



รูปแบบการกลายแบบ 22 bp INDEL mutation polymorphism ของยีน *dopamine receptor D2* (*DRD2*) ของไก่พันธุ์พื้นเมืองไทยในจังหวัดนราธิวาส

ฮาพิส ดาตุมะดา¹ และธนเสฏฐ์ ทองใสเกลี้ยง^{1, #}

¹ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพและอนุชีววิทยา กลุ่มวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์
นราธิวาส 96000

บทคัดย่อ: DRD2 เป็นโปรตีนรีเซพเตอร์ที่มีบทบาททางสรีรวิทยาหลากหลายในสิ่งมีชีวิต ในสัตว์ปีก DRD2 ทำหน้าที่ถ่ายทอดสัญญาณจากสารสื่อประสาทโดปามีนเพื่อไปควบคุมระบบสืบพันธุ์และพฤติกรรมพฤติกรรมความเป็นแม่ เช่น การฟักไข่และเลี้ยงลูก การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของการกลายแบบ 22 bp INDEL mutation บริเวณ 5' flanking region ของยีน *DRD2* ของไก่พันธุ์พื้นเมืองไทยเพศเมียในจังหวัดนราธิวาส พบว่ายีน *DRD2* มีจีโนไทป์ประกอบด้วย 3 รูปแบบคือ II, ID และ DD มีความถี่จีโนไทป์เท่ากับ 0.029, 0.40 และ 0.568 ตามลำดับ มีความถี่อัลลีล I เท่ากับ 0.23 ความถี่อัลลีล D เท่ากับ 0.77 ตามลำดับ

คำสำคัญ: ไก่พันธุ์พื้นเมืองไทย โดปามีนรีเซพเตอร์ *DRD2* INDEL

#ผู้รับผิดชอบบทความ

สัตวแพทยมหาวิทยาลัย. 2563. 15(2): 189-197.

E-mail address: thanasetfdr@gmail.com

22 bp INDEL Mutation Polymorphism of *dopamine receptor D2 (DRD2)* Gene of Thai Native Chicken in Narathiwat Province

Hafis Datumada¹ and Thanaset Thongsaiklaing^{1,#}

¹Biotechnology and Molecular Biology Laboratory (BMBL), Division of Animal Science, Faculty of Agriculture, Princess of Naradhiwas University, Narathiwat 96000

Abstract: DRD2 is a protein receptor that play a role in physiological variety of organisms. In poultry, DRD2 transmits the signals from dopamine neurotransmitters to regulate the reproductive system and maternal behaviors such as broodiness and maternal care. The objective of this study in order to identify the polymorphism of the 22 bp INDEL mutation in 5' flanking region of the *DRD2* gene of Thai native chicken female in Narathiwat province. The results show *DRD2* gene consists of 3 genotypes II, ID and DD with genotype frequency 0.029, 0.40 and 0.568 respectively. The allele frequency of allele I and D were 0.23 and 0.77 respectively.

Keywords: Thai native chicken, Dopamine receptor, *DRD2* gene, INDEL

#Corresponding author

J. Mahanakorn Vet. Med. 2020 15(2): 189-197.

E-mail address: thanasetfdr@gmail.com

บทนำ

โดปามีน (Dopamine, DA) เป็นสารสื่อประสาทที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นที่สมองส่วนกลาง มีบทบาทเกี่ยวข้องกับขบวนการทางสรีรวิทยาที่หลากหลายได้แก่ ควบคุมอารมณ์ การจดจำ การเรียบเรียงความคิด การเคลื่อนไหว รวมถึงทำหน้าที่เป็นฮอร์โมนและการปรับสมดุลการหลั่งฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า เช่น ฮอร์โมนโพรแลคติน (prolactin) โดยผ่านการทำงานของโดปามีนรีเซพเตอร์ (dopamine receptor, DRD) โดปามีนรีเซพเตอร์เป็น G protein-coupled receptor ชนิด transmembrane receptor protein (Al Kahtane et al., 2003) ประกอบไปด้วย 5 ชนิดย่อย DRD1, DRD2, DRD3, DRD4 และ DRD5 (Robertsoi et al., 2011) ยีนโดปามีนรีเซพเตอร์เป็น gene family ซึ่งความแตกต่าง

