สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ชนิดการกลายพันธุ์ และความถี่ ของยีนบีตาธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทย และประเทศใกล้เคียง 1

ตารางที่ 2 ลำดับเบสและคุณสมบัติของ ASO- probes 6

ตารางที่ 3 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอของตัวอย่างบีตาธาลัสซีเมีย 9

ตารางที่ 4 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บน้ำยาแต่ละชนิด 14

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบวิธีการตรวจมิวเตชั่นของยีนบีตาธาลัสซีเมียที่ใช้อยู่ในปัจจุบันกับวิธีที่พัฒนาขึ้นในการวิจัยนี้ 16

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 ไดอะแกรมแสดงตำแหน่งของการกลายพันธุ์ที่ตรวจพบในประเทศไทย 1

รูปที่ 2 แสดงตำแหน่งของ primers RDB1, RDB2, RDB3 และ RDB4 บนบีตา โกลบินยีน และแสดงขนาดของ PCR ที่เกิดจาก primers ทั้ง 2 ชุด คือ ขนาด 774 เบส จาก primers RDB1 และ RDB2 และ 574 เบส จาก primers RDB3 และ RDB4 5

รูปที่ 3 ภาพถ่ายเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Thermal cycler) ของบริษัทไบโอแรด ที่ใช้ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ 6

รูปที่ 4 การทำปฏิกิริยา hybridization โดยนำ ASO-probe strip ใส่ใน plastic tray 8

รูปที่ 5 แสดงเครื่องมือที่ใช้ทำ Agarose gel electrophoresis 12

รูปที่ 6 แสดงผลพีซีอาร์ของ primers RDB1, RDB2, RDB3 และ RDB4 หลังจากทำ agarose gel electrophoresis และย้อมด้วย ethidium bromide ขนาดของ PCR ที่เกิดจาก primers ทั้ง 2 ชุด คือ ขนาด 774 เบส จาก primers RDB1 และ RDB2 และ 574 เบส จาก primers RDB3 และ RDB4 12

รูปที่ 7 แสดงภาพถ่ายจากผล reverse dot blot strips ในแต่ละ strip มี probes ที่จำเพาะสำหรับ mutations ต่างๆ 17 ชนิด โดยแถวบนเป็น normal probe และแถวล่างเป็น mutant probe ของ mutation ชนิดนั้นๆ จากรูปเป็นผลจากดีเอ็นเอผู้ป่วยที่เป็น mutation ที่ตำแหน่ง 3 และ 6 [ตำแหน่งที่ 1 คือ -30(T-C), 2 คือ -28(A-G), 3 คือ -29(A-G), 4 คือ cod 8-9(+G), 5 คือ cod 15(G-A), 6 คือ cod 17(A-T), 7 คือ cod 19(A-G), 8 คือ cod 26(G-A), 9 คือ cod 27-28(+C), 10 คือ IVS1#1 (G-T), 11 คือ IVS1#5 (G-C), 12 คือ cod 35 (C-A), 13 คือ Cod 41(-C), 14 คือ cod 41-42 (-TCTT), 15 คือ cod 43 (G-T), 16 คือ cod 71-72 (+A), และตำแหน่งที่ 17 คือ IVS2#654 (C-T)] 13

รูปที่ 8 แสดงภาพถ่ายจากผล reverse dot blot strips ในแต่ละ strip มี probes ที่จำเพาะสำหรับ mutations ต่างๆ 17 ชนิด โดยแถวบนเป็น normal probe และแถวล่างเป็น mutant probe ของ mutation ชนิดนั้นๆ จากรูปเป็นผลจากดีเอ็นเอผู้ป่วยที่เป็น mutation ที่ตำแหน่ง 8 และ 17 [ตำแหน่งที่ 1 คือ -30(T-C), 2 คือ -28(A-G), 3 คือ -29(A-G), 4 คือ cod 8-9(+G), 5 คือ cod 15(G-A), 6 คือ cod 17(A-T), 7 คือ cod 19(A-G), 8 คือ cod 26(G-A), 9 คือ cod 27-28(+C), 10 คือ IVS1#1 (G-T), 11 คือ IVS1#5 (G-C), 12 คือ cod 35 (C-A), 13 คือ Cod 41(-C), 14 คือ cod 41-42 (-TCTT), 15 คือ cod 43 (G-T), 16 คือ cod 71-72 (+A), และตำแหน่งที่ 17 คือ IVS2#654 (C-T)] 13

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	4
วิธีดำเนินการวิจัย	
1. หลักการของวิธีการทดสอบ	5
2. การเตรียมตัวอย่าง	5
3. วิธีทดสอบ	6
4. การเตรียมชุดตรวจ	8
ผลการวิจัย	
1. ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ	9
2. การออกแบบและสั่งสร้าง ASO primers และ ASO probes	11
3. ผลการทำ reverse dot blot hybridization	12
4. การทดสอบความคงทนของชุดน้ำยา	13
ข้อวิจารณ์และข้อเสนอแนะ	14
เอกสารอ้างอิง	17

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ASO	Allele-specific oligonucleotide
bp	Basepair
CD, cod	Codon
DNA	Deoxyribonucleic acid
Hb	Hemoglobin
I, IVS	Intervening sequence
PCR	Polymerasechain reaction
RDB	Reverse dot blot hybridization
Tm	Melting temperature