

ชื่อวิทยานิพนธ์	การวิเคราะห์แฮพโทไทป์ที่ตำแหน่งฟราเอกซ์เอในคนไทยโดยใช้ Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)
ผู้เขียน	นางสาวจันทร์เพ็ญ ธนกิจโกเศรษฐ์
สาขาวิชา	ชีวเวชศาสตร์
ปีการศึกษา	2549

บทคัดย่อ

กลุ่มอาการฟราเจอิลเอกซ์ซินโดรม (fragile X syndrome) เป็นโรคปัญญาอ่อน พันธุกรรมที่พบได้บ่อยที่สุด เด็กไทยเพศชายที่มีพัฒนาการช้าแบบไม่ทราบสาเหตุประมาณร้อยละ 7 จะมีจำนวนซ้ำ CGG เพิ่มขึ้นมากกว่า 200 ซ้ำ รูปแบบของจำนวนซ้ำ CGG ที่พบได้บ่อยในประชากรทั่วไป ได้แก่ จำนวนซ้ำ CGG 29 ซ้ำ ซึ่งพบเป็นร้อยละ 46.8, จำนวนซ้ำ CGG 30 ซ้ำ พบเป็นร้อยละ 31.4 และจำนวนซ้ำ CGG 36 ซ้ำ พบเป็นร้อยละ 9.5 การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความผันแปรของจำนวนซ้ำ (repeat instability) ได้แก่ จำนวนซ้ำ CGG (CGG repeat numbers), แฮพโทไทป์ (haplotype) และรูปแบบของ AGG (AGG interruption pattern) โดยการวิเคราะห์แฮพโทไทป์ในตัวอย่างกลุ่มควบคุมเพศชายที่ไม่มีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันจำนวน 133 ตัวอย่าง และตัวอย่างในกลุ่มผู้ป่วยเพศชายที่ไม่มีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันจำนวน 50 ตัวอย่าง โดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมาย microsatellite (DXS548 และ FRAXAC1) และดีเอ็นเอเครื่องหมาย SNP (WEX5, ATL1, rs25731, IVS10, rs25702 และ rs25723) พร้อมทั้งศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริเวณจำนวนซ้ำ CGG ในตัวอย่างกลุ่มควบคุมเพศชายจำนวน 95 ตัวอย่าง เพื่อตรวจหาจำนวนและตำแหน่งของ AGG ในการศึกษาเมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยแล้ว ไม่พบความแตกต่างของความถี่อัลลีล (allele frequency) และความสัมพันธ์กับแฮพโทไทป์ (haplotype association) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่พบความสัมพันธ์ของจำนวนซ้ำ CGG แฮพโทไทป์ (FRAXAC1-WEX5-ATL1-rs25731-IVS10-rs25702-rs25723) และรูปแบบของ AGG ที่แตกต่างกัน 3 กลุ่ม ได้แก่ จำนวนซ้ำ CGG 29 ซ้ำที่มีรูปแบบของ AGG เป็น 9A9A9 มีความสัมพันธ์กับแฮพโทไทป์ 17-G-G-A-T-A-A (แฮพเอ), จำนวนซ้ำ CGG 30 ซ้ำที่มีรูปแบบของ AGG เป็น 10A9A9 มีความสัมพันธ์กับแฮพโทไทป์ 18-C-A-T-C-G-C (แฮพบี) และจำนวนซ้ำ CGG 36 ซ้ำที่มีรูปแบบของ AGG เป็น 9A9A6A9 มีความสัมพันธ์กับแฮพโทไทป์ 17-C-G-T-T-A-A (แฮพซี) ซึ่งพบแฮพโทไทป์เหล่านี้ในกลุ่มผู้ป่วยเช่นกันโดยไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (พบแฮพเอร้อยละ 38, แฮพบีร้อยละ 36 และแฮพซีร้อยละ 24) นอกจากนี้ตัวอย่างที่มีจำนวนซ้ำ CGG 36 ซ้ำ ทุกตัวอย่างมีแฮพโทไทป์เป็นแบบแฮพเอหรือแฮพซี และตัวอย่างที่มีจำนวนซ้ำ CGG อยู่ในช่วง 37-56 ซ้ำ จำนวนร้อยละ 77 มีแฮพโทไทป์เป็นแบบแฮพเอหรือแฮพซีเช่นกัน ดังนั้นแฮพเอและแฮพซีจึงมีความสัมพันธ์กับจำนวนซ้ำ CGG ที่อยู่ในช่วง 36-56 ซ้ำ จากผลการศึกษาดังนี้ไม่

