

Thesis Title Structural Analysis of Hemoglobin Doi-Suthep II
 Found in Association with Beta Thalassemia

Name Miss. Premjai Jarusdumrongnit

Thesis For Master of Science in Biochemistry
 Chiang Mai University 1981.

Abstract

A 2-year old Thai boy who lives in Chiang Mai province was referred to the Hematological Unit of Pediatric Department because of splenomegaly and beta thalassemic disease. His hemolysate showed to have two abnormal hemoglobin variants. These variants are hemoglobin Doi-Suthep I (Hb DSI) or hemoglobin Tak and hemoglobin Doi-Suthep II (Hb DSII). The primary structure of hemoglobin Doi-Suthep II was analysed in this study.

Hemoglobin Doi-Suthep II located between hemoglobin A and hemoglobin F in cellulose acetate electrophoresis at pH 9.0. It was isolated and purified on DEAE-Sephadex column by using the linear gradient of 0.05 M Tris-HCl-KCN buffer between pH 8.2 and pH 6.5. The amount of hemoglobin Doi-Suthep II was about 6 % of total hemoglobin. Globin chain electrophoresis in 6 M urea barbital buffer suggested that hemoglobin Doi-Suthep II may compose of β^A , β^{DSI} and α^A chains. These results agree with globin separation by CM-Cellulose column chromatography in 8 M urea phosphate buffer. Structural analysis by peptide mapping and quantitative detection of amino acid composition indicated that these two β -chains had the same primary structure as that found in β^A and

β^{DSI} respectively and the α -chain was α^A -chain.

The in vitro globin chain synthesis by incubation red blood cells with ^3H -Leucine, globin chain separation and counting total radioactivity of each globin chain of globin Doi-Suthep II showed that β^A and β^{DSI} are nearly equal in amount ($\beta^A/\beta^{DSI} = 0.94$) and the synthetic ratio of each β -chain was a half of α^A -chain ($\alpha^A/\beta^A = 2.10$, $\alpha^A/\beta^{DSI} = 1.98$).

Form these studies indicated that hemoglobin Doi-Suthep II was an asymmetric hemoglobin between β^A and β^{DSI} -or β^{Tak} - chains. The structure formular can be defined as $\alpha_2^A\beta^A\beta^{DSI}$ or $\alpha_2^A\beta^A\beta^{Tak}$ which have never been reported.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การวิเคราะห์โครงสร้างของฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๒
ในผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมีย
ชื่อผู้เขียน นางสาวเปรมใจ จรัสดำรงนิตย์
วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาชีวเคมี
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ๒๕๒๔

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาโครงสร้างปฐมภูมิของฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๒ ซึ่งพบร่วมกับฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๑ (Hb. DSI) หรือฮีโมโกลบินตัก ในผู้ป่วยเด็กไทยอายุ ๒ ปี อาศัยอยู่ในจังหวัดเชียงใหม่ มารับการรักษาที่หน่วยโรคโลหิตวิทยา ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ ด้วยเรื่องมีม้ามโตและเป็นโรคเบต้าธาลัสซีเมีย

ฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๒ เคลื่อนที่อยู่ระหว่างฮีโมโกลบินเอเฟและฮีโมโกลบินเอ บนเซลลูโลสอะซิเตทอีเล็กโตรโฟรีซิสที่พีเอช ๘.๐ และสามารถแยกให้บริสุทธิ์ โดยผ่านน้ำเลือกตลง ใน DEAE-Sephadex A-50 column ใช้ ๐.๐๕ โมลาร์ Tris-HCl-KCN บัฟเฟอร์ไล่แบบ linear gradient ระหว่างพีเอช ๘.๒ และ ๖.๕ พบว่าฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๒ มีประมาทร้อยละ ๖ ของฮีโมโกลบินทั้งหมด เมื่อนำโกลบินบริสุทธิ์ไปตรวจสอบหาความผิดปกติของชนิดของสายโกลบิน โดยวิธีโกลบินอีเล็กโตรโฟรีซิสใน ๖ โมลาร์ยูเรีย บาร์บิทัลบัฟเฟอร์ พีเอช ๘.๔ พบว่า สายเบต้าโกลบินมี ๒ ชนิดในปริมาณเท่า ๆ กัน: อยู่ตรงกับสายเบต้าโกลบินเอ และตรงกับสายเบต้าคอยสุเทพ ๑ นอกไปจากสายแอลฟาซึ่งมีตำแหน่งตรงกับแอลฟาเอ ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับการแยกโกลบินคอยสุเทพ ๒ โดย CM-Cellulose column chromatography ใน ๘ โมลาร์ยูเรีย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ สายเบต้าทั้งสองชนิด เมื่อนำไปวิเคราะห์โครงสร้าง โดยทำ peptide mapping ตรวจสอบปริมาณและชนิดของกรดอะมิโน พบว่าเบต้าโกลบิน ทั้งสองชนิดมีสูตรโครงสร้างปฐมภูมิเป็นแบบ เบต้าเอและเบต้าคอยสุเทพ ๑ ตามลำดับ ส่วนสายแอลฟา เป็นแบบเดียวกับสายแอลฟา เอ

เมื่อนำเลือดผู้ป่วยไปอบกับ ^3H - Leucine แล้วแยกเอาฮีโมโกลบินคอยสุเทพ ๒

ที่บริสุทธิ์ มาตรวจสอบอัตราการสร้างสายโก ล บินโดยวัด total radioactivity ของ
 โกลบินแต่ละสาย พบว่าอัตราส่วนระหว่างเบต้าเอและเบต้าคอสูเทพ ๑ โกล์เดียวกัน (β^A / β^B
 $DSI = ๐.๕๔$) และต่างมีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของการสังเคราะห์สายแอลฟาเอ (α^A / β^A
 $= ๒.๑๐, \alpha^A / \beta^B DSI = ๑.๕๔$)

จากการศึกษาครั้งนี้แสดงว่าฮีโมโกลบินคอสูเทพ ๒ เป็นฮีโมโกลบินอนุผสมไม่สมมาตร
 ระหว่างสายเบต้าเอกับสายเบต้าคอสูเทพ ๑ หรือเบต้าตาก เขียนสูตรโครงสร้างได้เป็น
 $\alpha_2^A \beta^A \beta^B DSI$ หรือ $\alpha_2^A \beta^A \beta^B Tak$ ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved