อิทธิพลของยีน *MYPN* ต่อคุณภาพเนื้อในสุกรลูกผสมเชิงการค้า
Effect of *MYPN* Gene on Meat Quality in Commercial Pig Breed

ชัชวาล แถวถาทำ[1] ชัยวัฒน์ บุญแก้ววรรณ[1] จตุพร หนูสุด[2] ณัันญรัตน์ คุ้มครอง[3] และ อัจฉรา ขยัน[1]*

Chadchawan Thawtatam[1], Chaiwat Boonkaewwan[1], Jatuporn Noosud[2], Nunyarat Koomkrong[3] and Autchara Kayan[1]*

[1]ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพ 10900
[2]ภาควิชาเวชศาสตร์คลินิกสัตว์เลี้ยง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพ 10900
[3]สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี สุราษฎร์ธานี 84100
[1]Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkhen Campus, Bangkok 10900
[2] Department of Companion Animal Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkhen Campus, Bangkok 10900
[3]Department of Animal Science, Faculty of Science and Technology, Suratthani Rajabhat University, Suratthani 84100
*Corresponding author: fagrark@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบจีโนไทป์และอิทธิพลของยีน *Myopalladin (MYPN)* ต่อคุณภาพเนื้อในสุกรลูกผสมเชิงการค้า จำนวน 300 ตัวอย่าง สกัดดีเอ็นเอจากกล้ามเนื้อสันนอกมาเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนของยีน *MYPN* ด้วยปฏิกิริยา PCR นำดีเอ็นเอที่ได้ไปตัดด้วยเอนไซม์ *Afa*I เพื่อตรวจสอบลักษณะพันธุกรรม พบว่า ยีน *MYPN* ในสุกรลูกผสมเชิงการค้ามีจีโนไทป์ 3 รูปแบบ คือ CC CT และ TT โดยมีความถี่จีโนไทป์เท่ากับ 0.12 0.55 และ 0.33 ตามลำดับ แต่ไม่พบลักษณะพันธุกรรมของยีน *MYPN* ทั้ง 3 รูปแบบที่มีอิทธิพลต่อลักษณะคุณภาพเนื้อในส่วนของค่า pH ค่าสีเนื้อ ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (P>0.05) ดังนั้น ยีน *MYPN* อาจไม่สามารถนำมาใช้คัดเลือกสุกรลูกผสมเชิงการค้าทางด้านคุณภาพเนื้อได้ในประชากรนี้

คำสำคัญ: ยีน *MYPN*, คุณภาพเนื้อ, สุกรลูกผสมเชิงการค้า

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate *Myopalladin (MYPN)* genotypes and their effect on meat quality traits in commercial pig breed. DNA was isolated from *longissimus dorsi* muscle (n = 300). The isolated DNA was amplified for *MYPN* targeted sequence. The amplicons were digested with *Afa*I restriction enzyme for genotyping. The results showed that commercial pig breed with 3 genotypes of *MYPN* gene, the genotype frequency of CC, CT and TT were 0.12, 0.55 and 0.33, respectively. However, the *MYPN* genotypes were not associated with meat quality traits including pH value, meat color, water-holding capacity and shear force (P>0.05). Therefore, *MYPN* gene might not be used to selection in commercial pig breed for meat quality in this population.

Keywords: *MYPN* gene, meat quality, commercial pig breed

บทนำ

ปัจจุบันมีการใช้เทคโนโลยีสมัยใหม่เข้ามามีบทบาทในการปรับปรุงสายพันธุ์สัตว์เพื่อตอบสนองต่อความต้องการของตลาดในด้านต่างๆ มากยิ่งขึ้น เช่น การศึกษาทางอณูพันธุศาสตร์เพื่อหายีนที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะที่สนใจ (candidate gene) และตำแหน่งของยีนที่ควบคุมหรือเกี่ยวข้องกับลักษณะซากและคุณภาพเนื้อ (quantitative trait loci; QTL) การศึกษาตำแหน่งกลุ่มยีนที่ควบคุมหรือมีความสัมพันธ์กับลักษณะซากและคุณภาพเนื้อ โดยยีน *Myopalladin (MYPN)* เป็นยีนหนึ่งที่มีบทบาทในการควบคุมการหดตัวของแอคติน (actin) และไมโอซิน (myosin) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของซาร์โคเมียร์ในเส้นใยกล้ามเนื้อ ทำให้กล้ามเนื้อเกิดการหดตัวหรือเกร็งตัว (rigor mortis) (Silvia *et al*., 2008) ซึ่งการหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อสามารถส่งผลต่อคุณภาพของเนื้อได้ (Wheeler *et al*., 2000) ดังนั้น การศึกษายีน *MYPN* สามารถทำให้ทราบถึงความถี่ของอัลลีลและลักษณะของจีโนไทป์ในกลุ่มประชากรสุกร และหาอิทธิพลของยีนที่มีผลต่อคุณภาพเนื้อ

