



RAPID DETECTION OF BCR/ABL FUSION GENE  
IN PHILADELPHIA CHROMOSOME

RAPEEPAN ANEKVORAPONG

*๐*

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE  
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY

1996

TH  
R2169  
1996

อภินันท์นาถาร

๑๓

ชื่อวิทยานิพนธ์	การตรวจหายีนลูกผสม <i>bcr/abl</i> ในโครโมโซม ฟีลาเดลเฟีย โดยวิธีรวดเร็ว
ผู้วิจัย	รพีพรรณ อนเภาวพงศ์
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	วิสุทธิ์ ไบไม้, Ph.D. บุษบา ฤกษ์อำนาจโชค, Ph.D. สุจินดา ธนะภูมิ, Ph.D.
วันที่สำเร็จการศึกษา	20 ธันวาคม พ.ศ. 2539

#### บทคัดย่อ

ยีนลูกผสม *bcr/abl* เป็นยีนที่เกิดจากการแลกเปลี่ยนท่อนของโครโมโซมคู่ที่ 9 กับ 22 ที่บริเวณยีน *bcr* และ *c-abl* ทำให้เกิดโครโมโซมแท่งที่ 22 ที่ผิดปกติ เรียกว่าโครโมโซมฟีลาเดลเฟีย . ซึ่งพบมากในโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด chronic myelogeneous leukemia โดยยีนลูกผสมนี้สามารถถ่ายทอดรหัสอาร์เอ็นเอ ของยีน *bcr/abl* ที่จำเพาะต่อมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดนี้ได้ เพื่อการวินิจฉัยโรคนี้จึงได้มีการพัฒนาวิธีการ reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) เพื่อวิเคราะห์หาอาร์เอ็นเอเข้ารหัส *bcr/abl* ซึ่งมีความไว และจำเพาะมากกว่าวิธีการวิเคราะห์โครโมโซม แต่วิธีนี้ต้องมีการยืนยันโดยวิธีไฮบริโดเซชันซึ่งมีความจำเพาะแต่ต้องใช้เวลาในการทดลองนี้จึงมีการพัฒนาวิธีการ seminested polymerase chain reaction (seminested PCR) ขึ้นเพื่อเพิ่มความไวและความจำเพาะแก่วิธี RT-PCR โดยไม่ต้องผ่านการยืนยันโดยวิธีไฮบริโดเซชัน จากการพัฒนาโดยการหาสภาวะที่เหมาะสมต่างๆ และทำการตรวจวิเคราะห์ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด chronic myelogeneous leukemia จำนวน 53 ราย เป็นผู้ป่วยที่พบว่ามีโครโมโซมฟีลาเดลเฟีย 37 ราย และ ไม่พบ 16 ราย การวิเคราะห์โดยวิธี RT-PCR สามารถตรวจพบอาร์เอ็นเอเข้ารหัส *bcr/abl* 29 ราย จาก 37 ราย คิดเป็น 78.37% และ *bcr/abl* 37 ราย จาก

37 ราย คิดเป็น 100% ในผู้ป่วยที่ไม่พบโครโมโซมฟีลาเดลเฟีย 16 ราย การวิเคราะห์โดยวิธี RT-PCR สามารถตรวจพบอาร์เอ็นเอเข้ารหัส *bcr/abl* 2 ราย จาก 16 ราย คิดเป็น 12.50% และวิธี seminested PCR สามารถตรวจพบอาร์เอ็นเอเข้ารหัส *bcr/abl* 3 ราย จาก 16 ราย คิดเป็น 18.75% ทุกรายทำการทดสอบยืนยันผลโดยวิธีไฮบริโดเซชันได้ผลบวก ดังนั้นวิธี seminested PCR เป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะมากกว่าวิธี RT-PCR และมีความจำเพาะเทียบได้กับวิธีไฮบริโดเซชัน ทั้งประหยัดเวลาและลดขั้นตอนนับว่าเป็นวิธีที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในงานบริการแก่ผู้ป่วย

Thesis Title                      Rapid Detection of *bcr/abl* Fusion Gene in  
   Philadelphia Chromosome

Name                                      Rapeepan Anekvorapong

Degree                                    Master of Science (Environmental Biology)

Thesis Supervisory Committee

   Visut Baimai, Ph.D.

   Budsaba Rerkamnuaychoke, Ph.D.

   Sujinda Thanaphum, Ph.D.

Date of Graduation              20 December B.E. 2539 (1996)

#### ABSTRACT

*bcr/abl* gene occurs from reciprocal translocation of *bcr* and *c-abl* gene on chromosome 9 and 22. The abnormal chromosome 22 is called Philadelphia chromosome. It is the cytogenetic hallmark of chronic myelogenous leukemia. The Philadelphia translocation, t(9;22), fuses the *bcr* and *abl* genes resulting in the expression of leukemia-specific, chimeric *bcr/abl* mRNAs. To facilitate diagnosis of these leukemias, the reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) were developed to detect the chimeric *bcr/abl* mRNAs. Diagnosis of CML by this procedure is rapid and much more sensitive than cytogenetic technique. However, this procedure has to be confirmed with specific probe hybridization which is more specific to chimeric *bcr/abl* mRNA breakpoint region but take more time. In this experiment, seminested polymerase chain reaction (seminested

PCR) was developed to increase sensitivity and specificity for RT-PCR. The optimal conditions of seminested PCR were evaluated. The cytogenetic analysis of 53 CML patients showed 37 cases of Philadelphia positive and 16 cases of Philadelphia negative. All of samples were analysed in parallel through RT-PCR, seminested PCR, and specific probe hybridization. 29 from 37 cases (78.37%) were positive for *bcr/abl* mRNA by RT-PCR, 37 from 37 cases (100%) were positive by seminested PCR. In 16 cases of Philadelphia chromosome negative, 2 cases (12.50%) were positive by RT-PCR and 3 cases (18.75%) were positive by seminested PCR. Confirmation by specific probe hybridization showed absolute correlation with seminested PCR. The seminested PCR is the most powerful method for the molecular diagnosis of CML which is rapid, sensitive, and specific. This technique is appropriate for routine diagnosis.