

**CONTRIBUTION OF HBS1L GENE ON Hb F LEVEL IN
 β -THALASSEMIA / Hb E**

RIYAZ AHMAD PANDIT

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(MOLECULAR GENETICS AND GENETIC ENGINEERING)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2006**

**ISBN 974-04-7386-5
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

ผลของยีน HBS1L ต่อปริมาณฮีโมโกลบินเอฟในผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี
(CONTRIBUTION OF HBS1L ON Hb F LEVEL IN β -THALASSEMIA/Hb E)

RIYAZ AHMAD PANDIT 4736002 MBMG/M

วท.ม. (อณุปันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรมศาสตร์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: กนกพร ไตรวิทยากร, Ph.D., ชยานนท์ พิระพิทยมงคล, Ph.D.,
M.D., ปรานี พู่เจริญ, Ph.D., ม.ล. เสาวรส สวัสดิวัฒน์, Ph.D.

บทคัดย่อ

โรคเบต้าธาลัสซีเมียเป็นโรคทางพันธุกรรมที่เกิดจากความผิดปกติของการสังเคราะห์สายเบต้าโกลบิน สายอัลฟาโกลบินที่เกินจะตกตะกอนในเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนทำให้เกิดการตายของเซลล์ การที่ผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีปริมาณฮีโมโกลบินเอฟสูงขึ้นจะช่วยลดความไม่สมดุลของสายโพรตีนโกลบิน ยังผลให้อาการรุนแรงที่พบในผู้ป่วยลดลง จากการศึกษา SNP ในจีโนมพบว่า มี SNP 5 ตำแหน่งในยีน HBS1L ที่มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี การวิเคราะห์ quantitative trait พบว่า ยีน HBS1L และยีนบริเวณใกล้เคียงอาจมีผลต่อปริมาณฮีโมโกลบินเอฟ

การศึกษานี้ต้องการหา SNP ในยีน HBS1L บนโครโมโซม 6q23 ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณฮีโมโกลบินเอฟ ในผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี โดยการตรวจหาลำดับเบสของ DNA ใน exon รวมทั้งบริเวณ intron-exon junction ของทุก exon บนยีน HBS1L ในผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอีที่มีอาการน้อย 16 คน และมีอาการรุนแรง 14 คน พบ SNP 22 ตำแหน่ง และ พบนิวคลีโอไทด์ขาดหายไป 5 ตัว (5 bp deletion) ในบริเวณ intron-exon junction ลำดับที่ 4 เมื่อทำการวิเคราะห์ haplotype พบว่า SNP ที่ 3 ถึง 12 มี linkage disequilibrium อยู่ เนื่องจาก SNP ตำแหน่งที่ 7 มีจุดตัดของเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ *Apa*LI จึงทำการตรวจ genotype ของ SNP 7 โดยวิธี PCR-RFLP ในผู้ป่วยที่มีอาการน้อย 295 คน และอาการรุนแรง 180 คน พบว่าความถี่ของ genotype ชนิด C/C ในผู้ป่วยที่มีอาการน้อยจะสูงกว่าในผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.002$) polymorphism ที่ตำแหน่ง -158 G γ *Xmn*I ซึ่งมีรายงานว่า มีผลต่อปริมาณฮีโมโกลบินเอฟ และ SNP 7 จะเป็นอิสระต่อกันในการควบคุมปริมาณฮีโมโกลบินเอฟ แม้ว่า *Xmn*I polymorphism จะมีอิทธิพลมากกว่า แต่ polymorphism ของ SNP 7 จะมีผลต่อปริมาณฮีโมโกลบินเอฟ เมื่อผู้ป่วยมี *Xmn*I genotype เป็น -/-

CONTRIBUTION OF HBS1L GENE ON Hb F LEVEL IN β -THALASSEMIA/Hb E

RIYAZ AHMAD PANDIT 4736002 MBMG/M

M.Sc. (MOLECULAR GENETICS AND GENETIC ENGINEERING)

THESIS ADVISORS: KANOKPORN TRIWITAYAKORN, Ph.D., CHAYANON PEERAPITTAYAMONGKOL, Ph.D., MD. PRANEE FUCHROEN, Ph.D., M. L. SAOVAROS SVASTI, Ph.D.

ABSTRACT

β -thalassemia is a monogenic disease that occurs from the defective β -globin chain synthesis. Excessive unpaired α -globin chains precipitate in erythroid precursor results in premature cell death. An increase in fetal hemoglobin (HbF) reduces the globin chain imbalance, consequently improving thalassemic symptoms. Genome-wide SNP search revealed 5 significant SNPs in *HBS1L* gene associated with severity of β -thalassemia / Hb E patients. Previous quantitative trait locus study showed that *HBS1L* gene and the nearby genes may be involved with the high Hb F production.

This work aims to identify the SNPs in *HBS1L* gene located on the chromosome 6q23 that may be responsible for the elevated Hb F in β thalassemia. Direct sequencing of all exons including exon-intron junctions of 16 mild and 14 severe β -thalassemia/Hb E cases was performed. A Total of 22 SNPs and a 5 bp deletion near the 4th intron-exon junction were discovered. Haplotype analysis showed that SNPs 3 to 12 were in linkage disequilibrium. Because of the presence of *ApaL1* restriction site, SNP 7 was selected for genotyping in 295 mild and 180 severe cases using PCR-RFLP method. The results revealed that C/C genotype of SNP 7 in mild cases was higher than that in severe cases and the allele frequency between mild and severe cases was significantly different ($p = 0.002$). Although *XmnI* polymorphism on the position of -158^G γ -globin gene seems to have a stronger effect on Hb F level than SNP 7 polymorphism of *HBS1L* gene, the latter has been shown to have a modulating effect on Hb F level when *Xmn1* genotype is -/-.

KEY WORDS: - β -THALASSEMIA/Hb E / Hb F / HBS1L GENE / SNP.

107 pp. ISBN 974-04-7386-5