

บทความรับเชิญ (Invited review article)

การประยุกต์ใช้จีโนมเพื่อการปรับปรุงพันธุ์สัตว์

Genomic application in animal breeding

ศุภมิตร เมฆฉาย

ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

E-mail address: supamitmekchay@gmail.com

บทนำ

ปัจจุบันวิทยาการทางด้านพันธุศาสตร์โมเลกุล มีความก้าวหน้าอย่างรวดเร็ว และจีโนมของปศุสัตว์ถูกศึกษากันอย่างแพร่หลาย (อาทิเช่น ไก่ สุกร โค แกะ) ทำให้การค้นหาจีโนมที่ควบคุมลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่งเป็นลักษณะที่มีความซับซ้อน มีความเป็นไปได้มากยิ่งขึ้น ในบทความนี้จะกล่าวถึงความรู้เกี่ยวกับจีโนม การศึกษาจีโนมในสัตว์ และการประยุกต์ใช้จีโนมในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์

จีโนม

จีโนม (genome) หมายถึง สารพันธุกรรมหรือ ดีเอ็นเอทั้งหมดที่มีอยู่ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต โดยที่ ดีเอ็นเอของสัตว์ สามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ตามแหล่งที่พบ คือ จีโนมที่อยู่ในนิวเคลียส (nuclear genome) และจีโนมที่อยู่ในไมโทคอนเดรีย (mitochondrial genome) สารพันธุกรรม 1 จีโนม หมายถึง สารพันธุกรรมทั้งหมดของเซลล์ที่อยู่ในสภาพแฮพลอยด์ (haploid) โดยทั่วไปเซลล์ร่างกาย (somatic -

cell) ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จะอยู่ในสภาพดิพลอยด์ (diploid) โดยแต่ละเซลล์ ประกอบด้วยโครโมโซมจำนวน 2 ชุด (2n) ซึ่งชุดหนึ่งได้รับมาจากพ่อ และอีกชุดหนึ่งได้รับมาจากแม่ ในขณะที่เซลล์สืบพันธุ์ (gamete cell) นั้นมีจำนวนโครโมโซมเพียง 1 ชุด (1n) ซึ่งอยู่ในสภาพแฮพลอยด์ ดังนั้นเซลล์สืบพันธุ์ 1 เซลล์จึงมีสารพันธุกรรมเท่ากับ 1 ชุดของจีโนม ขนาดจีโนมของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีขนาดแตกต่างกัน

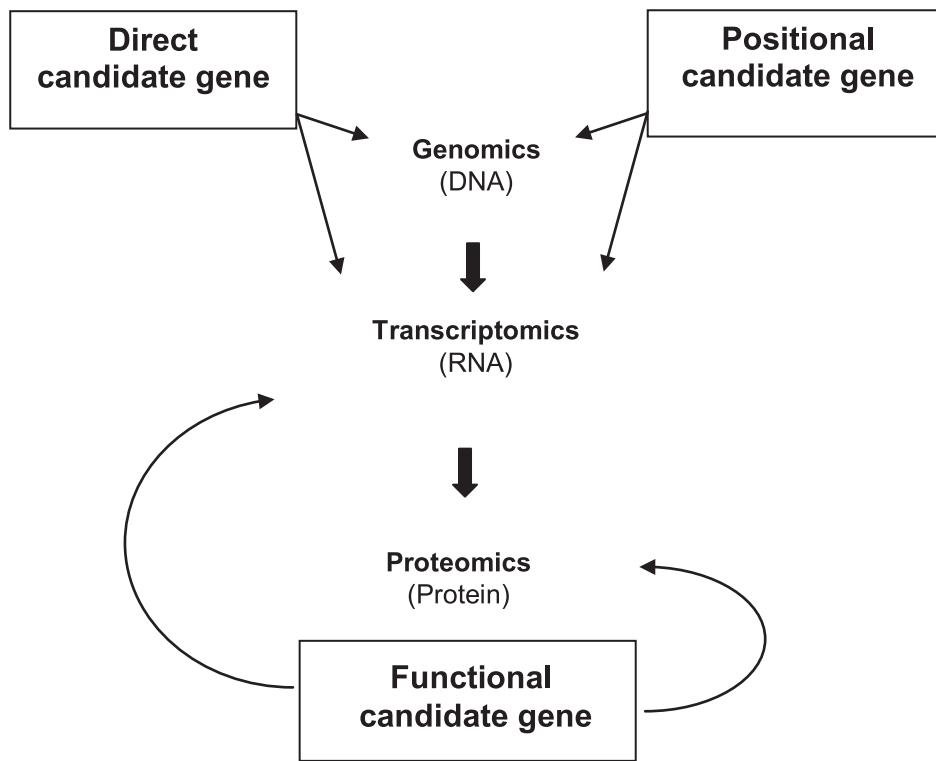
การศึกษาจีโนมของสัตว์

การศึกษาจีโนมของสิ่งมีชีวิต เรียกว่าจีโนมิกส์ (genomics) สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ (1) การศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างของสารพันธุกรรม (structural genomics) ได้แก่ การศึกษาแผนที่จีโนม (genome mapping) และการถอดรหัสพันธุกรรม (genome sequencing) (2) การศึกษาเกี่ยวกับหน้าที่ของยีน (functional genomics) ได้แก่ การศึกษาการแสดงออกของยีน (gene expression หรือ transcri-

ptomics) โปรตีโอมิกส์ (proteomics) และ เมแทโบโลมิกส์ (metabolomics) และยังรวมถึง การศึกษาเกี่ยวกับอีพีจีโนมิกส์ (epigenomics) นิวทริจีโนมิกส์ (nutrigenomics) และ ไมโครอาร์เอ็นเอ (microRNA) การศึกษาแผนที่ จีโนม เป็นการศึกษเกี่ยวกับตำแหน่งที่ตั้ง ของยีนบนโครโมโซมในสิ่งมีชีวิต สามารถแบ่ง ออกเป็น 3 รูปแบบ คือ (1) แผนที่ทางพันธุกรรม (genetic mapping) เป็นการศึกษาการถ่ายทอด ทางพันธุกรรมของเครื่องหมายโมเลกุล ใน ประชากรกลุ่มเป้าหมาย ซึ่งบางครั้งเรียกว่า linkage mapping (2) แผนที่ทางกายภาพ (physical mapping) เป็นการระบุตำแหน่ง ที่ตั้งยีนบนโครโมโซมโดยอาศัยวิธีการต่างๆ เช่น *in situ* hybridization, somatic cell hybrid panel, radiation hybrid mapping รวมถึงการถอดรหัสพันธุกรรมแบบ whole genome sequencing ซึ่งในปัจจุบันมี การศึกษาในสัตว์เลี้ยงชนิดต่างๆ มากมาย อาทิเช่น ไก่ สุกร โค แพะ แกะ และสัตว์น้ำอีก หลายชนิด (3) แผนที่ยีนเชิงเปรียบเทียบ (comparative mapping) เป็นการสร้างแผนที่ยีน โดยอาศัยการเปรียบเทียบข้อมูลการเรียงตัว ของยีนบนโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตชนิดที่มีข้อมูล รายละเอียด เพื่อใช้ทำนายการเรียงตัวของยีน ในสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง ที่ยังไม่มีข้อมูล เช่น การศึกษาแผนที่ยีนของสุกรโดยเปรียบเทียบกับ ข้อมูลการเรียงตัวของยีนในมนุษย์

สำหรับการศึกษาการแสดงออกของยีน (gene expression) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า ทรานสคริปโตมิกส์ (transcriptomics) เป็น

