



Chẩn đoán phân tử và Phòng ngừa Thalassemia ở Singapore

TS.Samuel S. Chong

Khoa Nhi, Trường Y Dược Yong Loo Lin,
Đại học Quốc gia Singapore

Trung tâm chẩn đoán phân tử, Khoa Thí Nghiệm Y khoa,
Hệ thống sức khỏe Đại học Quốc gia
Trung tâm chẩn đoán phân tử, Viện Y học Nhi ,
Hệ thống sức khỏe Đại học Quốc gia

Thalassemia

- Các bệnh di truyền đơn gen phổ biến nhất – lặn.
- Phổ biến nhất: α - and β - thalassemia.
- Những khiếm khuyết di truyền gây ra suy giảm tổng hợp các chuỗi globin: α - và β -globin.
- Xuất phát từ một từ Hy Lạp ($\theta\alpha\lambda\alpha\sigma\sigma\alpha$) - “biển”, nguồn gốc từ Địa Trung Hải.
- Phân bố tập trung ở Địa Trung Hải, Trung Đông, tiểu lục địa Ấn Độ và Đông Nam Á.
- Liên quan đến một loạt những biểu hiện lâm sàng.
 - α -thalassemia - Hb Bart's: Thai chết lưu.
 - β -thalassemia – trưởng thành: truyền máu tùy mức độ thiếu máu.
- Khiếm khuyết phân tử đi từ đột biến điểm đến mất đoạn.

α -Thalassemia

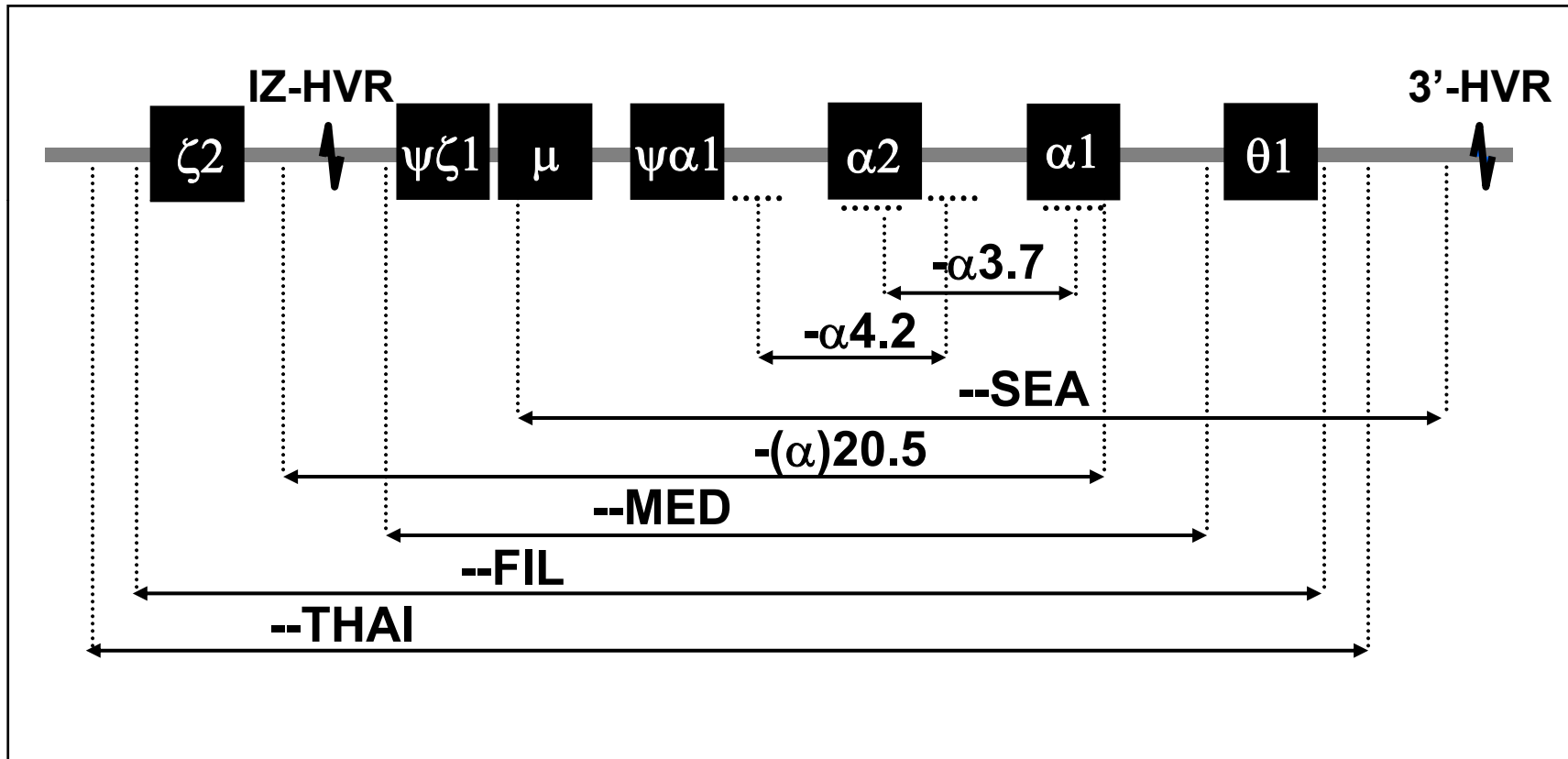
- α -thalassemia

- Sai hỏng trên cụm gen α -globin trên NST 16p13.3

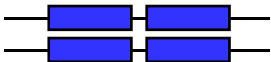
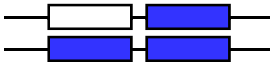
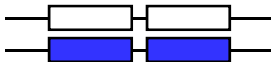
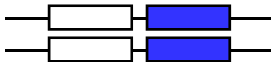
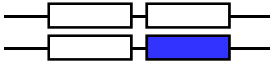
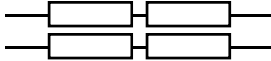


- Phổ biến nhất do mất đoạn trên một hay tất cả các gen α -globin (*HBA2*/ α_2 globin và *HBA1*/ α_1 globin), và đôi khi trên gen *HBZ* (ζ globin).
- Đột biến điểm không phổ biến.

