

บทที่ 5

ผลการศึกษา

ในการศึกษาดังกล่าวเกี่ยวกับประชากรชาวภูโยใน 2 พื้นที่ คือ ชาวภูโยบ้านสะเคาหวาน ตำบลนาภู อำเภอบางสีสุราช จังหวัดมหาสารคาม จำนวน 55 ราย และชาวภูโยบ้านตากกลาง ตำบลกระโพ อำเภอนาคู จังหวัดสุรินทร์ จำนวน 77 ราย

แบ่งผลการศึกษาออกเป็น 5 ตอน คือ

ตอนที่ 1 ผลการศึกษานิวคลีโอไทด์โกลบิน โดยวิธี เซลล์โกลโอะซีเคอเทอโรโทรเฟอริต

ตอนที่ 2 ผลการศึกษายีน Hb Pyrgos โดยวิธี ASPCR

ตอนที่ 3 ผลการศึกษาลักษณะแฮปโลไทป์ภายในกลุ่มยีนบีตาโกลบิน ในส่วนของ 3'-haplotype

หรือ frameworks (FW) และส่วน 5' haplotype โดยวิธี PCR และ เอนไซม์ตัดจำเพาะ

ตอนที่ 4 ผลการศึกษาลักษณะแฮปโลไทป์ของยีน HbPyrgos

ตอนที่ 5 ผลการศึกษารูปแบบการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบิน แบบ Southeast Asian Type

(--SEA) หรือ α^- -thalassemia โดยวิธี PCR

ตอนที่ 6 ผลการศึกษารูปแบบการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินแบบ rightward deletion ($-\alpha^{r2}$) และ

leftward deletion ($-\alpha^{l2}$) โดยวิธี Southern blot

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการศึกษาดอนที่ 1

ผลการตรวจสอบชนิดฮีโมโกลบิน โดยวิธี เซลลูโลสอะซิเตทอิเล็กโตรโฟเรซิส

- 1.1 ในประชากรชาวภูบ้านสะเดาหวาน จำนวน 55 ราย พบชนิดของฮีโมโกลบินเป็น A_2A จำนวน 11 ราย EA จำนวน 33 ราย EE จำนวน 8 ราย และ Hb Pyrgos 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 20.00% 60.00 % 14.54 % และ 5.45% ตามลำดับ ความถี่ยีนบีตาอี 0.445 และ ความถี่ยีนบีตาไพร์กอส 0.027 ดังตารางที่ 5.1
- 1.2 ในประชากรชาวภูบ้านตากกลางจำนวน 77 ราย พบชนิดของฮีโมโกลบินเป็น A_2A จำนวน 34 ราย EA จำนวน 38 ราย และ EE จำนวน 5 ราย คิดเป็นร้อยละ 44.15% 49.35% และ 6.49% ตามลำดับ ความถี่ยีนบีตาอี 0.311 ดังตารางที่ 5.2
- 1.3 ในประชากรชาวภูทั้ง 2 หมู่บ้าน จำนวน 132 ราย พบชนิดของฮีโมโกลบินเป็น A_2A จำนวน 45 ราย EA จำนวน 71 ราย EE จำนวน 13 ราย และ Hb Pyrgos จำนวน 3 ราย ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 34.09% 53.78% 9.84% และ 2.27% ความถี่ยีนบีตาอี 0.367 และ ความถี่ยีนบีตาไพร์กอส 0.011 ดังตารางที่ 5.3

ตารางที่ 5.1 แสดงผลการตรวจชนิดฮีโมโกลบินในประชากรชาวภู บ้านสะเดาหวานจำนวน 55 ราย

ชนิดฮีโมโกลบิน	จำนวนคน	ร้อยละ
A_2A	11	20.00
EA	33	60.00
EE	8	14.54
Pyrgos	3	5.45

β^E gene frequency (f); 0.445

β^{Pyrgos} gene frequency (f); 0.027

ตารางที่ 5.2 แสดงผลการตรวจชนิดฮีโมโกลบินในประชากรชาวภูบ้านกลาง จำนวน 77 ราย

ชนิดฮีโมโกลบิน	จำนวนคน	ร้อยละ
A ₂ A	34	44.15
EA	38	49.35
EE	5	6.49

β^E -gene frequency (f); 0.311

ตารางที่ 5.3 แสดงผลการตรวจชนิดฮีโมโกลบินในประชากรชาวภู ทั้ง 2 หมู่บ้าน จำนวน 132 ราย

ชนิดฮีโมโกลบิน	จำนวนคน	ร้อยละ
A ₂ A	45	34.09
EA	71	53.78
EE	13	9.84
Pyrgos	3	2.27

β^E -gene frequency (f); 0.367

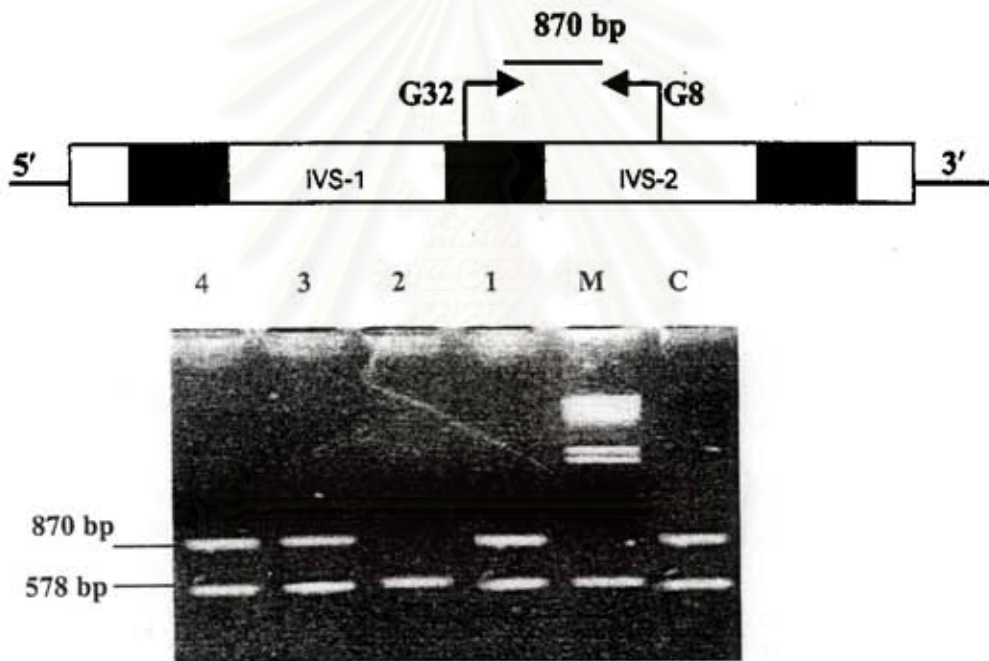
β^{Pyrgos} gene frequency (f); 0.011

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการศึกษาดอนที่ 2

ผลการตรวจสอบยีน Hb Pyrgos โดยวิธี ASPCR

2.1 ผลการตรวจสอบฮีโมโกลบินผิดปกติในประชากรชาวกูย นอกเหนือจากฮีโมโกลบินอี พบฮีโมโกลบินไพรกอส ในประชากรชาวกูย 3 ราย ทั้ง 3 ราย พบในชาวกูยบ้านสะเดาหวานทั้งหมด ดังตารางที่ 5.1 ในคนที่มียีน Hb Pyrgos เมื่อตรวจสอบโดยวิธี ASPCR สามารถเห็นแถบดีเอ็นเอขนาด 870 bp ดังแสดงในรูปที่ 5.1



รูปที่ 5.1 แบบ โครงสร้างของยีนบีตาโกลบิน แสดงตำแหน่งของไพรเมอร์ G32 บน โคลอนที่ 72 และไพรเมอร์ G8 อยู่ตำแหน่งตรงกลาง โคลอนที่ 83 บริเวณ IVS- 2 ล่าง แสดงตัวอย่างของผลการศึกษาของคนที่มี Hb Pyrgos และแถบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 870 bp และ แถบชิ้นดีเอ็นเอขนาด 578 bp ซึ่งแยกด้วย 1 % agarose gel electrophoresis 1-4 ตัวอย่าง ที่นำมาศึกษา ตัวอย่างที่ 1 3 และ 4 เป็นตัวอย่างที่มียีน Hb Pyrgos สำหรับแถบดีเอ็นเอขนาด 578 bp เป็นแถบดีเอ็นเอที่เกิดจาก ไพรเมอร์ $\gamma 4$ และ $\gamma 5$ (internal control primer) C = ตัวอย่าง DNA ที่มียีน Hb Pyrgos (control) M = DNA size marker (λ -Hind III)

