20th HA National Forum

เตรียม positive control DNA สำหรับการตรวจวินิจฉัยระดับโมเลกุล ของโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว ชนิด Acute lymphoblastic leukemia (ALL)

ปริญญา ประสงค์ดี , ปิยวรรณ คำแสน

งานห้องปฏิบัติการเวชศาสตร์ชันสูตร รพ.ศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Srinagarind Excellent Laboratory (SEL)

บทนำ

การตรวจวินิจฉัยระดับโมเลกุลในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวมีความสำคัญมากในการจำแนกผู้ป่วยตามการพยากรณ์โรค โดยสามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่มที่สำคัญ คือ 1) กลุ่ม good prognosis กลุ่มนี้สามารถให้ยาที่เหมาะสม และมีโอกาสหายจากโรคสูง และยังสามารถลด side effect จากยาเคมีบำบัดได้ 2) กลุ่ม bad prognosis กลุ่มนี้จำเป็นต้องให้ยาในระดับที่จำเพาะมากขึ้น ในปัจจุบันการตรวจวิเคราะห์ดังกล่าวยังไม่สามารถเปิดให้บริการในโรงพยาบาลทั่วไปได้ เนื่องจากต้องอาศัยเครื่องมือที่จำเพาะ และมีราคาสูง นอกจากนี้ positive control DNA ของ จีน TEL-AML1 , BCR-ABL(p190) , MLL-AF4 ที่เป็นตัวบ่งชี้ถึงการพยากรณ์โรคทั้ง good prognosis และ bad prognosis ยังคงต้องอาศัย cell line ซึ่งมีราคาสูง ผู้ศึกษาจึงได้ cloning กลุ่มจีนดังกล่าว เพื่อใช้เป็น positive control ในระบบการตรวจวิเคราะห์ซึ่งจำเป็นต้องตรวจควบคู่ไปกับการตรวจตัวอย่างจากผู้ป่วย ตามหลักการควบคุมคุณภาพ ISO15189/90 นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็น Standard source สำหรับการพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ Multiplex qPCR (TaqMan probe) ต่อไปได้

วิธีการศึกษา

- จัดทำสำเนา DNA ของจีน TEL-AML1 , BCR-ABL(p190) , MLL-AF4 โดยการ Cloning ขึ้นมา โดยมีค่าใช้จ่ายทั้งหมดเท่ากับ 5,000 บาท ซึ่งถูกกว่าการ จัดซื้อ Cell line ซึ่งมีราคา 100,000 บาท
- ใช้สำเนา DNA ในแต่ละจีน สำหรับเป็น Positive Control ในการตรวจวินิจฉัย และพยากรณ์โรคจากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย ตามข้อกำหนดมาตรฐาน ISO 15189/90
- ใช้สำเนา DNA ในแต่ละจีน เป็น Standard source สำหรับการพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ Multiplex qPCR (TaqMan probe) ต่อไปได้

ผลการศึกษา

สร้างสาย DNA สำหรับใช้เป็น Positive control ของจีน **TEL-AML1 , BCR-ABL(p190) , MLL-AF4** สำหรับการวินิจฉัยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด ALL ด้วยหลักการ Polymerase Chain Reaction (PCR) ซึ่งมีประโยชน์ต่างๆ ดังนี้

- สามารถลดค่าใช้จ่ายในการจัดซื้อ Cell line สำหรับเป็น Positive Control ในห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยระดับชีวโมเลกุลทางการแพทย์ราว 100,000 บาทต่อปี
- สามารถใช้เป็น Standard source สำหรับการพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ Multiplex qPCR (TaqMan probe) ต่อไป
- สามารถเตรียมเป็น External Quality Control Provider ในการตรวจวินิจฉัยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด ALL และชนิด AML หรับหรับห้องปฏิบัติการอื่นๆ

สรุปผลการศึกษา

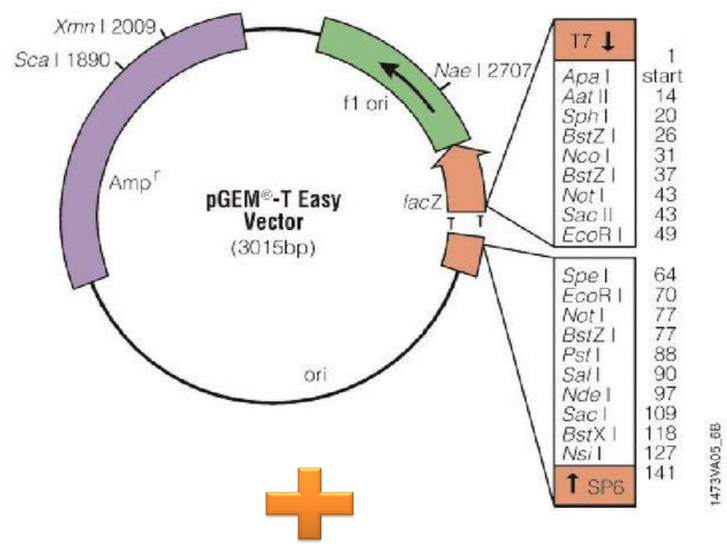
การวัดผลและผลของการเปลี่ยนแปลง :

- ห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยระดับชีวโมเลกุลทางการแพทย์มีสำเนา DNA ในแต่ละจีนสำหรับเป็น Positive Control ในการตรวจวินิจฉัย และพยากรณ์โรค ALL จากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย ตามข้อกำหนดมาตรฐาน ISO 15189/90

บทเรียนที่ได้รับ :

- สามารถประยุกต์ใช้องค์ความรู้ระดับชีวโมเลกุลในการเตรียม DNA สำหรับเป็น Positive Control ซึ่งเป็นประโยชน์กับห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุลอื่นๆ
- ยกระดับศักยภาพของห้องปฏิบัติการระดับชีวโมเลกุลสู่การเป้น External Quality Control Provider

Project diagram



298 bp of TEL-AML1 | 521 bp of BCR-ABL(p190) | 427 bp of MLL-AF4

(Abnormal genes were amplified from cancer patients)

Cloning process

298 bp of TEL-AML1 | 521 bp of BCR-ABL(p190) | 427 bp of MLL-AF4

