

NHỮNG TRIỂN VỌNG ỨNG DỤNG GIẢI TRÌNH TỰ GEN THỂ HỆ MỚI TRONG GIÁM ĐỊNH ADN PHÁP Y

ThS. NGUYỄN THỊ HOA, CN. NGUYỄN THỊ LÊ DÂN
ThS. NGUYỄN TẮT THỌ - Viện Pháp y Quân đội
Phản biện khoa học: (1) TS. NGUYỄN VĂN LỢI
(2) TS. NGUYỄN LÊ CÁT

TÓM TẮT: Trong khoa học pháp y, các mẫu giám định ADN thường có những hạn chế do có lượng ADN thấp, mẫu bị nhiễm tạp chất và phân hủy cao bởi những tác động của yếu tố môi trường, nên rất khó có thể đáp ứng đồng thời các yêu cầu khi phân tích kiểu gen trên các nhiễm sắc thể khác nhau. Điều này dẫn đến khó khăn trong việc cung cấp đầy đủ thông tin và có thể hạn chế việc sử dụng kết quả giám định. Xác định dấu vết có ADN là hỗn hợp, các trường hợp có mối quan hệ cha con phức tạp cũng không thể giải quyết được bằng phương pháp phân tích những đoạn gen lặp lại ngắn (STR), phân tích ADN ty thể (mtADN) bởi điện di mao quản. Gần đây, công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới (NGS) với hiệu suất và tính chính xác cao đã phát triển nhanh chóng, trở thành phương pháp phân tích quan trọng đối với nhiều nhà nghiên cứu toàn bộ trình tự gen người. Công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới còn được ứng dụng trong nhiều khía cạnh của các nghiên cứu, như xây dựng cơ sở dữ liệu ADN, suy luận về tổ tiên và kiểu hình, nghiên cứu song sinh cùng trứng, xác định loài, nghiên cứu trên động vật, thực vật, các phân tích vi sinh... Chúng tôi nêu một số triển vọng ứng dụng công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới trong lĩnh vực giám định pháp y.

Từ khóa: Pháp y, giải trình tự gen thế hệ mới, đoạn gen lặp lại ngắn (STR).

ABSTRACT: In forensic science, DNA assessment samples often have limits due to their low DNA template, high contamination, and degradation by the adverse effects of environmental factors, so it is difficult to simultaneously meet the requirements when analyzing genotypes on different chromosomes. This causes difficult to provide adequate information and may limit the use of the results of the assessment. Identification of mixed DNA samples and analysis of complex paternity cases also cannot be solved by Short Tandem Repeat (STR) analysis methods, mitochondrial DNA (mtDNA) methods as well by capillary electrophoresis. Recently, Next-generation sequencing (NGS) technology, with its high efficient capacity and high accuracy, has developed rapidly in recent years and become an important analytical tool for many genomics researchers. NGS technology can also have potential applications in many other aspects of research, including DNA database construction, ancestry, and phenotypic inference, monozygotic twin studies, species identification, and forensic animal, plant, and microbiological analyses... We present some prospects for applying next-generation sequencing technology in the field of forensic science.

Keywords: Forensics, Next-generation sequencing, Short Tandem Repeat (STR).

Chịu trách nhiệm nội dung: ThS. Nguyễn Thị Hoa, Email: nguyenhoatn212@gmail.com

Ngày nhận bài: 15/02/2021; mời phản biện khoa học: 3/2022; chấp nhận đăng: 15/4/2022.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việc áp dụng kỹ thuật phân tích ADN trên hệ giải trình tự gen bằng mao quản trong khoa học giám định pháp y đã làm cho ADN trở thành một công cụ quan trọng khi điều tra các vụ án hình sự. Phương pháp giám định này cần độ chính xác và khả năng định danh cá thể cao, thời gian và chi phí giám định phù hợp yêu cầu nhiệm vụ. Tuy nhiên, ở hầu hết các vụ việc, mẫu giám định ADN trong pháp y thường có những hạn chế do chứa lượng ADN thấp, mẫu bị nhiễm tạp chất và khả năng bị phân hủy cao bởi những tác động của yếu tố môi trường..., nên rất khó đáp ứng đồng thời các yêu cầu khi phân tích kiểu gen trên các nhiễm sắc thể khác nhau. Điều này dẫn đến khó khăn trong việc cung cấp đầy đủ

thông tin cho kết quả giám định. Khi phân tích dấu vết có ADN là hỗn hợp, các trường hợp quan hệ cha - con phức tạp thì không thể giải quyết được bằng phương pháp phân tích đoạn gen lặp lại ngắn (Short Tandem Repeat - STR) và phân tích ADN ty thể (mtADN) cũng còn nhiều hạn chế.