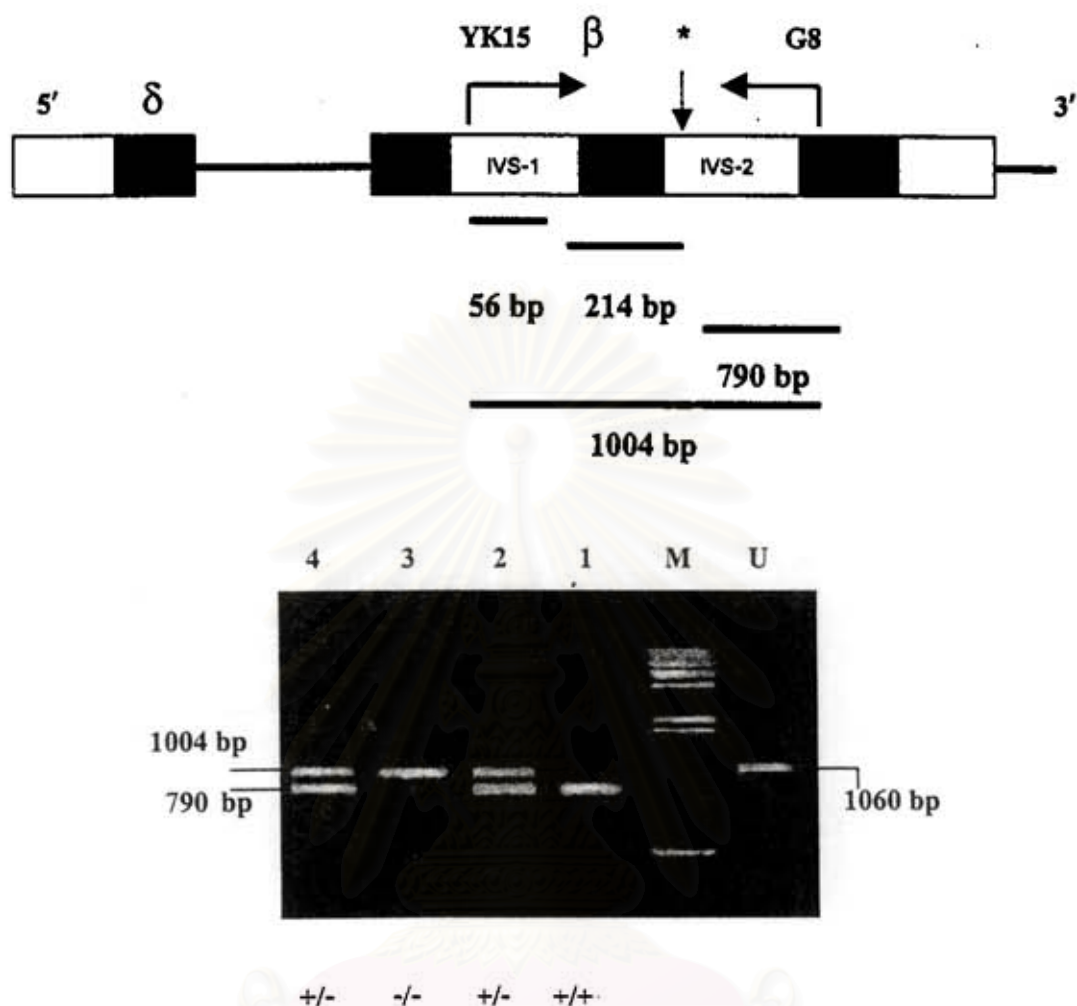
ผลการศึกษาดอนที่ 3

ผลการศึกษาลักษณะแฮปโลไทป์ของกลุ่มยีนบีตาฮีโกลบิน โดยวิธี PCR และเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ

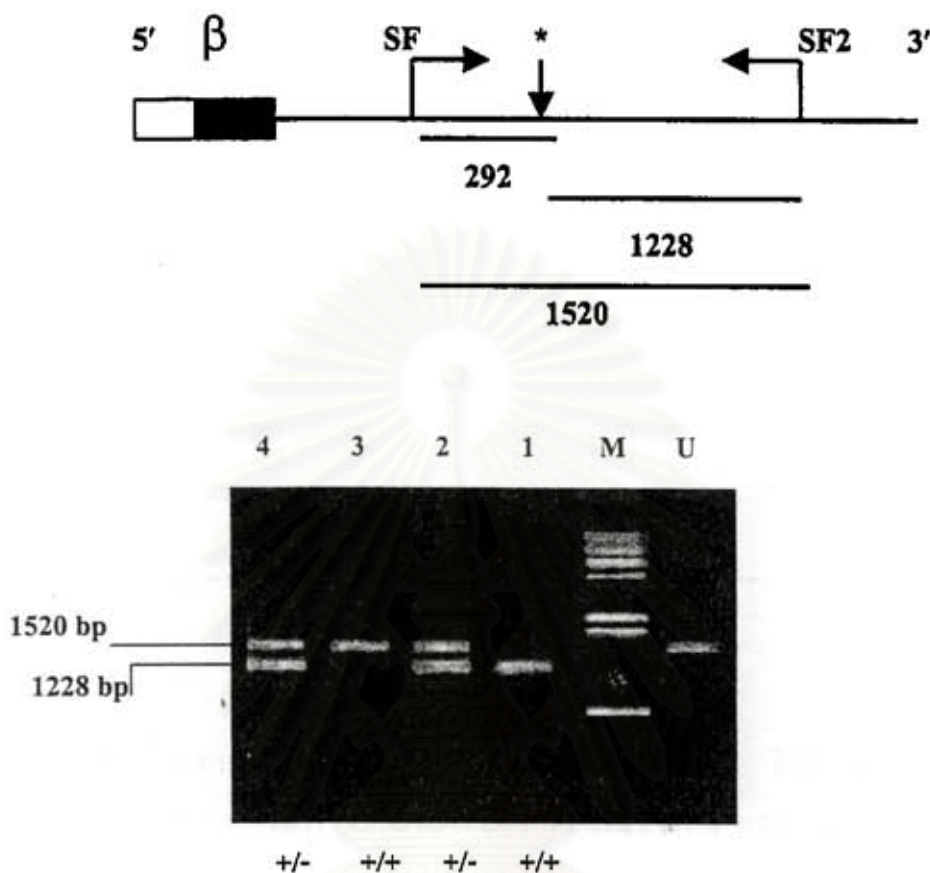
3.1 ผลการศึกษาด้าน 3'-haplotype หรือ FW ของยีนบีตาฮีโกลบินในประชากรชาวกูยบ้านสะเคาหวานและบ้านตากกลาง โดยดูผลจากการตัดได้ + หรือ ตัดไม่ได้ - ในตำแหน่งที่ 6 β -AvaII และตำแหน่งที่ 7 3' β -BamHI ผลการศึกษา β^E -globin gene framework ในประชากรชาวกูยบ้านสะเคาหวาน แสดงในตารางที่ 5.4 ผลการศึกษา β^E -globin gene framework ในประชากรชาวกูยบ้านตากกลาง แสดงในตารางที่ 5.5 และ ผลการศึกษา β^E -globin gene framework ในประชากรชาวกูย ทั้ง 2 หมู่บ้าน แสดงในตารางที่ 5.6



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5.2 บน โครงสร้างของยีนบีตาฮีโกลบิน แสดงตำแหน่ง *Ava*II polymorphism (*) ซึ่งมีความจำเพาะ ต่อเอนไซม์ *Ava*II ในบริเวณ IVS-2 ของ β -globin gene (ตำแหน่งที่ 6 β -*Ava*II) โดยใช้ไพรเมอร์ YK 15 และ G8 จะถูกใช้ในการเพิ่มปริมาณ ชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 1060 bp เมื่อชิ้นส่วนนี้ถูกตัดด้วยเอนไซม์ *Ava* II จะให้ชิ้นส่วนขนาด 1004 bp และ 790 bp ล่าง แสดงตัวอย่างผลการศึกษาในตำแหน่งที่ 6 β -*Ava*II ในประชากรชาวกูย และแสดงแถบชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 1004 bp และ 790 bp ซึ่งแยกด้วย 1% agarose gel electrophoresis M = λ /*Hind*III U= PCR product ที่ไม่ได้ตัดด้วยเอนไซม์ *Ava*II (uncut) 1-4 เป็นตัวอย่างที่นำมาทำการศึกษา ตัวอย่างที่ 1 เอนไซม์ *Ava*II สามารถตัดได้ทั้ง 2 อัลลีล (+/+) จึงเห็นแถบดีเอ็นเอขนาด 790 bp ตัวอย่างที่ 2 และ 4 เอนไซม์ *Ava*II สามารถตัดได้เพียง 1 อัลลีล (+/-) จึงเห็นแถบดีเอ็นเอขนาด 1004 bp และ 790 bp และตัวอย่างที่ 3 เอนไซม์ *Ava*II ไม่สามารถตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้เลย (-/-) จึงเห็นแถบดีเอ็นเอขนาด 1004 bp



รูปที่ 5.3 บน โครงสร้างของยีนบีตาฮีโกลบิน แสดงตำแหน่ง *Bam*HI polymorphism (*) ซึ่งมีความจำเพาะต่อเอนไซม์ *Bam*H I (ตำแหน่งที่ 7 3' β -*Bam*HI) โดยใช้ไพรเมอร์ SF₁ และ SF₂ จะถูกใช้ในการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 1520 bp เมื่อชิ้นส่วนนี้ถูกตัดด้วยเอนไซม์ *Bam*H I จะให้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 1228 bp

ภาพ แสดงตัวอย่างของผลการศึกษาตำแหน่งที่ 7 3' β -*Bam*HI ในประชากรชาวภูษ โดยแสดงแถบชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 1520 bp และ 1228 bp แยกด้วย 1.0% agarose gel electrophoresis M = λ /HidIII U = PCR product ที่ไม่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I (uncut)

1-4 เป็นตัวอย่างที่นำมาศึกษา ตัวอย่างที่ 1 เอนไซม์ *Ava*II สามารถตัด ได้ทั้ง 2 อัลลีล (+/+) จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 1228 bp ตัวอย่างที่ 2 และ 4 เอนไซม์ *Ava*II สามารถตัดได้เพียง 1 อัลลีล (+/-) จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 1520 bp และ 1228 bp และ ตัวอย่างที่ 3 เอนไซม์ *Ava*II ไม่สามารถตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอ จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 1520 bp

ตารางที่ 5.4 แสดงผลการศึกษา β^E -globin gene frameworks ในประชากรชาวกูยบ้านสะเคาหวาน และบ้านตากกลาง

β^E -gene frameworks	AvaII polymorphism	BamHI	จำนวนโครโมโซม	
			บ้านสะเคาหวาน	บ้านตากกลาง
1,2	+/+	+/-	1	5
2,3	+/-	+/-	16	14
2,2	+/+	-/-	25	16
3,3	-/-	+/+	-	8
รวม			42	43

จากตารางที่ 5.4 ผลการศึกษา β^E -globin gene frameworks ในประชากรชาวกูยบ้านสะเคาหวานพบฮีนบีตาอีเป็นเฮเทอโรไซโกตของชนิด FW1 และ FW2 จำนวน 1 โครโมโซม, เป็นเฮเทอโรไซโกตของชนิด FW2 และ FW3 (Asian) จำนวน 16 โครโมโซม และชนิด FW2 จำนวน 25 โครโมโซม

