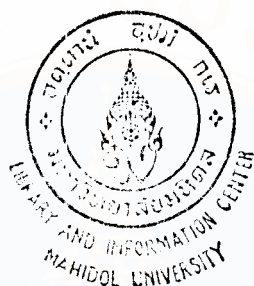


**ANALYSES OF POLYMORPHISMS AND MUTATIONS IN EXON 9
OF THE LOW DENSITY LIPOPROTEIN RECEPTOR GENE
IN THAI SUBJECTS WITH PRIMARY
HYPERCHOLESTEROLEMIA**



PIKUN THEPSURIYANONT

อธิบดีมหาวิทยาลัย
จาก
ศาสตราจารย์ ดร. พิกุล เตปสุรียนนท์

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2000

ISBN 974-663-824-6

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
P636a
2000
C2

44892 e.1

4036105 SIBC/M : MAJOR : BIOCHEMISTRY; M.Sc. (BIOCHEMISTRY)

KEY WORDS : LOW DENSITY LIPOPROTEIN/ POLYMERASE CHAIN
REACTION/ SINGLE STRAND CONFORMATION
POLYMORPHISMS/ MUTATIONS

PIKUN THEPSURIYANONT: ANALYSES OF POLYMORPHISMS AND
MUTATIONS IN EXON 9 OF THE LOW DENSITY LIPOPROTEIN RECEPTOR
GENE IN THAI SUBJECTS WITH PRIMARY HYPERCHOLESTEROLEMIA.
THESIS ADVISORS: KLAI-UPSORN PONGRAPEEPORN Ph.D., ROBERT A.
COWAN Ph.D. ATIP LIKIDLILID M.Sc. 112p ISBN 974-663-824-6

The low density lipoprotein (LDL) receptor plays an important role in cholesterol homeostasis. A mutation in this gene causes the autosomal dominant disorder namely familial hypercholesterolemia (FH) and is associated with coronary heart disease (CHD). Mutations in the LDL receptor gene are very heterogeneous at the molecular level. However, more than four hundred mutations have been described. The identification of the specific mutation causing an inherited disease is the framework for the development of DNA based tests for screening relatives. In this study, the initial mutation screening was performed by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphisms (PCR-RFLP) in exon 9 of the LDL receptor gene. We found a homozygote using this technique. In addition, exons 1, 6, 8, 9 and 13 were screened by single strand conformation polymorphism (SSCP) analysis. Following this strategy, seven different SSCP patterns were detected in high cholesterol level subjects. Subsequently, a different SSCP pattern in exon 9 was characterized by automated DNA sequencing. A heterozygote was found in this exon. This was due to a T to C transition at nucleotide 1241. This novel mutation causes a methionine substitution with threonine at position 391 of the epidermal growth factor (EGF) precursor homology domain.

4036105 SIBC/M: สาขาวิชา: ชีวเคมี; วท.ม. (ชีวเคมี)

พิกุล เทพสุริยานนท์: การศึกษาความหลากหลายและการกลายพันธุ์ใน Exon 9 ของ ยีน LDL receptor ในคนไทยที่มีภาวะโคเลสเตอรอลสูงแบบปฐมภูมิ (ANALYSES OF POLYMORPHISMS AND MUTATIONS IN EXON 9 OF THE LOW DENSITY LIPOPROTEIN RECEPTOR GENE IN THAI SUBJECTS WITH PRIMARY HYPERCHOLESTEROLEMIA). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: คล้ายอัปสร พงศ์พิพร, Ph.D., ROBERT A. COWAN, Ph.D., อธิป ลิขิตลิลิต, M.Sc. 112 หน้า ISBN 974-663-824-6

LDL receptor มีความสำคัญในการรักษาระดับ cholesterol ในกระแสเลือด การกลายพันธุ์ของยีนนี้ทำให้เกิดโรคพันธุกรรมที่เรียกว่า Familial hypercholesterolemia ซึ่งโรคนี้มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหัวใจโคโรนารี การกลายพันธุ์ในยีน LDL receptor มีความหลากหลายในระดับโมเลกุล แต่อย่างไรก็ตามได้มีการศึกษาการกลายพันธุ์ในยีนนี้และพบว่า การกลายพันธุ์ของยีนนี้มีจำนวนมากกว่า 400 ชนิด ในการศึกษาที่ผู้ศึกษาได้เลือกวิธีการค้นหาการกลายพันธุ์ของยีน LDL receptor 2 วิธี ได้แก่ polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) ซึ่งวิธีนี้ใช้ในการค้นหาการกลายพันธุ์ใน exon 9 และอีกวิธีคือ single strand conformation polymorphism (SSCP) วิธีนี้ใช้ในการค้นหาการกลายพันธุ์ใน exon 1, 6, 8, 9 และ 13 จากการศึกษารั้งนี้พบว่ามีการกลายพันธุ์ชนิด homozygote จำนวน 1 ราย ใน exon 9 โดยใช้เทคนิค PCR-RFLP และพบ pattern ของ DNA ที่แตกต่างกันจำนวน 7 pattern จากการค้นหาการกลายพันธุ์โดยใช้วิธี SSCP โดยในจำนวน 7 pattern นี้ 1 pattern พบใน exon 6, อีก 1 pattern พบใน exon 9 และ 5 pattern ที่เหลือพบใน exon 13 จากนั้นได้มีการศึกษาลำดับเบสบน DNA ใน pattern ของ DNA ที่แตกต่างกันซึ่งค้นพบจากวิธี SSCP ใน exon 9 โดยใช้เทคนิค automated DNA sequencing พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของ base ใน allele 1 ข้าง ที่ตำแหน่ง nucleotide ที่ 1241 ซึ่งเปลี่ยนจาก Thymine เป็น Cytosine การเปลี่ยนไปของ base นี้ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนจากเดิมซึ่งเป็น methionine เป็น threonine ที่ตำแหน่ง 391 ใน epidermal growth factor (EGF) precursor homology domain ในยีน LDL receptor