



วิทยานิพนธ์

การตรวจสอบหาความหลากหลายบริเวณโปรโมเตอร์ แอ็กซอน 1 และ
3' UTR ของยีนไมโอจีนินในสุกร

DETECTING POLYMORPHISM IN PROMOTER EXON 1 AND
3' UTR - CODING REGION OF MYOGENIN GENE IN
PORCINE

นางสาวอังฉรา เดชะศิริพงษ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร)

ปริญญา

เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร

โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การตรวจสอบหาความหลากหลายบริเวณ โปรโมเตอร์ แอ็กซอน 1 และ 3'-นันโคดดิ้ง
ของยีน ไมโอจีนินในสุกร

Detecting Polymorphism in Promoter Exon 1 and 3' non-coding region of Myogenin
Gene in Porcine

นามผู้วิจัย นางสาวอัจฉรา เดชะศิริพงษ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์วรัญญู สิริพลวัฒน์, D.Agr.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์อนุชัย ภิญ โยภูมิมนตรี, D.Vet.Med.Sc.)

ประธานสาขาวิชา

(รองศาสตราจารย์พงศ์เทพ อัครชนกล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การตรวจสอบหาความหลากหลายบริเวณโปรโมเตอร์ แอ็กซอน 1 และ 3'-นัยโคคั้ง
ของยีนไมโอจีนินในสุกร

**Detecting Polymorphism in Promoter Exon 1 and 3' non-coding region
of Myogenin Gene in Porcine**

โดย

นางสาวอัจฉรา เศษศิริพงษ์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร)

พ.ศ. 2551

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. วรวิทย์ สิริพลวัฒน์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่กรุณาอบรมสั่งสอนให้คำแนะนำและแนวทางการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนสร้างเสริม ประสบการณ์ต่างๆ และแก้ไขส่วนบกพร่องต่างๆ ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. น.สพ. อนุชัย ภิญญโกมินทร์ กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอกที่กรุณาให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในการทำ วิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. รณชัย สิทธิไกรพงษ์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุริยะ สะวานนท์ ประธานการสอบที่กรุณาเสียสละ เวลาทำให้การสอบครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

วิทยานิพนธ์เล่มนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์โดยงบประมาณของโครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและการวิจัยสาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร ภายใต้โครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและการวิจัยสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงาน คณะกรรมการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ และขอขอบพระคุณ ศูนย์เทคโนโลยี เอ็นเอ และ จีโนมิกส์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่ให้ใช้สถานที่ห้องปฏิบัติการและขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์นครราชสีมา อำเภอบางบาล จังหวัดนครราชสีมาที่ให้ใช้สัตว์ทดลองและสนับสนุนทุนวิจัย

ขอขอบพระคุณคุณกมล ฉวีวรรณ ที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษาและช่วยเหลือจนวิทยานิพนธ์ เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ และขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ช่วยแนะนำให้ความรู้ต่างๆ ใน การศึกษาและการทำงานตลอดมาขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคน ณ ศูนย์เทคโนโลยี เอ็นเอ และจีโนมิกส์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัด นครปฐม และทุกท่านที่มีได้ที่ไม่ได้กล่าว ณ ที่นี้ที่ช่วยแนะนำและให้กำลังใจจนกระทั่งวิทยานิพนธ์ เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อกิมเลียง คุณแม่สุกัญญา เดชะศิริพงษ์ และพี่น้องที่ กรุณาส่งเสริมและแนะนำการดำเนินชีวิต ให้ความรัก ความเป็นห่วงตลอดจนเป็นกำลังในการศึกษา ตลอดมาจนประสบความสำเร็จตราบนานทุกวันนี้

อัจฉรา เดชะศิริพงษ์
พฤษภาคม 2551

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	15
อุปกรณ์	15
วิธีการ	15
ผลและวิจารณ์	20
สรุปและข้อเสนอแนะ	26
สรุป	26
ข้อเสนอแนะ	27
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	28
ภาคผนวก	36
ภาคผนวก ก ลำดับเบสของยีน Myogenin จากฐานข้อมูล Genbank (Accession number X89007) และ ลำดับเบสของยีน Myogenin ในส่วนของ 3' non-coding region บนฐานข้อมูล GenBank	37
ภาคผนวก ข ตารางภาคผนวก	49
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	56

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงคู่ไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณในส่วนต่างๆ ของยีน Myogenin	17
2	แสดงเอนไซม์ที่ใช้ในการตัดยีน Myogenin ในส่วนต่างๆ	19
3	แสดงความถี่ของยีนไทป์ AA, AB และ BB ของยีน Myogenin/Mspl ในสุกรพันธุ์ต่างๆ	22
4	ตำแหน่งเบสที่เปลี่ยนแปลงแบบต่างๆ เมื่อเทียบกับลำดับเบสใน ฐานข้อมูล Genbank ในสุกรพันธุ์ต่างๆ	25
ตารางผนวกที่		
1	แสดงยีน Myogenin ยีนไทป์ AA, AB และ BB ในสุกรพันธุ์คูรอก	50
2	แสดงยีน Myogenin ยีนไทป์ AA, AB และ BB ในสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์	51
3	แสดงยีน Myogenin ยีนไทป์ AA, AB และ BB ในสุกรพันธุ์แลนด์เรซ	52
4	แสดงยีน Myogenin ยีนไทป์ AA, AB และ BB ในสุกรพันธุ์เป็ยแตรง	53
5	แสดงยีน Myogenin ยีนไทป์ AA, AB และ BB ในสุกรพันธุ์ลูกผสม คูรอก X เป็ยแตรง	54
6	แสดงยีน Myogenin ยีนไทป์ AA, AB และ BB ในสุกรพันธุ์เหมยซาน	55

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	รูปแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดบริเวณ Promoter ของยีน Myogenin ด้วยเอนไซม์ ApaI โดยเลนที่ 1 แสดง Marker Rule 1000 bp DNA ladder เลนที่ 2 ผลิตรหัสบาร์ที่ยังไม่ได้ตัดด้วย ApaI จะมีแถบดีเอ็นเอขนาด 395 bp เลนที่ 3- 18 แถบดีเอ็นเอที่สามารถตัดได้ด้วย ApaI มีแถบดีเอ็นเอ 2 ขนาดคือ 131 และ 264 bp	21
2	รูปแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดบริเวณ Exon1 ของยีน Myogenin ด้วยเอนไซม์ HinfI โดยเลนที่ 1 แสดง Marker Rule 1000 bp DNA ladder เลนที่ 2- 17 ผลิตรหัสบาร์ที่ตัดด้วย HinfI ซึ่งจะมีแถบดีเอ็นเอ 2 ขนาดคือ 80 และ 271 bp เลนที่ 18 ไม่สามารถตัดด้วย HinfI จะมีแถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียวขนาด 351 bp	21
3	แสดงสัตว์ที่มียีนไทป์ AA (เลนที่ 6, 15, 16 และ 17) AB (เลนที่ 4, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14 และ 18) BB (เลนที่ 2, 3, 7 และ 8)	22
4	เปรียบเทียบลำดับเบสของยีน Myogenin ในสุกรพันธุ์ต่างๆ กับลำดับเบสในฐานข้อมูล Genbank (Accession No. X89209.1) โดยใช้โปรแกรม Clustal W (2.0)	24

การตรวจสอบหาความหลากหลายบริเวณโปรโมเตอร์ แอ็กซอน 1 และ 3' non-coding region
ของยีนไมโอจีนินในสุกร

Detecting Polymorphism in Promoter Exon 1 and 3' non-coding region
of Myogenin Gene in Porcine

คำนำ

การผลิตสุกรขุนผู้เลี้ยงสุกรมุ่งเน้นให้สุกรมีการเจริญเติบโตดีใช้อาหารอย่างมีประสิทธิภาพ ต้นทุนในการผลิตต่ำและมีคุณภาพซากสูง คือให้ได้ปริมาณเนื้อแดงสูงและไขมันต่ำ ดังนั้นการเลี้ยงสุกรของไทยในปัจจุบันจึงต้องมีการพัฒนาในหลายๆ ด้าน เช่น การคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ การจัดการฟาร์มที่มีประสิทธิภาพและการพัฒนาทางด้านโภชนาศาสตร์ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของสุกร อย่างไรก็ตามผู้เลี้ยงสุกรบางคนมีการใช้สารเร่งเนื้อแดงกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ (β -agonist) ซึ่งเป็นการผิดกฎหมายและไม่ถูกต้องตามคุณสมบัติทางเภสัชเคมีภัณฑ์นอกจากนั้นยังมีผลเสียต่อผู้บริโภคอาจทำให้เกิดการตกค้างสะสมสารดังกล่าวส่งผลให้เกิดเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

จากปัญหาดังกล่าวจึงได้ทำการศึกษายีน **Myogenin** จากปัญหาดังกล่าวจึงได้ทำการศึกษา ยีน **Myogenin (MYOG)** ซึ่งเป็นยีนที่จะแปลรหัสเป็น **basic Helix-Loop-Helix (b-HLH) Transcription Factors** ที่จะจับกับบริเวณที่เป็น **E-box (CANNTG)** ที่อยู่ทางด้าน **5' Upstream regulatory region** ของยีน **Skeletal muscle specific** ทำให้เกิดขบวนการ **differentiation** ของเซลล์ให้เป็น เซลล์กล้ามเนื้อ (Olson, 1990; Weintraub and Davis, 1991) และมีความสัมพันธ์กับจำนวนเส้นใยกล้ามเนื้อในขบวนการสร้างกล้ามเนื้อ (Myogenesis) (Te Pas *et al.*, 1999) ยีนดังกล่าวอยู่บนโครโมโซม **9q21-q26** (Archibald *et al.*, 1995; Ernst *et al.*, 1998) Soumillion *et al.* (1997) ศึกษาความหลากหลายของยีน **Myogenin** บริเวณ **3' non-coding** โดยวิธีการ **PCR-RFLP** ให้แถบดีเอ็นเอขนาด **353bp** และไม่สามารถตัดได้ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ **MspI** ซึ่งกำหนดให้เป็นอัลลิล **A** แต่ถ้านำไปตัดด้วย **MspI** ได้มีแถบดีเอ็นเอ 2 ขนาดคือ **134** และ **219bp** กำหนดเป็นอัลลิล **B** สามารถกำหนดฮิโนไทป์ได้เป็น **AA, AB** และ **BB** สุกรพันธุ์ออร์กเชียร์ที่มีฮิโนไทป์ **BB** จะมีน้ำหนักแรกเกิด, น้ำหนักซาก, อัตราการเจริญเติบโตและเนื้อแดงสูงกว่าฮิโนไทป์ **AA** อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (Te Pas *et al.*, 1999) ส่วนสุกรพันธุ์หมยซานซึ่งเป็นสุกรพันธุ์พื้นเมืองของสาธารณรัฐประชาชนจีนจะมีความถี่ของอัลลิล **A** สูง (Soumillion *et al.*, 1997) การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ

ออกแบบไพรเมอร์บริเวณ **Promoter** และ **Exon1** หากความหลากหลายบริเวณ **Promoter Exon1** และ **3' non-coding** หากลำดับเบสบริเวณ **3' non-coding** ในสุกรพันธุ์ต่างๆ ที่เลี้ยงในประเทศซึ่งจะเป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์สุกรให้มีคุณภาพซากสูง

วัตถุประสงค์

1. เพื่อออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อ **Promoter, Exon 1** และ **3' non-coding** ของยีน **Myogenin**
2. เพื่อหาความหลากหลายบริเวณ **Promoter, Exon 1** และ **3' non-coding** ของยีน **Myogenin**
3. เพื่อหาลำดับเบสบริเวณ **3' non-coding** ของยีน **Myogenin**

การตรวจเอกสาร

พันธุ์สุกร

สุกรพันธุ์ดูรอค

เป็นสุกรที่มีถิ่นกำเนิดทางทิศตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศสหรัฐอเมริกาต่อมาได้มีการปรับปรุงพันธุ์ขึ้นที่รัฐนิวยอร์กและนิวเจอร์ซีย์ที่รัฐนิวเจอร์ซีย์ เรียกสุกรที่ปรับปรุงนี้ว่า เจอร์ซี่แดง (**Jeusy Reds**) ในรัฐนิวยอร์กเรียก ดูรอค สุกรมีลักษณะขนสีแดงจนเป็นสีน้ำตาล ใบหูเล็กกึ่งตั้งกึ่งปรก ลำตัวสั้น สันหลังโค้งหนา สะโพกกลมใหญ่เด่นชัด ร่างกายบึกบึน ปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดี สามารถทนกับอากาศร้อนได้ดีมาก เหมาะสมที่จะใช้เป็นพ่อพันธุ์เนื่องจากขาแข็งแรง (ฮาร์ริงค็อก, 2531; ไชยา, 2548) มีอัตราการเจริญเติบโตสูง (**ADG; Average Daily Gain**) และคุณภาพเนื้อดี (**NPPC, 1995**) อีกทั้งยังมีปริมาณไขมันแทรก (**Intramascular fat, Marbling**) สูงกว่าพันธุ์อื่นๆ (**Garcia- Macias et al, 1996; Barton- Gade, 1987**)

สุกรพันธุ์ลาร์จไวท์

เป็นสุกรพันธุ์แท้ที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่างสุกรพันธุ์ไลเคสเตอร์ซึ่งเป็นสุกรพันธุ์ขาวกับสุกรพันธุ์ยอร์กเชียร์ซึ่งเป็นสุกรพันธุ์พื้นเมืองของเมืองยอร์กเชียร์ประเทศอังกฤษ (ไชยา, 2548) จึงถิ่นกำเนิดในประเทศอังกฤษ ในประเทศอเมริกาและแคนาดาจะเรียกสุกรพันธุ์นี้ว่า **Yorkshire** สุกรพันธุ์นี้เป็นสุกรประเภทเบคอน มีลักษณะจมูกยาว ใบหูตั้ง ลำตัวยาว แคบเล็ก ไหล่โตหนา แข็งแรงและบริเวณสะเอวแคบ มีผิวหนังสีชมพู ขนสีขาว แต่มีจุดสีดำบ้างเล็กน้อยในบางตัว (**Ensminger and Parker, 1997**)

สุกรพันธุ์แลนด์เรซ

เป็นสุกรพันธุ์ลูกผสมที่เกิดจากสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์กับสุกรพันธุ์พื้นเมืองของประเทศเดนมาร์ก (ไชยา, 2548) สุกรมีคุณภาพซากและความสามารถในการเจริญเติบโตดีมาก สุกรมีลักษณะจมูกยาว หัวเรียวเล็ก หูปรก ใบหูมีขนาดใหญ่กว่าสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์และพับลงมาข้างหน้า ลำตัวยาวกว่าพันธุ์อื่นๆ มีซี่โครงมากกว่าพันธุ์อื่นๆ **1-2 คู่** (มีซี่โครงประมาณ **16-17 คู่**) ไหล่กว้างหนา สะโพกโตเห็นเด่นชัด มีลูกดก เลี้ยงลูกเก่ง เติบโตเร็วมาก เป็นสุกรประเภทเบคอนคุณภาพดี

(ธำรงค์ศักดิ์, 2531; ไชยา, 2548) มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย 633 กรัม/วัน มีประสิทธิภาพการใช้ อาหาร 2.75 ความหนาของไขมันสันหลัง 0.75 นิ้ว (สัมฤทธิ์ และคณะ, 2541) จงเจษฎ์ และคณะ (2541) พบว่าสุกรพันธุ์แลนด์เรซสายพันธุ์นอร์เวย์มีอัตราการเจริญเติบโตประสิทธิภาพการใช้ อาหาร ความหนาไขมันสันหลัง และพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันดีแต่ขาอ่อนไม่แข็งแรงและเลี้ยงยาก ซึ่งใช้ สายพันธุ์แคนาดาและอเมริกาเข้ามาผสมข้ามเพื่อให้ได้สุกรพันธุ์แลนด์เรซสายพันธุ์ที่ดีมีลักษณะ ทางเศรษฐกิจที่ดี แข็งแรง และเหมาะสมในสภาพการเลี้ยงสุกรภายในประเทศ นอกจากนี้ยังพบว่า ลูกสุกรที่เกิดจากพ่อพันธุ์แลนด์เรซจะมีสีของเนื้อ, ปริมาณไขมันแทรก, pH ต่ำกว่าเกิดเนื้อ PSE (Pale Soft Exudative) ได้ง่าย ดังนั้นจึงมีการพัฒนาลูกผสมดुरอด X แลนด์เรซ เพื่อให้สุกรมีลักษณะ เนื้อที่สำคัญทางเศรษฐกิจตรงตามความต้องการของตลาด (Rohrer *et al.*, 2005)

สุกรพันธุ์เป็ยแตง

สุกรพันธุ์เป็ยแตงมีขนสีขาวดำและเหลืองสลับดำมีถิ่นกำเนิดในประเทศเบลเยียมเป็นสุกร ที่นิยมเลี้ยงในทวีปยุโรป มีลักษณะใบหูตั้ง มีบางตัวหูปรก หัวเรียวเล็ก ไหล่กว้าง สะโพกกลมใหญ่ มองเห็นกล้ามเนื้อเด่นชัด แผ่นหลังกว้าง มีเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงสูงมาก (สัมฤทธิ์ และคณะ, 2541) Edward *et al.* (2003) พบว่าสุกรที่เกิดจากพ่อพันธุ์เป็ยแตงกับแม่พันธุ์ยอร์กเชียร์และ F1 ลูกผสม ยอร์กเชียร์ X แลนด์เรซจะมีเปอร์เซ็นต์เนื้อแดง ซากคัตแต่ง ขาหลัง และเนื้อสันสูงกว่าสุกรที่เกิดจาก พ่อพันธุ์ดुरอดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สุกรลูกผสมดुरอด X เป็ยแตง (ปากช่อง 2)

สุกรพันธุ์ปากช่อง 2 เป็นสุกรที่มีการพัฒนาสายพันธุ์ขึ้นมาโดยศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สุกร นครราชสีมา เกิดจากสุกรพ่อพันธุ์ดुरอดและแม่พันธุ์เป็ยแตง โดยมีวัตถุประสงค์เป็นพ่อพันธุ์ สำหรับใช้ผสมพันธุ์กับแม่พันธุ์ 2 สายเพื่อผลิตสุกรขุนที่มีลักษณะตรงตามความต้องการของตลาด คือ มีเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงสูง เจริญเติบโตเร็ว โดยเป็นสุกรที่รวบรวมเอาลักษณะเด่นของสุกร 2 พันธุ์ เข้าไว้ด้วยกันคือ สุกรพันธุ์ดुरอดที่โตเร็ว ให้เนื้อแดงที่มีคุณภาพดีกับสุกรพันธุ์เป็ยแตงที่เปอร์เซ็นต์ เนื้อแดงสูง มีมัดกล้ามเนื้อขนาดใหญ่ (สัมฤทธิ์ และ จิรพรรณ, 2541; ไชยา, 2548; NPPC, 1995)

สุกรพันธุ์หมยซาน

เป็นสุกรพันธุ์พื้นเมืองของสาธารณรัฐประชาชนจีนจึงนิยมเลี้ยงกันมากในปริมณฑลเชียงใหม่ เนื่องจากเป็นสุกรที่มีรสชาติดี ให้ไขมันมาก (Rothschild, 1996) เมื่อวันที่ 19 มิถุนายน 2524 สาธารณรัฐประชาชนจีนได้นำอ้อมเกล้าถวายแด่สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี จำนวน 2 คู่ และวันที่ 8 มกราคม 2537 ได้นำอ้อมเกล้าถวายอีก 2 คู่รวมทั้งสิ้น 4 คู่และพระราชทานให้กรมปศุสัตว์เพื่อศึกษาวิจัยและขยายพันธุ์ที่หน่วยงานของกองบำรุงพันธุ์สัตว์ สุกรมีลักษณะหน้าผากขุ่น ใบหูยาว ปากหนา ขนและลำตัวมีสีดำ (สัจจา, 2548) สุกรพันธุ์นี้ให้ลูกตก โตเร็วเลี้ยงลูกเก่งจึงเหมาะที่จะนำมาใช้เป็นสายแม่พันธุ์เพื่อให้มีจำนวนลูกแรกเกิดและสามารถเลี้ยงรอดจนถึงหย่านมได้จำนวนมากขึ้น นอกจากนี้ยังทนทานต่อโรคและสภาพอากาศ และสามารถกินอาหารได้หลายชนิด อาทิเช่น เศษผัก เศษหญ้า เศษข้าว และวัตถุดิบเหลือใช้จากโรงงานอาหารสำเร็จรูป(กลุ่มงานวิจัยและพัฒนาสัตว์เล็ก, 2548) สาร, ม.ป.ป.)

มังกร และคณะ (2549) ศึกษาสมรรถนะการผลิตและคุณภาพซากของสุกรลูกผสมระหว่างพ่อพันธุ์ยุโรปสี่ขา กับแม่พันธุ์หมยซานที่สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์ จังหวัดอุบลราชธานี ระหว่างสุกรลูกผสมที่เกิดจากพ่อพันธุ์แลนด์เรซกับแม่พันธุ์หมยซานเปรียบเทียบกับสุกรลูกผสมที่เกิดจากพ่อพันธุ์ลาร์จไวท์กับแม่พันธุ์หมยซาน พบว่าสุกรลูกผสมทั้งสองกลุ่มมีผิวหนังสีขาวย และมีสมรรถนะการผลิตโดยรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 635.4 และ 650.0 กรัมต่อวัน ตามลำดับ และมีประสิทธิภาพการใช้อาหาร 2.79 และ 2.83 ตามลำดับ สุกรลูกผสมจากพ่อพันธุ์ลาร์จไวท์มีแนวโน้มที่ให้คุณภาพซากที่ดีกว่าสุกรลูกผสมจากพ่อพันธุ์แลนด์เรซ โดยเฉพาะมีปริมาณไขมันในซากที่น้อยกว่า ดังนั้นสามารถใช้สุกรสายพ่อพันธุ์ยุโรปสี่ขาทั้งพันธุ์ลาร์จไวท์ และพันธุ์แลนด์เรซเพื่อผลิตสุกรลูกผสมกับแม่พันธุ์หมยซานซึ่งจะได้สุกรลูกผสมมีสมรรถนะการผลิตที่ดี มีผิวหนังสีขาว ตามความต้องการของตลาด

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อขนาดและจำนวนเส้นใยกล้ามเนื้อ

ชนิดสัตว์

ขนาดของกล้ามเนื้อแต่ละก้อนจะมีความแตกต่างกันตามชนิดของสัตว์ (ชัยณรงค์, 2529) และจากข้อมูลของเส้นผ่านศูนย์กลางกล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*) พบว่าขนาดของร่างกายสัตว์ไม่ได้มีความสัมพันธ์กับขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อโดยทั่วๆ ไปพบว่าไก่จะมีขนาด 20 μm

โคมีขนาดเท่ากับ 55-67 μm และสุกรมมีขนาดเท่ากับ 58-85 μm (Te Pas *et al.*, 2004) สังเกตเห็นได้ว่าสุกรมมีขนาดร่างกายเล็กกว่าโคแต่มีขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อใหญ่กว่า

เพศ

ขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อในสัตว์เพศผู้จะใหญ่กว่าเพศผู้ตอนและเพศผู้ตอนจะใหญ่กว่าเพศเมีย (ชัยณรงค์, 2529; Seideman and Crouse, 1986; Te Pas *et al.*, 2004) Rehfeldt *et al.* (1997) ศึกษาพบว่าจำนวนเส้นใยกล้ามเนื้อของสัตว์เพศผู้จะมีมากกว่าเพศเมีย โดยไก่พบที่ **Extensor hallucis longus muscle** ส่วนในโคพบที่กล้ามเนื้อสันนอก (Papstein *et al.*, 1999) การที่สัตว์เพศผู้มีขนาดของกล้ามเนื้อและจำนวนเส้นใยกล้ามเนื้อมากเป็นผลเนื่องมาจากสัตว์เพศผู้มี **Testosterone** ซึ่งจะไปกระตุ้นให้มีกระบวนการ **Satellite cell proliferation** และสร้างโปรตีนเพิ่มมากขึ้น (Te Pas *et al.*, 2004) นอกจากนี้ยังสร้างฮอร์โมน **Androgen** ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นการเจริญของกล้ามเนื้อและเพิ่มอัตราการเร็วของการสังเคราะห์โปรตีนในกล้ามเนื้อควบคู่กับลดการสะสมไขมันในร่างกายสัตว์เมื่อเทียบกับสัตว์เพศเมียซึ่งไม่มีฮอร์โมน **Androgen**

พันธุกรรม

ในตัวสัตว์แต่ละพันธุ์จะมีลักษณะเฉพาะพันธุ์ที่แตกต่างไปจากพันธุ์อื่นๆ เช่น สุกรมพันธุ์ดรูอกเป็นพันธุ์ที่มีไขมันแทรกมาก และเป็นพันธุ์ที่ให้เนื้อที่มีคุณภาพดีกว่าพันธุ์ลาร์จไวท์ (สุทธิพงศ์, 2542) ซึ่งความแตกต่างที่แสดงออกเป็น **Phenotypic variation** จะเป็นความแตกต่างที่มีสาเหตุมาจากพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมโดย 2 ปัจจัยนี้มีผลต่อลักษณะต่างๆ ของสัตว์ นอกจากนี้พบว่าค่า **Estimated heritability** ของสัตว์จะนำมาใช้เป็นหลักในการปรับปรุงพันธุ์ (ชัยณรงค์, 2529) สุกรมมีค่า **Heritability (h^2)** ของจำนวนและขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อสันนอกมีค่าเท่ากับ 0.22 และ 0.34 ตามลำดับ (Lazul *et al.*, 1997)

โภชนาศาสตร์

ระยะก่อนคลอดถ้าตัวอ่อนได้รับโภชนาไม่เพียงพอต่อความต้องการจะทำให้มีจำนวนเส้นใยกล้ามเนื้อน้อย (Dwyer *et al.*, 1995) ดังนั้นถ้าแม่สุกรมอุ้มท้องได้รับโภชนาที่เพียงพอมีอัตราการกินได้สูงจะส่งผลให้มี **Semitendinous muscle fiber** ของตัวอ่อนเพิ่มขึ้น ซึ่งสามารถกระทำได้โดย

ให้แม่สุกรได้รับ **Growth Hormone** ตั้งแต่ระยะเริ่มต้นของการตั้งท้องจะทำให้ตัวอ่อนมีจำนวนเส้นใยกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น (Rehfeld *et al.*, 2001)

ชัยณรงค์ (2529) รายงานว่าช่วงระยะเวลา 16 สัปดาห์หลังหย่านมสุกรที่ได้รับอาหารที่มีโภชนะสูงจะทำให้มีการเจริญเติบโตของกระดูกและกล้ามเนื้อสูงกว่าพวกที่ได้รับโภชนะระดับต่ำ แต่ถ้าได้รับโภชนะต่ำแล้วเปลี่ยนเป็นได้รับโภชนะสูงสุกรจะมีอัตราการเจริญเติบโตสูง ซากสุกรมีกล้ามเนื้อน้อย ขณะที่สุกรได้รับโภชนะสูงแล้วเปลี่ยนไปได้รับโภชนะต่ำซากสุกรจะมีกล้ามเนื้อที่ชากมาก

นอกจากนี้ยังพบว่าการให้อาหารแบบจำกัด (Restricted) ซากสุกรจะมีกล้ามเนื้อ, ความหนาไขมันสันหลัง (มม.) ไขมันแทรก (%) ความนุ่มและความฉ่ำน้ำน้อยกว่าการให้อาหารแบบไม่จำกัด (Ad-libitum) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (สุทธิพงษ์, 2542; Te Pas *et al.*, 2004)

Muscle Regulatory Factors (MRF) Family gene

เป็นยีนที่ประกอบด้วย **MyoD1** (*myoD*), **Myogenin** (*myf4*), *myf5* และ *myf6* (Heruculin) (Olson, 1990) ซึ่งยีนเหล่านี้จะแปลรหัสโปรตีน **basic - helix - loop - helix - (b-HLH) Transcription Factor** โดยจะจับกับบริเวณที่เป็น **E-box (CANNTG)** ที่อยู่ทางด้าน **5' Upstream regulatory region** ของยีน **Skeletal muscle specific** ทำให้เกิดขบวนการ **Differentiation** ของเซลล์ให้เป็นเซลล์กล้ามเนื้อ (Olson, 1990; Weintraub *et al.*, 1991; Michael *et al.*, 2002) **MyoD** และ *myf5* จะแสดงออกที่ **Myoblast proliferation** โดย *myf5* จะแสดงออกก่อน (Klosowska *et al.*, 2004) เมื่อเกิดการพัฒนาของ **Myotome** ไปเป็น **Myoblast** จะมียีน *myf5* มาควบคุมการแสดงออกที่ **Dorsal subdomain** ของ **Myotome** ขณะที่ **MyoD1** จะแสดงออกที่ **Ventral subdomain** ซึ่งถูกเหนี่ยวนำโดย **Notocord** (Cossu *et al.*, 1996)

Te Pas *et al.* (2004) นำ **Myoblast proliferation** ที่ใส่ **Glucocorticoid** มาเพาะเลี้ยงพบว่าอัตราการแสดงออกของ *myf5* และ **MyoD** ลดลงแต่ระดับ mRNA ของ **MyoD**, *myf5* และ **MRF4** เพิ่มขึ้นเล็กน้อย Te Pas *et al.* (2004) รายงานว่ายีน *myf5* ไม่มีผลต่อการสร้างเนื้อแดงเพราะยีนจะแสดงออกได้ในเซลล์กล้ามเนื้อทั่วไปและการเปลี่ยนแปลงของยีนก็ไม่สามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์สุกรให้สร้างเนื้อแดงสูงได้

Edmondson and Olson (1993) นำเซลล์ที่อยู่ในขบวนการ **Myoblasts Differentiation** มาเลี้ยงในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเชื่อพว่ามี การแสดงออกของยีน **Myogenin** เท่านั้นขณะที่ยีนอื่นๆ ไม่แสดงออกเลยแสดงให้เห็นว่าการพัฒนาของตัวอ่อนยีน **Myogenin** จะเป็นตัวควบคุมการพัฒนาของกล้ามเนื้อโครงร่าง (Kitzmann *et al.*, 1998) สอดคล้องกับรายงานของ Te Pas and Soumillon (2001)

ยีน **Myogenin**

ยีน **Myogenin** จะมีความสัมพันธ์กับจำนวนเส้นใยกล้ามเนื้อในขบวนการสร้างกล้ามเนื้อ (Myogenesis) (Te Pas *et al.*, 1999) และพบว่ายีน **Myogenin** อยู่บนโครโมโซม 9q21-q26 (Archibald *et al.*, 1995, Ernst *et al.*, 1998) ประกอบด้วย 3 Exon และ 2 Intron ความหลากหลายของยีน **Myogenin** ในส่วนของ Promoter จะพบในสุกรพันธุ์เหมยซาน (Meishan, MS) จึงเหมาะสมในการนำมาศึกษาลักษณะของเนื้อ (Soumillon *et al.*, 1997) Exon 1 เป็นส่วนที่แปลรหัสเป็น b-HLH domain (Schwarz *et al.*, 1992) Wyszynska-Koko and Kury (2005) ศึกษาความหลากหลายบริเวณ Exon 1 โดยใช้เทคนิค RF-SSCP พบว่าบริเวณ Exon1 มีการเปลี่ยนแปลงของเบสแบบ Silent mutation จาก C เป็น T ที่ตำแหน่ง 84 ซึ่งยังคงแปลรหัสเป็นกรดอะมิโนไกลซีนตัวเดิม เมื่อนำ Exon1 มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *MaeIII* พบว่าสุกรพันธุ์โปลิชแลนด์เรซ (Polis Landrace, PL), แอล 990 (L990), เปียแตรง (Pietrain, Pi), ดูรอก (Duroc), ทอร์ฮิบ (Trophyb), แสตมโบค (Stanboek), ซลอตนิกา สปอต (Zlotnicka Spotted, ZS) มีความถี่ของอัลลีล C สูงกว่า T มาก โดยอัลลีล T จะพบในสุกรพันธุ์โปลิชลาร์จไวท์ (Polish Large White, PLW), ทอร์ฮิบ, แสตมโบค และ ซลอตนิกา สปอตเท่านั้นและมีความถี่ของอัลลีล T เท่ากับ 0.05, 0.06, 0.01 และ 0.02 ตามลำดับ และจากการศึกษาของ Wyszynska-Koko *et al.* (2006) พบว่าสุกรเพศเมียที่มียีนในไทป์ CC และ CT มีคุณภาพซากไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

Zuzanna *et al.* (2003) ศึกษาการเกิด SSCP ของยีน **Myogenin** ในสุกรสองสายเพศเมียพันธุ์โปลิชลาร์จไวท์ X โปลิชแลนด์เรซ กับ สุกรเพศผู้พันธุ์ดูรอก (กลุ่ม 1) และสุกรสองสายเพศผู้ดูรอก X เปียแตรง (กลุ่ม 2) พบว่า Exon1 เกิด SSCP 2 แบบ คือ แบบ A และแบบ E ที่พบในสุกรกลุ่ม 1 และ 2 ประมาณ 98%, 94%, 2% และ 6% ตามลำดับ สำหรับ Exon 2 ในสุกรทุกกลุ่มพบว่าเกิด SSCP 1 แบบ ส่วน Exon 3 พบว่าเกิด SSCP 4 แบบคือแบบ A จะพบในสุกรกลุ่ม 1 และ 2 ประมาณ 88% และ 82% ตามลำดับ ส่วนแบบ B, C และ D จะพบเพียง 2-10% ในสุกรทั้ง 2 กลุ่ม

Anton et al. (2002) ศึกษาความหลากหลายของยีน **Myogenin** บริเวณ **Intron 2/Myd** โดยกำหนดให้อัลลีล **A** มีขนาด **200bp** พบว่าในสุกรพันธุ์ฮังการีเรียน ลาร์จไวท์, คูรอก, แมงกาลีคาและฮังการีเรียน แลนด์เรซ มีความถี่ของอัลลีล **A** เท่ากับ **0.2416, 0.0900, 0.6617** และ **0.2361** ตามลำดับ

Soumillion et al. (1997) พบความหลากหลายบริเวณ **3' non-coding** ของยีน **Myogenin** ในสุกรพันธุ์เกรท ยอร์ก (**Great York**), คูรอก, เปียแตรง, แลนด์เรซ (**Landrace, LR**) และแฮมเชียร์ (**Hampshire**) แต่ไม่พบในเหมยซานซึ่งเป็นสุกรพันธุ์พื้นเมืองสอดคล้องกับรายงานของ **Ernst et al. (1993)**

Te Pas et al. (1999) ศึกษาสุกรพันธุ์ยอร์กเชียร์จำนวน **2,087** ตัวโดยการนำมาทำ **PCR-RFLP** ตามวิธีการ **Soumillion et al. (1997)** พบว่าสุกรมีความถี่ของอัลลีล **A** และ **B** เท่ากับ **0.55** และ **0.45** ตามลำดับ สุกรที่มียีนไทป์ **BB** จะมีน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักซาก อัตราการเจริญเติบโต และเนื้อแดงสูงกว่ายีนไทป์ **AA** อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) นอกจากนี้ **Te Pas et al. (1999)** พบว่ายีน **Myogenin** ไม่มีความสัมพันธ์กับความหนาไขมันสันหลังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และไม่มีอิทธิพลของ **Dominant Effect** โดยยีน **Myogenin** มีผลต่อน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักซาก **4.0%** และมีปริมาณเนื้อแดง **5.8%** แตกต่างจากรายงานของ **Wyszynska-Koko et al. (2006)** พบว่าสุกรพันธุ์ **L990** ที่มียีนไทป์แบบ **BB** และ **AB** มีคุณภาพซากไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

Cieslak et al. (2000) ศึกษาสุกรในฟาร์ม I ประกอบด้วยสุกรพันธุ์ต่างๆ ดังนี้ 1) เปียแตรง 2) ซลอตทนิคกา สปอตเทด (**Zlotricka Spotted, ZS**) 3) โปลิช แลนด์เรซ (**Polish Landrace, PL**) และ 4) ลูกผสม **75%** เปียแตรง กับ **25%** ซลอตทนิคกา สปอตเทด จำนวนพันธุ์ละ **30** ตัว ฟาร์ม II ประกอบด้วย 1) โปลิช ลาร์จไวท์ จำนวน **31** ตัว 2) ลูกผสมโปลิช ลาร์จไวท์กับเปียแตรง จำนวน **50** ตัว 3) เปียแตรง จำนวน **16** ตัว นำดีเอ็นเอของสุกรมาศึกษา **PCR - RFLP** ตามวิธีการของ **Soumillion et al. (1997)** โดยอัลลีลขนาด **42 kb** กำหนดให้แอัลลีล **42** และอัลลีลขนาด **49 kb** เป็นอัลลีล **49** พบว่าสุกรที่มียีนไทป์ **42/42** มีเนื้อแดง พื้นที่หน้าตัดเนื้อสันและลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจอื่นๆ สูงกว่าสุกรที่มีความถี่ของยีนไทป์ **42/49** และ **49/49** อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$)

จากการศึกษาของ **Cieslak et al. (2000)** พบว่าสุกรพันธุ์เปียแตรงมีความถี่ของอัลลีล **42** สูงที่สุดคือ **0.85** และ **0.80** ในฟาร์มที่ **I** และ **II** ตามลำดับ อีกทั้งสุกรพันธุ์ลูกผสมเปียแตรงมีความถี่

ของอัลลีล 42 สูงด้วยเช่นกันทำให้สุกรเหล่านี้มีลักษณะเนื้อที่สำคัญทางเศรษฐกิจสูงกว่าสุกรพันธุ์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) จากการรายงานของ Cieslak *et al.* (2000) พบว่าสุกรพันธุ์ชลอตนิกกา สปอทเทคเป็นสุกรประเภทเนื้อมัน (Meat - Lard type) จะมีความถี่ของอัลลีล 49 สูงกว่าพันธุ์อื่นๆ โดยมีค่าเท่ากับ 0.68 ในขณะที่ Sounillion *et al.* (1997) พบในพันธุ์เหมยซานซึ่งเป็นสุกรพันธุ์พื้นเมืองจะมีความถี่ของอัลลีล A สูง

หลักการพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction, PCR)

เทคนิคพีซีอาร์เป็นการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอเป้าหมายการสังเคราะห์จะเกิดขึ้นได้ จำเป็นต้องมีไพรเมอร์ 2 ชนิด ที่มีเบสคู่สมกับปลายทั้ง 2 ด้านของดีเอ็นเอที่ต้องการเพิ่มปริมาณ โดยไพรเมอร์จะเกาะกับดีเอ็นเอคนละสาย และมีปลาย 3' ในทิศทางเข้าหากัน (สุรินทร์, 2545) การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอมีการสังเคราะห์แบบต่อเนื่องในลักษณะเป็นลูกโซ่มี 3 ขั้นตอนดังนี้

1. **DNA - denaturation** เป็นขั้นตอนที่ทำให้ดีเอ็นเอสายคู่แยกออกจากกันเป็นสายเดี่ยวที่อุณหภูมิประมาณ 94-97 องศาเซลเซียส
2. **Primer annealing** เป็นขั้นตอนการลดอุณหภูมิลงมาที่ประมาณ 55-57 องศาเซลเซียส เพื่อให้สายไพรเมอร์เข้าจับดีเอ็นเอแม่แบบบริเวณเบสคู่สม (Complementary)
3. **Primer extension** เป็นขั้นตอนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอต่อจากสายไพรเมอร์ในทิศทาง 5' → 3' โดยใช้เอนไซม์ DNA polymerase ที่อุณหภูมิประมาณ 72 องศาเซลเซียส การสังเคราะห์จะดำเนินไปทั้ง 3 ขั้นตอน ซ้ำกันเป็นจำนวน 20-40 รอบ ซึ่งจำนวนสายดีเอ็นเอที่ได้จะเป็นไปตามสูตร $(2)^n X$

n = จำนวนรอบที่ใช้ในการสังเคราะห์

X = จำนวนสายของดีเอ็นเอแม่แบบที่ใช้ในการเริ่มต้น

เครื่องหมายดีเอ็นเอ

เทคโนโลยีดีเอ็นเอเป็นหัวใจสำคัญของการปรับปรุงพันธุ์ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้คัดเลือกลักษณะทางพันธุกรรมที่ดีตรงตามความต้องการ เครื่องหมายดีเอ็นเอคือ ลำดับเบสช่วงหนึ่งของดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความเป็นเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต โดยอาจมีตำแหน่งบนโครโมโซมในนิวเคลียส (**Nuclear DNA**) หรือในออร์แกเนลล์ (**Mitochondria DNA** หรือ **Chloroplast DNA**) และสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้ สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีการจัดเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอที่เป็นเอกลักษณ์ ความแตกต่างหรือหลากหลายของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอนี้เองที่ทำให้สิ่งมีชีวิตมีความแตกต่างกันออกไป เครื่องหมายดีเอ็นเอจึงเข้ามามีบทบาทในกระบวนการคัดเลือกและการปรับปรุงพันธุ์มากขึ้นเพราะเป็นการคัดเลือกจากยีนไทป์โดยตรง เครื่องหมายดีเอ็นเอ สามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ คือ

1. Morphological marker เป็นเครื่องหมายที่สามารถมองเห็นได้ทันที เช่น ลักษณะสีตาหรือสีผมในมนุษย์ สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกได้ ข้อได้เปรียบคือไม่จำเป็นต้องใช้วิธีการใดมาตรวจสอบมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าแต่มีข้อจำกัดมากเนื่องจากมีอยู่จำนวนจำกัดและมักได้รับผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงรวมทั้งลักษณะบางลักษณะมีการแสดงออกบางของระยะการเจริญเติบโตเท่านั้น (อรรถัน, 2548)

2 Biochemical markers คือ การใช้โมเลกุลทางชีวเคมีเป็นตัวระบุถึงความแตกต่างในสิ่งมีชีวิตที่ทำการศึกษา เช่น การใช้ **Isozyme** หรือ **Protein** ในการศึกษาสัตว์หรือจุลินทรีย์

3 Molecular markers คือ การใช้ดีเอ็นเอมาเป็นเครื่องหมายในการตรวจสอบถึงความแตกต่างในระดับของยีน หรือดีเอ็นเอ ซึ่งมีความถูกต้องแม่นยำและมีความจำเพาะมากกว่าเครื่องหมายชนิดอื่น (อภิชาติ, ม.ป.ป.)

การหาลำดับเบสของยีน

การตรวจหาลำดับเบสของยีนเป็นเทคนิคที่จำเป็นอย่างยิ่งต่อการศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์ เพื่อจะทำให้ทราบถึงการผ่าเหล่าของยีน (ปราณี, 2539) การหาลำดับเบสอาศัยหลักการแยกชิ้นดีเอ็นเอโดยการทำให้รีเอ็กโทโร โพรชีสเพื่อให้ดีเอ็นเอเคลื่อนที่ไปได้ในระยะเวลาที่เป็นสัดส่วนกับขนาดโมเลกุล โดยไม่ขึ้นกับชนิดของเบสที่มีชิ้นดีเอ็นเอชิ้นนั้นๆ (อภิชาติ, ม.ป.ป.) สามารถบอกความ

แตกต่างของซันดีเอ็นเอที่มีขนาดต่างกันเพียง 1 เบส โดยใช้ปฏิกิริยาที่ทำให้ซันดีเอ็นเอที่ถูกตัดที่ตำแหน่งที่มีเบสจำเพาะหรือสังเคราะห์ดีเอ็นเอให้ซันดีเอ็นเอที่ปลายเบสจำเพาะทั้ง 4 ชนิด แล้วแยกซันดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส และซันดีเอ็นเอที่นำมาหาลำดับเบสควรวาวไม่เกิน 500 เบส (สุรินทร์, 2548) การหาลำดับเบสโดยทั่วไปทำได้ 2 วิธี คือวิธีทางเคมีเรียกว่า **Maxam and Gilbert method** และวิธีการทางเอนไซม์ เรียก **Sanger method** กล่าวคือ

1. การหาลำดับเบสของดีเอ็นเอโดยวิธีทางเคมี

ดีเอ็นเอที่ต้องการหาลำดับเบสจะถูกติดฉลากที่ปลาย **5'- Phosphate** แล้วผ่านขั้นตอนการแยกสายดีเอ็นเอ (**Stand separation**) จากนั้นจึงนำไปทำปฏิกิริยากับสารเคมีต่างๆ ที่มีความจำเพาะต่อเบสทั้ง 4 ชนิด ปฏิกิริยาทั้ง 4 นั้นจะถูกนำไปแยกตามขนาดความยาวของขนาดดีเอ็นเอที่ผ่านการทำลายด้วยสารเคมีแล้วโดย **Denaturing gel electrophoresis** เป็นการติดตามผลดีเอ็นเอแม่แบบโดยตรง ความผิดพลาดจากดีเอ็นเอแม่แบบจึงน้อย และสามารถอ่านลำดับเบสได้จากตำแหน่งที่ทำการติดฉลากแต่ข้อเสียคือ ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยานาน ความผิดพลาดเกิดขึ้นได้ง่าย และสารเคมีค่อนข้างอันตราย อุปกรณ์เครื่องมือต้องใช้พื้นที่มาก (อภิชาติ, ม.ป.ป.)