Ngày nay, phần lớn các xét nghiệm ADN trong giám định pháp y được thực hiện bởi phản ứng nhân gen và điện di mao quản. ADN hệ gen nhân phân tích dựa trên các trình tự STR để phát hiện sự thay đổi độ dài các đoạn lặp trong thời gian ngắn bởi hệ thống tín hiệu huỳnh quang. Các trình tự đoạn lặp này được đọc trên phần mềm chuyên dụng Gemapper ID. Phương pháp giải trình tự gen dựa trên điện di mao quản cũng đã được

sử dụng để phân tích các vùng cụ thể của gen mtADN. Sự phát triển của phương pháp điện di bằng mao quản đã trở thành tiêu chuẩn vàng cho giải trình tự ADN. Tuy nhiên, phân tích ADN dựa trên phương pháp điện di mao quản có những hạn chế, bao gồm những liên quan đến tín hiệu nhận diện huỳnh quang với thuốc nhuộm huỳnh quang ddNTP và việc phát hiện hoặc phân biệt tín hiệu phát ra không hiệu quả. Việc giải trình tự mao quản tốn nhiều thời gian và đắt tiền, ứng dụng của nó đã bị hạn chế khi giải trình tự exome hoặc toàn bộ trình tự bộ gen người. Từ lâu, các nhà y học tư pháp trên thế giới đã tìm kiếm phương pháp mới, nghiên cứu những lợi ích của công nghệ giải trình tự gen thế hệ tiếp theo.

Công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới là một bước tiến vượt bậc về công nghệ giải trình tự gen (Next-generation sequencing - NGS), cho phép giải trình tự được từ 8Gb đến 600Gb - tức là giải trình tự toàn bộ hệ gen của con người (whole genome sequencing) với tốc độ nhanh và sai số tương đối thấp. Sự phát triển mạnh mẽ của kĩ thuật NGS là một cuộc cách mạng trong công nghệ giải trình tự nói riêng và trong công nghệ sinh học phân tử nói chung. Các cơ hội mới trong lĩnh vực pháp y xuất hiện khi khai thác sức mạnh của công nghệ NGS thế hệ mới, có thể kể đến khi ứng dụng để phân tích STRs trên hệ gen nhân, phân tích mtADN, xây dựng cơ sở dữ liệu ADN, suy luận về tổ tiên và kiểu hình, nghiên cứu song sinh cùng trứng, xác định loài, nghiên cứu trên động vật, thực vật và các phân tích vi sinh, nghiên cứu gen gây bệnh... Với những phát triển của khoa học và công nghệ ngày nay, công nghệ NGS thế hệ mới có nhiều cơ hội trở thành một phương pháp thường quy, dễ tiếp cận trong thực hành giám định pháp y.

2. TRIỂN VỌNG ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ NGS THẾ HỆ MỚI TRONG GIÁM ĐỊNH PHÁP Y.

2.1. Phân tích STR:

Trong tương lai không xa, phân tích STR vẫn giữ một vai trò quan trọng, là kĩ thuật di truyền hay được sử dụng nhất trong giám định pháp y. Phân tích STR có nhiều ưu điểm, như xác định alen nhanh chóng, chính xác; mẫu ADN được khuếch đại đa kênh và dựa trên sự phát hiện của công nghệ NGS, kết quả dữ liệu gen được số hóa, lưu trữ, dễ phân tích.

Những thông tin từ hội nghị chuyên đề công nghệ giám định ADN pháp y và hội nghị quốc tế chuyên đề những tiến bộ trong di truyền học pháp y tại Trung Quốc, năm 2012 cho thấy, đã có hơn 60 quốc gia trên thế giới thiết lập cơ sở dữ liệu ADN pháp y dựa trên STRs. Các cơ sở dữ liệu này đang tiếp tục phát triển nhanh chóng (như ở Trung Quốc,

đã có hơn 27 triệu cơ sở dữ liệu trong pháp y). Xác suất ngẫu nhiên giữa các cá thể không liên quan tính toán dựa trên 13 điểm đánh dấu STR của hệ thống CODIS (CSF1PO, FGA, THO1, TPOX, VWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51 và D21S11) hoặc 15 điểm đánh dấu STR (13 CODIS cộng với D2S1338 và D19S433). Để tăng tính chính xác trong xét nghiệm, các nhà khoa học khuyến nghị nên kết hợp nhiều điểm đánh dấu STR hơn vào xét nghiệm. Tuy vậy, việc phát hiện đồng thời nhiều điểm STR hơn sẽ rất khó, do những hạn chế kĩ thuật của đèn huỳnh quang. Phương pháp phân tích STR dựa trên điện di mao quản phát hiện các đoạn ADN có kích thước khác nhau. Do đó, không thể phân biệt được các đoạn ADN có độ dài giống nhau hoặc tương tự nhưng khác nhau về trình tự. Trong trường hợp các STR có hiện tượng đột biến khi xác định quan hệ huyết thống cha - con, thường không thể giải quyết được với phân tích STR dựa trên phương pháp điện di mao quản. Một thách thức nữa đối với các xét nghiệm ADN trong pháp y là phân tích mẫu có ADN hỗn hợp phức tạp (bao gồm ADN của nhiều cá thể có trong mẫu cần giám định), các phân tích hiện tại về mẫu có ADN hỗn hợp thường mang lại tỉ lệ phát hiện thấp.

Những tiến bộ trong giải trình tự gen bằng cách sử dụng công nghệ NGS thế hệ mới và số hóa các dữ liệu gen có thể tạo điều kiện thuận lợi cho xác định các mẫu ADN hỗn hợp và phân tích các trường hợp quan hệ cha - con phức tạp. Gần đây, một số nhà nghiên cứu đã bắt đầu sử dụng công nghệ NGS thế hệ mới để kiểm tra STR. Một tiên phong nghiên cứu được thực hiện bởi Zajac và cộng sự (Trường Công nghệ Sinh học, Viện Công nghệ Hoàng Gia, Thụy Điển), năm 2009, phân tích 3 locus CODIS STR, TPOX, CSF1PO và D18S51, sử dụng cách tiếp cận phân luồng trinucleotide (TnT) của 454, hệ thống giải trình tự Genome. Sau đó, Jodi Irwin và cộng sự (Phòng thí nghiệm nhận dạng ADN của Lực lượng Vũ trang Hoa Kỳ), năm 2011, phân tích 13 locus CODIS STR bằng hệ thống 454 GS Junior khi kết hợp với công nghệ nhận dạng đa kênh cho 1 nguồn mẫu, đánh giá tổng quan công nghệ NGS trong giám định pháp y. Bornman và cộng sự (Viện Columbus, Hoa Kỳ), năm 2012 đã nghiên cứu công nghệ NGS thế hệ mới có thể xác định chính xác 13 locus CODIS STR cũng như gen AMEL cho loại mẫu có nguồn ADN đơn lẻ và cả các mẫu có ADN hỗn hợp phức tạp. Để xử lí dữ liệu NGS thế hệ mới trong pháp y, Warshauer và cộng sự (Viện Di truyền ứng dụng, Phòng Pháp y và Điều tra Di truyền, Trung tâm Khoa học Y tế Đại học Bắc Texas, Hoa Kỳ), năm 2013 đã phát triển STRait Razor - một phần mềm

có thể phân tích dữ liệu giải trình tự thế hệ mới cho 44 STR, bao gồm 22 nhiễm sắc thể thường và nhiễm sắc thể Y. Bên cạnh đó, Van Neste và cộng sự (Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học dược phẩm, Đại học Ghent, Bỉ), năm 2014 đã sử dụng hệ thống MiSeq của Illumina, thiết lập cơ sở dữ liệu alen tham chiếu để phát hiện nguồn ADN đơn lẻ và các mẫu ADN hỗn hợp. Các tác giả này quan sát thấy, hầu hết các kết quả xác định kiểu gen locus STR là ổn định và đáng tin cậy.

