

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การหาลักษณะเฉพาะของเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการประเมินความเสี่ยงในการเป็นโรคไตฉับพลันในโคนม

ผู้เขียน

นางสาว วารณี ประดิษฐ์

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. สิริวดี ชมเดช

บทคัดย่อ

โรคไตฉับพลันในโคนมก่อให้เกิดผลเสียกับอุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนมเป็นอย่างมาก ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาและศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับใช้บ่งชี้โรคไตฉับพลันในโคนม โดยอาศัยเทคนิค Amplified fragment length polymorphism (AFLP) โดยใช้คู่ไพรเมอร์ของเอนไซม์ตัดจำเพาะ *EcoRI* และ *TaqI* พบแถบ DNA ที่แตกต่างกันระหว่างโคนมกลุ่มที่เคยเป็นโรคกับไม่เคยเป็นโรค จำนวน 12 แถบ นำแถบ DNA ไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ลำดับเบสที่ได้ถูกนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลจีโนมของโคใน GenBank ด้วยโปรแกรม BLAST พบแถบ DNA จำนวน 3 ชิ้นส่วน ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับยีนที่เคยมีรายงานเกี่ยวกับเซลล์มะเร็งไตฉับพลันและระบบภูมิคุ้มกัน คือ แถบ DNA A3 A7 และ A8 โดยแถบ DNA A3 และ A8 มีความเหมือนกับยีน PDZ domain containing 1 (PDZK1) และยังพบว่า แถบ DNA A3 และ A8 เกิด complementary ซึ่งกันและกัน และแถบ DNA A7 มีความเหมือนกับยีน Sodium channel protein type 8 subunit alpha (SCN8A) โดยยีนทั้งสองนั้นเคยมีรายงานว่า เป็นยีนที่มีการแสดงออกที่มากเกินไปในเซลล์มะเร็งไตฉับพลันและมีความเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย นอกจากนี้ยังพบ Single nucleotide polymorphism (SNP) บนแถบ DNA A3, A8 และ A7 ทั้งหมดจำนวน 4 ตำแหน่ง คือ ยีน PDZK1 จำนวน 2 ตำแหน่ง (T deletion และ G>T) และยีน SCN8A จำนวน 2 ตำแหน่ง (SCN8A-10 และ SCN8A-54) (C>T) SNP ทั้งหมดถูกศึกษา genotype ด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) และ allele specific primer amplification (ASPA) พบว่า SNP (T deletion) ให้รูปแบบ genotype เพียงชนิดเดียว คือ T/- ส่วน SNP อื่นๆ ให้รูปแบบ genotype 3 รูปแบบ (GG/CC, GT/CT และ TT)

ข้อมูล genotype ที่ได้ถูกนำไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลกับการเป็นโรคเต้านมอักเสบและค่า Somatic cell count (SCC) ด้วยโปรแกรม Chi-square (χ^2) และ General linear model (GLM) พบว่า SNP SCN8A-54 มีความสัมพันธ์กับการเป็นโรคเต้านมอักเสบอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ความเชื่อมั่น 99% และการเป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ความเชื่อมั่น 99%

คำสำคัญ : เครื่องหมาย โมเลกุล, โรคเต้านมอักเสบ, AFLP, PDZK1, SCN8A

The logo of Chiang Mai University is a circular emblem. It features a central figure of an elephant standing and facing left. Above the elephant's head is a traditional Thai umbrella (parasol) with multiple tiers. The entire emblem is surrounded by a circular border containing the university's name in Thai script at the top and 'CHIANG MAI UNIVERSITY 1964' in English at the bottom. There are decorative floral motifs on the left and right sides of the inner circle.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Characterization of Molecular Markers for Risk
Assessment of Mastitis in Dairy Cows

Author Miss Waranee Pradit

Degree Master of Science (Biology)

