The Thai Journal of Veterinary Medicine

Volume 34
Issue 1 *March, 2004*

Article 10

3-1-2004

GENETIC POLYMORPHISM OF BETA AND KAPPA CASEIN IN CROSSBRED DAIRY CATTLE

Chortip Aroondechachai

Chancharat Reodecha

Duangsmorn Suwattana

Monchai Duangjinda

Follow this and additional works at: https://digital.car.chula.ac.th/tjvm

Part of the Veterinary Medicine Commons

Recommended Citation

Aroondechachai, Chortip; Reodecha, Chancharat; Suwattana, Duangsmorn; and Duangjinda, Monchai (2004) "GENETIC POLYMORPHISM OF BETA AND KAPPA CASEIN IN CROSSBRED DAIRY CATTLE," *The Thai Journal of Veterinary Medicine*: Vol. 34: Iss. 1, Article 10.
Available at: https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol34/iss1/10

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Veterinary Medicine by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

นิพนธ์ต้นฉบับ

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนเบต้าเคซีน และแคปป้าเคซีนในโคนมลูกผสม

ช่อทิพ อรุณเดชาชัย[1] จันทร์จรัส เรี่ยวเดชะ[2*] ดวงสมร สุวัฑฒน[2] มนต์ชัย ดวงจินดา[3]

Abstract

Chortip Aroondechachai[1] Chancharat Reodecha[2*] Duangsmorn Suwattana[2] Monchai Duangjinda[3]

GENETIC POLYMORPHISM OF BETA AND KAPPA CASEIN IN CROSSBRED DAIRY CATTLE

The objective of this study was to determine the frequencies of the genetic variants of the beta and kappa casein gene in 87 crossbred dairy cattle. Beta and kappa casein genotypes were investigated, the first by an allele-specific polymerase chain reaction (ASPCR) and the second by a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). Three beta casein alleles of A^1, A^2 and B were found, with frequencies of 0.30, 0.61 and 0.09, respectively. In total, five genotypes of A^1A^1, A^1A^2, A^2A^2, A^2B and A^1B were found, with frequencies of 0.06, 0.41, 0.36, 0.11 and 0.06. Three kappa casein alleles of A, B and E were found, with frequencies of 0.72, 0.26 and 0.02, which constituted five genotypes of AA, AB, AE, BB and BE with frequencies of 0.50, 0.40, 0.03, 0.06 and 0.01. The results showed that the two loci in this herd did not follow Hardy-Weinberg's Law of Equilibrium, with a gametic phase disequilibrium of 0.45 (p<0.05). The results also showed that degrees of polymorphism for beta and kappa casein loci, were 0.50 and 0.58, respectively.

Keywords : beta casein, kappa casein, genetic polymorphism, crossbred dairy cattle

[1]Graduate student, Department of Animal Husbandry, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University

[2]Department of Animal Husbandry, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok 10330

[3]Department of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University

*Corresponding author

[1]นิสิตปริญญามหาบัณฑิต สาขาการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

[2]ภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

[3]ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*ผู้รับผิดชอบบทความ

บทคัดย่อ

ช่อทิพ อรุณเดชาชัย[1] จันทร์จรัส เรี่ยวเดชะ[2*] ดวงสมร สุวัฑฒน[2] มนต์ชัย ดวงจินดา[3]

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนเบต้าเคซีนและแคปป้าเคซีนในโคนมลูกผสม

การตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนเบต้าเคซีนและแคปป้าเคซีน ในโคนมลูกผสมจำนวน 87 ตัว จากฟาร์มโคนมแห่งหนึ่งในจังหวัดราชบุรี ด้วยวิธี ASPCR และ PCR-RFLP ตามลำดับ พบยีนเบต้าเคซีนมีอัลลีลทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ A^1, A^2 และ B มีความถี่อัลลีลเท่ากับ 0.30, 0.61 และ 0.09 ตามลำดับ มีความถี่จีโนไทป์ของ A^1A^1, A^1A^2, A^2A^2, A^2B และ A^1B เท่ากับ 0.06, 0.41, 0.36, 0.11 และ 0.06 ตามลำดับ ยีนแคปป้าเคซีน พบอัลลีลทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ A, B และ E มีความถี่อัลลีลเท่ากับ 0.72, 0.26 และ 0.02 ตามลำดับ มีความถี่จีโนไทป์ของ AA, AB, AE, BB และ BE เท่ากับ 0.50, 0.40, 0.03, 0.06 และ 0.01 ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่า ความถี่อัลลีลของยีนเบต้าและแคปป้าเคซีนของโคนมฝูงนี้ไม่อยู่ในภาวะสมดุลตามกฎของ Hardy-Weinberg โดยมีค่า linkage disequilibrium เท่ากับ 0.45 (p<0.05) และมีระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนทั้งสองเท่ากับ 0.50 และ 0.58 ตามลำดับ

คำสำคัญ : ยีนเบต้าเคซีน ยีนแคปป้าเคซีน ความหลากหลายทางพันธุกรรม โคนมลูกผสม

บทนำ

ปัจจุบันมีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic polymorphism) ของยีนที่ควบคุมการแปลรหัสของโปรตีนเคซีนชนิดต่างๆ กันอย่างกว้างขวาง ได้แก่ แอลฟา-เอส1, แอลฟา-เอส2, เบต้า และแคปป้า ตำแหน่งของยีนที่ควบคุมโปรตีนดังกล่าว พบอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6 ที่ตำแหน่ง q31 ถึง q33 มีขนาดประมาณ 200 ถึง 300 กิโลเบส (Mercier and Vilotte, 1993) โดยเฉพาะยีนเบต้าเคซีนและแคปป้าเคซีนมีรายงานว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง เกิดจากการเปลี่ยนแปลงเบสบางตำแหน่งบนสายดีเอ็นเอทำให้กรดอะมิโนในสายโปรตีนแตกต่างกันไปในบางตำแหน่ง และบางอัลลีลมีอิทธิพลสำคัญต่อการควบคุมลักษณะการให้ผลผลิตน้ำนมในโคนม เช่น ยีนเบต้าเคซีนอัลลีล A^2 ให้ปริมาณน้ำนมและปริมาณโปรตีนสูงสุด ยีนแคปป้าเคซีนอัลลีล B ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด (Ojala et al., 1997; Ikonen et al., 1999b) และมีอิทธิพลสำคัญต่อกระบวนการผลิตเนยแข็ง ได้เนยแข็งคุณภาพดีและปริมาณมาก (Marziali and Ng-Kwai-Hang, 1986; Ikonen et al., 1999a; Choi and Ng-Kwai-Hang., 2003) อย่างไรก็ตาม ประชากรโคนมต่างๆ มีรูปแบบของอัลลีลที่พบแตกต่างออกไป แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างโคพันธุ์ยุโรป *(Bos taurus)* และโคพันธุ์ซีบู (*Bos indicus*) (Aschaffenburg et al., 1968) ยีนเบต้าเคซีนที่พบในประชากรโคนมทั่วไป ได้แก่ อัลลีล A^1, A^2, A3 และ B ยีนแคปป้าเคซีน ที่พบทั่วไป ได้แก่ อัลลีล A และ B ส่วนอัลลีล E พบเฉพาะใน โคพันธุ์ Finnish Ayshire (Ikonen et al., 1996) โดยมีความถี่ของอัลลีลต่างๆ ที่พบแตกต่างกันไปในโคนมแต่ละสายพันธุ์ (Ng-Kwai-Hang et al., 1984; Lin et al.,1989; Bech and Kristiansen, 1990; Van Eenennaam and Medrano,1991; Ojala et al., 1997; Malik et al., 1998)

โคนมที่เลี้ยงในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นโคนมลูกผสมพันธุ์ Holstein Friesian ระดับเลือดต่างๆ ตั้งแต่ร้อยละ 62.5 ขึ้นไป แต่ไม่มีรายงานการศึกษาจีโนไทป์ของยีนเบต้าเคซีน สำหรับยีนแคปป้าเคซีนมีเพียงการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับจีโนไทป์ของยีนแคปป้าเคซีน ในพ่อพันธุ์โคนมของศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพ โดยศิริลักษณ์ (2002) พบอัลลีล A, B, และ E มีความถี่เท่ากับ 0.71, 0.21 และ 0.08 ตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความถี่จีโนไทป์ และความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนเบต้าและแคปป้าเคซีนในแม่โคนมลูกผสม

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ทำการสุ่มแม่โคนมลูกผสมระหว่างโคพันธุ์ยุโรป ได้แก่ Holstein Friesian, Brown Swiss และ Jersey กับโคพันธุ์ซีบู ได้แก่ พันธุ์พื้นเมือง และ Sahiwal ที่ระดับเลือดต่างๆ จากฟาร์มโคนมแห่งหนึ่งในเขตจังหวัดราชบุรี ทั้งหมด 87 ตัว

การตรวจหาจีโนไทป์ของยีนเบต้าและแคปป้าเคซีน

1. การสกัดดีเอ็นเอ

ทำการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำที่โคนหางปริมาณ 10 มล. ใส่หลอดสูญญากาศที่เคลือบด้วยสารป้องกันการแข็งตัว (EDTA) เพื่อทำการสกัดดีเอ็นเอ (DNA) โดยใช้ชุดน้ำยาสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูปสำหรับตัวอย่างเลือด (QIAamp@ DNA Blood MiniKit) เริ่มจากการทำลายผนังเซลล์และย่อยโปรตีนต่างๆ ด้วย QIAGEN Protease และ buffer AL ทำการล้างเพื่อให้ได้ดีเอ็นเอที่สะอาดขึ้น จากนั้นจึงเก็บดีเอ็นเอที่สกัดได้ไว้ในตู้แช่เย็น -20°ซ. เพื่อรอการใช้งาน

2. การวิเคราะห์ด้วยวิธี ASPCR และ PCR/RFLP

ตรวจหาจีโนไทป์ของยีนเบต้าและแคปป้าเคซีน โดยวิธี allele-specific polymerase chain reaction (ASPCR) และ polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) ตามลำดับ ซึ่งประยุกต์จากวิธีการของ Braunschweig (1998) มีรายละเอียดดังนี้

การเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอของยีนเบต้าเคซีน ด้วยวิธี ASPCR : โดยใช้ DNA template 100 ng และสารประกอบต่างๆ ในปฏิกิริยา ประกอบด้วย 10xPCR-buffer, dNTP's 1.25 m*M*, forward primer/specific reversed primer 20 m*M* รายละเอียดดังตารางที่ 1 0.5 U *Taq* DNA polymerase และปรับปริมาตรด้วย sterile water ให้ได้ 25 µl โดยมี PCR condition ดังนี้ initial denaturation ที่อุณหภูมิที่ 94°ซ. นาน 5 นาที จากนั้นทำปฏิกิริยา 30 รอบของ denaturation ที่ 94°ซ. นาน 30 วินาที primer annealing ที่ 62°ซ. นาน 30 วินาที และ primer extension ที่ 72°ซ. นาน 60 วินาที และจบด้วยขั้นตอน final extension ที่ 72°ซ. นาน 7 นาที

ตารางที่ 1 แสดงลำดับเบสบนสาย primers ที่ใช้ในปฏิกิริยา ASPCR และ PCR-RFLP

Primers	Sequence
beta-casein	
forward primer I:	
BCN 1	5'-TGA AGA AAG TGG GTT AAT GAG AAA TCC T-3'
reverse primers I:	
BCN 3 (A^1 B C F-specific)	5'-TTT GTG GGA GGC TGT TAT-3'
BCN 2 (A^2, A^3, E-specific)	5'-TTT GTG GGA GGC TGT TAG-3'
BCN B (B-specific)	5'-GTG AGA GTC AGG CTC TGC-3'
BCN A^1 (A^1-specific)	5'-GTG AGA GTC AGG CTC TGG -3'
BCN F (F-specific)	5'-GAA ACA TGA CAG TTG GA*A*-3
BCN A^3 (A^3-specific)	5'-GGG AAG GGC ATT TCT TTT-3'
forward primer II	
BCNI5	5'ATC AAA TGA GCT GTC CAT ATT AAT CTA TT-3'
reverse primers II	
BCN C (C-specific)	5'-CTC TGT TTG CTG CTG TTT-3'
BCN E (E-specific)	5'-TGT TTG CTG CTG TTC CT*T*-3'
kappa-casein	
forward primer :	
KP 1	5'-AAG AAA TAA TAC CAT TCT GCA TAA TTT ATT TTT TTA CAG-3'
reverse primers :	
KP 2	5'-GGC TGT TAT TCA TTT TGC CTT ATT TACCTG-3'

การเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอของยีนแคปป้าเคซีนด้วยวิธี PCR/RFLP : โดยใช้ DNA template 100 ng และสารประกอบต่างๆ ในปฏิกิริยาประกอบด้วย 10xPCR-buffer, dNTP's 1.25 m*M*, primers *KP 1/KP* 2 20 µM, 0.5 U *Taq* DNA polymerase และสุดท้ายปรับปริมาตรด้วย sterile water ให้ได้ 25 µl โดยมี PCR condition ดังนี้ initial denaturation ที่อุณหภูมิที่ 95°ซ. นาน 5 นาที จากนั้นทำปฏิกิริยา 35 รอบของ denaturation ที่ 95°ซ. นาน 30 วินาที primer annealing ที่ 56°ซ. นาน 30 วินาที และ primer extension ที่ 72°ซ. นาน 60 วินาที และจบด้วยขั้นตอน final extension ที่ 72°ซ. นาน 7 นาที จากนั้นทำการตัดด้วย restriction enzymes ชนิดต่างๆ ได้แก่ *Hin*d lll, *Hin*f l, *Mae* ll, *Hae* lll และ *Hha* l

เมื่อได้ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอตามที่ต้องการด้วยวิธี ASPCR และ PCR-RFLP แล้ว นำ PCR product มาตรวจสอบด้วย 2.0% agarose gel electrophoresis และทำการบันทึกภาพและวิเคราะห์ผล

การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. การวิเคราะห์ความถี่จีโนไทป์ และความถี่ยีน

ความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีลของแต่ละตำแหน่งของยีนเบต้าเคซีนและแคปป้าเคซีน วิเคราะห์จากสูตร

$$P(X_{ij}) = \frac{X_{ij}}{N}$$

เมื่อ $P(X_{ij})$ เป็นความถี่จีโนไทป์ ij,

X_{ij} เป็นจำนวนสัตว์ที่พบจีโนไทป์ ij

และ $P_i = D_{ii} + \frac{1}{2}\Sigma H_{ij}$

เมื่อ P_i เป็นความถี่อัลลีล i,

D_{ii} เป็นความถี่ homozygous genotype ii,

H เป็นความถี่ heterozygous genotype ij

2. การวิเคราะห์ linkage disequilibrium ระหว่างยีนเบต้าเคซีนและแคปป้าเคซีน

ยีนเบต้าเคซีนและแคปป้าเคซีนมีตำแหน่งอยู่ใกล้ชิดบนโครโมโซมเดียวกัน จึงมี genetic linkage ระหว่างยีน ทำการตรวจสอบ linkage disequilibrium โดยใช้วิธีการของ Weir (1996) จากสูตร

$$D_{ij} = P_{ij} - P_i P_j$$

เมื่อ D_{ij} เป็นค่า disequilibrium ของอัลลีล i ของยีนเบต้า และ อัลลีล j ของยีนแคปป้า,

P_{ij} เป็นสัดส่วนของสัตว์ที่มีอัลลีล i และ j ร่วมกัน,

P_i เป็นความถี่ของอัลลีล i ของยีนเบต้า,

P_j เป็นความถี่ของอัลลีล j ของยีนแคปป้า

ทดสอบนัยสำคัญของค่า gametic disequilibrium ด้วยวิธีการของ Weir (1996) โดยใช้ χ^2-test จากสูตร

$$\chi^2 = \frac{n\hat{D}^2_{ij}}{P_i(1-P_i)P_j(1-P_j)}$$

3. การวิเคราะห์ degree of polymorphism

degree of polymorphism เป็นค่าดัชนีวัดความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนแต่ละตำแหน่ง (มีค่าตั้งแต่ 0-1) โดยประเมินตามวิธีของ Hartl (1989) จากสูตร

$$H = 1 - \Sigma P_i^2$$

เมื่อ P_i เป็นความถี่ของ homozygous genotype

ผล

การตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของ ยีนเบต้าเคซีนและแคปป้าเคซีน ด้วยวิธี ASPCR และ PCR-RFLP จะได้ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอขนาดต่างๆ กัน ดังแสดงในตารางที่ 2 และ 3 ตามลำดับ ทำให้สามารถจำแนกจีโนไทป์ต่างๆ ที่พบในประชากรได้ดังนี้ จีโนไทป์ของยีนเบต้าเคซีน ได้แก่ A^1A^1, A^1A^2, A^2A^2, A^2B และ A^1B ความถี่จีโนไทป์เท่ากับ 0.06, 0.41, 0.36, 0.11 และ 0.06 ตามลำดับ โดยความถี่อัลลีล A^1, A^2 และ B เท่ากับ 0.31, 0.61 และ 0.09 ตามลำดับ จีโนไทป์ของยีนแคปป้าเคซีน ได้แก่ AA, AB, AE, BB และ BE ความถี่จีโนไทป์เท่ากับ 0.50, 0.40, 0.03, 0.06 และ 0.01 ตามลำดับ โดยความถี่อัลลีล A, B และ E เท่ากับ 0.72, 0.26 และ 0.02 ดังแสดงในตารางที่ 4 และ 5 ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ความถี่จีโนไทป์ของยีนเบต้าเคซีนและแคปป้าเคซีนไม่อยู่ในภาวะสมดุลตามกฎของ Hardy-Weinberg โดยยีนทั้งสองมีค่า linkage disequilibrium เท่ากับ 0.45 (p<0.05) และยีนทั้งสองตำแหน่งมีความหลากหลายทางพันธุกรรม เมื่อตรวจสอบ degree of polymorphism สำหรับยีนเบต้าและแคปป้าเคซีนมีค่าเท่ากับ 0.50 และ 0.58 ตามลำดับ

วิจารณ์

จากการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนเบต้าเคซีนและแคปป้าเคซีนในโคนมลูกผสม ที่ทำการศึกษาครั้งนี้ พบว่า มียีนเบต้าเคซีนอัลลีล A^2 และยีนแคปป้าเคซีนอัลลีล A ความถี่เท่ากับ 0.61 และ 0.72 ตามลำดับ เป็นอัลลีลพื้นฐาน (common alleles) ที่พบมากในประชากร

ตารางที่ 2 ขนาดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยวิธี ASPCR

คู่ primers	***BCN 1***	***BCN 1***	***BCN 1***	***BCN I5***	***BCN 1***	***BCN 1***	***BCN I5***
	BCN 2	***BCN 3***	***BCN B***	***BCN C***	***BCN F***	***BCN A***[3]	***BCN E***
ขนาด (bp)	**296**	**296**	**462**	**270**	**551**	**414**	**267**
จีโนไทป์							
A^1A^1	-	+	-	-	-	-	-
A^1A^2	+	+	-	-	-	-	-
A^2A^2	+	-	*	*	*	-	-
A^2B	+	+	+	*	*	-	-
A^1B	-	+	+	-	-	*	*

*ไม่ต้องเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอ

ตารางที่ 3 ขนาด (bp) ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้ หลังจากการตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 583 bp ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 5 ชนิด (*Hin*f I *Hin*d III *Mae* II *Hae* III และ *Hha* I)

เอนไซม์ **จีโนไทป์**	***Hinf* I**	***Hin*d III**	***Mae* II**	***Hae* III**	***Hha* I**
AA	59, 69, 129, 326	583	300, 283	252, 331	41, 542
AB	59, 69, 129, 326	131, 452	300, 283	252, 331	41, 542
AE	59, 69, 129, 326	583	300, 283	107, 145, 331	41, 542
BB	59, 69, 455	131, 452	300, 283	*	*
BE	59, 69, 129, 326	131, 452	300, 283	107, 145, 331	41, 542

* จีโนไทป์ BB ไม่ต้องตัดด้วยเอนไซม์ *Hae* III และ *Hha* I

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนแม่โคนมที่มีจีโนไทป์ของยีนเบต้าเคซีน (B-CN) และแคปป้าเคซีน (K-CN) แบบต่างๆ และความถี่จีโนไทป์ (*genotype frequency*) ที่พบในประชากร

Genotype	**K-CN**					**Total**
B-CN	**AA**	**AB**	**AE**	**BB**	**BE**	
A^1A^1	2	2	1	-	-	5 (*0.06*)
A^1A^2	19	12	2	2	1	36 (*0.41*)
A^2A^2	18	13	-	-	-	31 (*0.36*)
A^2B	5	4	-	1	-	10 (*0.11*)
A^1B	-	4	-	1	-	5 (*0.06*)
Total	44 (*0.50*)	35 (*0.40*)	3 (*0.03*)	5 (*0.06*)	1 (*0.01*)	87 (*1.00*)

ตารางที่ 5 แสดงความถี่อัลลีล (allele frequency) ของยีนเบต้าและแคปป้าเคซีนที่พบในประชากร

B-CN		*K-CN*	
Allele	**Frequency**	**Allele**	**Frequency**
A^1	0.30	A	0.72
A^2	0.61	B	0.26
B	0.09	E	0.02
Total	*1*	*Total*	*1*

สอดคล้องกับ การศึกษาโคนมในประชากรกลุ่มอื่นๆ (Ng-Kwai-Hang et al., 1984; Lin et al.,1989; Bech and Kristiansen, 1990; Van Eenennaam and Medrano,1991; Ojala et al., 1997; Malik et al., 1998) สำหรับยีนแคปป้าเคซีนอัลลีล E มีรายงานว่า พบในโคพันธุ์ Finnish Ayshire ในฟินแลนด์และนอร์เวย์ (Ikonen et al., 1996; Lien et al., 1999) แต่ไม่พบในโคพันธุ์ Holstein Friesian ทั้งในสหรัฐอเมริกา (Van Eenennaam and Medrano,1991; Bobe et al., 1999) และแคนาดา (Ng-Kwai-Hang et al., 1990) การศึกษาครั้งนี้พบอัลลีล E ความถี่ 0.02 สอดคล้องกับ ศิริลักษณ์ (2002) ซึ่งรายงานว่าพบ ยีนแคปป้าเคซีนอัลลีล E ในฝูงพ่อพันธุ์โคนมของศูนย์วิจัย การผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพ ความถี่เท่ากับ 0.08 ทั้งนี้ สาเหตุที่ปรากฏอัลลีล E อาจเป็นไปได้ว่าในอดีต ประเทศไทยมีการนำเข้าน้ำเชื้อพ่อพันธุ์ที่มีอัลลีล E แฝงอยู่ หรืออัลลีล E อาจจะปรากฏในสายพันธุ์โคพื้นเมืองไทยอยู่ก่อนแล้วแต่ยังไม่มีรายงานการศึกษา

ยีนเบต้าเคซีนและแคปป้าเคซีนมีค่า linkage disequilibrium เท่ากับ 0.45 ($p<0.05$) แสดงถึงการเกิดความไม่สมดุล (disequilibrium) ของความถี่ยีนตามกฎของ Hardy-Weinberg โดยที่ยีนทั้งสองมีรายงานว่า ตำแหน่งอยู่ใกล้ชิดบนโครโมโซมเดียวกัน และมี genetic linkage ระหว่างยีน (Mercier and Vilotte, 1993) และนอกจากนี้อาจเป็นผลมาจากภายในฟาร์มได้มีการคัดเลือก (selection) โคนมอยู่เสมอ โดยมุ่งเน้นในลักษณะปริมาณน้ำนมเป็นหลัก จึงทำให้อัลลีลที่เกี่ยวข้องกับลักษณะปริมาณน้ำนมมีโอกาสที่จะถูกคัดเลือกไว้ในประชากรด้วยเช่นกัน ยีนเบต้าเคซีนและแคปป้าเคซีนมีความหลากหลายอยู่ในระดับปานกลางทั้งคู่ โดยการตรวจสอบ degree of polymorphism ของยีนทั้งสองตามวิธีของ Hartl (1989) มีค่าเท่ากับ 0.50 และ 0.58 ตามลำดับ

สรุป

ยีนเบต้าเคซีนพบจีโนไทป์ทั้งหมด 5 แบบ ได้แก่ A^1A^1 A^1A^2 A^2A^2 A^2B และ A^1B โดยอัลลีล A2 มีความถี่อัลลีลเท่ากับ 0.61 เป็นอัลลีลพื้นฐานที่พบมากที่สุดในประชากร และยีนแคปป้าเคซีนพบจีโนไทป์ทั้งหมด 5 แบบ ได้แก่ AA AB AE BB และ BE โดยอัลลีล A มีความถี่อัลลีลเท่ากับ 0.72 เป็นอัลลีลพื้นฐานที่พบมากที่สุดในประชากร ยีนทั้งสองอยู่ในสภาพ linkage disequilibrium และมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของแต่ละตำแหน่งในระดับปานกลาง ใกล้เคียงกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้จัดสรรเงินทุนสนับสนุน และคุณอดุลย์ วังตาล ที่ได้เอื้อเฟื้อข้อมูลในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ศิริลักษณ์ เตชะนรราช. 2545 (2002). การศึกษาจีโนไทป์ของแคปป้า-เคซีนในพ่อพันธุ์โคนมของกองผสมเทียม. วิทยานิพนธ์ปริญญาปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 63 หน้า.

Aschaffenburg, R., Sen, A. and Thompson, M.P. 1968. Genetic variants of casein in Indian and African Zebu cattle. Comp. Biochem. Physiol. 25:177-184.

Bech, A. and Kristiansen, K.R. 1990. Milk protein polymorphism in Danish dairy cattle and the influence of genetic variants on milk yield. J. Dairy Res. 57: 53-62.

Bobe, G., Beitz, D.C., Freeman, A.E. and Lindberg, G.L. 1999. Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parameter estimates. J. Dairy Sci. 82: 2797-2804.

Braunschweig, M. 1998. Associations between casein haplotypes and milk production traits of Braunvieh and Fleckvieh. Ph. D. Diss. ETH No. 12731, Swiss. Federal Institute of Technology, Zurich, Switzerland. 140 pp.

Choi, J.W. and Ng-Kwai-Hang, K.F. 2003. Effects of genetic variants of K-casein and B-lactoglobulin and heat treatment on coagulating properties of milk. Asian-Aust. J.Anim.Sci. 16: 1212-1217.

Hartl, D.L. and Clark, A.G. 1989. Principles of population genetics. 2nd ed. Sinauer, Sunderland, MA, USA.

Ikonen, T., Ahlfors, K., Kempe,R., Ojala, M. and Ruottinen, O. 1999a. Genetic parameters for the milk coagulation properties and prevalence of noncoagulating milk in Finnish dairy cows. J. Dairy Sci. 82: 205-214.

Ikonen, T., Ojala, M. and Ruottinen, O. 1999b. Associations between milk protein polymorphism and first lactation milk production traits in Finnish Ayrshire cows. J. Dairy Sci. 82: 1026-1033.

Ikonen, T., Ruottinen, O., Erhardt, G. and Ojala, M. 1996. Allele frequencies of the major milk proteins in the Finnish Ayrshire and detection of a new K-casein variant. Anim. Genet. 27: 179-181.

Lien, S., Kantanen, J., Olsaker, I., Holm, L.E., Eythorsdottir, E., Sandberg, K., Dalsgard, B. and Adalsteinsson, S. 1999. Comparison of milk protein allele frequencies in Nordic cattle breeds. Ani. Gen. 30: 85-91.

Lin, C.Y., McAllister, A.J., Ng-Kwai-Hang, K.F., Hayes, J.F., Batra, T.R., Lee, A.J., Roy, G.L., Vesely, J.A., Wauthy, J.M. and Winter, K.A. 1989. Relationships of milk protein types to lifetime performance. J. Dairy Sci. 72: 3085.

Malik, S., Sidhu, N.S., Singh, B.P., Singh, S. and Rani, R. 1998. A study of kappa and beta casein alleles in cross-bred and Zebu cattle from India using polymerase chain reaction and sequence specificoligonucleotide probes (PCR-SSOP). Proc. 6th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod., Armidale, New South Wales, Australia 26: 381-384.

Marziali, A.S. and Ng-Kwai-Hang, K.F. 1986. Relationships between milk protein polymorphisms and cheese yielding capacity. J. Dairy Sci. 69: 1193-1201.

Mercier, J. and Vilotte, J. 1993. Structure and function of milk protein genes. J. Dairy Sci. 76: 3079-3098.

Ng-Kwai-Hang, K.F., Hayes, J.F., Moxley, J.E. and Monardes, H.G. 1984. Associations of genetic variants of casein and milk serum proteins with milk, fat, and protein production by dairy cattle. J. Dairy Sci. 67: 835.

Ng-Kwai-Hang, K. F., Monardes, H.G. and Hayes, J.F. 1990. Associations between genetic polymorphism of milk proteins and production traits during three lactations. J. Dairy Sci. 73: 3414.

Ojala, M., Famula, T.R. and Medrano, J.F. 1997. Effects of milk protein genotypes on the variation for milk production traits of Holstein and Jersey cows in California. J. Dairy Sci. 80: 1776-1785.

Van Eenennaam, A.L. and Medrano, J.F. 1991. Milk protein polymorphisms in California dairy cattle. J. Dairy Sci. 74: 1730-1742.

Weir, B.S. 1996. Genetic data analysis II. 2nd ed. Sinauer, Sunderland, MA, USA.