สำหรับในประชากรชาวกูยบ้านตากกลางพบฮีนบีตาอีเป็นเฮเทอโรไซโกตของชนิด FW1 และ FW2 จำนวน 5 โครโมโซม เป็นเฮเทอโรไซโกตชนิด FW2 และ FW3 (Asian) จำนวน 14 โครโมโซม FW2 จำนวน 16 โครโมโซม และชนิด FW3 (Asian) จำนวน 8 โครโมโซม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

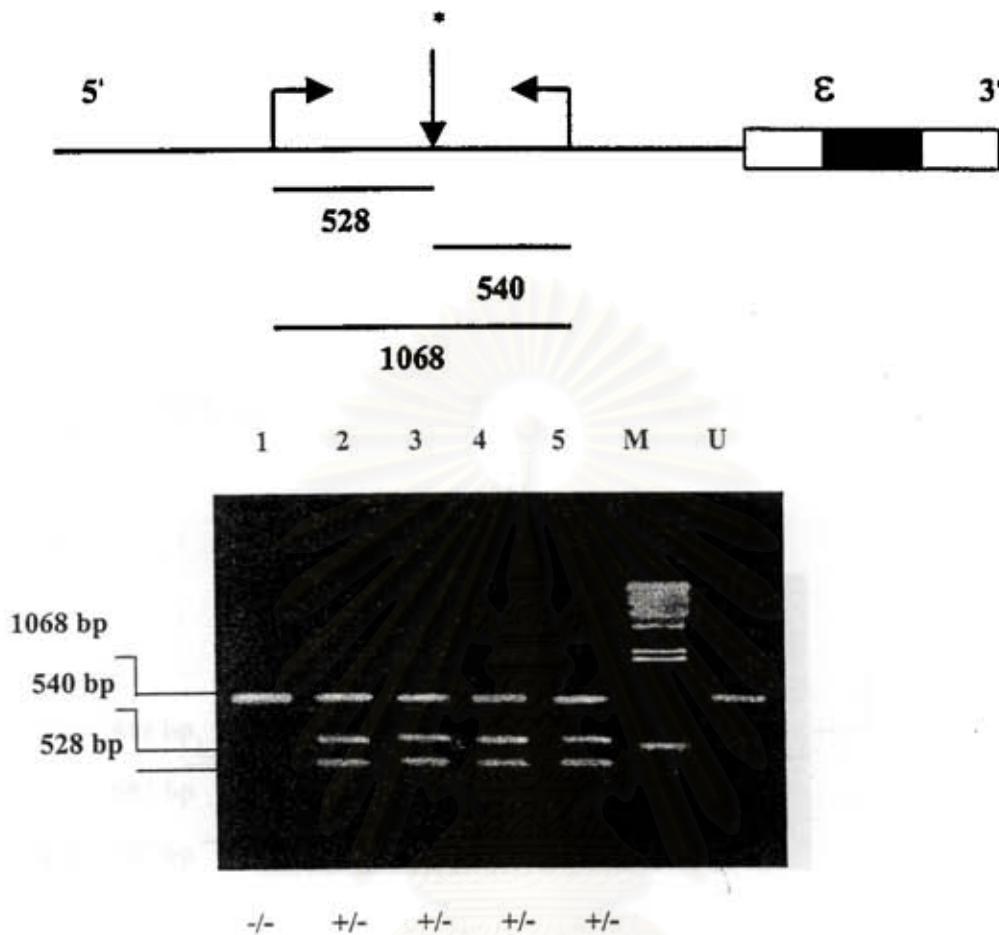
ตารางที่ 5.5 แสดงผลการศึกษา β^E -globin gene frameworks ในประชากรชาวกูยทั้ง 2 หมู่บ้าน

β^E -gene frameworks	AvaII polymorphism	BamHI polymorphism	จำนวนโครโมโซม
1,2	+/+	+/-	6
2,3	+/-	+/-	30
2,2	+/+	-/-	41
3,3	-/-	+/+	8
รวม			85

จากตารางที่ 5.5 ผลการศึกษา β^E -globin gene frameworks ในประชากรชาวกูย ทั้ง 2 หมู่บ้าน พบฮีนบีตาอีนเป็นเฮเทอโรไซโกตของชนิด FW1 และ FW2 จำนวน 6 โครโมโซม เป็นเฮเทอโรไซโกตของชนิด FW2 และ FW3 (Asian) จำนวน 30 โครโมโซม ชนิด FW2 จำนวน 41 โครโมโซม ชนิด FW3 (Asian) จำนวน 8 โครโมโซม

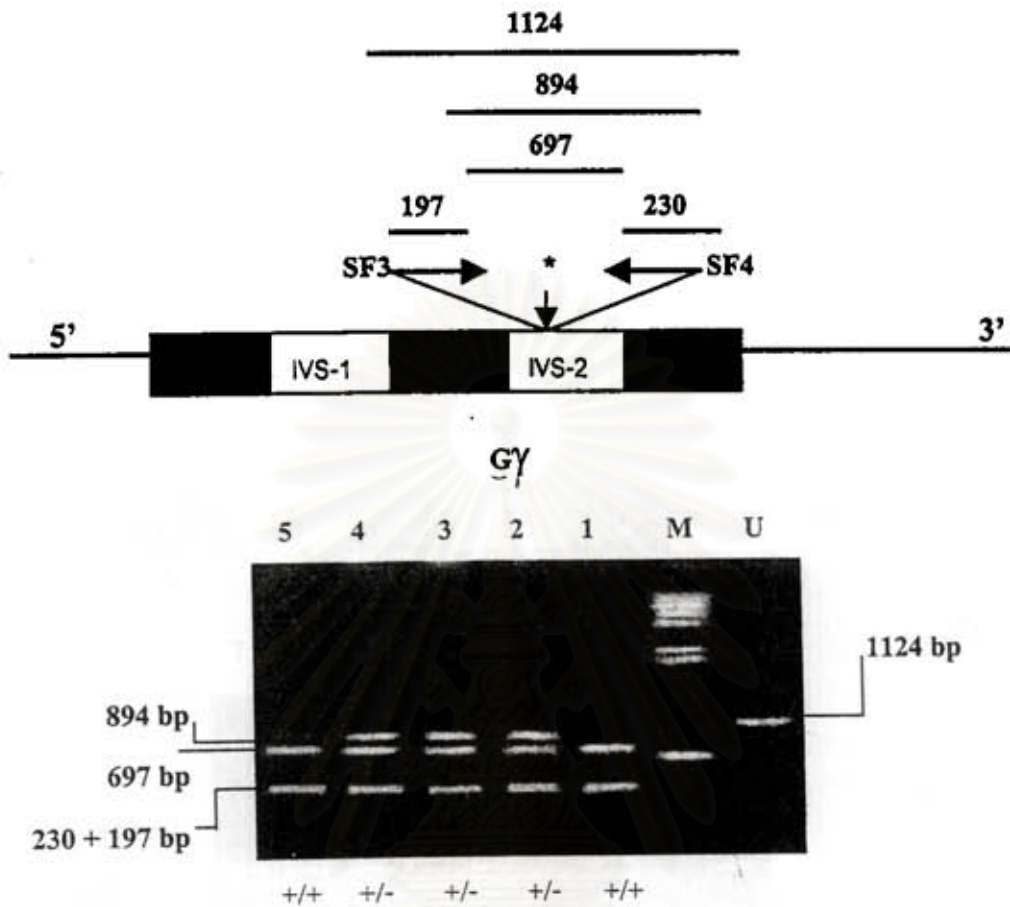
เมื่อทราบผลการศึกษา β^E -globin gene frameworks ในประชากรชาวกูยบ้านสะเคาหวานและบ้านตากกลาง แล้ว เลือกตัวแทนจากตัวอย่างที่มีฮีนบีตาอีน ชนิด FW2 และ FW3(Asian) เพื่อนำไปศึกษาส่วนของ 5'-haplotype ซึ่งจะทำให้ได้แฮปโลไทป์ของฮีนบีตาอีนโกลบินสมบูรณ โดยมี polymorphic restriction sites ครบทั้ง 7 ตำแหน่ง

โดยผลการศึกษาในส่วนของ 5'-haplotype ที่ได้จะเรียงลำดับโดยเริ่มจาก ตำแหน่งที่ 1 5' e-HincII ตำแหน่งที่ 2 Gy-HindIII ตำแหน่งที่ 3 Ay-HindIII ตำแหน่งที่ 4 β -HincII และตำแหน่งที่ 5 3' β -HincII ดังต่อไปนี้