การศึกษากการแสดงออกของยีนในอวัยวะหรือ เนื้อเยื่อเป้าหมาย เพื่อเปรียบเทียบการแสดง ออกยีน ภายใต้สภาวะเงื่อนไขที่แตกต่างกัน หรือมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม ปัจจุบัน อาศัยเทคโนโลยีของดีเอ็นเอไมโครอะเรย์ (DNA microarray) และเรียลไทม์พีซีอาร์ (real time PCR) ช่วยให้การศึกษากการทำงานของ ยีนสะดวกและรวดเร็วมากยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตาม การแสดงออกของยีน บางครั้งอาจไม่มีความ สัมพันธ์กับการแสดงออกของโปรตีนเสมอไป ดังนั้นจึงมีการพัฒนาเทคนิคทางโปรตีโอมิกส์ (proteomics) เพื่อใช้ศึกษาผลลัพธ์การทำงานของ ยีน หรือการแสดงออกของโปรตีนในเซลล์ เนื้อเยื่อ หรืออวัยวะเป้าหมาย ภายใต้เงื่อนไข สภาพแวดล้อมที่เหมือนหรือแตกต่างกัน นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาทางอีพีจีโนมิกส์ (epigenomics) ซึ่งเป็นการศึกษาเกี่ยวกับอิทธิพล ของกระบวนการเติมหมู่ methyl บนลำดับ นิวคลีโอไทด์ (DNA methylation) ที่มีผลกระทบต่อ การแสดงออกของยีนในสิ่งมีชีวิต และ ไมโครอาร์เอ็นเอ (microRNA, miRNA) เป็น การศึกษาเกี่ยวกับโมเลกุล RNA ขนาดเล็ก ที่ควบคุมการแสดงออกของ mRNAs โดยการ ขัดขวางการแปลรหัสพันธุกรรมไปเป็นโปรตีน ซึ่งมีผลกระทบต่อความผันแปรลักษณะปรากฏ ของสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ยังมีการศึกษาทาง โภชนพันธุศาสตร์ หรือนิวทริจีโนมิกส์ (nutrigenomics) เป็นการศึกษาโภชนะในเชิงพันธุ- ศาสตร์ เพื่อศึกษาปัจจัยของสารอาหารที่มี ผลต่อการทำงานของยีน ในขณะที่การศึกษา นิวทริจีเนติกส์ (nutrigenetics) หมายถึงการ



รูปที่ 1 กลยุทธ์ในการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลในระดับ genomics, transcriptomics และ proteomics

ศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของสารอาหาร

ในการศึกษาโครงสร้างและการทำงานของจีโนมในสัตว์ จะช่วยให้เกิดความรู้ความเข้าใจการทำงานของสารพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ หรือปฏิกิริยาของจีโนมที่ตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งจะนำไปสู่การประยุกต์ใช้องค์ความรู้ทางจีโนม เพื่อการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ให้ถึงเป้าหมายได้รวดเร็วยิ่งขึ้น

การประยุกต์ใช้จีโนมในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์

ลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจในปศุสัตว์ (เช่น ลักษณะการให้ผลผลิตเนื้อ นม ไข่ หรือ

การให้ลูก) ส่วนมากเป็นลักษณะทางปริมาณ (Quantitative traits) มักถูกควบคุมด้วยยีนหลายคู่ และมีปัจจัยของสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของลักษณะดังกล่าว ลักษณะการให้ผลผลิตของสัตว์มักแสดงออกได้เฉพาะในสัตว์เพศเมียเท่านั้น หรือแสดงออกในช่วงวัยเจริญพันธุ์ เช่น ลักษณะการให้ลูก การให้น้ำนม และการให้ไข่ นอกจากนี้ลักษณะบางอย่างสามารถวัดค่าได้ยาก หรือมีค่าใช้จ่ายสูง เช่น ลักษณะความต้านทานต่อโรค รวมถึงลักษณะที่จำเป็นต้องฆ่าสัตว์ก่อนจึงจะสามารถวัดค่าได้ เช่น ลักษณะซากหรือคุณภาพเนื้อ ซึ่งลักษณะดังกล่าวข้างต้นล้วนแล้วแต่เป็นข้อจำกัดของการปรับปรุงพันธุ์

โดยวิธีมาตรฐาน (การคัดเลือก และการผสมพันธุ์) มักจะใช้ระยะเวลาอันยาวนาน ได้ผลช้า ความแม่นยำในการคัดเลือกต่ำ และลักษณะการให้ผลผลิตบางอย่างไม่สามารถคัดเลือกในสัตว์เพศผู้ได้โดยตรง อีกทั้งยังไม่สามารถระบุตำแหน่งที่ตั้งของยีนที่ควบคุมลักษณะดังกล่าวบนโครโมโซมได้