สามารถพิสูจน์ได้ว่า แสพเอและแสพซีมีความสัมพันธ์ต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนซ้ำ CGG ที่เพิ่มขึ้น (repeat expansion) เพราะไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าวในกลุ่มผู้ป่วย จากการศึกษาเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างแสพโพอีและรูปแบบของ AGG ที่ได้ผลแตกต่างกัน 3 กลุ่มในครั้งนีสามารถบ่งชี้ว่า แสพเอและแสพซีน่าจะมีวิวัฒนาการร่วมกัน เพราะมีแสพโพอีแตกต่างกันที่ตำแหน่งของดีเอ็นเอเครื่องหมาย SNP เพียง 2 ตำแหน่ง คือ WEX5 และ rs25731 อีกทั้งมีรูปแบบของ AGG แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย โดยแสพซีน่าจะเกิดขึ้นมาจากการสอดแทรกของ (CGG)_nAGG เพิ่มขึ้นจากแสพเอ ซึ่งตรงกันข้ามกับแสพเอและแสพบีที่มีความแตกต่างกันที่ตำแหน่งของดีเอ็นเอเครื่องหมาย SNP ในทุก ๆ ตำแหน่ง อีกทั้งรูปแบบของ AGG ในแสพโพอีทั้งสองก็มีความแตกต่างกันด้วย ดังนั้นการศึกษานี้จึงตั้งสมมติฐานเกี่ยวกับรูปแบบในการเกิดความผันแปรของจำนวนซ้ำ เพื่อใช้อธิบายขั้นตอนของการเพิ่มจำนวนซ้ำ โดยรูปแบบดังกล่าวนี้เสนอว่าการเกิดการกลายพันธุ์ของผู้ป่วยกลุ่มอาการนี้ในคนไทยน่าจะเกิดมาจากแสพโพอีทั้งสามแสพโพอีนี้

Thesis Title Haplotype Analysis using Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) at the *FRAXA* locus in Thai Subjects
Author Miss Janpen Thanakitgosate
Major Program Biomedical Sciences
Academic Year 2006

ABSTRACT

Fragile X syndrome is the most common inherited form of mental retardation. Approximately 7% of Thai boys with developmental delay of unknown cause show CGG repeat expansions (>200 repeats). The CGG distribution in the normal Thai population shows the three most common CGG alleles, including 29 repeats (46.8%), 30 repeats (31.4%) and 36 repeats (9.5%). To examine the factors responsible for repeat instability (CGG repeat numbers, haplotype and AGG interruption pattern), we studied the two most investigated microsatellites (DXS548 and FRAXAC1), two reported SNPs from Thai subjects (ATL1 and IVS10) and four additional SNPs (WEX5, rs25731, rs25702 and rs25723) in 133 unrelated normal males and 50 unrelated FXS males for haplotype analysis. Also, we analyzed the CGG repeat region from 95 normal X chromosomes in order to detect the number and position of AGG interruption. No statistically significant differences in both allele frequencies and haplotype associations between the control and FXS groups ($P > 0.05$) were demonstrated. An association among the most common CGG repeat, haplotype (FRAXAC1-WEX5-ATL1-rs25731-IVS10-rs25702-rs25723) and AGG interspersions patterns in three different backgrounds was revealed. The 29 CGG allele with AGG configuration of 9A9A9 (12/17 or 70.6%) was associated with haplotype 17-G-G-A-T-A-A (Hap A). The 30 CGG allele with AGG configuration of 10A9A9 (16/18 or 88.9%) was associated with haplotype 18-C-A-T-C-G-C (Hap B). The 36 CGG allele with AGG configuration of 9A9A6A9 (13/18 or 72.2%) was associated with haplotype 17-C-G-T-T-A-A (Hap C). These common haplotypes in the FXS groups showed no statistically significant difference between controls (38% of Hap A, 36% of Hap B and 24% of Hap C). In addition, all alleles with 36 CGG repeats occurred on Hap A or Hap C and most of the alleles in the 37-56 CGG repeats also occurred on Hap A or Hap C (77%) suggesting that Hap A and Hap C were associated with 36-56 CGG repeats. However, it could not prove that Hap A and Hap C were susceptible to high risk for repeat expansion because of no association observed in the FXS groups. Our finding of the

association among the common CGG repeat, haplotype and AGG patterns in three distinct backgrounds indicated that Hap A and Hap C were evolutionally derived since they had only two SNP marker differences in the haplotype (WEX5 and rs25731) and they had slight differences in AGG organization of (CGG)₆AGG insertion. On the other hand, the distinction between Hap A and Hap B resulted from all marker differences and AGG substructures. Therefore, we hypothesize a model of repeat instability to provide a molecular explanation for multistep repeat expansions predisposing to the disease. This model reveals that the FXS mutation in the Thai population almost always arise from three common haplotype backgrounds.