Công nghệ NGS thế hệ mới có nhiều lợi thế, tiềm năng cho phân tích STR. Nó có năng suất cao, chi phí thấp, phát hiện đồng thời số lượng lớn các locus STR trên cả nhiễm sắc thể thường, nhiễm sắc thể giới tính và khả năng phân biệt các alen có độ dài tương tự. Do đó, công nghệ NGS thế hệ mới sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho việc xác định mẫu có ADN là hỗn hợp, phân tích các trường hợp có mối quan hệ cha - con phức tạp và cuối cùng làm tăng đáng kể hiệu quả, chi phí của các vụ việc pháp lí.

2.2. Phân tích mtADN:

Phân tích mtADN đã được chứng minh là một phương pháp hữu ích trong giám định các trường hợp liên quan đến lượng ADN có nồng độ thấp hoặc di truyền theo dòng mẹ cần được điều tra (do đặc điểm có cấu trúc bền vững hơn ADN hệ gen nhân, có nhiều bản sao, được thừa kế từ mẹ, tỉ lệ đột biến cao). Hiện tại, trong giám định pháp y, phân tích mtADN thường chỉ phát hiện các đa hình trong vùng siêu biến. Công nghệ NGS thế hệ mới có tiềm năng hỗ trợ rất nhiều trong việc phân tích toàn bộ trình tự mtADN.

Với việc tăng cường ứng dụng công nghệ NGS thế hệ mới trong các lĩnh vực khác nhau, chi phí của thiết bị và hóa chất giảm rõ rệt. Công nghệ NGS thế hệ mới cho phép phân tích đồng thời nhiều mẫu. Ví dụ, số lượng đĩa picotiter được sử dụng trong thiết bị GS-FLX đã tăng từ 2 lên 16 và mỗi kênh có thể phân tích đồng thời 192 mẫu sử dụng công nghệ định danh đa kênh trong nghiên cứu của Binladen và cộng sự (Trung tâm Di truyền cổ đại, Viện Sinh học, Đại học Copenhagen, Đan Mạch), năm 2017. Kỹ thuật mã hóa mỗi và sản xuất 256 mỗi được gắn thẻ để sử dụng song song nhiều giải trình tự, cho phép 256 mẫu được giải trình tự trong một lần chạy mẫu. Gunnarsdo và cộng sự (Viện Nhân chủng học tiến hóa Max Planck, Đức), năm 2011, sử dụng công nghệ NGS thế hệ mới để giải trình tự toàn bộ hệ gen ty thể của 109 cá thể người Philippines trong một lần chạy mẫu.

Công nghệ NGS thế hệ mới đã nghiên cứu thành phần "dị dưỡng" của mtDNA trên con người. Đó là thành phần phổ biến của các tế bào, thành phần dị dưỡng là heteroplasmy - một trong những

yếu tố ảnh hưởng đến quá trình phân tích kiểu gen của mtADN trong giám định pháp y. Việc phát hiện dị dưỡng ở cấp độ toàn bộ gen ty thể đã được hoàn thành bởi công nghệ NGS thế hệ mới, dựa trên độ chính xác, độ nhạy, thông lượng cao, chi phí thấp và thao tác đơn giản.

Năm 2011, một nghiên cứu vùng siêu biến đổi gen ty thể kiểm tra bằng cách sử dụng 454, hệ thống GS Junior, tác giả Mitchell M Holland và cộng sự (Đại học Pennsylvania, Hoa Kỳ) đã chứng minh, sự pha trộn tỉ lệ 2 nguồn ADN trong hỗn hợp mẫu thấp tới 1:250 có thể được phát hiện. Để so sánh trình tự các kiểu gen đơn bội ở cấp độ toàn bộ hệ gen ty thể, xác định bằng công nghệ NGS thế hệ mới với giải trình tự Sanger thông thường, tác giả Martin Mikkelsen và cộng sự (Đại học Copenhagen, Đan Mạch), năm 2014 nghiên cứu 64 mẫu có trình tự toàn bộ hệ gen ty thể đã được phân tích, cho thấy sự khác biệt < 0,02% nucleotide khi sử dụng 2 phương pháp này và khoảng 2/3 sự khác biệt được quan sát thấy nằm trong khu vực homopolymeric, vì những khu vực này dễ bị lỗi trình tự.

