

Thesis Title	Structural Analysis of Unknown Beta-Globin Gene Variant by DNA Sequencing	
Author	Miss Chamaiphorn Jainog	
M.S.	Biology	
Examining Committee	Dr. Wilaiwan Suphabphant	Chairman
	Prof. Torpong Sanguansermsri	Member
	Assoc. Prof. Hattaya Kawewong	Member

### ABSTRACT

In 1994, an 8-year old northern Thai girl with  $\beta$ -thalassemia major was treated at OPD 29<sup>th</sup> at the Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital, Chiang Mai, Thailand. A blood specimen was sent for hemoglobin typing using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and cellulose acetate gel electrophoresis (pH 8.5). An abnormal hemoglobin was found in 68.1 % from the total hemoglobin by using HPLC technique and clearly separated band of abnormal hemoglobin from Hb A was also obtained from cellulose acetate gel electrophoresis. The DNA sequence of three exons of the  $\beta$ -globin gene from the patient was analyzed. Each exon of the  $\beta$ -globin gene was amplified by PCR. Purified PCR products were used as templates for chain-termination cycle sequencing and automated sequence analysis. The two single base substitutions were found in exon 1. The first single base substitution, A $\rightarrow$ T, occurred at the nucleotide number 1631 (GeneBank) and changed the glutamic acid at position 6 to valine (Glu $\rightarrow$ Val). This substitution of polar to a non-polar amino acid caused the separation of the abnormal hemoglobin from the normal Hb A in cellulose acetate gel electrophoresis. This type of hemoglobin variant is known as the sickle hemoglobin or

Hb S. The other single base substitution, G→T, occurred at the first position in intron 1 (IVS-1nt1) which results in splice mutation ( $\beta^{\circ}$ -thalassemia).

This study is the first report in Thailand on Hb S with  $\beta^{\circ}$ -IVS-1nt1. From the results it can be concluded that the patient's father is Hb S trait and the mother is  $\beta^{\circ}$ -IVS-1nt1. The inheritance of mutated hemoglobin genes from parents caused the patient to be Hb S/ $\beta^{\circ}$ -IVS-1nt1.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การวิเคราะห์ความแตกต่างโครงสร้างของยีนบีตา ไกลบินโดยการหาลำดับเบส		
ชื่อผู้เขียน	นางสาวชัมย์พร จายนอก		
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชาชีววิทยา		
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	อ. ดร. วิไลวรรณ สุภาพพันธุ์	ประธานกรรมการ	
	ศ. นพ. ต่อพงษ์ สงวนเสริมศรี	กรรมการ	
	ผศ. ทัพยา กาวีวงศ์	กรรมการ	

### บทคัดย่อ

ในปี พ.ศ. 2537 มีผู้ป่วยเด็กหญิงหนึ่งราย เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ด้วยโรค บีตา ธาลัสซีเมีย แบบรุนแรง ผลจากการวิเคราะห์ฮีโมโกลบินของผู้ป่วยในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีฮีโมโกลบินที่ผิดปกติและไม่เคยพบมาก่อน จึงมีการศึกษาหาสาเหตุของความผิดปกติในระดับโมเลกุล จากความรู้ที่ว่า การสร้างโปรตีนบีตาไกลบินต้องอาศัยการทำงานของลำดับเบสสามส่วนรวมกัน ดังนั้น จึงให้เทคนิคการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมและการหาลำดับเบสเพื่อหาความผิดปกติ ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าลำดับเบสที่สร้างโปรตีนบีตาไกลบินส่วนที่หนึ่งมีความผิดปกติของลำดับเบสที่สังเคราะห์กรดอะมิโนตำแหน่งที่หก โดยกรดกลูตามิกเปลี่ยนเป็นแอสปาร์ต ความผิดปกติในลักษณะนี้สอดคล้องกับฮีโมโกลบินผิดปกติ ที่ชื่อว่า ฮีโมโกลบินเอส ซึ่งเป็นโรคโลหิตจางแบบ ซิคเคิลเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่าในลำดับเบสที่ไม่สร้างโปรตีนบีตาไกลบินส่วนที่หนึ่งมีลำดับเบสตำแหน่งที่หนึ่งเปลี่ยนไป ทำให้สร้างโปรตีนบีตาไกลบินไม่ได้

การศึกษานี้จึงเป็นรายงานครั้งแรกที่พบฮีโมโกลบินเอสในประเทศไทย และพบร่วมกับบีตา ธาลัสซีเมีย แบบรุนแรง ทำให้สามารถตั้งสมมติฐานได้ว่า บีตาของผู้ป่วยเด็กหญิงรายนี้เป็นพาหะของฮีโมโกลบินผิดปกติแบบฮีโมโกลบินเอส และมารดาเป็นพาหะของบีตาธาลัสซีเมีย แบบรุนแรง ทำให้ลูกซึ่งเป็นผู้ป่วยเด็กหญิงรายนี้เป็นโรค บีตา ธาลัสซีเมีย แบบรุนแรง ที่มีฮีโมโกลบินผิดปกติแบบฮีโมโกลบินเอสร่วมด้วย