ของรีเซพเตอร์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับกระบวนการ alternative splicing ของ intron โดยที่ D1 receptor จะไม่มี intron แทรกอยู่ในเนื้อยีน ในขณะที่ D2 D3 และ D4 receptors มี intron ที่ 6, 5 และ 3 เป็นองค์ประกอบอยู่ในเนื้อยีนตามลำดับทำให้เกิดความหลากหลายของชนิด dopamine receptor เกิดขึ้น (Fryxell, 1995) ในสัตว์ปีกพบว่าโดปามีนมีความสัมพันธ์กับการให้ผลผลิตไข่ การกกไข่และพฤติกรรมการเป็นแม่ โดยทำงานผ่าน DRD1 และ DRD2 ที่สมองส่วนไฮโปธาลามัสและต่อมใต้สมองส่วนหน้าตามลำดับ โดยปริมาณของโดปามีนในระดับสูงจะไปยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนโพรแลคตินผ่าน DRD2 ในช่วงที่แม่ไก่ให้ไข่ ในขณะที่ปริมาณของโดปามีนในระดับต่ำจะไปกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนโพรแลคตินผ่าน DRD1 ทำให้แม่ไก่แสดงพฤติกรรมกกไข่ (Youngren et al., 1996; Al Kahtane et al., 2003; Xu et al., 2009)

โดยความสัมพันธ์ระหว่างโดปามีนและระบบสืบพันธุ์เป็นผลจากการทำงานของ vasoactive intestinal peptide (VIP) (Sartsoongnoen et al., 2008)

ยีน *DRD2* ในไก่ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 24 ประกอบด้วยไปด้วย 7 exon และ 6 intron (Komiyama et al., 2014) มีส่วนควบคุมขนาด 40 kb เหนือตำแหน่ง start codon (Xu et al., 2009) จากรายงานของ Mijanur Rahman et al. (2014) พบว่ารูปแบบการกลายของ 22 bp INDEL ของยีน *DRD2* บริเวณโปรโมเตอร์มีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมการฟักไข่และน้ำหนักตัวของประชากรไก่ Silkie fowl นอกจากนั้นจากการศึกษาตำแหน่งของ single nucleotide polymorphism (SNP) หลายๆ บริเวณของยีน *DRD2* ในประชากรไก่หลายสายพันธุ์พบว่าตำแหน่ง SNP ดังกล่าวเป็นตำแหน่งสามารถพัฒนาเป็นเครื่องหมายพันธุกรรมที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะการให้ผลผลิตไข่ที่เพิ่มขึ้นได้ (Xu et al., 2009; Xu et al., 2011) ในสัตว์ปีกอื่น ๆ ที่ได้มีการศึกษาแล้วได้แก่ ไก่วง (Schnell et al., 1999; Chaiseha et al., 2003) เป็ด Muscovy (Ye et al., 2017) และนกพิราบ (Yin et al., 2017) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบการเกิดการกลายแบบ insertion/deletion (INDEL) mutation บริเวณ 5' flanking region ของยีน *DRD2* ของไก่พันธุ์พื้นเมืองไทยเทศเมียในจังหวัดนราธิวาส

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่าง

โดยใช้ไก่พันธุ์พื้นเมืองเทศเมียในจังหวัดนราธิวาสจำนวน 102 ตัว ใช้เข็มขนาดเบอร์ 22 เเจาะและดูดเลือดบริเวณใต้ปีกปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่บรรจุ 0.5 M EDTA ปริมาณ 50 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปใช้หรือเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส หรือจนกว่าจะนำออกมาใช้

