การพัฒนาการตรวจวินิจฉัย α^+-thalassemia โดยวิธี relative gene quantification real-time PCR ในงานบริการควบคุมโรคธาลัสซีเมีย

ปริศนา เจริญพร[1], สวิชญาพร เจิมนิ่ม[1], ปวันรัตน์ สวนนุ่ม[1], มณฑิรา จันทร์อิน[1], ชุติกาญจน์ สุทธใจดี[2], ณัฐกานต์ ทรัพย์เมฆ[3], เอกอมร เทพพรหม[1], รวิสุต เดียวอิศเรศ[1], พีระพล วอง[1]

[1]หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมืองพิษณุโลก จังหวัดพิษณุโลก 65000
[2]ภาควิชาชีววิทยาคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวรอำเภอเมืองพิษณุโลกจังหวัดพิษณุโลก 65000
[3]ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา อำเภอเมืองพะเยา จังหวัดพะเยา56000

บทคัดย่อ

α^+-thalassemia(3.7 และ 4.2 kb deletion) เป็น αglobin mutation ที่พบได้บ่อยในประเทศไทย ปัจจุบันได้มีการพัฒนาการตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี relative gene quantification real-time PCR โดยใช้การวิเคราะห์ปริมาณสัดส่วนของยีน ซึ่งคำนวณจากค่า cyclethreshold (Ct) [Delta-Delta (ΔΔ) Ct method] วิธีการดังกล่าวมีความแม่นยำสูง สามารถบอกชนิดของα^+-thalassemiaallele จากค่าสัดส่วนที่คำนวณ ลดภาระงานในการทำ gel electrophoresisการศึกษาชิ้นนี้ทำการพัฒนาการตรวจวินิจฉัย α^+-thalassemia โดยวิธี relative gene quantification real-time PCRเพื่อนำมาใช้ในงานบริการของหน่วยวิจัยธาลัสซีเมียศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร โดยเปรียบเทียบกับวิธี conventional gap-PCRทำการคัดเลือกตัวอย่าง α^+-thalassemiaและตัวอย่างปกติ (wild type) ที่ผ่านการตรวจด้วยวิธี conventional gap-PCR รวม50 ตัวอย่างแบ่งเป็น α^+-thalassemia 12 ตัวอย่าง (3.7 kb deletion heterozygote 8 ตัวอย่าง, 3.7 kb deletion homozygote 3ตัวอย่าง, 4.2 kb deletion heterozygote 1 ตัวอย่าง) และตัวอย่างปกติ 38 ตัวอย่างนำมาตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี relative gene quantification real-time PCR จากการศึกษาพบว่าวิธีการดังกล่าวให้ผลการวินิจฉัย α^+-thalassemia ตรงกัน 9 ตัวอย่าง(sensitivity ร้อยละ75)และให้ผลปกติตรงกัน 16 ตัวอย่าง (specificity ร้อยละ42) ทั้งนี้เนื่องจากการตรวจด้วยวิธีrelative gene quantification real-time PCR จำเป็นต้องได้ตัวอย่างที่มีระดับความเข้มข้นของ DNA ที่เหมาะสม หากตัวอย่างที่ตรวจมีระดับความเข้มข้นของ DNA น้อยเกินไปจะทำให้ค่า Ct ที่ได้มีความคลาดเคลื่อนสูง และผลการคำนวณจากค่า Ct ที่ได้ไม่ตรงตามสัดส่วนที่กำหนดทำให้ไม่สามารถอ่านผลได้ในหลายตัวอย่าง จำเป็นต้องอาศัยผู้ที่มีความชำนาญในการปฏิบัติงาน ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยα^+-thalassemiaด้วยวิธี relative gene quantification real-time PCR จึงยังต้องการการพัฒนาและปรับปรุงเพิ่มเติมหากต้องการนำมาใช้ในงานบริการ

คำสำคัญ:α^+-thalassemia, Relative gene quantification real-time PCR, Conventional gap-PCR