รูปแบบความผันแปรของสนิปส์ในระดับจีโนมของโคนมไทยหลากหลายพันธุ์

Genome Patterns of SNPs Variation in a Thai Multibreed Dairy Population

ทวี เหล่าดิ้ม[1] ศกร คุณวุฒิฤทธิรณ[1] ธนาทิพย์ สุวรรณโสภี[1] และ Mauricio A. Elzo[2]

Thawee Laodim[1], Skorn Koonawootrittriron[1], Thanathip Suwanasopee[1] and Mauricio A. Elzo[2]

บทคัดย่อ

ความแตกต่างของลักษณะที่ปรากฏของสัตว์แต่ละตัวในประชากร เกิดจากพื้นฐานพันธุกรรมที่แตกต่างกันในระดับเบส (A, T, G หรือ C) บนสายนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอ โดยพิจารณาได้จาก สนิปส์ (Single nucleotide polymorphisms; SNPs) ซึ่งเป็นรูปแบบความผันแปรที่พบมากที่สุดบนลำดับเบสของดีเอ็นเอ และมีลักษณะจำเพาะกับจีโนมของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อระบุรูปแบบความผันแปรของ สนิปส์ในระดับจีโนม จำนวน 8,810 ตำแหน่ง ของโคนมไทยหลากหลายพันธุ์ จำนวน 600 ตัว โดยพิจารณาจากสัดส่วนและร้อยละของตำแหน่งสนิปส์ที่แตกต่างกันทั้งหมดด้วยสถิติเชิงพรรณนา ผลการศึกษา พบว่า ตำแหน่ง สนิปส์มีการกระจายตัวบนโครโมโซมร่างกายและโครโมโซมเพศอย่างไม่สม่ำเสมอ และตำแหน่งสนิปส์บนจีโนมร้อยละ 90 มีค่า Minor allele frequency (MAF) มากกว่า 0.2 ข้อมูลเหล่านี้สามารถใช้เป็นพื้นฐานในการพิจารณาคัดเลือกตำแหน่งสนิปส์ สำหรับใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระดับจีโนมของโคนมในประเทศไทย

ABSTRACT

The difference in phenotypic appearance of each animal in a population occurred from different genetic basis at base level (A, T, G or C) on nucleotides of DNA. This genetic variation could be considered from the SNP (Single nucleotide polymorphism), which is a pattern of genetic variation that found most on the DNA sequence and specific to genome of each species. The objective of this study was to determine the genomic variation patterns of 8,810 SNPs of 600 Thai multibreed dairy cows. Proportion and percentage of all genomic SNPs were described using descriptive statistics. The results show variation of SNPs on autosome and sex chromosomes, and more than 90% of SNPs of animals in the study population have minor allele frequency (MAF) larger than 0.2. This information could be used as a basis for selection of the SNP loci for genome wide association studies of Thai dairy cattle in Thailand.

Key Words: genome, genetic, dairy, tropics, Thailand

e-mail address: laodim.t@gmail.com

[1] ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

[1] Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok, 10900

[2] Department of Animal Sciences, University of Florida, Gainesville, Florida, USA

คำนำ

การศึกษาจีโนม ในปัจจุบันกำลังเป็นที่สนใจและมีแนวโน้มในการศึกษาเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะในมนุษย์และสัตว์เศรษฐกิจ โดยทั่วไปการศึกษาจีโนมมีวัตถุประสงค์ เพื่อค้นหาความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตในระดับเบส (A, T, G หรือ C) บนนิวคลีโอไทด์ที่อาจมีผลต่อการแสดงออกลักษณะปรากฏที่แตกต่างกัน โดยพิจารณาจากสนิปส์ (Single nucleotide polymorphisms; SNPs) ซึ่งเป็นความแตกต่างของเบสเพียงหนึ่งตำแหน่งบนสายนิวคลีโอไทด์และเป็นรูปแบบความผันแปรที่พบมากที่สุดบนดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิต ทั้งนี้ ความผันแปรของตำแหน่งสนิปส์มีความสัมพันธ์กับลักษณะปรากฏในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดแตกต่างกัน (Hinds *et al*., 2005)