2. การหาลำดับเบสของดีเอ็นเอโดยวิธีทางเอนไซม์

ดีเอ็นเอสายคู่ที่จะหาลำดับเบสมาแยกให้เป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยวก่อนจากนั้นจึงนำดีเอ็นเอสายเดี่ยวมาเป็นแม่แบบ โดยมีตัวเกาะไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อปลาย **3'- Hydroxy** แล้วเริ่มปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ **DNA polymerase** เพื่อสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ที่มีลำดับเบสคู่ผสมกับดีเอ็นเอแม่แบบ ดีเอ็นเอสายใหม่จะถูกหยุดการสร้างเมื่อการเติมซัปสเตรทที่เป็น **Deoxynucleotide** กลายเป็น **Dideoxynucleotide** ดีเอ็นเอสายใหม่ก็จะมีขนาดแตกต่างกันเกิดขึ้นตามชนิดของ **Dideoxynucleotide** ที่ใส่ลงในปฏิกิริยาทั้ง 4 ปฏิกิริยา สายดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกันเหล่านี้ก็จะถูกนำมาแยกขนาดบน **Denaturing gel electrophoresis** เช่นเดียวกับวิธีทางเคมี และการติดตามผลก็เช่นเดียวกับวิธีการทางเคมีดังได้กล่าวแล้วข้างต้นทั้งการติดฉลากด้วยสารรังสี หรือไม่ใช่สารรังสี (สุมาลี, 2539; สุรินทร์, 2548)

วิธีการทางเอนไซม์นี้สามารถติดฉลากได้ 2 ทางคือ การติดฉลากที่ปลาย **5'- Phosphate** และการติดฉลากดีเอ็นเอสายใหม่ที่ถูกสร้างขึ้นในปฏิกิริยาวิธีการติดฉลากจึงแตกต่างกันและใช้ซัปสเตรทที่แตกต่างกันด้วยโดยจะติดฉลากดีเอ็นเอ หรือตัวเกาะ (**Primer**) ที่ปลาย **5'- Phosphate** จะใช้ซัปสเตรทที่เป็น **g-ATP** ส่วนการติดฉลากบนสายดีเอ็นเอสายใหม่ที่เกิดขึ้นจะใช้ซัปสเตรทที่

เป็น α -dATP หรือ α -dCTP (สุมาลี, 2539) ข้อดีของวิธีนี้คือ ความสะดวก รวดเร็วในการทำปฏิกิริยาการใช้ปริมาณดีเอ็นเอแม่แบบน้อย และสามารถพัฒนาเลือกใช้สารเคมีบางอย่างในการแก้ปัญหาของโครงสร้างภายในทำให้หาลำดับเบสได้ดีและยาวนาน (อภิชาติ, ม.ป.ป.)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

สัตว์ทดลอง

1. สุนัขพันธุ์คอร์กี้	จำนวน 14 ตัว
2. สุนัขพันธุ์ลูกผสมคอร์กี้ X เปียแตร์	จำนวน 19 ตัว
3. สุนัขพันธุ์เปียแตร์	จำนวน 15 ตัว
4. สุนัขพันธุ์ลาจัวท์	จำนวน 19 ตัว
5. สุนัขพันธุ์แลนค์เรซ	จำนวน 15 ตัว
6. สุนัขพันธุ์เหมยซาน	จำนวน 7 ตัว
รวม	จำนวน 89 ตัว

โดยทำการเลี้ยง ณ ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์วันครราชสีมา อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

วิธีการ

การเก็บตัวอย่างเลือดสุกร

ใช้เข็มเบอร์ 18 เจาะเลือดตรงเส้นเลือดดำใหญ่บริเวณคอ (**Jugular vein**) ปริมาตร 3 ml ใส่ในหลอดที่มีสาร **EDTA 1.5 mg/ml** ปริมาตร 1 ml เพื่อป้องกันเลือดแข็งตัวและนำเลือดแช่แข็งทันที

วิธีการสกัดดีเอ็นเอ

ก่อนการสกัดดีเอ็นเอนำเลือดใส่ลงใน **Water bath** ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกว่าเลือดจะละลายดูดเลือดสุกร 150 μ l ใส่ลงใน **Microcentrifuge tube** ใหม่ และหมุนเหวี่ยงที่ 3000 rpm 10 นาที ที่อุณหภูมิห้องเพื่อเอาส่วนใสหรือ **Serum** ทิ้ง แยกเซลล์เม็ดเลือดแดงใส่ลงใน **Microcentrifuge tube** ใหม่ หลอดละ 200 μ l เติม **Lysis buffer** ปริมาตร 600 μ l นำไป **Homogenized** โดยบดละเอียด

ให้เป็นเนื้อเดียวกัน และ **Vortex** นำไป **Incubate** อุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เติม **Proteinase K 50 mg** แล้ว **Vortex** ให้เข้ากัน จากนั้น **Incubate** ที่อุณหภูมิ 55 - 60 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เติม **Phenol : Chloroform : Isoamyl (25 : 24 : 1) 600 µl** แล้ว **Vortex** ให้เข้ากันนำไป **Centrifuge** ที่ 3000 rpm นาน 10 นาที คูณส่วนใสด้านบนลงในหลอด **Microcentrifuge tube** ใหม่ ปริมาณ 500 µl เติม 95% **Ethanol** ที่เย็นจัด ประมาณ 2 เท่าของส่วนใสที่ดูมาเอียงหลอดไปมาเบาๆ จะเห็นสายดีเอ็นเอลอยอยู่จุดของเหลวใสทิ้งแล้วล้างด้วย 70% **Ethanol** 2 ครั้งทิ้งไว้ให้แห้ง เติม **TE buffer 50 µl** นำไป **Incubate** ที่อุณหภูมิ 55 - 60 องศาเซลเซียสจนดีเอ็นเอละลายหมดเก็บดีเอ็นเอที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส

การตรวจหาปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอโดย Agarose gel electrophoresis

ตรวจสอบความเข้มข้นของสารละลายดีเอ็นเอที่สกัดได้ โดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (**DNA marker**) ที่ทราบความเข้มข้นแล้ว ในการทดสอบใช้สารละลายดีเอ็นเอ 5 ไมโครลิตร ผสมกับ **PLD dye** ปริมาตร 5 µl ใช้ 1% **Agarose gel** เป็นตัวกลางสำหรับแยกปริมาณความเข้มข้นของดีเอ็นเอใน 0.5 x **TBE buffer** ผ่านสนามไฟฟ้าขนาด 100 โวลต์ นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำแผ่นเจลไปย้อมด้วยเอธิลเดียมโบรโมด์ (**EtBr**) ที่ละลายอยู่ในน้ำอัตราส่วน 10g/น้ำ 100 µl ตรวจดูแถบความเข้มข้นของดีเอ็นเอภายใต้แสง **UV** จากนั้นถ่ายรูปไว้เพื่อประมาณความเข้มข้นของดีเอ็นเอจากนั้นเจือจางดีเอ็นเอด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ให้มีความเข้มข้น 5.00 ng/ µl

การเพิ่มปริมาณยีน **Myogenin** ในส่วนของบริเวณ **Promoter, Exon 1** และ **3' non-coding** โดยวิธีพีซีอาร์

ไพรเมอร์ในส่วนของ **Promoter** และ **Exon 1** จะถูกออกแบบโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ **Primer 3** (<http://www.genome.wi.mit/cgi-bin/primer/primer3.cgi/>) โดยจะพิจารณาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน **Myogenin** จากฐานข้อมูล **GenBank accession number X89007** (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) และไพรเมอร์บริเวณ **3' non-coding** ตามรายงานของ **Soumillion et al. (1997)** โดยมีลำดับเบสดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงคู่ไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณในส่วนต่างๆ ของยีน **Myogenin**

บริเวณ	ลำดับเบส	ขนาด (bp)	Ta (°C)
Promoter	FW: 5'-CGCCCAGCTAGGAGGAGTAATTG-3' REV: 5'-CTCCATGGGGTCAGAAAAGA-3'	395	56
Exon1	FW: 5'-CCACTTCTATGACGGGGAAA-3' REV: 5'-CGCTCGATGTACTGGATGG-3'	351	55
3' non-coding*	FW: 5'-TCAGGAAGAAGCTGAAGGCTG-3' REV: 5'-GTTTCCTGGGGTGTTC-3'	353	60

ที่มา: *Soumillion *et al.* (1997)

นำดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัดมาทำการเพิ่มปริมาณ โดยใช้ไพรเมอร์ที่แสดงในตารางที่ 1 ซึ่งในการเพิ่มปริมาณในส่วนของ **Promoter** ต้องเติม **10 x PCR Enhancer** และลดปริมาตรของ **Deionized water** ลงเหลือ **3.6** ไมโครลิตร ส่วนการเพิ่มปริมาณในส่วน **Exon 1** และ **3' non-coding** โดยมีส่วนประกอบของปฏิกิริยาพีซีอาร์ ดังนี้

ผสมปฏิกิริยาพีซีอาร์ปริมาตรทั้งหมด	1000	μl
10x buffer	1.00	μl
25 mM MgCl ₂	0.80	μl
1 mM dNTP	1.00	μl
5 pmol Forward primer	0.25	μl
5 pmol Reverse primer	0.10	μl
10 ng/μl Template	2.00	μl
Deionized water	4.60	μl

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนของยีนบริเวณต่างๆ ในขั้นตอนสายไพรเมอร์เข้าจับดีเอ็นเอแม่แบบเปลี่ยนแปลง **Temperature annealing (Ta)** ตามตารางที่ 1 เครื่องควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ (Thermalcyler, PTC 100) ตั้งโปรแกรมการทำงานดังนี้

รอบที่ 1

Denature 94 องศาเซลเซียส	3 นาที
Annealing 56 องศาเซลเซียส	3 นาที
Extention 94 องศาเซลเซียส	30 วินาที

รอบที่ 2-39

Denature 94 องศาเซลเซียส	3 นาที
Annealing 56 องศาเซลเซียส	1 นาที
Extention 72 องศาเซลเซียส	1 นาที

รอบที่ 40

Denature 94 องศาเซลเซียส	3 นาที
Annealing 56 องศาเซลเซียส	1 นาที
Extention 72 องศาเซลเซียส	10 นาที

นำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์มาตรวจสอบขนาดของผลผลิตที่ได้ด้วยวิธีการ **Gel electrophoresis** ที่ความเข้มข้น 1% **Agarose** ในสารละลาย **0.5 x TBE buffer** นำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ปริมาตร 5 μ l ผสมกับ **Loading dye** (60% **Formamide**, 60 mM **EDTA**, 0.09 **phenal blue**, 0.09% **Xylene cyanol**) 5 μ l และให้เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (**DNA marker**) ซึ่งทราบขนาดแล้วโดยจะใช้ **Rule 100 bp DNA ladder** นำแผ่น **Agarose gel** ไปแยกแถบดีเอ็นเอ โดยนำไปผ่านสนามไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์ นาน 40 นาที จากนั้นนำแผ่น **Agarose gel** ย้อมด้วยเอธิลเดียม โบรไมด์ (**EtBr**) ที่ความเข้มข้น 10 μ g/น้ำ 100 ml ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (**UV**) ด้วยเครื่อง **Gel Document UV-Transilluminator**

การตัดยีน **Myogenin** บริเวณ **Promoter**, **Exon 1** และ **3' non-coding**

ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ในส่วนของ **Promoter** และ **Exon 1** จะถูกนำมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ ซึ่งเอนไซม์ที่นำมาตัดจะเลือกที่มีจุดตัดในส่วนมีทำการเพิ่มปริมาณขึ้นมาโดยใช้โปรแกรม **Restriction map** (http://bioinformatics.org/sms2/rest_map.html) ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์บริเวณ **3' non-coding** จะใช้ **MspI** ตามรายงานของ **Soumillion et al. (1997)** ปฏิบัติตามดังนี้

ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์	5.00 µl
Buffer	1.00 µl
10U/µl <i>MspI</i>	3.00 µl
Deionized water	460 µl
Total	1000 µl

เอนไซม์ที่นำมาใช้ในการตัด (ตารางที่ 2) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน (Over night) ตรวจสอบผลที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ *MspI* โดยวิธีการ Gel electrophoresis Agarose gel ความเข้มข้น 3%

ตารางที่ 2 แสดงเอนไซม์ที่ใช้ในการตัดยีน *Myogenin* บริเวณต่างๆ

บริเวณ	เอนไซม์ที่ใช้ตัดจำเพาะที่ใช้
Promoter	<i>ApaI</i> (G/TGCAC)
Exon1	<i>HinI</i> (G/ANTC)
3' non-coding*	<i>MspI</i> (C/CGG)

ที่มา: *Soumillion *et al.* (1997)

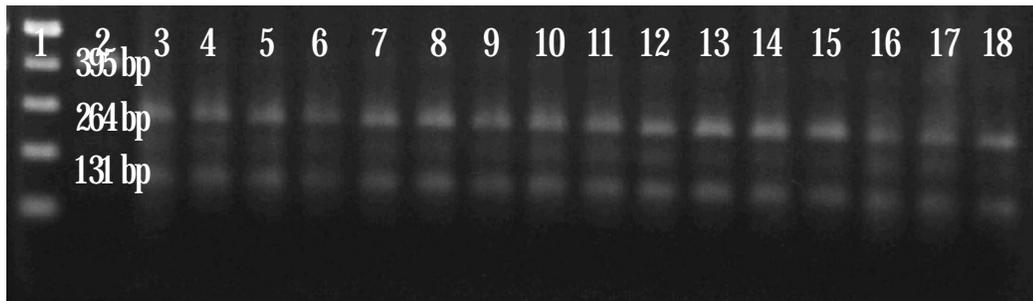
การหาลำดับเบสของดีเอ็นเอหรือยีนที่ได้จากขบวนการพีซีอาร์ (DNA Sequencing)

ตัวอย่างของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากผลผลิตจากพีซีอาร์สุกรพันธุ์ละ 1 ตัวอย่างจะถูกนำไปหาลำดับเบสโดยใช้วิธีทางเคมี (Dale and Shantz, 2002) เครื่อง ABI PRISM 377 DNA Sequencer ตรงบริเวณ 3' non-coding โดยลำดับเบสที่ได้ถูกนำไปเปรียบเทียบกับลำดับเบสของยีน *Myogenin* ในฐานข้อมูล Genbank accession number X89209.1 และทำ Multiple Sequence Alignment ระหว่างลำดับเบสของสุกรพันธุ์ต่างๆด้วยโปรแกรม Clustal W (2.0) (Dale and Shantz, 2000)