2.3. Phân tích nhiễm sắc thể Y:

Các điểm đa hình di truyền gen trên nhiễm sắc thể Y có vai trò quan trọng trong giám định pháp y, trong đó các đoạn đa hình trình tự lặp lại ngắn Y-STRs được ứng dụng trong giám định phân loại thành phần ADN của nam giới có trong loại mẫu bị lẫn từ nhiều người (như mẫu hiệp dâm tập thể) trong đó có ADN của nữ giới chiếm ưu thế; sử dụng trong các trường hợp xác định mối quan hệ huyết thống theo dòng bố.

Năm 2009, nhóm các nhà khoa học người Anh, Trung Quốc công bố nghiên cứu sử dụng công nghệ NGS thế hệ mới phân tích 10 triệu nucleotide đơn (SNP) trên nhiễm sắc thể Y khi so sánh giữa 2 người đàn ông có cùng tổ tiên và cách nhau 13 thế hệ, đã tìm ra được 4 khác biệt di truyền. Năm 2013, nghiên cứu phân tích đa hình nucleotide đơn trên nhiễm sắc thể Y, xác định được những khác biệt giữa 118 người không có họ hàng từ 109 vùng địa lí khác nhau, những khác biệt này dùng để phân biệt chủng tộc người trên thế giới, xây dựng cây phát sinh loài.

2.4. Phân tích di truyền ngoại gen:

Gần đây, một số nghiên cứu về di truyền ngoại gen ứng dụng trong giám định hình sự, di truyền ngoại gen khi phân tích trên hệ thống NGS thế hệ mới đã tìm ra các đặc tính phân biệt cặp song sinh cùng trứng, dự đoán được loại mô trên cơ thể con người, xác định tuổi của một người thông qua cấu hình methyl hóa ADN.

Phân tích đặc tính của các cặp sinh đôi cùng trứng là chủ đề nóng trong lĩnh vực khoa học hình

sự cũng như trong giám định pháp y. Phân tích đặc điểm di truyền thông thường như STR, mtADN, SNP trên hệ gen của những người sinh đôi cùng trứng là không thể phân biệt. Năm 2010, Tổ chức nghiên cứu sinh đôi cùng trứng TwinsUK London đã nghiên cứu di truyền ngoại gen bằng hệ thống NGS thế hệ mới và tìm ra sự khác biệt trong các tín hiệu di truyền ngoại gen từ 5.000 cặp sinh đôi. Kết quả nghiên cứu có tính ứng dụng cao trong giám định hình sự. Năm 2011, các nhà khoa học Trung Quốc nghiên cứu cấu hình methyl hóa ADN từ các mẫu máu của cặp song sinh cùng trứng khác biệt đáng kể với nhau, tương tự như ở các cá thể không liên quan cùng giới tính. Những kết quả nghiên cứu này chỉ ra rằng, sự methyl hóa ADN là một dấu hiệu sinh học trong việc phân biệt cá thể giữa các cặp song sinh cùng trứng.

Năm 2016, các nhà khoa học thuộc Khoa Pháp y, Đại học Yonsei, Đại học Y Seoul, Cục pháp y quốc gia Seoul, Hàn Quốc đã xác định một số những thay đổi methyl hóa ADN liên quan đến tuổi trong các loại mô và tế bào khác nhau. Một số nghiên cứu đã báo cáo các mô hình dự đoán tuổi có thể được áp dụng trên nhiều loại mô, sử dụng máu hoặc nước bọt với độ chính xác dự đoán (< 5 năm). Cho đến nay, sự methyl hóa ADN được coi là dấu hiệu sinh học tiên đoán tuổi hứa hẹn nhất; xác định cấu hình methyl hóa ADN khác nhau của các tế bào hoặc loại mô khác nhau đã được đề xuất để phân biệt các loại dịch cơ thể khác nhau, các loại mô khác nhau của cơ thể.

2.5. Phân tích gen di truyền gây đột tử:

Đột tử do tim (Sudden Cardiac Death - SCD) được định nghĩa là tử vong đột ngột, bất ngờ xuất hiện trong vòng 1 giờ từ khi khởi phát triệu chứng hoặc xuất hiện ở các bệnh nhân được xác định tử vong trong phạm vi 24 giờ khi không có triệu chứng, có khả năng do rối loạn nhịp tim hoặc suy sụp huyết động. Các hội chứng rối loạn nhịp tim di truyền, liên quan đến gen di truyền gây bệnh và chết tim đột ngột như: Long QT syndrome, Brugada syndrome, Cardiac conduction system disease, Short QT syndrome, Hypertrophic cardiomyopathy... do các gen quy định: KCNQ1, KCNH2, SCN5A, KCNH2, KCNJ2, MYBPC3, MYH7, TNNI3, TNNT2, TPM1...

Đột tử tim là một vấn đề lớn của lĩnh vực sức khỏe cộng đồng, dựa trên những tiến bộ của công nghệ NGS thế hệ mới, có thể phân tích kiểu gen di truyền gây bệnh với tốc độ nhanh và tính chính xác cao, cho phép áp dụng rộng rãi để xác định các hội chứng rối loạn nhịp tim di truyền, với mục đích là quản lý bệnh nhân, trong tuyển quân, tìm được nguyên nhân đột tử trong lĩnh vực pháp y khi có gen mang hội chứng rối loạn nhịp tim.

3. KẾT LUẬN.

Công nghệ NGS thế hệ mới đã phát triển mạnh ở các nước có nền khoa học tiên tiến như Hoa Kỳ, Hàn Quốc, Trung Quốc.. Công nghệ này mở ra những cơ hội để chúng ta khám phá nhiều lĩnh vực khác nhau, cho phép các nhà khoa học nghiên cứu về hệ thống sinh học ở mức độ chưa từng đạt được từ trước tới nay. Cùng với sự phát triển của công nghệ, các phương thức chuẩn bị mẫu và công cụ phân tích dữ liệu cũng được tăng cường mạnh mẽ, làm giảm giá thành quá trình phân tích ADN, tăng năng suất và tăng chất lượng cho các phân tích. Vì vậy, NGS thế hệ mới đã trở thành công nghệ chủ chốt của nghiên cứu khoa học cơ bản và nhanh chóng trở thành công cụ nghiên cứu về di truyền học và các nghiên cứu liên quan khác.

Ở Việt Nam, ứng dụng công nghệ NGS thế hệ mới trong giám định pháp y, giám định hình sự đang bắt đầu được triển khai. Những hợp tác về khoa học công nghệ với các nước phát triển như Hoa Kỳ, Hà Lan trong nghiên cứu công nghệ NGS thế hệ mới đang mở ra những cơ hội ứng dụng thực tiễn. Phân tích ADN trong lĩnh vực pháp y, giám định hình sự là vấn đề khó khăn. Công nghệ NGS thế hệ mới kì vọng sẽ đáp ứng và trở thành một phương pháp thường quy, dễ tiếp cận trong thực hành tại các labo sinh học phân tử trong nước. Tại Viện Pháp y Quân đội, công nghệ NGS thế hệ mới cũng đang từng bước được nghiên cứu ứng dụng trong phân tích ADN. Trong tương lai không xa, nhiều cơ sở giám định ADN trong nước, trong đó có Viện Pháp y Quân đội sẽ làm chủ được công nghệ NGS thế hệ mới với nhiều ứng dụng hiệu quả, chất lượng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Li M, Schonberg A, Schaefer M, Schroeder R, Nasidze I, Stoneking M (2010), "Detecting heteroplasmy from high-throughput sequencing of complete human mitochondrial DNA genomes", *Am J Hum Genet*, 87: 237-48.
2. Tang S, Huang T (2010), "Characterization of mitochondrial DNA heteroplasmy using a parallel sequencing system", *Biotechniques*, 48: 287-96.
3. Holland M.M, McQuillan M.R, O'Hanlon K.A (2011), "Second generation sequencing allows for mtDNA mixture deconvolution and high resolution detection of heteroplasmy", *Croat Med J*, 52: 299-313.
4. Parson W, Strobl C, Huber G, Zimmermann B, Gomes S.M, Souto L, et al (2013), "Evaluation of next generation mtGenome sequencing using the Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM)", *Forensic Sci Int Genet*, 7: 543-9. □