ในปัจจุบัน การศึกษาจีโนมถูกนำมาพัฒนาและใช้ประโยชน์เพื่อการผลิตและปรับปรุงพันธุ์สัตว์ โดยอาศัยความแตกต่างที่เกิดจากพันธุกรรมหรือสนิปส์ในระดับจีโนมซึ่งมีความจำเพาะต่อสัตว์แต่ละชนิดและต่อสัตว์แต่ละตัว (Garrick *et al*., 2012) ด้วยเทคโนโลยีทางชีววิทยาโมเลกุล จำนวนสนิปส์ในโคนม ถูกค้นพบมากกว่า 2,000,000 ตำแหน่ง สนิปส์บางตำแหน่งถูกเลือกใช้เป็นตัวแทนความสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมและลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจาก สนิปส์เป็นสาเหตุของความผันแปรทางพันธุกรรมบนดีเอ็นเอ (Bush and Moore, 2012) โดยความผันแปรของสนิปส์แต่ละตำแหน่งอาจส่งผลต่อความแตกต่างของโครงสร้างโปรตีนในระดับกรดอะมิโน และทำให้การแสดงลักษณะการให้ผลผลิตของสัตว์แต่ละตัวแตกต่างกัน (Yang *et al*., 2011) การศึกษาสนิปส์ในระดับจีโนมของโคนมในแต่ละประชากร สามารถช่วยให้เข้าใจลักษณะความผันแปรของสนิปส์แต่ละตำแหน่งบนแต่ละโครโมโซม ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์และการเพิ่มศักยภาพในการผลิตทางพันธุกรรมของโคนมในอนาคต

อย่างไรก็ตาม การศึกษาความผันแปรของสนิปส์ในระดับจีโนมมีจำนวนจำกัด และยังไม่พบการศึกษาความผันแปรของสนิปส์ในระดับจีโนมของโคนมในประเทศไทยและประเทศเขตร้อนอื่นๆ ซึ่งอาจมีรายละเอียดแตกต่างจากโคนมที่ถูกเลี้ยงดูในประเทศเขตอบอุ่น การวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษารูปแบบความผันแปรของสนิปส์ในระดับจีโนมของโคนมในประชากรโคนมไทยหลากหลายพันธุ์

อุปกรณ์และวิธีการ

ข้อมูลที่ใช้ศึกษาประกอบข้อมูลสนิปส์ของโคนม จำนวน 600 ตัว ที่เกิดในช่วงปี พ.ศ. 2541 ถึง 2554 ถูกเลี้ยงดู และให้ผลผลิตในฟาร์มของเกษตรกรไทยจำนวน 25 ฟาร์ม ในเขตพื้นที่ภาคกลางของประเทศไทย ทั้งนี้ โคนมแต่ละตัวที่ปรากฏในชุดข้อมูลเป็น โคนมพันธุ์แท้และลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนที่สัดส่วนทางพันธุกรรมของพันธุ์โคต่างๆ เช่น โฮลสไตน์ เจอร์ซี่ เรดเดน บราห์มัน เรดซินดิ ซาฮิวาล และพื้นเมืองไทย เป็นต้น

ข้อมูลปริมาณการให้ผลผลิตน้ำนมที่สุ่มเก็บเดือนละครั้งในการให้ผลผลิตน้ำนมครั้งแรกที่ครบสมบูรณ์ถูกพิจารณาคัดเลือกเพื่อจัดเก็บตัวอย่างเลือด แล้วนำมาสกัดสารพันธุกรรมดีเอ็นเอด้วยชุดสกัด MasterPure™ DNA PurificationKit (Epicentre®, USA) จากนั้นตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Spectrophotometer รุ่น NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA) ตัวอย่างดีเอ็นเอทั้งหมดถูกวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมสนิปส์โดยใช้ GeneSeek Genomic Profiler Bovine LD™ (GGP Low Density; 9K) ของบริษัท GeneSeek Inc. (Lincoln, NE, USA) โดยข้อมูลตำแหน่งสนิปส์จำนวน 8,810 ตำแหน่งถูกจำแนกตามตำแหน่งสนิปส์ที่พบบนแต่ละโครโมโซม