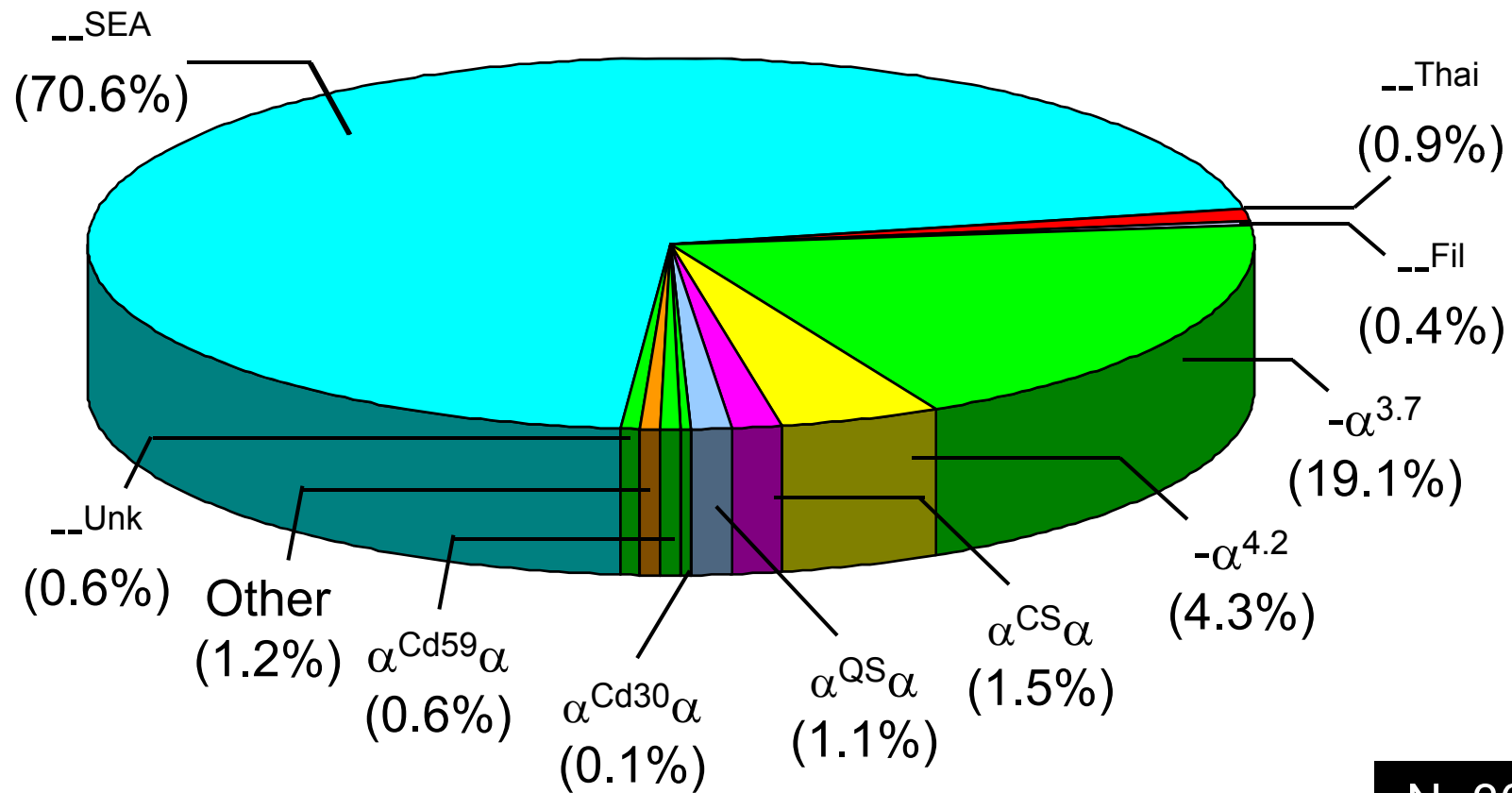
Những mất đoạn α -Thalassemia phổ biến



Quan hệ kiểu hình – kiểu gen

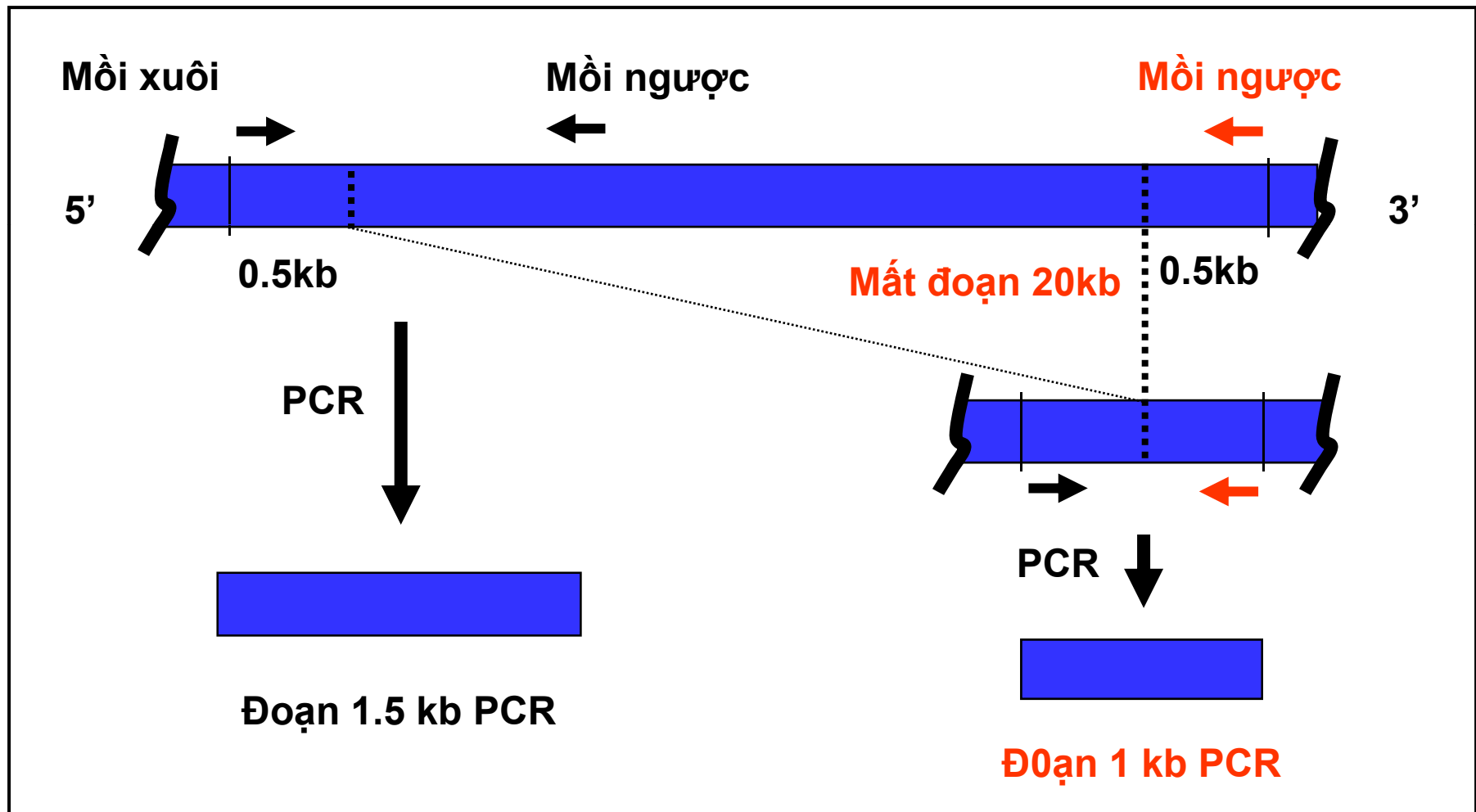
<u>Kiểu hình</u>		<u>Kiểu gen</u>
Bình thường		$\alpha\alpha/\alpha\alpha$
Dị hợp α -thalassemia 2 “silent carrier”		$-\alpha/\alpha\alpha$
Dị hợp α -thalassemia 1 “ α -thal trait”		$--/\alpha\alpha$
Đồng hợp α -thalassemia 2 “ α -thal trait”		$-\alpha/-\alpha$
Hb H disease (β_4)		$--/-\alpha$
Bart's hydrops fetalis (γ_4)		$--/--$

Sự phân bố những đột biến α -Thalassemia ở Singapore

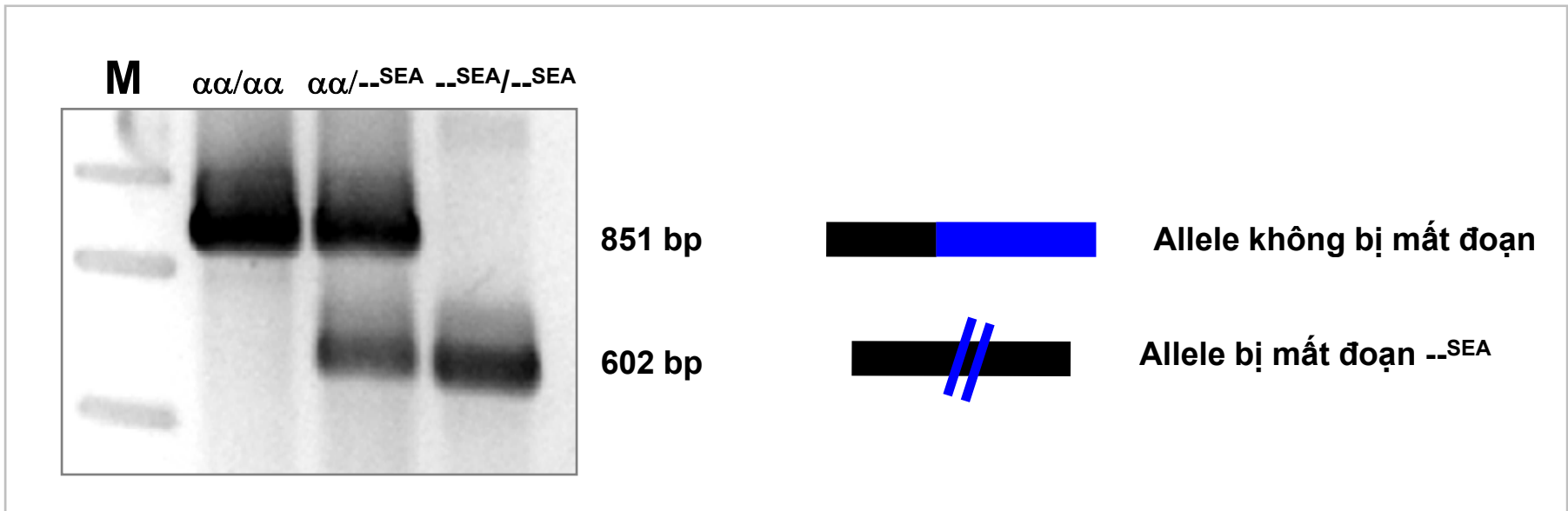
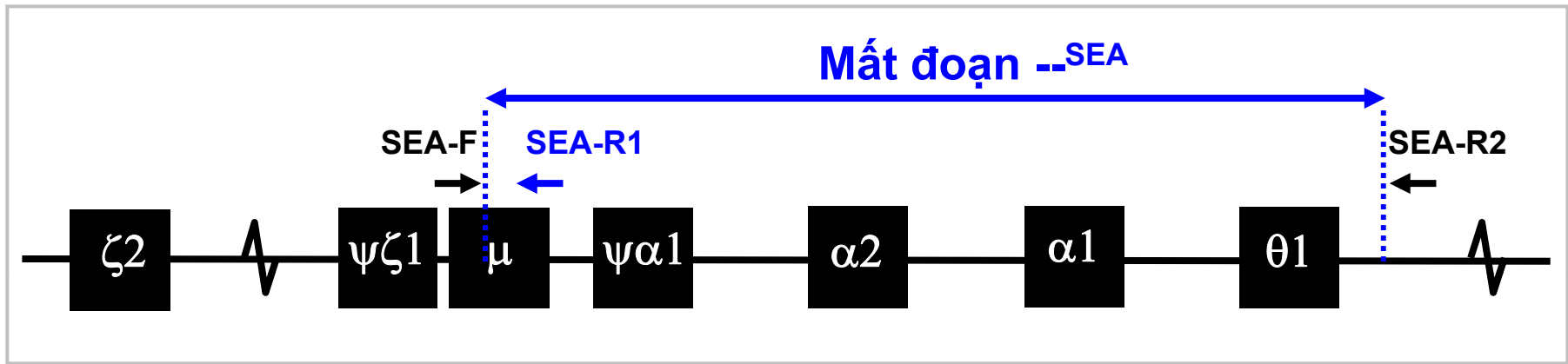


