

# Mục lục

**“NGƯỜI THẦY THUỐC GIỎI ĐỒNG THỜI  
PHẢI LÀ NHƯ NGƯỜI MẸ HIỀN”**  
*Chủ tịch Hồ Chí Minh*

**SỐ 339 (9-10/2019)**

## **HỌC TẬP VÀ LÀM THEO TƯ TƯỞNG, ĐẠO ĐỨC, PHONG CÁCH HỒ CHÍ MINH**

- 3.** Lời Bác Hồ dạy ngày này năm xưa  
*Ban Biên tập*
- 4.** Tầm gương sáng trong công tác phòng chống dịch, bảo vệ sức khỏe bộ đội  
*Nguyễn Thị Thanh Phương*

## **CHỈ ĐẠO NGHIỆP VỤ**

- 6.** Kết quả hội thi đội phẫu thuật cứu chữa bước đầu các trung đoàn bộ binh (bộ binh cơ giới) đủ quân toàn quân năm 2019  
*Thiếu tướng PGS.TS. Nguyễn Xuân Kiên*
- 9.** Định hướng một số nội dung hoạt động được lâm sàng tại các bệnh viện quân đội  
*Thượng tá TS. Phạm Xuân Chung*

## **NGHIÊN CỨU - TRAO ĐỔI**

- 11.** Nghiên cứu chế tạo và đánh giá hiệu quả một số trang bị pha chế thuốc tiêm truyền tại trạm quân y sư đoàn  
*TS. Nguyễn Minh Tuấn, ThS. Tạ Chí Bình, BS. Đặng Văn Hùng*
- 14.** Đáp ứng y tế trong thảm họa và nhu cầu xây dựng mô hình đội quân y đáp ứng y tế cứu trợ thảm họa trong tình hình mới  
*ThS. Lương Trung Hiếu, ThS. Trịnh Lê Nam*
- 17.** Ngộ độc methanol và ca lâm sàng điều trị tại Bệnh viện Quân y 110  
*BSCKI. Nguyễn Đức Chiến, BSCKII. Ngô Hữu Long*
- 20.** Nhận xét bước đầu tai biến, biến chứng phẫu thuật nội soi điều trị thoát vị đĩa đệm cột sống thắt lưng tại Bệnh viện Quân y 354  
*BSCKII. Lê Trung Nghĩa, BSCKII. Phạm Văn Quỳnh*
- 24.** Đánh giá kết quả phẫu thuật u khoang bên họng có sử dụng dao siêu âm  
*BSCKI. Phạm Văn Đức, PGS.TS. Phạm Tuấn Cảnh*
- 28.** Rác thải nhựa và một số vấn đề xử lý rác thải nhựa trong hoạt động y tế  
*PGS.TS. Nguyễn Minh Hiếu*
- 32.** Đánh giá các yếu tố nguy cơ và tỉ lệ nhiễm virus viêm gan E ở 150 phụ nữ mang thai  
*ThS. Phạm Xuân Huy, TS. Đặng Thành Chung, PGS.TS. Nguyễn Linh Toàn, ThS. Nguyễn Cẩm Thạch*
- 36.** Đánh giá độ dày lớp nội trung mạc động mạch đùi nông trên 104 bệnh nhân đái tháo đường típ 2  
*BS. Nguyễn Thị Thu Thủy, BS. Nguyễn Thị Hạnh, PGS.TS. Nguyễn Minh Núi*
- 39.** Đánh giá vai trò của  $^{18}\text{F}$ FDG-PET/CT ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ giai đoạn tiến triển  
*BS. Phan Quang Quân*
- 45.** Nghiên cứu một số đặc điểm hình thái hài cốt liệt sĩ tại lô E, nghĩa trang liệt sĩ tỉnh Đắk-Lắk  
*TS. Nguyễn Văn Lợi, ThS. Nguyễn Tất Thọ, ThS. Phạm Hồng Thao, PGS.TS. Nguyễn Xuân Kiên*

# ĐÁNH GIÁ QUY TRÌNH PHÂN TÍCH ADN TY THỂ TRONG XÁC ĐỊNH DANH TÍNH HÀI CỐT LIỆT SĨ CÒN THIẾU THÔNG TIN

ThS. NGUYỄN LÊ CÁT, ThS. NGUYỄN THỊ NGỌC ÁNH,  
ThS. NGUYỄN THỊ HOA, CN. ĐỖ THỊ XẢO MAI  
Viện Pháp y Quân đội

Phản biện khoa học: TS. NGUYỄN VĂN LỢI  
Phó Viện trưởng Viện Pháp y Quân đội

**TÓM TẮT:** Phân tích ADN ty thể với 91 mẫu hài cốt liệt sĩ còn thiếu thông tin (thu thập tại Lô E, Nghĩa trang liệt sĩ tỉnh Đắk-Lắk và Nghĩa trang liệt sĩ huyện Cư M'Gar, tỉnh Đắk-Lắk) cùng 172 mẫu thân nhân liệt sĩ liên quan. Kết quả: phân tích thành công 61/91 mẫu hài cốt liệt sĩ (67,03%) và 172/172 mẫu thân nhân liệt sĩ (100%); xác định được 34 cặp mẫu hài cốt liệt sĩ và thân nhân liệt sĩ có quan hệ huyết thống theo dòng mẹ.

**Từ khóa:** Phân tích ADN ty thể, hài cốt liệt sĩ, nhận dạng.

**ABSTRACT:** Mitochondrial DNA analysis with 91 samples of martyrs' remains missing at Lot E, Martyrs cemetery in DakLak province, Martyrs cemetery in Cu M'Gar district, DakLak province and 172 samples of relatives of martyrs. The results: successful analysis of 61/91 martyrs' remains (67.03%), 172/172 samples of relatives of martyrs (100%); 34 pairs of martyrs' remains and relatives of martyrs related to the mother line were identified.

**Keywords:** Analysis of mitochondrial DNA, martyrs' remains, identification.

Chịu trách nhiệm nội dung: ThS. Nguyễn Lê Cát, Email: nguyenlecat@gmail.com

Ngày nhận bài: 01/10/2019; mời phản biện khoa học: 11/10/2019; chấp nhận đăng: 25/10/2019.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lĩnh vực nhận dạng người trong pháp y đã được nghiên cứu, áp dụng trên thế giới và trong nước, trong đó kỹ thuật phân tích ADN là một khâu quan trọng của quy trình giám định. Nhiều nước có nền khoa học tiên tiến đã thành lập các trung tâm nghiên cứu chuyên sâu về chuyên ngành nhận dạng và phát triển kỹ thuật phân tích ADN đến tầm ảnh hưởng toàn thế giới. Khoa học nhận dạng người trong pháp y, đặc biệt là giám định nhận dạng hài cốt cũng đã được nghiên cứu và áp dụng tại Việt Nam, đặc biệt kỹ thuật phân tích ADN rất phát triển trong những năm gần đây.

Từ kết quả nghiên cứu xây dựng quy trình thu thập, xử lý dữ liệu thông tin về liệt sĩ còn thiếu thông tin, chúng tôi đã thu thập, giám định hình thái hài cốt liệt sĩ (HCLS) và lấy mẫu sinh phẩm, phân tích ADN, xác định danh tính HCLS. Trong 116 ngôi mộ liệt sĩ thiếu hoàn toàn thông tin (gồm 98 ngôi mộ tại Lô E, Nghĩa trang liệt sĩ tỉnh Đắk-Lắk và 8 ngôi mộ tại Nghĩa trang liệt sĩ huyện Cư M'Gar, tỉnh Đắk-Lắk), qua thu thập thông tin chúng tôi xác định được có 59 ngôi mộ liên quan đến liệt sĩ của Trung đoàn 25, B3.

Trong bài báo này, chúng tôi đánh giá quy trình phân tích ADN ty thể trong xác định danh tính HCLS còn thiếu thông tin, được xây dựng trong quá trình thực hiện đề án Nghiên cứu xây dựng quy trình xác định danh tính hài cốt liệt sĩ còn thiếu thông tin.

## 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu:

- Mẫu HCLS: 91 mẫu răng, xương thu thập tại các mộ liệt sĩ Lô E, Nghĩa trang liệt sĩ tỉnh Đắk-Lắk và Nghĩa trang liệt sĩ huyện Cư M'Gar, tỉnh Đắk-Lắk.

- Mẫu thân nhân liệt sĩ (TNLS): 172 mẫu máu, tóc, niêm mạc miệng, móng thu thập từ 81 gia đình TNLS.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu:

- Thiết kế nghiên cứu: thực nghiệm, tiến cứu.  
- Phương pháp lựa chọn mẫu: lựa chọn toàn bộ có chủ định.

- Địa điểm nghiên cứu: labo sinh học phân tử, Khoa Xét nghiệm, Viện Pháp y Quân đội.

- Nội dung nghiên cứu:

+ Tách chiết ADN từ mẫu HCLS bằng phương pháp hữu cơ.

+ Tách chiết ADN từ mẫu TNLS bằng Chelex và máy tách chiết tự động Automate với kit PrepFiler® Express Forensic DNA Extraction (code 4441352).

+ Định lượng ADN bằng kit Quantifiler™ Trio trên máy Realtime 7500.

+ PCR: sử dụng các cặp mồi phù hợp và chu trình nhiệt phụ thuộc vào cặp mồi được sử dụng;

sử dụng máy nhân gen Veriti thermal cycle Applied BioSystem, ProFlex PCR System.

+ Điện di kiểm tra sản phẩm trên gel agarose 2%.

+ Sequencing: tinh sạch sản phẩm PCR; thực hiện phản ứng PCR sequencing; tinh sạch sản phẩm PCR sequencing; sử dụng hệ thống giải trình tự bằng mao quản 3500 HID.

- Đọc và phân tích kết quả: sử dụng phần mềm Sequencing analysis 6; Sequencer v5.1; sử dụng trình tự chuẩn hệ gen ty thể rCRS (revised Cambridge Reference Sequence).

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.

#### 3.1. Kết quả tách chiết ADN từ mẫu HCLS:

Bảng 1. Kết quả tách chiết ADN từ mẫu HCLS.

| Loại mẫu | Số lượng | Tách chiết được | Không tách chiết được | p    |
|----------|----------|-----------------|-----------------------|------|
| Răng     | 57       | 40 (70,18%)     | 17 (29,82%)           | 0,41 |
| Xương    | 34       | 21 (61,76%)     | 13 (38,24%)           |      |
| Cộng     | 91       | 61 (67,03%)     | 30 (32,97%)           |      |

Tỉ lệ tách chiết được ADN từ mẫu HCLS là 67,03%; tách chiết được ADN từ mẫu răng (70,18%) cao hơn ở mẫu xương (61,76%); sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

#### 3.2. Kết quả tách chiết ADN từ mẫu TNLS:

Bảng 2. Kết quả tách chiết ADN từ mẫu TNLS.

| Loại mẫu | Phương pháp tách chiết |          | Thành công     |
|----------|------------------------|----------|----------------|
|          | Chelex                 | Automate |                |
| Máu      | 50                     | 24       | 74/74 (100%)   |
| Tóc      | 49                     | 24       | 73/73 (100%)   |
| Niêm mạc | 0                      | 24       | 24/24 (100%)   |
| Móng     | 1                      | 0        | 1/1 (100%)     |
| Cộng     | 100                    | 72       | 300/300 (100%) |

Tách chiết thành công tất cả các mẫu TNLS đã lựa chọn bằng Chelex và máy tách chiết tự động Automate.

#### 3.3. Định lượng ADN sau tách chiết:

Bảng 3. Nồng độ ADN trung bình của mẫu HCLS và TNLS.

| Loại mẫu | Số mẫu | Nồng độ ADN trung bình của mẫu |              |           |      |      |
|----------|--------|--------------------------------|--------------|-----------|------|------|
|          |        | SMALL (ng/μl)                  | LARG (ng/μl) | Y (ng/μl) | CT   | DI   |
| HCLS     | 91     | 0,00021                        | 0,0001       | 0,0001    | 34   | 2,1  |
| TNLS     | 172    | 0,1721                         | 0,1842       | 0,1798    | 28,5 | 0,93 |

(SMALL: ADN kích thước ngắn; LARGE: ADN kích thước lớn; Y: ADN trên nhiễm sắc thể Y; IPC-CT: Internal PCR Control CT - kiểm soát chất ức chế phản ứng PCR; DI: Degradation Index - chỉ số ADN bị phá hủy).

Định lượng ADN tách chiết được từ mẫu HCLS bằng kit QuantifilerTM Trio trên máy 7500 đều cho kết quả không khả quan (các chỉ số quá

thấp, dưới ngưỡng hoặc bằng không). Định lượng ADN tách chiết được từ mẫu TNLS đều cho kết quả tốt (các chỉ số ổn định ở mức trung bình hoặc cao).

#### 3.4. PCR, điện di kiểm tra sản phẩm PCR trên gel agarose:

- 61/91 mẫu HCLS cho kết quả dương tính, băng điện di cho thấy ADN được khuếch đại đặc hiệu, đủ điều kiện để thực hiện các kĩ thuật phân tích tiếp theo.

- 30/91 mẫu HCLS cho kết quả âm tính, không đủ điều kiện để thực hiện các kĩ thuật phân tích tiếp theo.

- 172/172 mẫu TNLS cho kết quả dương tính, băng điện di cho thấy ADN được khuếch đại đặc hiệu, đủ điều kiện để thực hiện các kĩ thuật phân tích tiếp theo.

#### 3.5. Tinh sạch sản phẩm PCR, giải trình tự:

- 61 mẫu HCLS cho kết quả dương tính trên điện di được tinh sạch sản phẩm PCR, giải trình tự, phân tích kết quả thành công.

- 172 mẫu TNLS cho kết quả dương tính trên điện di được tinh sạch sản phẩm PCR, giải trình tự, phân tích kết quả thành công.

#### 3.6. Đọc kết quả:

Bảng 4. Số lượng và vị trí biến đổi vùng HV1, HV2, HV3

| Vùng biến đổi | Số lượng biến đổi | Vị trí biến đổi so với rCRS |
|---------------|-------------------|-----------------------------|
| HV1           | 2.232 (54,40%)    | 115 (67,25%)                |
| HV2           | 1.614 (39,34%)    | 51 (29,83%)                 |
| HV3           | 257 (6,26%)       | 5 (2,9%)                    |
| Cộng          | 4.103 (100%)      | 171 (100%)                  |

#### 3.7. Phân tích kết quả:

Xác định được 34 cặp mẫu HCLS và TNLS có quan hệ huyết thống theo dòng mẹ.

Bảng 5. Mẫu HCLS và TNLS có quan hệ huyết thống theo dòng mẹ.

| TT | Mã số hồ sơ | Kí hiệu mẫu HCLS | Kí hiệu mẫu TNLS |
|----|-------------|------------------|------------------|
| 1  | M12-H2-LE   | DL09.Q           | DL40.K           |
| 2  | M16-H2-LE   | DL11.Q           | DL55.K           |
| 3  | M4-H4-LE    | DL23.Q           | DL09.K           |
| 4  | M6-H4-LE    | DL25.Q           | DL44.K           |
| 5  | M9-H4-LE    | DL27.Q           | DL57.K           |
| 6  | M12-H4-LE   | DL29.Q           | DL08.K           |
| 7  | M14-H4-LE   | DL30.Q           | DL18.K           |
| 8  | M15-H4-LE   | DL31.Q           | DL67.K           |
| 9  | M2-H5-LE    | DL36.Q           | DL65.K           |
| 10 | M3-H5-LE    | DL37.Q           | DL52.K           |
| 11 | M4-H5-LE    | DL38.Q           | DL32.K           |

|    |             |                  |                  |
|----|-------------|------------------|------------------|
| 12 | M14-H5-LE   | DL47.Q           | DL14.K           |
| 13 | M16-H5-LE   | DL48.Q           | DL21.K           |
| 14 | M17-H5-LE   | DL49.Q           | DL34.K           |
| TT | Mã số hồ sơ | Kí hiệu mẫu HCLS | Kí hiệu mẫu TNLS |
| 15 | M1-H6-LE    | DL51.Q           | DL01.K           |
| 16 | M4-H6-LE    | DL53.Q           | DL31.K           |
| 17 | M6-H6-LE    | DL54.Q           | DL43.K           |
| 18 | M7-H6-LE    | DL55.Q           | DL49.K           |
| 19 | M8-H6-LE    | DL56.Q           | DL20.K           |
| 20 | M9-H6-LE    | DL57.Q           | DL70.K           |
| 21 | M11-H6-LE   | DL58.Q           | DL23.K           |
| 22 | M12-H6-LE   | DL59.Q           | DL22.K           |
| 23 | M14-H6-LE   | DL61.Q           | DL19.K           |
| 24 | M18-H6-LE   | DL63.Q           | DL37.K           |
| 25 | M3-H7-LE    | DL66.Q           | DL17.K           |
| 26 | M7-H7-LE    | DL70.Q           | DL02.K           |
| 27 | M8-H7-LE    | DL71.Q           | DL41.K           |
| 28 | M11-H7-LE   | DL73.Q           | DL69.K           |
| 29 | M13-H7-LE   | DL75.Q           | DL56.K           |
| 30 | M8-H2-LA    | DL82.Q           | DL42.K           |
| 31 | M9-H2-LA    | DL83.Q           | DL07.K           |
| 32 | M9-H3-LB    | DL84.Q           | DL26.K           |
| 33 | M14-H3-LB   | DL85.Q           | DL64.K           |
| 34 | M17-H4-LB   | DL86.Q           | DL54.K           |

#### 4. BÀN LUẬN.

##### 4.1. Tách chiết ADN ty thể từ mẫu HCLS bằng phương pháp hữu cơ:

Bảng 1 cho thấy tỉ lệ tách chiết được ADN từ mẫu HCLS là 67,03%; trong đó, tách chiết được từ mẫu răng (70,18%) cao hơn từ mẫu xương (61,76%); khác biệt không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ ; OR = 0,69; 95%CI (0,26-1,86).

Kết quả này tốt hơn rất nhiều so với kết quả phân tích ADN ty thể từ mẫu HCLS do các chuyên gia của Phòng thí nghiệm nhận dạng ADN quân đội Mỹ (AFDIL) phối hợp thực hiện tại Viện Pháp y Quân đội với 20% mẫu hài cốt được tách chiết thành công. Kết quả này cũng tốt hơn so với kết quả phân tích ADN ty thể từ mẫu HCLS do các chuyên gia của Cơ quan nhân chủng học Argentina (EAAF) phối hợp thực hiện tại Viện Pháp y Quân đội với 65,5% mẫu HCLS được tách chiết thành công.

Quá trình thực hiện nghiên cứu này, chúng tôi đã cải tiến nhiều công đoạn, như xử lí mẫu qua 10 bước (AFDIL và EAAF chỉ xử lí qua 3 bước); chú trọng và bổ sung phương pháp khử khoáng; thay đổi đệm tách chiết, tinh sạch loại bỏ protein. Các mẫu HCLS ở Việt Nam có chất lượng xấu

hơn, nên việc cải tiến quy trình ở các bước trên đã đem lại những kết quả khả quan, được các chuyên gia Mỹ và Argentina đánh giá rất cao.

Qua kết quả lấy mẫu và phân tích ADN, chúng tôi thấy kết quả phân tích các mẫu lưu tại đơn vị đã lấy trước đó có chất lượng tốt hơn nhiều so với mẫu lấy tại NTLS tỉnh Đắk-Lắk. Điều này chứng minh, nếu mẫu HCLS được chôn cất ban đầu tốt, ít di chuyển, thời gian lấy mẫu sớm, bảo quản mẫu tốt sẽ cho kết quả phân tích ADN khả quan hơn. Kết quả trên cũng cho thấy phương pháp tách chiết ADN ty thể từ mẫu HCLS bằng phương pháp hữu cơ là phù hợp cho các mẫu HCLS tại Việt Nam (do chi phí phù hợp, độ nhạy cao, sản phẩm có độ tinh sạch tốt, đáp ứng và tạo thuận lợi cho các kĩ thuật tiếp theo). Theo chúng tôi, kĩ thuật tách chiết ADN có ý nghĩa quyết định cho sự thành công hay thất bại trong xác định danh tính HCLS còn thiếu thông tin. Các mẫu HCLS được tách chiết bằng phương pháp hữu cơ cho kết quả phân tích ADN ty thể đầy đủ trên cả ba vùng HV1, HV2, HV3, đáp ứng được yêu cầu xác định danh tính HCLS.

Tuy nhiên, một số mặt hạn chế cần được lưu ý: đây là phương pháp phức tạp, mất nhiều thời gian, phải làm thủ công nhiều công đoạn nên dễ xảy ra nhầm lẫn. Đánh giá này phù hợp với các nghiên cứu về phân tích ADN ty thể trong giám định nhận dạng trên thế giới.

##### 4.2. Tách chiết ADN ty thể từ mẫu TNLS:

Trong bảng 2, chúng tôi lựa chọn tách chiết 172 mẫu TNLS liên quan và tất cả các mẫu đều được tách chiết thành công. Như vậy, các mẫu TNLS đều được thu và bảo quản đúng quy trình. Việc tách chiết ADN bằng phương pháp Chelex là lựa chọn hợp lí do phương pháp này có giá thành phù hợp, thao tác đơn giản, thời gian tách chiết ngắn.

Ngoài ra, phương pháp tách chiết ADN từ mẫu TNLS bằng máy tách chiết tự động Automate với kit PrepFiler® Express Forensic DNA Extraction cũng cho kết quả tốt. Như vậy, tùy điều kiện cơ sở vật chất, trang bị, chi phí mà có thể lựa chọn phương pháp tách chiết ADN phù hợp.

##### 4.3. Định lượng ADN sau tách chiết:

Chúng tôi tiến hành thử nghiệm định lượng ADN sau tách chiết từ mẫu HCLS bằng kit Quantifiler™ Trio trên máy 7500 đều cho kết quả không khả quan (bảng 3). Kết quả không có ý nghĩa cho các kĩ thuật phân tích tiếp theo. Vì vậy, không nên áp dụng kỹ thuật này trong định lượng ADN tách chiết được từ mẫu HCLS. Theo các chuyên gia, bộ kit Quantifiler™ Trio chỉ thiết kế đặc hiệu khi phân tích ADN nhân.

Thử nghiệm định lượng ADN tách chiết được từ mẫu TNLS bằng kit Quantifiler™ Trio trên máy 7500 đều cho kết quả tốt. Các chỉ số đều ổn định ở mức trung bình hoặc cao (bảng 3). Vì vậy, cũng

không cần thiết phải định lượng ADN sau tách chiết với các mẫu TNLS để định hướng cho các kĩ thuật phân tích tiếp theo do nồng độ ADN định lượng được có hàm lượng và các chỉ số ổn định.

#### 4.4. Kĩ thuật PCR:

Kĩ thuật PCR (hay còn gọi là kĩ thuật nhân bản gen in vitro) do Kary Mullis và đồng tác giả phát minh vào năm 1985, được xem là một phát minh có tính đột phá lớn, tạo ra cuộc đại cách mạng trong lĩnh vực nghiên cứu sinh học phân tử. Về nguyên tắc, kĩ thuật PCR phối hợp khả năng lai đặc hiệu của ADN với khả năng tổng hợp ADN in vitro của enzyme DNA polymerase để nhân bản in vitro các đoạn gen lên hàng triệu lần qua một loạt các chu kỳ lặp lại. Tuy nhiên, do enzyme DNA polymerase hoạt động cần các mồi (primer) nên người ta phải biết được các trình tự nucleotide ở 2 đầu ADN để thiết kế các cặp mồi đặc hiệu.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã lựa chọn các cặp mồi phù hợp cho phân tích ADN ty thể vùng HV1, HV2, HV3 với HCLS. Việc điều chỉnh nhiệt độ gắn mồi và nồng độ mồi cũng là yếu tố quyết định lượng sản phẩm thu được. Để tránh hiện tượng primer-dimer, gắn nhầm vị trí trên khuôn mẫu, nồng độ mồi không được quá thấp để tránh làm giảm lượng sản phẩm tạo thành. Do thời gian và khí hậu nên mẫu HCLS có chất lượng xấu, ADN ty thể không còn nguyên vẹn, việc lựa chọn mồi phù hợp là yếu tố quan trọng, quyết định sự thành công của phản ứng PCR. Để bảo đảm độ dài của đoạn phân tích, chúng tôi thường sử dụng các đoạn mồi ngắn, sau đó ghép trình tự để phân tích và nhận định kết quả.

#### 4.5. Điện di trên gel agarose:

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá sự thành công, thất bại của kĩ thuật tách chiết với tất cả các mẫu ADN tách chiết được từ mẫu HCLS, mẫu TNLS bằng kĩ thuật PCR và điện di kiểm tra sản phẩm sau PCR. Do vậy, PCR và điện di kiểm tra sản phẩm sau PCR với tất cả các mẫu ADN tách chiết được từ mẫu HCLS, mẫu TNLS là kĩ thuật nên được sử dụng do các kĩ thuật khác chưa đáp ứng được. Kết quả của kĩ thuật này là tiêu chuẩn đánh giá sự thành công của quá trình tách chiết ADN.

#### 4.6. Giải trình tự, phân tích, nhận định kết quả:

Các mẫu ADN được kiểm tra bằng kĩ thuật điện di trên gel agarose cho kết quả dương tính trong nghiên cứu này được tinh sạch, giải trình tự, phân tích và nhận định kết quả thành công. Đây là các kĩ thuật có quy trình được thiết lập trên các máy và phần mềm phân tích tự động bằng các bộ kit đã được tối ưu hóa. Vì vậy, chúng tôi không bàn luận thêm về các kĩ thuật này. Trong quá trình nghiên cứu xây dựng quy trình, qua kinh nghiệm thực tiễn được đúc kết trong quá trình xác định danh tính HCLS, chúng tôi có thay đổi một số hóa chất, bộ kit để tối ưu hóa sản phẩm và phù hợp với điều kiện Việt Nam.

#### 4.7. Giá trị của vùng HV1, HV2, HV3 trong xác định danh tính HCLS:

Bảng 4 cho thấy, các biến đổi của ADN ty thể có ý nghĩa trong xác định HCLS chủ yếu tập trung ở vùng HV1, ít hơn ở vùng HV2 và rất ít biến đổi ở vùng HV3.

Từ kết quả này, chúng tôi thấy vùng HV1, HV2 có ý nghĩa trong giám định nhận dạng do đa dạng về số lượng và vị trí biến đổi so với trình tự chuẩn. HV3 không có nhiều ý nghĩa trong nhận dạng HCLS do không có nhiều biến đổi. Vì vậy, cần ưu tiên phân tích vùng HV1 và HV2 trong giám định xác định danh tính HCLS; chỉ phân tích thêm vùng HV3 khi kết quả phân tích vùng HV1 và HV2 chưa đáp ứng được yêu cầu nhận định kết quả.

#### 5. KẾT LUẬN.

Phân tích ADN ty thể với 91 mẫu HCLS còn thiếu thông tin, thu thập tại Lô E, Nghĩa trang liệt sĩ tỉnh Đắk-Lắk và Nghĩa trang liệt sĩ huyện Cư M'Gar, tỉnh Đắk-Lắk cùng 172 mẫu TNLS liên quan, chúng tôi thu được kết quả: phân tích thành công 61/91 mẫu HCLS (67,03%) và 172/172 (100%) mẫu TNLS; xác định được 34 cặp mẫu HCLS và TNLS có quan hệ huyết thống theo dòng mẹ.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Nguyễn Thị Ngọc Ánh (2018), *Xác định một số đột biến điểm trong vùng D-loop có tần suất đặc trưng cho người Việt Nam*, Luận văn thạc sĩ sinh học.
2. Phạm Hồng Thao (2015), *Nghiên cứu tần suất biến đổi nucleotide vùng HV1 - DNA ty thể người Việt Nam, ứng dụng trong giám định nhận dạng*, Luận văn thạc sĩ y học.
3. Võ Thị Hương Lan (1999), *Kĩ thuật PCR*, Trung tâm Công nghệ sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội.
4. Anderson S et al (1998), "Sequence and organization of the human mitochondrial genome", *Nature*, vol. 325, pp. 457-465.
5. Andrews R.M, Kubaka I, Chinnery P.E et al (1999), "Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA", *Nature Genetics*, 23, pp. 147.
6. Bodenteich A, Mitchell L.G, Merrill C.R (1991), "A lifetime of retinal light exposure does not appear to increase mitochondrial mutations", *Gene*. 108, pp. 305-310.
7. Cann R.L, Stoneking M, Wilson A.C (1987), "Mitochondrial DNA and human evolution", *Nature*, 325, 31.
8. Ivanova R, Astridinis A, Lepage V et al (1999), "Polymorphism of mitochondrial DNA in Vietnamese population", *European Journal of immunogenetics*, 26, pp. 417-422.
9. Servidei S (2002), *Mitochondrial encephalomyopathies: gene mutation*, *Neuromuscul. Disord.*, 12, 224. □