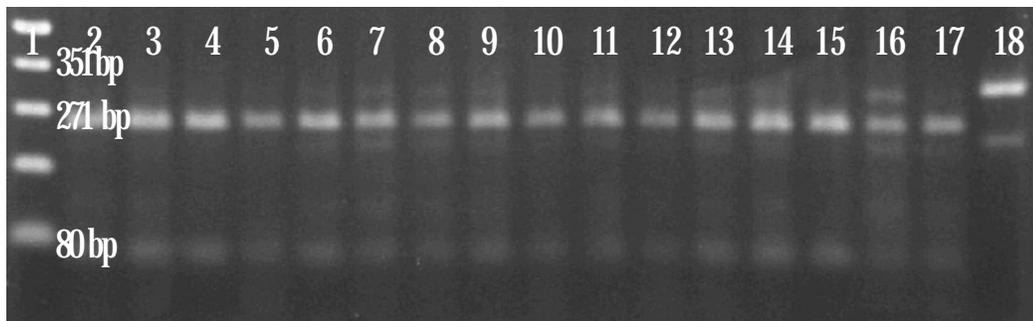
ผลและวิจารณ์

จากการเพิ่มปริมาณของยีน **Myogenin** ในบริเวณ **Promoter, Exon1** และ **3' non-coding** ของสุกรทุกพันธุ์โดยการนำไปวิ่งบนเจลพบว่าแถบดีเอ็นเอที่ได้จะมีเพียงแถบเดียวที่มีขนาด **395, 351 และ 353 bp** ตามลำดับเหมือนกันทั้งหมด จากนั้นนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์มาตัดด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ (ตารางที่ 2) ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอโดยวิธี **Gel electrophoresis** ใช้ **Agarose gel** ที่ความเข้มข้น **3%** พบว่าบริเวณ **Promoter** ของยีน **Myogenin** เกิดเป็นแถบดีเอ็นเอ **2** แถบที่มีขนาด **131 และ 264 bp** เหมือนกันในสุกรทุกตัว (ภาพที่ 1) ซึ่ง **Promoter** หรือ **Cis-acting element** เป็นบริเวณที่จะไม่ถูกถอดรหัสที่อยู่ทางด้าน **5' flanking region** ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นการถอดรหัสมีการเรียงลำดับเบสที่เฉพาะเจาะจง (**Consensus sequence**) **Salminen et al. (1991)** พบว่าบริเวณดังกล่าวจะมีลำดับเบสเป็น **CAT** สูง โดยอยู่ในช่วง **- 211 ถึง + 54** ของยีน **Myogenin** ในขณะที่ **Edmondson et al. (1992)** พบว่าการขาดหายไปของบริเวณ **- 184 ถึง Transcription start site** ของเซลล์ **Myotube differentiation** จะทำให้ลำดับเบส **CAT** ลดลง ส่งผลให้ **RNA polymerase** เข้ามาจับกับดีเอ็นเอแม่แบบลดการสังเคราะห์ **mRNA** ก็จะลดลงด้วย ในสุกรทุกพันธุ์พบว่าบริเวณนี้สามารถตัดได้ด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ **ApaI** เพราะบริเวณ **Promoter** ของสุกรทุกพันธุ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบส (**Mutation**) มีการสังเคราะห์ **mRNA Myogenin** ได้ส่งผลให้กระบวนการสร้างกล้ามเนื้อดำเนินการตามปกติ **Buchberger et al. (1994)** นำ **Myogenin/CAT - 96 ถึง + 50** ถ่ายเข้าไปใน **Primary cell** ของเซลล์กล้ามเนื้อออกระยะ **Fetal Myogenin** เป็นผลให้ยีนสามารถแสดงออกได้

การตรวจสอบแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดบริเวณ **Exon1** ด้วยเอ็นไซม์ **HindI** พบว่าให้แถบดีเอ็นเอ **2** แถบที่เหมือนกันในสุกรทุกตัวมีขนาด **80 และ 271 bp** (ภาพที่ 2) โดย **Exon1** จะเป็นส่วนที่แปลรหัสเป็น **b-HLH Transcription factor** พบว่าบริเวณ **HLH protein** มีกรดอะมิโน **Alanine** และ **Threonine** ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ไม่เสถียรจึงมีผลต่อการจับกับ **E-box** ของ **Muscle specific gene** (**Schwarz et al., 1992**) การที่ **Exon 1** ของสุกรทุกพันธุ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสเช่นเดียวกับ **Promoter** ทำให้ยีน **Myogenin** ยังคงแปลรหัสเป็น **Basic HLH - transcription factor** **Wyszynska-Koko and Kuryl (2005)** พบว่า **Exon1** ของสุกรพันธุ์โปลิชแลนด์เรซ, ดุรอก, เปียแดง และโปลิช **990** มีการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสแบบ **Silent mutation** จาก **C** เป็น **T** แต่ยังคงแปลรหัสไปเป็นกรดอะมิโนไกลซีนตัวเดิม



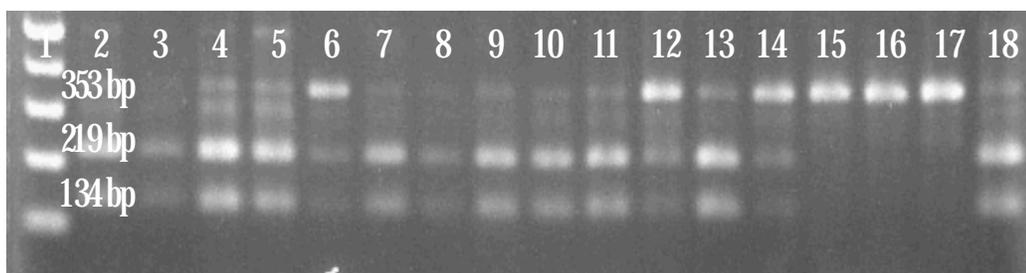
ภาพที่ 1 รูปแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดบริเวณ **Promoter** ของยีน **Myogenin** ด้วยเอนไซม์ **ApaI** โดยเลนที่ 1 แสดง **Marker Rule 1000 bp DNA ladder** เลนที่ 2 ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ยังไม่ได้ตัดด้วย **ApaI** จะมีแถบดีเอ็นเอขนาด **395 bp** เลนที่ 3-18 แถบดีเอ็นเอที่สามารถตัดได้ด้วย **ApaI** มีแถบดีเอ็นเอ 2 ขนาดคือ **131** และ **264 bp**



ภาพที่ 2 รูปแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดบริเวณ **Exon1** ของยีน **Myogenin** ด้วยเอนไซม์ **HindI** โดยเลนที่ 1 แสดง **Marker Rule 1000 bp DNA ladder** เลนที่ 2-17 ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ตัดด้วย **HindI** ซึ่งจะมีแถบดีเอ็นเอ 2 ขนาดคือ **80** และ **271 bp** เลนที่ 18 ไม่สามารถตัดด้วย **HindI** จะมีแถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียวขนาด **351 bp**

ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ในส่วน **3' non-coding** หลังจากตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ **MspI** พบว่าให้ผลที่แตกต่างกันคือแถบดีเอ็นเอที่ไม่สามารถตัดได้ด้วย **MspI** จะยังคงให้แถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียวที่มีขนาด **353 bp** กำหนดให้เป็นอัลลิล **A** ในขณะที่ตัดได้จะให้แถบดีเอ็นเอ 2 แถบมีขนาด **134** และ **219 bp** ซึ่งกำหนดให้เป็นอัลลิล **B** ที่เป็นไปตามผลของ **Soumillion et al (1997)** (ภาพที่ 3) ผลจากการนับแถบดีเอ็นเอเพื่อหาความถี่ยีนโนไทป์ **AA, AB** และ **BB** ในสุกรพันธุ์ต่างๆ (ตารางที่ 3) พบว่าสุกรพันธุ์หมยชานและพันธุ์ลูกผสมคูрок X เปียตรงมีความถี่ยีนโนไทป์ **AA** สูงสุด คือเท่ากับ

1.00 ในขณะที่พันธุ์ลาร์จไวท์จะมีความถี่ต่ำสุดคือ 0.053 ส่วนสุกรพันธุ์คูรอกมีความถี่อีโนไทป์ BB สูงสุดคือ 0.787



ภาพที่ 3 แสดงสัตว์ที่มีอีโนไทป์ AA (เลนที่ 6, 15, 16 และ 17) AB (เลนที่ 4, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14 และ 18) BB (เลนที่ 2, 3, 7 และ 8)

ตารางที่ 3 แสดงความถี่ของอีโนไทป์ AA, AB และ BB ของยีน Myogenin/MspI ในสุกรพันธุ์ต่างๆ

พันธุ์สุกร	ความถี่ของอีโนไทป์		
	AA	AB	BB
คูรอก	0.071	0.142	0.787
คูรอก X เปียตรง	1.000	0.000	0.000
เปียตรง	0.133	0.200	0.667
ลาร์จไวท์	0.053	0.211	0.736
แลนด์เรซ	0.067	0.200	0.733
เหมยซาน	1.000	0.000	0.000

จากการทดลองพบว่าสุกรพันธุ์ลูกผสมคูรอก X เปียตรงมีความถี่ของอัลลีล A 100% เป็นการแสดงว่าสุกรลูกผสมทั้ง 19 ตัวเกิดจากพ่อพันธุ์คูรอกและแม่พันธุ์เปียตรงที่มีอีโนไทป์ AA จึงอาจไม่เหมาะที่จะนำสุกรเหล่านี้มาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ทั้งนี้เพราะจะถ่ายทอดอัลลีล A ไปยังรุ่นลูก อาจส่งผลให้มีคุณภาพของเนื้อไม่ตรงตามความต้องการของตลาดซึ่ง *Kapelanski et al. (2005)* ศึกษาสุกรลูกผสมสองสายพันธุ์โปลิชลาร์จไวท์ X โปลิชแลนด์เรซ จำนวน 73 ตัว และลูกผสมสามสายพันธุ์โปลิชลาร์จไวท์ X โปลิชแลนด์เรซ และเปียตรง จำนวน 25 ตัว พบว่าสุกรที่มีอีโนไทป์ AA จะมีความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ (Water holding capacity) ต่ำกว่าสุกรที่มีอีโนไทป์ BB ($P < 0.01$) ในขณะที่สุกรอีโนไทป์ AB จะมีค่าระหว่าง AA และ BB ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ

มีผลต่อการหดตัวของเนื้อในระหว่างการเก็บรักษา ถ้าเนื้อมีความสามารถอุ้มน้ำต่ำน้ำออกจากเนื้อได้ง่ายกว่ามีโอกาสเกิด **PSE** จะทำให้การสูญเสียความชื้นสูงจึงทำให้เนื้อหดตัวไปมากกว่าเนื้อที่มีความสามารถอุ้มน้ำสูง

สุกรพันธุ์หมยซานมีความถี่ของอัลลีล **A** เท่ากับ **1.00** สอดคล้องกับการศึกษาของ **Soumillion et al. (1997)** ที่พบว่าสุกรพันธุ์พื้นเมืองจะมีความถี่ของอัลลีล **A** สูง ขณะที่สุกรพันธุ์ดุรอค, เปียตรง, ลาร์จไวท์ และแลนค์เรชมีความถี่ของอัลลีล **B** สูง **Te Pas et al. (1999)** รายงานว่าสุกรที่มีฮีโนไทป์ **BB** จะมีน้ำหนักแรกเกิด, น้ำหนักซาก, อัตราการเจริญเติบโตและเนื้อแดงสูงกว่าสุกรที่มีฮีโนไทป์ **AA** และจากการศึกษาของ **Ceislak et al. (2000)** พบว่าสุกรพันธุ์เปียตรง และลูกผสมเปียตรงกับชลอตนิกา สปอต (**PixZs**) มีความถี่ของอัลลีล **B** และเนื้อแดงสูงกว่าสุกรพันธุ์อื่นๆ ดังนั้นสุกรที่มีฮีโนไทป์ **BB** เหมาะสมที่จะคัดเลือกไว้เป็นพ่อแม่พันธุ์ซึ่งจะให้เนื้อแดงสูงมีลักษณะตรงตามความต้องการ

การให้เนื้อแดงสูงยังขึ้นอยู่กับเพศโดยจำนวนเส้นใยกล้ามเนื้อเพศผู้จะมีกล้ามเนื้อมากกว่าเพศเมียหรือเพศผู้ตอน (ชัยณรงค์, 2529; **Seidema and Crouse, 1986; Te Pas et al., 2004**) นอกจากนี้ในระยะก่อนคลอดถ้าตัวอ่อนได้รับโภชนาไม่เพียงพอต่อความต้องการก็จะทำให้เส้นใยกล้ามเนื้อมีจำนวนน้อย (**Te Pas et al. 1999**) แต่ถ้าแม่สุกรได้รับ **Growth Hormone** ตั้งแต่ระยะเริ่มต้นของการตั้งท้องก็จะทำให้ตัวอ่อนมีปริมาณเส้นใยกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น (**Rehfeld et al., 2001**) **Te Pas et al. (2004)** รายงานว่าการให้อาหารแบบจำกัด (**Restriced**) มีผลทำให้เส้นใยกล้ามเนื้อลดลง

เมื่อนำผลผลิตกันท์พีซีอาร์มาหาลำดับเบส (**Sequencing**) โดยตัวแทนของสุกรพันธุ์ละ 1 ตัวอย่างและนำลำดับเบสไปเปรียบเทียบกับ **3' non - coding** ของยีน **Myogenin** ในฐานข้อมูลของ **Genbank (Accession number X892091)** พบว่าสุกรทุกพันธุ์มีตำแหน่งเบสที่เปลี่ยนแปลงไปจากลำดับเบสพื้นฐานข้อมูลทั้งแบบ **Insertion, Transition** และ **Transversion** จำนวนเล็กน้อยแตกต่างกัน (ภาพที่ 4) และมีตำแหน่งเบสที่เปลี่ยนแปลงเป็นแบบต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งพบว่าสุกรพันธุ์หมยซานตำแหน่งเบสที่เปลี่ยนแปลง 4 ตำแหน่งที่เป็นเอกลักษณ์ประจำพันธุ์โดย 2 ใน 4 เป็นแบบ **Insertion** ตำแหน่งที่ 27 และ 130 ส่วนอีก 2 ตำแหน่งเป็นแบบ **Transversion** และ **Transition** ในตำแหน่ง 82 และ 170 ตามลำดับ ในสุกรพันธุ์ดุรอคจะมีลำดับเบสที่เปลี่ยนแปลง 1 ตำแหน่งที่เป็นเอกลักษณ์ประจำพันธุ์คือตำแหน่งที่ 10 ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงแบบ **Transversion** ส่วนพันธุ์ลาร์จไวท์มีลำดับเบสที่เปลี่ยนแปลง 1 ตำแหน่งที่เป็นลักษณะประจำพันธุ์คือตำแหน่งที่ 278 ซึ่งเป็นแบบ **Transition**

Duroc-Pietrain	AAGAAGTGAAGGCTGCAGCTGGCCCA-GGGTCTTGGCTAAGGAGGCACCA	50
Duroc	AAGAAGTGAAGGCTGCAGCTGGCCCA-GGGTCTTGGCTAAGGAGGCACCA	50
gi 1143586 emb X89209.1	AAGAAGTGAAGGCTGCAGCTGGCCCA-GGGTCTTGGCTAAGGAGGCACCA	50
Landrance	AAGAAGTGAAGGCTGCAGCTGGCCCA-GGGTCTTGGCTAAGGAGGCACCA	50
Largewhite	AAGAAGTGAAGGCTGCAGCTGGCCCA-GGGTCTTGGCTAAGGAGGCACCA	50
Pietrain	AAGAAGTGAAGGCTGCAGCTGGCCCA-GGGTCTTGGCTAAGGAGGCACCA	50
Meishan	AAGAAGTGAAGGCTGCAGCTGGCCCAAGGGTCTTGGCTAAGGAGGCACCA	50

Duroc-Pietrain	CTAAGGTCCACATGGGTAACCCCAAACCCACGGTAATTCTGGTTGTGTC	100
Duroc	CTAAGGTCCACATGGG-AACCCCAAACCCACGGTAATTCTGGTTGTGTC	100
gi 1143586 emb X89209.1	CTAAGGTCCACATGGG-AACCCCAAACCCACGGTAATTCTGGTTGTGTC	100
Landrance	CTAAGGTCCACATGGG-AACCCCAAACCCACGGTAATTCTGGTTGTGTC	100
Largewhite	CTAAGGTCCACATGGGTAACCCCAAACCCACGGTAATTCTGGTTGTGTC	100
Pietrain	CTAAGGTCCACATGGGTAACCCCAAACCCACGGTAATTCTGGTTGTGTC	100
Meishan	CTAAGGTCCACATGGG-AACCCCAAACCCCAAGGTAATTCTGGTTGTGTC	100