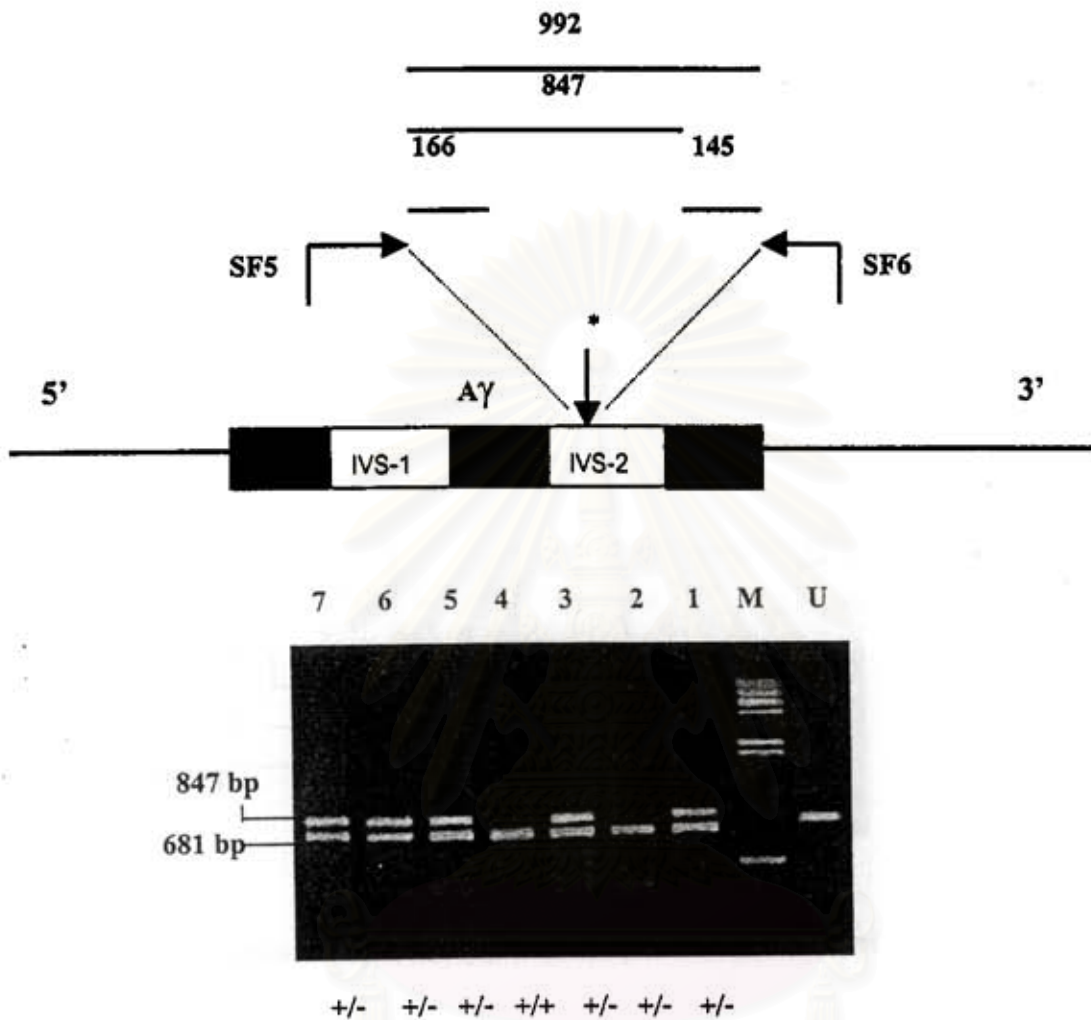
รูปที่ 5.4 บน แสดงตำแหน่ง *HincII* polymorphism (*) อยู่บริเวณ 5' ถึง ϵ -globin gene (ตำแหน่งที่ 1 5' ϵ -*HincII*) ซึ่งมีความจำเพาะจำเพาะ ต่อเอนไซม์ *HincII* โดยใช้ไพรเมอร์ SF₁ และ SF₂ ใช้ในการเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 1068 bp เมื่อถูกตัดด้วยเอนไซม์ *HincII* จะให้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 540 bp และ 528 bp

ล่าง แสดงตัวอย่างของผลการศึกษาตำแหน่งที่ 1 5' ϵ -*HincII* ในประชากรชาวกูย และแสดงแถบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 1068 bp 540 bp และ 528 bp แยกด้วย 1.0% agarose gel electrophoresis, M = λ /Hind III U = PCR product ที่ไม่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ *HincII* (uncut), 1-5 เป็นตัวอย่างที่นำมาศึกษา ในตัวอย่างที่ 1 2 3 และ 4 เอนไซม์ *HincII* สามารถตัดได้ 1 อัลลีล (+/-) จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 1068 bp 540 bp และ 528 bp ตัวอย่างที่ 5 เอนไซม์ *HincII* ไม่สามารถตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้เลย (-/-) จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 1068 bp



รูปที่ 5.5 บน แสดงตำแหน่ง *Hind*III polymorphism (*) ในส่วน IVS 2 ของ $G\gamma$ -globin gene (ตำแหน่งที่ 2 $G\gamma$ -*Hind*III) ซึ่งมีความจำเพาะต่อเอนไซม์ *Hind* III โดยใช้ไพรเมอร์ SF₃ และ SF₄ ในการเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 1124 bp เมื่อถูกตัดด้วยเอนไซม์ *Hind* III จะให้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 697 bp และ 894 bp

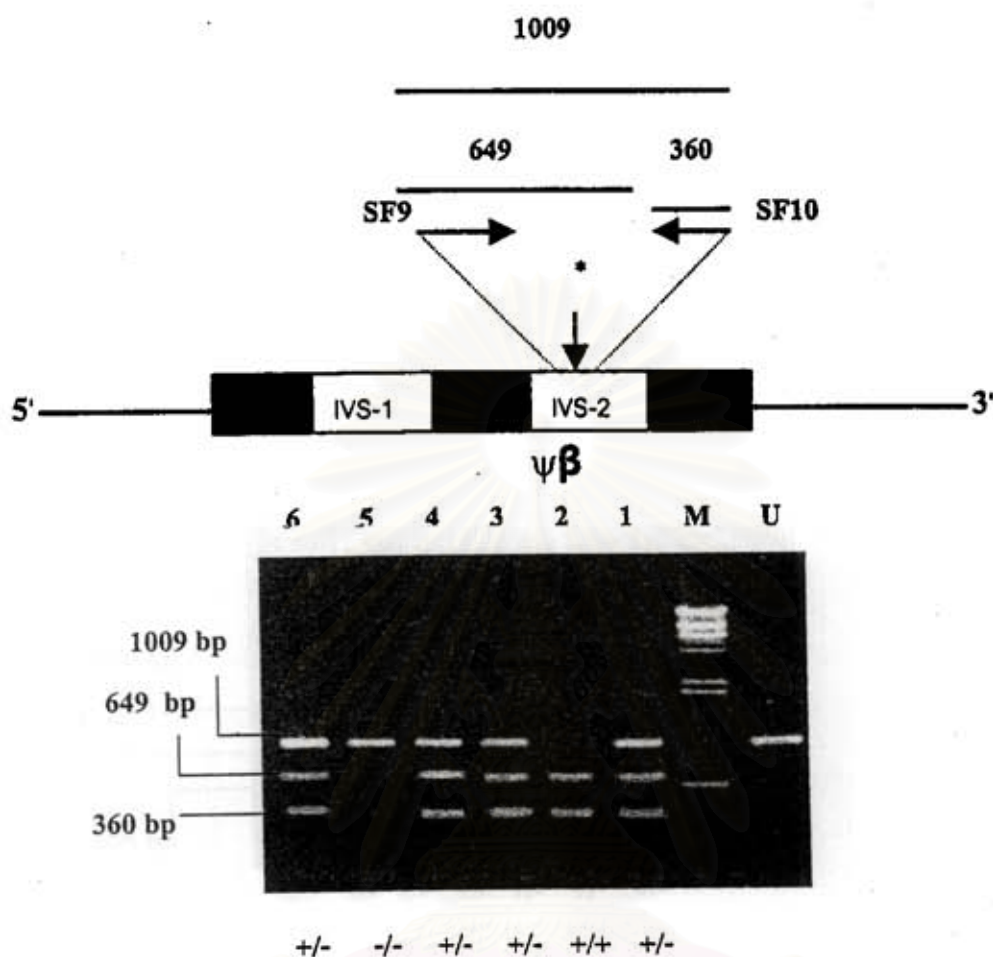
ล่าง แสดงตัวอย่างของผลการศึกษาตำแหน่งที่ 2 $G\gamma$ -*Hind*III ในประชากรชาวกูยและแสดงแถบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 894 bp และ 697 bp แยกด้วย 1.0% agarose gel electrophoresis, M = λ /*Hind*III, U = PCR product ที่ไม่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ ตัดจำเพาะ *Hind*III (uncut) 1-4 เป็นตัวอย่างที่นำมาศึกษา ตัวอย่างที่ 1 เอนไซม์ *Hind*III ตัดได้ทั้ง 2 อัลลีล (++) จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 697 bp และ 230+197 bp ตัวอย่างที่ 2 และ 4 เอนไซม์ *Hind*III ตัดได้ 1 อัลลีล (+/-) จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 894 bp และ 697 bp ตัวอย่างที่ 3 เอนไซม์ *Hind*III ไม่สามารถตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้เลย (-/-) จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 894 bp



รูปที่ 5.6 บน แสดงตำแหน่ง *Hind* III polymorphism (*) ในส่วน IVS-2 ของ $\text{A}\gamma$ -globin gene

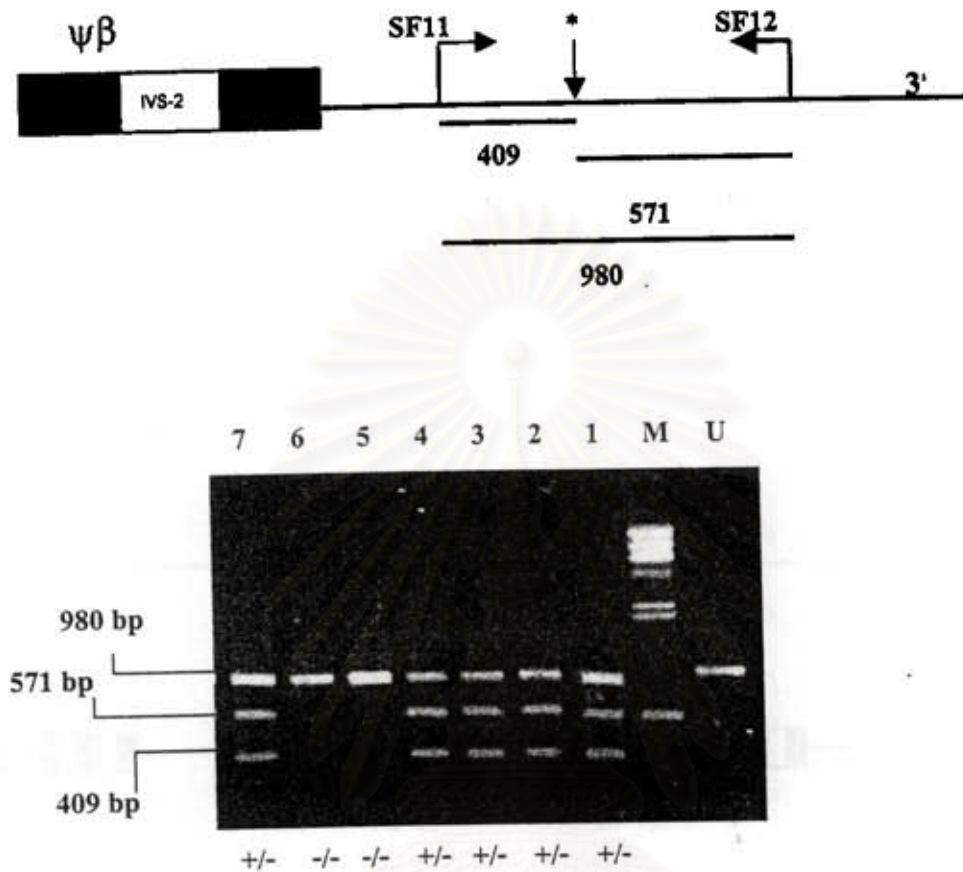
(ตำแหน่งที่ 3 $\text{A}\gamma$ -*Hind* III) ซึ่งมีความจำเพาะต่อเอนไซม์ *Hind* III โดยใช้ไพรเมอร์ SF₅ และ SF₆ ในการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 992 bp เมื่อ ถูกตัดด้วยเอนไซม์ *Hind* III จะให้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 681 bp และ 847 bp

