

Thesis Title	Application of Flow-based Technique for Screening Some Types of Thalassemia
Author	Miss Boonraksa Srisawang
Degree	Master of Science (Chemistry)
Thesis Advisor	Dr. Supaporn Kradtap

ABSTRACT

A flow injection (FI) - reduced volume column system was developed for hemoglobin typing. The column was packed with 140 μL diethylaminoethyl (DEAE) -Sephadex A-50 anion exchange beads. Different types of hemoglobin (Hb) were separated using Tris-HCl buffer solution with pH gradient 8.5-6.5 and were monitored spectrophotometrically at 415 nm. The hemolysate of 40 blood samples from packed cells were screened for thalassemia by determination of the relative amount of HbA₂ and HbE to total amount of Hbs. The proposed system was able to predict the positive test results from the samples with β , E-trait and EE homozygous thalassemia. Advantages of the proposed system over the conventional microcolumn technique include low amount of reagents and blood sample used, short analysis time and low cost. Each analysis required only 80 μL of 50 times diluted packed cells and it can be completed in only 35 min. This simple FI - reduced volume column system was demonstrated that it could be an economic alternative system for hemoglobin typing.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author expresses her profound gratitude and is greatly indebted to her advisor, Dr. Supaporn Kradtap for her valuable guidance, kind suggestion and encouragement throughout this work. The author is sincerely grateful to Associate Professor Dr. Prachya Kongtawelert, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Associate Professor Dr. Kate Grudpan, Dr. Jaroon Jakmune and Dr. Somchai Lapanantnoppakhun, Department of Chemistry, Faculty of Science, Chiang Mai University for their valuable comments, guidance and discussion. The author also thanks Professor Dr. Torpong Sa-nguanserm Sri, from Thalassemia Research Laboratories, Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital, Chiang Mai University for his valuable comments and guidance.

The author gratefully acknowledges the Postgraduate Education and Research Program in Chemistry (PERCH) for granting and awarding her full scholarship throughout the study. The author thanks the Thailand Research Fund (TRF) and the Department of Chemistry, Faculty of Science, Chiang Mai University for their supports. The author also thanks Ms. Kullaya Payu and Ms. Rattika Saetung from Thalassemia Research Laboratories, Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital, Chiang Mai University for blood samples and comparison of diagnosis results.

Finally, the author wishes to thank her parents, aunts, uncle and brother for their continuous hearty encouragement and generous concern. The sincere thanks extend to all her friends at the Flow Based Analysis Group for their suggestions and assistance.

Boonraksa Srisawang

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การประยุกต์เทคนิคการไหล เพื่อคัดกรองโรคโลหิตจาง
ธาลัสซีเมียบางชนิด

ผู้เขียน นางสาวบุญรักษา ศรีสว่าง

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร. สุภาภรณ์ ทรัพย์

บทคัดย่อ

ระบบ โฟลอินเจกชัน โดยใช้คอลัมน์ขนาดเล็ก ได้ถูกพัฒนาขึ้น เพื่อแยกชนิดของ ฮีโมโกลบิน คอลัมน์นี้ใช้ 140 ไมโครลิตร ของไดเอทิลอะมิโนเอทิล เซฟาเด็กซ์เอ 50 เป็นตัวแลกเปลี่ยนประจุลบ บรรจุในคอลัมน์ ฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ สามารถถูกแยกจากกันโดยใช้สารละลาย บัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอริก ที่พีเอชแกเรเดียนท์ 8.5-6.5 และ ตรวจวัดโดยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ 415 นาโนเมตร ได้ใช้ตัวอย่างเลือด 40 ตัวอย่าง เพื่อการคัดกรองผู้ป่วยโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียโดยหาปริมาณสัมพัทธ์ของฮีโมโกลบินเอ 2 และ อี เทียบกับปริมาณฮีโมโกลบินทั้งหมด แล้ว พบว่าเทคนิคที่ได้พัฒนาขึ้น สามารถบอกความแตกต่างระหว่างคนปกติ กับผู้ป่วย เบต้า-ธาลัสซีเมีย พาหะฮีโมโกลบินอี และฮีโมโกลบินอี โฮโมไซกัสได้ ข้อได้เปรียบของเทคนิคที่ได้พัฒนาขึ้นมีข้อดีกว่าเทคนิคคอลัมน์ขนาดเล็ก ระบบที่ใช้ยูเคิม คือ ใช้ปริมาณสารเคมีและสารตัวอย่างน้อย ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น และราคาประหยัด ในการวิเคราะห์แต่ละครั้ง ใช้เลือดตัวอย่างเพียง 80 ไมโครลิตร (ซึ่งเจาะแล้ว 50 เท่า) เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์สั้น เพียง 35 นาที ระบบโฟลอินเจกชัน-คอลัมน์ขนาดเล็กที่พัฒนาขึ้นนี้ จึงอาจใช้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการหาชนิดและปริมาณของฮีโมโกลบินได้