

การประยุกต์ใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์

Application of genetic makers in animal improvement

ศุภมิตร เมฆฉาย^{1*}

เครื่องหมายทางพันธุกรรม

เครื่องหมายทางพันธุกรรม (genetic markers) คือ เครื่องหมาย หรือตัวชี้วัดที่สามารถระบุความแตกต่าง หรือจำแนกลักษณะปรากฏ (phenotype) และลักษณะทางพันธุกรรม (genetics) ของสิ่งมีชีวิตได้ ซึ่งเครื่องหมายทางพันธุกรรมดังกล่าว ต้องสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมไปสู่รุ่นลูกหลานได้ เครื่องหมายทางพันธุกรรม สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ (1) เครื่องหมายทางลักษณะสัณฐานวิทยา (morphological markers) คือ ลักษณะปรากฏภายนอก ที่สามารถจำแนกลักษณะความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต (2) เครื่องหมายทางชีวเคมี (biochemical markers) ซึ่งเป็นผลผลิตของยีน ได้แก่ โปรตีนในเลือด และโปรตีนในนม รวมถึงหมู่เลือดต่างๆ และ (3) เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA markers) คือ ตำแหน่งความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์บนโมเลกุลดีเอ็นเอ

การศึกษาเครื่องหมายทางพันธุกรรม

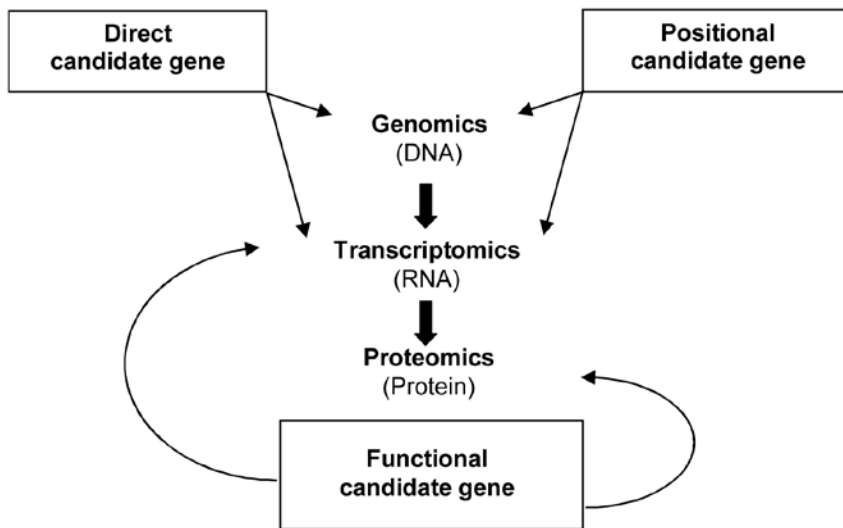
ปัจจุบันความรู้ทางด้านจีโนมถูกนำมาใช้ศึกษาเครื่องหมายทางพันธุกรรม โดยเฉพาะการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอสำหรับบ่งชี้ลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 3 ระดับ คือ (1) ระดับดีเอ็นเอ (genomics) (2) ระดับอาร์เอ็นเอ (transcriptomics) และ (3) ระดับโปรตีน (proteomics) โดยที่ direct candidate gene เป็นการศึกษาใน

ระดับ genomics (DNA) หรือ transcriptomics (RNA) เช่นเดียวกันกับ position candidate gene เป็นการศึกษาในระดับของ functional candidate gene เป็นการศึกษาในระดับของ transcriptomics และ proteomics (ดังภาพที่ 1)

ทางชีววิทยา สรีรวิทยา หรือชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ เพื่อค้นหาความผันแปรของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอบนยีนดังกล่าวที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะปรากฏที่สนใจ ในปัจจุบันมีการใช้เทคโนโลยีของ SNP chip เพื่อค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอจำนวนมากที่มีความเกี่ยวข้องกับลักษณะปรากฏในคราวเดียวกัน ซึ่งเรียกเทคนิคดังกล่าวว่า genome wide association analysis ในขณะที่การค้นหาตำแหน่งที่ตั้งของยีนที่ควบคุมลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ (Quantitative trait loci, QTL) ซึ่งเรียกวิธีการดังกล่าวว่า positional candidate gene หรือ QTL mapping ซึ่งการศึกษาการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ ที่มีความสัมพันธ์กับความผันแปรลักษณะปรากฏ (phenotypic variation) ภายหลังมีการพัฒนาวิธีการค้นหาตำแหน่งของยีนบนโครโมโซม ที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่งเรียกวิธีการดังกล่าวว่า expression QTL (eQTL)

¹ ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ 50200

* Corresponding author: agismkch@chiangmai.ac.th



ภาพที่ 1 กลยุทธ์ในการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลในระดับ genomics, transcriptomics และ proteomics

การศึกษาทรานสคริปโตมิกส์ เป็นการวิเคราะห์ หากกลุ่มยีนเป้าหมายที่มีการแสดงออกของยีนใน เนื้อเยื่อ ในช่วงเวลาใดเวลาหนึ่ง หรือการเปรียบเทียบ การแสดงออกของกลุ่มยีนในเนื้อเยื่อ เป้าหมายภายใต้เงื่อนไขสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน โดยอาศัย เทคโนโลยีของดีเอ็นเอไมโครอะเรย์ (DNA microarray) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า ยีนชิป (gene chip) เช่น การ ศึกษาการแสดงออกของยีนในอวัยวะเป้าหมายต่างๆ ที่มีความผลต่อลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น ไร่ข้าว (Caetano et al., 2004) กล้ามเนื้อ (Bai et al., 2003) ตับ (Cogburn et al., 2003) โดยเปรียบเทียบระหว่าง สัตว์ที่มีลักษณะปรากฏแตกต่างกัน เช่น ให้ลูกตก-ไม่ ตก หรือโตเร็ว-โตช้า การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ ยีนที่แสดงออกในเซลล์ เนื้อเยื่อที่ได้รับสภาพแวดล้อม ที่แตกต่างกัน เช่น การเปลี่ยนแปลงของยีนที่แสดงออก ในเซลล์เม็ดเลือดขาวของสัตว์ปศุสัตว์ที่ถูกทำให้ติดเชื้อ (Moser et al., 2004) และการแสดงออกของยีนที่ แตกต่างกันในเซลล์ตับของสัตว์ที่ได้รับอาหารปกติ-ถูก จำกัดอาหาร (Byrne et al., 2005)

ส่วนการศึกษาโปรตีโอมิกส์ เป็นการวิเคราะห์กลุ่ม โปรตีนเป้าหมายที่มีการแสดงออกในเนื้อเยื่อ ในช่วง

เวลาใดเวลาหนึ่ง ซึ่งคล้ายคลึงกับทรานสคริปโตมิกส์ แต่แตกต่างกันที่โปรตีโอมิกส์เป็นการศึกษาผลผลิต ในขั้นสุดท้ายของยีน โดยอาศัยเทคนิค 2 dimensional gel electrophoresis (2DGE) ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ นั้น โปรตีโอมิกส์ถูกนำมาใช้ค้นหาเครื่องหมายโปรตีน ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจในสัตว์ เลี้ยง (ไก่ สุกร โค และแกะ) อาทิเช่น การศึกษาโปรตี โอมิกส์จากต่อมใต้สมอง (hypothalamus) ของไก่ที่ ให้ไข่ตกเปรียบเทียบกับไก่ที่ให้ไข่ไม่ตก (Kuo et al., 2005) หรือการเปรียบเทียบรูปแบบของโปรตีโอมิกส์ ในกล้ามเนื้อของสุกร ที่มีลักษณะสีซีดกับเนื้อลักษณะ สีคล้ำ (Sayd et al., 2006) รวมถึงการศึกษารูปแบบ การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่แสดงออกในกล้ามเนื้อ ไก่ (Teltathum and Mekchay, 2009)

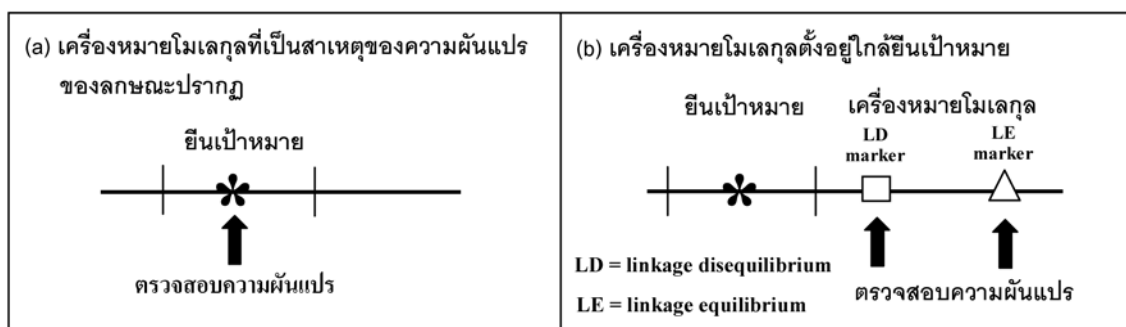
การประยุกต์ใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรมในการ ปรับปรุงพันธุ์สัตว์

ลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจในปศุสัตว์ (เช่น ลักษณะการให้ผลผลิตเนื้อ นม ไข่ หรือการให้ลูก) ส่วน มากเป็นลักษณะทางปริมาณ (Quantitative traits) มัก

ถูกควบคุมด้วยยีนหลายคู่ และมีปัจจัยของสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของลักษณะดังกล่าว ลักษณะการให้ผลผลิตของสัตว์มักแสดงออกได้เฉพาะในสัตว์เพศเมียเท่านั้น หรือแสดงออกในช่วงวัยเจริญพันธุ์ เช่น ลักษณะการให้ลูก การให้น้ำนม และการให้ไข่ นอกจากนี้ลักษณะบางอย่างสามารถวัดค่าได้ยาก หรือมีค่าใช้จ่ายสูง เช่น ลักษณะความต้านทานต่อโรค รวมถึงลักษณะที่จำเป็นต้องฆ่าสัตว์ก่อนจึงจะสามารถวัดค่าได้ เช่น ลักษณะซาก หรือคุณภาพเนื้อ ซึ่งลักษณะดังกล่าวข้างต้นล้วนแล้วแต่เป็นข้อจำกัดของการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีมาตรฐาน (การคัดเลือก และการผสมพันธุ์) มักจะใช้ระยะเวลานาน ได้ผลช้า ความแม่นยำในการคัดเลือกต่ำ และลักษณะการให้ผลผลิตบางอย่างไม่สามารถคัดเลือกในสัตว์เพศผู้ได้โดยตรง อีกทั้งยังไม่สามารถระบุตำแหน่งที่ตั้งของยีนที่ควบคุมลักษณะดังกล่าวบนโครโมโซมได้ จากองค์ความรู้ทางด้านพันธุศาสตร์โมเลกุล สามารถใช้เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอช่วยแก้ไขข้อจำกัดดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพิ่มขีดความสามารถในการคัดเลือกพันธุ์สัตว์ให้แม่นยำมากยิ่งขึ้น ซึ่งพิจารณาจากข้อมูล

ในระดับโมเลกุลดีเอ็นเอ เพื่อประเมินสมรรถภาพการผลิตของสัตว์ โดยไม่มีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมเข้ามารบกวน

เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอสามารถใช้บ่งชี้ลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจในสัตว์ได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่ตั้งของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ ซึ่งมีอยู่ 2 รูปแบบ (1) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอตั้งอยู่บนยีนที่ควบคุมลักษณะนั้น โดยความผันแปรของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอเป็นสาเหตุที่แท้จริงของการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏ (ภาพที่ 2a) และ (2) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอตั้งอยู่ในบริเวณข้างเคียงกับยีนที่ควบคุมลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยที่เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าว ไม่มีผลโดยตรงต่อความผันแปรของลักษณะปรากฏ แต่แสดงความสัมพันธ์กับลักษณะปรากฏ และถ่ายทอดทางพันธุกรรมในรูป linkage marker (disequilibrium หรือ equilibrium) ไปกับยีนเป้าหมายเสมอ (ภาพที่ 2b) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ ที่ใช้บ่งชี้ลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจในปศุสัตว์ ส่วนใหญ่มักจะเป็นแบบหลังมากกว่าแบบแรก



ภาพที่ 2 รูปแบบของเครื่องหมายทางพันธุกรรม (a) ความผันแปรของเครื่องหมายโมเลกุลมีผลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงของลักษณะปรากฏ (b) ความผันแปรของเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความสัมพันธ์กับ ลักษณะปรากฏ (ดัดแปลงจาก Simm, 2000)

สำหรับการประยุกต์ใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรม ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แนวทาง คือ (1) marker assisted selection (MAS) และ (2) marker assisted introgression (MAI) โดยที่ MAS คือการใช้เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอในการคัดเลือกพันธุ์สัตว์นั้น โดยพิจารณาจากข้อมูลพันธุกรรมในระดับโมเลกุลดีเอ็นเอ ซึ่งไม่เปลี่ยนแปลงตามอิทธิพลของสิ่งแวดล้อม การใช้เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ สำหรับคัดเลือกพันธุ์สัตว์นั้น มีเป้าหมายเพื่อคัดเลือกอัลลีล ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะปรากฏที่สนใจ หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งได้ว่า การคัดเลือกเพื่อเพิ่มความถี่อัลลีลที่ควบคุมลักษณะปรากฏที่สนใจ โดยอาศัยการคัดเลือกผ่านเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ ซึ่งนำไปสู่การปรับปรุงลักษณะปรากฏที่สนใจ ให้มีผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอหรืออัลลีลดังกล่าว ต้องสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมไปสู่ลูกหลานรุ่นถัดไป สำหรับตัวอย่างเช่นการใช้เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *ESR*, *RBP4*, *FSHR*, *MC4R*, *LEP*, *LEPR*, *IGF2*, *CAST*, *GH*, *GHR* หรือ *FUT1* เพื่อคัดเลือกลักษณะการสืบพันธุ์ การเจริญเติบโต คุณภาพเนื้อ หรือความต้านทานต่อโรค ในสุกร โค ไก่ หรือแกะ เป็นต้น สำหรับ MAI เป็นการนำยีนของลักษณะที่ต้องการจากฝูงสัตว์อื่น เข้ามายังฝูงประชากรสัตว์ดังกล่าวได้ โดยอาศัยหลักการผสมข้าม (crossbreeding) และการผสมกลับ (backcross) ควบคู่กับการใช้เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ เพื่อคัดเลือกสัตว์ที่มีอัลลีลที่ต้องการเก็บไว้ ตัวอย่างเช่น การนำอัลลีลที่นำอัลลีลของยีน halothane หรือ *RYR* ที่อยู่ในรูปปกติ (normal allele) เข้าไปยังสุกรสายพันธุ์ Piétrain (อัลลีลส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่ไวต่อความเครียด) ด้วยวิธี repeated backcross (BC) ควบคู่กับการใช้เครื่องหมายโมเลกุล *RYR* โดยพบว่าภายใน BC ช่วงที่ 3 (BC3) นั้น ทำให้สุกรมีอัลลีลที่ต้านทานต่อความเครียด และมีลักษณะองค์ประกอบซากใกล้เคียงกับสุกร Piétrain พันธุ์แท้ (Hanset et al., 1995) หรือการนำยีน Booroola (*FecB*) จากแกะพันธุ์ Booroola Merino เข้าไปยังแกะพันธุ์ Awassi และ Assaf ซึ่งมีผลทำให้จำนวนลูกแกะเพิ่มขึ้นจาก 1.2-1.6 ตัวต่อแม่ เป็น 2.0 ตัวต่อแม่ (Gootwine et al., 2001)

เอกสารอ้างอิง

- Bai, Q., C. Mc Gillivray, N. da Costa, S. Dornan, G. Evans, M.J. Stear and K.C. Chang. 2003. Development of a porcine skeletal muscle cDNA microarray: analysis of differential transcript expression in phenotypically distinct muscles. *BMC Genomics*. 1: 8.
- Byrne, K.A., Y.H. Wang, S.A. Lehnert, G.S. Harper, S.M. Mc William, H.L. Bruce, and A. Reverter. 2005. Gene expression profiling of muscle tissue in Brahman steers during nutritional restriction. *J Anim Sci*. 83: 1-12.
- Caetano, A.R., R.K. Johnson, J.J. Ford and D. Pom. 2004. Microarray profiling for differential gene expression in ovaries and ovarian follicles of pigs selected for increased ovulation rate. *Genetics*. 168: 1529-1537.
- Cogburn, L.A., X. Wang, W. Carre, L. Rejto, T.E. Porter, S.E. Aggrey and J. Simon. 2003. Systems-wide chicken DNA microarrays, gene expression profiling, and discovery of functional genes. *Poult Sci*. 82: 939-951.
- Gootwine, E., A. Zenu, A. Bor, S. Yossafi, A. Rosov and G.E. Pollott. 2001. Genetic and economic analysis of introgression the B allele of the *FecB* (Booroola) gene into the Awassi and Assaf dairy breeds. *Livest. Prod. Sci*. 71: 49-58.
- Hanset, R., C. Dasnois, S. Scalais, C. Michaux and L. Grobet. 1995. Introgression into the Piétrain genome of the normal allele at the locus for halothane sensitivity. *Genet. Sel. Evol*. 27: 77-88.
- Kuo, Y.M., Y.L. Shiue, C.F. Chen, P.C. Tang and Y.P. Lee. 2005. Proteomic analysis of hypothalamic proteins of high and low egg production strains of chickens. *Theriogenology*. 64: 1490-1502.
- Moser, R.J., A. Reverter, C.A. Kerr, K.J. Beh and S.A. Lehnert. 2004. A mixed-model approach for the analysis of cDNA microarray gene expression data from extreme-performing pigs after infection with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *J Anim Sci*. 82: 1261-1271.
- Sayd, T., M. Morzel, C. Chambon, M. Franck, P. Figwer, C. Larzul, P. Le Roy, G. Monin, P. Cherel and E. Laville. 2006. Proteome Analysis of the sarcoplasmic fraction of pig semimembranosus muscle: Implications on meat color development. *J Agric Food Chem*. 54: 2732-2737.
- Teltatthum, T. and S. Mekchay. 2009. Proteome changes in Thai indigenous chicken muscle during growth period. *Int J Biol Sci*. 5: 679-685.