การสกัด genomic DNA

วิธีการสกัด genomic DNA ดัดแปลงจาก Goodwin et al. (2007) โดยเลือดไก่เทศเมียบ่มตัวอย่างเลือดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสประมาณ 30 นาที แล้วดูดตัวอย่างเลือด 50 μ l ลงในหลอด 1.5 มิลลิลิตร เติม 0.9 เปอร์เซ็นต์ NaCl ปริมาณ 500 μ l พลิกหลอดไปมาเบาๆ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 2,500 rpm เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง (supernatant) และเก็บตะกอนไว้ (ทำซ้ำ 2 ครั้ง) เติม solution I (0.03 M Tris-base, 0.20 M sucrose, 0.10 M sodium chloride และ 0.01M EDTA pH 8.0) ปริมาณ 300 ไมโครลิตร แล้วเขย่าอย่างแรง เติม solution II (0.05 M tris-base, 0.05 M EDTA pH 8.0 และ 2.5% SDS) ปริมาณ 600 ไมโครลิตร แล้วเขย่าอย่างแรง จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 °C เป็นเวลา 15 นาที เติม solution III (sodium acetate 5.0 M ปริมาตร 60 มิลลิลิตร และ glacial acetic acid ปริมาตร 11.5 มิลลิลิตร) ปริมาตร 300 ไมโครลิตร เติม solution IV (chloroform ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และ saturated phenol ปริมาตร 50 มิลลิลิตร) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาปั่นเหวี่ยง 14,000 rpm ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ดูดสารละลายส่วนใสไปใส่หลอดใหม่ เติม isopropanol ปริมาณ 500 ไมโครลิตรแล้วบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง 14,000 rpm ที่ 4 องศาเซลเซียส 10 นาที เทสารละลายทิ้ง เติม 70% ethanol ปริมาณ 500 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยง 14,000 rpm ที่ 4 องศาเซลเซียส 5 นาที ตากตะกอน DNA ให้แห้งและละลายตะกอน DNA ด้วย Nuclease free water จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้ไปตรวจสอบปริมาณและความบริสุทธิ์ของ DNA โดยใช้เครื่อง nanodrop และเจลอะกาโรส 1 เปอร์เซ็นต์

การตรวจสอบรูปแบบจีโนม

การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของยีน *DRD2* ประกอบด้วย DNA ปริมาณ 1 μ l (10 pmol), 10x *Taq* buffer ปริมาณ 5 ไมโครลิตร, 25 mM $MgCl_2$ ปริมาณ 5 ไมโครลิตร, 10 mM dNTPs 1 ไมโครลิตร, forward primer (*DRD2_F* TGC- ACT- TCA- ATC- CTT- CCC- AGC-TT) และ reverse primer (*DRD2_R* TTG-CGC- TGC-CCA-TTG-ACC-A) (Cui *et al.*, 2006) อย่างละ 10 pmol ปริมาณ 2 ไมโครลิตร, *Taq* DNA Polymerase (recombinant) (Thermo Scientific) ปริมาณ 0.5 ไมโครลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 50 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยใช้เครื่อง Biometra รุ่น Tpersonal Thermocycler โดยใช้อุณหภูมิ preheat ที่ 95 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที อุณหภูมิ denature ที่ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที อุณหภูมิ annealing ที่ 62 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที อุณหภูมิ extension ที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วินาที จำนวน 40 รอบ และ อุณหภูมิ final extension ที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำ PCR product ที่ได้ไปตรวจสอบรูปแบบจีโนมบนเจลอะกาโรส 3 เปอร์เซ็นต์ภายใต้แสงยูวี

การโคลนยีน *DRD2*

นำชิ้นส่วนดีเอ็นเอของ *DRD2* ที่ได้โคลนเข้า pGEM- T easy vector (Promega) จากนั้นถ่ายยีน *DRD2* เข้าสู่ *E. coli* DH5 α ตรวจสอบหาโคลนที่มียีน *DRD2* โดยใช้วิธี blue/white colony screening ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ LA ที่มียาแอมพิซิลิน IPTG และ X-gal โคลนที่ได้นำไปเลี้ยงในอาหาร LB ที่มียาแอมพิซิลิน 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสกัด พลาสมิดโดยใช้ FavorPrep Plasmid Extraction Mini kit บริษัท Favorgen Biotech Corp และนำพลาสมิดที่ได้ส่งวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริษัท MacroGen ประเทศเกาหลี

ความถี่จีโนมและความถี่อัลลีล

วิเคราะห์ความถี่จีโนมและความถี่อัลลีลของยีน *DRD2* ของประชากรไก่พันธุ์พื้นเมืองเทศเมียวในจังหวัดนราธิวาสตามวิธีของ Falconer and Mackay (1996)

