

ชื่อวิทยานิพนธ์	การศึกษายีน Transthyretin ในคนไทย
ผู้เขียน	นางสาวมาลาตี ตาเยะ
สาขาวิชา	ชีวเคมี
ปีการศึกษา	2549

## บทคัดย่อ

Transthyretin (TTR) เป็น 1 ใน 3 ชนิดของ thyroid hormone binding protein ที่พบในพลาสมา และเป็นสาเหตุหลักของ amyloid ที่มีการสะสมอยู่ในระบบประสาท ซึ่งการสะสมดังกล่าวนี้ สามารถก่อให้เกิดกลุ่มอาการของโรคหลายชนิด เช่น familial amyloid polyneuropathy (FAP), familial amyloid cardiomyopathy (FAC) และ senile systemic amyloidosis จากการศึกษาพบว่า TTR mutation มากกว่า 80 ชนิด มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรค ซึ่งความถี่ ชนิด และอาการของโรคที่เกิดขึ้นนั้นจะมีความแตกต่างกันตามเชื้อชาติ อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาความผิดปกติที่เกิดขึ้นบน TTR gene ในประเทศไทย ดังนั้นเพื่อการวินิจฉัยโรคที่ถูกต้อง และได้รับการรักษาที่ถูกต้อง จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทราบชนิดและลักษณะของความผิดปกติของ TTR ที่เกิดขึ้นในคนไทย ในวิทยานิพนธ์นี้ ได้ทำการศึกษาและตรวจหา TTR mutation ในคนไทยจำนวน 96 คน ประกอบด้วย คนปกติจำนวน 48 คน ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม และผู้ป่วยที่มีความบกพร่องทางสติปัญญาจำนวน 48 คน โดยใช้เทคนิค Single-Stranded conformation polymorphism (SSCP) ซึ่งจะนำเม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte และ Lymphoblast มาทำการสกัด Genomic DNA จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณ TTR gene ในส่วนของ exon 2, 3 และ 4 โดยเทคนิค PCR จากผลของการทำ SSCP พบ การเคลื่อนที่ของสาย DNA ที่ได้จากการทำ PCR ในส่วน exon4 ของผู้ป่วยที่มีความบกพร่องทางสติปัญญาคนหนึ่ง ปรากฏ band ของ สาย DNA 2 band ซึ่ง band หนึ่ง จะมีลักษณะการเคลื่อนที่เช่นเดียวกันกับกลุ่มควบคุมและผู้ป่วยคนอื่นๆ ส่วนอีก band หนึ่งนั้นจะมีเคลื่อนที่ที่ช้ากว่า และผลจากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของสาย DNA ดังกล่าว แสดงให้เห็นการเกิด point mutation ชนิดใหม่ โดยเปลี่ยนจาก thymine (T) เป็น cytosine (C) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว จะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนของกรดอะมิโนชนิด leucine เป็น proline บนกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 110 ของโปรตีน TTR จากการสังเคราะห์ recombinant TTR ชนิด Leu110Pro โดยอาศัย recombinant protein expression system ของยีสต์ *Pichia pastoris* พบว่าการเคลื่อนที่ของโปรตีนดังกล่าวบนโพลีอะครีลาไมด์เจลในสภาพธรรมชาติ ที่ pH 8.6 มีลักษณะเช่นเดียวกับการเคลื่อนที่ของ TTR ที่พบในพลาสมาของคน และ TTR ที่สังเคราะห์ขึ้น มีน้ำหนักโมเลกุลของหน่วยย่อยประมาณ 22 กิโลดาลตัน

<b>Thesis Title</b>	Genetic Study of Transthyretin in Thais
<b>Author</b>	Miss Malatee Tayeh
<b>Major Program</b>	Biochemistry
<b>Academic Year</b>	2006

## ABSTRACT

Transthyretin (TTR), one of the three major thyroid hormone binding proteins in plasma, is the main constituent of amyloid that deposits preferentially in peripheral nerve leading to familial amyloid polyneuropathy (FAP), familial amyloid cardiomyopathy (FAC) and senile systemic amyloidosis. More than 80 mutations of TTR have been identified associated to the diseases with frequency and clinical manifestations vary among populations. However, in Thailand, no genetic variation of the TTR gene has been studied so far. To accomplish for relevant diagnosis and specific treatment for Thai people, type and characteristics of TTR mutate distribute in the population is essential. In this thesis, 96 Thai people (48 of controls and 48 of the cases with mental retardation) were screened for mutations of the TTR gene by using the Single-stranded conformation polymorphism (SSCP) technique. Genomic DNAs were purified from lymphocytes and lymphoblasts, and then amplified by PCR for exon 2, 3 and 4. By SSCP method, two rather one band of the exon 4 that amplified from a case with mental retardation was observed. First band had the same mobility as the controls and the other band had lower mobility. The DNA sequencing revealed a novel single point mutation (from T to C) in the nucleotide sequence of the TTR gene, which led to a substitution of leucine at position 110 of the TTR polypeptide by proline (Leu110Pro). The recombinant Leu110Pro was successfully synthesized by using the recombinant protein expression system of *Pichia pastoris*. The protein showed the same mobility on native-PAGE at pH 8.6 to TTR in human plasma, and its subunit mass was about 22.7 kDa.