

Phát hiện đột biến mới trên gen *OCA2* và chẩn đoán di truyền tiền lâm tở bệnh bạch tạng tuýp 2 (oculocutaneous albinism 2 - *OCA2*)

Triệu Tiên Sang^{1*}, Trần Văn Khoa¹, Nguyễn Văn Phong¹, Lê Trọng Tuấn², Lê Văn Hải³, Nguyễn Thị Nhung^{4*}

¹Bộ môn Sinh học và Di truyền Y học, Học viện Quân y, 160 Phùng Hưng, phường Phúc La, quận Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

²Trung tâm Hỗ trợ Sinh sản, Bệnh viện An Thịnh, 496 Bạch Mai, phường Trương Định, quận Bạch Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học Y Hà Nội (Phân hiệu Thanh Hoá), số 722 đường Quang Trung 3, phường Đông Vệ, TP Thanh Hóa, tỉnh Thanh Hóa, Việt Nam

⁴Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Ngày nhận bài 7/11/2022; ngày chuyển phân biên 10/11/2022; ngày nhận phân biên 28/11/2022; ngày chấp nhận đăng 1/12/2022

Tóm tắt:

Bệnh bạch tạng (oculocutaneous albinism - OCA) là một nhóm các rối loạn bẩm sinh di truyền gen lặn với đặc trưng là sự rối loạn tổng hợp sắc tố melanin. OCA hiện nay được phân loại thành 7 tuýp khác nhau, trong đó *OCA2* (OMIM 203200) được xếp hạng là tuýp bạch tạng phổ biến thứ hai trên thế giới và chiếm gần 30% các trường hợp OCA. Hiện nay, chưa có phương pháp nào để chữa bệnh triệt để. Chẩn đoán di truyền trước chuyển phôi là phương pháp dự phòng bệnh hiệu quả nhất, giúp những gia đình mang gen bệnh có thể sinh được con khỏe mạnh và hoàn toàn không mang gen bệnh. Mục tiêu nghiên cứu: Xây dựng quy trình và tiến hành chẩn đoán trước chuyển phôi đột biến gen *OCA2* gây OCA2 cho các phôi của một gia đình mang gen bệnh. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Đối tượng nghiên cứu là mẫu máu của 4 thành viên thuộc một gia đình có thành viên mắc OCA gồm bố, mẹ và 2 người con gái; 6 mẫu sinh thiết phôi ngày 5 của cặp vợ chồng này. Các thành viên trong gia đình tham gia nghiên cứu được giải trình tự gen thế hệ mới (NGS) khảo sát đột biến nhóm gen gây OCA. Dựa trên kết quả xác định đột biến bằng giải trình tự NGS để thiết kế mồi cho phản ứng PCR khuếch đại đoạn trình tự chứa đột biến. Sau đó kết hợp phương pháp giải trình tự Sanger, phân tích di truyền liên kết để phát hiện đột biến gây bệnh trên các mẫu sinh thiết phôi sau nhân bản toàn bộ hệ gen (WGA). Kết quả nghiên cứu: Nhóm nghiên cứu đã phát hiện 1 đột biến mới là NM_000275.3:c.2323G>A (NP_000266.2: p.Gly775Ser) trên exon 22 của gen *OCA2* và tiến hành chẩn đoán trước chuyển phôi cho 6 phôi của một gia đình mang gen đột biến *OCA2* gây OCA2, kết quả có 3 phôi bệnh, 2 phôi bình thường và 1 phôi mang gen bệnh.

Từ khóa: bệnh bạch tạng, chẩn đoán di truyền tiền lâm tở, gen *OCA2*.

Chỉ số phân loại: 3.1

1. Đặt vấn đề

OCA là một nhóm các bệnh rối loạn bẩm sinh di truyền gen lặn với đặc trưng là sự rối loạn tổng hợp sắc tố melanin. Bệnh gây ra do đột biến các gen có vai trò trong quá trình tổng hợp melanin với đặc trưng lâm sàng là sự mất một phần hoặc hoàn toàn sắc tố của da, tóc và luôn đi kèm với các bất thường về mắt như: rung giật nhãn cầu, giảm thị lực, giảm sắc tố võng mạc... [1]. Tỷ lệ mắc OCA thay đổi giữa các dân tộc và quần thể, trên toàn thế giới tỷ lệ mắc là 1/17.000 [2]. Ở một số vùng quần thể người châu Phi, tỷ lệ này có thể lên tới 1/1.500 [3, 4].

