

Thesis Title	Proteomic and Molecular Marker Analysis for Tenderness and Toughness Traits of Chicken Meat	
Author	Mr. Tawatchai Teltathum	
Degree	Doctor of Philosophy (Biotechnology)	
Thesis Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Supamit Mekchay	Chairperson
	Asst. Prof. Dr. Siriwadee Chomdej	Member
	Lect. Dr. Patcharin Krutmuang	Member

Abstract

In the present study, two dimensional gel electrophoresis (2DE) and matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF/MS) were used to identify protein markers for tenderness and toughness traits of chicken meat. The polymorphisms of functional candidate genes and their association with meat quality were analyzed in Thai indigenous and commercial broiler chickens. Moreover, the proteome and transcriptome profiles of Thai indigenous and commercial broiler chicken muscles during growth periods (0, 3, 6 and 18 weeks of age) were analyzed by using 2DE and quantitative real-time PCR techniques. A total of 169 and 158 protein spots were observed in Thai indigenous and commercial broiler chicken muscles, respectively. Of these proteins, 5 protein spots were up- and down-regulated with Warner-Bratzler shear force (WBSF) values of chicken meat. Three protein spots were significantly correlated to WBSF values of chicken meat ($p < 0.05$). These protein spots were characterized and showed homology with chicken PKM2, PGAM1 and TPI1 proteins. Moreover, the polymorphisms of *PKM2*, *PGAM1* and *TPI1* genes were identified and located at position c.1323C>T, c.636C>T and c.585T>C of their open reading frame (ORF), respectively. The *PKM2* and *TPI1* markers were associated with drip loss (DL) and dressing percentage (DP) values, respectively.

Whereas the *PGAM1* marker was associated with cooking loss (CL) and $\text{pH}_{45\text{min}}$ values. Proteome analysis of muscle chicken during growth period revealed that five (*PGAM1*, *TPI1*, *APOA1*, *HSP25* and *FABP3*) and four (*PGAM1*, *TPI1*, *APOA1* and *FABP3*) protein spots are significantly associated with ageing of Thai indigenous and commercial broiler chickens, respectively. The expression levels of *HSP25* and *FABP3* genes were significantly decreased during growth periods, whereas the expression levels of *PGAM1*, *TPI1* and *APOA1* genes were no significant differences among age groups of Thai indigenous chicken. There were also no significant differences in transcription levels of these five genes in age groups of commercial broiler chicken. The results indicate that the importance of energy metabolism proteins in glycolytic pathway is associated with chicken meat quality. Moreover, metabolic energy and stress proteins are important for muscle development of chicken. These findings provide novel molecular protein markers for meat tenderness and muscle development in chickens.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การวิเคราะห์ทางโปรตีโอมิกส์และเครื่องหมายโมเลกุล สำหรับลักษณะความนุ่มและเหนียวของเนื้อไก่	
ผู้เขียน	นายรัชชัย แถวตาทำ	
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ. ดร. สุภมิตร เมฆฉาย ผศ. ดร. สิริวดี ชมเดช อ. ดร. พัชรินทร์ กระจุกเมือง	ประธานกรรมการ กรรมการ กรรมการ

บทคัดย่อ

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้เทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบสองมิติ และMALDI-TOF/MS เพื่อค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลโปรตีน สำหรับบ่งชี้ลักษณะเนื้อนุ่ม และเหนียวในเนื้อไก่ ความผันแปรทางพันธุกรรมของยีนเป้าหมาย และความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ กับลักษณะคุณภาพเนื้อถูกวิเคราะห์ในไก่ไทยสายพันธุ์พื้นเมือง และไก่เนื้อสายพันธุ์การค้า นอกจากนี้ลายพิมพ์โปรตีน และการแสดงออกของยีนเป้าหมายในเนื้อไก่ไทยสายพันธุ์พื้นเมือง และไก่เนื้อสายพันธุ์การค้า ระหว่างช่วงการเจริญเติบโต (0, 3, 6 และ 18 สัปดาห์) ถูกวิเคราะห์ โดยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบสองมิติและ Quantitative real-time PCR ผลของการศึกษาพบ เครื่องหมายโปรตีนในกล้ามเนื้อไก่ไทยสายพันธุ์พื้นเมือง และไก่เนื้อสายพันธุ์การค้า มีจำนวน ทั้งหมด 169 และ 158 เครื่องหมาย ตามลำดับ ในจำนวนนี้ 5 เครื่องหมาย มีการเปลี่ยนแปลงระดับ การแสดงออกในไก่ไทยสายพันธุ์พื้นเมือง และไก่เนื้อสายพันธุ์การค้า โดยเครื่องหมายโมเลกุล โปรตีน จำนวน 3 เครื่องหมาย มีความสัมพันธ์กับค่าแรงตัดเนื้อขึ้นเนื้อ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวถูกวิเคราะห์คุณลักษณะของโปรตีน พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ โปรตีน PKM2, PGAM1 และ TPI1 ผลการวิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *PKM2*, *PGAM1* และ *TPI1* พบ single nucleotide polymorphisms ที่ตำแหน่ง นิวคลีโอไทด์ c.1323C>T, c.636C>T

และ c.585T>C บน open reading frame ของยีนดังกล่าว ตามลำดับ เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ *PKM2* และ *TPI1* มีความสัมพันธ์กับลักษณะการสูญเสียเนื้อในขณะเก็บรักษา และเปอร์เซ็นต์ซาก ตามลำดับ ในขณะที่เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ *PGAM1* มีความสัมพันธ์กับลักษณะการสูญเสียเนื้อหลังทำให้สุกด้วยความร้อน และค่า pH_{45min} นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์โปรตีโอมของกล้ามเนื้อไก่ในช่วงการเจริญเติบโต พบเครื่องหมายโมเลกุลโปรตีนจำนวน 5 เครื่องหมาย (*PGAM1*, *TPI1*, *APOA1*, *HSP25* และ *FABP3*) และ 4 เครื่องหมาย (*PGAM1*, *TPI1*, *APOA1* และ *FABP3*) มีความสัมพันธ์กับอายุของไก่ไทยสายพันธุ์พื้นเมือง และ ไก่เนื้อสายพันธุ์การค้า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามลำดับ การแสดงออกของยีน *HSP25* และ *FABP3* ในไก่ไทยสายพันธุ์พื้นเมือง มีระดับลดลงตามอายุที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ยีน *PGAM1*, *TPI1* และ *APOA1* มีระดับการแสดงออกไม่แตกต่างกัน ส่วนการแสดงออกของยีนเป้าหมายดังกล่าวทั้งหมดของไก่เนื้อสายพันธุ์การค้า ไม่พบความแตกต่างระหว่างช่วงอายุของไก่ ผลการศึกษานี้บ่งชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของพลังงานในกระบวนการไกลโคไลซิส มีความสัมพันธ์กับลักษณะคุณภาพเนื้อของไก่ นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของพลังงาน และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความเครียด มีความสำคัญต่อการพัฒนาของกล้ามเนื้อในช่วงการเจริญเติบโตของไก่ การศึกษาในครั้งนี้ได้ค้นพบเครื่องหมายโมเลกุลโปรตีนสำหรับบ่งชี้ลักษณะเนื้อนุ่ม และการพัฒนาของกล้ามเนื้อไก่