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลองและการเก็บตัวอย่าง

สุกรที่ใช้ในการศึกษาเป็นสุกรลูกผสมเชิงการค้า ซึ่งเป็นลูกผสมสามสายพันธุ์ (1/4 ลาร์จไวท์ x 1/4 แลนด์เรซ x 1/2 ดูรอค) จำนวน 300 ตัว สุกรทั้งหมดถูกฆ่าที่อายุ 6 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 95–120

กิโลกรัม โดยทำการฆ่าตามแบบมาตรฐานสากล เก็บตัวอย่างเนื้อจากกล้ามเนื้อสันนอก บริเวณซี่โครงคู่ที่ 9–10 เพื่อนำมาศึกษาคุณภาพเนื้อและรูปแบบของยีน *MYPN*

การศึกษาคุณภาพเนื้อ (Meat quality)

นำตัวอย่างเนื้อมาวัดค่า pH ที่ 45 นาที และ 24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย โดยใช้เครื่องวัดค่า pH (pH Spear, Eutech Instruments, Singapore) ตัวอย่างเนื้อที่ผ่านการแช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาวัดค่าสีเนื้อ L* (lightness) ด้วยเครื่อง Minolta CR400 วิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อจากการสูญเสียน้ำขณะเก็บรักษา (drip loss) การสูญเสียน้ำจากการทำละลาย (thawing loss) และการสูญเสียน้ำจากการประกอบอาหาร (cooking loss) ตามวิธีของ Honickel (1986) และวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (shear force) ด้วยเครื่องวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Texture Analyzer, UK)

การศึกษารูปแบบของยีน *MYPN*

การสกัดดีเอ็นเอ

นำตัวอย่างเนื้อสันนอกมาสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (Axygen, USA) และตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง NanoDrop spectrophotometer และ 1.5% agarose gel electrophoresis ใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 15 นาที

การตรวจสอบรูปแบบของยีน *MYPN*

ปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของยีน *MYPN* ขนาด 253 bp ถูกเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยา PCR โดยใช้ Primer (accession number AJ560657) ดังนี้ forward: 5´-TCTCCCTGGTGAATCTGGAG-3´ และ reverse: 5´-AGGAACAGGGAATGTGCATC-3´ ตามการศึกษาของ Zhai *et al.* (2010) โดยใช้สภาวะการทำปฏิกิริยา PCR ดังนี้ 1) ขั้นตอน initial denaturation ที่ 95 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที 2) ขั้นตอน denaturation ที่ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที 3) ขั้นตอน annealing ที่ 57.5 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และ 4) ขั้นตอน extention ที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ทำขั้นตอนข้อ 2 ถึง 4 จำนวน 35 รอบ และขั้นตอน final extention ที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นนำผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR ไปตรวจสอบด้วย 1.5% agarose gel electrophoresis และนำชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้ไปตัดด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ *Afa*I (NEB, USA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการตัดด้วย 3% agarose gel electrophoresis

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ความถี่ของอัลลีลและจีโนไทป์ของยีน *MYPN* และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *MYPN* กับลักษณะคุณภาพเนื้อ โดยใช้ generalized linear model ของโปรแกรม SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC) โดยใช้โมเดลดังนี้

$$y_{ij} = \mu + Genotype_i + YS_j + e_{ij}$$

โดย y_{ij} คือ ลักษณะที่ศึกษา (คุณภาพเนื้อ)

μ คือ ค่าเฉลี่ยของประชากร;

$Genotype_i$ คือ ผลของจีโนไทป์ (i = 1, 2 และ 3);

YS_j คือ ผลของวันที่ฆ่าสัตว์ j (j = 1 ถึง 6)

และ e_{ij} คือ ค่าความคลาดเคลื่อน

ผลการทดลองและวิจารณ์

รูปแบบของยีน *MYPN* ในสุกรลูกผสมเชิงการค้า

จากการตรวจสอบลักษณะพันธุกรรมของสุกรลูกผสมเชิงการค้าจากเทคนิค PCR-RFLP สามารถจำแนกจีโนไทป์ของยีน *MYPN* ได้ 3 รูปแบบ คือ CC CT และ TT โดยจีโนไทป์ CC พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 154 และ 99 bp จีโนไทป์ CT พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 253 154 และ 99 bp และจีโนไทป์ TT พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 253 bp ดังแสดงใน Figure 1

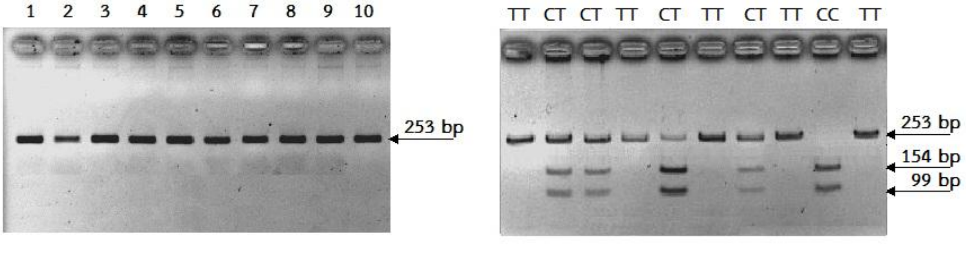

Figure 1 (A) The PCR products of *MYPN* fragment, 253 bp, lane 1 to 10; (B) *MYPN* fragments were digested with *Afa*I produced CC (154 and 99 bp), CT (253, 154 and 99 bp) and TT (253 bp).

ความถี่อัลลีลและจีโนไทป์ของยีน *MYPN*

จากการวิเคราะห์ความถี่อัลลีลและความถี่ของจีโนไทป์ของยีน *MYPN* ในสุกรลูกผสมเชิงการค้า พบว่าในประชากรสุกรที่ศึกษามีความถี่จีโนไทป์ CT สูงที่สุด รองลงมาคือ จีโนไทป์ TT และ CC โดยมีค่าเท่ากับ 0.55 0.33 และ 0.12 ตามลำดับ (Table 1) สอดคล้องกับรายงานของ Davoli *et al*. (2017) พบความถี่จีโนไทป์ CT TT และ CC ในสุกรลูกผสมสามสายพันธุ์ระหว่าง ดูรอค×(ลาร์จไวท์×แลนด์เรซ) มีค่าเท่ากับ 0.48 0.30 และ 0.22 ตามลำดับ และในสุกรพันธุ์ผสมระหว่างลาร์จไวท์×แลนด์เรซ มีความถี่จีโน-ไทป์ CT TT และ CC เท่ากับ 0.60 0.29 และ 0.11 ตามลำดับ แต่พบว่าสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์มีความถี่จีโน-ไทป์ TT สูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 0.42 (Zhai *et al*., 2010) โดยโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรสุกรที่ศึกษามีอัลลีล T สูงกว่าอัลลีล C ดังแสดงใน Table 1 เช่นเดียวกับความถี่ของอัลลีล T ในสุกรลูกผสมระหว่างดูรอค×(ลาร์จไวท์×แลนด์เรซ) มีค่าเท่ากับ 0.54 (Davoli *et al*., 2017) และสุกรพันธุ์อิตา-เลียนลาร์จไวท์ (Italian Large White) มีค่าเท่ากับ 0.83 (Braglia *et al*., 2013)

Table 1 Genotype and allele frequency of *MYPN* gene in the commercial pigs

Genotype frequency			Allele frequency		
	N	Frequency		N	Frequency
CC	40	0.12	C	241	0.40
CT	161	0.55	T	359	0.60
TT	99	0.33			
Total	300	1	Total	600	

ความสัมพันธ์ของรูปแบบยีน *MYPN* ต่อลักษณะคุณภาพเนื้อสุกร

จากการศึกษารูปแบบยีน *MYPN* ต่อลักษณะคุณภาพเนื้อสุกร พบว่ารูปแบบยีน *MYPN* ไม่มีความสัมพันธ์ต่อคุณภาพเนื้อในสุกรที่ทำการศึกษาในส่วนของค่า pH ค่าสีเนื้อ ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำและค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($P>0.05$; Table2) อาจเนื่องมาจากสภาพการเลี้ยงสุกรและสภาพอากาศของประเทศไทย ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของของ Zhai *et al*. (2010) และ Braglia *et al*. (2013) จึงทำให้การแสดงออกของยีน *MYPN* แสดงออกได้อย่างไม่เต็มที่ ดังนั้นยีน *MYPN* จึงอาจไม่สามารถนำมาใช้เป็น marker ในกลุ่มประชากรสำหรับการคัดเลือกสุกรลูกผสมเชิงการค้าเพื่อการปรับปรุงคุณภาพเนื้อ สอดคล้องกับรายงานของ Davoli *et al*. (2017) ไม่พบความสัมพันธ์ของรูปแบบยีน *MYPN* ต่อคุณภาพเนื้อในสุกรลูกผสมระหว่างดูรอค×(ลาร์จไวท์×แลนด์เรซ) แต่พบว่ารูปแบบของยีน *MYPN* ในสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์ แลนด์

เรซ และสุกรลูกผสมระหว่างลาร์จไวท์×แลนด์เรซ มีความสัมพันธ์ต่อคุณภาพเนื้อในส่วนของค่า pH ค่าสีเนื้อ ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ ความนุ่มของเนื้อ และปริมาณไขมันแทรก (Zhai *et al*., 2010)

Table 2 Least square means (LSM) and standard errors (SE) for meat quality traits of MYPN gene in the commercial pigs

Traits	Genotype (Lsmean±SE)			P-Value
	CC	CT	TT	
pH_{45min}	6.58±0.04	6.64±0.02	6.60±0.02	0.308
pH_{24h}	5.85±0.03	5.86±0.01	5.89±0.02	0.427
Lightness	46.76±0.24	46.28±0.12	46.57±0.15	0.127
Drip loss (%)	2.88±0.21	2.86±0.10	2.92±0.13	0.938
Thawing loss (%)	4.56±0.30	4.18±0.15	4.16±0.19	0.513
Cooking loss (%)	28.90±0.18	29.27±0.09	29.05±0.12	0.121
Shear force (N)	4.46±0.01	4.48±0.01	4.48±0.01	0.178

สรุป

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่ารูปแบบยีน *MYPN* ของสุกรลูกผสมเชิงการค้าไม่มีผลต่อลักษณะคุณภาพเนื้อในส่วนของค่า pH ค่าสีเนื้อ ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ดังนั้น ยีน *MYPN* อาจไม่สามารถนำมาใช้คัดเลือกสุกรลูกผสมเชิงการค้าในประชากรที่ศึกษานี้ได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และผู้วิจัยขอขอบคุณ ห้องปฏิบัติการทางสรีระวิทยา ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ ใช้ในการวิจัย และภาควิชาคหกรรมศาสตร์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Braglia, S., R.T. Davoli, Z.V. Andrea, Z.B. Paolo, B.T. Luca, G. Maurizio and R. Vincenzo. 2013. SNPs of MYPN and TTN genes are associated to meat and carcass traits in Italian Large White and Italian Duroc pigs. Mol. Biol. Rep. 40: 27–33.

Davoli, R.T., S. Cristina., Z.B. Paolo, B. Silvia, R.S. Andrea and V. Roberta. 2017. Association study between single nucleotide polymorphisms in porcine genes and pork quality traits for fresh consumption and processing into Italian dry-cured ham. Meat Sci. 126: 73–81.

Honikel, K.O., C.J. Kim, R. Hamm and P. Roncales. 1986. Sarcomere shortening of prerigor muscles and its influence on drip loss. Meat Sci. 16: 267–82.

Silvia, M.G., A. Daniel and A.O. Carol. 2008. The role of palladin in actin organization and cell motility. Cell Biol. 87: 517–525.

Wheeler, T.L., S.D. Shackelford and M. Koohmaraie. 2000. Variation in proteolysis sarcomere length collagen content and tenderness among major pork muscles. J. Anim. Sci. 78: 958–965.

Zhai, L.W., L.X. Wang, W.L. Zhou and C.D. Wang. 2010. Association of the MYPN gene polymorphisms with meat quality in commercial pigs. J. Anim. Vet. Advan. 9: 705–709.