

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5980205

ชื่อโครงการ: การตรวจวินิจฉัยก่อนและหลังคลอดโรคอัลฟาธาลัสซีเมียโดยวิธี Comparative-high resolution melting analysis และ Asymmetric PCR with unlabeled probe melting analysis

(Pre- and post-natal diagnosis of α -thalassemia using comparative-high resolution melting analysis and asymmetric PCR with unlabeled probe melting analysis)

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน

ดร. ธเนตร ประจันตะเสน คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

อีเมล: thanet.p@psu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

บทคัดย่อ:

อัลฟาธาลัสซีเมียเป็นความผิดปกติของฮีโมโกลบินที่พบได้บ่อยทางพันธุกรรม ซึ่งมีวิธีตรวจหลายวิธี แต่มักมีข้อเสียคือใช้เวลานานและการดำเนินการหลังการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ การศึกษานี้จึงสนใจศึกษาเทคนิคใหม่ Comparative-high resolution melting curve analysis (C-HRM) และ asymmetric PCR with unlabeled probe melting analysis โดย C-HRM ทดสอบในกลุ่มตัวอย่างปกติและผิดปกติของยีนอัลฟาโกลบินจำนวน 143 ตัวอย่างจากการตรวจวินิจฉัยก่อนและหลังคลอด ส่วนเทคนิค asymmetric PCR with unlabeled probe melting analysis ทดสอบในตัวอย่างที่ทราบชนิดการกลายพันธุ์ ผลการศึกษา พบว่าเทคนิค C-HRM ในโรคฮีโมโกลบินบาร์ทไฮโดรอปฟีทาลัส (ขาดหายไปทั้งหมด 4 ยีน) มีค่าเฉลี่ยของสัดส่วนความสูงของ melting curve และค่าพิสัย สอดคล้องกับค่าที่คาดไว้ ส่วนเทคนิค Asymmetric PCR with unlabeled probe melting analysis แสดง HRM profile ของแต่ละจีโนไทป์ แต่ยังคงไม่สามารถแยกจากกันได้ชัดเจน เทคนิค comparative-high resolution melting curve analysis (C-HRM) และ asymmetric PCR with unlabeled probe melting analysis เป็นวิธีที่รวดเร็ว ไม่จำเป็นต้องมีกระบวนการหลังการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องพัฒนาหาสภาวะที่เหมาะสมให้ได้ รวมถึงทดสอบความแม่นยำ การทำซ้ำ และการทวนสอบของวิธีการก่อนนำไปประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการจริง

คำหลัก : อัลฟาธาลัสซีเมีย, ยีนอัลฟาโกลบิน, High resolution melting analysis

Abstract

Project Code : MRG5980205

Project Title : การตรวจวินิจฉัยก่อนและหลังคลอดโรคอัลฟาธาลัสซีเมียโดยวิธี Comparative-high resolution melting analysis และ Asymmetric PCR with unlabeled probe melting analysis

(Pre- and post-natal diagnosis of α -thalassemia using comparative-high resolution melting analysis and asymmetric PCR with unlabeled probe melting analysis)

Investigator : Thanet Prajantasen

E-mail Address : thanet.p@psu.ac.th

Project Period : 2 years

Abstract:

Alpha-thalassemia is the common inherited hemoglobin disorder. The commonly confirmatory test of α – thalassemia in Thailand is Gap-PCR and Allele specific PCR. Although accuracy but these methods are time-consuming, labor-intensive and need post-PCR processing. In this study, we have tested comparative-high resolution melting curve analysis and asymmetric PCR with unlabeled probe melting analysis among various alpha-globin gene defects obtained from pre- and post-natal diagnosis and known alpha-globin gene mutations, respectively. For C-HRM, normalized ratio of homozygous α^0 -thal (4 gene defects) were consistency when compare to expected ratio value. For symmetric PCR with unlabeled probe melting analysis, we demonstrated HRM profiles are still not clearly distinguished in each genotype. However, two methods are relatively simple, rapid, have no post –PCR step, the developing of these methods need further optimization for accuracy, reproducibility and assessment process before applying in routine specimens.

Keywords: alpha-thalassemia, prenatal diagnosis, High resolution melting analysis, Asymmetric PCR, unlabeled probe