Duroc-Pietrain	TCACCCCTCAGCCATAGGCGACCACCAGA-TCCGATTCTCTCACTCTGC	150
Duroc	TCACCCCTCAGCCATAGGCGACCACCAGA-TCCGATTCTCTCACTCTGC	150
gi 1143586 emb X89209.1	TCACCCCTCAGCCATAGGCGACCACCAGA-TCCGATTCTCTCACTCTGC	150
Landrance	TCACCCCTCAGCCATAGGCGACCACCAGA-TCCGATTCTCTCACTCTGC	150
Largewhite	TCACCCCTCAGCCATAGGCGACCACCAGA-TCCGATTCTCTCACTCTGC	150
Pietrain	TCACCCCTCAGCCATAGGCGACCACCAGA-TCCGATTCTCTCACTCTGC	150
Meishan	TCACCCCTCAGCCATAGGCGACCACCAGAATCCAGATTCTCTCACTCTGC	150

Duroc-Pietrain	TGGGAACATTTATATGGGCGGCAAAGAAAGGTGTTCTAGGAAAGAAACCT	200
Duroc	TGGGAACATTTATATGGGCGGCAAAGAAAGGTGTTCTAGGAAAGAAACCT	200
gi 1143586 emb X89209.1	TGGGAACATTTATATGGGCGGCAAAGAAAGGTGTTCTAGGAAAGAAACCT	200
Landrance	TGGGAACATTTATATGGGCGGCAAAGAAAGGTGTTCTAGGAAAGAAACCT	200
Largewhite	TGGGAACATTTATATGGGCGGCAAAGAAAGGTGTTCTAGGAAAGAAACCT	200
Pietrain	TGGGAACATTTATATGGGCGGCAAAGAAAGGTGTTCTAGGAAAGAAACCT	200
Meishan	TGGGAACATTTATATGGGCGGCAAAGAAAGGTGTTCTAGGAAAGAAACCT	200

Duroc-Pietrain	AGAGTCTTTTTCTTTTCTACAAATGCTGACAGAAACATGACAGTGAGGT	250
Duroc	AGAGTCTTTTTCTTTTCTACAAATGCTGACAGAAACATGACAGTGAGGT	250
gi 1143586 emb X89209.1	AGAGTCTTTTTCTTTTCTACAAATGCTGACAGAAACATGACAGTGAGGT	250
Landrance	AGAGTCTTTTTCTTTTCTACAAATGCTGACAGAAACATGACAGTGAGGT	250
Largewhite	AGAGTCTTTTTCTTTTCTACAAATGCTGACAGAAACATGACAGTGAGGT	250
Pietrain	AGAGTCTTTTTCTTTTCTACAAATGCTGACAGAAACATGACAGTGAGGT	250
Meishan	AGAGTCTTTTTCTTTTCTACAAATGCTGACAGAAACATGACAGTGAGGT	250

Duroc-Pietrain	CTCATCTCAAACGCAGCATGTCCAAGATCAAGCTCACATTTCCACACAGG	300
Duroc	CTCATCTCAAACGCAGCATGTCCAAGATCAAGCTCACATTTCCACACAGG	300
gi 1143586 emb X89209.1	CTCATCTCAAACGCAGCATGTCCAAGATCAAGCTCACATTTCCACACAGG	300
Landrance	CTCATCTCAAACGCAGCATGTCCAAGATCAAGCTCACATTTCCACACAGG	300
Largewhite	CTCATCTCAAACGCAGCATGTCCAAGATCAAGCTCACATTTCCACACAGG	300
Pietrain	CTCATCTCAAACGCAGCATGTCCAAGATCAAGCTCACATTTCCACACAGG	300
Meishan	CTCATCTCAAACGCAGCATGTCCAAGATCAAGCTCACATTTCCACACAGG	300

Duroc-Pietrain	CCTGTTCCATCTACATTTCCACACAGG	350
Duroc	CCTGTTCCATCTACATTTCCACACAGG	350
gi 1143586 emb X89209.1	CCTGTTCCATCTACATTTCCACACAGG	350
Landrance	CCTGTTCCATCTACATTTCCACACAGG	350
Largewhite	CCTGTTCCATCTACATTTCCACACAGG	350
Pietrain	CCTGTTCCATCTACATTTCCACACAGG	350
Meishan	CCTGTTCCATCTACATTTCCACACAGG	350

Duroc-Pietrain	CAA	353
Duroc	CAA	353
gi 1143586 emb X89209.1	CTA	353
Landrance	CAA	353
Largewhite	CAA	353
Pietrain	CAA	353
Meishan	CAA	353
	* *	

ภาพที่ 4 เปรียบเทียบลำดับเบสของยีน **Myogenin** ในสุกรพันธุ์ต่างๆ กับลำดับเบสในฐานข้อมูล GenBank (Accession No. X89209.1) โดยใช้โปรแกรม Clustal W (2.0)

ตารางที่ 4 ตำแหน่งเบสที่เปลี่ยนแปลงแบบต่างๆ เมื่อเทียบกับลำดับเบสในฐานข้อมูล Genbank ในสุกรพันธุ์ต่างๆ

พันธุ์สุกร	ตำแหน่งเบสที่เปลี่ยนแปลงแบบต่างๆ		
	Insertion	Transition	Tranversion
คูรอก	-	-	A10T, T352A
คูรอก X เปียตรง	67T*	G134A**	A10T, T352A
เปียตรง	67T	-	T352A
ลาร์จไวท์	67T	C278T	T352A
แลนด์เรซ	-	-	T352A
เหมยซาน	27A, 130A	G134A, G170A	C82A, T352A

* ชนิดของเบสที่เพิ่มและ ** ชนิดของเบสที่เปลี่ยนแปลง

การเกิด SNP (Single Nucleotide Polymorphism) ของยีน *Myogenin* ตรงบริเวณ 3' non-coding จะมีความสัมพันธ์กับปริมาณเนื้อแดง (Soumillion *et al.*, 1997; Cieslak *et al.*, 2000; Cieslak *et al.*, 2002) การหาลำดับเบสของสุกรพันธุ์ต่างๆพบว่าสุกรพันธุ์ลูกผสมคูรอก X เปียตรง และเหมยซานมีการเปลี่ยนแปลงของเบสแบบ Transition ที่ตำแหน่ง 134 จาก G เป็น A ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ของสุกรทั้ง 2 พันธุ์ไม่สามารถตัดได้ด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ *MspI* ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของเบสนี้ทำให้เกิดเป็นรหัส Stop codon สอดคล้องกับการศึกษาของ Wyszynska-Koko *et al.* (2006) ที่พบว่าการเกิด Stop codon จะทำให้กระบวนการถอดรหัส (Transcription) หยุดลงได้สาย mRNA ที่มีขนาดสั้นลงไม่สามารถแปลรหัสเป็น b-HLH transcription factor ที่จะไปจับกับบริเวณ E-box (CANNTG) ของ Muscle-specific gene ได้ (Ceccarelli *et al.*, 1999) จึงไม่เกิดการแปลรหัส (Translation) ของ Muscle-specific gene ไปเป็น Myosin, Actin, Troponin และ Tropomyosin ซึ่งเป็นส่วนประกอบในเส้นใยกล้ามเนื้อ (Lassar and Munsterberg 1994) สุกรสองกลุ่มนี้จึงมีการสร้างเนื้อแดงน้อยกว่าพันธุ์อื่นๆ

เมื่อนำลำดับเบสบริเวณ 3' non-coding ของสุกรพันธุ์ละ 1 ตัวอย่างมาทำ Multiple Sequence Alignment โดยใช้โปรแกรม Clustal W(20) พบว่าสุกรพันธุ์คูรอก, ลูกผสมคูรอก X เปียตรง, เปียตรง, แลนด์เรซ, ลาร์จไวท์ และเหมยซาน มีความเหมือน (identity) กับ 3'-flanking region ของฐานข้อมูลใน Genbank เท่ากับ 99, 98, 99, 99, 99 และ 98% ตามลำดับ

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาวิจัยเรื่อง การตรวจหาความหลากหลายบริเวณ โปรโมเตอร์ แอ็กซอน 1 และ 3- นั้นได้คั้งของยีนไมโอจินินในสุกร โดยเลี้ยง ณ ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์นครราชสีมา พบว่า

1. ไม่พบความหลากหลายบริเวณ **Promoter; Exon1** แต่พบในส่วน **3' non-coding** ของยีน **Myogenin** หลังจากตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ **Msp I** ให้ผลที่แตกต่างกันคือแถบดีเอ็นเอที่ไม่สามารถตัดได้ด้วย **Msp I** จะยังคงให้แถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียวที่มีขนาด **353 bp** กำหนดให้เป็นอัลลิล **A** ในส่วนที่ตัดได้จะให้แถบดีเอ็นเอ **2** แถบมีขนาด **134** และ **219 bp** ซึ่งกำหนดให้เป็นอัลลิล **B**

2. ประชากรที่นำมาศึกษาพันธุ์สุกรพันธุ์หมยซานและลูกผสมคูรอด X เปียตรงมีความถี่ของอัลลิล **A 100 %** ซึ่งแสดงว่าสุกรทั้งสองพันธุ์นี้เป็นสุกรที่มีเนื้อแดงน้อยไม่เป็นที่ต้องการของตลาดจึงไม่ควรคัดเลือกเป็นพ่อแม่พันธุ์

3. ประชากรที่นำมาศึกษาพันธุ์คูรอด, เปียตรง, ลาร์จไวท์, แลนด์เรซ มีความถี่ของยีนไทป์ **BB** เท่ากับ **0.787, 0.677, 0.736** และ **0.733** ตามลำดับ ซึ่งสามารถคัดเลือกสุกรเหล่านี้เป็นพ่อแม่พันธุ์

4. สุกรพันธุ์หมยซานที่นำมาศึกษามีเบสของยีน **Myogenin** ที่เปลี่ยนแปลงเป็นเอกลักษณ์ประจำพันธุ์คือ **Insertion** ตำแหน่งที่ **27** และ **130 Transversion** ที่ตำแหน่ง **82** และ **Transition** ตำแหน่งที่ **170**

5. สุกรพันธุ์คูรอดที่นำมาศึกษามีลำดับเบสของยีน **Myogenin** ที่เป็นเอกลักษณ์ประจำพันธุ์คือ เปลี่ยนแปลงเบสแบบ **Transversion** ตำแหน่งที่ **10**

6. สุกรพันธุ์ลาร์จไวท์มีลำดับเบสของยีน **Myogenin** ที่เป็นเอกลักษณ์ประจำพันธุ์คือ เปลี่ยนแปลงของเบสแบบ **Transition** ตำแหน่งที่ **278**

ข้อเสนอแนะ

1. ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเบสที่เป็นเอกลักษณ์ประจำพันธุกรรมศึกษาในประชากรหลายๆ กลุ่ม
2. ควรเก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงในสุกรแต่ละยีนไทป์เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุกรรมให้มีเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงสูง

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กลุ่มวิจัยและพัฒนาสัตว์เล็ก. **2548**. สุกรหมยฆานพันธุ์ผสม ลักษณะมงคลลูกใจชาวคอย. หมวดเว็บบอร์ดเริ่มต้น. แหล่งที่มา: <http://www.yinwham.com/board/show.php?Use=gainter&topic=117,12> สิงหาคม 2550
- จางเจษฎ์ ศรีกระจำง, วิศาส ศรีสุริยะ, สุรชน ต่างวิวัฒน์. **2541**. ลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจบางประการของสุกรพันธุ์แลนด์เรซ 4 กลุ่มที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ, 161 - 177. รวบรวมผลงานวิจัย พ.ศ. 2527 - 2541. สถาบันวิจัยและทดสอบพันธุ์สุกรนครราชสีมา กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- ชัยณรงค์ คันธพิต. **2529**. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ 1. ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพฯ.
- ไชยา อัยสูงเนิน. **2548**. คู่มือการสุกร. ฐานเกษตรกรรม. เทพพิทักษ์การพิมพ์, กรุงเทพฯ.
- ธีรศักดิ์ ผลบำรุง. **2531**. การเลี้ยงสุกร 1. ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพฯ.
- ปราณี ฟูเจริญ. **2539**. การหาลำดับเบสจากรหัส PCR production น. 5-2 ใน การประชุมเชิงวิชาการปฏิบัติการพันธุวิศวกรรม เรื่อง เทคนิคการหาลำดับเบสของยีนและวิเคราะห์ข้อมูลด้วยคอมพิวเตอร์. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา จังหวัดนครปฐม, กรุงเทพฯ.
- มังกร วงศ์ศรี, วัชรพงษ์ วัฒนกุล, ปิยะศักดิ์ สุวรรณิ, ธีระพล บันสิทธิ์, ธวัชชัย สุวรรณกำกาย, อินทร์ ศาลางาม, สุภาวัลย์ บรรเลงทอง และ นิภาพรณ สิ้นท์ทองลา. **2549**. การศึกษาสมรรถนะการผลิตและคุณภาพซากของสุกรลูกผสมระหว่างพ่อพันธุ์ยุโรป. โครงการวิจัย. แหล่งที่มา: <http://www.agi.ubu.ac.th/mis/research/view.php?id=51>, 21 สิงหาคม 2550
- เยาวลักษณ์ เลไพจิตร. **2544**. การประเมินค่าความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่างไก่พื้นเมืองและไก่พันธุ์ทางการค้าด้วยเทคนิคไมโครแซทเทลไลท์-พีซีอาร์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สาร ไกรฝ่าย. ม.ป.ป. ส่งเสริมสถาบันพระมหากษัตริย์ตอนที่ 84 ส่งเสริมสถาบันพระมหากษัตริย์.
แหล่งที่มา: http://thainews.prd.go.th/king_queen/kg83.php, 12 สิงหาคม 2550

สัจจา บุญผสม. 2548 สุกกรเหมยชานพันธุ์ผสม ลักษณะมงคลลูกใจชาวดอย หมวดเว็บบอร์ด
เริ่มต้น. แหล่งที่มา: [http://www.yimwham.com/board/show.php? Use =
gainter&topic=117](http://www.yimwham.com/board/show.php?Use=gainter&topic=117), 12 สิงหาคม 2550

สุทธิพงษ์ อูริยะพงศ์สรรค์. 2542 เนื้อสัตว์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

สัมฤทธิ์ แสนบัว และ จิรพรรณ นพวงศ์ ณ อยุธยา. 2541. การศึกษาสุกรพันธุ์เปี้ยตรง.
สถาบันวิจัยและทดสอบพันธุ์สุกรนครราชสีมา กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

_____, ไพจิตร อินตรา, จงเจษฎ์ ศรีกระจ่าง และ วิภาส ศรีสุริยะ. 2541. อัตราพันธุกรรมของ
ลักษณะทางเศรษฐกิจบางประการของสุกรพันธุ์แลนด์เรซของศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการ
เลี้ยงสุกรแห่งชาติ กำแพงแสน. สถาบันวิจัยและทดสอบพันธุ์สุกรนครราชสีมา
กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ศุมาลี ตั้งประดับกุล. 2539. การหาลำดับเบสการการใช้ PCR production, น. 5-2 ใน การประชุม
เชิงวิชาการปฏิบัติการพันธุวิศวกรรม เรื่อง เทคนิคการหาลำดับเบสของยีนและวิเคราะห์ข้อมูล
ด้วยคอมพิวเตอร์. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา จังหวัดนครปฐม, นครปฐม.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2548 พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.

อภิชาติ วรรณวิจิตร. ม.ป.ป. คู่มือการสอนวิชา 003579 Molecular Biology in Crop
Improvement. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

อรรถรัตน์ มงคลพร. 2548. เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช. ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

Anton, L, L. Fesus and A. Zsolnai. 2002. Short communication: Simultaneous identification of two *Myf1* polymorphisms of the porcine myogenin gene in Hungarian breeds. *The Journal of Animal Science* 119: 280-283.

Archibald, A. L, C.S. Haley, J.E. Brown and S. Couperwhite. 1995. The Pig map consortium linkage map of the pig (*sus scro fa*). *The Journal of Mammalian Genome* 6: 157-175.

Barton-Gade, P.A. 1987. Meat and fat quality in boars castrates and gilts. *Livestock Production Science*, pp. 187-196. In Ellis, M, A.J. Webb, P.J. Avery and I. Brown. 1996. The influence of terminal sire genotype, sex, and carcass and meat quality in pigs and on the organoleptic properties of fresh pork. *The Journal of Animal Science*. 62:521-530.

Buchberger, A., K. Ragge and A. Hars-Henning. 1994. The myogenin gene is activated during myocyte differentiation by pre-existing, not newly synthesized transcription factor MEF2. *The Journal of Biology Chemistry* 269: 17289-96.

Ceccarelli, E., M.J. McGrew, T. Nguyen, U. Griesammer, D. Horgan, S.H. Hughes and N. Rosenthal. 1999. An E box comprises a positional sensor for regional difference in skeletal muscle gene expression and methylation. *The Journal of Development Biology* 213: 217-229.

Cieslak, D., W. Kapelanski, T. Blicharski and M. Pierzchala. 2000. Restriction fragment length polymorphism in myogenin and *myf3* genes and their influence on lean meat content in pig. *The Journal of Animal Breeding Genetic* 117: 43-55.

Cieslek, D., J. Kuryl, W. Kapelanski, M. Pierzchala, S. Grajewska and M. Bocian. 2002. A relationship between genotype at *MYOG*, *MYF3* and *MYF5* loci and carcass meat and fat deposition traits in pigs. *The Journal of Animal Science Paper Report* 20: 77-92.

- Cossu, G., Tajbakhsh, S. and Buckingham, M. 1996. How is myogenesis initiated in the embryo? Trends in myogenesis, 218-223. *In* Te Pas M.F.W. Everts and H.P. Hagsman 2004. Muscle Development of Livestock Animal. CABI Publishing USA.
- Dwyer, C.M., A.J. Madgwick, S.S. Ward and N.C. Stickland. 1995. Effect of maternal undernutrition in early gestation on the development of fetal myofibres in the guinea-pig. *Reproduction Fertility and Development*, 1285-1292. *In* Te Pas M.F.W. Everts and H.P. Hagsman 2004. Muscle Development of Livestock Animal. CABI Publishing USA.
- Edmondson, D.G. and E.N. Olson. 1993. Helix - loop - helix protein as regulatory of muscle-specific transcription. *The Journal of Biological Chemistry*. 268: 755-785.
- Edmondson, D.G., T.C. Cheng, P. Cserjesi, T. Chakraborty and E.N. Olson. 1992. Analysis of the myogenin promoter reveals an indirect pathway for positive autoregulation mediated by the muscle-specific enhancer factor MEF-2. *The Journal of Molecular and Cellular Biology* 12: 3665-77.
- Edward, D.B., R.O. Bates and W.N. Osburn. 2003. Evaluation of Duroc vs. Pietrain-sired pigs for carcass and meat quality measure. *The Journal of Animal Science* 81: 1895-1899.
- Ernsinger, M.E. and R.O. Parker. 1997. *Swine Science*. Interstate Publishing Co. Inc., USA.
- Ernst, C.W., E.A. Mendez, A. Robic and M.F. Rothschild. 1998. Rapid Communication: Myogenin (MYOG) physically maps to porcine chromosome 9q21-q26. *The Journal of Animal Science* 76: 328.
- Ernst, C.W., D.A. Vaske, R.G. Larson and M.F. Rothschild. 1993. Rapid communication: *Msp*I restriction fragment length polymorphism at the swine MYOG locus. *The Journal of Animal Science* 71: 3479.

- Garcia - Macias, J.A., M. Gispert, M.A. Oliver, A. Diestre, P. Alonso, A. Munoz - Luna, K. Siggers and D. Cuthbert - Heavers. 1996. The effect of cross slaughter weight and halothane genotype on leanness and meat and fat quality in pig carcass. *The Journal of Animal Science* 63:487-496
- Kapelanski, W., S. Grajewska, J. Kuryl, M. Bocian, J. Wyszynka-Koko and P. Urbanski. 2005. Polymorphism in coding and non-coding regions of the MyoD gene family and meat quality in pigs. *The Journal of Folia Bio-Klakow* 53: 45-49.
- Kitzmann, M., G. Camac, M. Vandromme, M. Primig and N.J.C. Lamb. 1998. The muscle regulatory factors MyoD MyF-5 undergo distinct cell cycle-specific expression in muscle cell. *The Journal of Cell Biology* 142: 1447-1459
- Klosowska, D., J.Kuryl, G. Elminowska-Wenda, W. Kapelanski, K. Walasik, M.Pierzchala, D. Cieslek and J. Bogucka. 2004. A relationship between the PCR-RFLP polymorphism in porcine *MYOG*, *MYOD1* and *MYF5* genes and microstructural characteristics of *m longissimus lumborum* in Pietrain × (Polish Large White × Polish Landrace) crosses. *The Journal of Animal Science* 3: 99-107.
- Cieslak and J. Bogucka. 2004. A relationship between the PCR-RFLP polymorphism in porcine *MYOG*, *MYOD1* and *MYF5* genes microstructural characteristics of *m longissimus lumborum* in Pietrain × (Polish Large White × Polish Landrace) crosses. *Czech The Journal of Animal Science* 49:99-107.
- Larzul, C., L. Lefaucheur, P. Ecolan, J. Gogue, A. Talmant, P. Sellier and G. Monin. 1997. Phenotypic and genetic parameters for Longissimus muscle fibre characteristics in relation to growth, carcass and meat quality traits in Large white pigs. 1997. *The Journal of Animal Science* 75: 3126-3137.
- Lassar, A., and A. Münsterberg. 1994. Wiring diagrams: regulatory circuits and the control of skeletal myogenesis. *Curr. Opin. Cell Biology* 6: 432-442.

- Micheal, A.I. and D.H. Gelfand. 1992. Optimization of PCRs, pp. 3-12. *In* A.I. Micheal, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky and T.J. White, eds. PCR protocol : A guide to Methods and Application. Academic Press, Inc., New York.
- Michael, P.S., R. Kambadur, F. Jeanplong, M. Thomas, J.K. Martyn, J.J. Bass and M. Sharma. 2002. The myostatin gene is a downstream target gene of basic - helix - loop - helix transcription factor MyoD. *The Journal of Molecular and Cellular Biology* 22: 7066-7082.
- National Pork Producers Council (NPPC). 1995. Genetic evaluation/terminal line Program Results. Cited Schwab, C.R., T.J. Bass, K.J. Stalder and J.W. Mabry. 2006. Effect of long-term selection for increased leanness on meat and eating quality traits in Duroc swine. *The Journal of Animal Science* 84: 1577-1583.
- Olson, E.N. 1990. MyoD family: a paradigm for development. *The Journal of Gene & Development*. 4: 1454-1461.
- Papstein, H.J., B. Losand, M. Gabel, I. Fiedler, and K. Ender. 1999. Wachstumsuntersuchungen an Fleischrindbullen und - färsen sus Zwillingsgeburten bei hohem Ernährungsniveau. 2. Mitteilung: Wachstumsverlauf, Fleischbeschaffenheit und Muskelstruktur. *Züchtungskunde*, 267-276. *In* Te Pas M.F.W. Everts and H.P. Hagsman. 2004. *The Journal of Muscle Development of Livestock Animal*. CABI Publishing USA.
- Rehfeldt, C., G. Kuhn, J. Vanselow, R. Furbass, I. Feidler, G. Numberg, A.K. Clelland, N.C. Stickland, N.C. and K. Ender. 2001. Maternal treatment with somatotrophin during early gestation affects basic events of myogenesis in pigs. *The Journal of Cell and Tissue Research* 306: 429- 440.
- Rehfeldt, C., R. Schadeit, R. Weukard and K. Reichel. 1997. Effect of the beta-adrenergic agonist clenbuterol on growth carcass and skeletal muscle characteristics in broiler chickens. *The Journal of British Poultry Science* 38: 368-375.

- Roher, G.A., R.M. Thallman, S. Shackelford, T. Wheeler and M. Koochmarai. 2005. A genome scan for loci affecting pork quality in a Duroc - Landrace F2 population. *The Journal of Animal genetics* 37: 17-27.
- Rothschild, M.F. 1996. Meishan Breeds of Livestock. แหล่งที่มา: <http://www.ani.okstate.edu/breeds/swine/>, 10 สิงหาคม 2550.
- Salminen, A., T. Braun, A. Buchberger, S. Juers, B. Winter and H.H. Arnold. 1991. Transcription of the muscle regulatory gene MYF4 is regulated by serum components, peptide growth factors and signaling pathways involving G proteins. *The Journal of Cell Biology* 115: 905-17.
- Sanbrook, J. and D.W. Russel. 2001. *Molecular Cloning a Laboratory Manual*. Cold Spring harbor, US.
- Schwarz, J.J., T. Chakraborty, J. Martin, J. Zhou and E.N. Olson. 1992. The basic region of myogenin cooperates with two transcription activation domains to induce muscle-specific transcription. *The Journal of Molecular and Cellular Biology* 12: 266-275.
- Seidman, S.C. and J.D. Crouse. 1986. The effects of sex condition, genotype and diet on bovine characteristics. *The Journal of Meat Science* 17: 55-72.
- Soumillion, A., J.H.F. Erkers, J.A. Lenstra, G. Rettenger and M.F.W. Te Pas. 1997. Genetic variation in the porcine myogenin gene locus. *The Journal of Mammalian Genome* 8: 564-568.
- Te Pas, M.F.W., A. Soumillion, F.L. Harders, F.J. Verburg, T.J. Van den Bosch, P. Galesloot and T.H.E. Meuwis. 1999. Influences of Myogenin genotypes on birth weight, growth rate, carcass weight, backfat thickness and lean weight of pigs. *The Journal of Animal Science* 77: 2352-2356.

- Te Pas, M. F. W. and Soumilion, A. 2001. Improvement of Livestock Breeding Strategies Using Physiologic and Functional Genomic Information of the Muscle Regulatory Factors Gene Family for Skeletal Muscle Development-review. *The Journal of Current Genomics* 2: 285-304.
- _____, M.E. Everts and H.P. Hagsman. 2004. *Muscle Development of Livestock Animal*. CABI Publishing Co. Inc., USA.
- Weintraub, W. and H.R. Davis. 1991. The myoD gene family: nodal during specification of the muscle cell lineage. *The Journal of Science*. 251: 761-766.
- Wyszynska-Koko, J. and J. Kury. 2005. A novel polymorphism in exon 1 of the porcine myogenin gene. *The Journal of Applied Genetics* 46: 399-402.
- Wyszynska-Koko, J., M. Pierzchala, K. Flisikowski, M. Kamyczek, M. Rozycki and J. Kurl. 2006. Polymorphisms in coding and regulatory region of the porcine MYF6 and MYOG genes and expression of the MYF6 gene in m longissimus dorsi versus productive traits in pigs. *The Journal of Applied Genetics* 47: 131-138.
- Zuzanna, N., A. Heromanowicz-Swierczek, K. M. Charom and J. Kulisiewicz. 2003. Conformation polymorphism in myogenin gene in pigs. *The Journal of Animal Science Paper and Report* 277-284.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ลำดับเบสของยีน **Myogenin** จากฐานข้อมูล **Genbank (Accession number X89007)** และ
ลำดับเบสของยีน **Myogenin** ในส่วนของ **3' non-coding region** บนฐานข้อมูล **GenBank**

ลำดับเบสของยีน Myogenin จากฐานข้อมูล Genbank (Accession number X89007)

LOCUS X89007 3506 bp DNA linear MAM14-NOV-2006

DEFINITION *S.scrofa* myogenin gene.

ACCESSION X89007

VERSION X89007.1 GI:1143588

KEYWORDS myogenin

SOURCE *Sus scrofa* (pig)

ORGANISM *Sus scrofa*

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Suina; Suidae;
Sus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 3506)

AUTHORS Soumillion,A., Erkers,J.H., Lenstra,J.A., Rettenberger,G. and te
Pas,MF.

TITLE Genetic variation in the porcine myogenin gene locus

JOURNAL Mamm Genome 8 (8), 564-568 (1997)

PUBMED 9250861

REFERENCE 2 (bases 1 to 3506)

AUTHORS Briley,G.P., Reecy,J.M., Grant,A.L. and Bidwell,C.A.

TITLE Cloning and expression of the porcine myogenin gene

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 3 (bases 1 to 3506)

AUTHORS Capelli,N.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (23-JUN-1995) Capelli N., University of Geneva, Lab of
Plant Biochem and Physiology, Place de L'Universite, CH-1211 Geneva
4 SWITZERLAND

COMMENT Overlaps U14331 (citation [3]).

FEATURES Location/Qualifiers

```

source    1..3506
          /organism="Sus scrofa"
          /mol_type="genomic DNA"
          /db_xref="taxon:9623"
          /chromosome="9"
          /dev_stage="adult"
misc_signal 22..27
          /note="E-box (3)"
conflict   152
          /note="U14331"
          /citation=[2]
          /replace=""
conflict   161..167
          /note="U14331"
          /citation=[2]
          /replace=""
conflict   182
          /note="U14331"
          /citation=[2]
          /replace=""
misc_signal 210..215
          /note="E-box (2)"
conflict   250
          /note="U14331"
          /citation=[2]
          /replace=""
conflict   329^330
          /note="U14331"
          /citation=[2]
          /replace="ggggca"

```

conflict 429
 /note="U14331"
 /citation=[2]
 /replace=""
 misc_feature 456.464
 /note="MEF-2 site"
 misc_feature 469.481
 /note="NF1-site"
 TATA_signal 494.498
 misc_signal 508.513
 /note="E-box (1)"
 CDS join(572.1042,1828..1909,2529..2650)
 /codon_start=1
 /product="myogenin"
 /protein_id="CAA61410.1"
 /db_xref="GI:1143589"
 /db_xref="GOA:P49812"
 /db_xref="InterPro:IPR001092"
 /db_xref="InterPro:IPR002546"
 /db_xref="InterPro:IPR011598"
 /db_xref="UniProtKB/Swiss-Prot:P49812"
 /translation="MELYETSPYFYQEPHFYDGENYLPVHLQGFEPGYPYERTELSLSP

 EARVPLEDKGLGTPEHCPGQCLPWACKVCKRKSVSVDRRRAATLREKRRLKKNVNEAFE

 ALKRSTLLNPNQRLPKVEILRSAIQYIERLQALLSSLNQEERDLRYRGGGGPQPGVPS

 ECSSHSASCSPWGSALFEGPNPGDHLLTADPTDAHNLHSLTSIVDSITVEDVAVAFP
 DETMPN"
 exon 572.1042
 /number=1

intron 1043.1827
/number=1
conflict 1045.1047
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace="ggc"
conflict 1061.1067
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace="t"
conflict 1075.1076
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace="ct"
conflict 1111
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace=""
conflict 1124
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace="g"
conflict 1794.1797
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace="cacg"
exon 1828.1909
/number=2
intron 1910.2528
/number=2

conflict 1948.1950
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace="gg"
conflict 1968
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace=""
conflict 2045^2046
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace="a"
conflict 2062
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace=""
conflict 2307
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace=""
conflict 2321
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace=""
conflict 2389^2390
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace="g"
exon 2529..2650
/number=3

conflict 2927..2929
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace="cag"
conflict 3082..3083
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace="cg"
conflict 3296
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace="c"
polyA_site 3397..3402
conflict 3402^3403
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace="cg"
conflict 3409..3413
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace=""
conflict 3423..3428
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace=""
conflict 3430..3431
/note="U14331"
/citation=[2]
/replace="at"

conflict 3439
 /note="U14331"
 /citation=[2]
 /replace=""

conflict 3448
 /note="U14331"
 /citation=[2]
 /replace=""

conflict 3453.3456
 /note="U14331"
 /citation=[2]
 /replace=""

conflict 3459.3462
 /note="U14331"
 /citation=[2]
 /replace="cata"

conflict 3475.3478
 /note="U14331"
 /citation=[2]
 /replace=""

ORIGIN

1 gatcttttt taagagtc tcatctgact gacacagtct gggtaagggt cctgaggaa
 61 gcaggggat gcataactg actctccag gcccttcca gcttacact acccttctt
 121 tcttcccc ccctcacc ccacccac tgggttctt tggactggc gactaggcag
 181 gccgccagc tagactaat tgaaggagc agatgaggg agaatgtgtg tcttcccc
 241 cctccccag cccatgggg gctgcagaga aatgaaact aatcaaita cacctatgg
 301 cctcttacc cgtcacagg accctctgg ggcaggctg gctctggga ggggggtgc
 361 agggggagc gaaaggga tcacatctaa tccactgtaa acgtcttgat gtcagcaac
 421 agcttagag ggggtcagg ttctgtggc gtggctata ttatctctg gtccatgcc
 481 agggggagg gtttaaatg caccacagc ttggctgag ggcctcagg acctggggg
 541 ctgtggcag gacaagtct ttctgacc catggagctg tatgagacat cccctactt

601 ctaccaggaa cccacttct atgacgggga aaactactg cccgtccacc tccagggctt
 661 tgagccacca ggctacgagc ggactgagct gagctgagc cctgaggccc gagtgcacct
 721 ggaagataag gggctgggga cccccagca ctgccaggc cagtgcctgc cgtgggcatg
 781 taaggtgtgt aagaggaat cctgtctct ggacctcgg cggcccacca cgtgagggga
 841 gaagcgagg ctcaagaag tgaatgagg ctttgaggc ctgaagagg gcacctgct
 901 caacccaac cagcggctgc ccaaggtga gatcctgagc agcgcaccc agtaccatga
 961 ggctctcag gccctgtca gctccctca caaggaggc cgaacctcc gctaccgagg
 1021 cggggcggg cgcagccag ggttaagtgg ctgtccacc cccctgccct gggggcggg
 1081 gcacaggagg caccagaca gctcgggga cccatggtg gggctcggc agatggatga
 1141 acaggacca ggcaggtct gagaagctt caagtgctt gcccttgta ggcgggct
 1201 gccagctga cctctcgt caccgtgcc tttcagata agatgaagg agtggggaga
 1261 agctgtgga ggggtgggt ggcacaggc cgaaggaag atccaggagc aagtcagat
 1321 ggaactgat gaggagaag atccaccgg tctctggga cgggctaa aaggcaagg
 1381 caatgtcc tgagaagct gctttccc tcaccgacc ccatctggg tatggctgac
 1441 agaagaaa ccaccagt ctctcgaig acacctgac aaaatggcc ctggttggc
 1501 tggacattt gctctctca ttctgctcc ttatccagg gtcaggaaac cacagaccc
 1561 cttagctga gctccttg aggacagaat tgcaccag aatggatct aggaaggcc
 1621 ttgaagcagg ggtctgtgg cctgacagag gcallgaag gactgatt tgaattct
 1681 ggaataggag gtggctgga ctggatggt cagactgag tccacctcc aacccacca
 1741 caggtcttc tgccattgg aacgacaa agagactg ctgaagac cggagccctg
 1801 acctggcc ttacctat ctgcagtg ccaatgat gcaftcca cagcctcc
 1861 tgactccag aatggggcag tgcactggag ttggccca acccagggg taatgaggc
 1921 caggacctg gttacctga ctcaagccc acagtctat ttaggtcca gttccctt
 1981 ctacctac acctgctc agtctctc cttggctc tctaggacc tctgaacc
 2041 tgggcacaa acatgagct agagggccg gtgctcctt gaagcttga ccagtaagg
 2101 agtagctag gctctctga gctccagc tggctctga tggctgacct tcccacgga
 2161 gaggataag tccctgcca ggggtcctt ggaattgct gactcggc tgcaaacg
 2221 gtaccgaaa gggcagttc ggttcccag gataccac tctgctcca cctaggata
 2281 gctgcttca aatttaacc ccagagggg attccgaga ggacatctt gcatctctc
 2341 tctctctac acacacaa tcagtgcat atgcatgg gaaagcatg gggccggga
 2401 aaggactg agctttctc acctctgt cctggaac ctgtccact tcaagagct

2461 cagcctctgc cttgagctt gagacccttt cattaccag gtaacatctt tctaccttct
 2521 ccttacagat catctgctca cagctgacc tacagatgcc cacaatctgc actccctcac
 2581 ctccatctg gacagcatca cagtgaggga tctggctctg gccttccag atgaacct
 2641 gcccaactga gactgtctgc caggatgggt gtctctgaga gccccccca aggtggcca
 2701 cagcggcac cacttctca gcaggctct cctaagccag ttgtctgtct gccaggagc
 2761 cagccctggg gtgccaat gccagactaa cccccctctc atccatataa ggttagcca
 2821 ccaccagag agggatgga tctctcatt taltgactc cttagagcag aaagcagtc
 2881 tgttccaag gggataaac agggaccag agtgcacct tgcgtaacc cctggctcag
 2941 ggacaaactc aggagctcc cttagatcat aatgcagct tcaattcac ccctaanaa
 3001 gaacagttt gagagacga gattgtctg acctggaca gctatgaca tctctgttc
 3061 gtgtcttctc ctaagccagt ggctaggctg ggctgctga atgagagaa gaaaaggaga
 3121 ggaacaatcc tctattcca agtccctggg gggccaagct ttgcaatga atattggaa
 3181 actccagtg gtttatgtt ttgtttgtg ttgtttgtt aaagctcca tctgaccaag
 3241 ttctctgtg ctgaattcc caggacagg cgggggggtg ggggtgggtt gggggcagg
 3301 ggctcctggg gtgattggt aactagcat cgtgggtt tgcattgtt ttatatatt
 3361 ttgtctaact tattggatt tctttttaa aaatgata aagactgggt gctagaggag
 3421 tctctgtaat gatataagg gaggatga ctctctat aggtcttcc acctagggg
 3481 tccagacca tccaagggc agggct

ลำดับเบสของยีน Myogenin ในส่วนของ 3' non-coding region บนฐานข้อมูล GenBank

LOCUS X89209 743 bp DNA linear MAM29-MAY-1998

DEFINITION S.scrofa DNA for myogenin 3' flanking region (743 bp).

ACCESSION X89209

VERSION X89209.1 GI:1143586

KEYWORDS 3' flanking region; MspI site; myogenin

SOURCE Sus scrofa (pig)

ORGANISM Sus scrofa

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Suina; Suidae;
Sus

REFERENCE 1

AUTHORS Soumillion,A., Erkers,J.H., Lenstra,J.A., Rettenberger,G. and te
Pas,M.F.

TITLE Genetic variation in the porcine myogenin gene locus

JOURNAL Mamm Genome 8 (8), 564-568 (1997)

PUBMED 9250861

REFERENCE 2 (bases 1 to 743)

AUTHORS te Pas,M.F.W.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (26-JUN-1995) M.F.W. Te Pas, Institute for Animal Science
and Health, P.O. Box 501, NL-3700 AM Zeist, NETHERLANDS

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..743

/organism="Sus scrofa"

/mol_type="genomic DNA"

/db_xref="taxon:9823"

/chromosome="9"

/clone="16,17,pBSG16myf4.2, pBSG17myf4.1"

/tissue_type="liver"

```

/clone_lib="EMBL3/SP6/T7"
/dev_stage="adult"
/note="allele 1"
3UTR    1..743
/note="3' flanking region starting 3.8kb downstream from
myogenin gene"
misc_feature 172..175
/note="polymorphic MspI site"

```

ORIGIN

```

1  ccttggctcg ggcctcaggc ctgaagtga gctaaaact aggaagaact gaagcctgca
61  gctggcccag ggtcttggct aaggaggc cactaaggc cacatgggaa ccccaaacc
121  cacggaatt ctggttggc ctacccctc agccataggc gaccaccaga tccggattct
181  ctactctgc tgggaacatt tatatgggc gcaagaag gtgttctagg aaagaacct
241  agagtcttt ttctttcta caatgctga cagaacatg acagtgggt ctatctca
301  acgacgatg tccaagatc agctcacatt tccacacagg cctgttccat ctacattcc
361  caccctagc aatggcaaca ccccaggaa ctgaatttt cctggatccc ttcagatctc
421  tctctgtag ccaactggc aactgacct ttggaggcac taggtcagca ctttcccttg
481  cctgtttgcc ctccctagg cccagattgc ctgtcttgc tggcatctg tatcatcagt
541  gtttgggaca ggtaccctg gagaggatg aaggatgat gatgtattag actgcccgca
601  gggggawdct ttcaggtga cagaagaat gaggctccg gggaccaca gtagccaagt
661  attgcatgag gactgcagag gtaagacta gtttgagaa ggtgtctgg ggagacttag
721  ccttggggca gaggcttag ctc

```

ภาคผนวก ข
ตารางภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 แสดงยีน Myogenin ยีนโนไทป์ AA, AB และ BB ในสุกรพันธุ์คูรอก

ที่	เบอร์	เพศ	ยีนโนไทป์
1	RC3-1882	ผู้	BB
2	RC3-1903	ผู้	AB
3	RC3-1929	ผู้	BB
4	RC3-2283	ผู้	BB
5	RC3-2380	ผู้	BB
6	RC3-6737	ผู้	BB
7	RC3-6950	ผู้	BB
8	RC3-6984	เมีย	BB
9	RC3-7012	ผู้	BB
10	RC3-7137	เมีย	AA
11	RC3-7381	ผู้	BB
12	RC3-7473	ผู้	BB
13	RC3-7474	ผู้	BB
14	RC3-7535	เมีย	AB

ตารางผนวกที่ ข2 แสดงยีน Myogenin ยีนโนไทป์ AA, AB และ BB สุกกรพันธุ์ลาร์จไวท์

ที่	เบอร์	เพศ	ยีนโนไทป์
1	RC2-2720	ผู้	BB
2	RC2-2911	ผู้	BB
3	RC2-2984	ผู้	BB
4	RC2-3267	ผู้	BB
5	RC2-3443	ผู้	BB
6	RC2-3463	ผู้	BB
7	RC2-3475	ผู้	AB
8	RC2-3490	ผู้	BB
9	RC2-3556	ผู้	BB
10	RC2-3594	ผู้	BB
11	RC2-4064	ผู้	BB
12	RC2-4073	ผู้	BB
13	RC2-4085	ผู้	BB
14	RC2-4346	ผู้	AB
15	RC2-4355	ผู้	AA

ตารางผนวกที่ ๓ แสดงยีน Myogenin ยีนโนไทป์ AA, AB และ BB สุกกรพันธุ์แลนด์เรซ

ที่	เบอร์	เพศ	ยีนโนไทป์
1	RC1-4085	เมีย	BB
2	RC1-5361	เมีย	AB
3	RC1-5717	ผู้	BB
4	RC1-5737	เมีย	BB
5	RC1-5936	ผู้	BB
6	RC1-6003	ผู้	BB
7	RC1-6532	เมีย	BB
8	RC1-6646	ผู้	BB
9	RC1-6651	เมีย	BB
10	RC1-6898	ผู้	BB
11	RC-7186	ผู้	BB
12	RC1-7193	ผู้	BB
13	RC1-7201	ผู้	BB
14	RC1-7317	ผู้	BB
15	RC1-7383	เมีย	BB
16	RC1-7551	เมีย	AB
17	RC1-7648	ผู้	AB
18	RC1-7302	ผู้	AA
19	RC1-7303	ผู้	AB

ตารางผนวกที่ ๔ แสดงยีน Myogenin ยีนโนไทป์ AA, AB และ BB สุกกรพันธุ์เป็ยตรง

ที่	เบอร์	เพศ	ยีนโนไทป์
1	RC5-0734	ผู้	BB
2	RC5-1036	ผู้	AA
3	RC5-1041	เมีย	AB
4	RC5-1076	ผู้	BB
5	RC5-1080	เมีย	AB
6	RC5-1090	ผู้	BB
7	RC5-1118	เมีย	BB
8	RC5-1398	ผู้	BB
9	RC5-1445	ผู้	AB
10	RC5-1466	ผู้	BB
11	RC5-1468	ผู้	BB
12	RC5-1472	เมีย	BB
13	RC5-1518	ผู้	AA
14	RC5-1521	ผู้	AB

ตารางผนวกที่ ๖ แสดงยีน **Myogenin** ยีนไทป์ **AA, AB** และ **BB** สุกรพันธุ์ลูกผสม
 คู่ออก X เปียตรง

ที่	เบอร์	เพศ	ยีนไทป์
1	2605	ผู้	AA
2	2606	ผู้	AA
3	2607	ผู้	AA
4	2608	ผู้	AA
5	2609	ผู้	AA
6	2610	เมีย	AA
7	2612	เมีย	AA
8	2613	เมีย	AA
9	2618	เมีย	AA
10	2620	เมีย	AA
11	2621	เมีย	AA
12	2718	ผู้	AA
13	2719	ผู้	AA
14	2720	เมีย	AA
15	2721	เมีย	AA
16	2722	เมีย	AA
17	2723	เมีย	AA
18	2724	เมีย	AA
19	2725	ผู้	AA

ตารางผนวกที่ ๖6 แสดงยีน **Myogenin** ยีนไทป์ **AA, AB** และ **BB** สุกรพันธุ์หมอยาน

ที่	เบอร์	พันธุ์	เพศ	ยีนไทป์
1	RC6-936	MS	เมีย	AA
2	RC6-954	MS	เมีย	AA
3	RC6-974	MS	เมีย	AA
4	RC6-976	MS	เมีย	AA
5	RC6-977	MS	เมีย	AA
6	RC6-1014	MS	เมีย	AA
7	RC6-1098	MS	เมีย	AA

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	อัจฉรา เดชะศิริพงษ์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	17 สิงหาคม 2525
สถานที่เกิด	สุพรรณบุรี
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (สัตวศาสตร์) มหาวิทยาลัยศิลปากร
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพการเกษตร