

การตรวจสอบสnpของยีน *stearoyl-CoA desaturase (SCD)* ในโคพื้นเมืองไทย (โคอีสาน)

Investigating SNPs of *stearoyl-CoA desaturase (SCD)* in Thai Native Cattle (Kho-Isaan)

ทองสา บัวสุข¹, เกศรา อำพารณ์² และ รัตติกาล สุวรรณสิงห์^{2*}

Thongsak Buasak¹, Kessara Ampaporn² and Rattikan Suwannasing^{2*}

¹ศูนย์ศึกษาค้นคว้า วิจัยและห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

¹Research Center and Central Laboratory Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

²คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร จ.สกลนคร 47160

²Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus, Sakon Nakhon 47160

บทคัดย่อ: ยีน *stearoyl-CoA desaturase (SCD)* มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดไขมัน และนิยมใช้อย่างแพร่หลายในการเป็นยีนเป้าหมาย (candidate gene) สำหรับพัฒนาเป็นเครื่องหมายพันธุกรรมในปศุสัตว์ ยีน *SCD* มีความสัมพันธ์กับค่าไขมันแทรก และองค์ประกอบกรดไขมัน ซึ่งเป็นลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจ และมีความจำเป็นต่อการพัฒนาคุณภาพเนื้อในโคพื้นเมืองไทย การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาตำแหน่งกลายพันธุ์ของยีน *SCD* และหาความถี่ของรูปแบบจีโนไทป์ของตำแหน่งการกลายพันธุ์ในโคพื้นเมืองไทย (โคอีสาน) โดยทำการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีนด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) วิเคราะห์ลำดับ นิวคลีโอไทด์ และเปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์ต้นแบบจากฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม Clustal Omega และค้นหาเอนไซม์ตัดจำเพาะที่ตำแหน่งกลายพันธุ์ด้วยโปรแกรม NEBcutter version 2.0 วิเคราะห์ความผันแปรของเบสที่ตำแหน่งกลายพันธุ์ในโคอีสาน จำนวน 110 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) วิเคราะห์ค่าความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีลของรูปแบบจีโนไทป์ในแต่ละตำแหน่ง ผลวิเคราะห์พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ของโคอีสานกับนิวคลีโอไทด์ต้นแบบ 3 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่ง g.10329C>T, g.10330G>A และ g.10436A>G โดยพบว่าความผันแปรของตำแหน่ง g.10329C>T สามารถเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนได้ ส่วนตำแหน่ง g.10330G>A ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนได้ นอกจากนี้ยังพบว่าตำแหน่ง g.10330G>A และ g.10436A>G เป็นตำแหน่งกลายพันธุ์ที่ถูกค้นพบใหม่ในโคพื้นเมืองไทย เมื่อย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Acil*, *PstI* และ *NdeI* ตำแหน่ง g.10329C>T ย่อยด้วยเอนไซม์ *Acil* พบรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบและความถี่จีโนไทป์ คือ จีโนไทป์ CC (0.055), CT (0.339) และ TT (0.606) ตำแหน่ง g.10330G>A ย่อยด้วยเอนไซม์ *PstI* พบรูปแบบจีโนไทป์ AA (0.509), GA (0.355) และ GG (0.606) และตำแหน่ง g.10436A>G ย่อยด้วยเอนไซม์ *NdeI* พบรูปแบบจีโนไทป์ AA (0.879), AG (0.112) และ GG (0.009) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าตำแหน่ง g.10329C>T และ g.10436A>G มีความเป็นไปได้ที่จะนำไปใช้เป็นเครื่องหมายพันธุกรรมสำหรับศึกษาหาความสัมพันธ์กับลักษณะคุณภาพเนื้อและองค์ประกอบกรดไขมันเพื่อการพัฒนาคุณภาพเนื้อโคพื้นเมืองไทยต่อไป

คำสำคัญ: ยีน *stearoyl-CoA desaturase*; snp; โคพื้นเมืองไทย; โคอีสาน

ABSTRACT: The *stearoyl-CoA desaturase (SCD)* gene is involved in fatty acid synthesis and is widely used as a candidate gene for the development of genetic markers in livestock. The *SCD* gene is related to marbling score and fatty acid composition, which are important economic traits and necessary for the improvement of meat quality in Thai native cattle. The objective of this study was to investigate SNPs of *SCD* gene and genotype frequencies of

* Corresponding author: rattikan.su@rmu.ac.th

SNPs in Thai native cattle (Kho-Isaan) by polymerase chain reaction (PCR) technique, nucleotides sequencing and compared with prototype nucleotide in GenBank by Clustal Omega program, and search for the specific enzyme at mutation site with NEBcutter version 2.0 program. Base variability at the mutation site in 110 cattle samples was analyzed by the Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) technique. At each site, genotype frequencies and allele frequencies of genotype patterns were analysed. The analysis revealed differences in the nucleotide sequences of the Kho-Isaan and the prototype nucleotides at 3 sites: g.10329C>T, g.10330G>A and g.10436A>G. This study found that g.10329C>T can change the amino acid, whereas g.10330G>A cannot change the amino acid. Furthermore, the g.10330G>A and g.10436A>G sites were newly discovered mutants in Thai native cattle. When digested by *Acil*, *PstI*, and *NdeI* restriction enzymes, g.10329C>T was digested by *Acil* enzymes found in three genotype patterns, and genotype frequencies were CC (0.055), CT (0.339), and TT (0.606). The g.10330G>A site was digested by *PstI* enzymes found in the genotypes AA (0.509), GA (0.355), and GG (0.136), and the g.10436A>G site was digested by the *NdeI* enzyme, which was found in the genotypes AA (0.879), AG (0.112), and GG (0.009). Therefore, it was concluded that the SNPs g.10329C>T and g.10436A>G might be possible to use as the genetic markers for the association study with meat quality and fatty acid composition traits in Thai native cattle.