ผลการทดลอง

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ 22 bp INDEL ของยีน *DRD2* ที่ได้จากไก่พันธุ์พื้นเมืองในจังหวัดนราธิวาส กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ Gallus gallus breed Red Jungle Fowl isolate RJF #256 chromosome 24, GRCg6a (22,894 bp) (Accession number: NC_006111) จากฐานข้อมูล NCBI พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ 22 bp ดังกล่าวมีความเหมือนกับบริเวณ 5' flanking region ที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ 12,706-12,727 เหนือจุดเริ่มต้นของ start codon ของฐานข้อมูลดังกล่าว

จากการตรวจสอบการเกิดการกลายแบบ Insertion (I) และ Deletion (D) (INDEL) บริเวณ 5' flanking region ของยีน *DRD2* จากเม็ดเลือดไก่พันธุ์พื้นเมืองในจังหวัดนราธิวาสจำนวน 102 ตัว โดยปฏิกิริยา PCR ที่ใช้ primer จำเพาะเจาะจงพบว่าแถบดีเอ็นเอที่ได้ประกอบไปด้วยสองแถบที่มีขนาด 187 และ 185 bp ตามลำดับ (Figure 1) จากการหาลำดับลำดับนิวคลีโอไทด์และวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสองแถบลักษณะพบว่าแถบดีเอ็นเอที่มีขนาด 187 bp มีลำดับนิวคลีโอไทด์เพิ่มขึ้น 22 bp ซึ่งมีลำดับเป็น 5' GTTGCTACCCTTAGCAAAGGCT 3' ในขณะที่แถบดีเอ็นเอขนาด 165 bp มีลำดับนิวคลีโอไทด์ 22 bp ขาดหายไป (Figure 2)

