

การศึกษาแอปพลิเคชันของอินบิตาอีโกลบินและรูปแบบการขาดหายไปของอิน
แอลฟาโกลบิน ในประชากรชาวกูยจังหวัดมหาสารคาม และสุรินทร์

นาย ประยุกต์ ศรีวิล



สถาบันวิทยบริการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์

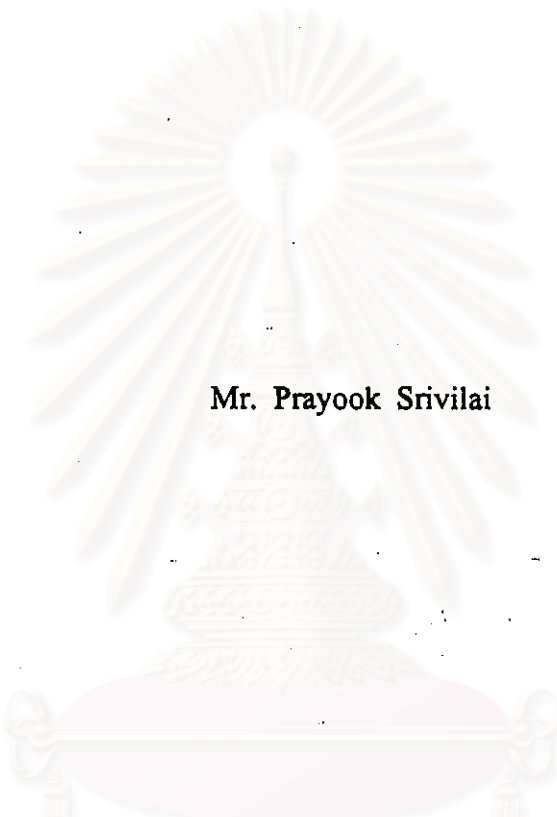
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2541

ISBN 974-332-557-3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**STUDY OF BETA E-GLOBIN GENE HAPLOTYPES AND GENE DELETION
TYPE OF ALPHA - GLOBIN GENE IN KUI POPULATION IN
MAHA SARAKHAM AND SURIN PROVINCES**



Mr. Prayook Srivilai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements

for the Degree of Master of Science in Genetics

Department of Botany

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 1998

ISBN 974-332-557-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การศึกษาแอปพลิเคชันใหม่ของอินบีดาอีโกดมินและรูปแบบการขาด
หายไปของอินแอคฟาโกดมิน ในประชากรชาวอุยจังหวัด
มหาสารคาม และสุรินทร์

โดย

นายประจักษ์ ศรีวิไล

ภาควิชา

พฤกษศาสตร์

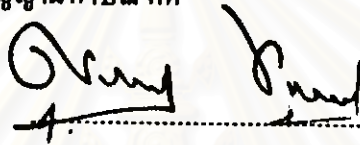
อาจารย์ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์พรณี ชีโนรัมย์

อาจารย์ที่ปรึกษาที่ร่วม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภวรรณ ชูเจริญ

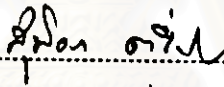
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาดำเนินการตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต



คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

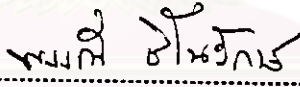
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุภวัฒน์ ชูติวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



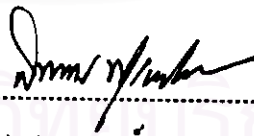
ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์สุมิตรา คงชื่นสิน)



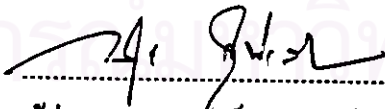
อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์พรณี ชีโนรัมย์)



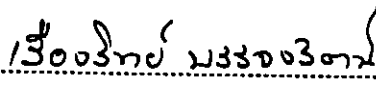
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภวรรณ ชูเจริญ)



กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรุณี จุฬาลักษณ์านุกุล)



กรรมการ

(อาจารย์เรืองวิทย์ บรรจงรัตน์)

ประยุกต์ ศรีวิไล : การศึกษาแอสโทลาไทป์ของซิงเบต้าอีโกลบินและรูปแบบการขาดหาย
ไปของซิงแอลฟาโกลบินในประชากรชาวกูย ในจังหวัดมหาสารคาม และสุรินทร์

(STUDY OF BETA-E GLOBIN GENE HAPLOTYPES AND GENE DELETION
TYPE OF ALPHA GLOBIN GENE DELETION IN KUI POPULATION IN MAHA
SARAKHAM AND SURIN PROVINCES)

อ.ที่ปรึกษา : รศ. พรรณี ชโนรัมย์, อ. ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ดร. สุพรรณ พู่เจริญ, 122 .ISBN
974-332-557-3

การศึกษาชนิดอีโมโกลบิน โดยวิธี เซลลูโลสอะซีตาทีลอิเล็กโตรโฟรีซิส ในเลือดประชากรชาวกูย
ที่อยู่ในหมู่บ้านสะเดาหวาน ตำบลนาฎ อำเภอยางสีสุราช จังหวัดมหาสารคาม จำนวน 55 ราย ตรวจพบ
อีโมโกลบินอีชนิดเฮเทอโรไซโกต จำนวน 33 ราย และชนิดโฮโมไซโกต จำนวน 8 ราย ความถี่ซิงเบต้าอี
{f(β^E) = 0.445 และพบอีโมโกลบินผิดปกติ ชนิด Hb Pyrgos 3 ราย ศึกษาโดยวิธี ASPCR เมื่อนำ Hb Pyrgos
ไปศึกษาแอสโทลาไทป์ พบว่าเป็นแบบ (----- $\beta^{E/SEA}$) และในชาวกูยบ้านตากกลาง ตำบลกระโพ อำเภอกำ
ตุ้ม จังหวัดสุรินทร์ จำนวน 77 ราย ตรวจพบอีโมโกลบินอีชนิด เฮเทอโรไซโกต จำนวน 38 ราย และชนิด
โฮโมไซโกต จำนวน 5 ราย ความถี่ซิงเบต้าอี {f(β^E) = 0.311 ในประชากรชาวกูยพบความถี่ซิงเบต้าอีรวม
{f(β^E) = 0.367

เมื่อศึกษาลักษณะแอสโทลาไทป์ในกลุ่มซิงเบต้าอีโกลบิน โดยวิธี PCR และเอนไซม์ตัดจำเพาะ
ส่วนมากพบซิงเบต้าอีอยู่บนโครโมโซม ชนิด FW2 มีแอสโทลาไทป์ของซิงเบต้าอี 2 แบบ เป็นแบบ +---- β^E +
- และ -+--+ β^E - โดยพบว่าซิงเบต้าอีที่พบ มี chromosome background เหมือนในคนไทย คนลาว ลาว
ไซ่ง ภูไท และชาวใต้ แสดงให้เห็นว่าชาวกูยมีซิงเบต้าอีที่มีต้นกำเนิดเดียวกันและพบว่าซิงเบต้าอี จำนวน 8
โครโมโซม ที่เป็นชนิด FW3 (Asian) มีแอสโทลาไทป์เป็น แบบ +---- β^E -+ และ -+--+ β^E -+ ซึ่งเป็นแอส
โทลาไทป์ที่พบได้บ่อยในชาวเขมร แสดงว่ามีการแต่งงานข้ามกลุ่มระหว่างประชากรชาวกูยกับคนที่มีเชื้อสาย
ชาวเขมร

จากการศึกษารูปแบบการขาดหายไปของซิงแอลฟาโกลบิน ในประชากรชาวกูย พบทั้ง 3
แบบ โดยพบความถี่ แบบ -SEA 0.011 ศึกษาโดยวิธี PCR และพบความถี่ แบบ rightward deletion ($-\alpha^{3,7}$)
และ leftward deletion ($-\alpha^{4,2}$) เป็น 0.189 และ 0.01 ตามลำดับ ซึ่งศึกษาโดยวิธี Southern blot hybridization
แสดงให้เห็นว่า รูปแบบการขาดหายไปของซิงแอลฟาโกลบินในประชากรชาวกูย แบบ rightward deletion สูง
กว่า leftward deletion

ภาควิชา
สาขาวิชา
ปีการศึกษา 2541
ลายมือชื่อนักศึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

พิมพ์ต้นฉบับบทความวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

3972846123
KEY WORD

MAJOR GENETIC

BETA-E GLOBIN GENE / HAPLOTYPE/ ALPHA GLOBIN GENE/ GENE DELETION TYPE.