ล่าง แสดงตัวอย่างของผลการศึกษตำแหน่งที่ 3 $\text{A}\gamma$ -*Hind* III ในประชากรชาวภูยก และแสดงแถบชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 847 bp และ 681 bp แยกด้วย 1.0% garose gel electrophoresis, M = λ *Hind* III U = PCR product ที่ไม่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ *Hind* III (uncut) 1-7 เป็นตัวอย่างที่นำมาศึกษา ตัวอย่างที่ 1 3 5 6 และ 7 เอนไซม์ *Hind* III ตัดได้ 1 อัลลิล(+/-) จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 847 bp และ 681 pb ตัวอย่างที่ 2 และ 4 เอนไซม์ *Hind* III ตัดได้ทั้ง 2 อัลลิล (+/+) จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 681 bp



รูปที่ 5.7 บน แสดงตำแหน่ง *HincII* polymorphism (*) ในส่วน IVS-2 ของ $\psi\beta$ -globin gene (ตำแหน่งที่ 4, $\psi\beta$ -*HincII*) ซึ่งมีความจำเพาะต่อเอนไซม์ *HincII* โดยใช้ไพรเมอร์ SF₉ และ SF₁₀ ในการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 1009 bp เมื่อถูกตัดด้วยเอนไซม์ *HincII* จะให้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 649 bp และ 360 bp

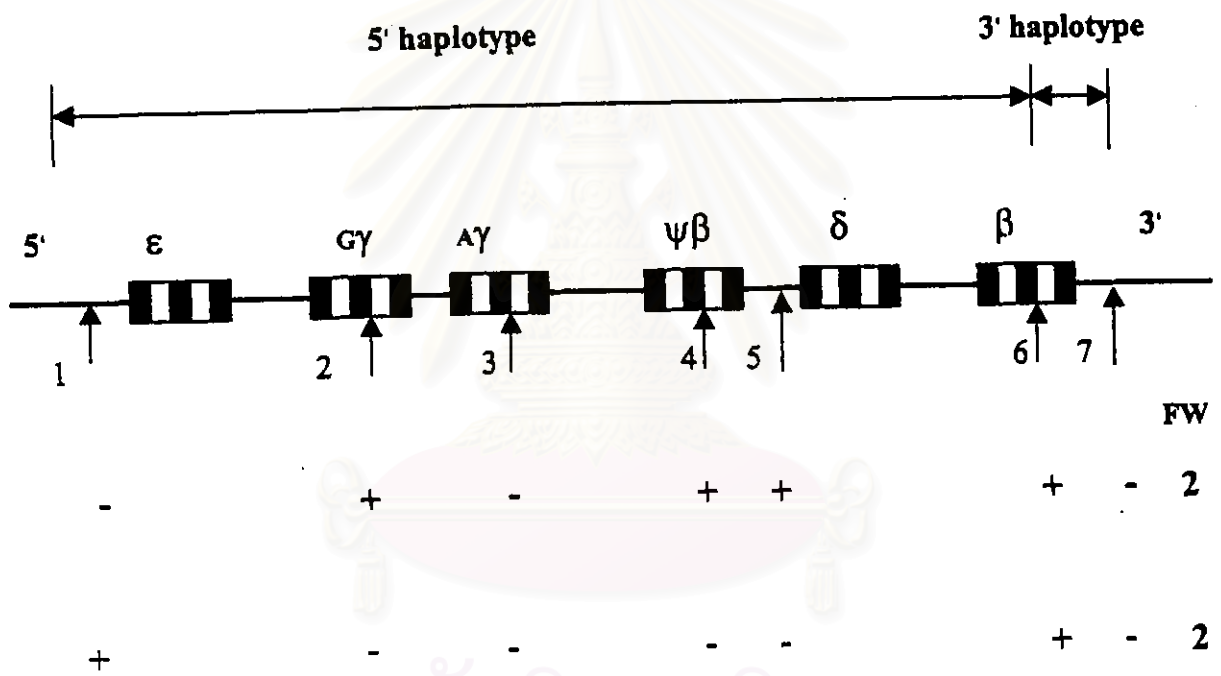
ล่าง แสดงตัวอย่างของผลการศึกษาคำแหน่งที่ 4, $\psi\beta$ -*HincII* ในประชากรชาวกูย และแสดงแถบชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 1009 bp 649 bp และ 360 bp แยกด้วย 1.0% agarose gel electrophoresis M = λ /*Hind* III, U = PCR product ที่ไม่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ *HincII* (uncut) 1-6 เป็นตัวอย่างที่นำมาศึกษา ตัวอย่างที่ 1 3 4 และ 6 เอนไซม์ *HincII* ตัดได้ 1 อัลลิล (+/-) จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 1009 bp 649 bp และ 360 bp สำหรับตัวอย่างที่ 2 เอนไซม์ *HincII* ตัดได้ 2 อัลลิล (-/-) จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 649 bp และ 360 bp และ ตัวอย่างที่ 5 เอนไซม์ *HincII* ไม่สามารถตัดชิ้นดีเอ็นเอได้เลย จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 1009 bp



รูปที่ 5.8 บน แสดงตำแหน่ง *HincII* polymorphism (*) บริเวณ 3' $\psi\beta$ -globin gene (ตำแหน่งที่ 5, 3' $\psi\beta$ -*HincII*) ซึ่งมีความจำเพาะต่อเอนไซม์ *HincII* โดยใช้ไพรเมอร์ SF₁₁ และ SF₁₂ ในการเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 980 bp เมื่อถูกตัดด้วยเอนไซม์ *HincII* จะให้ชิ้น ส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 571 bp และ 409 bp

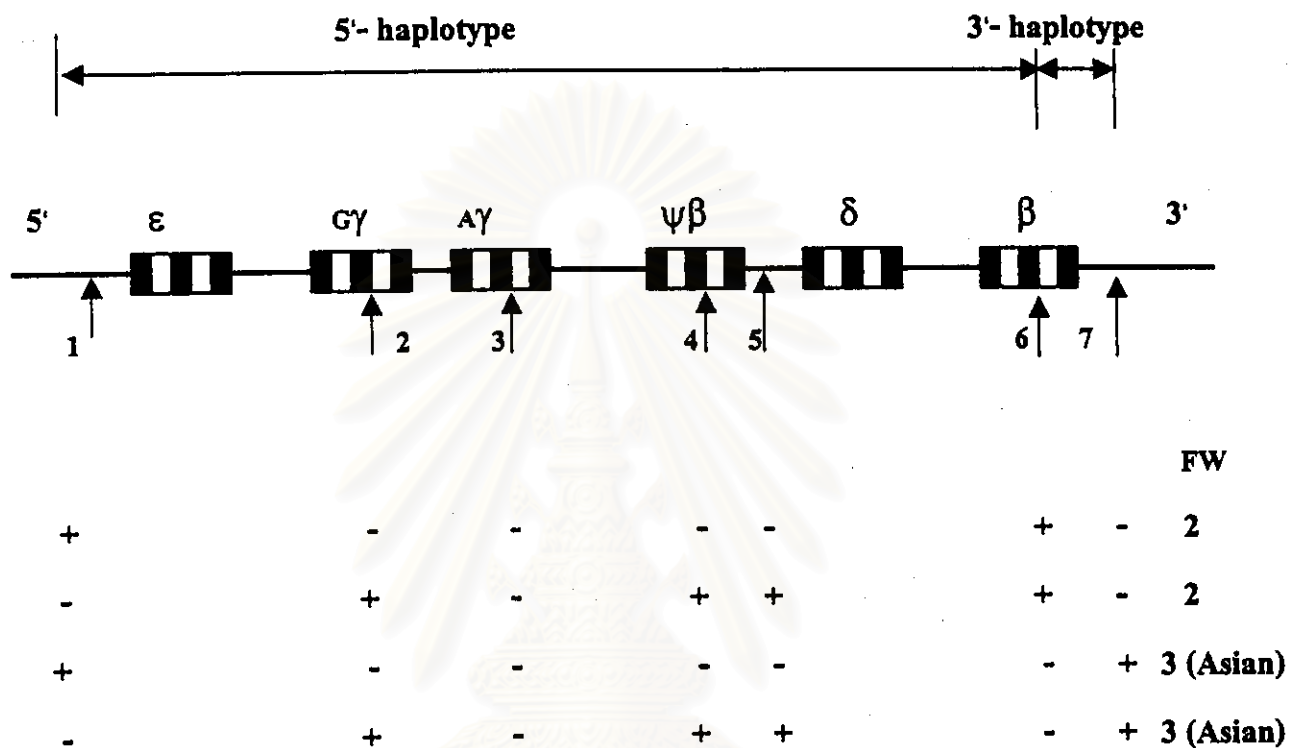
ล่าง แสดงตัวอย่างของผลการศึกษตำแหน่งที่ 5 3' $\psi\beta$ -*HincII* ในประชากรชาวกูยและแสดง แถบชิ้นส่วนขนาด 980 bp 571 bp และ 409 bp แยกด้วย 1.0 % agarose gel electrophoresis M = λ *Hind* III U = PCR product ที่ไม่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ *HincII* (uncut) 1-7 เป็นตัวอย่าง ที่นำมาศึกษา ตัวอย่างที่ 1 2 3 4 และ 7 เอนไซม์ *HincII* ตัดได้ 1 อัลลีล (+/-) จึงเห็นแถบ ดีเอ็นเอขนาด 980 bp 571 bp และ 409 bp สำหรับตัวอย่างที่ 5 และ 6 เอนไซม์ *HincII* ไม่สามารถตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้เลย (-/-) จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 980 bp