ความรู้ทางด้านจีโนมถูกนำมาประยุกต์ใช้กับงานทางด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ โดยเฉพาะการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลในดีเอ็นเอสำหรับบ่งชี้ลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 3 ระดับ คือ (1) ระดับดีเอ็นเอ (genomics) (2) ระดับอาร์เอ็นเอ (transcriptomics) และ (3) ระดับโปรตีน (proteomics) โดยที่ direct candidate gene เป็นการศึกษาในระดับ genomics (DNA) หรือ transcriptomics (RNA) เช่นเดียวกันกับ position candidate gene เป็นการศึกษาในระดับ genomics ส่วน functional candidate gene เป็นการศึกษาในระดับของ transcriptomics และ proteomics (ดังรูปที่ 1)

การค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลแบบ direct candidate gene เป็นการศึกษาเลือกยีนเป้าหมายจากความรู้ทางชีววิทยา สรีรวิทยา หรือชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ เพื่อค้นหาความผันแปรของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอบนยีนดังกล่าวที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะปรากฏที่สนใจ ในขณะที่การค้นหาตำแหน่งที่ตั้งของยีนที่ควบคุมลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ (Quantitative trait loci, QTL) ซึ่งเรียกวิธีการดังกล่าวว่า positional candi-

date gene หรือ QTL mapping ซึ่งการศึกษาการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ ที่มีความสัมพันธ์กับความผันแปรลักษณะปรากฏ (phenotypic variation) ภายหลังมีการพัฒนาวิธีการค้นหาตำแหน่งของยีนบนโครโมโซม ที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่งเรียกวิธีการดังกล่าวว่า expression QTL (eQTL)

การศึกษาทรานสคริปโตมิกส์ เป็นการศึกษาวิเคราะห์หากกลุ่มยีนเป้าหมายที่มีการแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อ ในช่วงเวลาใดเวลาหนึ่ง หรือการเปรียบเทียบการแสดงออกของกลุ่มยีนในเนื้อเยื่อ เป้าหมายภายใต้เงื่อนไขสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน โดยอาศัยเทคโนโลยีของดีเอ็นเอไมโครอะเรย์ (DNA microarray) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า ยีนชิป (gene chip) เช่น การศึกษาการแสดงออกของยีนในอวัยวะเป้าหมายต่างๆ ที่มีความผลต่อลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น รังไข่⁽¹⁾ กล้ามเนื้อ⁽²⁾ ตับ⁽³⁾ โดยเปรียบเทียบระหว่างสัตว์ที่มีลักษณะปรากฏแตกต่างกัน เช่น ให้ลูกดก-ไม่ดก หรือโตเร็ว-โตช้า การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของยีนที่แสดงออกในเซลล์ เนื้อเยื่อที่ได้รับสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน เช่น การเปลี่ยนแปลงของยีนที่แสดงออกในเซลล์เม็ดเลือดขาวของสัตว์ปกติ-สัตว์ที่ถูกทำให้ติดเชื้อ หรือกระตุ้นด้วย mitogen Con A^(4,5) และการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกันในเซลล์ตับของสัตว์ที่ได้รับอาหารปกติ-ถูกจำกัดอาหาร⁽⁶⁾

ส่วนการศึกษาโปรตีโอมิกส์ เป็นการวิเคราะห์กลุ่มโปรตีนเป้าหมายที่มีการแสดงออกในเนื้อเยื่อ ในช่วงเวลาใดเวลาหนึ่ง ซึ่งคล้ายคลึงกับทรานสคริปโตมิกส์ แต่แตกต่างกันที่โปรตีโอมิกส์เป็นการศึกษาผลผลิตในขั้นสุดท้ายของยีน โดยอาศัยเทคนิค 2 dimensional gel electrophoresis (2DGE) ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์นั้น โปรตีโอมิกส์ถูกนำมาใช้ค้นหาเครื่องหมายโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจในสัตว์เลี้ยง (ไก่ สุกร โค และแกะ) อาทิเช่น การศึกษาโปรตีโอมิกส์จากต่อมใต้สมอง (hypothalamus) ของไก่ที่ให้ไข่ตกเปรียบเทียบกับไก่ที่ให้ไข่ไม่ตก⁽⁷⁾ หรือการเปรียบเทียบรูปแบบของโปรตีโอมิกส์ในกล้ามเนื้อของสุกร ที่มีลักษณะสีซีดกับเนื้อลักษณะสีคล้ำ⁽⁸⁾ รวมถึงการศึกษารูปแบบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่แสดงออกในกล้ามเนื้อไก่⁽⁹⁾

สรุป

จีโนม หมายถึง สารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอทั้งหมดที่มีอยู่ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต การศึกษาจีโนมของสัตว์ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ (1) การศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างของสารพันธุกรรม (เช่น การศึกษาแผนที่ยีน การถอดรหัสพันธุกรรม) (2) การศึกษาเกี่ยวกับหน้าที่ของยีน (เช่น การศึกษาการแสดงออกของยีน โปรตีโอมิกส์ เมแทโบโลมิกส์ อีพีจีโนมิกส์ นิวทริจีโนมิกส์ และไมโครอาร์เอ็นเอ) การประยุกต์ใช้จีโนมในด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ เพื่อใช้ค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอสำหรับบ่งชี้ลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยอาศัยการศึกษาในระดับจีโนมิกส์ (genomics) ทรานสคริปโตมิกส์

(transcriptomics) และโปรตีโอมิกส์ (Proteomics) การใช้เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอในการคัดเลือกพันธุ์สัตว์ สามารถใช้ได้กับสัตว์ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ไม่คำนึงถึงปัจจัยของสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อลักษณะปรากฏเหล่านั้น และไม่จำเป็นต้องรอให้สัตว์แสดงลักษณะเหล่านั้นออกมาก่อน จึงทำให้การปรับปรุงพันธุ์สัตว์ด้วยวิธีดังกล่าว มีความแม่นยำและรวดเร็วมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. Caetano AR, Johnson RK, Ford JJ, Pomp D. Microarray profiling for differential gene expression in ovaries and ovarian follicles of pigs selected for increased ovulation rate. *Genetics*. 2004; 168(3): 1529–37.
2. Bai Q, McGillivray C, da Costa N, Dornan S, Evans G, Stear MJ, et al. Development of a porcine skeletal muscle cDNA microarray: analysis of differential transcript expression in phenotypically distinct muscles. *BMC Genomics*. 2003; 4(1): 8.
3. Cogburn LA, Wang X, Carre W, Rejto L, Porter TE, Aggrey SE, et al. Systems-wide chicken DNA microarrays, gene expression profiling, and discovery of functional genes. *Poult. Sci*. 2003; 82(6): 939–51.

4. Munir S, Kapur V. Transcriptional analysis of the response of poultry species to respiratory pathogens. *Poult. Sci.* 2003; 82(6): 885–92.
5. Moser RJ, Reverter A, Kerr CA, Beh KJ, Lehnert SA. 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.* 2004; 82(5): 1261–71.
6. Byrne KA, Wang YH, Lehnert SA, Harper GS, McWilliam SM, Bruce HL, et al. Gene expression profiling of muscle tissue in Brahman steers during nutritional restriction. *J. Anim. Sci.* 2005; 83(1): 1–12.
7. Kuo Y-M, Shiue Y-L, Chen C-F, Tang P-C, Lee Y-P. Proteomic analysis of hypothalamic proteins of high and low egg production strains of chickens. *Theriogenology.* 2005; 64(7): 1490–502.
8. Sayd T, Morzel M, Chambon C, Franck M, Figwer P, Larzul C, et al. Proteome analysis of the sarcoplasmic fraction of pig semimembranosus muscle: implications on meat color development. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54(7): 2732–7.
9. Teltathum T, Mekchay S. Proteome changes in Thai indigenous chicken muscle during growth period. *Int. J. Biol. Sci.* 2009; 5(7): 679–85.