

การศึกษาเครื่องหมายพันธุกรรมที่สัมพันธ์กับลักษณะการเจริญเติบโตในโคตาก

The study of genetic markers associated with growth traits in Tak cattle

ทองสา บัวสุข¹, มนต์ชัย ดวงจินดา^{1*}, ยุปิน ผาสุก¹ และ ไพโรจน์ ศิริสม²

Thongsaa Buasook¹, Monchai Duangjinda^{1*}, Yupin Phasuk¹ and Pairhot Sirisom²

บทคัดย่อ: การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเครื่องหมายพันธุกรรมที่สัมพันธ์กับลักษณะการเจริญเติบโตในโคตากจำนวน 69 ตัว ด้วยเทคนิค PCR-RFLP วิเคราะห์รูปแบบของยีน *GH*, *bGH*, *GHR*, *IGF-I*, *IGF-II*, *IGFBP-3*, *POU1F1*, *STAT5A*, *LHX4*, *PRDM16* และ *MC4R* ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ เมื่อวิเคราะห์ความถี่พบว่าความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีลสูงสุด 0.93 และ 0.96 ตามลำดับในยีน *LHX4* และความถี่จีโนไทป์ต่ำสุด 0.03 ในยีน *IGFBP-3* และยีน *IGF-II* มีความถี่อัลลีลต่ำสุด 0.09 หลังวิเคราะห์หิโทธิพลของจีโนไทป์กับข้อมูลค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะการเจริญเติบโตพบว่าจีโนไทป์ของยีน *GH*, *GHR*, *IGF-I*, *IGFBP-3* และ *MC4R* มีความสัมพันธ์ทางสถิติกับค่าการผสมพันธุ์ของ W200 W400 ADG1 ADG2 และ ADG3 ในโคตาก

คำสำคัญ: โคตาก, เครื่องหมายพันธุกรรม, การเจริญเติบโต

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate genetic markers associated with growth traits in Tak cattle. Blood sample collected from 69 Tak cattles. PCR-RFLP was used to detect polymorphism of gene. Specific primers for *GH*, *bGH*, *GHR*, *IGF-I*, *IGF-II*, *IGFBP-3*, *POU1F1*, *STAT5A*, *LHX4*, *PRDM16* and *MC4R* were used to amplified fragment and digested with specific restriction enzymes. The result showed that the highest genotype frequency and allele frequency was 0.93 and 0.96 in *LHX4* respectively; the lowest genotype frequency was 0.03 in *IGFBP-3*; and the lowest allele frequency was 0.09 in *IGF-II*. This study showed that *GH*, *GHR*, *IGF-I*, *IGFBP-3* and *MC4R* genotype were associated with breeding value of W200 W400, ADG1, ADG2 and ADG3 in Tak cattle.

Keywords: Tak cattle, Genetic Marker , Growth traits

บทนำ

โคพันธุ์ตากเป็นพันธุ์โคเนื้อที่สร้างขึ้นใหม่จากการผสมพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ของกรมปศุสัตว์จนได้โคที่มีสายเลือดโคพันธุ์ชาร์โรเลส์ 62.5% โคพันธุ์ไทยบราห์มัน 37.5% เพื่อให้ได้โคที่มีซากขนาดใหญ่

เหมาะสำหรับตลาดเนื้อโคคุณภาพดี เนื้อนุ่มและเนื้อสันมีไขมันแทรก และที่สำคัญการเจริญเติบโตเร็วในสภาพแวดล้อมการเลี้ยงดูของประเทศไทย (กรมปศุสัตว์, 2554) ลักษณะการเจริญเติบโตเป็นลักษณะที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์เป็นไปได้อย่างกว้างขวาง เนื่องจากยัง

¹ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kean University 40002

² ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ตาก อ.เมือง จ.ตาก 63000

Tak Livestocks Research and Breeding Center; Tak Province 6300, Thailand.

* Corresponding author: monchai@kku.ac.th

ขาดการข้อมูลที่ใช้ประเมินพันธุกรรมสัตว์ ส่งผลต่อความแม่นยำในการคัดเลือกสัตว์ ปัจจุบันเทคนิคทางโมเลกุลสามารถตรวจสอบเครื่องหมายพันธุกรรมหรือยีนที่ควบคุมลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะลักษณะการเจริญเติบโตที่มีต้นทุนค่าความทำงานหลายคู่ อาจเป็นยีนหลักที่มีผลกระทบฮอโมนช่วยให้สัตว์มีการเจริญเติบโต เช่น ยีน *GH* (Aruna Pal et al., 2004), *bGH* (Kim et al., 2004), *GHR* (Curi et al., 2006), *IGF-I* (Curi et al., 2005), *IGF-II* (Zhang and Li., 2008) และ *IGFBP-3* (Choudhary et al., 2007) และยีนอื่นๆ ที่มีอิทธิพลทางอ้อมที่ช่วยให้สัตว์เจริญเติบโต เช่น *POU1F1* (Kai et al., 2006), *STAT5A* (Dario et al., 2008), *MC4R* (Zhang et al., 2009), *PRDM16* (Wang et al., 2010) และ *LHX4* (Ren et al., 2010) ซึ่งในประเทศไทยยังมีการศึกษากันน้อยในโคตากเพื่อเป็นประโยชน์ในการวางแผนการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์จึงเป็นที่มาของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อค้นหาเครื่องหมายพันธุกรรมที่สัมพันธ์กับลักษณะการเจริญเติบโตในโคตาก

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลองและการตรวจสอบจีโนไทป์ของยีน

การศึกษาในครั้งนี้ใช้ตัวอย่างเลือดโคตากจำนวน 69 ตัว จากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ตาก ทำการสกัดจีโนมิกส์ดีเอ็นเอด้วยชุดสกัด Silica gel ตามวิธีการของ Goodwin et al. (2007) ตรวจสอบคุณภาพจีโนมิกส์ดีเอ็นเอที่ได้ จากนั้นทำการเพิ่มชิ้นส่วนยีนโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ และตรวจสอบจีโนไทป์ของยีนด้วยเทคนิค PCR-RFLP โดยยีน *GH* และ *GHR* ย่อยด้วยเอนไซม์ *AluI*, *bGH* ย่อยด้วยเอนไซม์ *DraI*, *IGF-I* ย่อยด้วยเอนไซม์ *SnaBI*, *POU1F1* ย่อยด้วยเอนไซม์ *HinfI*, *IGFBP-3*, *PRDM16* และ *LHX4* ย่อยด้วยเอนไซม์ *HaeIII*, ยีน *STAT5A* ย่อยด้วยเอนไซม์ *AvaI* และยีน *MC4R* ย่อยด้วยเอนไซม์ *HpyCH4IV* และยีน *IGF-II* ย่อยด้วยเอนไซม์ *BsrI* ตรวจรูปแบบจีโนไทป์ของยีนที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะด้วย agarose gel

ทำการบันทึกภาพแถบ DNA ที่เกิดขึ้นภายใต้แสง UV และวิเคราะห์รูปแบบบีนไทป์ที่เกิดขึ้น

การเก็บข้อมูลของสัตว์ทดลอง

เก็บข้อมูลของสัตว์ทดลองเพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของยีนกับการเจริญเติบโตในโคตาก โดยแบ่งเป็น 1) ข้อมูลพันธุ์ประวัติ ได้แก่ เบอร์สัตว์ เบอร์พ่อ เบอร์แม่ ปีเกิดของพ่อ ปีเกิดของแม่ เพศ อายุ พันธุ์ วันเดือนปีเกิดของสัตว์ วันเดือนปีที่หย่านม อายุเมื่อหย่านม และ 2) ข้อมูลลักษณะปรากฏ ได้แก่ น้ำหนักแรกเกิด (BW) น้ำหนักหย่านม 200 วัน (W200) น้ำหนักเมื่ออายุ 400 วัน (W400) น้ำหนักเมื่ออายุ 600 วัน (W600) อัตราการเจริญเติบโตก่อนหย่านม ช่วงแรกเกิดถึงหย่านม (ADG1) และอัตราการเจริญเติบโตหลังหย่านมช่วงอายุที่ 200-400 วัน (ADG2) และอัตราการเจริญเติบโตหลังหย่านมช่วงอายุที่ 400-600 วัน (ADG3)

การวิเคราะห์อิทธิพลของจีโนไทป์กับข้อมูลค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะการเจริญเติบโต

การวิเคราะห์ข้อมูลมีขั้นตอนดังนี้ 1) การหาความถี่จีโนไทป์และอัลลีล โดยหาความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีลต่างๆที่พบตามวิธีการของ Falconer and Mackay (1996) 2) การตรวจสอบข้อมูลและประเมินคุณค่าการผสมพันธุ์โดยวิเคราะห์การกระจายของข้อมูลและตรวจสอบข้อมูลที่มีความผิดปกติของข้อมูลปรากฏของ BW, W200, W400, W600, ADG1, ADG2 และ ADG3 ด้วยโปรแกรม SAS (SAS, 1998) จากนั้นประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมและค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะที่ศึกษาด้วยวิธี Restricted Maximum Likelihood (REML) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป BLUPF90 Beef PAK Version 2.0 (Duangjinda et al., 2004) โดยมีการปรับด้วยอิทธิพล ได้แก่ เพศ ฤดูกาล ปีเกิด อายุหย่านม เป็นปัจจัยคงที่ โดย BW, W200 และ ADG1 ใช้ Maternal Animal Model และ W400, W600, ADG2 และ ADG3

ใช้ Animal Model และ 3) วิเคราะห์อิทธิพลของ จีโนไทป์กับคุณค่าการผสมพันธุ์ (EBV) ของลักษณะ การเจริญเติบโตโดยวิธี GLM ด้วยโปรแกรม SAS (SAS,1998) มีโมเดลดังนี้

$$EBV_{ij} = \mu + \sum_{i=1}^{11} G_i + \varepsilon_{ij}$$

เมื่อ EBV_{ij} = ค่า EBV_BW,EBV_W200,EBV_W400,EBV_W600,EBV_ADG1,EBV_ADG2 และ EBV_ADG3

μ = overall mean

G_i = อิทธิพลของจีโนไทป์ของยีนที่ i

ε_{ij} = อิทธิพลสุ่มเนื่องจากความคลาดเคลื่อน

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีล

จากการตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีนใน โคตาก พบยีน *LHX4* มีความถี่จีโนไทป์ GG และความถี่อัลลีล G สูงสุด 0.93 และ 0.96 ตามลำดับ และ ยีน *IGFBP-3* พบความถี่จีโนไทป์ AA ต่ำสุด 0.03 และ ยีน *IGF-II* ความถี่อัลลีล T ต่ำสุด 0.09 แต่ในยีน *bGH* พบจีโนไทป์ AA เพียงรูปแบบเดียว เมื่อหาค่าความถี่ จีโนไทป์ AA และอัลลีล A เท่ากับ 1.00 สอดคล้องกับ Kim et al.(2004) พบว่ายีน *bGH* ใน Holsteins และ Angus พบเพียงจีโนไทป์ AA เท่านั้น แต่ในโคเกาห์ลี พบว่ามีความถี่อัลลีล A และ B เท่ากับ 0.821 และ 0.179 ตามลำดับ

อิทธิพลของจีโนไทป์กับข้อมูลค่าการผสมพันธุ์ ของลักษณะการเจริญเติบโต (EBV)

ผลการวิเคราะห์รูปแบบจีโนไทป์กับค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะการเจริญเติบโตในโคตากในครั้งนี้ พบว่าค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะน้ำหนักหย่านม ปรับที่อายุ 200 วัน ได้รับอิทธิพลจากรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *GHR* โดยรูปแบบ จีโนไทป์ *Alu I*(-/-) มีอิทธิพล ต่อน้ำหนักหย่านมปรับที่อายุ 200 วัน สูงกว่าจีโนไทป์ *Alu I*(+/+)และ *Alu I*(+/-) ชัดแจ้งกับการศึกษาของ

Curi et al.(2006) รายงานว่าน้ำหนักตัวและ ADG ในโคพันธุ์ Nellore, Canchim, 1/2Simmental และ 1/2Angus ได้รับอิทธิพลจากยีน *GHR* รูปแบบจีโนไทป์ *Alu I*(N/-)และ *Alu I*(N/+) ซึ่งการศึกษารูปแบบ จีโนไทป์ในโคตากครั้งนี้ไม่พบอัลลีล N อาจเนื่องมา จากพันธุกรรมที่แตกต่างกัน ทำให้พบรูปแบบจีโนไทป์ ของยีน *GHR* แตกต่างจากงานที่ผ่านมา สำหรับ ค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะน้ำหนักหย่านมปรับที่ อายุ 400 วันพบว่ามีความสัมพันธ์กับยีน *MC4R* โดย โคที่มีรูปแบบจีโนไทป์ AA จะให้น้ำหนักหย่านมปรับที่ อายุ 400 วัน สูงกว่าโคที่มีจีโนไทป์ AB สอดคล้องกับ Zhang et al.(2009) กล่าวว่า การแสดงออกของยีน *MC4R* มีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมในโคโดย ยีน *MC4R* รูปแบบจีโนไทป์ AA จะมีน้ำหนักตัวและ ADG สูงกว่าโคที่มีรูปแบบจีโนไทป์ BB แต่ไม่ต่างกัน ทางสถิติกับรูปแบบจีโนไทป์ AB อย่างไรก็ตาม การศึกษาในครั้งนี้พบว่าค่าการผสมพันธุ์ของอัตรา การเจริญเติบโตก่อนหย่านมได้รับอิทธิพลจากยีน *GH* รูปแบบจีโนไทป์ LV และยีน *IGF-I* รูปแบบจีโนไทป์ AB และ BB สอดคล้องกับการศึกษาของ Ge et al.(2001) กล่าวว่า การเปลี่ยนแปลงของเบส T (allele A) ไปเป็น เบส C (allele B) ที่ตำแหน่ง regulatory region ของ ยีน *IGF-I* ส่งผลต่อการให้ผลผลิตของสัตว์โดยรูปแบบ จีโนไทป์ AB และ BB มีอิทธิพลต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ของโคเองก็มากกว่ารูปแบบจีโนไทป์ AA เนื่องมาจาก อิทธิพลของโดมิแนนซ์ ของอัลลีล B มากกว่าอัลลีล A นอกจากนี้ค่าการผสมพันธุ์ของอัตราการเจริญเติบโต หลังหย่านมของโคตากยังได้รับอิทธิพลจากยีน *MC4R* รูปแบบจีโนไทป์ AB และยีน *IGFBP-3* รูปแบบจีโนไทป์ AB ชัดแจ้งกับการศึกษาของ Choudhary et al.(2007) รายงานว่าการกลายพันธุ์ของเบส C เป็นเบส A ใน ยีน *IGFBP-3* บริเวณตำแหน่ง intron 2 เกิดรูปแบบ จีโนไทป์ AA AB และ BB ที่สัมพันธ์กับการให้ผลผลิต ของโค โดยยีน *IGFBP-3* รูปแบบจีโนไทป์ AB มีอิทธิพล ต่อน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักที่อายุ 12 18 และ 24 เดือน ของโคลูกผสมมากกว่าจีโนไทป์ AA อย่างไรก็ตามการ ศึกษาในครั้งนี้ไม่พบยีนที่มีอิทธิพลต่อค่าการผสมพันธุ์

ของลักษณะน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักหย่านมปรับที่อายุ 600 วัน (Table 1) แม้ว่าจะพบความสัมพันธ์ของยีน *IGF-I* และยีน *MC4R* กับค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะการเจริญเติบโตแต่เนื่องจากบางรูปแบบจีโนไทป์ของยีนพบน้อยในประชากรจึงยังไม่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในการคัดเลือกได้

สรุป

จากการศึกษาในครั้งนี้พบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *GH* *GHR* *IGF-I* *IGFBP-3* และ *MC4R* มีความสัมพันธ์ทางสถิติกับข้อมูลค่าการผสมพันธุ์ของน้ำหนักหย่านมปรับที่อายุ 200 และ 400 วัน อัตราการเจริญเติบโตก่อนและหลังหย่านม ดังนั้นยีน *GH* รูปแบบจีโนไทป์ LV ยีน *GHR* รูปแบบจีโนไทป์ BB และยีน *IGFBP-3* รูปแบบจีโนไทป์ AB เหมาะสมในการใช้เป็นเครื่องหมายพันธุกรรมสำหรับคัดเลือกและปรับปรุงลักษณะการเจริญเติบโตในโคตากได้

เอกสารอ้างอิง

- กรมปศุสัตว์, 2554. พันธุ์สัตว์โคตาก.แหล่งข้อมูล http://www.dld.go.th/breeding/b/Ready/Tak_breed.html.ค้นเมื่อ 25 สิงหาคม 2554
- Aruna Pal, A.K. Chakravarty, T.K. Bhattacharya, B.K. Joshi and Arjava Sharma. 2004. Detection of polymorphism of Growth Hormone Gene for the Analysis of Relationship between allele type and Growth Trait in Karan Fries cattle. Asian-Aust. J. Anim. Sci. Vol. 17, No.10:1334-1337.
- Choudhary, V., P. Kumar, T.K. Bhattacharya, B. Bhushan, A. Sharma and A. Shukla. 2007. DNA polymorphism of insulin-like growth factor-binding Protein-3 gene and its association with birth weight and body weight in cattle. J. Anim. Breed. Genet. 124:29-34.
- Curi, R.A., H.N. de Oliveira, A.C. Silveira and C.R. Lopes. 2005. Association between IGF-I, IGF-IR and GHRH gene polymorphisms and growth and carcass traits in beef cattle. Lives. Prod.Sci.94:159-167.
- Curi, R.A., D.A. Palmieri, L. Sugisawa, A.L.J. Ferraz, H.N. de Oliveira, L.R. Furlan, A.C. Silveira and C.R. Lopes. 2006. Effects of GHR gene polymorphisms on growth and carcass traits in Zebu and crossbred beef cattle. Lives. Prod. Sci.101:94-100.
- Dario, C., M. Selvaggi, D. Carnicella and G. Bufano. 2008. STAT5A/Aval polymorphism in Podolica bulls and its effect on growth performance traits. Lives. Sci.123:83-87.
- Duangjinda, M., I. Misztal, and S.T. Surata. 2004. BLUPF90 – Beef- PAK 2.0 Genetic Evaluation Program for Beef cattle. Department of Animal and Dairy Science The University of Georgia and Department of Animal Science Khonkaen University.
- Falconer, D.S and T.F.C Mackay. 1996. Introduction to quantitative genetics. 4th Longman.Oxford.
- Ge, W., M.E. Davis, H.C. Hines, K.M. Irvin and R.C.M. Simmen. 2001. Association of genetic markers with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle. J. Anim. Sci. 79:1757–1762.
- Goodwin, W., A. Linacre, and S. Hadi. 2007. An introduction to forensic genetics. John wiley & Sons Ltd ,the atrium, southern Gate, Chichester, West Sussex, England.
- Kai, X., C. Hong, W. Shan, C. Xin, L. Bo, Z. Cun-Fang, L. Chu-Zhao, W. Xin-Zhuang, W. Yi-Min and N. Hui. 2006. Effect of Genetic variation of the POU1F1 gene on growth traits of Nanyang cattle. Acta. Genetica. Sinica. 33:901-907.
- Kim, N.K., Y.W. Seo, G.H. Kim, J.H. Joh, O.H. Kim, E.R. Chung and C.S. Lee . 2004. A previously unreported Dral polymorphism within the regulatory region of the bovine growth hormone gene and its association with growth trait in Korean Hanwoo cattle. Anim. Genet.35:142-167.
- Ren, G., H. Chen, L.Z. Zhang, X.Y. Lan, T.B. Wei, M.J. Li, Y.J. Jing, C.Z. Lei and J.Q. Wang. 2010. A coding SNP of LHX4 gene is associated with body weight and body length in bovine. Mol. Biol. Rep. 37(1):417-422.
- SAS, 1998.User' Guide: Statistics, V.6.12. SAS Institute., Cary. NC.
- Wang, J., Z.J. Li, X.Y. Lan, L.S. Hua, Y.T. Huai, Y.Z. Huang, L. Ma, M. Zhao, Y.J. Jing, H. Chen and J.Q. Wang. 2010. Two novel SNPs in the coding region of the bovine PRDM16 gene and its associations with growth trait. Mol. Biol. Rep.37(1):571-577.
- Zhang, Z. and Q. Li. 2008. Association of polymorphism of IGF-II gene with growth traits in Nanyang cattle. Front .Biol. China. 4:1-6.
- Zhang, C.L., Y.H. Wang, H. Chen, X.Y. Lan, C.Z. Lei and X.T. Fang. 2009. Association between variants in the 5'-untranslated region of the bovine MC4R gene and two growth trait in Nanyang cattle. Mol. Biol. Rep. 36(7): 1839-1843.

Table 1 Genotype effect(±SE) of *GH*, *GHR*, *IGF-I*, *IGF-II*, *IGFBP-3*, *POU1F1*, *STAT5A*, *PRDM16*, *LHX4* and *MC4R* on breeding value of growth traits in Tak cattle.

Gene	Genotypes(N)	EBV_BW	EBV_W200	EBV_W400	EBV_W600	EBV_ADG1	EBV_ADG2	EBV_ADG3
<i>GH</i>	LL(47)	0.62±0.58	2.22±2.70	3.21±2.13	-1.53±3.89	-1.28±0.57 a	-0.08±0.17	-0.04±0.03
	LV(18)	0.59±0.65	2.93±3.02	0.45±2.39	-1.59±4.35	-0.11±0.64 b	0.06±0.19	-0.04±0.03
<i>GHR</i>	<i>Alu</i> (+/+)(42)	0.74±0.61	0.83±2.85 a	2.23±2.25	-2.95±4.09	-0.47±0.60	0.04±0.18	-0.01±0.03
	<i>Alu</i> (+/+)(8)	0.12±0.77	-1.90±3.58 a	0.47±2.82	0.38±5.14	-1.22±0.76	-0.15±0.23	-0.06±0.04
	<i>Alu</i> (-/-)(14)	0.95±0.69	8.79±3.25 b	2.79±2.56	-2.14±4.67	-0.40±0.69	0.08±0.21	-0.04±0.04
<i>IGF-I</i>	AA(4)	0.96±0.99	9.64±4.64	6.07±3.67	1.04±6.67	-2.96±0.98 a	0.12±0.30	-0.04±0.05
	AB(20)	0.53±0.59	-0.32±2.78	0.35±2.19	-3.99±3.99	0.65±0.59 b	-0.03±0.18	-0.05±0.03
	BB(41)	0.31±0.58	-1.59±2.71	-0.92±2.14	-1.76±3.89	0.21±0.57 b	-0.11±0.17	-0.03±0.03
<i>IGF-II</i>	CC(53)	0.51±0.58	3.19±2.71	1.72±2.14	-0.18±4.80	-0.42±0.57	-0.04±0.17	-0.01±0.03
	CT(12)	0.69±0.67	1.95±3.15	1.95±2.49	-2.95±4.53	-0.97±0.67	-0.06±0.20	-0.06±0.03
<i>IGFBP-3</i>	AA(42)	0.54±0.60	3.38±2.80	1.51±2.21	-3.80±4.03	-0.71±0.59	-0.16±0.18 a	-0.07±0.03 a
	AB(23)	0.67±0.61	1.77±2.85	2.15±2.25	0.66±4.10	-0.68±0.60	0.14±0.18 b	-0.00±0.03 b
<i>POU1F1</i>	AA(19)	0.98±0.71	3.34±3.34	1.45±2.64	-2.97±4.80	-0.83±0.71	-0.08±0.21	-0.04±0.03
	AB(29)	0.50±0.62	2.65±2.91	2.73±2.30	-0.67±4.19	-1.22±0.62	0.02±0.19	-0.04±0.03
	BB(24)	0.32±0.63	1.73±2.95	1.31±2.33	-1.05±4.25	-0.04±0.63	0.03±0.19	-0.04±0.03
<i>STAT5A</i>	CC(48)	0.80±0.57	1.46±2.66	2.64±2.10	-0.34±3.82	-0.83±0.56	0.00±0.17	-0.06±0.03
	CT(17)	0.41±0.65	3.69±3.05	1.02±2.41	-2.79±4.39	-0.56±0.65	-0.02±0.20	-0.01±0.03
<i>PRDM16</i>	GG(21)	0.67±0.66	3.90±3.08	1.66±2.43	-0.73±4.42	-0.31±0.65	-0.01±0.20	-0.07±0.03
	GA(38)	0.88±0.56	5.70±2.61	3.69±2.06	-2.74±3.76	-0.67±0.55	0.02±0.17	-0.03±0.03
	AA(6)	0.26±0.88	-1.88±4.09	0.14±3.23	-1.23±5.88	-1.11±0.87	-0.04±0.26	-0.02±0.04
<i>MC4R</i>	AA(31)	0.75±0.61	1.89±2.87	3.55±2.26 a	0.78±4.12	-0.79±0.61	-0.20±0.18 a	-0.05±0.03
	AB(34)	0.45±0.59	3.26±2.78	0.11±2.19 b	-3.92±3.99	-0.60±0.59	0.18±0.18 b	-0.02±0.03
<i>LHX4</i>	GG(60)	0.65±0.45	2.64±2.09	0.26±1.65	-1.26±3.01	-0.68±0.44	0.10±0.13	-0.00±0.02
	GA(5)	0.56±0.88	2.51±4.10	3.40±3.24	-1.87±5.89	-0.72±0.87	-0.12±0.26	-0.08±0.04

a,b means within column superscript in the same gene are different significantly (P<0.05)