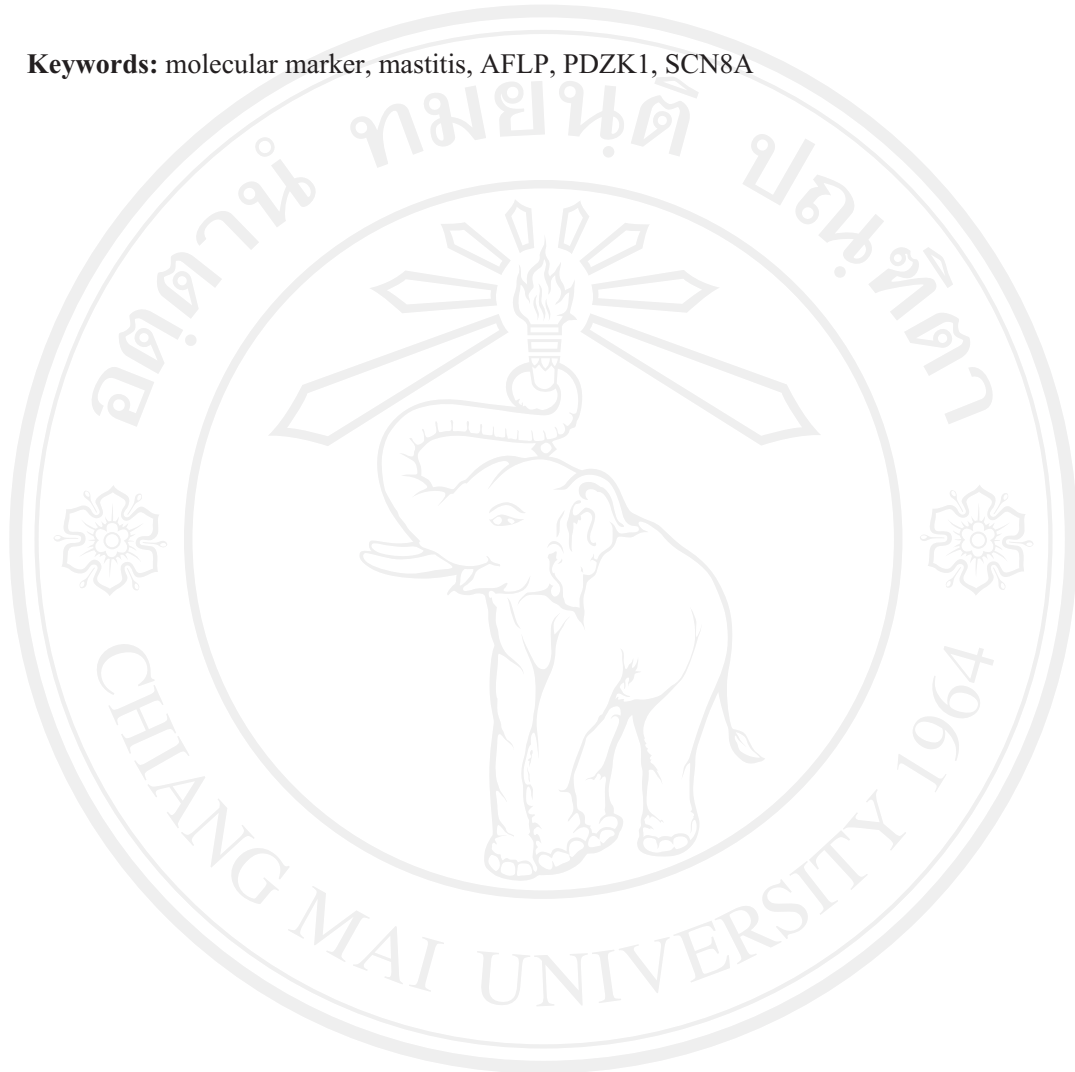
Thesis Advisor Asst. Prof. Dr. Siriwadee Chomdej

Abstract

Mastitis affects economic losses for dairy cow production. Thus, the objective of this research is finding molecular marker which associated with disease and non-disease cow for mastitis in Chiang Mai and Lumphun by Amplified fragment length polymorphism (AFLP) for utilizing in dairy cow breeding. *EcoRI* and *TaqI* were used to generate molecular markers in AFLP which showed different 12 DNA fragments between cow with and without mastitis groups. All different fragments were isolated, re-amplified, cloned and sequenced. Among these sequences, three DNA sequences (A3, A7 and A8) showed a similarity with previously described genes: PDZ domain containing 1 (PDZK1) and Sodium channel protein type 8 subunit alphas (SCN8A). Both genes were reviewed over-expression in breast cancer and associated with immune system, respectively. The 2 sequences (A3 and A8) which homolog with PDZK1 gene complement each other that showed 2 single nucleotide polymorphism (SNP): a point mutation (G>T) and single base deletion (T deletion) which found differentially in each group of mastitis. Besides, DNA fragments homolog with SCN8A (A7) had 2 SNP of point mutation (both C>T: SCN8A-10 and SCN8A-54). Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) and allele specific primer amplification (ASPA) were used for genotyping which showed only one genotype (T/-) in T deletion of PDZK1 and 3 genotypes (GG/CC, GT/CT and TT) in the other SNP. Association analysis between genotypes of each gene and phenotype (disease or nondisease and Somatic cell count (SCC)) was evaluated using

Chi-square and General linear model. The results showed that SNP SCN8A-54 associated with mastitis ($p<0.01$) and subclinical mastitis ($p<0.01$).

Keywords: molecular marker, mastitis, AFLP, PDZK1, SCN8A



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved