

ลักษณะแฮปโพลโทปป์ของยีนบีตาอี-โกลบินในชนเผ่าชาไกและชาวซอง



นางสาว เขาวลัษณ์ วิลัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาพฤกษศาสตร์
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2538

ISBN 974-631-123-9

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I16627581

Characteristics of beta E-globin gene haplotypes in Sakai and Chong tribes



Miss Yaovalux Wilai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Botany

Graduate School

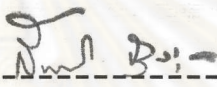
Chulalongkorn University

1995

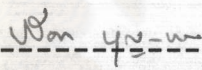
ISBN 974-631-123-9

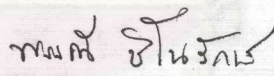
หัวข้อวิทยานิพนธ์ ลักษณะแฮปโพลไทป์ของยีนบีตาอี-ไกลบินในชนเผ่าชาวกะเหรี่ยงและชาวของ
โดย นางสาว เยาวลักษณ์ วิลัย
สาขาวิชา พันธุศาสตร์
ภาควิชา พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ พรรณี ชีโนรักษ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพรรณ พูเจริญ

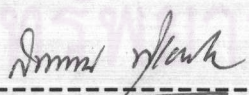
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต



----- คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. สันติ ดุงสุวรรณ)

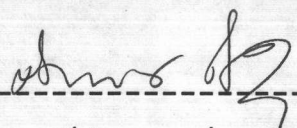
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


----- ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีดา บุญ-หลง)


----- อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ พรรณี ชีโนรักษ์)


----- อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพรรณ พูเจริญ)


----- กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กัญยรัตน์ ไชยสุต)


----- กรรมการ
(อาจารย์ สัมภาษณ์ คุณสุข)



พิมพ์ต้นฉบับบทความวิจัยวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

ยิวลักษณะ วัลย์ : ลักษณะแสบโพลไทป์ของยีนบีตาอี-โกลบินในชนเผ่าซาไกและชาวซอง
(CHARACTERISTICS OF BETA E-GLOBIN GENE HAPLOTYPES IN SAKAI AND
CHONG TRIBES.) อ.ที่ปรึกษา : รศ. พรรณี ชิโนรักษ์ อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ดร. สุพรรณ
ฟูเจริญ, 97 หน้า. ISBN 974-631-123-9

จากการสำรวจชนิดของฮีโมโกลบินโดยวิธีเซลลูโลส อะซีเตท อิเล็กโตรโฟรีซิสในเลือดชนเผ่า
ซาไกที่อาศัยอยู่ในเขตอำเภอปะเหลียน จังหวัดตรัง จำนวน 20 รายตรวจพบฮีโมโกลบินอีชนิดเฮเทอโร-
ไซโกต 1 ราย { $f(\beta^E) = 0.025$ } และในชาวซองที่อยู่ในเขตตำบลคลองพลู อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี
จำนวน 76 ราย ตรวจพบฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกต 29 ราย และชนิดเฮเทอโรไซโกต 33 ราย
{ $f(\beta^E) = 0.589$ } โดยทุกรายที่สุ่มมาให้ผลบวกเมื่อนำมาตรวจหายีนบีตาอีด้วยวิธีเอสพีซีอาร์ และเมื่อ
ศึกษาลักษณะแสบโพลไทป์ในกลุ่มยีนบีตา-โกลบินโดยวิธีพีซีอาร์ พบว่ายีนบีตาอี 1 ยีนที่ตรวจพบในชน
เผ่าซาไกมีแสบโพลไทป์เป็นเฮเทอโรไซโกต จึงบอกได้เพียงว่ายีนบีตาอีในชนเผ่าซาไกนี้มีต้นกำเนิดเดียว
กันกับในชนกลุ่มประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ส่วนในชาวซองนั้นพบว่าเกือบทั้งหมดของยีนบีตาอีอยู่บน
โครโมโซมชนิด FW3 ซึ่งเป็นชนิดที่พบบ่อยในคนเขมร และมีแสบโพลไทป์ 3 แบบคือ $- + - + + \beta^E$
 $- +$, $+ - - - - \beta^E - +$ และ $- + - - - \beta^E - +$ แสดงให้เห็นว่ายีนบีตาอีโกลบินในชาวซองและชาว
เขมรมีต้นกำเนิดเดียวกัน และพบยีนบีตาอีโกลบินจำนวน 2 โครโมโซมเป็นชนิด FW2 ที่มีแสบโพลไทป์
เป็น $+ - - - - \beta^E + -$ ซึ่งอาจเป็นยีนบีตาอีโกลบินที่มาจากคนเขมรส่วนน้อย หรือมาจากคนไทยโดย
การแต่งงานข้ามกลุ่ม นอกจากนี้ยังพบชนิด FW1 อีก 1 โครโมโซมที่มีแสบโพลไทป์เป็น $- + - + + \beta^E$
 $+ +$ ซึ่งน่าจะเป็นยีนบีตาอีที่มีต้นกำเนิดต่างกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา พฤกษศาสตร์
สาขาวิชา พันธุศาสตร์
ปีการศึกษา 2537

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม



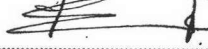
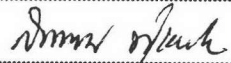
C 525540 : MAJOR GENETICS
KEY WORD: BETA E-GLOBIN GENE / HAPLOTYPES / SAKAI / CHONG

YAOVALUX WILAI : CHARACTERISTICS OF BETA E-GLOBIN GENE HAPLOTYPES IN
SAKAI AND CHONG TRIBES. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. PANNEE CHINORAKSA
AND COADVISOR : ASSIS. PROF. SUPAN FUCHAROEN, Ph.D. 97 pp.
ISBN 974-631-123-9

Hemoglobin screening by cellulose acetate electrophoresis in 20 Sakai individuals inhabited in Palean, Trang province was carried out. One heterozygote for HbE was found { $f(\beta^E) = 0.025$ }. Among 76 Chong individuals inhabited in Tambon Clongplu, Amphur Makharm, Chantaburi province, 29 homozygotes and 33 heterozygotes for HbE were also identified { $f(\beta^E) = 0.589$ }. Some of them had the β^E globin gene mutation when confirmed by ASPCR technique. Haplotype analysis in the beta globin gene cluster demonstrated that the only one β^E gene in Sakai tribe was associated with heterozygote for FW2 or FW3 which is similar to β^E globin gene in Southeast Asians. Most of the β^E globin gene in Chong tribes were associated with FW3 chromosome on 3 different haplotypes ($- + - + + \beta^E - +$, $+ - - - - \beta^E - +$ and $- + - - - \beta^E - +$) which are common among the Khmer population, the result indicating the same origin of β^E globin gene in the two populations. Two chromosomes with haplotype, $+ - - - - \beta^E + -$ which is common among Thai population were also observed. A single β^E globin gene on chromosome with haplotype, $- + - + + \beta^E + +$ was found. This later β^E globin gene may occur as an independent origin.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา..... พฤษศาสตร์
สาขาวิชา..... พันธุศาสตร์
ปีการศึกษา..... 2537

ลายมือชื่อนิสิต..... 
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... พันธุ์ ชินอรaksa
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... 

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลือจากหลายฝ่ายด้วยกัน ผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีรายนามต่อไปนี้

รองศาสตราจารย์พรณี ชีโนรักษ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพรรณ พุเจอร์ณู อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ ของการวิจัยมาด้วยดีตลอด รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีดา บุญ-หลง รองศาสตราจารย์ ดร. กัญยรัตน์ ไชยสุต และอาจารย์สัมภาษณ์ คุณสุข ที่ได้คำแนะนำแก้ไขข้อบกพร่องจนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ผู้ช่วยศาสตราจารย์กุลนภา พุเจอร์ณู ที่ได้ช่วยเหลือ และให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการวิจัย ขอขอบคุณคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่เอื้อเพื่อสถานที่คือห้องวิจัยรวม รวมทั้งวัสดุอุปกรณ์ในการทำการศึกษา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยบางส่วนและขอขอบคุณ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รองศาสตราจารย์ ดร. สุรินทร์ ภูขจร คณะโบราณคดี มหาวิทยาลัยศิลปากรซึ่งเป็นผู้บุกเบิกทำให้ผู้วิจัยสามารถเข้าไปศึกษาชนเผ่าชาวกูไ้ และขอขอบคุณคุณบุญธรรม คุณสุข และกำนันเงิน ผันผายซึ่งทำให้ผู้วิจัยสามารถเข้าไปเก็บตัวอย่างเลือดของชาวชองได้

ขอขอบคุณ คุณเรืองวิทย์ บรรจงรัตน์ คุณรุจิณี ประดิษฐ์พร คุณรสริน พลวัฒน์ และเจ้าหน้าที่พยาบาล โรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ คุณนุสรา โมราสุข และคุณสมพร เรืองสุขศรี ที่ได้ช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างเลือดมาศึกษา

และท้ายสุดนี้ ขอขอบคุณชนเผ่าชาวกูไ้ และชาวชองทุกคนที่ให้ความร่วมมือในการศึกษาวิจัยครั้งนี้



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ฅ
คำอธิบายคำย่อ.....	ฎ
บทที่	
1. บทนำและตรวจสอบเอกสาร.....	1
2. อุปกรณ์และสารเคมี.....	33
3. การเตรียมน้ำยา.....	37
4. วิธีดำเนินการศึกษา.....	44
5. ผลการศึกษา.....	62
6. อภิปรายผลการศึกษา.....	80
7. สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ.....	88
เอกสารอ้างอิง.....	90
ประวัติผู้เขียน.....	97

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 แสดงค่าเปรียบเทียบจำนวนร้อยละของผู้ที่มี HbE ที่สำรวจในประเทศไทย แหล่งต่าง ๆ.....	22
3.1 แสดงค่าคงที่ทางกายภาพของ nucleotide triphosphate.....	41
4.1 แสดงลำดับเบสของไพรเมอร์ในการทำ ASPCR.....	52
4.2 แสดงนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์และตำแหน่งของยีนภายในกลุ่มยีน บีตา-โกลบิน.....	57
4.3 แสดงเอนไซม์ตัดจำเพาะและบัฟเฟอร์สำหรับการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ.....	60
5.1 แสดงผลการตรวจชนิดของฮีโมโกลบินในชาวช่อง.....	64
5.2 แสดงผลการตรวจชนิดของฮีโมโกลบินในชนเผ่าชาวกู.....	64
5.3 แสดงผลการศึกษา β^E -globin gene frameworks ในชาวกูและชาวช่อง.....	70
6.1 แสดงผลการศึกษา β^E -globin gene frameworks ในชาวกูและชาวช่อง เปรียบเทียบกับกลุ่มชนอื่น ๆ	84

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 แผนที่ภาคใต้ของประเทศไทยแสดงที่ตั้ง อ.ปะเหลียน จ.ตรัง.....	7
1.2 กลุ่มชนเผ่าชาไก	8
1.3 แผนที่จังหวัดจันทบุรีแสดงที่ตั้ง ต.คลองพลู อ.มะขาม จ.จันทบุรี	11
1.4 จันทบุรีบางส่วนแสดงพื้นที่ที่ชาวของเคยอาศัยอยู่	13
1.5 ชาวของ ต. คลองพลู อ. มะขาม จ. จันทบุรี	14
1.6 แสดงกลุ่มยีนบีตา-โกลบิน	15
1.7 กราฟแสดงการสังเคราะห์สายโพลีเปปไทด์ชนิดต่าง ๆ ของโมเลกุล ฮีโมโกลบินตามระยะการเจริญเติบโต.....	15
1.8 แสดงหลักการของโพลีเมอเรสเชนรีแอคชั่น	19
1.9 ไดอะแกรมแสดงหลักการของ ASPCR	24
1.10 ไดอะแกรมแสดง β^E -globin gene frameworks.....	27
4.1 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการศึกษา	45
4.2 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการเตรียมจีโนมิก ดีเอ็นเอ	50
4.3 โครงสร้างของยีนบีตา-โกลบิน.....	52
4.4 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการทำ ASPCR	54
4.5 แสดงตำแหน่งของ restriction polymorphism ในกลุ่มยีนบีตา-โกลบิน.....	56
4.6 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการทำพีซีอาร์.....	59
5.1 แสดงผลการตรวจยีนบีตาอีด้วยวิธี ASPCR	66
5.2 แสดงผลการศึกษาใน Ava II polymorphism ตำแหน่งที่ 6.....	68
5.3 แสดงผลการศึกษาใน Bam HI polymorphism ตำแหน่งที่ 7	69
5.4 แสดงผลการศึกษาใน Hinc II polymorphism ตำแหน่งที่ 1.....	72

รูปที่	หน้า
5.5 แสดงผลการศึกษาใน Hind III polymorphism ตำแหน่งที่ 2.....	73
5.6 แสดงผลการศึกษาใน Hind III polymorphism ตำแหน่งที่ 3.....	74
5.7 แสดงผลการศึกษาใน Hinc II polymorphism ตำแหน่งที่ 4.....	75
5.8 แสดงผลการศึกษาใน Hinc II polymorphism ตำแหน่งที่ 5.....	76
5.9 แสดงผลการศึกษา β^E -globin gene haplotypes ในชนเผ่าชาวกู.....	77
5.10 แสดงผลการศึกษา β^E -globin gene haplotypes ในชาวช่อง.....	78
5.11 แสดงผลการศึกษา β^A -globin gene haplotypes ในชาวช่อง.....	79
6.1 พงศาวลีแสดงการถ่ายทอดฮีโมโกลบินในชนเผ่าชาวกู.....	83
6.2 ไดอะแกรมแสดงการเกิด crossing-over ของโครโมโซมที่มี frameworks เหมือนกัน.....	85

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายคำย่อ



ASPCR	Allele Specific Polymerase Chain Reaction
β^E	beta E globin gene
$^{\circ}C$	องศาเซลเซียส
CCl_4	carbontetrachloride
bps	base pairs
dATP	deoxyadenosine triphosphate
dCTP	deoxycytosine triphosphate
dGTP	deoxyguanosine triphosphate
dNTP	deoxyribonucleotide triphosphate
dTTP	deoxythymidine triphosphate
DNA	deoxyribonucleic acid
Dnase	deoxyribonuclease
DEAE	diethylaminoethyl
EDTA	ethylene diamine tetra acetate
FW	DNA frameworks
HCl	hydrochloric acid
Kb	kilobase
KCl	potassium chloride
KCN	potassium cyanide
M	molar
mM	millimolar
μM	micromolar

MgCl ₂	magnesium chloride
mg	microgram
ml	microlitre
NaCl	sodium chloride
O.D.	optical density
PCR	Polymerase Chain Reaction
pmole	picomole
rpm	round per minute
rbc	red blood cell
SDS	sodium dodecyl sulfate
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
wbc	white blood cell
มล.	มิลลิลิตร
มก.	มิลลิกรัม
มม.	มิลลิเมตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย