



## โครงการวิจัยเรื่อง การตรวจวินิจฉัยแอลฟาธาลัสซีเมียชนิดที่มีการขาดหายไปของยีน ด้วยเทคนิค 4- deletion multiplex PCR (Diagnosis of deletion type of $\alpha$ -thalassemia with 4-deletion multiplex PCR)

สำนักหอสมุด

ภายใต้แผนงานวิจัย การควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียในจังหวัดพิษณุโลก

### บทคัดย่อ

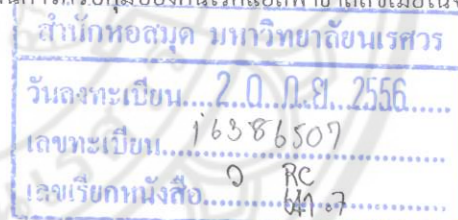
แอลฟาธาลัสซีเมียเป็นโรคทางพันธุกรรมที่พบมากในประเทศไทย ชนิดที่มีความรุนแรงคือ แอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ซึ่งเกิดการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินชนิด Southeast Asian (SEA) และ Thai deletion นอกจากนี้ยังมีแอลฟาธาลัสซีเมีย 2 ซึ่งความรุนแรงของโรคไม่มากเท่าชนิดแรกเกิดจากการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินชนิด-3.7 kb และ -4.2 kb ซึ่งการตรวจวินิจฉัยโรคแอลฟาธาลัสซีเมียของโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวรด้วยเทคนิค gap PCR นั้นเป็นการตรวจเฉพาะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ซึ่งเกิดจากการขาดหายไปของยีนชนิด SEA และ THAI deletion เท่านั้น หากผู้ที่มารับการตรวจมียีนของแอลฟาธาลัสซีเมียชนิดอื่นอาจนำไปสู่การตรวจวินิจฉัยที่ผิดพลาดได้ คณะผู้วิจัยจึงได้พัฒนาเทคนิคที่สามารถตรวจหายีนแอลฟาธาลัสซีเมียชนิดที่มีการขาดหายไปของยีนทั้ง 4 ชนิดในการตรวจเพียงครั้งเดียว (4-deletion multiplex PCR) ได้แก่ แอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ( $\alpha$ -thal 1) ชนิด SEA, THAI deletion แอลฟาธาลัสซีเมีย ( $\alpha$ -thal 2) ชนิด -3.7 kb และ -4.2 kb deletion ซึ่งครอบคลุมชนิดของการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินที่พบได้ในประชากรจังหวัดพิษณุโลก โดยได้นำมาตรวจวินิจฉัยผู้ที่มารับการตรวจโรคธาลัสซีเมียจำนวน 10 ราย พบว่า เทคนิค 4-deletion multiplex PCR ให้ผลการตรวจวินิจฉัยที่ถูกต้องเหมือนกับการใช้วิธีการตรวจวินิจฉัยโดยใช้เทคนิคแบบเดิม แต่สามารถลดค่าใช้จ่าย และระยะเวลาในการตรวจหาชนิดของโรคแอลฟาธาลัสซีเมียชนิดที่มีการขาดหายไปของยีนได้ โดยคณะผู้วิจัยมีแผนที่จะนำเทคนิคดังกล่าวมาตรวจวินิจฉัยในประชากรพิษณุโลกในจำนวนอีก 100 ราย เพื่อประเมินและทดสอบประสิทธิภาพของเทคนิค รวมทั้งเก็บข้อมูลความชุกของชนิดแอลฟาธาลัสซีเมียในพื้นที่ดังกล่าวเพื่อใช้ในการวางแผนการควบคุมป้องกันโรคแอลฟาธาลัสซีเมียในจังหวัดพิษณุโลกต่อไป

คำสำคัญ: การตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด โรคแอลฟาธาลัสซีเมีย

### Abstract

$\alpha$ -Thalassemia is the common genetic disease in Thailand. The cause of  $\alpha$ -thalassemia is the deletion of  $\alpha$ -globin gene. Southeast Asian (SEA) and THAI deletion types caused the most severe  $\alpha$ -thalassemia 1 and deletion sizes 3.7 kb and 4.2 kb caused  $\alpha$ -thalassemia 2. For  $\alpha$ -thalassemia diagnosis at Naresuan University Hospital, gap PCR technique was used to detect only  $\alpha$ -thalassemia 1, SEA and THAI deletion. This protocol did not cover  $\alpha$ -thalassemia 2 that might cause misdiagnosis. We developed the technique to detect 4  $\alpha$  -globin gene deletions ( $\alpha$ -thalassemia 1: SEA, THAI types and  $\alpha$ -thalassemia 2: -3.7 kb, -4.2 kb) found in Phitsaulok population so called 4-deletion multiplex PCR. We tested this technique in known 10 samples from Naresuan University and found that it concordant to the conventional technique. This technique is accurate, efficient, less time-consuming and save the cost in  $\alpha$ -thalassemia diagnosis. We planned to tested and evaluated deletions types in 100 Phitsanulok samples. Moreover, these data could be valuable for prevention plan and control of  $\alpha$ -thalassemia disease in Phitsanulok province.

Keywords:  $\alpha$ -thalassemia diagnosis, 4-deletion multiplex PCR



## บทนำ

ธาลัสซีเมียเป็นโรคทางพันธุกรรมที่พบมากในประเทศไทย เกิดจากการสังเคราะห์สายโกลบินที่ผิดปกติโดยยีนแอลฟาโกลบินและยีนบีตาโกลบินทำหน้าที่ในการสังเคราะห์โกลบิน หากเกิดความผิดปกติบนยีนแอลฟาโกลบิน เรียกว่า แอลฟาธาลัสซีเมีย ซึ่งมี 2 ชนิดคือ แอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ( $\alpha$ -thal 1) และ แอลฟาธาลัสซีเมีย 2 ( $\alpha$ -thal 2) เกิดจากการขาดหายไปของแอลฟาโกลบินยีนชนิด Southeast Asian (SEA) และ THAI deletions

แอลฟาธาลัสซีเมียเป็นโรคทางพันธุกรรมที่พบมากในประเทศไทย ชนิดที่มีความรุนแรงคือ แอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ซึ่งเกิดการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินชนิด Southeast Asian (SEA) และ THAI deletions นอกจากนี้ยังมีแอลฟาธาลัสซีเมีย 2 ซึ่งความรุนแรงของโรคไม่มากเท่าชนิดแรก เกิดจากการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินชนิด -3.7 kb และ -4.2 kb ซึ่งการตรวจวินิจฉัยโรคแอลฟาธาลัสซีเมียของโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวรด้วยเทคนิค gap PCR นั้นเป็นการตรวจเฉพาะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ซึ่งเกิดจากการขาดหายไปของยีนชนิด SEA และ THAI deletion เท่านั้น หากผู้ที่มารับการตรวจมียีนของแอลฟาธาลัสซีเมียชนิดอื่นอาจนำไปสู่การตรวจวินิจฉัยที่ผิดพลาดได้ คณะผู้วิจัยจึงได้พัฒนาเทคนิคที่สามารถตรวจหายีนแอลฟาธาลัสซีเมียชนิดที่มีการขาดหายของยีนทั้ง 4 ชนิดในการตรวจเพียงครั้งเดียว (4-deletion multiplex PCR) ได้แก่ แอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ( $\alpha$ -thal 1) ชนิด SEA, THAI deletion แอลฟาธาลัสซีเมีย 2 ( $\alpha$ -thal 2) ชนิด -3.7 kb และ -4.2 kb deletion ซึ่งครอบคลุมชนิดของการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินที่พบได้ในประชากรไทย โดยได้นำมาตรวจวินิจฉัยผู้ที่มารับการตรวจโรคธาลัสซีเมียจำนวน 10 ราย พบว่า เทคนิค 4-deletion multiplex PCR ให้ผลการตรวจวินิจฉัยที่ถูกต้องเหมือนกับการใช้วิธีการตรวจวินิจฉัยโดยใช้เทคนิคแบบเดิม แต่สามารถลดค่าใช้จ่ายและระยะเวลาในการตรวจหาชนิดของโรคแอลฟาธาลัสซีเมียชนิดที่มีการขาดหายของยีนได้ จึงสามารถนำมาใช้ตรวจวินิจฉัยโรคแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 และ 2 ที่พบมากในประชากรในจังหวัดพิษณุโลก

## วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

การพัฒนาเทคนิค 4-deletion multiplex PCR เริ่มจากการหาสภาวะที่เหมาะสมของ deletion ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ แอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ( $\alpha$ -thal 1) ชนิด SEA, THAI deletions และแอลฟาธาลัสซีเมีย 2 ( $\alpha$ -thal 2) ชนิด -3.7 kb, -4.2 kb deletions ด้วยดีเอ็นเอที่ทราบชนิดของ deletion (positive control) จากโครงการวิจัยธาลัสซีเมีย มหาวิทยาลัยมหิดล และประเมินประสิทธิภาพโดยการนำเทคนิคนี้มาตรวจวินิจฉัยในตัวอย่างดีเอ็นเอที่ทราบชนิดของ deletion จำนวน 10 รายจากหน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร มหาวิทยาลัยนเรศวร

### 1. การสกัดดีเอ็นเอ

นำตัวอย่างเลือดที่ได้จากโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร มาสกัดดีเอ็นเอด้วย Chelex® method โดยเติม lysis buffer 1 มิลลิลิตรลงในตัวอย่างเลือด 30 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ตูดสารละลายส่วนบนทิ้ง เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งแล้ว

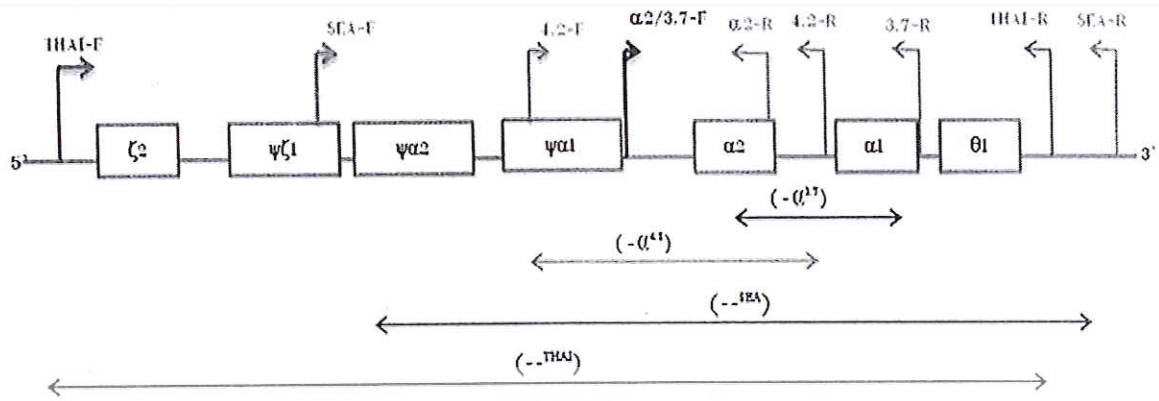
ดูดสารละลายทิ้ง เติมสารละลาย 5% Chelex<sup>®</sup> ให้ท่วมตะกอน จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 56°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายดีเอ็นเอที่ได้เพื่อใช้หาสภาวะที่เหมาะสม และการทดสอบประสิทธิภาพของเทคนิคนี้

## 2. การหาสภาวะที่เหมาะสมของ 4-deletion multiplex PCR

เตรียมสารละลายต่างๆ ที่ใช้ในการทำ 4-deletion multiplex PCR ดังนี้ 200  $\mu$ M dNTPs, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.25 U Taq DNA Polymerase (QIAGEN, Germany), Q-solution, 200-500  $\mu$ g DNA และ  $\alpha$ -thalassemia primers สำหรับการตรวจ deletion ทั้ง 4 ชนิดจำนวน 9 เส้น โดยลำดับนิวคลีโอไทด์และความเข้มข้นที่ใช้ดังแสดงในตารางที่ 1 รูปที่ 1 แสดงตำแหน่งที่ไพรเมอร์ทั้ง 9 เส้นวางบริเวณยีนแอลฟา โกลบิน จากนั้นนำไปตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิค gap PCR โดยเริ่มจากอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้ Taq DNA Polymerase อยู่ในสภาพพร้อมทำหน้าที่ จากนั้นจึงเข้าสู่รอบของการทำ gap PCR โดย denaturation ที่อุณหภูมิ 98 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 30 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 15 วินาที จำนวน 35 รอบ และเพิ่ม extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นจึงนำมาตรวจวินิจฉัยด้วย 1.5 % อะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส ที่ 120 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที

ตารางที่ 1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ทั้ง 9 เส้น ที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยแอลฟาธาลัสซีเมียทั้ง 4 ชนิด (ปรับปรุงจาก Tan et al., 2001)

ไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'→3')	ตำแหน่ง	ความเข้มข้น
$\alpha$ 2/3.7	CCC CTC GCC AAG TCC ACC C	HUMHBA4:5676→ 5694	5 pmol
3.7-R	AAA GCA CTC TAG GGT CCA GCG	HUMHBA4:11514→ 11494	5 pmol
$\alpha$ 2-R	AGA CCA GGA AGG GCC GGT G	HUMHBA4:7475→ 7457	5 pmol
4.2-F	GGT TTA CCC ATG TGG TGC CTC	HUMHBA4:3064→ 3084	12.5 pmol
4.2-R	CCC GTT GGA TCT TCT CAT CAT TTC CC	HUMHBA4:8942→ 8920	12.5 pmol
SEA-F	CGA TCT GGG CTC TGT GTT CTC	HSGG1:26120→26140	5 pmol
SEA-R	AGC CCA CGT TGT GTT CAT GGC	HSCOS12:3817→3797	5 pmol
THAI-F	GAC CAT TCC TCA GCG TGG GTG	HSGG1:9592→9612	7.5 pmol
THAI-R	CAA GTG GGC TGA GCC CTT GAG	HSCOS12:1241→1221	7.5 pmol



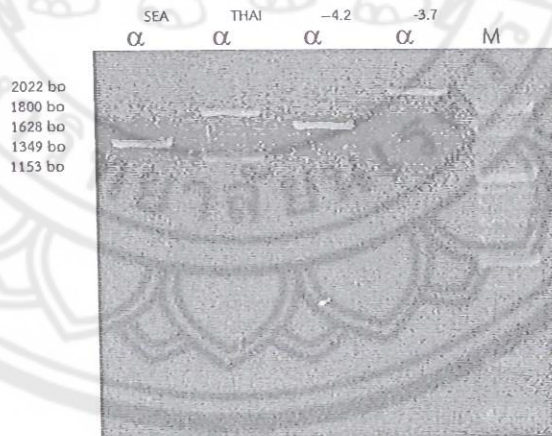
รูปที่ 1 แผนผังของยีนแอลฟาโกลบินและตำแหน่งของไพรเมอร์ แต่ละชนิดที่สามารถจับกับยีนแอลฟาโกลบินในบริเวณที่แตกต่างกัน เครื่องหมาย  $\rightarrow$  และ  $\leftarrow$  แสดงตำแหน่งที่ไพรเมอร์แต่ละชนิดจับกับยีนแอลฟาโกลบิน เครื่องหมาย  $\leftrightarrow$  แสดงบริเวณที่มีการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินในแอลฟาธาลัสซีเมียทั้ง 4 ชนิด

### 3. การประเมินประสิทธิภาพของเทคนิค 4-deletion multiplex PCR

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมจึงทดสอบหาความแม่นยำของเทคนิคนี้ในตัวอย่างดีเอ็นเอที่ทราบชนิดของแอลฟาธาลัสซีเมียแล้วจำนวน 10 ตัวอย่าง และประเมินประสิทธิภาพของเทคนิคนี้โดยเปรียบเทียบผลการตรวจวินิจฉัยกับเทคนิค gap PCR ของหน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยรัตนนคร

#### ผลการศึกษา

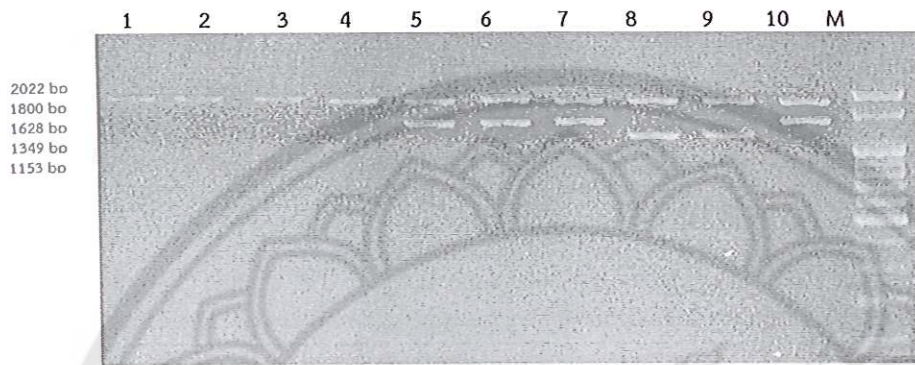
การตรวจวินิจฉัยหาชนิดของแอลฟาธาลัสซีเมียด้วยเทคนิค 4-deletion multiplex PCR สามารถแปลผลการตรวจวินิจฉัยได้ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดงผลการตรวจวินิจฉัยแอลฟาธาลัสซีเมียทั้ง 4 ชนิด (4-deletion  $\alpha$ -thalassemia) แถวที่ 1 เป็นผลของผู้ที่เป็นโฮโมซัยกัสแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิด SEA deletion ( $\alpha^{SEA}$ ) ให้ดีเอ็นเอขนาด 1349 คู่เบส แถวที่ 2 เป็นผลของผู้ที่เป็นเฮเทอโรซัยกัสแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิด THAI deletion ( $\alpha^{THAI}$ ) มีดีเอ็นเอ 2 ขนาดคือ 1800 คู่เบสซึ่งเป็นขนาดของดีเอ็นเอที่เป็นปกติ และ 1153 คู่เบสสำหรับ THAI deletion แถวที่ 3 เป็นผลของผู้ที่เป็นโฮโมซัยกัสแอลฟาธาลัสซีเมีย 2 ชนิดที่มีการขาดหายไปของแอลฟาอินขนาด 4.2 กิโลเบส ( $\alpha^{-4.2}$ ) ให้ดีเอ็นเอขนาด 1628 คู่เบส แถวที่ 4 เป็นผลของผู้ที่เป็นโฮโมซัยกัสแอลฟาธาลัสซีเมีย 2 ชนิดที่มีการขาดหายไปของแอลฟาอินขนาด 3.7 กิโลเบส ( $\alpha^{-3.7}$ ) ให้ดีเอ็นเอขนาด 2022 คู่เบส ส่วน M คือ 1 kb DNA ladder (Vivantis)



จากการตรวจวินิจฉัยแอลฟาธาลัสซีเมียในผู้ที่มารับการตรวจวินิจฉัยแอลฟาธาลัสซีเมีย ที่หน่วย  
วิจัยธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนครสวรรค์จำนวน 10 ราย ด้วยเทคนิค 4-deletion multiplex PCR  
พบว่าให้ผลการตรวจที่ตรงกัน คือพบผู้ที่ เป็นเฮเทอโรซัยกัสแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิด SEA deletion  
( $\alpha^{SEA}$ ) จำนวน 4 ราย (40%) เฮเทอโรซัยกัสแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิด THAI deletion ( $\alpha^{THAI}$ ) จำนวน 2  
ราย (20%) และ เป็นผู้ที่ไม่มียีนแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 จำนวน 4 ราย (40%) ผลการตรวจด้วยเทคนิค 4-  
deletion multiplex PCR ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 แสดงผลการตรวจวินิจฉัยแอลฟาธาลัสซีเมียด้วยเทคนิค 4-deletion multiplex PCR โดยผู้ที่มารับการตรวจหมายเลข 1-4  
ให้ผลการตรวจเป็นปกติ ไม่มียีนแอลฟาธาลัสซีเมีย ให้ดีเอ็นเอขนาด 1800 คู่เบส หมายเลขที่ 5-7 และ 10 ให้ผลการตรวจเป็นเฮเทอโรซัยกัส  
แอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิด SEA deletion ( $\alpha^{SEA}$ ) ซึ่งให้ดีเอ็นเอขนาด 1800 คู่เบสและ 1349 คู่เบส ส่วนหมายเลขที่ 8 และ 9 พบว่าเป็นเฮเทอโร  
ซัยกัสแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิด THAI deletion ( $\alpha^{THAI}$ ) ซึ่งให้ดีเอ็นเอขนาด 1800 คู่เบสและ 1153 คู่เบส ส่วน M คือ 1 kb DNA Ladder  
(Vivantis)