N=3056

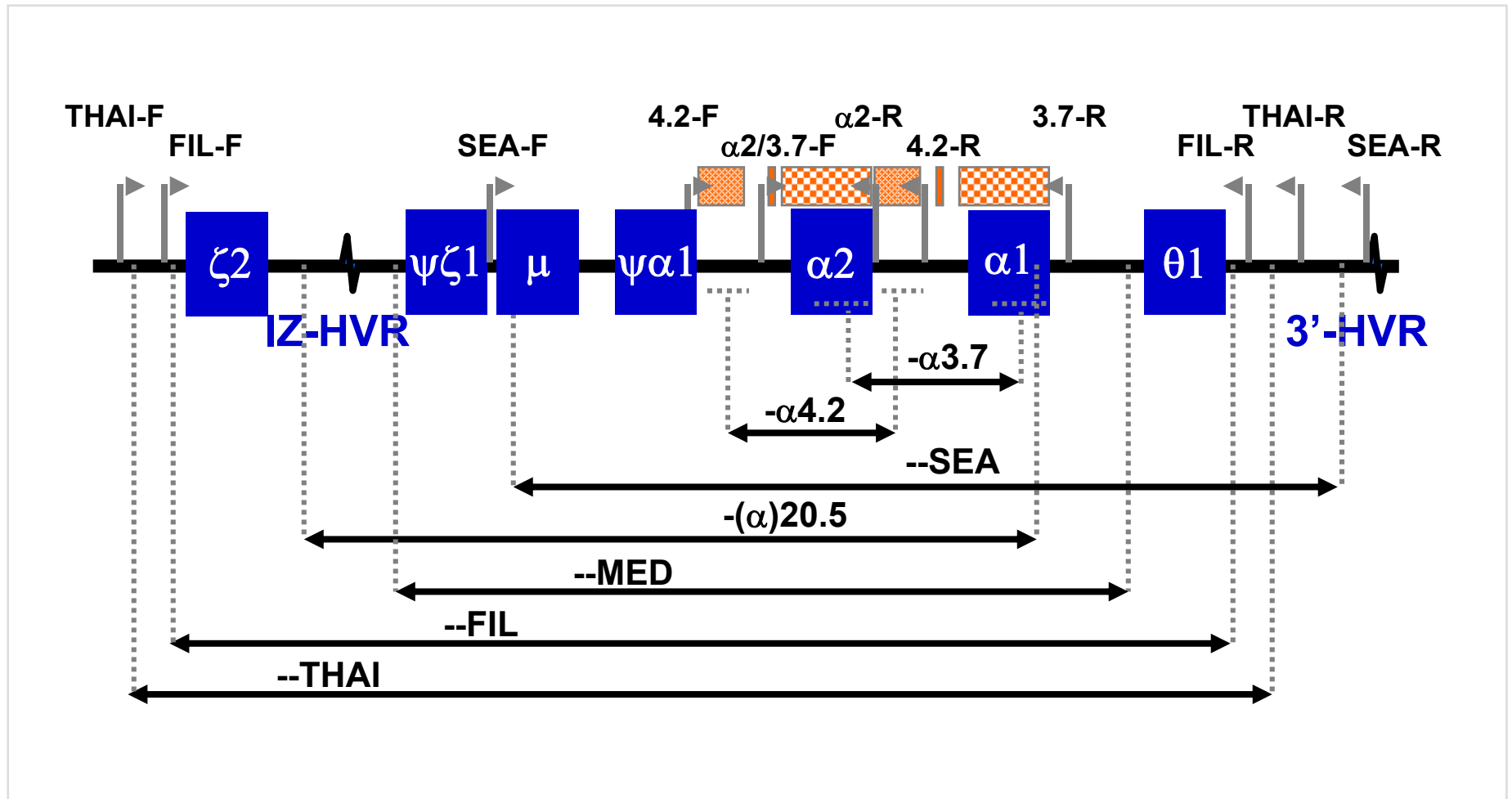
Gap-PCR: Phát hiện những mất đoạn lớn



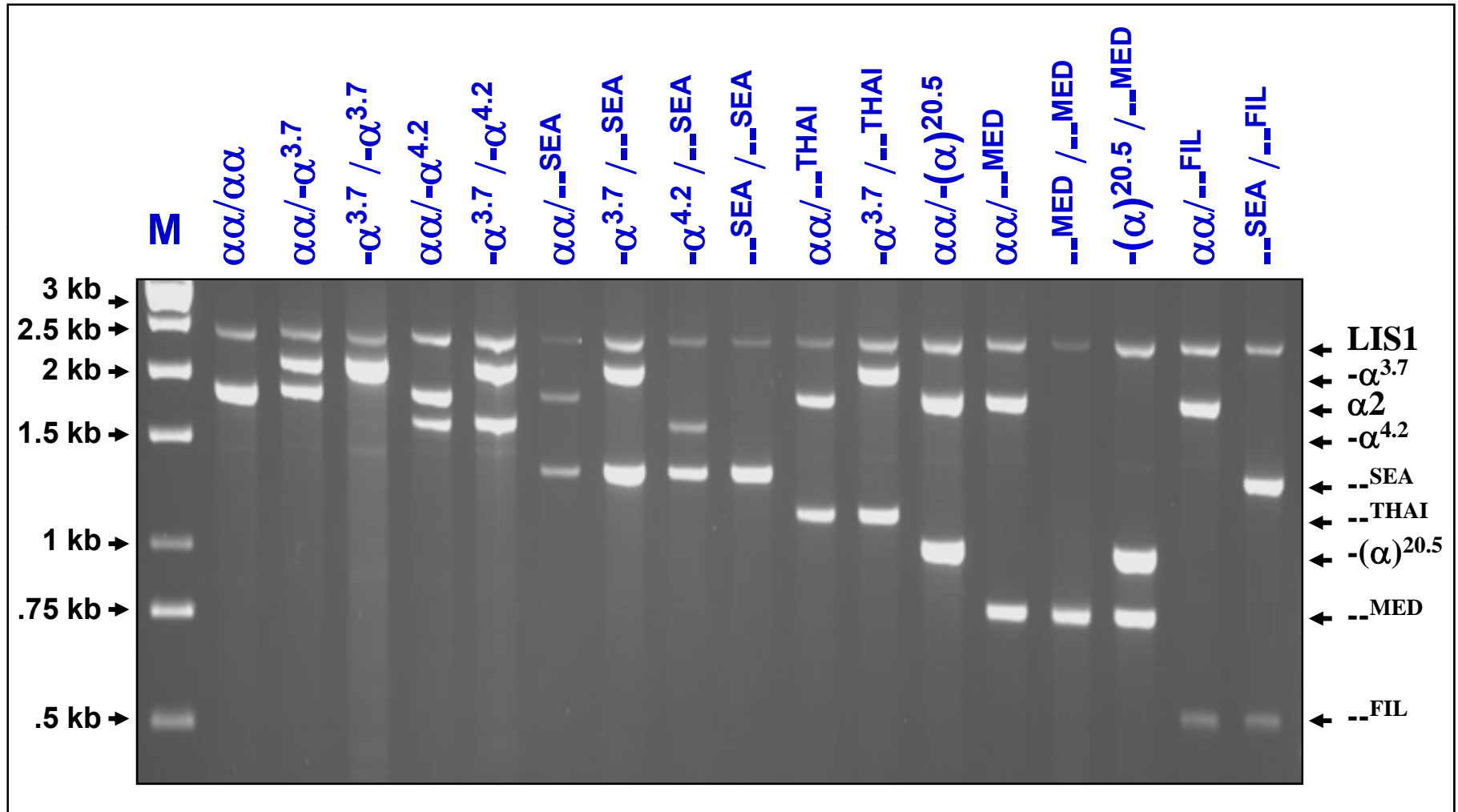
Gap-PCR: Phát hiện đột biến --SEA



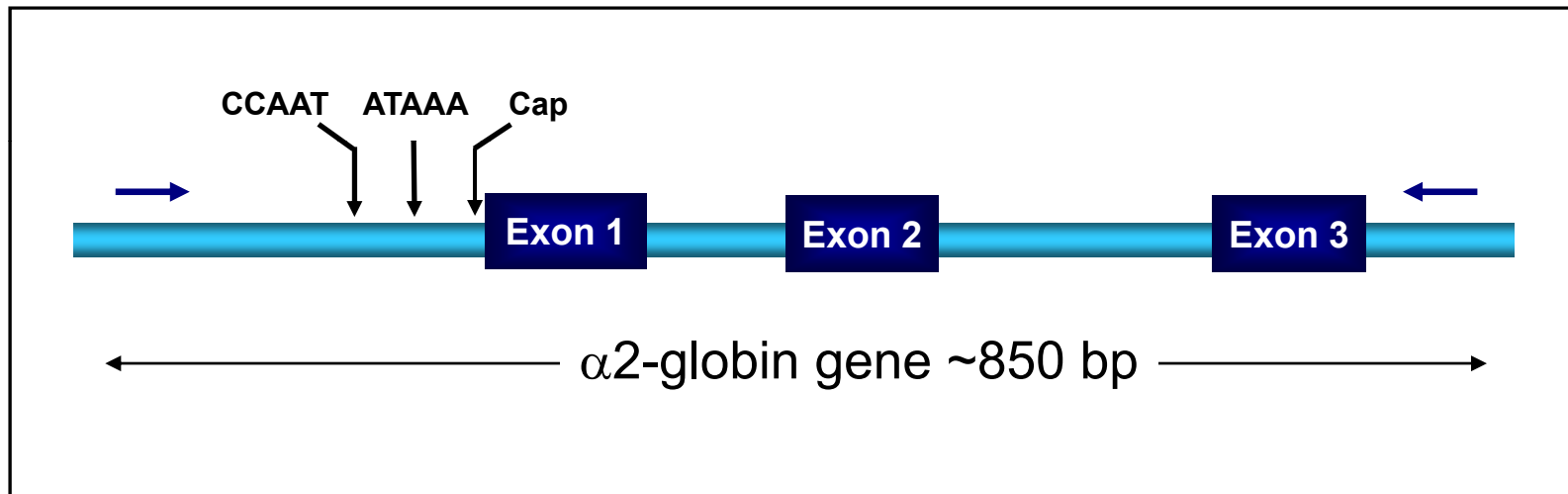
Multiplex Gap-PCR: Phát hiện đồng thời 7 mất đoạn α -Globin



