

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระดับจีโนมสำหรับการให้ผลผลิตน้ำนม ไขมันนมและอายุเมื่อคลอดลูกครั้งแรกของโคนมในประเทศไทย

Genome-wide Association Study for Milk Yield, Fat Yield and Age at First Calving of Dairy Cattle in Thailand

พิมพ์ชนก ยอดแคล้ว^{1/} ศกร คุณวุฒิมิถุนทร^{1*} Mauricio A. Elzo^{2/}
และ ธนาทิพย์ สุวรรณโสภี^{1/}
Pimchanok Yodklaew^{1/}, Skorn Koonawootrittriron^{1*}, Mauricio A. Elzo^{2/}
and Thanathip Suwanasopee^{1/}

Abstract: An association between genomic SNPs and the 305-d accumulated milk yield (MY), 305-d accumulated fat yield (FY) and age at first calving (AFC) were estimated using pedigree, phenotypic and genomic SNPs (8,810 SNPs; 9k) information of 600 first lactation cows raised in 56 dairy farms in Thailand. The number of SNPs that significantly associated with the studied traits was 102 for MY, 109 for FY and 91 for AFC at $P < 0.01$, and 490 for MY, 501 for FY and 490 for AFC at $P < 0.05$, respectively. Ten genes (*RABL3*, *CHCHD3*, *LOC613534*, *RORB*, *AAK1*, *LOC100847423*, *LOC100847883*, *CDH18*, *SLC25A28* and *RPS24*) were associated ($P < 0.05$) with all studied traits. These results implied possibility to improve milk yield, fat yield and age at first calving by considering SNPs and genes that had significantly associated with them under Thai environmental conditions.

Keywords: Dairy, genome-wide association study, production, tropics

^{1/1/} 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

* Corresponding Author, E-mail: agrskk@ku.ac.th

บทคัดย่อ: ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระดับจีโนมสำหรับปริมาณการให้ผลผลิตน้ำนมรวมที่ 305 วัน (MY) ปริมาณไขมันนมรวมที่ 305 วัน (FY) และอายุเมื่อคลอดลูกครั้งแรก (AFC) ถูกประมาณค่าโดยใช้ข้อมูลพันธุประวัติ ลักษณะปรากฏ และสปีส์ในระดับจีโนม (8,810 SNPs; 9k) ของโคนมเพศเมียที่ให้ผลผลิตครั้งแรกจำนวน 600 ตัว ในฟาร์มเกษตรกรจำนวน 56 รายในประเทศไทย จำนวนสปีส์ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะที่ศึกษามีจำนวน 102 ตำแหน่งสำหรับ MY, 109 ตำแหน่งสำหรับ FY และ 91 ตำแหน่งสำหรับ AFC ที่ $P < 0.05$ และจำนวน 490 ตำแหน่งสำหรับ MY 501 ตำแหน่งสำหรับ FY และ 490 ตำแหน่งสำหรับ AFC ที่ $P < 0.01$ ตามลำดับ และพบว่ามี 10 ยีน (*RABL3*, *CHCHD3*, *LOC613534*, *RORB*, *AAK1*, *LOC100847423*, *LOC100847883*, *CDH18*, *SLC25A28* และ *RPS24*) สัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) กับทุกลักษณะที่ศึกษา ผลลัพธ์ที่ได้ชี้ให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการพัฒนาศักยภาพการผลิตน้ำนม ไขมันนม และอายุเมื่อคลอดลูกครั้งแรก ด้วยการพิจารณาสปีส์และยีนที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะเหล่านั้นภายใต้สภาพแวดล้อมของประเทศไทย

คำสำคัญ: โคนม ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระดับจีโนม ผลผลิต เซตร้อนขึ้น

คำนำ

การคัดเลือกโคนมเพื่อการปรับปรุงพันธุ์สำหรับลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจ มักอาศัยการพิจารณาความสามารถทางพันธุกรรมที่ประเมินได้ด้วยวิธีการ best linear unbiased prediction (BLUP) อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ใช้ประโยชน์จากข้อมูลพันธุประวัติและลักษณะที่ปรากฏในการทำนายค่าทางพันธุกรรมซึ่งข้อมูลเหล่านี้อาจยังคงมีความลำเอียงหรือความคลาดเคลื่อนอยู่ ในปัจจุบัน การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในระดับจีโนม หรือ genome wide association study (GWAS; Jiang *et al.*, 2010; Meredith *et al.*, 2012) เป็นวิธีที่กำลังได้รับความนิยมและถูกนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์โคนมหลายประเทศ การศึกษาดังกล่าวเป็นการประยุกต์ใช้ข้อมูลทางพันธุกรรมที่ได้จากเทคโนโลยีชีววิทยาโมเลกุลในการพิจารณาคัดเลือกสัตว์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ โดยความแตกต่างของลำดับเบส ณ ตำแหน่งใดๆ (single nucleotide polymorphisms, SNPs; สปีส์) ในระดับจีโนมของสัตว์แต่ละตัว (individual) ในประชากรจะถูกนำมาประเมินความสัมพันธ์ที่มีกับลักษณะต่างๆ ที่สัตว์เหล่านั้นแสดงออก จากนั้นข้อมูลความสัมพันธ์จะถูกนำมาพิจารณาใช้ประโยชน์เพื่อเพิ่มความแม่นยำในการทำนายความสามารถทางพันธุกรรมและการพัฒนาเครื่องมือสำหรับการคัดเลือกสัตว์พันธุ์ต่อไป งานวิจัยนี้จึง

มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในระดับจีโนม (9k; 8,810 ตำแหน่ง) สำหรับปริมาณการให้ผลผลิตน้ำนมรวมที่ 305 วัน ปริมาณไขมันนมรวมที่ 305 วัน และอายุเมื่อคลอดลูกครั้งแรกของโคนมที่ถูกเลี้ยงดูภายใต้สภาพแวดล้อมของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษา ประกอบด้วย ข้อมูลพันธุประวัติ การให้ผลผลิตน้ำนมรวมที่ 305 วัน (305-d accumulated milk yield; MY) ปริมาณไขมันนมรวมที่ 305 วัน (305-d accumulated fat yield; FY) อายุเมื่อคลอดลูกครั้งแรก (age at first calving; AFC) และข้อมูลสปีส์ในระดับจีโนม (9k; 8,810 ตำแหน่ง) ของโคนมเพศเมีย จำนวน 600 ตัว ที่ถูกเลี้ยงดูในฟาร์มของเกษตรกรจำนวน 56 ราย ในประเทศไทย ทั้งนี้โคนมแต่ละตัวที่นำมาใช้ในการศึกษามีข้อมูลพันธุประวัติ และการให้ผลผลิตสมบูรณ์และถูกจัดเก็บตัวอย่างเลือด (9 มล.) เพื่อนำไปสกัดสารพันธุกรรม (DNA) ด้วยชุดสกัด DNA Purification Kit™ MasterPure (Epicentre®, USA) และระบุความแตกต่างทางพันธุกรรมสปีส์ จำนวน 8,810 ตำแหน่ง (9k) ด้วยเทคโนโลยี GeneSeek Genomic Profiler Low Density (GGP-LD) BeadChip (GeneSeek, Lincoln, NE, USA) ข้อมูลทั้งหมดถูกนำมา

เชื่อมโยงความสัมพันธ์ในรูปของสมการเส้นตรง และวิเคราะห์ผลด้วย general linear model procedure (SAS, 2003) จากนั้นสนิปส์แต่ละตำแหน่งที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะที่ศึกษาอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$ และ $P < 0.05$) ถูกนำไปพิจารณาระยะห่างระหว่างสนิปส์กับยีน โดยอ้างอิงฐานข้อมูล Bos_taurus_UMD_3.1 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/82>) จากนั้น ยีนที่ใกล้เคียงกับสนิปส์ที่มีนัยสำคัญมากที่สุดจะถูกนำมาพิจารณาว่ามีความสัมพันธ์กับลักษณะที่ศึกษา ความสัมพันธ์ระหว่างสนิปส์ ยีน และลักษณะถูกแสดงผลในรูปภาพด้วยโปรแกรม Cytoscape (Shannon *et al.*, 2003)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ที่ระดับนัยสำคัญ $P < 0.01$ สนิปส์ที่มีความสัมพันธ์กับ MY FY และ AFC มีจำนวน 91 102 และ 109 ตำแหน่ง ตามลำดับ สนิปส์ที่มีความสัมพันธ์

ร่วมระหว่าง MY และ FY มีจำนวน 20 ตำแหน่ง (ได้แก่ ARS-BFGL-NGS-57355, ARS-BFGL-NGS-114428, ARS-BFGL-NGS-55270, ARS-BFGL-NGS-109490, ARS-BFGL-NGS-36479, Hapmap38694-BTA-76566, BTB-00707438, Hapmap54974-rs29015318, Hapmap41996-BTA-88124, BTA-82736-no-rs, BTA-78317-no-rs, Hapmap27679-BTC-012551, BovineHD1600007199, Hapmap33244-BTA-158544, Hapmap46835-BTA-55650, Hapmap33890-BES3_Contig418_1154, ARS-BFGL-NGS-91530, ARS-BFGL-NGS-111806, ARS-BFGL-NGS-28818, และ ARS-BFGL-NGS-114812) พบสนิปส์ที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่าง MY และ AFC 1 ตำแหน่ง คือ ARS-BFGL-NGS-104692 และสนิปส์ที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่าง FY และ AFC มี 1 ตำแหน่ง คือ ARS-BFGL-BAC-14220 อย่างไรก็ตาม ไม่พบสนิปส์ใดที่มีความสัมพันธ์ร่วมกับทุกลักษณะที่ศึกษาที่ระดับนัยสำคัญ $P < 0.05$ สนิปส์ที่มี

Table 1 Significant SNPs associated with milk yield, fat yield and age at first calving in a Thai dairy population ($P < 0.05$)

SNP	Chromosome	Position (bp)	Nearest gene	
			Name	Distance (bp)
BTB-02069463	1	66017181	<i>RABL3</i>	within
ARS-BFGL-NGS-66558	4	97657010	<i>CHCHD3</i>	44899
Hapmap38694-BTA-76566	6	61591415	<i>LOC613534</i>	180080
BTB-00347427	8	50575791	<i>RORB</i>	299347
Hapmap41399-BTA-101088	11	67803326	<i>AAK1</i>	9482
ARS-BFGL-NGS-12066	15	27291268	<i>LOC100847423</i>	520754
Hapmap47649-BTA-51546	20	13688670	<i>LOC100847883</i>	13956
ARS-BFGL-BAC-34293	20	53571599	<i>CDH18</i>	within
ARS-BFGL-NGS-2464	26	20444634	<i>SLC25A28</i>	21194
ARS-BFGL-NGS-11877	28	34157181	<i>RPS24</i>	225404

ความสัมพันธ์กับ MY FY และ AFC มีจำนวน 490 490 และ 501 ตำแหน่ง ตามลำดับ จำนวนสปีส์ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะ MY ส่วนใหญ่มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 1, 2, 6 และ 8 ในขณะที่สปีส์ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะ FY ส่วนใหญ่มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 1, 4 และ 6 สปีส์ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะ AFC ส่วนใหญ่จะมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 1 ความสัมพันธ์ร่วมระหว่างสปีส์กับลักษณะ MY และ FY, MY และ AFC, และ FY และ AFC มีจำนวน 143, 35 และ 23 ตำแหน่ง ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้พบ สปีส์ 10 ตำแหน่งที่มีความสัมพันธ์ ($P < 0.05$) สำหรับทุกลักษณะที่ศึกษาซึ่งมีรายละเอียดปรากฏในตารางที่ 1

จำนวนสปีส์และยีนที่มีความสัมพันธ์กับ MY FY และ AFC ที่ระดับนัยสำคัญ $P < 0.05$ ที่พบในการศึกษานี้แตกต่างไปจากผลการวิจัยในประชากรโคนมอื่นๆ (เช่น Jiang *et al.*, 2010; Meredith *et al.*, 2012) ซึ่งยืนยันให้เห็นถึงความจำเพาะของผลลัพธ์ที่ได้จากประชากรโคนมที่ศึกษา อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้เป็นส่วนหนึ่งของการพัฒนาระบบการประเมินความสามารถทางพันธุกรรมจีโนมโคนมที่ถูกเลี้ยงดูในประเทศไทย ความสัมพันธ์ระหว่างสปีส์ ยีน และลักษณะที่ศึกษาชี้ให้เห็นถึง โอกาสในการพัฒนาเครื่องมือสำหรับการคัดเลือกสัตว์พันธุ์ เพื่อการปรับปรุงพันธุ์โคนมในประเทศไทยที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

สรุป

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในระดับจีโนมช่วยให้ทราบถึงสปีส์และยีน ที่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$ และ $P < 0.05$) กับปริมาณการให้ผลผลิตน้ำนมรวมที่ 305 วัน ปริมาณไขมันนมรวมที่ 305 วัน และอายุเมื่อคลอดลูกครั้งแรก ของโคนมที่ถูกเลี้ยงดูในประเทศไทย

กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และ องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

- Jiang, L., J. Liu, D. Sun, P. Ma, X. Ding, Y. Yu and Q. Zhang. 2010. Genome wide association studies for milk production traits in Chinese Holstein population. PLoS ONE 5(10): e13661.
- Meredith, B. K., F. J. Kearney, E. K. Finlay, 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 Genetics 13(21): 1-11.
- SAS. 2003. SAS Online Doc 9.1.3. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Shannon, P., A. Markiel, O. Ozier, N. S. Baliga, J. T. Wang, D. Ramage, N. Amin, B. Schwikowski and T. Ideker. 2003. Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. Genome Research 13(11): 2498-2504.