### อภิปรายผลการศึกษา

ในการหาสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค 4-deletion multiplex PCR นี้พบว่าจำเป็นต้องใส่สาร  
adjuvant เช่น DMSO, betaine ซึ่งในที่นี้คือ Q-solution (QIAGEN, Germany) ร่วมด้วยเนื่องจากไพรเมอร์  
ที่ใช้ตรวจวินิจฉัยแอลฟาโกลบินยีนเป็น GC-rich จึงต้องใช้ adjuvant ในสภาวะดังกล่าว

นอกจากนี้ในการตรวจวินิจฉัยแอลฟาธาลัสซีเมียในผู้ที่มารับการตรวจที่โรงพยาบาลมหาวิทยาลัย  
นครสวรรค์พบว่าให้ผลตรงกับ การตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี gap PCR ของหน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย โรงพยาบาล  
มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ พบว่าแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิด SEA deletion เป็นชนิดที่พบมากที่สุด (0.4%)  
รองลงมาคือ THAI deletion (0.2%) และไม่พบแอลฟาธาลัสซีเมีย 2 ชนิด 3.7 kb และ 4.2 kb deletions  
ในตัวอย่างจำนวน 10 ราย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wong *et al.*, 2004 ที่จะพบเฉพาะแอลฟาธาลัสซี  
เมีย 1 ในประชากรพืชนุโลก แต่เนื่องจากจำนวนตัวอย่างที่นำมาตรวจวินิจฉัยมีจำนวนน้อยเกินไป จึงต้อง  
ดำเนินการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิค 4-deletion multiplex PCR เพิ่มเติมจึงจะสามารถสรุปผลได้สมบูรณ์  
อย่างไรก็ดีการตรวจวินิจฉัยแอลฟาธาลัสซีเมียด้วยเทคนิคนี้สามารถนำไปใช้ตรวจในเขตพื้นที่อื่นๆ ในประเทศ  
ไทยได้ เพราะสามารถตรวจได้ทั้งแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 และแอลฟาธาลัสซีเมีย 2 เนื่องจากการอพยพย้ายถิ่น  
ของประชากรไทยและชาวต่างชาติในประเทศไทย ทำให้การตรวจวินิจฉัยที่ครอบคลุมแอลฟาธาลัสซีเมียทั้ง 2  
ชนิด จะสามารถควบคุมและป้องกันการเกิดโรคของประชากรในจังหวัดพืชนุโลกได้อย่างมีประสิทธิภาพ

## สรุปผลการวิจัย

เทคนิคการตรวจวินิจฉัยแอลฟาธาลัสซีเมียด้วยเทคนิค 4-deletion multiplex PCR เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพ รวดเร็วและประหยัดค่าใช้จ่าย เนื่องจากเป็นการตรวจที่ครอบคลุมการตรวจวินิจฉัยแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 และ 2 ซึ่งเป็นชนิดการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบิน ทั้ง 4 ชนิดคือ แอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ( $\alpha$ -thal 1) ชนิด SEA และ THAI deletions แอลฟาธาลัสซีเมีย 2 ( $\alpha$ -thal 2) ชนิดที่มีการขาดหายของยีนแอลฟาขนาด -3.7 kb และ -4.2 kb ที่พบมากในประเทศไทย สามารถนำไปใช้ได้ในทุกพื้นที่ของประเทศไทยและประเทศข้างเคียงบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ขอขอบคุณ ดร.หม่อมหลวงเสาวรส สวัสดิวัฒน์ หัวหน้าโครงการวิจัยธาลัสซีเมีย สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหิดล ที่เอื้อเฟื้อไพรเมอร์และดีเอ็นเอที่ใช้ในการพัฒนาเทคนิคและทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสม ขอขอบคุณหน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างเลือดเพื่อใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของเทคนิคนี้

## เอกสารอ้างอิง

- Bhat, V., Dewan, K.K., Krishnaswamy, P.R. (2010). The diagnosis of  $\alpha$ -thalassemia: A case of hemoglobin H - $\alpha^{3.7}$  deletion. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*,24,435-440.
- Chong, S.S., Boekm, C.D., Cutting, G. R., Higgs, D.R. (2000). Simplified multiplex-PCR diagnosis of common Southeast Asian deletional determinants of  $\alpha$ -thalassemia. *Clinical Chemistry*,46,1692-1695.
- Chong, S.S., Boehm, C.D., Higgs, D.R., Cutting, G.R. (2000). Single-tube multiplex-PCR screen for common deletional determinants of alpha-thalassemia. *Blood*,95,360-62.
- Eng, B., Patterson, M., Borys, S., Chui, D.H.K., Waye, J.S. (2000). PCR-based diagnosis of the Filipino ( $--^{FIL}$ ) and thai ( $--^{THAI}$ )  $\alpha$ -thalassemia-1 deletions. *American Journal of Hematology*,63,54-56.
- Ko, T.M., Tseng, L.H., Kao, C.H., Lin, Y.W., Hwa, H.L., Hsu, P.M., et al. (1998). Molecular characterization and PCR diagnosis of Thailand deletion of  $\alpha$ -globin gene cluster. *American Journal of Hematology*,57,124-130.
- Liu, Y.T., Old, J.M., Miles, K., Fischer, C.A., Weatherall, D.J., Clegg, J.B. (2000). Rapid detection of alpha thalassemia deletions and alpha-globin gene triplication by multiplex polymerase chain reaction. *British Journal of Haematology*,108,295-99.
- Wong, P., Thanomrat, P., Srithipayawan, S., Jermnim, N., Niyomthom, S., Nimnuch, N., et al. (2006). Risk of a couple having a child with severe thalassemia syndrome; prevalence



in lower northern Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medical Public Health*,37,1-4.

19 ก.ค. 2556

สำนักหอสมุด

- Pornprasert, S., Phusua, A., Suanta, S., Sawtung, R., Sanguansermsri, T. (2008). Detection of alpha-thalassemia-1 Southeast Asian type using real-time gap-PCR with SYBR green1 and high resolution melting analysis. *European Journal of Hematology*,80,510-514.
- Prathomtanapong, P., Pornprasert, S., Phusua, A., Suanta, S., Saetung, R, Sanguansermsri, T. (2008) Detection and identification of  $\beta$ -thalassemia 3.5 kb deletion by SYBR green 1 and high resolution melting analysis. *European Journal of Hematology*,82,159-160.
- Pravatmuang, P., Tiloklurs, M., Suannum, M., Chaipat, C. (1995). Phitsanulok population: the highest incidence of hemoglobin E in the northern provinces of Thailand and PND counseling. *Southeast Asian Journal of Tropical Medical Public Health*, 26 suppl 1,266-70.
- Shaji, R.V., Eunice, S.E., baidya, S., Srivastava, A., Chandy, M. (2003). Determination of the breakpoint and molecular diagnosis of a common  $\alpha$ -thalassemia-1 deletion in the Indian population. *British Journal of Hematology*,123,942-947.
- Tan, A.C., Quah, T.C., Low, P.S., Chong, S.C. (2000). A rapid and reliable 7-deletion multiplex polymerase chain reaction assay for  $\alpha$ -thalassemia. *Blood*,98,250-251.
- Wong, P., Thanomrat, P., Srithipayawan, S., Taytiwat, P., Jernnim, N., Niyomthom, S., et al. (2004). Prevalence of thalassemia trait from screening program in pregnant women of Phitsanulok. *Thai Journal Hematology Transfusion Medicine*,14,181-86.



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และ มูลนิธิโรครังสีวิทยาแห่งชาติสวช.แห่งประเทศไทย  
ขอมอบเกียรติบัตรฉบับนี้เพื่อแสดงว่าการนำเสนอผลงานวิชาการแบบโปสเตอร์  
เรื่อง การตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดแอลฟาธาลัสซีเมียด้วยเทคนิค single-tube multiplex PCR

โดย คุณสายศิริ มีระเสน และคณะ  
ได้รับรางวัลผลงานวิชาการดีเด่น

เนื่องในการประชุมสัมมนาวิชาการธาลัสซีเมียแห่งชาติ ครั้งที่ ๑๘ ประจำปี พ.ศ. ๒๕๕๕

“คุณภาพ คุณธรรม คุณค่า”  
ระหว่างวันที่ ๑๑-๑๓ กรกฎาคม ๒๕๕๕  
ณ โรงแรมริชมอนด์ จ.นนทบุรี

นายแพทย์บุญชัย สมบูรณ์สุข  
อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ศาสตราจารย์เกียรติคุณแพทยหญิงคุณหญิงสุดสาคร ฐิติจินดา  
ประธานมูลนิธิโรครังสีวิทยาแห่งชาติสวช.แห่งประเทศไทย