Multiplex Gap-PCR: Những mất đoạn ở α -Globin

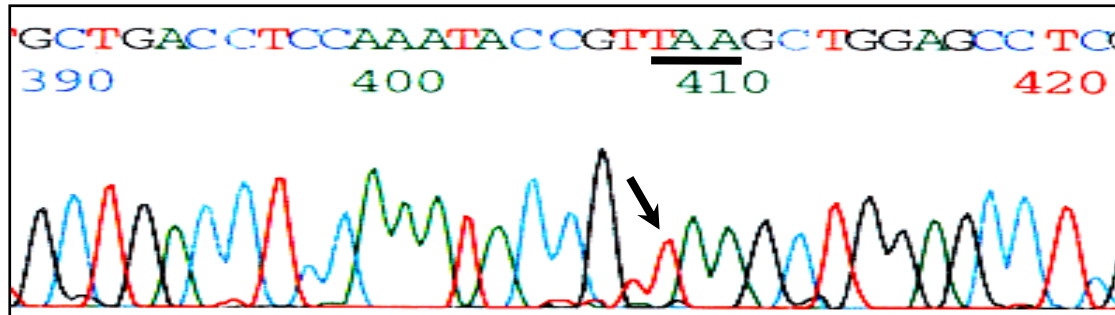


Giải trình tự gen $\alpha 2$ -Globin

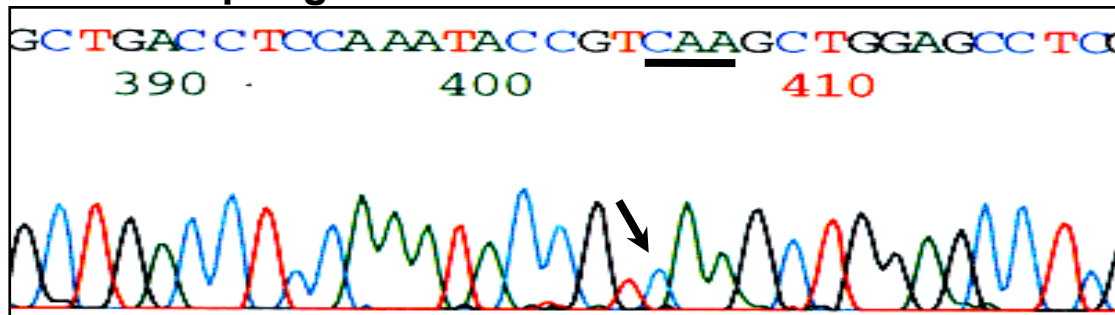


Giải trình tự gen: Đột biến điểm

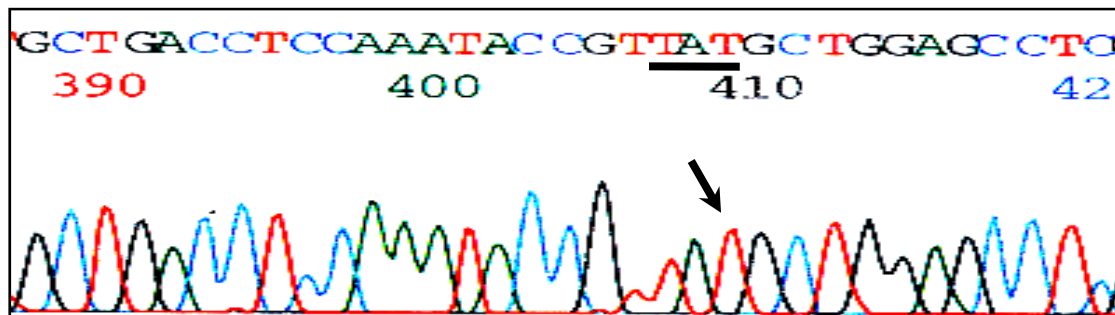
Trình tự *HBA2* bình thường



Đột biến Constant Spring : TAA→CAA



Đột biến Pakse : TAA→TAT



β -Thalassemia

- β -thalassemia

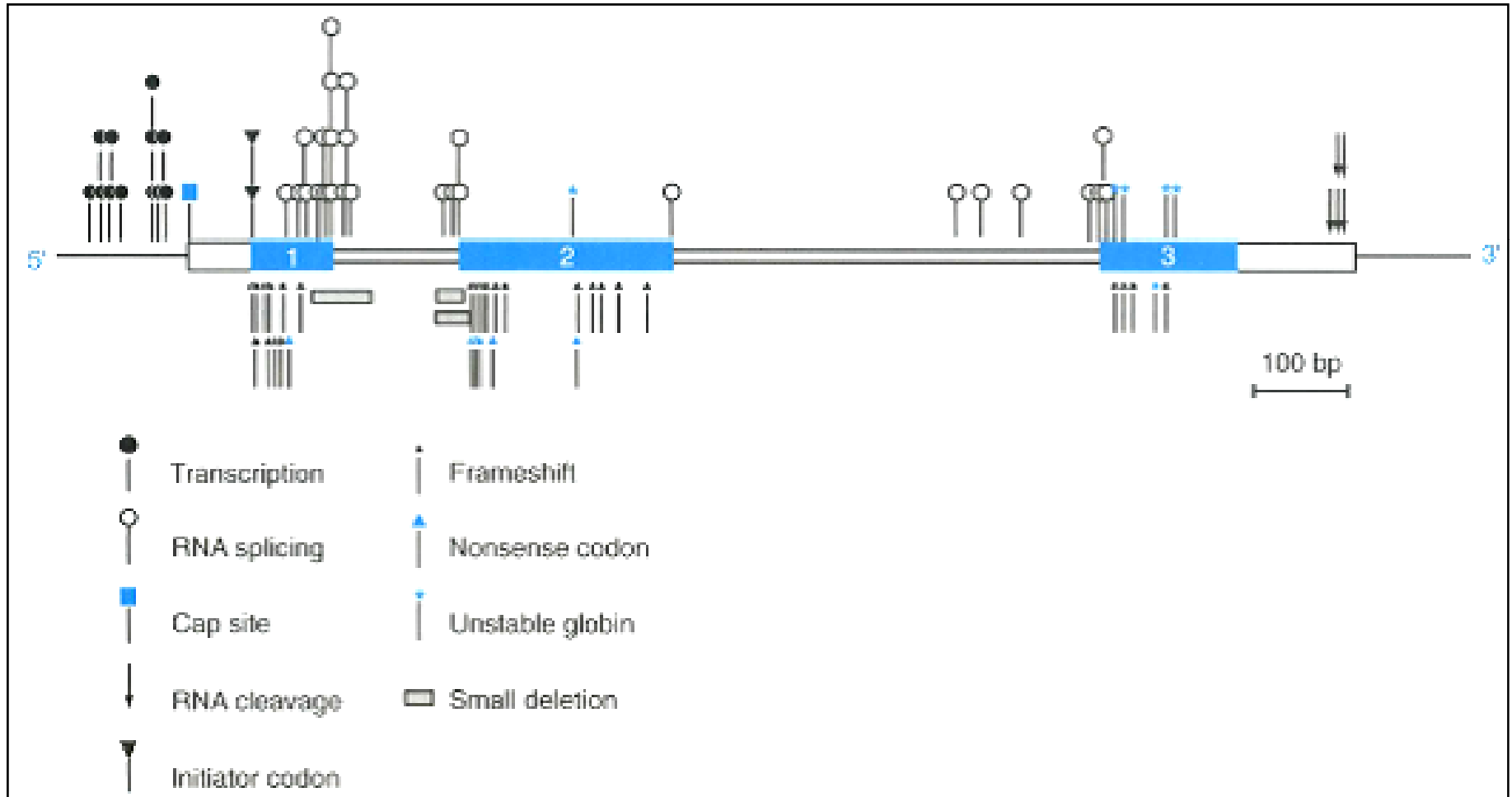
- Sai hỏng trên cụm gen β -globin trên NST 11p15.5



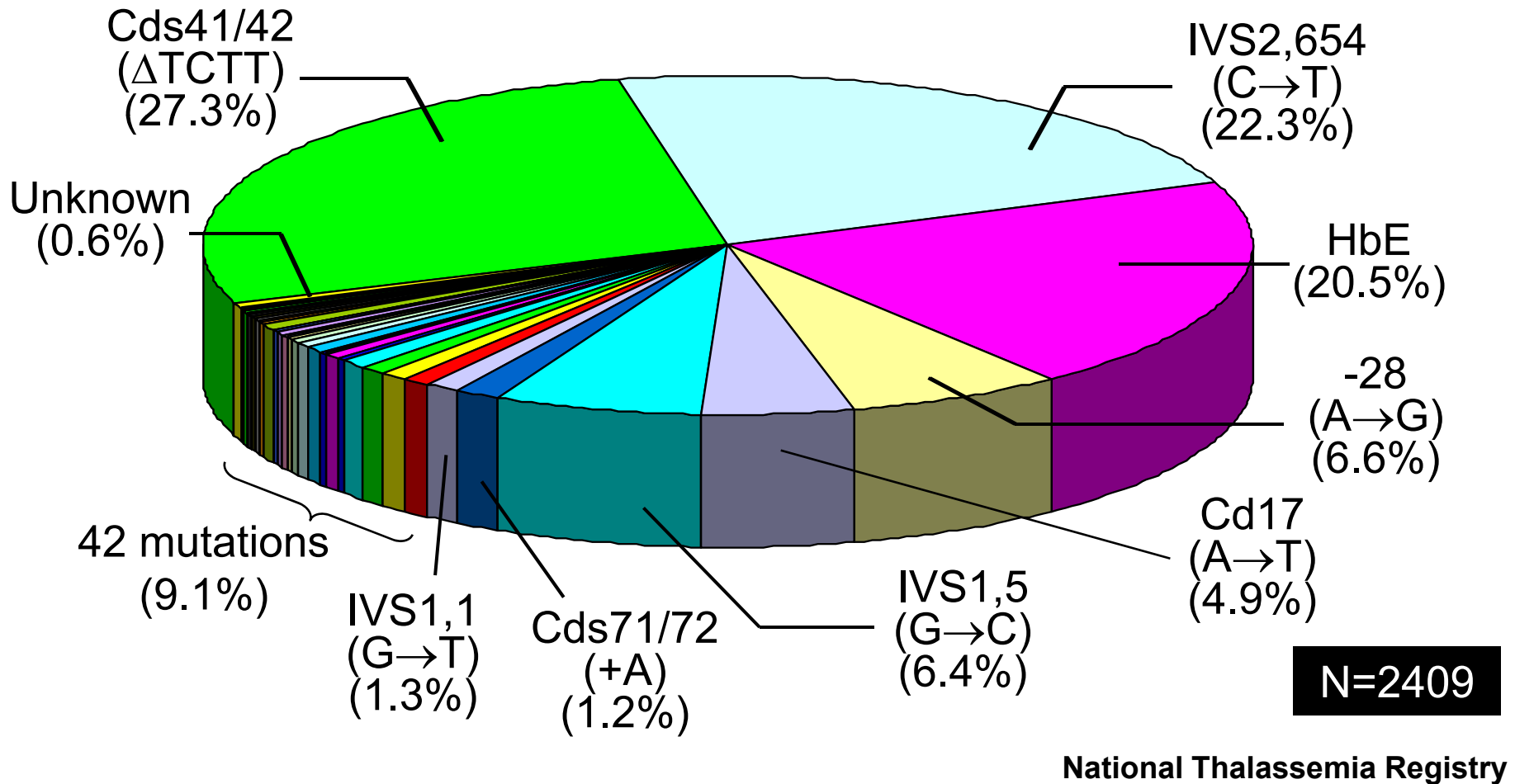
- Phổ biến nhất do đột biến điểm trên *HBB* (gen β globin).

- Mất đoạn không phổ biến.