PRAYOOK SRIVILAI : STUDY OF BETA-E GLOBIN GENE HAPLOTYPES AND GENE DELETION TYPE OF ALPHA GLOBIN GENE IN KUI POPULATION IN MAHA SARAKHAM AND SURIN PROVINCES. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. PANNEE CHINORAK. THESIS CO-ADVISOR : ASSIST. PROF. SUPAN FUCHAROEN, Ph.D. 122 pp. ISBN 974-332-557-3.

Hemoglobin typing using cellulose acetate electrophoresis in 55 unrelated Kui individuals inhabited in Ban Sadouwan, Tambon Napu, Amphur Yangarisurat, Mahasarakham province, and 77 unrelated Kui individuals inhabited in Ban Taglang, Tambon Krappo, Amphur Tatume, Surin Province were carried out. In the prior group, 33 HbE heterozygotes and 8 homozygotes for HbE accounting for a frequency of $f(\beta^E)$ 0.445 were found. Three individuals with Hb Pyrgos heterozygotes were also observed. The haplotype of Hb Pyrgos was $----\beta^{Pyrgos}--+$ and in the later group, 38 heterozygotes and 5 homozygotes for HbE accounting for a frequency of $f(\beta^E)$ 0.311 were observed. The overall average β^E -gene frequency of the two groups is 0.0367.

β -globin gene associated with haplotypes were determined using PCR followed by restriction digestion. It was found that β^E -globin genes in Kui population were associated with β -globin gene framework 2 chromosome on two different haplotypes ($+----\beta^E+-$ and $----+\beta^E+-$) similar to those observed in Thai, Loas, Loasong, Phutai and So Population indicating the same origin of β^E -globin gene. However, β^E -globin genes were associated with FW3 (Asian) on 8 chromosome another has different haplotypes ($+----\beta^E-$ and $----+\beta^E-$) that are found commonly among Cambodian.

Deletion types and frequencies of α -globin gene were also examined in these Kui population. Three types of α -globin gene deletion were found. One is -SEA type determining by PCR ($f = 0.011$) and the others are rightward deletion ($\alpha^{3'}$) and leftward deletion ($\alpha^{4'}$) determined by Southern blot ($f = 0.189$ and 0.01 respectively). The result showed that the frequency of rightward deletion is higher than leftward deletion.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....
สาขาวิชา.....
ปีการศึกษา.....

ลายมือชื่อนิสิต.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีด้วยความช่วยเหลือจากหลายฝ่ายด้วยกัน ผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีรายนาม ดังนี้

รองศาสตราจารย์ พรรณี ชีโนรักษ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพรรณ พูเจริญ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ ของการทำวิจัยมาด้วยดีตลอด

รองศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรุณี จุฬาลักษณ์านุกุล ที่ได้ให้คำแนะนำแก้ไขข้อบกพร่อง จนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

รองศาสตราจารย์ กุลนภา พูเจริญ, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ กนกวรรณ แสนไชยสุริยา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ฌรัฐยา แซ่ฮึ้ง ที่ได้ช่วยเหลือและให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการวิจัย และยังกรุณาช่วยสอนวิชาสถิติเชิงเมียบให้

ขอขอบคุณ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้เอื้อเพื่อ วัสดุ อุปกรณ์ ตลอดจนสถานที่ ที่ใช้ในการทำวิจัยโดยตลอด

ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ทุน UDC ในการศึกษา และในการทำวิจัย

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยบางส่วน

ขอขอบคุณ คุณอุทษณา เพ็งแจ่ม, คุณอรุศรี สุยะสุนานนท์, คุณนันทวรรณ ชื่นชมคุณาธร และคุณพนิดา เล้าชาญวุฒิ

ขอขอบคุณพี่น้องชาวภูบ้านสะเคาหวาน ตำบลนาฏ อำเภอยางสีสุราช จังหวัดมหาสารคาม และบ้านตากกลาง ตำบลกระโพ อำเภอท่าตูม จังหวัดสุรินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการขอเจาะเลือด

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่สาธารณสุข ตำบลนาฏ และเจ้าหน้าที่สาธารณสุข ตำบลกระโพ ช่วยอนุเคราะห์ในการเจาะเลือด

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ซ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. การตรวจสอบเอกสาร.....	4
3. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี.....	35
4. วิธีดำเนินการศึกษา.....	40
5. ผลการศึกษา.....	65
6. อภิปรายผลการศึกษา.....	93
7. สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ.....	103
รายการอ้างอิง.....	105
ภาคผนวก.....	115
ประวัติผู้วิจัย.....	122

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงการกระจายของฮีโมโกลบินอีและความถี่ของยีนในกลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ ในประเทศไทย.....	19
2.2 แสดงการกระจายของแอสไปโทไทป์ของยีนบีตาอี และ FW ในชนเผ่าต่างๆ ในประเทศไทย.....	25
4.1 แสดงชนิดและลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยา ASPCR	46
4.2 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์และตำแหน่งของยีนภายในกลุ่มยีนบีตาโกลบิน ที่ใช้ในการศึกษาแอสไปโทไทป์ของยีนบีตาอีโกลบินในประชากรชาวกูย	54
4.3 แสดงเอนไซม์และบัฟเฟอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยาการตัดจำเพาะ	52
4.4 แสดงชนิดและลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR	56
5.1 แสดงผลการตรวจชนิดฮีโมโกลบินในประชากรชาวกูย บ้านสะเคาหวานจำนวน 55 ราย ...	66
5.2 แสดงผลการตรวจชนิดฮีโมโกลบินในประชากรชาวกูย บ้านสะเคาหวานจำนวน 77 ราย ...	67
5.3 แสดงผลการตรวจชนิดฮีโมโกลบินในประชากรชาวกูย ทั้ง 2 หมู่บ้าน จำนวน 132 ราย.....	67
5.4 แสดงผลการศึกษา β^E -globin gene frameworks ในประชากรชาวกูยบ้านสะเคาหวาน และบ้านตากกลาง	72
5.5 แสดงผลการศึกษา β^E -globin gene frameworks ในประชากรชาวกูย ทั้ง 2 หมู่บ้าน	73
5.6 แสดงความถี่ของ Southeast Asian Type (- -SEA) หรือ α^0 -thalassemia ในประชากร ชาวกูยบ้านสะเคาหวานและบ้านตากกลาง	83
5.7 แสดงความถี่ของ Southeast Asian Type (- -SEA) หรือ α^0 -thalassemia ในประชากร ชาวกูย ทั้ง 2 หมู่บ้าน	84
5.8 แสดงความถี่ของการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินในประชากรชาวกูย บ้านสะเคาหวาน.....	87
5.9 แสดงความถี่ของการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินในประชากรชาวกูย บ้านตากกลาง	87
5.10 แสดงความถี่ของการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินในประชากรชาวกูย ทั้ง 2 หมู่บ้าน	88

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
6.1	
แสดงผลการศึกษา β^E -globin gene frameworks ในประชากรชาวภูษ เปรียบเทียบกับ	
ชนกลุ่มอื่นที่มีรายงานไว้แล้ว.....	95
6.2	
แสดงผลการศึกษาแอสโททโทปของฮีนบีดาอีในประชากรชาวภูษเปรียบเทียบกับ	
เผ่าต่างๆในประเทศไทย.....	97



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูปร่าง

รูปที่	หน้า
2.1	แผนที่หมู่บ้านชาวภูบ้านสะเดาหวาน ตำบลนาภู อำเภอเขวาสีอุราช จังหวัดมหาสารคาม.....
2.2	แสดงแผนที่หมู่บ้านชาวภูบ้านตากวาง ตำบลกระโท อำเภอท่าตูม จังหวัดสุรินทร์7
2.3	แสดงกลุ่มยีนบีตาโกลบิน (β -globin gene cluster)9
2.4	แสดงปริมาณสายโกลบินที่สังเคราะห์ในช่วงอายุก่อนและหลังคลอด9
2.5	แสดงแบบจำลองโครงสร้างของสายบีตาโกลบินของคนปกติ11
2.6	แสดงแบบจำลองโครงสร้างของสายแอลฟาโกลบินของคนปกติ11
2.7	แสดงขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยา PCR17
2.8	โคอะแกรมโครงสร้างของยีนบีตาโกลบิน แสดงชนิด β -globin gene frameworks ที่แตกต่างกันในลำดับนิวคลีโอไทด์22
2.9	แสดงกลุ่มยีนแอลฟาโกลบิน (α -globin gene cluster)26
2.10	แสดงการเรียงลำดับของยีนในกลุ่มแอลฟาโกลบินและขนาดของยีนที่ขาดหายไปแบบ rightward deletion และ leftward deletion และ Southeast Asian Type(- -SEA).....
2.11	แสดงการเกิด uncrossing over ในบริเวณ z-box31
2.12	แสดงการเกิด uncrossing over ในบริเวณ x-box31
4.1	แผนภูมิแสดงขั้นตอนการศึกษาทั้งหมด41
4.2	แผนภูมิแสดงขั้นตอนการเตรียมจีโนมดีเอ็นเอ45
4.3	แผนภูมิแสดงขั้นตอนการตรวจสอบ Hb Pyrgos โดยวิธี ASPCR48
4.4	แผนภูมิแสดงขั้นตอนการศึกษาแฮปโลไทป์ของยีนบีตาโกลบินทั้งหมด50
4.5	แสดงตำแหน่งของ DNA restriction polymorphism ที่ทำการศึกษาภายใน กลุ่มยีนบีตาโกลบิน51
4.6	แผนภูมิแสดงขั้นตอนการตรวจสอบ Southeast Asian Type (- -SEA) โดยวิธี ASPCR58
4.7	แผนภูมิแสดงขั้นตอนการศึกษา Southern blot60
5.1	แสดงผลการตรวจสอบยีน Hb Pyrgos โดยวิธี ASPCR68
5.2	แสดงผลการศึกษาใน <i>Ava</i> II polymorphism ตำแหน่งที่ 670
5.3	แสดงผลการศึกษาใน <i>Bam</i> HI polymorphism ตำแหน่งที่ 771
5.4	แสดงผลการศึกษาใน <i>Hinc</i> II polymorphism ตำแหน่งที่ 174

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่	หน้า
5.5	แสดงผลการศึกษาใน <i>Hind</i> III polymorphism ตำแหน่งที่ 2 75
5.6	แสดงผลการศึกษาใน <i>Hind</i> III polymorphism ตำแหน่งที่ 3 76
5.7	แสดงผลการศึกษาใน <i>Hinc</i> II polymorphism ตำแหน่งที่ 4 77
5.8	แสดงผลการศึกษาใน <i>Hinc</i> II polymorphism ตำแหน่งที่ 5 78
5.9	แสดงผลการศึกษาแอสไปดไทป์ของอินบีดาอี ที่พบในประชากรชาวกูย บ้านตะเคาหวาน 79
5.10	แสดงผลการศึกษาแอสไปดไทป์ของอินบีดาอี ที่พบในประชากรชาวกูย บ้านตากวาง 80
5.11	แสดงผลการศึกษาแอสไปดไทป์ของอินบีดาอี ที่พบในประชากรชาวกูย ทั้ง 2 หมู่บ้าน 81
5.12	แสดงผลการศึกษาแอสไปดไทป์ของอิน Hb Pyrgos 82
5.13	แสดงผลการตรวจสอบรูปแบบการขาดหายไปของอินแอลฟาโกลบิน แบบ (- -SEA) 85
5.14	แสดงตำแหน่ง <i>Bam</i> HI บนแผนที่ยีน และการศึกษารูปแบบการขาดหายไป ของอินแอลฟาโกลบิน แบบ rightward deletion และ leftward deletion 89
5.15	แสดงตำแหน่ง <i>Bgl</i> II บนแผนที่ยีน และการศึกษารูปแบบการขาดหายไป ของอินแอลฟาโกลบิน แบบ rightward deletion และ leftward deletion 91
6.1	แสดงการเกิด crossing over ในบริเวณ hot spot region 98