195866

กุลสุดา ชมวิศรุตกุล 2550: การใช้เทคนิค PCR-SSCP เพื่อตรวจสอบการกลายพันธุ์ของยีนคาร์เทปซินดี และยีนไวเทลโลเจนนิน ทู ในไก่ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา ประธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์วรวิทย์ สิริพลวัฒน์, D.Agr. 73 หน้า

ยีนคาร์เทปซินดี (Cathepsin D; *CTSD*) และยีนไวเทลโลเจนนิน ทู (Vitellogenin II; *VTG II*) มีบทบาทต่อกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนที่เป็นสารตั้งต้นในการสร้างไข่แดงในสัตว์ปีก ยีนทั้งสองจึงจัดเป็น candidate gene ที่มีความสำคัญต่อลักษณะการให้ไข่ดกในไก่ ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ใช้ไก่ไข่สายพันธุ์ทางการค้า ที่เป็นไก่ที่มีพันธุกรรมให้ไข่ดก จำนวน 30 ตัว และไก่สามเหลือง ที่ให้ไข่ไม่ดก จำนวน 30 ตัว ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรม ในยีน *CTSD* และ *VTG II* โดยออกแบบไพรเมอร์จาก cDNA และ genomic DNA จากฐานข้อมูลใน GenBank เพื่อใช้วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างยีนทั้งสอง กับลักษณะการให้ไข่ ยีน *CTSD* ถูกเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) ในส่วน 5′ -flanking region และส่วน coding sequence สำหรับยีน *VTG II* ถูกเพิ่มปริมาณ DNA ในส่วน 5' -end region และส่วน coding sequence ในบริเวณ exon 4 และ บริเวณ exon 27 พบแถบ DNA ที่ได้จาก cDNA ของยีน *CTSD* ทั้งสองบริเวณมีขนาด 194 และ 223 bp ตามลำดับ และที่ได้จาก genomic DNA ของยีน *VTG II* ทั้งสามบริเวณมีขนาด 261, 216 และ 169 bp ตามลำดับ แถบดีเอ็นเอทั้งหมดถูกนำมาวิเคราะห์หา Single Nucleotide Polymorphism (SNPs) ด้วยเทคนิค Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) บน nondenaturing polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) ที่ความเข้มข้น 8% และยืนยันผลด้วยโปรแกรม BioNumerics version 4.60 (Applied Maths) พบว่ารูปแบบของแถบดีเอ็นเอของยีน *CTSD* และ *VTG II* ในบริเวณต่าง ๆ ระหว่างไก่ไข่สายพันธุ์ทางการค้า และไก่สามเหลือง ไม่มีความแตกต่างกัน แต่เมื่อนำยีนทั้งสองไปหาลำดับเบส พบว่าลำดับเบสยีน *VTG II* บริเวณ 5' -end region ของไก่ไข่แตกต่างจากไก่สามเหลือง เนื่องจากลำดับเบสมีการกลายพันธุ์ โดยมีการแทนที่เบส

195866

Kunsuda Chomwisarutkun 2007: Use of a PCR-Single Strand Conformation Polymorphism (PCR-SSCP) for Detection of a Point Mutation in Chicken *Cathepsin D* and *Vitellogenin II* Genes. Mater of Science (Agricultural Biotechnology), Major Field: Agriculture Biotechnolgy, Interdisciplinary Graduate Program. Thesis Advisor: Associate Professor Voravit Siripholvat, D.Agr. 73 pages.

Cathepsin D (*CTSD*) and Vitellogenin II (*VTG II*) genes play a major role in the protein synthesis of the precursor of avian egg yolk. The *CTSD* and *VTG II* are considered as candidate genes for high egg production trait. Thirty commercial layers represented as high egg production and 30 Tri-yellow chickens represented as low egg production are used in this study. Polymorphisms of *CTSD* and *VTG II* genes were identified in cDNA and genomic DNA of both chicken breeds to carry out an association analysis between two these genes and egg production traits. PCR primers were designed from sequence in GenBank database. The 5′ -flanking region and coding sequence of *CTSD* gene were amplified with polymerase chain reaction (PCR), as well as the *VTG II* gene was amplified at the 5' -end region, exon 4 and exon 27. Single Nucleotide Polymorphism (SNPs) were identified within two *CTSD* (194 and 223 bp) and three *VTG II* (261, 216 and 169 bp) fragments by using single strand conformation polymorphism (SSCP). The SSCP patterns were analysed on the 8% nondenaturing polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and confirmed the results by BioNumerics version 4.60 (Applied Maths). The results showed that the SSCP bands did not different in commercial layer and Tri-yellow chickens. But, nucleotide sequences of *VTG II* gene in the commercial layer were different from Tri-yellow chickens. Because, there were 10 point mutations in this gene with substitution.