

บทคัดย่อ

การพัฒนาเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ด้วยวิธีมาตรฐานเป็นวิธีที่ค่อนข้างยุ่งยาก ใช้ระยะเวลานานและเสียค่าใช้จ่ายสูง ในปัจจุบันได้มีการค้นพบเครื่องหมายที่เป็นลำดับเบสซ้ำ (simple sequence repeat :SSR) ภายในลำดับเบสที่มีการแสดงออก (expressed sequence tags :ESTs) ซึ่งการพัฒนาเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์แบบนี้เป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็วโดยการใช้ข้อมูลจากเหมืองข้อมูล EST ในงานวิจัยนี้ข้อมูล EST ปาล์มน้ำมันได้จากฐานข้อมูลสาธารณะ PalmGenes และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ จำนวน 5,610 และ 75,948 ลำดับเบส ตามลำดับ นำข้อมูลลำดับเบสทั้งหมดทำการจัดกลุ่ม (cluster) และรวบรวมข้อมูล (assemble) ได้ 47,256 กลุ่ม จากนั้นค้นหา SSR โดยกำหนดชุดซ้ำของ mono- , di- , tri- , tetra- , penta- และ hexa nucleotide ให้มีจำนวนซ้ำ 10, 5, 5, 3, 3 และ 3 ตามลำดับ พบว่ามี EST ที่ภายในมี SSR จำนวน 1,570 EST-SSRs จากนั้นวิเคราะห์หน้าที่ พบว่า 120 ลำดับเบส เป็นยีนที่ทราบหน้าที่การทำงาน 5 ลำดับเบส เป็นโปรตีนสมมุติฐาน และ 1,445 ลำดับเบสเป็นกลุ่มที่ไม่พบความคล้ายคลึงกับอะไรเลยในฐานข้อมูล จากนั้นนำ EST-SSRs ที่มีจำนวนซ้ำที่สูงจำนวน 374 EST-SSRs ไปออกแบบไพรเมอร์ พบว่า 302 คู่ไพรเมอร์สามารถทำปฏิกิริยาพีซีอาร์สำเร็จ จากนั้นการประเมินโพลิมอร์ฟิซึมของเครื่องหมาย EST-SSR โดยใช้ปาล์มน้ำมัน 57 ตัวอย่าง พบว่ามี 284 คู่ไพรเมอร์ ที่แสดงโพลิมอร์ฟิซึม และสามารถสร้างแถบดีเอ็นเอเฉลี่ย 2.68 แอลลิลต่อคู่ไพรเมอร์ มีค่า PIC และ D เฉลี่ยเท่ากับ 0.34 และ 0.48 ตามลำดับ ในขณะที่เครื่องหมาย EST-SSRs สามารถเพิ่มปริมาณพีซีอาร์ได้ใน *E. oleifera* จำนวน 254 คู่ไพรเมอร์และ *Cocos nucifera* จำนวน 195 คู่ไพรเมอร์ เมื่อวิเคราะห์แนวโน้มการกระจายตัวของเครื่องหมาย EST-SSR พบว่า 65 เครื่องหมายมีการกระจายตัวเป็นไปตามกฎของเมนเดลในลูก F₁ จำนวน 10 ตัวและพ่อแม่ จากนั้นเปรียบเทียบระหว่างเครื่องหมาย EST-SSRs และ genomic SSRs (gSSR) พบว่า ค่า PIC ของเครื่องหมาย EST-SSRs มีค่าที่ต่ำกว่า จากนั้นทำการวิเคราะห์ Linkage disequilibrium ระหว่างเครื่องหมาย EST-SSRs และ gSSRs ที่สร้างแผนที่ได้ในงานวิจัยอื่น พบว่าไม่มีเครื่องหมาย SSR ใดที่แสดง linkage disequilibrium ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าการพัฒนาเครื่องหมายที่สัมพันธ์กับลักษณะที่ศึกษาโดยการวิเคราะห์ association mapping ควรใช้เทคนิคการวิเคราะห์ Linkage disequilibrium ภายในยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะที่ศึกษา โดยใช้แหล่งพันธุกรรมที่หลากหลายของปาล์มน้ำมัน