Keywords: *stearoyl-CoA desaturase* gene; SNPs; Thai Native Cattle; Kho-Isaan

บทนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคหันมาใส่ใจกับสุขภาพและให้ความสำคัญในการเลือกซื้อเนื้อที่มีคุณภาพเพิ่มมากขึ้น (Dawood et al., 2021) โดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณค่าทางโภชนาการของเนื้อสัตว์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับองค์ประกอบของกรดไขมันในเนื้อสัตว์ เช่น PUFA, MUFA, โอเมก้า เป็นต้น (Martin et al., 2018) Stearoyl CoA desaturase (*SCD*) เป็นเอนไซม์ที่ถูกควบคุมโดยยีน *SCD* ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty Acid: SFA) ไปเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวโมเลกุลเดียว (Monounsaturated fatty Acid: MUFA) ในเนื้อเยื่อไขมัน (Alwiyah et al., 2016; Tian et al., 2017) ในปศุสัตว์มีการศึกษาความสัมพันธ์ของยีน *SCD* กับลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจอย่างแพร่หลาย เช่น องค์ประกอบของกรดไขมันในเนื้อไก่ (Furqon et al., 2017) ไขมันสันหลัง และองค์ประกอบของกรดไขมันในเนื้อสุกร (Crespo-Piazuelo et al., 2020) องค์ประกอบของกรดไขมันในเนื้อแพะ (Aviles et al., 2016) และองค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันโค (Li et al., 2020) เป็นต้น

จากการศึกษาในโค พบว่ายีน *SCD* ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 26 มีขนาดประมาณ 17 Kb (Genbank accession no. AY241932 และ AY241933) ประกอบด้วย 6 Exon และ 5 Intron ซึ่งมีส่วนของ Open reading frame ประมาณ 1,080 นิวคลีโอไทด์ (359 กรดอะมิโน) และส่วนของ 3' UTR ประมาณ 3,884 นิวคลีโอไทด์ (Taniguchi et al., 2004; Alim et al., 2012; Oh et al., 2013) ซึ่งการผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์หนึ่งตำแหน่ง (Single nucleotide polymorphisms: SNP) ของยีน *SCD* ในส่วน Intron 3, Intron 4, Intron 5, Exon 5 และ 3' UTR ส่งผลกระทบต่อผลผลิตของน้ำมัน คุณภาพเนื้อ และองค์ประกอบของกรดไขมัน ซึ่งลักษณะดังกล่าว มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในการผลิตโคเนื้อ และโคนมเป็นอย่างยิ่ง จากการศึกษาของ Alim et al. (2012) รายงานว่าการผันแปรของเบสบริเวณ Intron 3 ตำแหน่ง g.6926A>G, บริเวณ Intron 4 ตำแหน่ง g.8646G>A และบริเวณ Exon 5 ได้แก่ ตำแหน่ง g.10153A>G (c.702G>A หรือ V293A), ตำแหน่ง g.10213T>C (762C>T) และตำแหน่ง g.10329C>T (c.878T>C) ส่งผลต่อปริมาณน้ำมัน องค์ประกอบน้ำมัน เช่น โปรตีน ไขมัน และโปรตีนรวมในน้ำมันของโคพันธุ์ Chinese Holstein ในขณะเดียวกันการศึกษพบการผันแปรของเบส A/G ที่ตำแหน่ง g. 10153 ทำให้เกิดการเปลี่ยนกรดอะมิโนแอลานีน (Alanine) เป็น วาลีน (Valine) โดยมีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์โปรตีน และผลผลิตน้ำมันรวมที่ 305 วัน ในโคพันธุ์ Iranian Holstein (Soltani-Ghombavani et al., 2016) นอกจากนี้พบว่าการผันแปรของเบสตำแหน่ง g. 10153A>G, g.10213T>C และ g.10329C>T บริเวณ Exon 5 มีความสัมพันธ์กับค่าคะแนนไขมันแทรกในโค Hanwoo (Korean native) (Oh et al., 2011; Oh et al., 2013) เปอร์เซ็นต์ไขมันแทรก ค่าแรงตัดผ่านเนื้อในโค Chines Simmental (Wu et al., 2012) กรดไขมันชนิด MUFA และ อุณหภูมิหลอมเหลวของไขมันในโค Japanese Black (Taniguchi et al., 2004) รวมถึงองค์ประกอบของกรดไขมันหลายชนิด เช่น C14:0, C14:1, C14:1 cis-9, C18:0, C18:1, C18:1 cis-9, SFA, MUFA และ MUFA/SFA ในโค Hanwoo (Oh et al., 2011; Oh et al., 2013) โคพ่อพันธุ์ Fleckvieh (Barton et al., 2010) และโคลูกผสม (Kaplanova et al., 2013) นอกจากนี้ยังพบว่า

การผันแปรของเบสบริเวณ Intron 5 ตำแหน่ง g. 10428C>T มีความสัมพันธ์กับไขมันแทรก โดยรูปแบบจีโนไทป์ CC มีค่าคะแนนไขมันแทรกและเปอร์เซ็นต์ไขมันแทรกสูงกว่าจีโนไทป์ CT และ TT ในโค Bali (Alwiyah et al., 2016) จากการตรวจเอกสารจะเห็นได้ว่าการผันแปรของเบสบนยีน *SCD* และมีความสัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตในโคเนื้อ และโคนมหลายสายพันธุ์ แต่อย่างไรก็ตามในโคพื้นเมืองยังคงมีการศึกษาน้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาความสัมพันธ์กับคุณภาพเนื้อในโคพื้นเมือง ที่มีรายงานว่ามีส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (polyunsaturated fatty acids) มีปริมาณกรดไขมันคอนจูเกตลิโนเลอิกสูง (Conjugated linoleic acid; CLA) และคอลเลสเตอรอลต่ำ (สุทธิพงศ์, 2555; Sethakul et al., 2008) ซึ่งการศึกษาลักษณะเหล่านี้จำเป็นต้องฆ่าสัตว์ การค้นหาจุดกลายพันธุ์ เพื่อศึกษาโครงสร้างของยีน โดยอาศัยเทคโนโลยีอนุพันธศาสตร์เข้ามาช่วย จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง ในการเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์สำหรับพัฒนาเครื่องหมายพันธุกรรมในการคัดเลือกลักษณะที่เกี่ยวข้องกับองค์ประกอบของกรดไขมัน เพื่อพัฒนาให้รสชาติเนื้อดีขึ้น และมีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยมีสมมติฐานงานวิจัยว่ากลุ่มโคพื้นเมืองที่นำมาศึกษามีความหลากหลายของตำแหน่งกลายพันธุ์และรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *SCD* การศึกษารุ่นนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาจุดกลายพันธุ์ของยีน *SCD* และหาความถี่ของรูปแบบจีโนไทป์ของตำแหน่งการกลายพันธุ์ในโคพื้นเมือง

วิธีการศึกษา

จรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง

การดำเนินการวิจัยในครั้งนี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์ เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ของสถานที่ดำเนินการ (คคส.) และได้ผ่านการรับรองการอนุมัติให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์เลขที่ 11/2563 วันที่อนุมัติ 1 ตุลาคม 2563 จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน

การเก็บตัวอย่างเลือดและสกัดดีเอ็นเอ

การศึกษารุ่นนี้ใช้ตัวอย่างโคพื้นเมืองไทย (โคอีสาน) จำนวน 110 ตัวอย่าง โดยใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 18G x 1 นิ้ว เจาะเก็บเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณลำคอ (Jugular vein) ปริมาตร 10 มล./ตัวอย่าง ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มล. ที่บรรจุสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด 0.5M EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic acid) ทำการสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัด GF-1 Blood DNA Extraction Kit (Vivantis, Malaysia) นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้มาตรวจสอบคุณภาพและความเข้มข้นของดีเอ็นเอด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (BioSpectrometer® basic, Germany) และปรับความเข้มข้นของดีเอ็นเอให้เป็น 50 นาโนกรัม/ไมโครลิตร เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเพิ่มปริมาณยีน *SCD* ด้วยเทคนิคพีซีอาร์