นำผลการศึกษาด้าน 3'-haplotype (β^E -globin gene frameworks) ที่ได้ทำการศึกษาก่อนแล้วมาเขียนรวมกันเป็นลักษณะแฮปโลไทป์ของยีนบีตาฮีโกลบินในประชากรชาวกูยบ้านสะเดาหวาน ดังแสดงในรูปที่ 5.9 และลักษณะแฮปโลไทป์ของยีนบีตาฮีโกลบินในประชากรชาวกูยบ้านตากกลาง ดังแสดงรูปที่ 5.10 สำหรับลักษณะ แฮปโลไทป์ของยีนบีตาฮีโกลบินที่พบในประชากรชาวกูย ทั้ง 2 หมู่บ้าน ดังแสดงรูปที่ 5.11



รูปที่ 5.9 แสดงผลการศึกษาลักษณะแฮปโลไทป์ของยีนบีตาฮีโกลบิน ที่พบในประชากรชาวกูยบ้านสะเดาหวาน จำนวน 4 โครโมโซม ดังนี้

ชนิด FW2 มีแฮปโลไทป์เป็นแบบ $-+++ + \beta^E+-$ จำนวน 2 โครโมโซม
 ชนิด FW2 มีแฮปโลไทป์เป็นแบบ $+---- - \beta^E+-$ จำนวน 2 โครโมโซม



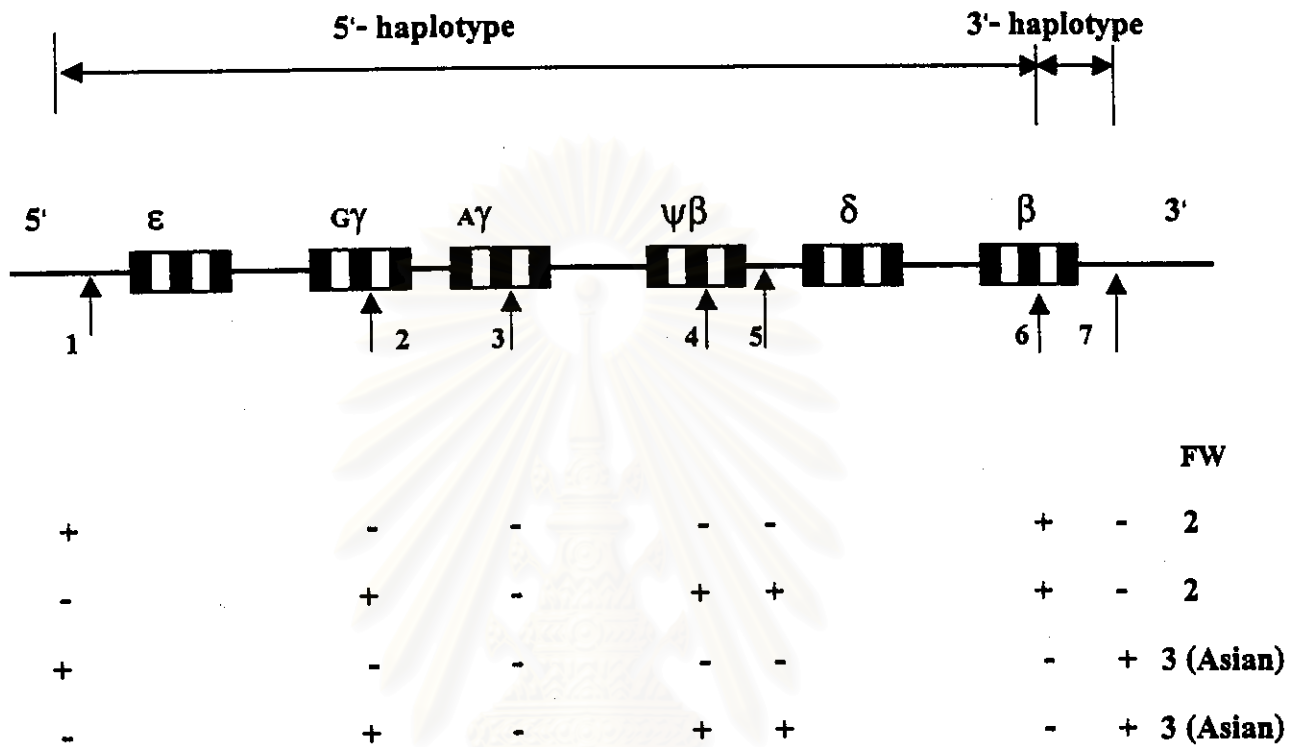
รูปที่ 5.10 แสดงผลการศึกษาลักษณะแฮปโลไทป์ของอินบีตาอีโกลบิน ที่พบในประชากรชาวภูบ้าน ดากลาจ จำนวน 4 โครโมโซม ดังนี้

ชนิด FW2 มีแฮปโลไทป์เป็นแบบ - + - + + β^E + - จำนวน 1 โครโมโซม

ชนิด FW2 มีแฮปโลไทป์เป็นแบบ + - - - - β^E + - จำนวน 1 โครโมโซม

ชนิด FW 3 (Asian) มีแฮปโลไทป์เป็นแบบ + - - - - β^E + - จำนวน 1 โครโมโซม

ชนิด FW 3 (Asian) มีแฮปโลไทป์เป็นแบบ - + - + + β^E + - จำนวน 1 โครโมโซม



รูปที่ 5.11 แสดงผลการศึกษาลักษณะแฮปโลไทป์ของยีนบีตาฮีโมโกลบิน ที่พบในประชากรชาวภูบ้าน ทั้ง 2 หมู่บ้าน จำนวน 8 โครโมโซม ดังนี้

ชนิด FW2 มีแฮปโลไทป์ เป็นแบบ - + - + + β^E+ - จำนวน 3 โครโมโซม

ชนิด FW2 มีแฮปโลไทป์ เป็นแบบ + - - - - β^E+ - จำนวน 3 โครโมโซม

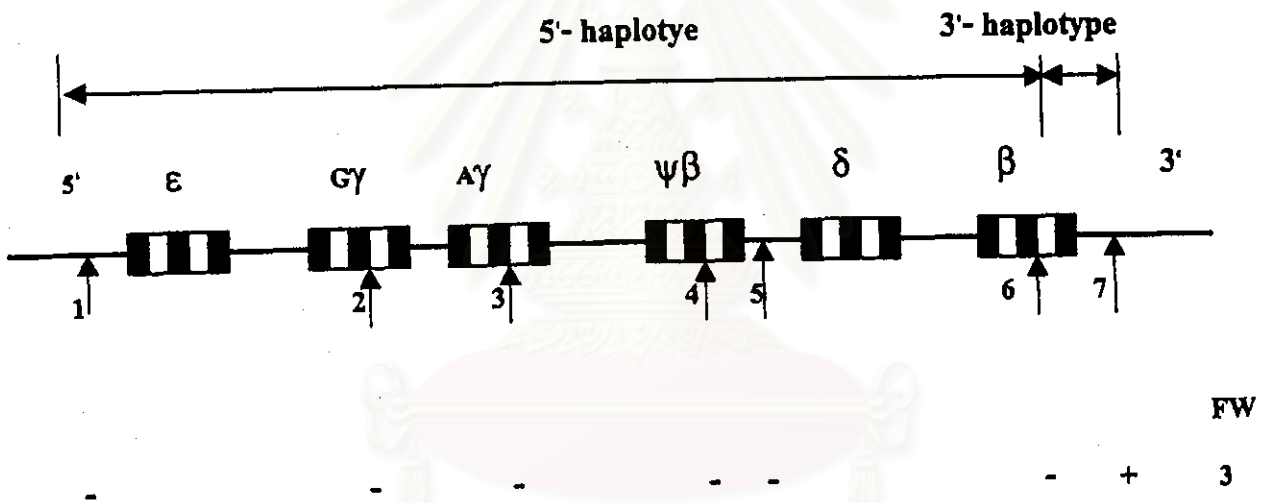
ชนิด FW 3 (Asian) มีแฮปโลไทป์ เป็นแบบ + - - - - β^E+ - จำนวน 1 โครโมโซม

ชนิด FW 3 (Asian) มีแฮปโลไทป์ เป็นแบบ - + - + + β^E+ - จำนวน 1 โครโมโซม

ผลการศึกษาดอนที่ 4

ผลการศึกษาแฮปโลไทป์ของยีน HbPyrgos

ผลการศึกษาแฮปโลไทป์ของยีน Hb Pyrgos โดยทำการศึกษา polymorphics restriction sites 7 ตำแหน่ง เช่นเดียวกับการศึกษาแฮปโลไทป์ของยีนบีตาอีโกลบิน รวมทั้งขั้นตอนของการทำการศึกษแฮปโลไทป์ด้วย แฮปโลไทป์ของยีน Hb Pyrgos เป็นแบบ - - - - - +



รูปที่ 5.12 แสดงผลการศึกษาลักษณะแฮปโลไทป์ของยีนบีตาไพร์กอสที่พบในประชากรชาวกูยบ้านสะเตาหวาน จำนวน 1 โครโมโซม ชนิด FW3 มีแฮปโลไทป์เป็น แบบ - - - - - β^{Pyrgos} - + จำนวน 1 โครโมโซม

ผลการศึกษาดอนที่ 5

ผลการศึกษารูปแบบการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบิน แบบ Southeast Asian Type (--SEA) หรือ α^0 -thalassemia โดยวิธี PCR