ข้อมูลความยาวของโครโมโซม จำนวนตำแหน่งสนิปส์ที่พบบนแต่ละโครโมโซม ระยะห่างระหว่างตำแหน่งสนิปส์ การกระจายตัวของ Minor allele frequency (MAF) บนโครโมโซมแต่ละคู่ของโคนม และรูปแบบเบสของตำแหน่งสนิปส์แต่ละตำแหน่ง ถูกนำมาศึกษาเชิงสถิติพรรณนาโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 2003) เพื่อพิจารณารูปแบบความแตกต่างของตำแหน่งสนิปส์บนโครโมโซมแต่ละคู่และบนตำแหน่งสนิปส์ในระดับจีโนมโคนมทั้งหมด จากนั้นสร้างกราฟแสดงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนตำแหน่งสนิปส์ในระดับจีโนมและช่วงค่า MAF ของตำแหน่งสนิปส์บนโครโมโซมร่างกาย และโครโมโซมเพศของโคนมทั้งหมดด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft Excel (Microsoft Office, 2010) เพื่อใช้ประกอบการพิจารณาถึงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงโดยภาพรวม

ผล

ประชากรโคนมที่ศึกษามีตำแหน่งสนิปส์ทั้งหมด 8,810 ตำแหน่ง ที่มีความจำเพาะบนโครโมโซมของโคนมและรูปแบบเบส A T G และ C บนสายนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอ การพิจารณาความแตกต่างของตำแหน่งสนิปส์ดังกล่าว เป็นการพิจารณาสัดส่วนและเปอร์เซ็นต์ของตำแหน่งสนิปส์ในระดับจีโนมบนแต่ละโครโมโซมของโคนมจำนวน 600 ตัว ซึ่งพบตำแหน่งของสนิปส์ที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ในการศึกษาครั้งนี้จำนวน 8,587 ตำแหน่ง

ตำแหน่งสนิปส์บนแต่ละโครโมโซม มีการกระจายตัวที่ไม่สม่ำเสมออยู่บนโครโมโซมร่างกายและโครโมโซมเพศ ลักษณะเช่นนี้ มีผลทำให้โครโมโซมแต่ละคู่มีสัดส่วนจำนวนตำแหน่งสนิปส์ที่ไม่เท่ากัน (Table 1) โดยโครโมโซมทั้งหมดของโคนม มีความยาวรวม 2,655.830 Mbp โดยที่โครโมโซมคู่ที่ 1 มีความยาวมากที่สุด (158.160 Mbp) และโครโมโซมคู่ที่ 25 มีความยาวที่น้อยสุด (42.851 Mbp) นอกจากนี้ ยังพบความแตกต่างของระยะห่างระหว่างตำแหน่งสนิปส์เฉลี่ยบนโครโมโซมแต่ละคู่ ซึ่งวัดได้จากตำแหน่งของสนิปส์ (ที่พิจารณา) ที่เบี่ยงเบนออกไปจากตำแหน่งสนิปส์ที่พบเป็นตำแหน่งแรกบนแต่ละโครโมโซมในประชากรโคนมที่ศึกษา โดยพบว่า โครโมโซมคู่ที่ 25 มีระยะห่างระหว่างตำแหน่งสนิปส์เฉลี่ยน้อยที่สุด (21.221 Mbp) และโครโมโซมคู่ที่ 1 มีระยะห่างระหว่างตำแหน่งสนิปส์เฉลี่ยมากสุด (85.460 Mbp) และโครโมโซมเพศมีระยะห่างระหว่างตำแหน่งสนิปส์เฉลี่ยเท่ากับ 71.646 Mbp นอกจากนี้ ตำแหน่งสนิปส์ในระดับจีโนมโคนมทั้งหมดมีลักษณะการกระจายตัวอยู่รวมกันเป็นกลุ่มบนแต่ละโครโมโซม ตำแหน่งสนิปส์ที่พบมากสุดอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 1 มีสนิปส์ 532 ตำแหน่ง รองลงมาคือ โครโมโซมคู่ที่ 6 (444 ตำแหน่ง) และ โครโมโซมคู่ที่ 2 (439 ตำแหน่ง) ตามลำดับ และพบสนิปส์น้อยที่สุดบนโครโมโซมคู่ที่ 28 ซึ่งพบสนิปส์เพียง 150 ตำแหน่ง และบนโครโมโซมเพศที่พบสนิปส์ 285 ตำแหน่ง

การกระจายตัวค่า minor allele frequency (MAF) บนแต่ละโครโมโซม มีลักษณะเหมือนกัน (จำนวนสนิปส์เพิ่มขึ้นตาม MAF) ทั้งในโครโมโซมร่างกายและโครโมโซมเพศ อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย MAF ของโครโมโซมร่างกาย พบว่าโครโมโซมคู่ที่ 25 มีค่าสูงที่สุด (0.38) และโครโมโซมคู่ที่ 20 มีค่า MAF ต่ำที่สุด (0.34) ส่วนค่าเฉลี่ย MAF ของโครโมโซมเพศมีค่าเท่ากับ 0.31 (Table 1) นอกจากนี้ การกระจายตัวของค่า MAF บนตำแหน่งสนิปส์ในระดับจีโนมทั้งหมดมีค่าเฉลี่ย ค่ามัธยฐาน และค่าฐานนิยมเท่ากับ 0.36 0.39 และ 0.49 ตามลำดับ

Table 1 Descriptive statistics of SNPs and MAF on each chromosome of a Thai multibreed dairy population

Chr	SNP	Physical length (Mbp)			Physical Distance (Mbp)			MAF
	(n)	Min	Max	Mean (SD)	Min	Max	Mean (SD)	Mean (SD)
1	532	0.14	158.16	85.59 (48.66)	0.00	158.03	85.46 (48.66)	0.37 (0.10)
2	439	0.19	136.48	70.43 (42.79)	0.00	136.29	70.24 (42.79)	0.36 (0.11)
3	410	0.31	121.38	56.84 (35.43)	0.00	121.07	56.53 (35.43)	0.36 (0.11)
4	361	0.25	120.62	60.70 (35.44)	0.00	120.36	60.45 (35.44)	0.37 (0.10)
5	386	0.10	120.78	60.08 (35.71)	0.00	120.69	59.98 (35.71)	0.36 (0.12)
6	444	0.20	121.36	60.23 (35.69)	0.00	121.15	60.03 (35.69)	0.37 (0.10)
7	347	0.25	112.61	56.29 (34.45)	0.00	112.37	56.05 (34.45)	0.37 (0.10)
8	350	0.46	113.32	57.83 (34.22)	0.00	112.86	57.37 (34.22)	0.37 (0.10)
9	330	0.82	105.46	49.42 (32.56)	0.00	104.64	48.60 (32.56)	0.36 (0.11)
10	323	1.04	104.22	51.93 (31.77)	0.00	103.18	50.89 (31.77)	0.37 (0.10)
11	343	0.11	107.04	53.38 (32.53)	0.00	106.93	53.27 (32.53)	0.36 (0.10)
12	271	0.62	91.09	44.26 (28.17)	0.00	90.47	43.64 (28.17)	0.37 (0.11)
13	272	0.31	84.15	42.96 (25.57)	0.00	83.84	42.64 (25.57)	0.36 (0.11)
14	281	1.46	84.62	41.97 (25.83)	0.00	83.15	40.51 (25.83)	0.36 (0.11)
15	275	1.24	85.01	43.50 (24.82)	0.00	83.77	42.26 (24.82)	0.37 (0.10)
16	302	0.56	80.93	38.62 (23.91)	0.00	80.37	38.07 (23.91)	0.34 (0.11)
17	223	0.11	74.97	38.96 (23.13)	0.00	74.86	38.85 (23.13)	0.37 (0.10)
18	239	0.08	65.98	37.24 (21.88)	0.00	65.90	37.15 (21.88)	0.36 (0.11)
19	220	1.18	64.01	35.41 (19.29)	0.00	62.83	34.24 (19.29)	0.36 (0.11)
20	284	0.25	71.79	32.03 (21.13)	0.00	71.55	31.78 (21.13)	0.34 (0.12)
21	251	0.80	70.61	39.89 (20.98)	0.00	69.81	39.08 (20.98)	0.35 (0.11)
22	199	0.50	60.93	30.74 (19.11)	0.00	60.43	30.24 (19.11)	0.38 (0.10)
23	206	0.40	52.13	29.23 (15.40)	0.00	51.73	28.82 (15.40)	0.37 (0.10)
24	214	0.54	62.64	30.99 (18.90)	0.00	62.10	30.44 (18.90)	0.37 (0.10)
25	160	0.14	42.85	21.36 (13.94)	0.00	42.71	21.22 (13.94)	0.36 (0.10)
26	176	0.73	51.68	27.85 (16.32)	0.00	50.95	27.12 (16.32)	0.35 (0.12)
27	155	0.04	45.37	22.74 (14.82)	0.00	45.33	22.70 (14.82)	0.37 (0.11)
28	150	0.04	46.20	23.74 (14.86)	0.00	46.15	23.70 (14.86)	0.37 (0.11)
29	159	0.63	50.97	25.60 (15.99)	0.00	50.34	24.97 (15.99)	0.37 (0.09)
X	285	0.49	148.48	72.13 (47.34)	0.00	148.00	71.65 (47.34)	0.31 (0.12)

Chr = Chromosome; MAF = Minor allele frequency

เมื่อพิจารณาสัดส่วนของตำแหน่งสนิปส์ทั้งหมดบนโครโมโซมร่างกายและโครโมโซมเพศ พบว่า สัดส่วนตำแหน่งสนิปส์มีลักษณะเพิ่มขึ้นเมื่อค่า MAF เพิ่มสูงขึ้น (Figure 1) โดยค่า MAF มีค่าอยู่ในช่วง 0.00 ถึง 0.50 และเมื่อพิจารณาสัดส่วนตำแหน่งสนิปส์ตามช่วงห่างของค่า MAF (แบ่งเป็น 10 ช่วง โดยห่างกันช่วงละ 0.05) พบว่า สัดส่วนตำแหน่งสนิปส์บนโครโมโซมร่างกาย (ร้อยละ 1.07) และโครโมโซมเพศ (ร้อยละ 0.70) มีค่าน้อยที่สุดบนช่วงค่า MAF 0.00 ถึง 0.05 และสัดส่วนตำแหน่งสนิปส์มีค่ามากที่สุดบนช่วงค่า MAF 0.45 ถึง 0.50 สำหรับโครโมโซมร่างกาย (ร้อยละ 24.03) และมีสัดส่วนตำแหน่งสนิปส์มากที่สุดบนช่วงค่า MAF 0.40 ถึง 0.45 สำหรับโครโมโซมเพศ (ร้อยละ 15.79) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาตำแหน่งสนิปส์ในระดับจีโนมทั้งหมดในประชากรโคนมที่ศึกษา พบตำแหน่งสนิปส์มากกว่าร้อยละ 91.24 (โครโมโซมร่างกาย) และ 77.19 (โครโมโซมเพศ) ที่มีค่า MAF มากกว่า 0.2

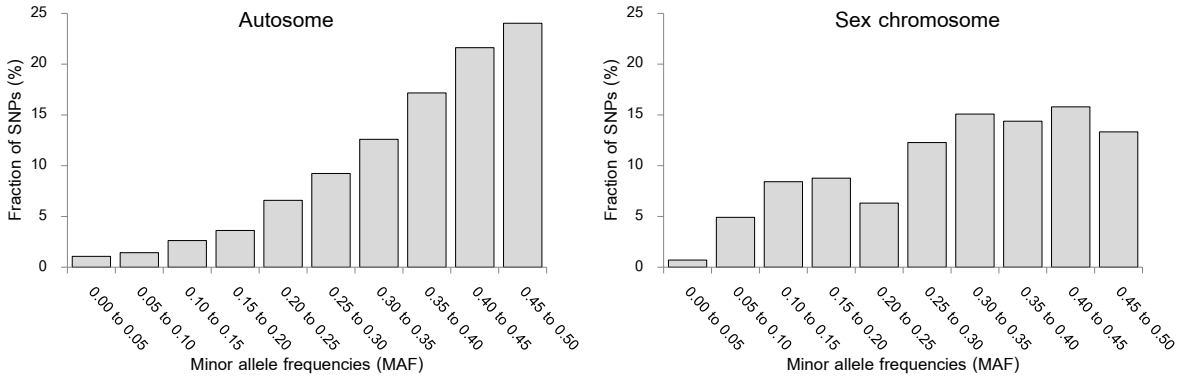

Figure 1 Minor allele frequency distribution of SNP on autosome and sex chromosome

วิจารณ์

จากการศึกษารูปแบบความผันแปรของสนิปส์ในระดับจีโนมโคนมไทยหลากหลายพันธุ์ พบว่าตำแหน่งสนิปส์มีการกระจายตัวที่ไม่สม่ำเสมอบนแต่ละโครโมโซม มีผลมาจากความยาวและระยะห่างระหว่างตำแหน่งสนิปส์บนแต่ละโครโมโซมมีค่าไม่เท่ากัน โดยโครโมโซมคู่ที่ 1 มีตำแหน่งสนิปส์ และความยาวโครโมโซมกับระยะห่างระหว่างตำแหน่งสนิปส์มากที่สุด ตรงข้ามกับโครโมโซมคู่ที่ 25 มีตำแหน่งสนิปส์ และความยาวโครโมโซมกับระยะห่างระหว่างตำแหน่งสนิปส์น้อยที่สุด โดยลักษณะดังกล่าวเป็นผลมาจากพันธุกรรมของประชากรโคนมที่เลี้ยงดูในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย ซึ่งเป็นโคนมลูกผสมที่มีสัดส่วนทางพันธุกรรมของพันธุ์โคต่างๆ ประกอบด้วย โคยุโรป (*Bos taurus*) เช่น โฮลสไตน์ เจอร์ซี่ และเรดเดน เป็นต้น และโคอินเดีย (*Bos indicus*) เช่น บราห์มัน เรดซินดิ ซาฮิวาล และพื้นเมืองไทย เป็นต้น อย่างน้อย 1 พันธุ์ ที่เกิดจากการผสมข้ามพันธุ์ในโคนมพ่อแม่พันธุ์ เพื่อยกระดับสายเลือดโฮลสไตน์ให้สูงขึ้น ลักษณะดังกล่าวเมื่อเกิดขบวนการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์ (meiosis) ในระยะ prophase I จะเกิดกระบวนแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนโครโมโซม (crossing over) โดยโครโมโซมที่ยาวและตำแหน่งสนิปส์ 2 ตำแหน่งที่ห่างกันมาก จะมีโอกาสเกิดการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนโครโมโซมมากกว่าโครโมโซมที่สั้นและตำแหน่งสนิปส์ที่ห่างกันน้อย (Weinstein, 1936)

ลักษณะดังกล่าวเมื่อเกิดการถ่ายทอดพันธุกรรมจากโคนมรุ่นหนึ่งไปยังรุ่นถัดไป ทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมขึ้น เนื่องจากกระบวนแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนโครโมโซมมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความหลากหลายของลำดับเบส (A T G และ C) บนสารพันธุกรรม (Stephan and Langley, 1998) ทำให้ลักษณะ

heterozygosity ของตำแหน่งสนิปส์มีค่าเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสามารถวัดได้จากการกระจายตัวของค่า MAF ในแต่ละโครโมโซมโดยที่สัดส่วนตำแหน่งสนิปส์จะเพิ่มขึ้นเมื่อค่า MAF เข้าใกล้ 0.50 นอกจากนี้ สัดส่วนของตำแหน่งสนิปส์มากกว่าร้อยละ 90 มีการกระจายตัวบนช่วง MAF มากกว่า 0.2 บนโครโมโซมทุกคู่ ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับการศึกษาของ Sargoizaei *et al*. (2008) และ Wiggans *et al.* (2012) ที่พบว่า สัดส่วนตำแหน่งสนิปส์ในระดับจีโนมของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อช่วง MAF มากกว่า 0.2

ผลจากการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า ตำแหน่งสนิปส์ที่มีค่า MAF ต่ำกว่าร้อยละ 10 (0.1) มีผลต่ออำนาจในการตรวจสอบอัตราส่วนของความเสี่ยงทางพันธุกรรมของการกำหนดตำแหน่งผิดที่ (False position) ต่ำกว่าตำแหน่งสนิปส์ที่มีค่า MAF สูงกว่าร้อยละ 40 อย่างมีนัยสำคัญ (Ardlie *et al*., 2002) อย่างไรก็ตาม จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย MAF บนจีโนมของโคนมที่เลี้ยงดูภายใต้สภาพแวดล้อมในประเทศไทยมีค่าเฉลี่ย MAF สูงกว่า โคนมพันธุ์โฮลสไตน์ (0.32) เจอร์ซี่ (0.28) และ บราวน์สวิส (0.29) ที่ศึกษาโดย Wiggans *et al.* (2012) และโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ที่เลี้ยงในทวีปอเมริกาเหนือ และประเทศออสเตรเลีย 0.29 และ 0.28 ตามลำดับ (Khatkar *et al*., 2008; Bohmanova *et al*., 2010) นอกจากนี้ ค่าฐานนิยมของค่า MAF ของประชากรโคนมที่ศึกษา มีค่าสูงกว่าประชากรโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ที่ศึกษาโดย Wiggans *et al*. (2012) อยู่ 0.01

ดังนั้น การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลจีโนมกับลักษณะการให้ผลผลิตจึงไม่นำตำแหน่งสนิปส์ที่มีค่า MAF ต่ำกว่าร้อยละ 10 มาใช้ในการวิเคราะห์ (Cupples *et al*., 2007) อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของ Tabangin *et al*. (2009) แสดงให้เห็นว่าการเลือกใช้สนิปส์ที่มีค่า MAF มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 1 และ 5 ไม่แตกต่างกับการใช้สนิปส์ที่มีค่า MAF มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 10 25 และ 50 ซึ่งการไม่นำตำแหน่งสนิปส์ที่มีค่า MAF ต่ำกว่าร้อยละ 10 มาใช้ในการวิเคราะห์มีผลต่อจำนวนตำแหน่งสนิปส์ที่สูญเสียมาก นอกจากนี้ อาจมีผลต่อการตรวจสอบตำแหน่งสนิปส์ที่มีอิทธิพลต่อลักษณะการให้ผลผลิต ดังนั้น ในปัจจุบันการคัดเลือกตำแหน่งสนิปส์จึงขึ้นอยู่กับผู้วิจัย ซึ่งในปัจจุบันการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจีโนมกับลักษณะการให้ผลผลิตในโคนม มักเลือกใช้ตำแหน่งสนิปส์ที่มีค่า MAF มากกว่าร้อยละ 1 (Pryce *et al*., 2010) ร้อยละ 3 (Guo *et al*., 2012) และ ร้อยละ 5 (Meredith *et al*., 2012)

สรุป

สนิปส์ในระดับจีโนมโคนมไทยหลากหลายพันธุ์ มีรูปแบบความผันแปรของตำแหน่งสนิปส์อยู่บนโครโมโซมร่างกายและโครโมโซมเพศ โดยตำแหน่งสนิปส์มีจำนวนที่แตกต่างกันบนแต่ละโครโมโซม ตำแหน่งสนิปส์พบมากที่สุดบนโครโมโซมคู่ที่ 1 จำนวน 532 ตำแหน่ง และตำแหน่งสนิปส์ทั้งหมดบนโครโมโซมร่างกายมีค่าเฉลี่ย MAF เท่ากับ 0.38 และโครโมโซมเพศมีค่าเฉลี่ย MAF เท่ากับ 0.31 ชี้ให้เห็นถึงความผันแปรของสนิปส์แต่ละตำแหน่งสำหรับประชากรโคนมที่ศึกษานี้ ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานที่มีความสำคัญในการพิจารณาคัดเลือกตำแหน่งสนิปส์ในการศึกษาความสัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิต ที่จะนำไปสู่การเพิ่มประสิทธิภาพทางพันธุกรรมสำหรับลักษณะการให้ผลผลิตของโคนม

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (KURDI; พ-ท(ช)7.55 สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และองค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย สำหรับทุนสนับสนุนการศึกษาวิจัยและการประสานงาน ห้องปฏิบัติการกลางคณะเกษตรสำหรับเครื่องมือที่ใช้ในการสกัดและเก็บรักษาดีเอ็นเอ และเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมในประเทศไทยสำหรับการสนับสนุนข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Ardlie, K.G., K.L. Lunetta and M. Seielstad. 2002. Testing for population subdivision and association in four case-control studies. **Am. J. Hum. Genet**. 7: 304-311.

Bohmanova, J., M. Sargolzaei and F.S. Schenkel. 2010. Characteristics of linkage disequilibrium in North American Holsteins. **BMC Genomics** 11: 421.

Bush, W.S. and J.H. Moore. 2012. Chapter 11: Genome-wide association studies. **PLoS Comput Biol**. 8(12): e1002822.

Cupples, L.A., H.T. Arruda, E.J. Benjamin, R.B.D. Agostino Sr, S. Demissie, A.L. Destefano, J. Dupuis, K.M. Falls, C.S. Fox, D.J. Gottlieb, D.R. Govindaraju, C.Y. Guo, N.L.H. Costa, S.J. Hwang, S. Kathiresan, D.P. Kiel, J.M. Laramie, M.G. Larson, D. Levy, C.Y. Liu., K.L. Lunetta, M.D. Mailman, A.K. Manning, J.B. Meigs, J.M. Murabito, C.N. Cheh, G.T.O. Connor, C.J.O. Donnell, M. Pandey, S. Seshadri, R.S. Vasan, Z.Y. Wang, J.B. Wilk, P.A. Wolf, Q. Yang and L.D. Atwood. 2007. The Framingham Heart study 100K SNP genome-wide association study resource: overview of 17 phenotype working group reports. **BMC Med. Genet**. 8: 1-19.

Garrick, D.J., L.H. Baumgard and H.L. Neibergs. 2012. Invited review: Genomic analysis of data from physiological studies. **J. Dairy Sci**. 95: 499-507.

Guo, J., H. Jorjani and O. Carlborg. 2012. A genome-wide association study using international breeding evaluation data identifies major loci affecting production traits and stature in the Brown Swiss cattle breed. **BMC Genet**. 13:82.

Hinds, D.A., L.L. Stuve, G.B. Nilsen, E. Halperin, E. Eskin, D.G. Ballinger, K.A. Frazer and D.R. Cox. 2005. Whole-genome patterns of common DNA variation in three human populations. **Science** 307: 1072-1079.

Khatkar, M.S., F.W. Nicholas, A.R. Collins, K.R. Zenger, J.A.L. Cavanagh, W. Barris, R.D. Schnabel, J.F. Taylor and H.W. Raadsma. 2008. Extent of genome-wide linkage disequilibrium in Australian Holstein-Friesian cattle based on a high-density SNP panel **BMC Genomics** 9: 187.

Meredith, B.K., F.J. Kearney, E.K. Finalay, D.G. Bradley, A.G. Fahey, D.P. Berry and D.J. Lynn. 2012. Genome-wide associations for milk production and somatic cell score in Holstein-Friesian cattle in Ireland. **BMC Genet**. 13: 21.

Microsoft Office. 2010. **Microsoft Excel 2010 Product Guide**. Microsoft Crop., US.

Pryce, J.E., S. Bolormaa, A.J. Chamberlain, P.J. Bowman, K. Savin, M.E. Goddard and B.J. Hayes. 2010. A validated genome-wide association study in 2 dairy cattle breeds for milk production and fertility traits using length haplotypes. **J. Dairy Sci.** 93: 3331-3345.

Sargolzaei, M., F.S. Schenkel, G.B. Jansen and L.R. Schaeffer. 2008. Extent of linkage disequilibrium in Holstein cattle in North America. **J. Dairy Sci.** 91: 2106-2117.

SAS. 2003. **SAS OnlineDoc 9.1.3**. SAS Inc., Cary, NC, USA.

Stephan, W. and C.H. Langley. 1998. DNA polymorphiem in Lycopersicon and crossing-over per physical length. **Genetics** 150: 1585-1593.

Tabangin, M.E., J.G. Woo and L.J. Martin. 2009. The effect of minor allele frequency on the likelihood of obtaining false positives. **BMC Genet.** 3: S41.

Weinstein, A. 1936. The theory of multiple strand crossing over. **Genetics** 21: 155-199.

Wiggans, G.R., T.A. Cooper, P.M. VanRaden, K.M. Olson and M.E. Tooker. 2012. Use of the Illumina Bovine3K Beadchip in dairy genomic evaluation. **J. Dairy Sci.** 95: 1552-1558.

Yang, J. T.A. Manolio, L.R. Pasquale, E. Boerwinkle, N. Caporaso, J.M. Cunningham, M. de Andrade, B. Feenstra, E. Feingold, M.G. Hayes, W.G. Hill, M.T. Landi, A. Alonso, G. Lettre, P. Lin, H. Ling, W. Lowe, R.A. Mathias, M. Melbye, E. Pugh, M.C. Cornelis, B.S. Weir, M.E. Goddard and P.M. Visscher. 2011. Genome partitioning of genetic variation for complex traits using common SNPs. **Nat. Genet.** 43: 519-525.