ทำการเพิ่มปริมาณยีน *SCD* ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction: PCR) ในแต่ละปฏิกิริยาประกอบด้วย น้ำกลั่นบริสุทธิ์ (Hypure™ WFI Quality water, HyClone) ปริมาตร 3.4 ไมโครลิตร, 10X PCR-buffer ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, MgCl₂ ปริมาตร 1.5 ไมโครลิตร, dNTPs (1.0 mM/each) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, Primer forward (5'-GTG TCC TGT TGT TGT GCT TCA T-3') ปริมาตร 1 ไมโครลิตร และ Primer reverse (5'-ACT ACC ACC CAG ATC AGA GA-3') ปริมาตร 1 ไมโครลิตร (Kaneda et al., 2011), 5 U/μl Taq DNA Polymerase (Thermo scientific, Lithuania) ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร แบ่งสารละลาย ปริมาตร 9 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 0.2 มล. เติมดีเอ็นเอปริมาตร 1 ไมโครลิตร ผสมสารให้เข้ากันดี (ปริมาตรสุดท้าย 10 ไมโครลิตร) ตั้งโปรแกรมการทำงานของเครื่อง Thermal cycle (PCR Max Alpha Cyclor 1, United Kingdom) โดยเริ่ม Initial Denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 3 นาที จากนั้นทำปฏิกิริยา 35 รอบ โดยใช้ Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 45 วินาที Primer annealing ที่อุณหภูมิ 64 องศาเซลเซียส 30 วินาที Primer extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 45 วินาที และ Final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 3 นาที ตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ (PCR-Product) ด้วย 2% agarose gel electrophoresis (1st base, Singapore) โดยใช้ผลผลิตพีซีอาร์ ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ผสมกับ 1X loading dye ปริมาตร 4 ไมโครลิตร หยอดลงบนหลุมเจล 2% agarose gel ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 45 นาที ครอบกำหนดเวลานำแผ่นเจลไปย้อมด้วย Visafe Red Gel stain (Vivantis, Malaysia) บันทึกภาพแถบ DNA ที่เกิดขึ้นภายใต้แสง UV ด้วย Gel Documentation

System และทำการวิเคราะห์ขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏเทียบกับ GeneRuler™ 100 bp DNA ladder (Thermo scientific, Lithuania)

การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์และค้นหาจุดกลายพันธุ์ของยีน *SCD*

คัดเลือกตัวอย่างดีเอ็นเอของโคอีซานที่มีรูปแบบจีโนไทป์ CC, CT และ TT ของยีน *SCD* ย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Acil* รูปแบบละ 2 ตัวอย่าง จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณยีนเป้าหมาย และส่งผลผลิตพีซีอาร์ไปยังบริษัทเพื่อวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ (บริษัท ATGC จำกัด, ปทุมธานี, ประเทศไทย) นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ในแต่ละรูปแบบมาจัดเรียงเพื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม Sequence Scanner Software version 2.0 ตรวจสอบความเหมือนหรือความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละรูปแบบกับนิวคลีโอไทด์ต้นแบบจากโคเซตหนาว (Accession Number: AY241932) จากฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) จำลองการย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะบริเวณที่พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม NEBcutter Version 2.0 (<https://nc2.neb.com/NEBcutter2/>)

การตรวจสอบจุดกลายพันธุ์ของยีน *SCD* ด้วยเทคนิค PCR-RFLP

หลังเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีน *SCD* ในโคอีซานแล้วนำผลผลิตพีซีอาร์มาย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Acil*, *PstI* และ *NdeI* เพื่อตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ในประชากรโคอีซาน ในหนึ่งปฏิกิริยาประกอบด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ (Hypure™ WFI Quality water, HyClone) ปริมาตร 7 ไมโครลิตร, บัฟเฟอร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, ผลผลิตพีซีอาร์ ปริมาตร 2 ไมโครลิตร และเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Acil*, *PstI* และ *NdeI* (Thermo Scientific, Lithuania) ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบผลผลิตหลังย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (Enzymes-Product) ของยีน *SCD* ด้วยเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสโดยใช้ 2% Agarose gel (*SCD/PstI*) และ 8% Polyacrylamide gel (*SCD/Acil* และ *SCD/NdeI*) โดยใช้ผลผลิตหลังย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ ปริมาตร 4 ไมโครลิตร ผสมกับ 6X loading dye ปริมาตร 6 ไมโครลิตร จากนั้นหยอดลงบนหลุมเจลใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 45 นาที (2% Agarose gel) และนาน 80 นาที (8% Polyacrylamide gel) ครบกำหนดเวลาแล้วนำแผ่นเจลไปย้อมด้วย Visafe Red Gel stain (Vivantis, Malaysia) บันทึกภาพแถบ DNA ที่เกิดขึ้นภายใต้แสง UV และกำหนดรูปแบบจีโนไทป์ที่ปรากฏในโคอีซาน

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำรูปแบบจีโนไทป์ของแต่ละตำแหน่งที่ตรวจพบในประชากรโคอีซานมาคำนวณค่าความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีลด้วยชุดคำสั่ง FREQ โดยใช้โปรแกรม SAS (SAS Institute Inc. 2015. SAS® University Edition)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การตรวจสอบตำแหน่งกลายพันธุ์และจำลองการย่อยจุดกลายพันธุ์ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ

ผลการตรวจสอบตำแหน่งจุดกลายพันธุ์พบความแตกต่างกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ของโคอีซาน เมื่อเปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์ต้นแบบ AY241932 พบการผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ 3 ตำแหน่ง คือตำแหน่ง g.10329 (นิวคลีโอไทด์ลำดับที่ 217) ตำแหน่ง g.10330 (นิวคลีโอไทด์ลำดับที่ 218) และตำแหน่ง g.10436 (นิวคลีโอไทด์ลำดับที่ 324) ซึ่งที่ตำแหน่ง g.10329 พบการผันแปรของเบส C กับ T (g.10329C>T) ตำแหน่ง g.10330 เกิดการผันแปรของเบส G กับ A (g.10330G>A) และตำแหน่ง g.10436 เกิดการผันแปรของเบส A กับ G (g.10436A>G) แสดงดัง **Figure 1A**

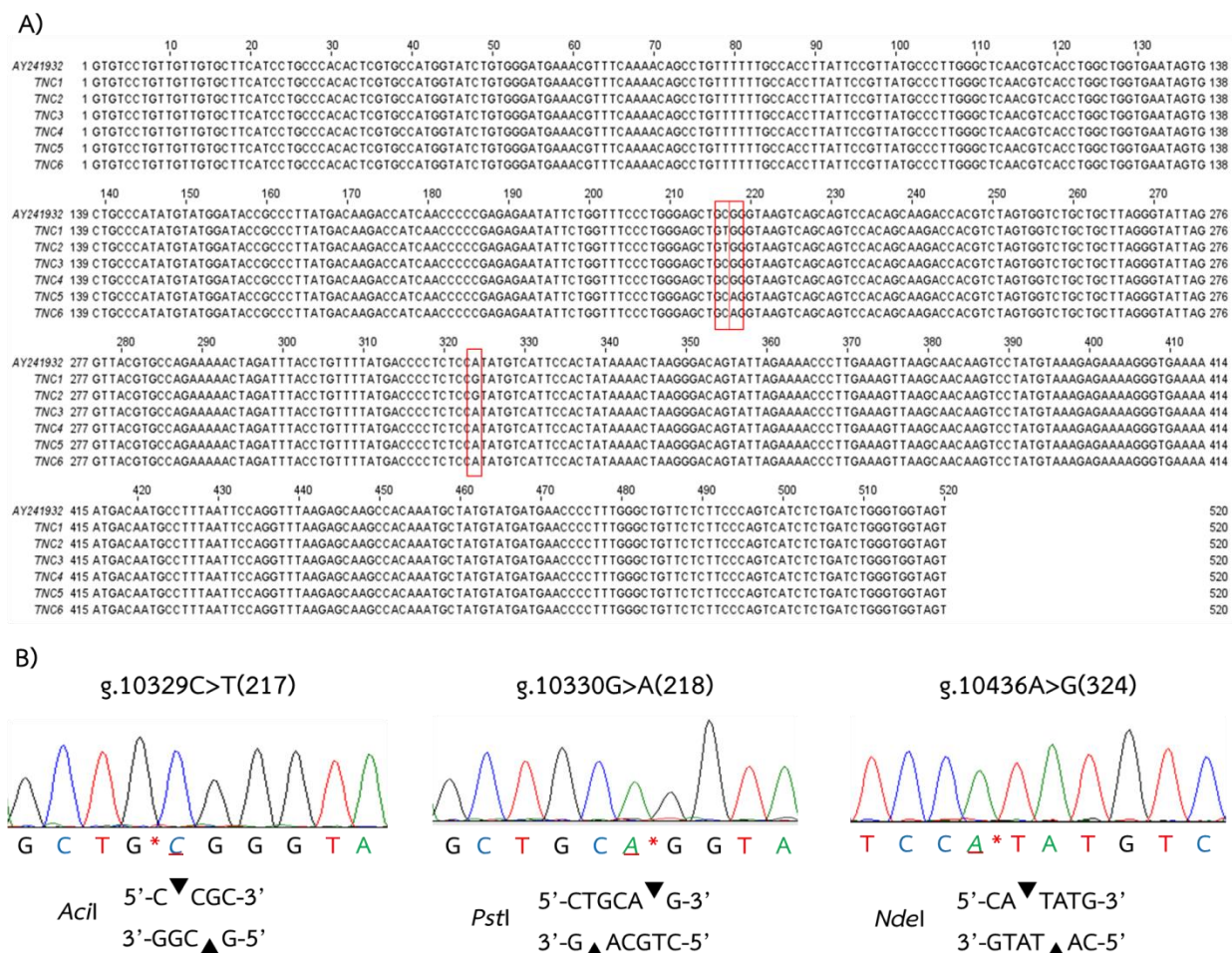


Figure 1 (A) Comparison of *SCD* gene sequence of Kho-Issan with the *SCD* gene sequence in GenBank, accession number AY241932. **(B)** Position of SNPs in *SCD* gene and restriction enzymes reorganization sequences of *Acil*, *PstI* and *NdeI*

ซึ่งการพบกลายพันธุ์ของเบส C/T ที่ตำแหน่ง g.10329 บริเวณ Exon 5 ของยีน *SCD* ในโคอีสาน สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาซึ่งพบการผันแปรของเบส C/T ที่ตำแหน่ง g.10329 ในโค Japanese Black (Taniguchi et al., 2004) โค Chinese Holstein (Oh et al., 2011) โค Hanwoo (Alim et al., 2012) โค Korean Native (Oh et al., 2013) และโค Bali (Alwiyah et al., 2016) สำหรับการกลายพันธุ์ที่บริเวณ Exon 5 ตำแหน่ง g.10330G>A และบริเวณ Intron 5 ตำแหน่ง g.10436A>G ยังไม่พบรายงานการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งดังกล่าวในโค ซึ่งเป็นการค้นพบตำแหน่งกลายพันธุ์ใหม่ในโคพื้นเมือง

เมื่อจำลองการย่อยจุดกลายพันธุ์ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ และจำลองการปรากฏของแถบดีเอ็นเอบนเจลโดยใช้โปรแกรม NEBcutter version 2.0 (Figure 1B) ผลวิเคราะห์พบว่าเอนไซม์ *Acil* มีตำแหน่งจดจำเพาะ 5'-C▼CGC-3' และ 3'-GGC▲G-5' สามารถย่อยลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *SCD* ได้ 2 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่ง g.10270 และ g.10329C>T เมื่อจำลองการปรากฏของแถบดีเอ็นเอบนเจลสามารถพบแถบดีเอ็นเอขนาด 58, 158 และ 304 bp ส่วนเอนไซม์ *PstI* ที่มีตำแหน่งจดจำเพาะ 5'-CTGCA▼G-3' และ 3'-G▲ACGTC-5' สามารถย่อยตำแหน่งกลายพันธุ์ g.10330G>A ได้เพียงตำแหน่งเดียวบนเส้นดีเอ็นเอ และปรากฏแถบดีเอ็นเอบนเจลขนาด 218 และ 302 bp สำหรับเอนไซม์ *NdeI* ที่มีตำแหน่งจดจำเพาะ 5'-CA▼TATG-3' และ 3'-GTAT▲AC-5' สามารถย่อยลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนได้ 2 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่ง g.10257 และ g.10436A>G หลังจำลองการปรากฏของแถบดีเอ็นเอบนเจลสามารถพบแถบดีเอ็นเอขนาด 145, 179 และ 196 bp ผลการจำลองชี้ให้เห็นว่าการศึกษาการผันแปรของเบสที่ตำแหน่ง g.10329C>T,

g.10330G>A และตำแหน่ง g.10436A>G ด้วยโปรแกรม NEBcutter version 2.0 สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ *Acil*, *PstI* และ *NdeI* ตามลำดับ

การผันแปรของเบสที่ตำแหน่งกลายพันธุ์กับกรดอะมิโน

วิเคราะห์การผันแปรของเบสกับการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนที่ตำแหน่งการกลายพันธุ์ (Table 1) จากการตรวจสอบการผันแปรของยีน *SCD* ด้วยเอนไซม์ *Acil* ในตำแหน่ง g.10329C>T พบการผันแปรของเบส C/T ที่มีการแทนที่กันของเบส C (GCG) กับเบส T (GIG) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนแอลานีน (Alanine) ไปเป็นวาลีน (Valine) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Taniguchi et al. (2004) ได้ค้นพบว่าการแทนที่ของเบส C กับเบส T ที่ Open reading frame ตำแหน่ง c.878C>T (g.10329C>T) ทำให้กรดอะมิโนแอลานีนเปลี่ยนเป็นวาลีน สำหรับตำแหน่งกลายพันธุ์ g.10330G>A ซึ่งตรวจสอบการผันแปรของเบส G/A ด้วยเอนไซม์ *PstI* พบว่าการผันแปรของเบสที่ตำแหน่งดังกล่าว ที่มีการแทนที่ของเบส G (GCG) แทนเบส A (GCA) เป็นรหัสพันธุกรรมที่กำหนดกรดอะมิโนแอลานีนทั้งคู่ หรือมีการแทนที่ของเบส G (GTG) แทนเบส A (GTA) เป็นรหัสพันธุกรรมที่กำหนดกรดอะมิโนวาลีนทั้งคู่ ตำแหน่งกลายพันธุ์ดังกล่าวจึงไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนแอลานีนและวาลีน ซึ่งเมื่อพิจารณาการกลายพันธุ์ของตำแหน่ง g.10329C>T และตำแหน่ง g.10330G>A จะเห็นว่าการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนแอลานีนไปเป็นกรดอะมิโนวาลีนขึ้นอยู่กับ การผันแปรของเบสที่ตำแหน่ง g.10329 และจากการตรวจสอบการผันแปรของเบส A/G ที่ตำแหน่ง g.10436 ด้วยเอนไซม์ *NdeI* พบว่ามีการแทนที่ของเบส A (ATA) กับเบส G (GTA) ซึ่งเป็นส่วนของ Intron จึงไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน แต่อาจจะพบความสัมพันธ์กับลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจได้ โดยมีรายงานจากการศึกษาของ Alwiyah et al. (2016) พบว่าตำแหน่ง g. 10428C>T บริเวณ Intron 5 มีความสัมพันธ์กับค่าคะแนนไขมันแทรกในโค Bali ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องมาจากบริเวณ Intron นั้น อาจเป็นดีเอ็นเอส่วนที่เกี่ยวข้องกับ enhancer หรือ silencer ที่สามารถส่งผลต่อการถอดรหัสของยีนนั้น ๆ ได้ (Perdew et al., 2006) ส่วนจุดกลายพันธุ์ตำแหน่ง g.10329C>T ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ที่นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน (Non-synonymous Substitutions) อาจมีผลต่อการทำงานของโปรตีนหรือเอนไซม์ที่ยีน *SCD* สังเคราะห์ขึ้นมา และส่งผลต่อลักษณะที่สำคัญในทางเศรษฐกิจในทิศทางที่ดีขึ้นก็เป็นได้ สันนิษฐานว่านำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน จึงเป็นสันนิษฐานที่น่าสนใจในการนำไปศึกษาหาความสัมพันธ์กับลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจต่อไป

Table 1 SNPs of *SCD* gene on g.10329C>T, g.10330G>A and g.10436A>G and change of amino acid

Location	SNPs	Enzymes	Sequence	Amino acid	Change of Amino acid
Exon5	g.10329C>T	<i>Acil</i>	GCG → GIG	Alanine → Valine	Non synonymous
Exon5	g.10330G>A	<i>PstI</i>	GCG → GCA	Alanine → Alanine	synonymous
			GTG → GTA	Valine → Valine	synonymous
Intron 5	g.10436A>G	<i>NdeI</i>	ATA → GTA	-	-

ขนาดอัลลีลและรูปแบบจีโนไทป์ในโคอิสาน

ตรวจผลผลิตพีซีอาร์ด้วย 2% agarose gel และแปลผลขนาดแถบดีเอ็นเอเทียบกับ GeneRuler™ 100 bp DNA ladder พบว่าแถบผลผลิตพีซีอาร์ขนาด 520 bp ในโคอิสาน จากนั้นทำการตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *SCD* ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Acil*, *PstI* และ *NdeI* พบว่าเอนไซม์ *Acil* สามารถย่อยตำแหน่งจุดกลายพันธุ์ g.10329C>T ได้ และปรากฏแถบดีเอ็นเอ 4 ขนาด ได้แก่ ขนาด 58, 158, 304 และ 362 bp โดยกำหนดให้อัลลีล T มีขนาด 158 และ 362 bp และอัลลีล C ขนาด 58, 158 และ 304 bp (Figure 2) ตำแหน่งการกลายพันธุ์ g.10330G>A หลังย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *PstI* พบแถบดีเอ็นเอ 3 ขนาด ได้แก่ ขนาด 218, 302 และ 520 bp โดยกำหนดให้อัลลีล A มีขนาด 218 และ 302 bp และอัลลีล G มีขนาด 520 bp (Figure 3) สำหรับตำแหน่ง

การกลายพันธุ์ g.10436A>G ย่อยด้วยเอนไซม์ *NdeI* พบแถบดีเอ็นเอ 4 ขนาด ได้แก่ ขนาด 145, 179, 196 และ 375 bp โดยกำหนดให้อัลลีล A มีขนาด 145, 179 และ 196 bp และอัลลีล G มีขนาด 145 และ 375 bp (Figure 4)

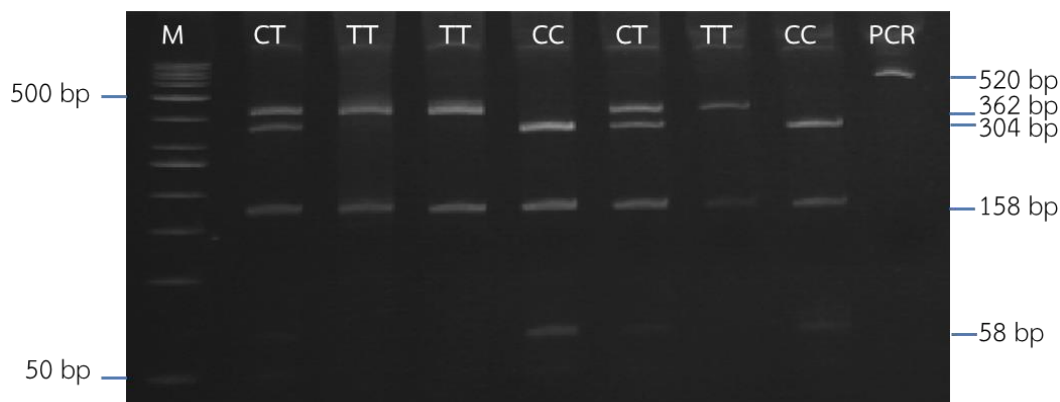


Figure 2 Patterns of g.10329C>T digest by *Acil* enzymes on 8% polyacrylamide gel electrophoresis in Kho-Issan. (M = 50 bp DNA marker ladder; Lane 1 and 5 = CT; Line 2, 3 and 6 = TT; Line 4 and 7 = CC; PCR = PCR product of *SCD* gene)

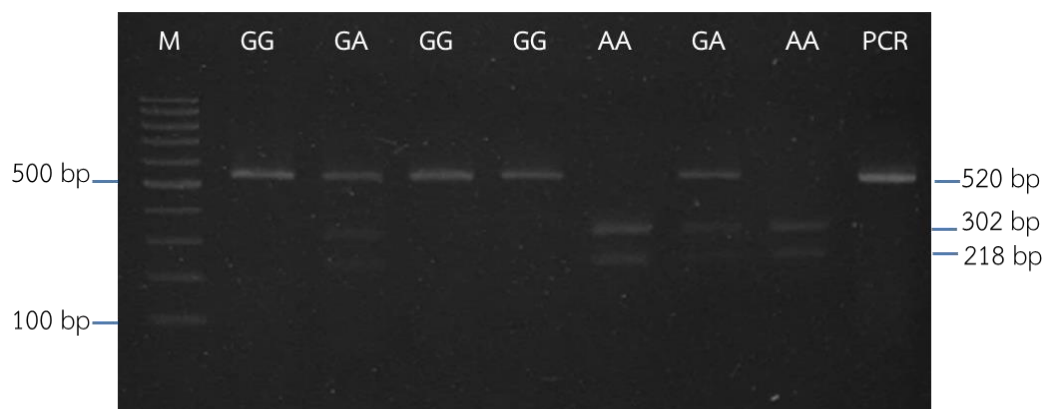


Figure 3 Patterns of g.10330G>A digest by *PstI* enzymes on 2% Agarose gel electrophoresis in Kho-Issan. (M = 100 bp DNA marker ladder; Lane 1, 3 and 4 = GG; Line 2 and 6 = GA; Line 5 and 7 = CC; PCR = PCR product of *SCD* gene)

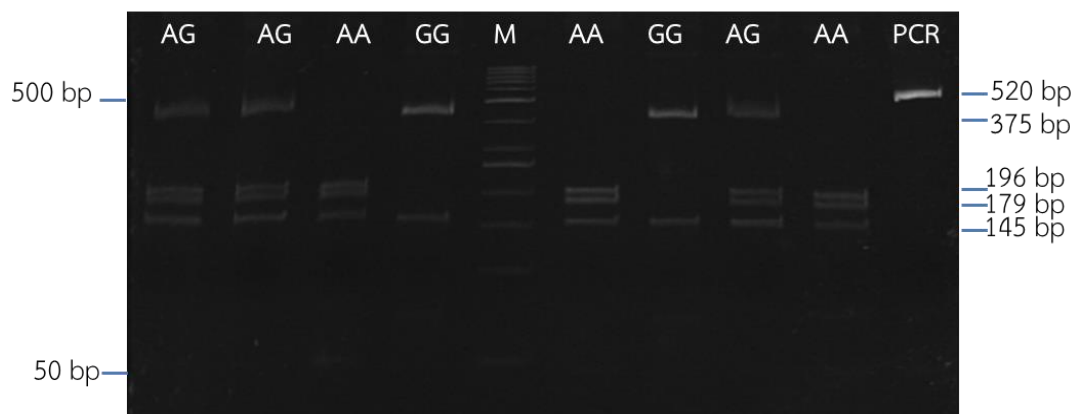


Figure 4 Patterns of g.10436A>G digest by *NdeI* enzymes on 8% polyacrylamide gel electrophoresis in Kho-Issan. (M = 50 bp DNA marker ladder; Lane 1, 2 and 8 = AG; Line 3, 6 and 9 = AA; Line 4 and 7 = GG; PCR = PCR product of *SCD* gene)

ผลวิเคราะห์รูปแบบจีโนไทป์ของยีน *SCD* ตำแหน่ง g.10329C>T, g.10330G>A และ g.10436A>G ด้วยเอนไซม์ *Acil*, *PstI* และ *NdeI* ในโคอิสาน พบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *SCD/Acil* 3 รูปแบบ คือจีโนไทป์ CC, CT และ TT ผลสอดคล้องกับในโคเชตร้อน (*Bos indicus*) กลุ่มโคพื้นเมืองแถบกัมพูชา พม่า และลาว อีกทั้งในโคเขตหนาว (*Bos taurus*) สายพันธุ์ให้ผลผลิตเนื้อแถบยุโรปพันธุ์ Angus, Hereford, Chianina, Romagnola, Marchigiana, Piemontese และแถบเอเชียตะวันออกเฉียงเหนือพันธุ์ Japanese Black, Japanese Brown, Korean Native, Mongolian, Hanwoo รวมถึงโคเขตหนาวสายพันธุ์ให้ผลผลิตน้ำมันแถบยุโรปและแถบเอเชียตะวันออกเฉียงเหนือพันธุ์ Holstein, Grey Alpine, Italian Brown, Cabannina, Italian Holstein, Rendena และพันธุ์ Chinese Holstein ซึ่งพบรูปแบบจีโนไทป์ CC, CT และจีโนไทป์ TT (Taniguchi et al., 2004; Oh et al., 2011; Kaneda et al., 2011; Alim et al., 2012; Oh et al., 2013) แต่แตกต่างจากในโค Bali (*Bos Javanicus*) พบรูปแบบจีโนไทป์ TT เพียงรูปแบบเดียว (Alwiyah et al., 2016) สำหรับผลวิเคราะห์รูปแบบจีโนไทป์ของยีน *SCD/PstI* พบรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ (จีโนไทป์ AA, GA และ GG) และรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *SCD/NdeI* พบรูปแบบจีโนไทป์ AA, AG และจีโนไทป์ GG ซึ่งเป็นการค้นพบชนิดตำแหน่งใหม่ที่ยังไม่มีรายงานการศึกษาในโค (g.10330G>A และ g.10436A>G) จึงไม่มีข้อมูลนำมาเปรียบเทียบ

ความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีล

ผลวิเคราะห์ความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีลของจุดกลายพันธุ์ตำแหน่ง g.10329C>T, g.10330G>A และ g.10436A>G ในโคอิสาน แสดงดัง **Table 2** จากผลวิเคราะห์ค่าความถี่อัลลีลของยีน *SCD* ด้วยเอนไซม์ *Acil* ที่ตำแหน่ง g.10329C>T พบความถี่จีโนไทป์ TT (0.606) สูงกว่าจีโนไทป์ CT (0.339) และ CC (0.055) และมีค่าความถี่อัลลีล T เท่ากับ 0.775 และอัลลีล C (0.225) สอดคล้องกับในโคพื้นเมืองแถบกัมพูชา พม่า และลาว, โคเนื้อพันธุ์ Korean (Hanwoo) พบการกลายพันธุ์ของยีน *SCD* บริเวณ Exon 5 มีค่าความถี่จีโนไทป์ TT อยู่ในช่วง 0.256-0.537 สูงกว่าจีโนไทป์ CC ที่มีค่าอยู่ในช่วง 0.071-0.222 และมีค่าความถี่อัลลีล T อยู่ในช่วง 0.557-0.773 และอัลลีล C อยู่ในช่วง 0.267-0.444 (Kaneda et al., 2011; Oh et al., 2011; Oh et al., 2013) แตกต่างจากการศึกษาของ Kaneda et al. (2011) ที่ศึกษาการผันแปรของเบสที่ตำแหน่ง g.10329C>T ด้วยเอนไซม์ *Acil* พบค่าความถี่จีโนไทป์ TT อยู่ในช่วง 0.028-0.174 ต่ำกว่าจีโนไทป์ CC (0.340-0.694) และจีโนไทป์ CT (0.340-0.486) และมีค่าความถี่อัลลีล T อยู่ในช่วง 0.167-0.417 และอัลลีล C (0.583-0.833) ในโคเนื้อพันธุ์ Japanese Black, Japanese Brown, Korean, Mongolian, Angus และโคพันธุ์ Hereford ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาของ Taniguchi et al. (2004) ได้ศึกษาจุดกลายพันธุ์ของยีน *SCD* บริเวณ Exon 5 ด้วยเอนไซม์ *Fnu4HI* พบความถี่จีโนไทป์ TT เท่ากับ 0.099 ต่ำกว่าจีโนไทป์ CT (0.633) และ CC (0.277) และมีค่าความถี่อัลลีล C เท่ากับ 0.594 และอัลลีล T (0.406) ในโค Japanese Black นอกจากนี้ในโคที่ให้ผลผลิตน้ำมัน เช่น โคพันธุ์

Holstein และพันธุ์ Chinese Holstein มีค่าความถี่จีโนไทป์ TT อยู่ในช่วง 0.080-0.102 ต่ำกว่าจีโนไทป์ CT (0.406-0.480) และ CC (0.418-0.514) และค่าความถี่อัลลีล T อยู่ในช่วง 0.283-0.342 และอัลลีล C (0.658-0.717) อย่างไรก็ตามในโค Bali ไม่พบความผันแปรของเบสที่ตำแหน่ง g.10329C>T และพบรูปแบบจีโนไทป์ TT เพียงรูปแบบเดียว (Alwiyah et al., 2016) ทั้งนี้การตรวจพบรูปแบบจีโนไทป์ ความถี่จีโนไทป์ และอัลลีลที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับโคแต่ละสายพันธุ์ และบริเวณจุดกลายพันธุ์ที่ได้ทำการศึกษา

ผลการศึกษาดำเนินการกลายพันธุ์ g.10330G>A ที่ตรวจสอบการผันแปรของเบสด้วยเอนไซม์ *Pst*I พบค่าความถี่จีโนไทป์ AA, GA และ GG มีค่าเท่ากับ 0.509, 0.355 และ 0.136 ตามลำดับ และมีค่าความถี่อัลลีล A เท่ากับ 0.686 และอัลลีล G (0.314) และตำแหน่งการกลายพันธุ์ g.10257A>G และ g.10436A>G ซึ่งตรวจสอบการผันแปรของเบสด้วยเอนไซม์ *Nde*I มีค่าความถี่จีโนไทป์ AA เท่ากับ 0.879 สูงกว่าจีโนไทป์ AG (0.112) และ GG (0.009) และมีค่าความถี่อัลลีล A เท่ากับ 0.939 และอัลลีล G (0.061) ในโคอีสาน

การพบความหลากหลายของจุดกลายพันธุ์ตำแหน่ง g.10329C>T, g.10330G>A และ g.10436A>G ของยีน *SCD* ในโคอีสาน อาจเนื่องมาจากโคที่นำมาใช้ศึกษาครั้งนี้เป็นโคพื้นเมืองที่เลี้ยงโดยเกษตรกรรายย่อย ที่มีรูปแบบการเลี้ยงปล่อยให้หากินเองตามธรรมชาติ ให้พ่อพันธุ์คุมฝูง และมีการผสมพันธุ์กันอย่างสุ่ม ซึ่งเกษตรกรไม่ได้มีการคัดเลือกลักษณะใด ๆ ในฝูงโคอีสาน จึงอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านพันธุกรรมที่เป็นไปตามธรรมชาติ อีกทั้งจากการรวบรวมเอกสารจะเห็นได้ว่ายีน *SCD* มักพบความหลากหลายทางด้านพันธุกรรมและตำแหน่งการกลายพันธุ์ทั้งในโคเขตหนาวและโคเขตร้อน จึงอาจจะเป็นไปได้ที่จะพบความหลากหลายของยีน *SCD* ในโคอีสานเช่นกัน

Table 2 Genotype and allele frequencies of *SCD* gene on g.10329C>T, g.10330G>A and g.10436A>G in Kho-Issan

Position and SNP	Enzymes	Genotypes frequency (N)			Allele frequency	
		CC	CT	TT	C	T
g.10329C>T	<i>Acc</i> I	0.055 (6)	0.339 (37)	0.606 (66)	0.225	0.775
g.10330G>A	<i>Pst</i> II	AA	GA	GG	A	G
		0.509 (56)	0.355 (39)	0.136 (15)	0.686	0.314
g.10436A>G	<i>Nde</i> I	AA	AG	GG	A	G
		0.879 (94)	0.112 (12)	0.009 (1)	0.939	0.061

สรุป

ผลการศึกษาดำเนินการกลายพันธุ์ของยีน *SCD* บริเวณ Exon5 และ Intron 5 ในโคอีสาน พบตำแหน่งการกลายพันธุ์ทั้งหมด 3 ตำแหน่ง ได้แก่ ตำแหน่ง g.10329C>T, g.10330G>A และ g.10436A>G โดยพบว่าตำแหน่งการกลายพันธุ์ของยีน *SCD* ในโคอีสานที่น่าสนใจคือตำแหน่ง g.10329C>T เนื่องจากเป็นจุดกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ที่นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน (Non-synonymous) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนนี้อาจมีผลต่อการทำงานของโปรตีนหรือเอนไซม์ที่ยีน *SCD* สังเคราะห์ขึ้นมาในทิศทางที่ดีขึ้น และตำแหน่ง g.10436A>G ที่ถึงแม้จะเป็นส่วนของ Intron แต่อาจเป็นส่วนสำคัญที่เกี่ยวข้องกับ enhancer หรือ silencer ที่มีบทบาทต่อการแสดงออกของยีน อย่างไรก็ตามในอนาคตควรมีการศึกษาดำเนินการกลายพันธุ์ดังกล่าวในโคพื้นเมืองภาคอื่น ๆ เพิ่มเติม และควรวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์กับลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น ลักษณะคุณภาพเนื้อ คุณภาพซาก องค์ประกอบกรดไขมันต่าง ๆ เป็นต้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร ที่สนับสนุนสถานที่ทำงานวิจัย และขอขอบคุณโครงการวิจัยการพัฒนาและยกระดับโคพื้นเมืองภูพาน กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (กสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- สุทธิพงศ์ อริยะพงศ์สรรค์. 2555. การสร้างมูลค่าเพิ่มแก่โคพื้นเมืองและเนื้อโคพื้นเมืองของไทย. แก่นเกษตร. 40: 60-63.
- Alim, M.A., Y.P. Fan, X.P. Wu, Y. Xie, Y. Zhang, S.L. Zhang, D.X. Sun, Y. Zhang, Q. Zhang, L. Liu, and G. Guo. 2012. Genetic effects of stearoyl-coenzyme A desaturase (SCD) polymorphism on milk production traits in the Chinese dairy population. *Molecular Biology Reports*. 39: 8733-8740.
- Alwiyah, A., H. Naraini, P.P. Agung, and J. Jakaria. 2016. Polymorphism stearoyl-coa desaturase (SCD) gene and association with characteristics meat in Bali cattle. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 41: 188-195.
- Aviles, C., A. Horcada, O. Polvillo, A. Membrillo, G. Anaya, A. Molina, M.J. Alcalde, and B. Panea. 2016. Association study between variability in the SCD gene and the fatty acid profile in perirenal and intramuscular fat deposits from Spanish goat populations. *Small Ruminant Research*. 136: 127-131.
- Barton, L., T. Kott, D. Bures, D. Rehak, R. Zahradkova, and B. Kottova. 2010. The polymorphisms of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) and sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1) genes and their association with the fatty acid profile of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls. *Meat Science*. 85: 15-20.
- Crespo-Piazuelo, D., L. Criado-Mesas, M. Revilla, A. Castello, J.L. Noguera, A.I. Fernandez, M. Ballester, and J.M. Folch. 2020. Identification of strong candidate genes for back fat and intramuscular fatty acid composition in three crosses based on the Iberian pig. *Scientific Reports*. 10: 13962.
- Dawood, M., L.M. Kramer, M.I. Shabbir, and J.M. Reecy. 2021. Genome-wide association study for fatty acid composition in American Angus cattle. *Animals*. 11: 2424.
- Furqon, A., A. Gunawan, N. Ulupi, T. Suryati, and C. Sumantri. 2017. Expression and association of SCD gene polymorphisms and fatty acid composition in chicken cross. *Media Peternakan*. 40: 151-157.
- Kaneda, M., B.Z. Lin, S. Sasazaki, K. Oyama, and H. Mannen. 2011. Allele Frequencies of gene polymorphisms related to economic trait in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle breeds. *Animal Science Journal*. 82: 717-721.
- Kaplanova, K., A. Dufek, E. Drackova, J. Simeonovova, J. Subrt, I. Vrtkova, and J. Dvorak. 2013. The association of CAPN1, CAST, SCD, and FASN polymorphisms with beef quality traits in commercial crossbred cattle in the Czech Republic. *Czech Journal of Animal Science*. 11: 489-496.
- Oh, D.Y., Y.S. Lee, and J.S. Yeo. 2011. Identification of the SNP (single nucleotide polymorphism) of the stearoyl-CoA desaturase (SCD) associated with unsaturated fatty acid in Hanwoo. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 24: 757-765.

- Oh, D.Y., M.H. Jin, Y.S. Lee, J.J. Ha, B.K. Kim, J.S. Yeo, and J.Y. Lee. 2013. Identification of stearoyl-CoA desaturase (SCD) gene interactions in Korean native cattle based on the multifactor-dimensionality reduction method. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 26: 1218-1228.
- Li, Y., H. Zhou, L. Cheng, J. Zhao, and J. Hickford. 2020. Variation in the stearoyl-CoA desaturase gene (SCD) and its influence on milk fatty acid composition in late-lactation dairy cattle grazed on pasture. *Archives Animal Breeding*. 63: 355-366.
- Martins, T.d.S., M.V.A. de Lemos, L. Mueller, F. Baldi, T.R. de Amorim, A.M. Ferrinho, J.A. Munoz, I.H.d. Fuzikawa, G.V. de Moura, and J.L.G.A.S.C. Pereira. 2018. Fat Deposition, Fatty Acid Composition, and Its Relationship with Meat Quality and Human Health. *Meat Science and Nutrition*. (Online). Available: <https://www.intechopen.com/chapters/61577> doi: 10.5772/intechopen.77994.
- Perdew, G.H., P.V.H. John, and M.P. Jeffrey. 2006. Regulation of gene expression: Molecular mechanisms. Humana Press. Inc. New Jersey. 342.
- SAS Institute Inc. 2015. SAS®University Edition: Installation Guide for windows. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Sethakul, J., Y. Opatpatanakit, P. Sivapirunthep, and P. Intrapornudom. 2008. Beef quality under production systems in Thailand: preliminary remarks. In: *Proceedings of the 13th, AAAP Animal Science Congress Hanoi*; 22-26 Sept 2008: Hanoi, Vietnam.
- Soltani-Ghombavani, M., S. Ansari-Mahyari, M. Rostami, S. Ghanbari-Baghenoei, and M.A. Edriss. 2016. Effect of polymorphisms in the ABCG2, LEPR and SCD1 genes on milk production traits in Holstein cows. *South African Journal of Animal Science*. 46: 196–203.
- Taniguchi, M., T. Utsugi, K. Oyama, H. Mannen, M. Kobayashi, Y. Tanabe, A. Ogino, and S. Tsuji. 2004. Genotype of stearoyl-CoA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle. *Mammalian Genome*. 15: 142-148.
- Tian, P., Y. Luo, X. Li, J. Tian, S. Tao, C. Hua, Y. Geng, Y. Ni, and R. Zhao. 2017. Negative effects of long-term feeding of high-grain diets to lactating goats on milk fat production and composition by regulating gene expression and DNA methylation in the mammary gland. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 8: 74.
- Wu, X.X., Z.P. Yang, X.K. Shi, J.Y. Li, D.J. Ji, Y.J. Mao, L.L. Chang, and H.J. Gao. 2012. Association of SCD1 and DGAT1 SNPs with the intramuscular fat traits in Chinese Simmental cattle and their distribution in eight Chinese cattle breeds. *Molecular Biology Reports*. 39: 1065–1071.