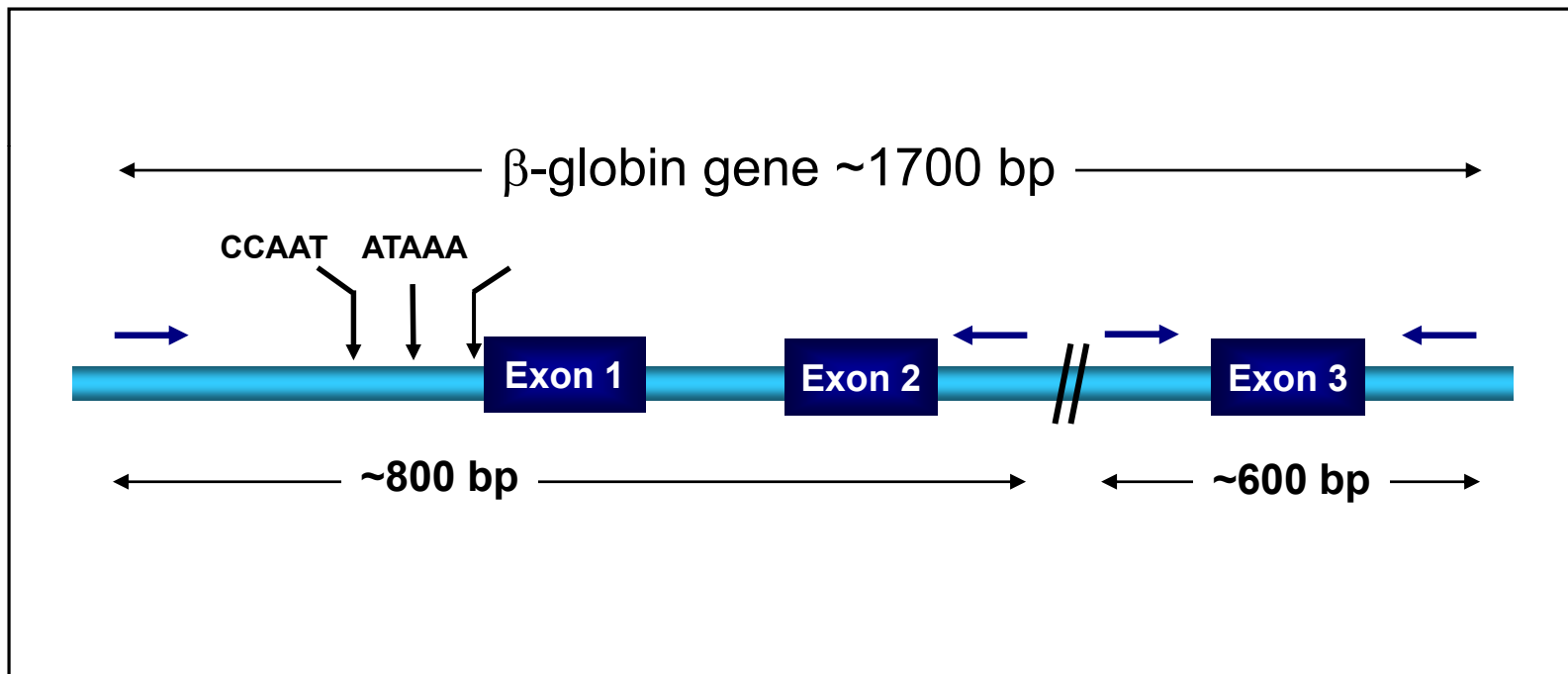
Những đột biến trên gen β -Globin



Sự phân bố những đột biến β -Thalassemia ở Singapore

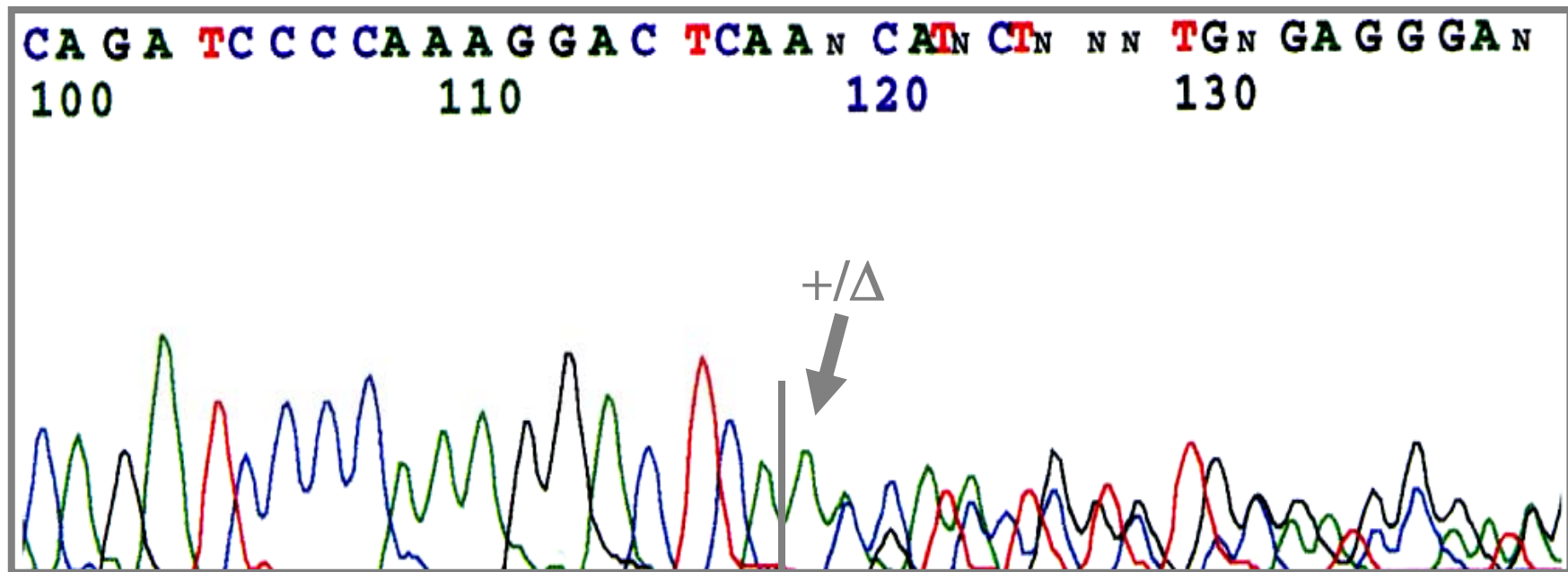


Giải trình tự gen β -Globin

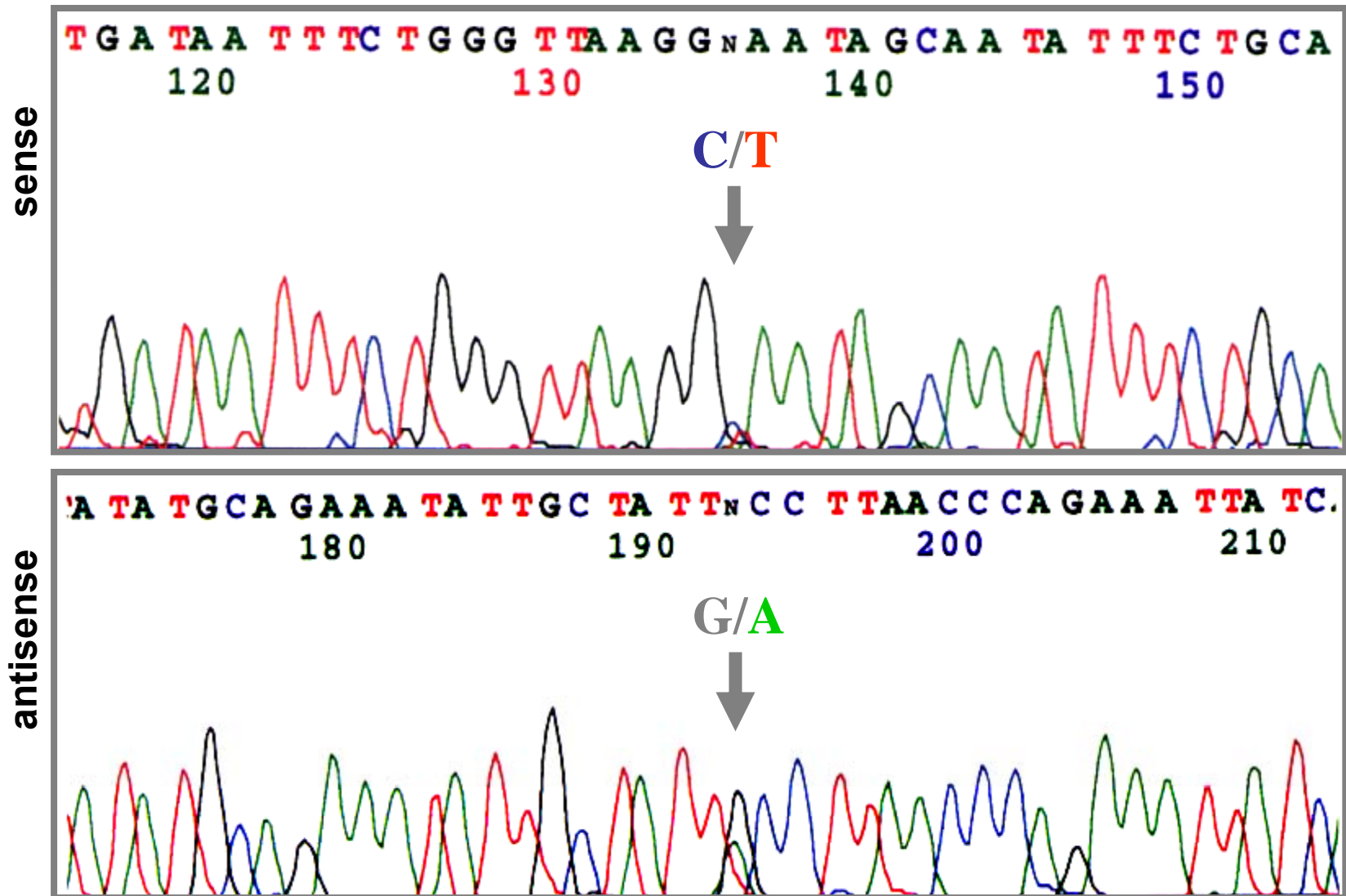


Giải trình tự gen: cd41/42 Δ TCTT

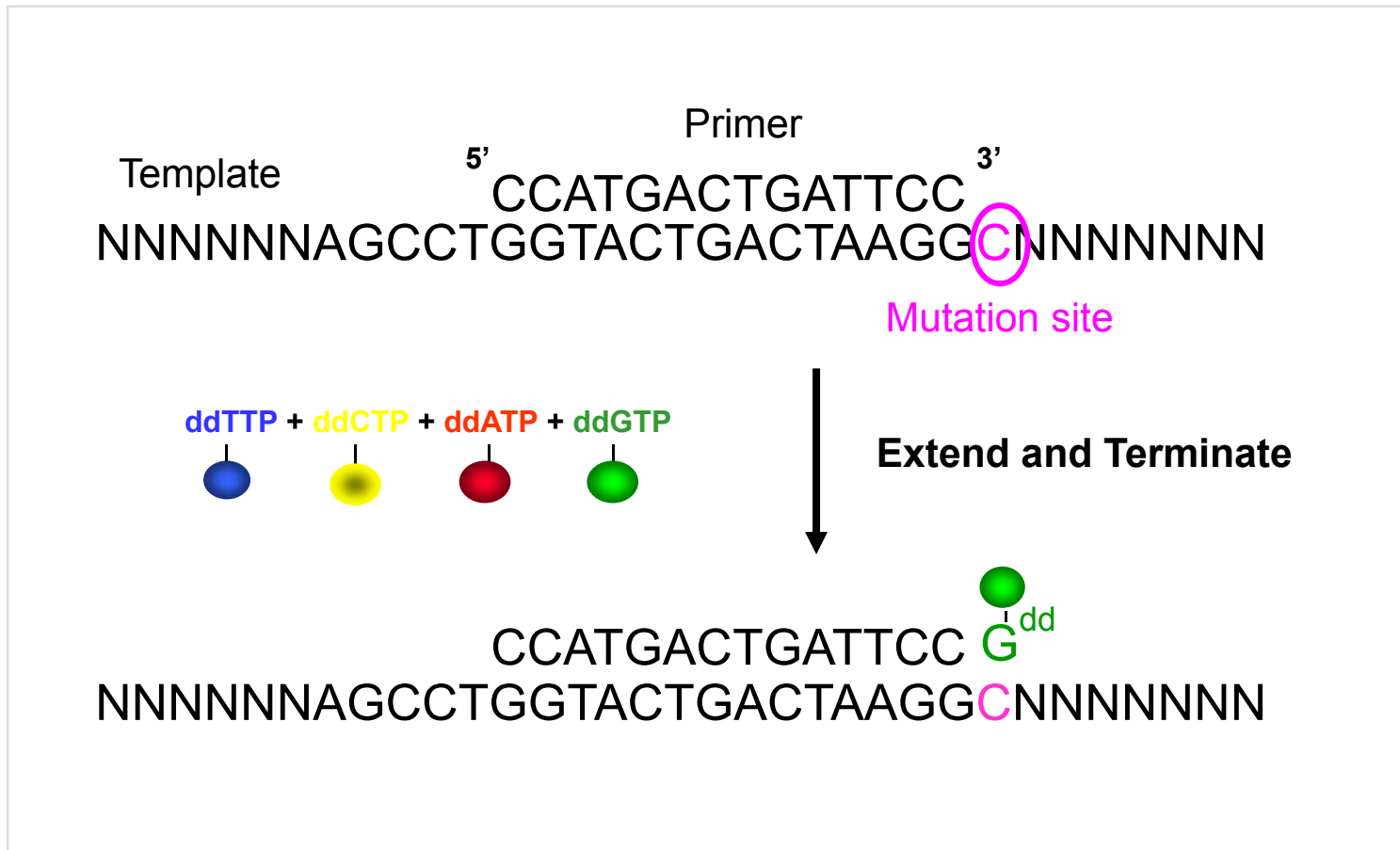
Codon	39	40	41	42	43	44
Sense sequence	n1: CAG	AGG	TTC	TTT	GAG	TCC
	mt: CAG	AGG	TTG	AGT	CC	
Antisense sequence	n1: GGA	CTC	AAA	GAA	CCT	CTG
	mt: GGA	CTC	AAC	CTC	TG	



