

**DETECTION OF GENE AMPLIFICATION ON CHROMOSOME
6q23-24 IN BREAST CANCER BY HYBRIDIZATION PROBE
REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION**

APINPORN KULASAKPAKANUN

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(TROPICAL MEDICINE)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2006**

**ISBN 974-04-7745-3
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

การตรวจวัดปริมาณยีนบนโครโมโซม 6q23-24 ในมะเร็งเต้านมโดยวิธีไฮบริไดซ์เซนชันโพรบ
เรียลไทม์ พีซีอาร์ (DETECTION OF GENE AMPLIFICATION ON CHROMOSOME
6q23-24 IN BREAST CANCER BY HYBRIDIZATION PROBE REAL-TIME
POLYMERASE CHAIN REACTION)

นางสาวอภิสิทธิ์พร กุลศักดิ์ภักคณันท์ 4437553 TMTM/M

วท.ม. (อายุรศาสตร์เขตร้อน)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ทรงศักดิ์ เพ็ชรมิตร, Ph.D. (BIOCHEM), พรทิพย์ เพ็ชรมิตร
, Ph.D. (BIOCHEM), ไพบุลย์ ปุญญฤทธิ, (M.D., Dip. Amer. Board of Anat. & Clin.
Path)

บทคัดย่อ

มะเร็งเต้านม เป็นมะเร็งที่พบบ่อยในสตรีไทย ปัจจุบันได้พัฒนาเทคนิคการตรวจการเพิ่ม
จำนวนดีเอ็นเอบนโครโมโซม 6q23-24 ในมะเร็งเต้านมเพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ในระดับอนุชีววิทยา
โดยใช้วิธีการตรวจการขยายยีนในสภาพที่เป็นจริงและวัดปริมาณการเรืองแสงที่ไปจับกับดีเอ็นเอที่
เพิ่มปริมาณ (SYBR Green I real-time PCR) อย่างไรก็ดีตามวิธีการนี้มีข้อด้อยตรงที่สารเรือง
แสงสามารถจับกับดีเอ็นเอทุกชนิดที่เพิ่มปริมาณขึ้นในปฏิกิริยา รวมทั้งดีเอ็นเอที่เกิดจากปฏิกิริยา
ไพรเมอร์-ไดเมอร์ ทำให้การวัดปริมาณอาจคลาดเคลื่อนได้

วัตถุประสงค์ในการวิจัยนี้จึงทำการตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอบริเวณโครโมโซม 6q23-24 ใน
มะเร็งเต้านมโดยวิธีการขยายยีนในสภาพที่เป็นจริงและวัดปริมาณด้วยวิธีไฮบริไดซ์เซนชันโพรบ
เรียลไทม์ พีซีอาร์ (Hybridization probe real-time PCR) โดยออกแบบโพรบที่จำเพาะกับดีเอ็น
เอที่จะตรวจบริเวณโครโมโซม 6q23-24 และศึกษาเปรียบเทียบความไวต่อปฏิกิริยา (Sensitivity)
และความจำเพาะ (Specificity) ระหว่างวิธีทั้งสองชนิดดังกล่าว พบว่าความไวต่อปฏิกิริยาของวิธี
การใช้สารเรืองแสงเท่ากับ 43.75% สูงกว่าวิธีไฮบริไดซ์เซนชันโพรบ (31.25%) แต่ความจำเพาะ
ของทั้งสองวิธีเท่ากันคือ 88.88% อย่างไรก็ดีตามค่าใช้จ่ายในการวัดโดยใช้ไฮบริไดซ์เซนชันโพรบสูง
กว่าแบบใช้สารเรืองแสง วิธีการตรวจการขยายยีนในสภาพที่เป็นจริงและวัดปริมาณการเรืองแสง
เหมาะสมที่จะใช้ในการวัดปริมาณดีเอ็นเอที่เปลี่ยนแปลงในโรคมะเร็ง

DETECTION OF GENE AMPLIFICATION ON CHROMOSOME 6q23-24 IN BREAST CANCER BY HYBRIDIZATION PROBE REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION

APINPORN KULASAKPAKANUN 4437553 TMTM/M

M.Sc. (TROPICAL MEDICINE)

THESIS ADVISORS : SONGSAK PETMITR, Ph.D., PORNTIP PETMITR, Ph.D., COL. PHAIBUL PUNYARIT M.D., Dip. Amer. Board of Anat. & Clin. Path

ABSTRACT

Breast cancer is one of the most common malignancies among Thai women. Recently, DNA amplification on chromosome 6q23-24 was used for the identification of breast cancer using SYBR Green I real-time PCR (RT-PCR). However, the disadvantage of SYBR Green I is this fluorescent dye binds to all double-stranded DNA, including primer-dimer, which that may result in quantitation errors. Alternatively, hybridization probe RT-PCR assay allows a highly specific quantitation.

The aim of this study was to design the primers and probes specific to the amplified DNA sequence on chromosome 6q23-24, and their use to detect DNA alteration on chromosome 6q23-24 in breast cancer by hybridization probe RT-PCR methods.

The sensitivity and specificity of this method was validated by comparison with the SYBR Green I real-time PCR.

These methods were successfully applied to determine the gene amplification copy number on chromosome 6q23-24. The two compatible methods are based on absolute and relative quantification.

The sensitivity and specificity of these methods were determined from by absolute quantitative method. The sensitivity of SYBR Green I was 43.75%, higher than hybridization probe (31.25%), but the specificity of the two methods was similar, at 88.88%. However, the cost of the hybridization probe method was higher than SYBR Green I. The results showed that SYBR Green I may be appropriate for quantitative determination of DNA alteration in cancer research.

KEY WORDS: REAL-TIME PCR / ABSOLUTE AND RELATIVE QUANTIFICATION / CHROMOCOME 6q23-24

83 P. ISBN 974-04-7745-3