LIBRARY AND INFORMATION CENTER
MAHIDOL UNIVERSITY

2 7 JUN 1990

IDENTIFICATION OF MOLECULAR BASIS OF β^{o}-THALASSEMIA/HbE GENE IN THAI POPULATION USING SYNTHETIC OLIGONUCLEOTIDE PROBES

SONGSAK PETMITR

อภินันทนาการ
จาก
บัณฑิตวิทยาลัย มหิดล

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY
(BIOCHEMISTRY)

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

1989

14653

ชื่อวิทยานิพนธ์ การตรวจหาสภาพการผ่าเหล่าของเบต้า-ธัลลาสซีเมีย/ฮีโมโกลบิน อี ยีน ในประชากรไทย โดยใช้สายโอลิโกนิวคลีโอไทด์สังเคราะห์เป็นตัวตรวจจับ

ผู้วิจัย ทรงศักดิ์ เพ็ชรมิตร

ปริญญา ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ชีวเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

ประพนธ์ วิไลรัตน์ Ph.D.

ประเวศ วะสี M.D., Ph.D.

มนตรี จุฬาวัฒนทล Ph.D.

สกล พันธุ์ยิ้ม Ph.D.

ธนิต คูสำราญ Ph.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 22 กันยายน พ.ศ.2532

บทคัดย่อ

เบต้า-ธัลลาสซีเมีย เป็นโรคทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นโดยไม่มีการสร้าง หรือลดปริมาณการสร้างสายโกลบิน ซึ่งเป็นโปรตีนองค์ประกอบของฮีโมโกลบิน ในประชากรไทยพบว่าอุบัติการของเบต้า-ธัลลาสซีเมียร่วมกับฮีโมโกลบิน อี (B26, GAG-->AAG) ซึ่งเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดหนึ่ง ค่อนข้างสูง การศึกษาสภาพการผ่าเหล่าในยีนของคนไข้โรคนี้ในประชากรกลุ่มต่างๆ ทั่วโลก พบสภาพผิดปกติถึง 50 แบบ ได้แก่ยีนแหว่งหายไป นิวคลีโอไทด์หายไป 1-4 คู่เบส นิวคลีโอไทด์เกิน 1-2 คู่เบส นิวคลีโอไทด์แทนที่ผิดไปจากเดิม การวิจัยนี้ได้ทำการตรวจหาสภาพการผ่าเหล่าแบบต่างๆ ที่เกิดขึ้นในประชากรไทย ได้แก่ การตรวจหาสภาพการผ่าเหล่าแบบยีนแหว่งหายไปขนาด 619 คู่เบสและ 3 กิโลเบส ในคนไข้ไทยจำนวน 60 ราย โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความยาวของเบต้า-โกลบินยีน ผลการวิจัยไม่พบสภาพการผ่าเหล่าแบบนี้ในคนไข้ จึงได้ทำการตรวจหาสภาพการผ่าเหล่าแบบอื่นๆ คือ นิวคลีโอไทด์หายไป 4 คู่เบส นิวคลีโอไทด์เกิน 1 คู่เบส และนิวคลีโอไทด์แทนที่ผิดไปจากเดิมหลายๆ แบบจากคนไข้ชุดเดิมจำนวน 30 ราย โดยใช้วิธีไฮบริไดส์ขึ้นส่วนของเบต้า-โกลบินยีนที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์จำเพาะแยกสายย่อยในแผ่นเจลแล้วทำให้แผ่นเจลแห้ง กับตัวตรวจจับที่เป็นสายโอลิโกนิวคลีโอไทด์สังเคราะห์แบบต่างๆ เปรียบเทียบกับวิธีการเพิ่มปริมาณเบต้า-โกลบิน ยีน โดยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแล้วหยดดีเอ็นเอส่วนที่เพิ่มปริมาณลงบนแผ่นไนล่อน

Copyright by Mahidol University

ไฮบริไดส์กับตัวตรวจจับชุดเดียวกัน ผลการวิจัยพบสภาพการผ่าเหล่าแบบต่างๆ ดังนี้ แบบนิวคลีโอไทด์แหว่งหายไป 4 คู่เบสที่โคดอน 41-42 จำนวน 17 ราย นิวคลีโอไทด์แทนที่ผิดจากเดิม (A-->T) ตำแหน่งโคดอนที่ 17 จำนวน 5 ราย นิวคลีโอไทด์แทนที่ผิดไปจากเดิม (G-->C) ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ลำดับที่ 5 ใน IVS-I 1 ราย นิวคลีโอไทด์แทนที่ผิดไปจากเดิม (C-->T) ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ลำดับที่ 654 ใน IVS-II 1 ราย นิวคลีโอไทด์แทนที่ผิดไปจากเดิม (C-->A) ตำแหน่งโคดอนที่ 35 1 ราย และไม่พบสภาพการผ่าเหล่า แบบนิวคลีโอไทด์เกิน 1 คู่เบส (+A) ระหว่างโคดอนที่ 71-72 เลย ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในวิธีการวินิจฉัยยีนของโรคนี้ที่อาจปรากฏในทารกที่อยู่ในครรภ์ของมารดาที่มาจากครอบครัวที่มียีนของโรคนี้อยู่แล้ว อันเป็นวิธีการลดปริมาณการเกิดอุบัติการของโรคนี้ในประชากรไทย

Copyright by Mahidol University

Thesis Title: Identification of β^{O}-thalassemia/HbE gene in Thai population using synthetic oligonucleotide probes.

Name : Songsak Petmitr

Degree : Doctor of Philosophy (Biochemistry)

Thesis Supervisory Committee :

Prapon Wilairat, Ph.D.

Prawase Wasi, M.D., Ph.D.

Montri Chulavatnatol, Ph.D.

Sakol Panyim, Ph.D.

Thanit Kusamrarn, Ph.D.

Date of Graduation : 22 September B.E. 2532 (1989)

ABSTRACT

β^{O}-Thalassemia is a genetic disorder causing a complete absence of β-globin chain in hemoglobin. In Thai population, β^{O}-thalassemia associated with HbE (β^{26} GAG--->AAG) is found in high frequency. More than 50 types of molecular mutations in β-thalassemic gene have been reported, including large sequence deletion, short sequence deletion or insertion, and single base substitution. The presence of large sequence deletion (619 b and 3.4 kb) were screened in 60 Thai patients with β^{O}-thalassemia/HbE using fragment length analysis, but none were detected. Single base substitution or insertion and short sequence deletion in β-globin gene of 30 Thai patients with β^{O}-thalassemia/HbE were screened by direct gel hybridization of BamH I fragmented DNA and by dot-blot hybridization of amplified DNA with a set of

Copyright by Mahidol University

allele specific oligodeoxyribonucleotide probes. Frequency of mutations detected were as follows : 17 cases of a 4 base-pair deletion at codons 41-42, 5 cases of amber mutation (TAG) at codon 17, one case each of a single base substitution (G--->C) at position 5 of IVS-I, a single base substitution (C--->T) at position 654 of IVS-II, and an ochre mutation (TAA) at codon 35. However, no mutations of single nucleotide (A) insertion at codons 71-72 were found. These data provide a basis for future application of prenatal diagnosis by DNA hybridization.

Copyright by Mahidol University