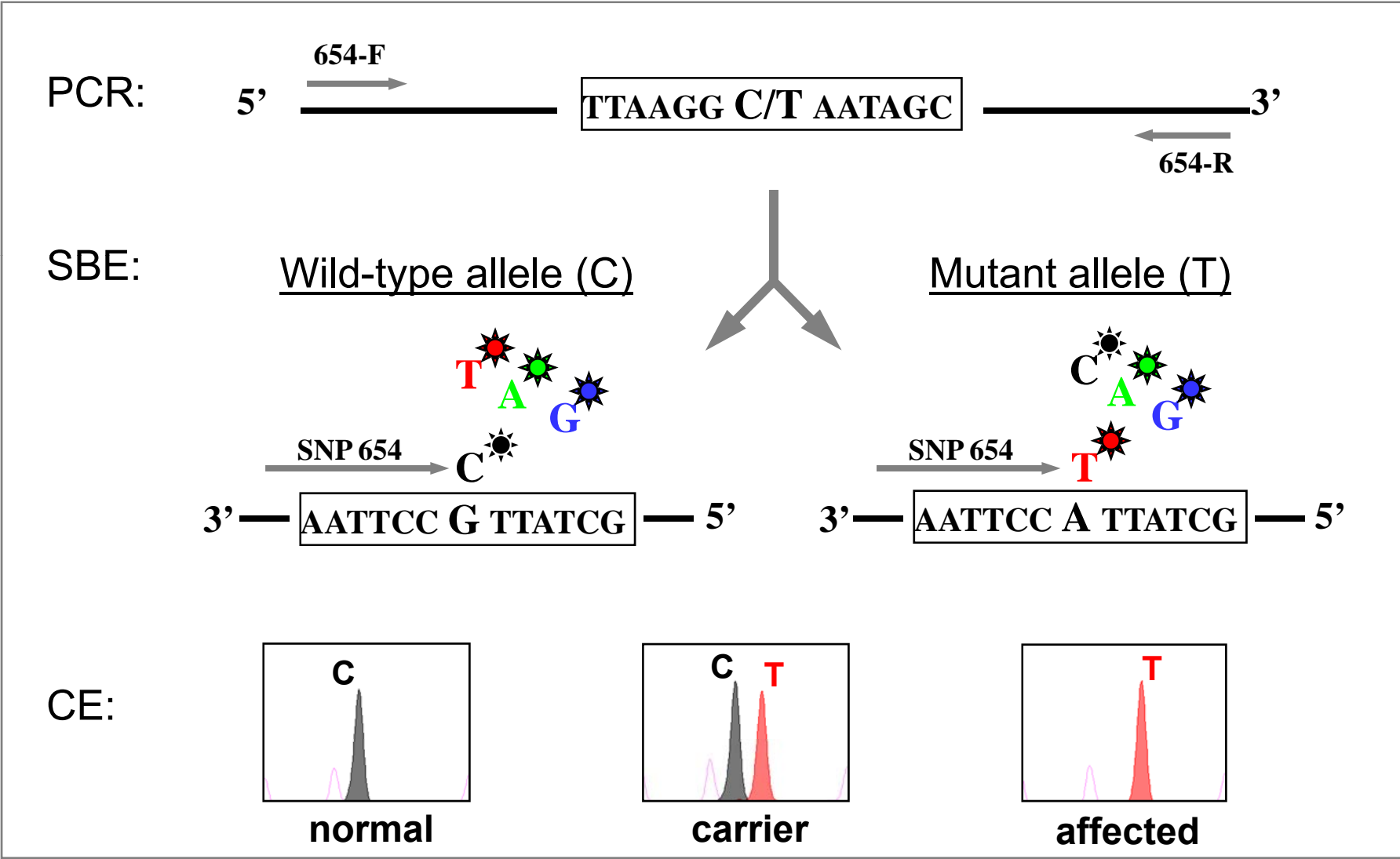
Giải trình tự gen: IVS II,654 C→T



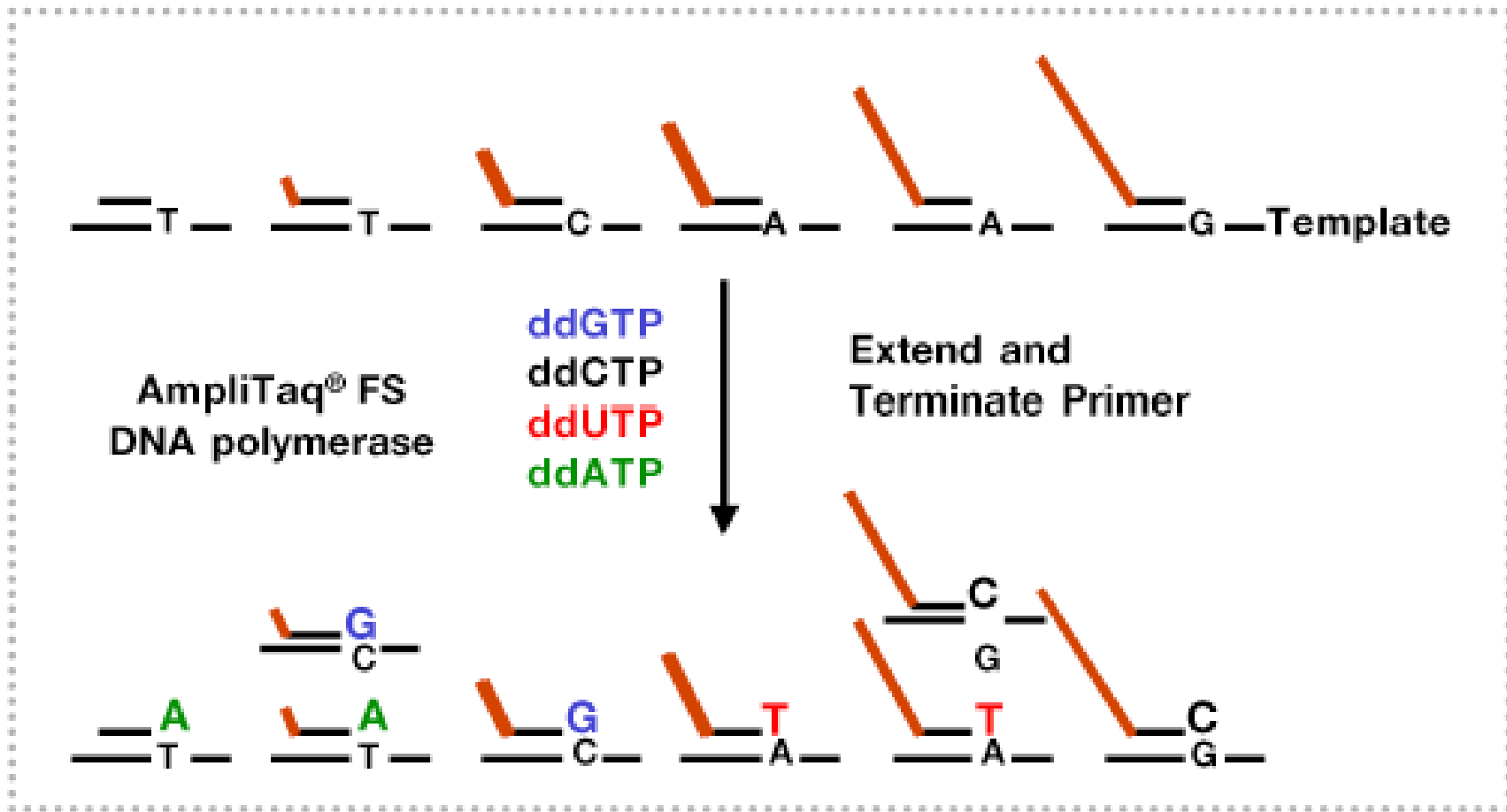
Minisequencing / Single Base Extension (SBE)



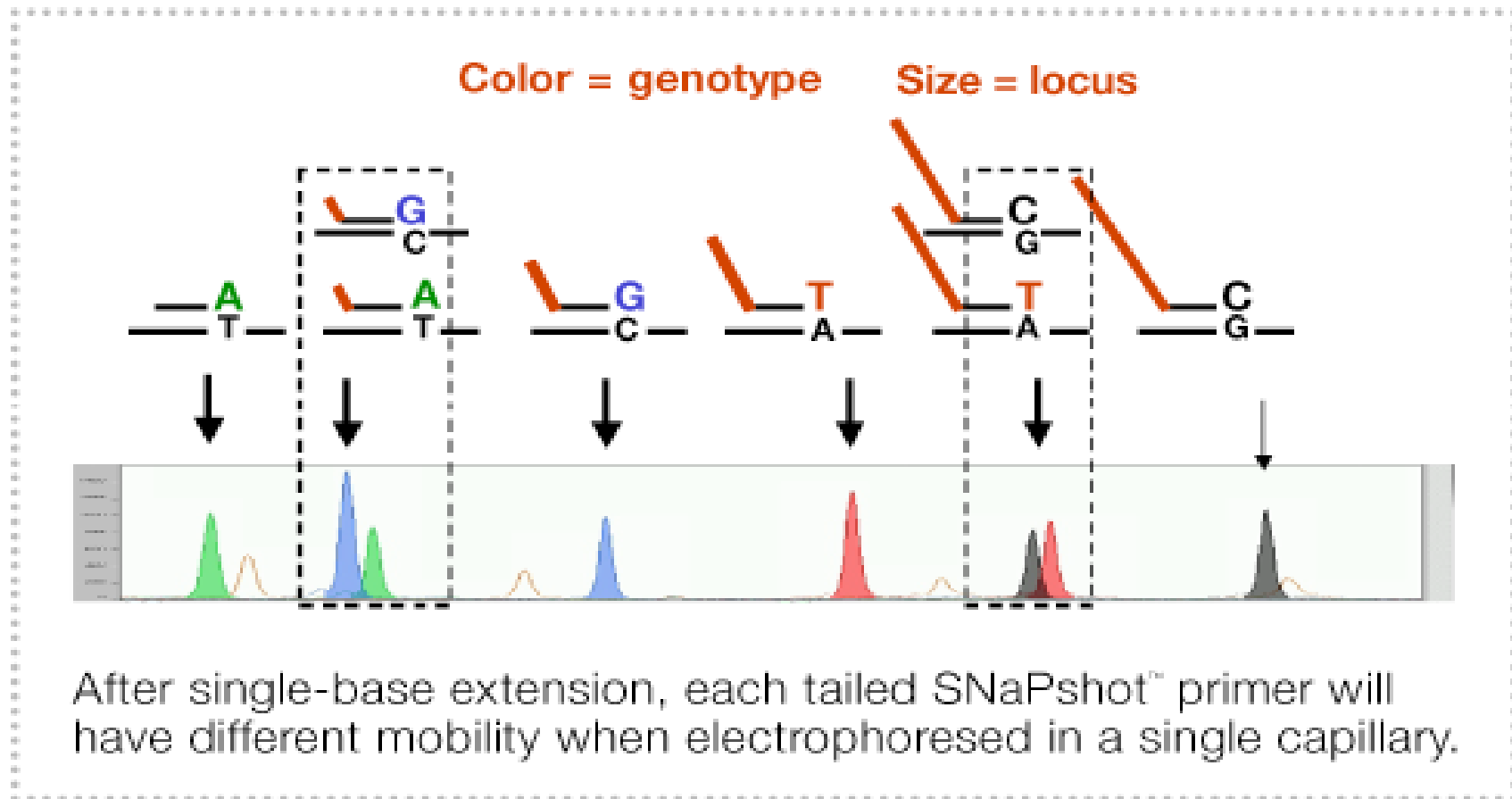
Minisequencing: IVS II,654 C→T



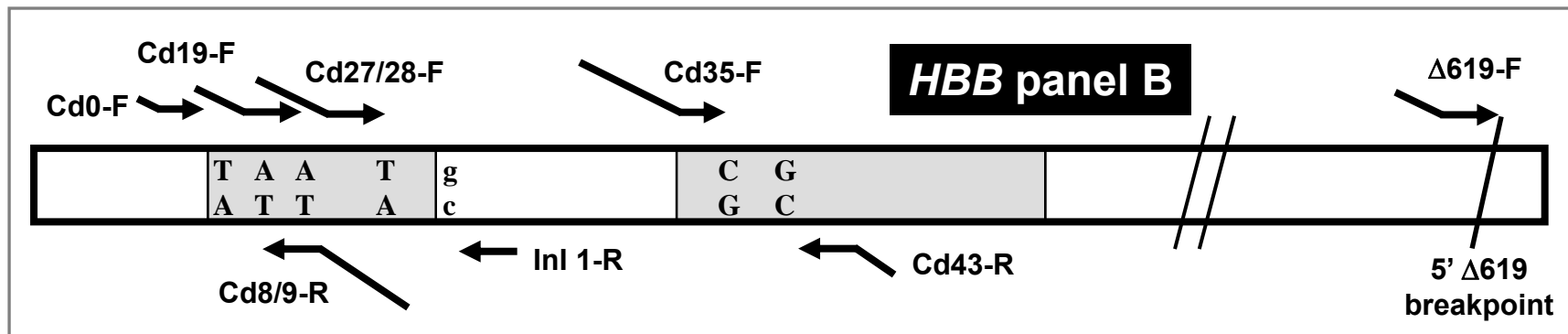
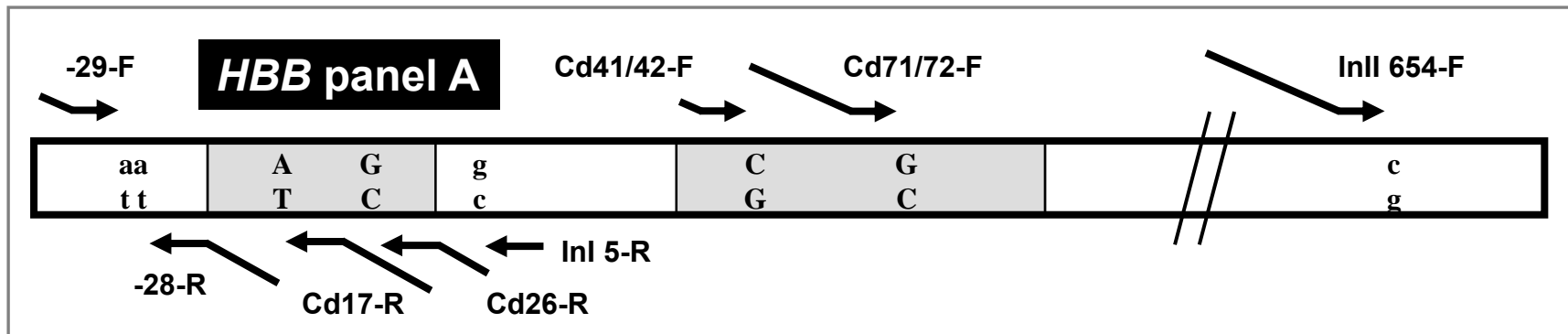
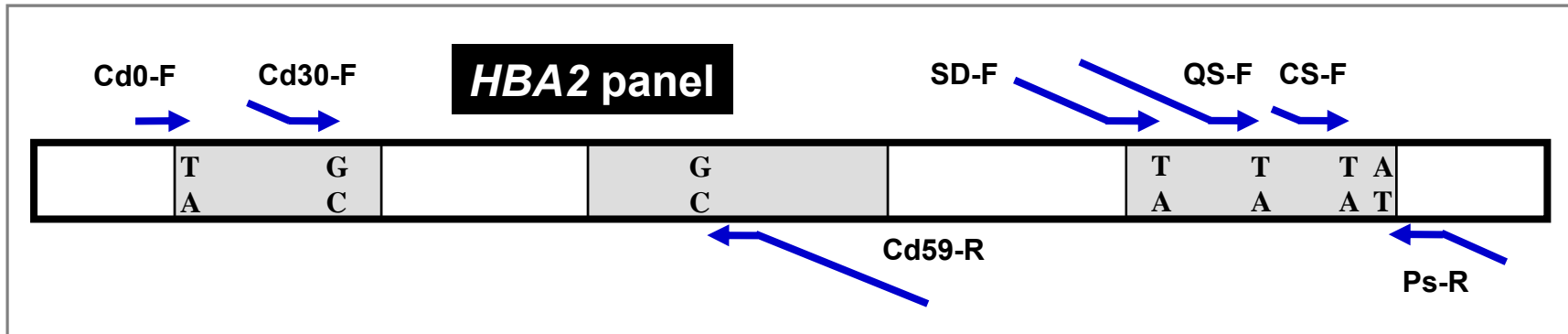
Multiplex Minisequencing (II)



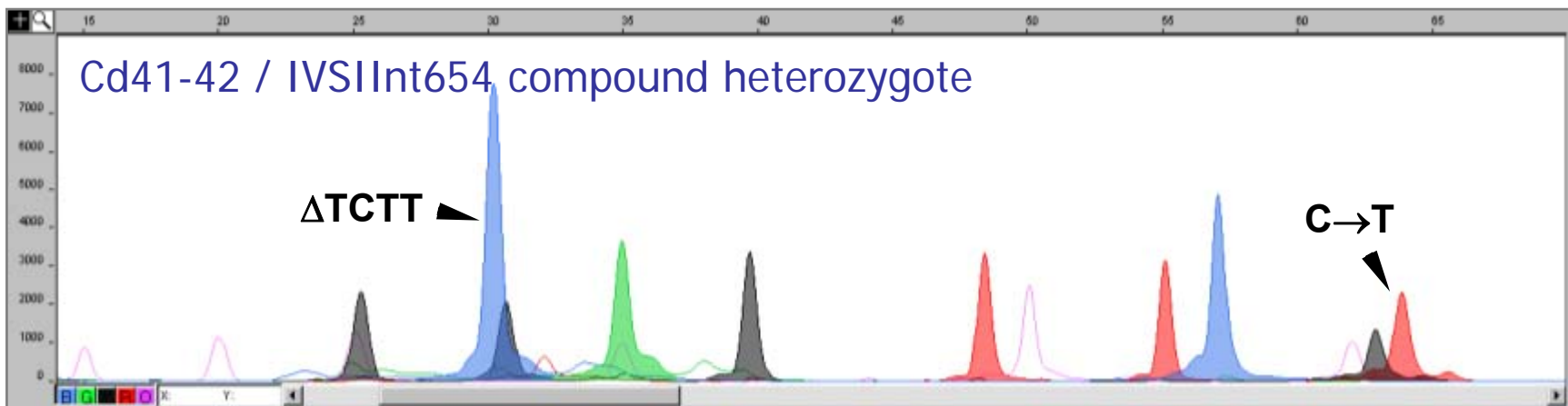
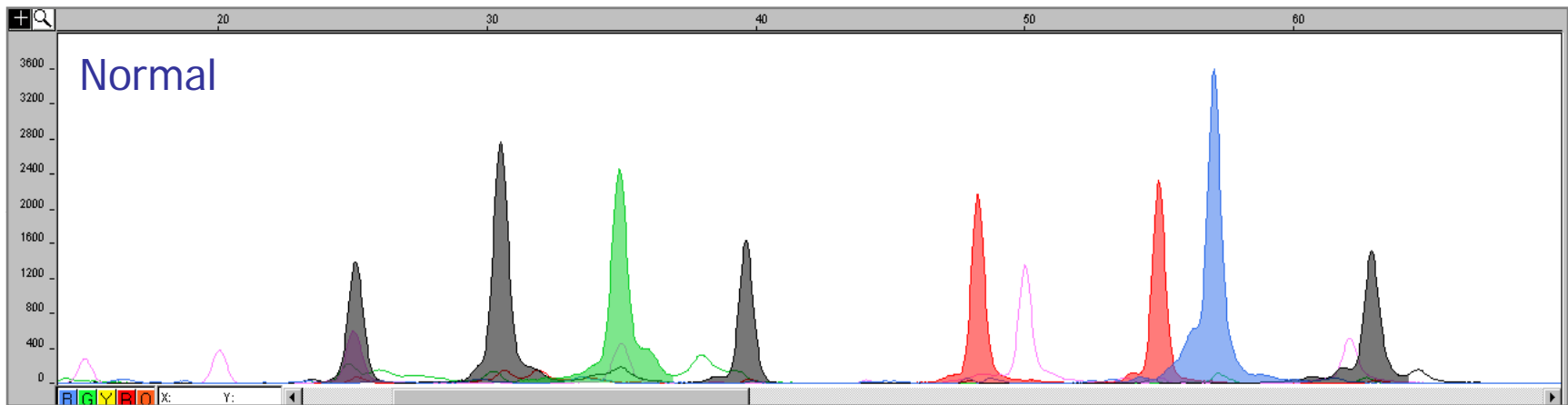
Multiplex Minisequencing (III)