ผลการศึกษาแบบการขาดหายไปแบบ Southeast Asian Type (--SEA) ในประชากรชาวกูย 2 หมู่บ้านจำนวน 54 ราย พบยีน --SEA เพียง 3 ราย โดยในหมู่บ้านสะเดาหวาน พบ 2 ราย ในบ้านดากลาง พบ Hb H disease (--SEA/ $\alpha^{3.7}$) 1 ราย โดยพบว่าโครโมโซมอีกแท่งหนึ่งมีรูปแบบการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบิน แบบ --SEA ความถี่ของ Southeast Asian Type (--SEA) หรือ α^0 -thalassemia ในประชากรชาวกูยบ้านสะเดาหวานและบ้านดากลาง แสดงไว้ในตารางที่ 5.6 สำหรับความถี่ของ Southeast Asian Type (--SEA) หรือ α^0 -thalassemia ในประชากรชาวกูยบ้านทั้ง 2 หมู่บ้าน แสดงไว้ในตารางที่ 5.7

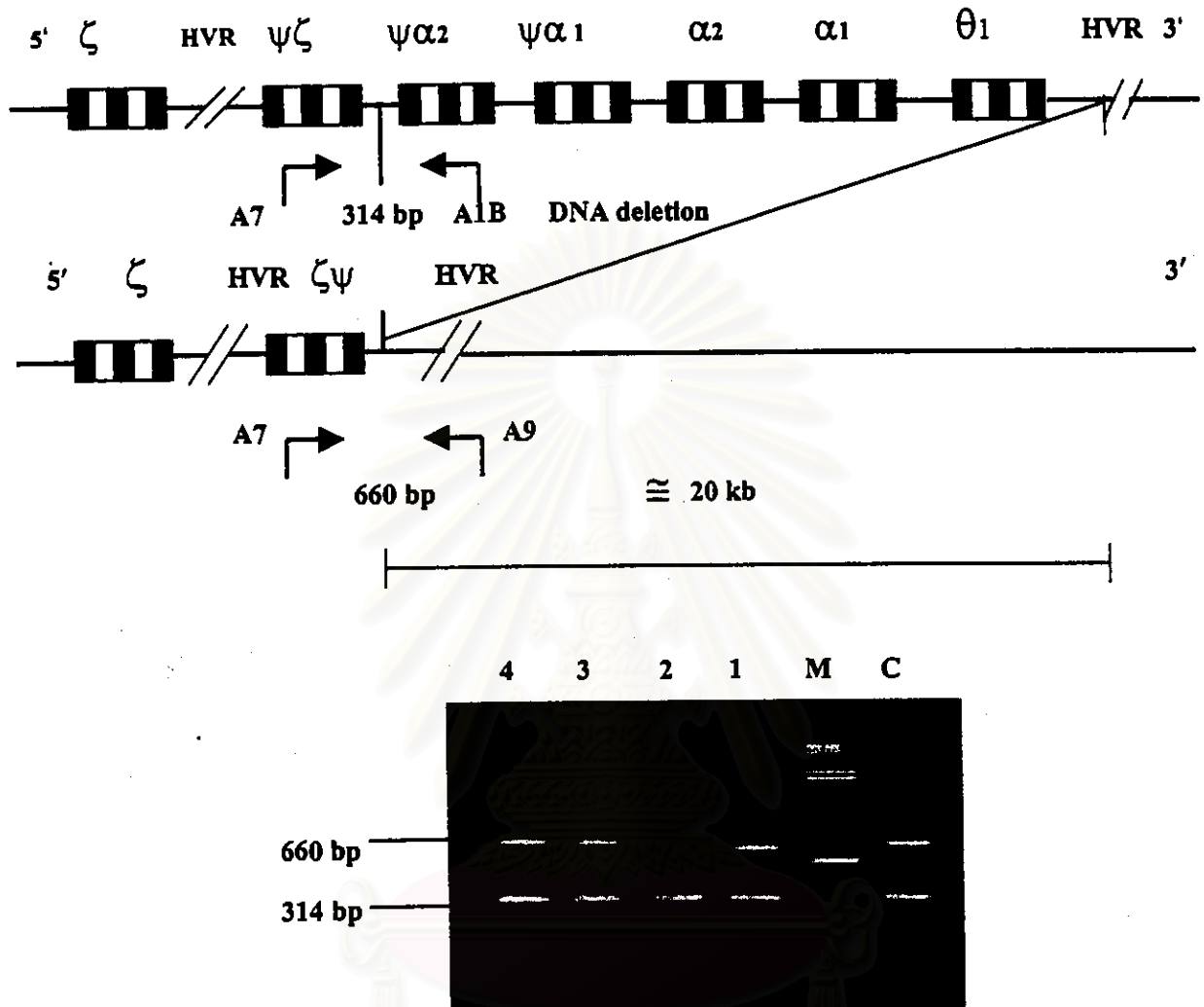
ตารางที่ 5.6 แสดงความถี่ยีน แบบ Southeast Asian Type (--SEA) หรือ α^0 -thalassemia ในประชากรชาวกูยบ้านสะเดาหวานและบ้านดากลาง

จีโนไทป์	จำนวนคน	
	บ้านสะเดาหวาน	บ้านดากลาง
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	23	28
--SEA/ $\alpha\alpha$	2	-
--SEA/ $\alpha^{3.7}$	-	1
ความถี่ยีน แบบ --SEA	0.043	0.017

ตารางที่ 5.7 แสดงความถี่แบบ Southeast Asia Type (-SEA) หรือ α^0 -thalassemia ในประชากรชาวกูย
ทั้ง 2 หมู่บ้าน

จีโนไทป์	จำนวนคน	ร้อยละ
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	51	94.44
-SEA/ $\alpha\alpha$	2	3.70
-SEA/- $\alpha^{3.7}$	1	1.85
ความถี่แบบ -SEA = 0.027		

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5.13 บนแสดงกลุ่มยีนแอลฟาโกลบิน (α -globin gene cluster) และขนาดการขาดไปของยีนแอลฟาโกลบินประมาณ 20 kb รวมทั้งตำแหน่งไพรเมอร์ ที่ใช้ในการศึกษารูปแบบการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบิน แบบ Southeast Asian Type (-SEA) หรือ α^0 -thalassemia ถ่าง แสดงตัวอย่างของผลการศึกษาการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบิน แบบ -SEA ในประชากรชาวกูย และแสดงชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 660 bp และ 314 bp แยกด้วย 1.5 % agarose gel electrophoresis M = DNA size marker (λ /HindIII) C = ตัวอย่างที่มียีน -SEA (DNA control) 1-4 เป็นตัวอย่างที่นำมาศึกษา ตัวอย่างที่ 1 3 และ 4 มีการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินแบบ -SEA จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 660 bp สำหรับตัวอย่างที่ 2 ไม่พบการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินแบบ -SEA จึงเห็นแถบดีเอ็นเอ ขนาด 314 bp

ผลการศึกษาดอนที่ 6

ผลการศึกษาการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินแบบ rightward deletion ($-\alpha^{3.7}$) และ leftward deletion ($-\alpha^{4.2}$) โดยวิธี Southern blot

ผลการศึกษาการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบิน แบบ rightward deletion ($-\alpha^{3.7}$) และ leftward deletion ($-\alpha^{4.2}$) ในประชากรชาวภูบ้านสะเดาหวาน พบการขาดหายไป แบบ rightward deletion จำนวน 7 ราย และไม่พบการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบิน แบบ leftward deletion จากประชากรชาวภูบ้านสะเดาหวาน โดยสุ่มตัวอย่างมา 25 ราย ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5.8

บ้านตากกลางพบการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบิน แบบ rightward deletion จำนวน 7 ราย และพบการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบิน แบบ leftward deletion เพียง 1 ราย จากประชากรชาวภูบ้านตากกลางที่สุ่มตัวอย่างมา 22 ราย ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5.9

สำหรับการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบิน แบบ rightward deletion และ leftward deletion ในประชากรชาวภู ทั้ง 2 หมู่บ้าน พบการขาดหายไปของยีนแอลฟา แบบ rightward deletion จำนวน 15 ราย และพบการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบิน แบบ leftward deletion เพียง 1 ราย จากประชากรชาวภูที่สุ่มตัวอย่างมา 47 ราย ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5.10

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5.8 แสดงความถี่ของการขาดหายไปของฮีนแอลฟาโกลบิน แบบ rightward deletion และ leftward deletion ในประชากรชาวภูย บ้านสะเดาหวาน

จีโนไทป์	จำนวนคน	ร้อยละ	ความถี่
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	18	72.00	0.860
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	7	28.00	0.140
รวม	25	100	1

ตารางที่ 5.9 แสดงความถี่ของการขาดหายไปของฮีนแอลฟาโกลบินแบบ rightward deletion และ leftward deletion ในประชากรชาวภูยบ้านตากกลาง

