และ โคโฮลสไตน์ฟรีเซียน	60
ภาพที่ 4.19 ภาพจำลองผลการตัดด้วยเอนไซม์ BfaI โดยโปรแกรม DNAMAN version 5.2.2	61
ภาพที่ 4.20 บริเวณตัดจำเพาะของเอนไซม์ BcgI	61
ภาพที่ 4.21 ตำแหน่งตัดจำเพาะของเอนไซม์ BcgI (ขีดเส้นใต้) ในลำดับนิวคลีโอไทด์โคพื้นเมืองไทย และ โคโฮลสไตน์ฟรีเซียน	62
ภาพที่ 4.22 ภาพจำลองผลการตัดด้วยเอนไซม์ BcgI โดยโปรแกรม DNAMAN version 5.2.2	62
ภาพที่ 4.23 ภาพจำลองผลการตัดด้วยเอนไซม์ BfaI และ BcgI โดยโปรแกรม DNAMAN version 5.2.2	63