Các primer của Multiplex Minisequencing

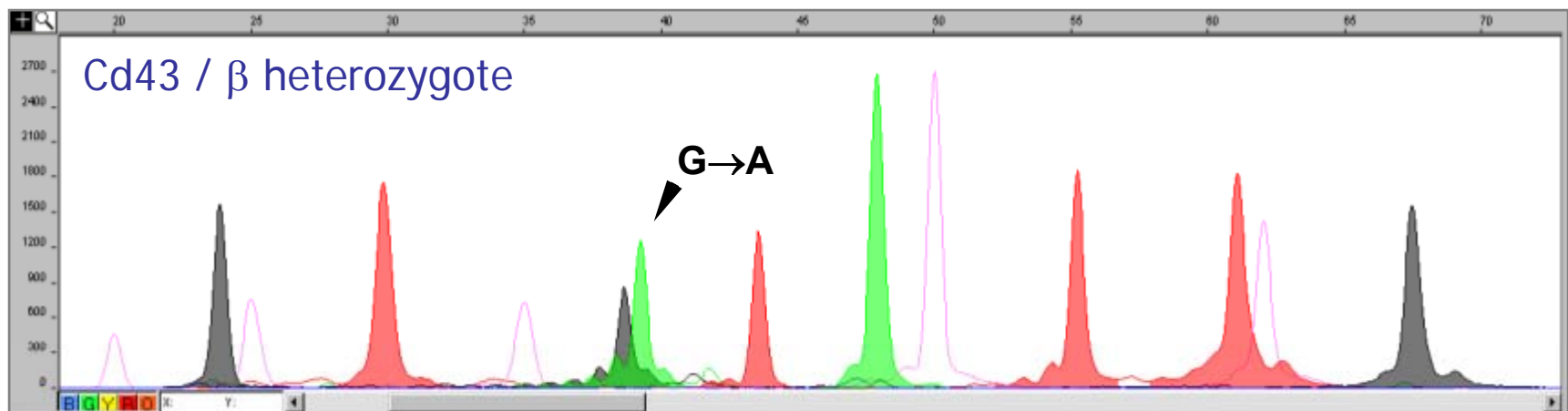
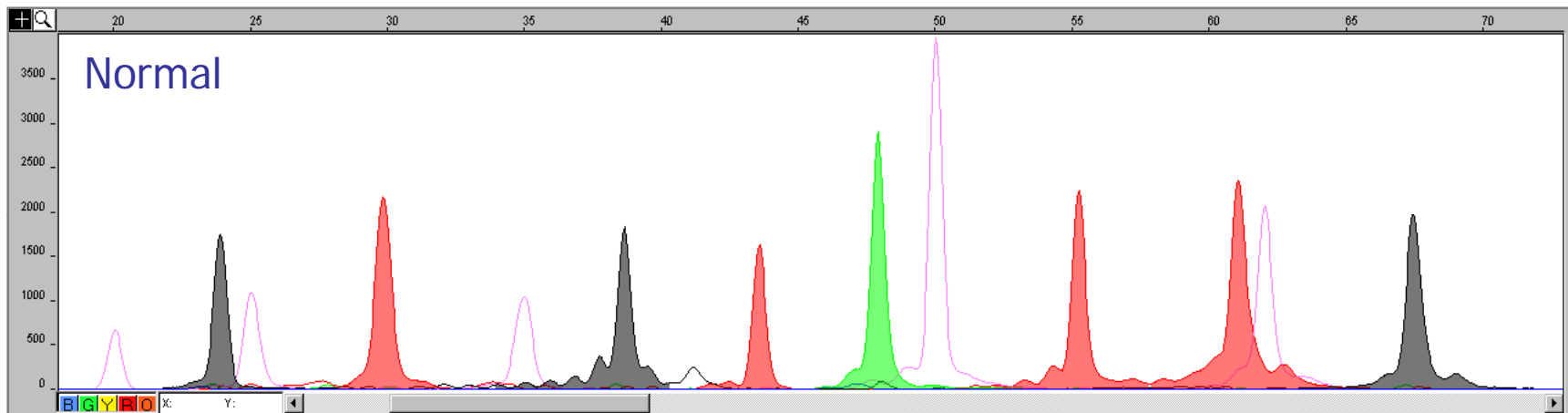


Sản phẩm Multiplex Minisequencing: Điện di mao quản tại các vị trí của bộ đột biến A



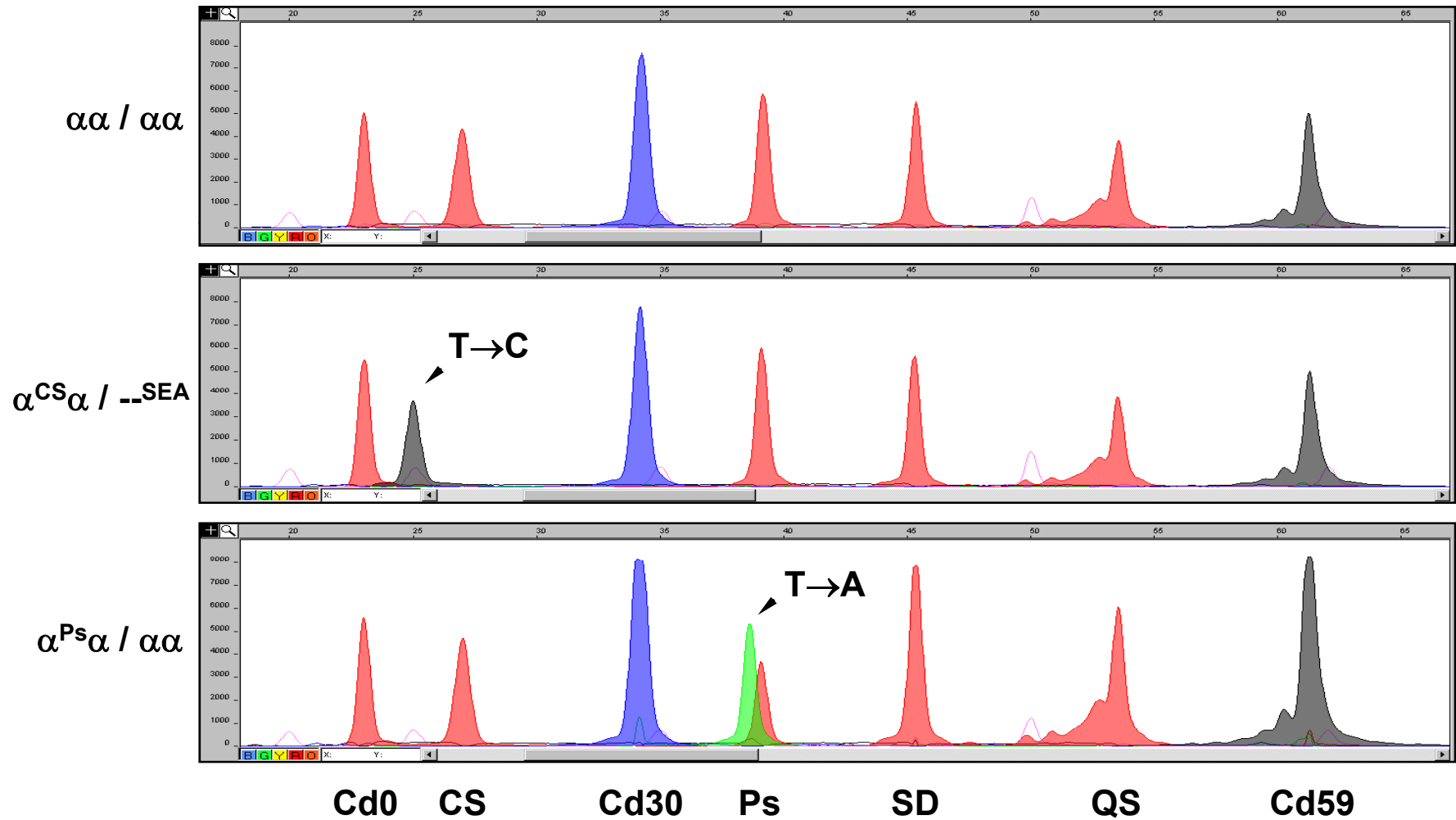
InI5 Cd41/42 -29 Cd26 -28 Cd17 Cd71/72 IVSII654

Sản phẩm Multiplex Minisequencing: Điện di mao quản tại các vị trí của bộ đột biến B



InI1 Cd0 Cd43 $\Delta 619$ Cd19 Cd27/28 Cd8/9 Cd35

HBA2 Gene Multiplex Minisequencing – GeneScan™ Chromatograms



HBB và *HBA2* Minisequencing

Các bộ sàng lọc đột biến

HBB Bộ A

- IVS1,5 G→C,T,A
- Cd41 ΔC
- Cd41/42 ΔTCCTT
- -29 A→G
- Cd26 G→A
- -28 A→G,C
- Cd17 A→T
- Cd71/72 ∇A
- IVS2,654 C→T

HBB Bộ B

- IVS1,1 G→T,A
- Cd0 T→G,C
- Cd43 G→T
- Cd19 A→G
- Cd27/28 ∇C
- Cd8/9 ∇G
- Cd35 ΔC
- Δ619bp

Bộ *HBA2*

- Cd0 ΔG
- Cd142 T→C (Const Sprg)
- Cd30 ΔGAG
- Cd142 A→T (Pakse)
- Cd109 T→G (Suan Dok)
- Cd125 T→C (Quong Sze)
- Cd59 G→A

- Cám ơn