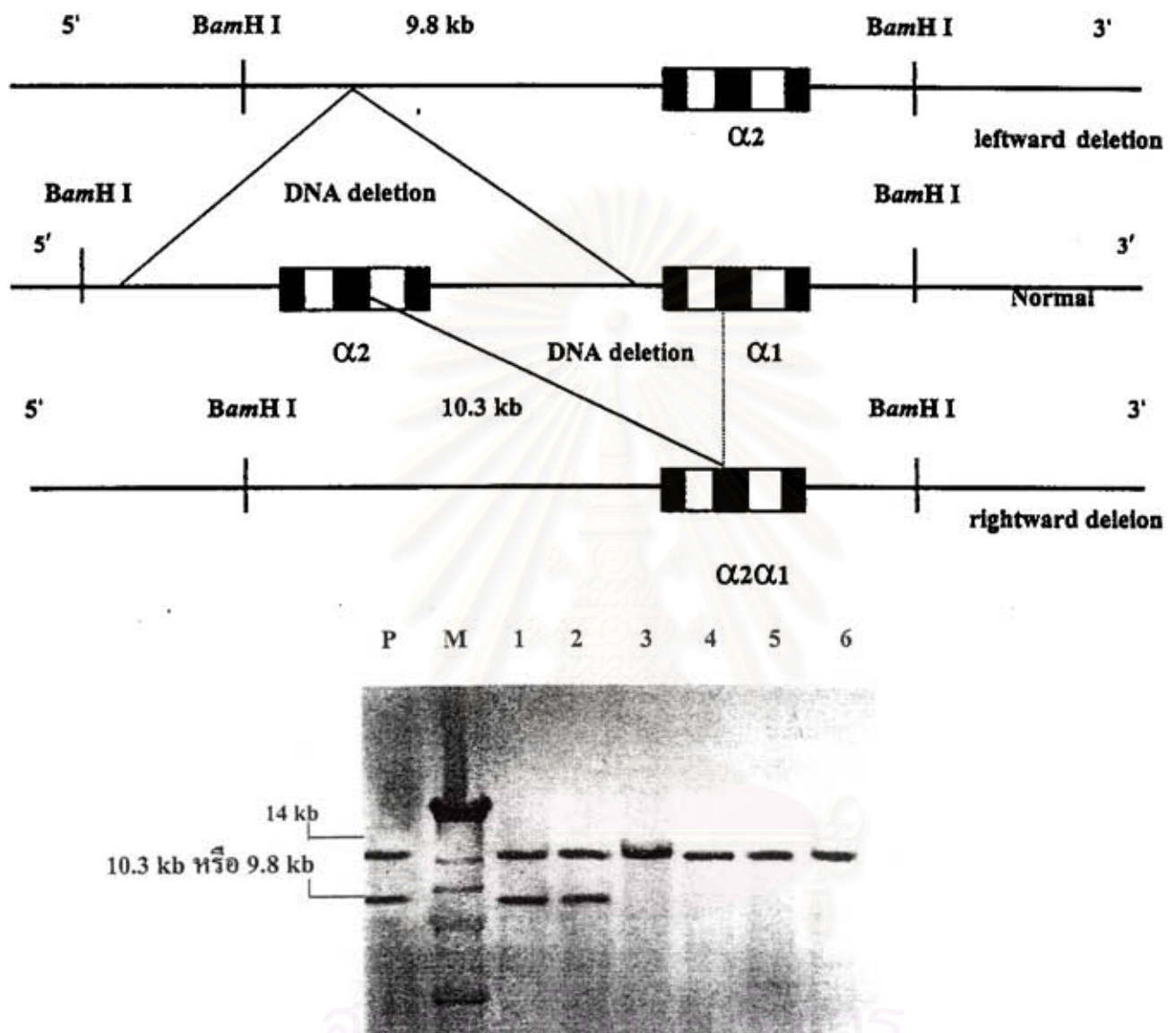
จีโนไทป์	จำนวนคน	ร้อยละ	ความถี่
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	13	59.09	0.772
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	7	31.81	0.181
$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	1	4.45	0.022
$--SEA / -\alpha^{3.7}$	1	4.45	-
รวม	22	99.8	0.975

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5.10 แสดงความถี่ของการขาดหายไปของซีนแอลฟาโกสบิน แบบ rightward deletion และ leftward deletion ในประชากรชาวกูยทั้ง 2 หมู่บ้าน

จีโนไทป์	จำนวนคน	ร้อยละ	ความถี่
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	31	65.95	0.819
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	14	29.78	0.159
$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	1	2.12	0.010
$-/-\alpha^{3.7}$	1	2.12	-
รวม	48	99.97	0.988

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



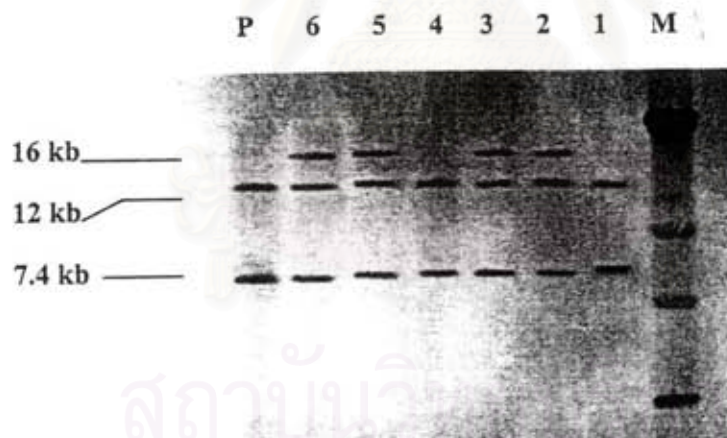
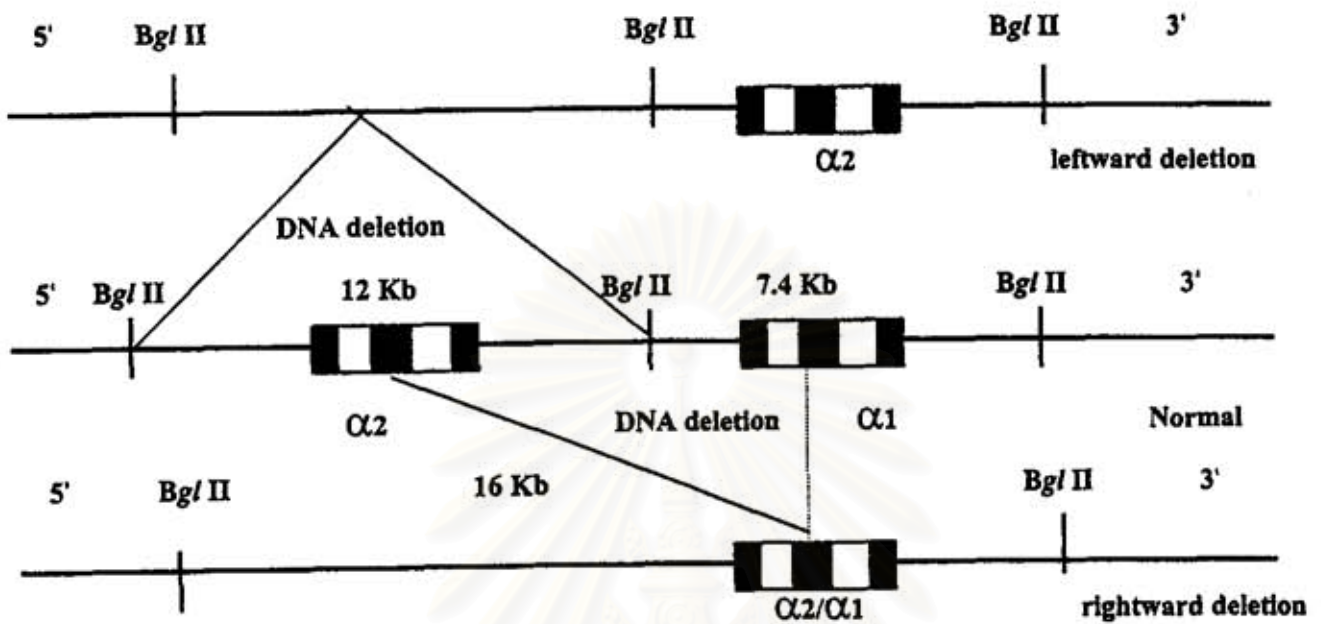
รูปที่ 5.14 บน แผนที่ยีน (DNA mapping) แสดงตำแหน่งของเอนไซม์ *Bam*HI ในกลุ่มยีนแอลฟา โกลบิน ในคนปกติถ้ามีการตัดด้วยเอนไซม์ *Bam*HI จะได้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 14.0 kb ในคนที่มีรูปแบบการขาดหายไปของยีน แบบ rightward deletion ($-\alpha^{3.7}$) และ leftward deletion ($-\alpha^{4.2}$) จะได้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 9.8 kb และ 10.3 kb ตามลำดับ

ล่าง แผ่น nylon membrane แสดงตัวอย่างของผลการศึกษารูปแบบการขาดหายไปแบบ rightward deletion ($-\alpha^{3.7}$) หรือ leftward deletion ($-\alpha^{4.2}$) โดยการตัดจีโนมดีเอ็นเอด้วย เอนไซม์ ตัดจำเพาะ *Bam*HI M = λ /Hind III P = มีรูปแบบการขาดหายไปแบบ

rightward deletion ($-\alpha^{3.7}$) หรือ leftward deletion ($-\alpha^{4.2}$) (positive control) 1-6 เป็น ตัวอย่างที่นำมาศึกษา ตัวอย่างที่ 1 และ 2 พบรูปแบบการขาดหายไปแบบ rightward deletion หรือ leftward deletion ซึ่งมีขนาดแถบดีเอ็นเอเป็น 14 kb และ (9.8 kb หรือ 10.3 kb) สำหรับตัวอย่างที่ 3 4 5 ไม่มีการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบิน แบบ rightward deletion หรือ leftward deletion แบบใดแบบหนึ่ง



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5.15 แผนที่ยีนเอ (DNA mapping) แสดงตำแหน่งของเอนไซม์ *Bgl* II ในกลุ่มยีนแอลฟา โกลบิน ในคนปกติ ถ้ามีการตัดด้วย เอนไซม์ *Bgl* II จะได้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 12.0 kb และ 7.4 kb ในคนที่มีรูปแบบการขาดหายไปของยีนแอลฟา โกลบิน แบบ rightward deletion ($-\alpha^{3,7}$) และ leftward deletion ($-\alpha^{4,2}$) จะได้ชิ้นส่วน ดีเอ็นเอ ขนาด 7.4 Kb และ 16 Kb ตามลำดับ

ล้าง แผ่น nylon membrane แสดงผลการตัดจีโนมคิเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ
Bgl II M= λ /Hind III P= มีรูปแบบการขาดหายไปแบบ rightward deletion ($-\alpha^{3.7}$) หรือ
 leftward deletion ($-\alpha^{4.2}$) (positive control) โดยตัวอย่างที่ 1 2 4 และ 5 มีการขาดหายไป
 แบบ rightward deletion ($-\alpha^{3.7}$) แถบคิเอ็นเอที่ได้มีขนาด 16 kb 12 kb และ 7.4 kb ตามลำดับ
 ตัวอย่างที่ 3 มีการขาดหายไปของอินแอลฟาไกลบินแบบ leftward deletion ($-\alpha^{4.2}$) แถบ
 คิเอ็นเอที่ได้ ขนาด 12 kb และ 7.4 kb ตามลำดับ



สถาบันวิทยบริการ
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย