

Thesis Title            Structural Analysis of Hemoglobin Doi-Suthep I  
                              Found in Association with Beta Thalassemia  
Name                      Mr. Chuchart Areejitranusorn  
Thesis For                Master of Science in Biochemistry  
                              Chiang Mai University 1980

Abstract

During a survey in 1978 for electrophoretically abnormal hemoglobin in the Northern province in Thailand (Chiang Mai). A 15-month old hemolysate showed two abnormal hemoglobin components in alkaline cellulose acetate electrophoresis (pH 9) technique. These variants are Hb Doi-Suthep I which moves slightly faster than Hb S but slower than Hb F and Hb Doi-Suthep II which moves faster than Hb F but slower than Hb A. The relative amount of the abnormal component: Hb Doi-Suthep I and Hb Doi-Suthep II are 69.02% and 6.19% respectively. The hemoglobin chain dissociation by p-chloromercuribenzoate (PCMB) treatment confirmed that Hb Doi-Suthep I was a  $\beta$  chain variant. Hematological studies showed that the propositus, his father and his grandmother were erythrocytosis. The mother is heterozygous for  $\beta$ -thalassemia ( $\alpha$  / total non  $\alpha$  = 1.42, 5.06% Hb A<sub>2</sub>). The father and grandmother are heterozygous for Hb Doi-Suthep (34% Hb Doi-Suthep I and 1% Hb Doi-Suthep II). They can be defined as a  $\beta$  thalassemia due to structural variant. The propo-

-situs is double heterozygous for  $\beta^0$  and  $\beta^+$  thalassemia, ( $\alpha$ / total non  $\alpha$  = 1.57, 6.33% Hb A<sub>2</sub>). Chromosome studies by lymphocyte technique indicated the normal in structure and number of the propositus chromosome. Structural studies by component isolation, globin chain separation, peptide mapping and amino acid analysis of  $\beta$  Doi-Suthep I revealed that it was elongated by 11 residues at the C-terminus and had the same structure as those of Hb Tak. Because the smaller amount of Hb Doi-Suthep II, the structural analysis has not been done at present. Iso-propanol and heat stability test at 60°C indicated that Hb Doi-Suthep I was stable Hb and Hb Doi-Suthep II was unstable Hb. The specific elution pH of Hb Doi-Suthep I and Hb Doi-Suthep II on DEAE-Sephadex column are 7.88 and 7.76 and on CM-Cellulose are 7.10, 7.99 respectively. This is the third Thai family that can be found Hb Tak. The distinct characteristics in this study are as follows: Hb Tak has not been found together with other abnormal hemoglobin before, family studies are completely, some properties, i.e. elution pattern on CM-Cellulose, DEAE-Sephadex and PCMB dissociation of Hb Tak are reported.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ชื่อผู้เขียน

วิทยานิพนธ์

การวิเคราะห์โครงสร้างของฮีโมโกลบิน คอยสุเทพ

ในผู้ป่วย เบตาธาลัสซีเมีย

นาย ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาชีวเคมี

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ๒๕๒๓

บทคัดย่อ

จากการตรวจหาฮีโมโกลบินที่ผิดปกติ ในจังหวัดเชียงใหม่ ในปี พ.ศ. ๒๕๒๒ พบฮีโมโกลบินที่ผิดปกติ ๒ ตัวในเด็กชายไทยอายุ ๑๕ เดือนซึ่งยังไม่เคยมีรายงานเช่นนี้มาก่อน จึงได้ตั้งชื่อฮีโมโกลบินทั้งสองนี้ว่า ฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๑ และ ฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๒ โดยฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๑ อยู่ระหว่างฮีโมโกลบินเอช และฮีโมโกลบินเอฟ ส่วนฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๒ อยู่ระหว่างฮีโมโกลบินเอฟ และฮีโมโกลบินเอ ในอเล็กโตรโฟเรซิสที่พีเอช ๘ เมื่อทำการแยกสายโกลบินออกจากกันด้วย PCMB แล้วนำไปทำอเล็กโตรโฟเรซิส ปรากฏว่าฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๑ มีความผิดปกติในสายเบตา ผลจากการตรวจเลือดพบว่าผู้ป่วยเป็นธาลัสซีเมียชนิด เฮเทอโรโรซีสส์ ซอนระหว่างเบตาศูนย์ และเบตาบวก ( $\alpha / \text{total non } \alpha = ๑.๕๗$ ) โดยได้รับเบตาศูนย์ยีนจากแม่ซึ่งเป็นเฮเทอโรโรซีสส์เบตาศูนย์ ( $\alpha / \text{total non } \alpha = ๑.๔๒$ ) และได้รับเบตาบวกยีนจากพ่อและย่า ซึ่งเป็นเฮเทอโรโรซีสส์เบตาบวกเนื่องจากมี ฮีโมโกลบินที่ผิดปกติ (ฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๑ ๓๔ % และฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๒ ๑ %) นอกจากนี้ยังพบ erythrocytosis ซึ่งต่างจากผู้ป่วยธาลัสซีเมียอื่น ๆ เมื่อแยกฮีโมโกลบินแต่ละตัวออกมาทดสอบเสถียรภาพ ด้วยความร้อนที่ ๖๐° ซ. และ Isopropanol พบว่าฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๑ มีเสถียรภาพต่ำกว่าฮีโมโกลบินเอเล็กน้อย เมื่อนำน้ำเลือดจากผู้ป่วย (hemolysate) ผ่านลงบน

DEAE - Sephadex พบว่าฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๑ ถูกไล่ออกมาที่พีเอช ๙.๘๘ ส่วนฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๒ ถูกไล่ออกมาที่พีเอช ๙.๙๖ แต่เมื่อผ่านน้ำเดือดลงบน CM-Cellulose ฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๑ ถูกไล่ออกมาที่พีเอช ๙.๑๐ และฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๒ ถูกไล่ออกมาที่พีเอช ๙.๑๘ ผลจากการวิเคราะห์โครงสร้าง โดยแยกฮีโมโกลบินที่ผิดปกติออกจากฮีโมโกลบินอื่น ๆ แยกสายเบตาที่ผิดปกติแล้วนำไปทำ Fingerprint และวิเคราะห์องค์ประกอบของอะมิโนเอซิด พบว่าฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๑ มีอะมิโนเอซิดเกินมาที่ปลายคานซี (C-terminal) ๑๑ ตัว ซึ่งเหมือนกับที่พบในฮีโมโกลบินตากล ดังนั้นครอบครัวของผู้ป่วย จึงเป็นครอบครัวไทยครอบครัวที่ ๓ ที่พบฮีโมโกลบินตากล แต่ต่างจากการพบครั้งก่อน ๆ คือพบฮีโมโกลบินตากลร่วมกับฮีโมโกลบินอื่น, ได้ศึกษาบุคคลในครอบครัวของผู้ป่วยอย่างครบถ้วน ตลอดจนคุณสมบัติการเคลื่อนที่ใน DEAE Sephadex และ CM-Cellulose ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน ส่วนฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๒ ยังไม่ได้ทำการวิเคราะห์โครงสร้างในขณะนี้เนื่องจากปริมาณน้อย เนื่องจากแม่ของผู้ป่วยเป็นโคม่าตั้งแต่กำเนิด จึงได้ตรวจโครโมโซมในผู้ป่วยแต่ไม่พบความผิดปกติอย่างใด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright © by Chiang Mai University

All rights reserved