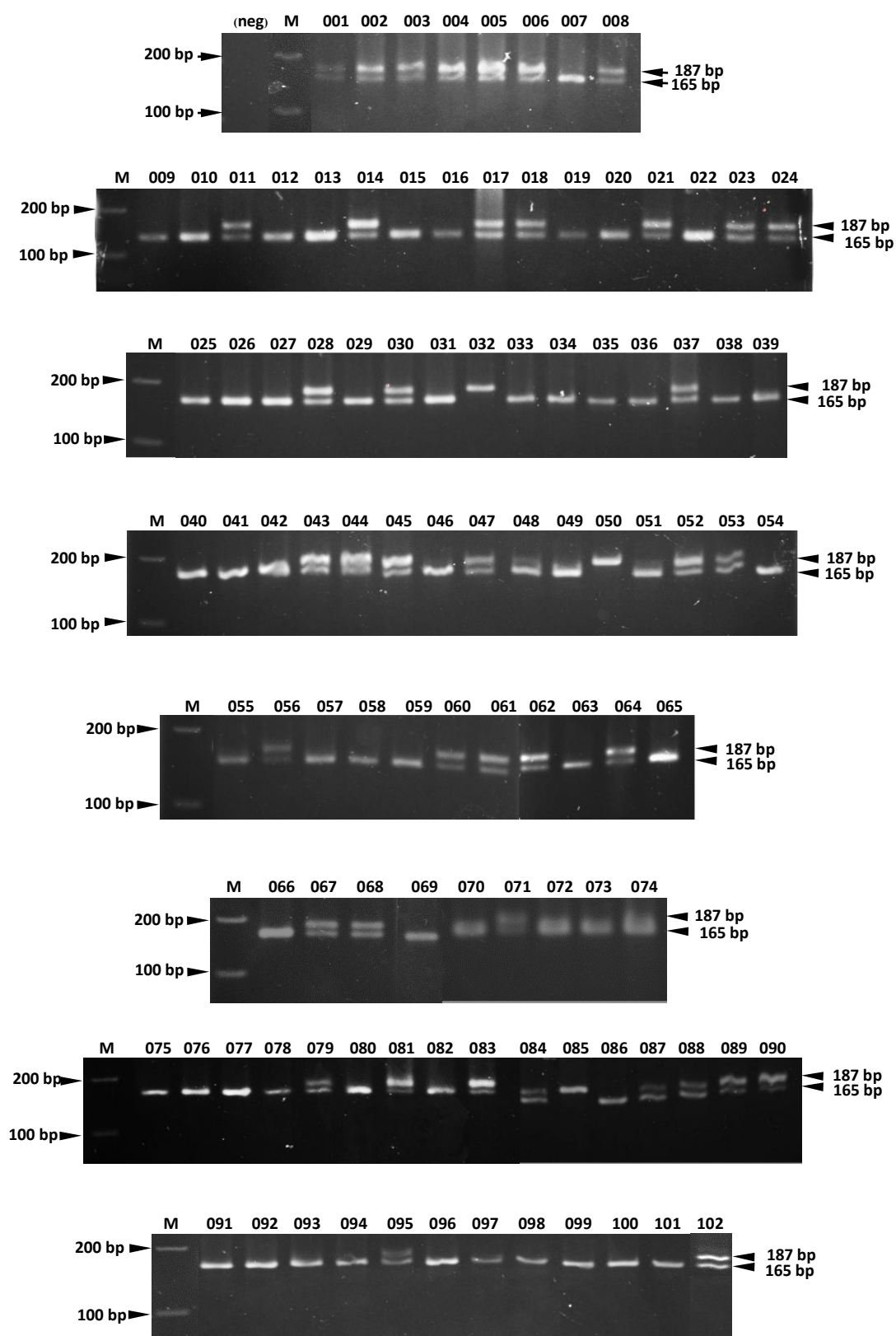


Figure 1 Genotypes profile of the 22 bp insertion/deletion (INDEL) in *DRD2* gene of Thai native chicken female in Narathiwat province

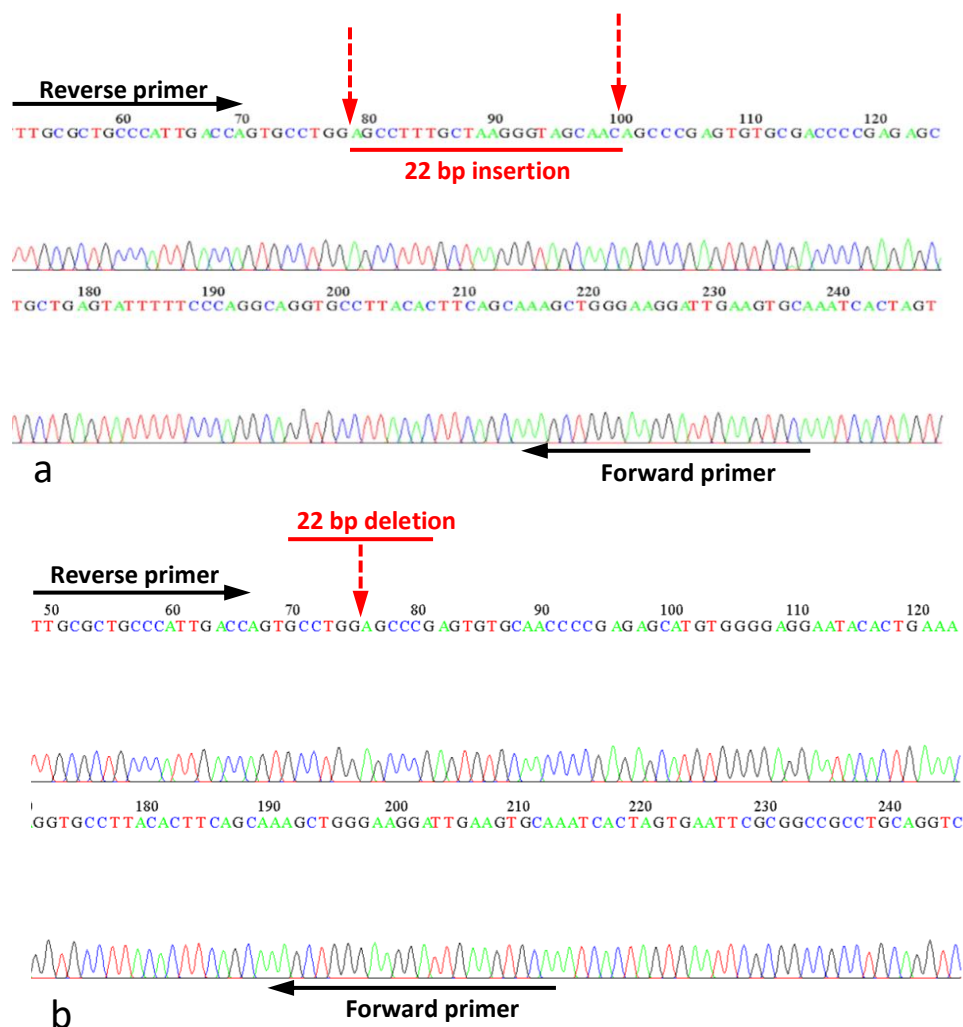


Figure 2 Sequencing comparison between of 22 bp insertion/deletion (INDEL) in *DRD2* gene of Thai native chicken female in Narathiwat province (a) 22 bp insertion (b) 22 bp deletion

ความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์

จากจำนวนไก่พันธุ์พื้นเมืองไทยเพศเมียจำนวน 102 ตัวอย่าง พบว่ารูปแบบของจีโนไทป์ชนิด homozygote II พบ 3 ตัวอย่าง, heterozygote ID พบ 41 ตัวอย่างและ homozygote DD พบ 58 ตัวอย่าง จากการศึกษาความถี่ของอัลลีล I และ D พบว่าอัลลีล D มีความถี่เท่ากับ 0.77 ส่วนอัลลีล I มีความถี่เท่ากับ 0.23 (ตารางที่ 1) ส่วนความถี่จีโนไทป์ของยีน *DRD2* ทั้ง 3 รูปแบบคือ II, ID และ DD มีความถี่ของจีโนไทป์ II เท่ากับ 0.029, ID เท่ากับ 0.040 และ DD เท่ากับ 0.568 ตามลำดับ มีค่า χ^2 เท่ากับ 1.818 (ตารางที่ 2)

วิจารณ์ผลการทดลอง

ระบบการทำงานของสารสื่อประสาทโดปามีนใน สัตว์ปีกมีบทบาทสำคัญในการควบคุมกระบวนการที่ทาง สรีระวิทยาที่หลากหลาย เช่น ระบบสืบพันธุ์ผ่านการ กระตุ้นการทำงานของโดปามีนรีเซพเตอร์ (Sartsoongnoen et al., 2008) จากการศึกษา รูปแบบของอัลลีล I และ D ของยีน *DRD2* ในไก่พันธุ์พื้นเมืองใน จังหวัดนราธิวาส พบว่ารูปแบบของอัลลีล D จะพบเป็น ส่วนมาก (common allele) ซึ่งความถี่ระหว่าง รูปแบบอัลลีลทั้งสองของยีน *DRD2* ที่ได้มีความ แปรปรวนสูง มีความเป็นไปได้ว่าสามารถนำมาพัฒนา

Table 1 Alleles and genotypes frequencies of *DRD2* gene of Thai native chicken female in Narathiwat province

Gene	Allele frequency		Genotype frequency		
	I	D	II	ID	DD
<i>DRD2</i>	0.23	0.77	0.029	0.040	0.568

Table 2 Estimate of heterozygosity of *DRD2* gene of Thai native chicken female in Narathiwat province

Gene	Observed Hetrozygosity	Expected Hetrozygosity	χ^2 value of the Hardy- Weinberg Law	P-value
<i>DRD</i>	0.402	0.355	1.818	0.597

เพื่อใช้เป็นเครื่องหมายพันธุกรรมได้ จากการศึกษา รูปแบบการการแบบ INDEL ของลำดับนิวคลีโอไทด์ 22 bp บริเวณ 5' flanking region ของยีน *DRD2* ในไก่พันธุ์ Pushkin โดยพบว่ามีค่าความถี่อัลลีล D สูงกว่าอัลลีล I โดยมีค่าความถี่เท่ากับ 0.593 และ 0.407 ตามลำดับ แต่ความถี่จีโนไทป์ของรูปแบบ ID และ DD มีสัดส่วนแตกต่างกัน นอกจากนั้นยังพบว่าน้ำหนักตัวของไก่เพศผู้ ที่ 49 และ 110 วันของรูปแบบ II มีน้ำหนักตัวสูงกว่ารูปแบบ ID อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีน้ำหนักตัวไกรูปแบบ II สูงกว่ารูปแบบ DD ที่ 7 วัน แต่น้ำหนักตัวไกรูปแบบ ID และ DD ที่ 110 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Mitrofanova et al., 2017) ส่วนการศึกษาของ Mijanur Rahman et al. (2014) พบว่ารูปแบบ In/Del ของ 22 bp บริเวณ 5' flanking region ของยีน *DRD2* ในประชากรไก่ Silkie fowl มีค่า observed heterozygosity และ Expected heterozygosity ในเพศเมียเท่ากับ 0.218 และ 0.295 ตามลำดับ ส่วนในเพศผู้เท่ากับ 0.327 และ 0.276 ตามลำดับ และยังพบว่า In/Del ของ 22 bp ของยีน *DRD2* ในตำแหน่งดังกล่าวมีอิทธิพลต่อการเพิ่มน้ำหนักของไก่เพศผู้ที่ 50 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่รูปแบบ In/Del ในไก่เพศเมียมีน้ำหนักตัวสูง

กว่ารูปแบบ Del/Del ส่วนในยีนโปรแลคตินรูปแบบการกลายของ 24 bp INDEL บริเวณโปรโมเตอร์ได้มีการศึกษาอย่างกว้างขวาง พบว่ารูปแบบการกลายดังกล่าวมีอิทธิพลต่อพฤติกรรมการฟักไข่และประสิทธิภาพการให้ผลผลิตไข่ (Cui et al., 2006; Bagheri Sarvestani et al., 2013)

จากรายงานการศึกษาพบว่ารูปแบบของ SNP ของยีน *DRD2* ที่ตำแหน่ง A+16108G, T+619C ในไก่สายพันธุ์ red jungle fowls, Taihe sikies, Xinghua, Nindu Sanhuang, Baier Huang Leghorn layer และตำแหน่ง T5841629C ในไก่พันธุ์ Ningdu Sanhuang มีอิทธิพลที่เพิ่มต่อผลผลิตไข่ (Xu et al., 2009 ; Xu et al., 2011) ในเป็ด Muscovy พบว่าตำแหน่ง SNP หลายตำแหน่งบนยีน *DRD2* มีผลต่อวันแรกของการให้ไข่ (first-egg age) และปริมาณการให้ไข่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Ye et al., 2017) นอกจากนั้น Li et al. (2016) ได้รายงานว่ายีน *DRD2* อาจมีความสัมพันธ์กับการแสดงพฤติกรรมก้าวร้าวในไก่ Chinese native breed a dwarf yellow meat-type เพศผู้โดยการ knockdown ยีน *SORCS2* และตรวจระดับการแสดงออกของ mRNA ของยีนโดปามีนรีเซพเตอร์ทั้ง 4 ชนิด (*DRD1 DRD2 DRD3* และ *DRD4*) โดยวิธี

quantitative real-time PCR พบว่าระดับการแสดงออกของยีนทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษารูปแบบของการกลายแบบ 22 bp INDEL mutation บริเวณ 5' flanking region ของยีน *DRD2* พบว่า *DRD2* ในไก่พันธุ์พื้นเมืองไทยเพศเมีย จังหวัดนครราชสีมาพบว่ายีน *DRD2* มี 2 อัลลีลคือ I และ D มีจีโนไทป์ประกอบด้วย 3 รูปแบบคือ II, ID และ DD

เอกสารอ้างอิง

Al Kahtane, A., Y. Chaiseha, and M. El Halawani. 2003. Dopaminergic regulation of avian prolactin gene transcription. J. Mol. Endocrinol. 31: 185-196.

Bagheri Sarvestani, A. S., A. Niazi, M. J. Zamiri, and M. Dadpasand Taromsari. 2013. Polymorphisms of prolactin gene in a native chicken population and its association with egg production. Iranian J. Vet. Res. 14(2): 113-119.

Chaiseha, Y., O. Youngren, K. Al Zailaie, and M. El Halawani. 2003. Expression of D1 and D2 dopamine receptors in the hypothalamus and pituitary during the turkey reproductive cycle: colocalization with vasoactive intestinal peptide. Neuroendocrinology 77: 105-118.

Cui, J. X., H. L. Du, Y. Liang, X. M. Deng, N. Li and X. Q. Zhang. 2006. Association of Polymorphisms in the promoter region of chicken prolactin with egg production. Poult. Sci. 85: 26-31.

Fryxell K. J. 1995. The evolutionary divergence of neurotransmitter receptors and second-messenger pathways. J. Mol. Evol. 41: 85-97.

Falconer D. S. and T. F. C. Mackay. 1996. An introduction to quantitative genetics. 4th ed. Benjamin-Cummings. Longman, Oxford.

Goodwin, W., A. Linacre and S. Hadi. 2007. An Introduction to forensic genetics, 2nd ed. John Wiley & Sons Ltd. West Sussex, UK.

Komiyama, T., H. Iwama, N. Osada, Y. Nakamura, H. Kobayashi, Y. Tateno and T. Gojobori. 2014. Dopamine receptor genes and evolutionary differentiation in the domestication of fighting cocks and long-crowing chickens. PLOS one 9(7): 1-9.

Li, Z., M. Zheng, B. A. Abdalla, Z. Zhang, Z. Xu, Q. Ye, H. Xu, W. Luo, Q. Nie and X. Zhang. 2016. Genome-wide association study of aggressive behaviour in chicken. Sci. Rep. 6: 30981.

Mijanur Rahman, M.D., R. Matsuda, T. Matsuda, Y. Nishiyama, K. Jozaki, K. Anann and Y. Wada. 2014. Relationship between the production traits and three candidate genes in the prolactin's In/Del × In/Del population of silkie fowl. J. Poult. Sci. 51: 138-143.

Mitrofanova, O. V., N. V. Dementeva, A. A. Krutikova, O. P. Yurchenko, A. B. Vakhrameev and V. P. Terletskiy. 2017. Association of polymorphic variants in *MSTN*, *PRL*, and *DRD2* genes with intensity

- of young animal growth in Pushkin breed chickens. Cytol. Genet. 51(3): 179-184.
- Robertsoi, D., I. Biaggioni, G. Burustock, P. A. Low and J. F. R. Paton. 2012. Primer on the autonomic nervous system. Elsevier Inc. San Diego, USA.
- Sartsoongnoen N, S. Kosonsiriluk, N. Prakobsaeng, T. Songserm I. Rozenboim, M. E. Halawan and Y. Chaischa. 2008. The dopaminergic system in the brain of the native Thai chicken, *Gallus domesticus*: localization and differential expression across the reproductive cycle. Gen. Comp. Endocrinol. 159: 107-115.
- Schnell, S. A., S. You, D. N. Foster and M. E. El Halawani. 1999. Molecular cloning and tissue distribution of an avian D2 dopamine receptor mRNA from the domestic turkey (*Meleagris gallopavo*). J. Comp. Neurol. 407: 543-554.
- Xu, H. P., X. Shen, M. Zhou, C. L. Luo, L. Kang, Y. Linng, I. L. Zeng, Q. H. Nie, D. X. Zhang and X. Q. Zhang. 2009. The *dopamine D2 receptor* gene polymorphisms associated with chicken broodiness. Poult. Sci. 89: 428-438.
- Xu, H. P., H. Zeng, D. X. Zhang, X. L. Jia, C. L. Luo, M. X. Fang, Q. H. Nie and X. Q. Zhang. 2011. Polymorphisms associated with egg number at 300 days of age in chickens. Genet. Mol. Res. 10(4): 2279-2289.
- Ye, Q., J. Xu, X. Gao, H. Ouyang, W. Luo and Q. Nie. 2017. Associations of *IGF2* and *DRD2* polymorphisms with laying traits in Muscovy duck. Peer J. 5: e4083.
- Youngren, O. M., G. R. Pitts, R. E. Phillips and M. E. El Halawani. 1996. Dopaminergic control of prolactin secretion in the turkey. Gen. Comp. Endocrinol. 104: 225-230.