OCA hiện nay được phân loại thành 7 tuýp khác nhau gồm: *OCA1A*, *OCA1B* (do đột biến gen *TYR*), *OCA2* (do đột biến gen *OCA2*), *OCA3* (do đột biến gen *TYRP1*), *OCA4* (do đột biến gen *SLC45A2*), *OCA6* (do đột biến gen *SLC24A5*) và *OCA7* liên quan đến các đột biến trên gen *LRMDA* [5]. Mỗi tuýp có đặc điểm đặc trưng lâm sàng khác nhau, trong đó *OCA2* (OMIM 203200) được xếp hạng là tuýp bạch tạng phổ biến thứ hai trên thế giới [6, 7] và chiếm gần 30% các trường hợp OCA [8]. Những người mắc *OCA2*

thường có nhiều sắc tố hơn những người mắc các tuýp OCA khác (làn da trắng nhưng không nhợt nhạt như mắc OCA tuýp 1, màu tóc từ vàng nhạt đến vàng hoặc thậm chí là nâu) và thị lực tốt hơn.

OCA2 gây ra bởi các đột biến trong gen *OCA2* (còn gọi là gen *P*) nằm trên nhiễm sắc thể 15 (15q11.2-15q12), dài khoảng 345 kb. Gen *OCA2* bao gồm 24 exon mã hóa một loại protein gồm 838 acid amin (protein P) có 12 miền xuyên màng. Protein này đóng một vai trò quan trọng trong quá trình hình thành tế bào hắc tố melanosome và kiểm soát hàm lượng sắc tố eumelanin trong tế bào hắc tố thông qua quá trình xử lý, vận chuyển tyrosinase. Hiện nay, chưa có phương pháp nào để chữa bệnh triệt để. Người mắc bệnh chỉ có thể sử dụng các biện pháp bảo vệ nhằm giảm những nguy cơ biến chứng và tổn hại do ánh nắng mặt trời gây ra.

Với sự tiến bộ của khoa học hiện nay, phương pháp chẩn đoán di truyền trước chuyển phôi được biết đến là phương pháp dự phòng bệnh hiệu quả nhất, bởi có thể chọn được phôi lành ngay từ trước khi cấy phôi vào tử cung của người mẹ. Điều này sẽ đem lại ý nghĩa rất lớn đối với những

*Tác giả liên hệ: Email: trieusangk83@yahoo.com.vn, nhungnguyen283@gmail.com

A novel mutation on *OCA2* gene detection and preimplantation genetic diagnosis for oculocutaneous albinism type 2 (OCA2)

Tien Sang Trieu^{1*}, Van Khoa Tran¹, Van Phong Nguyen¹, Trong Tuan Le², Van Hai Le³, Thi Nhung Nguyen^{4*}

¹160 Phung Hung Street, Phuc La Ward, Ha Dong District, Hanoi, Vietnam

²496 Bach Mai, Truong Dinh Ward, Hai Ba Trung District, Hanoi, Vietnam

³722 Quang Trung 3 Street, Dong Ve Ward, Thanh Hoa City, Thanh Hoa Province, Vietnam

⁴334 Nguyen Trai, Thanh Xuan Trung Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

Received 7 November 2022; revised 28 November 2022; accepted 1 December 2022

Abstract:

Oculocutaneous albinism (OCA) is a group of recessive genetic congenital disorders characterised by a disorder of melanin synthesis. OCA is currently classified into seven different types, of which OCA type 2 (OCA2 - OMIM 203200) ranks as the second most common type of albinism in the world and accounts for nearly 30% of albinism cases. Nowadays, there is currently no known way to treat OCA. Preimplantation genetic diagnosis (PGD) is the most effective method of disease prevention, which helps families carrying gene mutations to have healthy children. Objectives: To develop a procedure and conduct PGD for embryos of a family carrying the *OCA2* mutation causing OCA2. Materials and methods: Research subjects are blood samples of four members of an OCA family, including father, mother, and two daughters; and 6 embryo biopsies on day 5 of this parents. Next-generation sequencing (NGS) was carried out on family members participating in the study. Based on the identified mutation results, primers for PCR amplification of the segments spanning the detected mutation were designed. Then, Sanger sequencing method is combined with linkage genetic analysis to detect pathogenic mutations on embryo biopsies after whole-genome amplification (WGA). Results: A novel mutation NM_000275.3:c.2323G>A (NP_000266.2:p.Gly775Ser) was detected on exon 22 of the *OCA2* gene. The outcomes of PGD for 6 embryos of a family carrying the *OCA2* mutant gene causing OCA2 were 3 affected embryos, 2 normal embryos, and 1 carriers.

Keywords: *OCA2* gene, oculocutaneous albinism, preimplantation genetic diagnosis.

Classification number: 3.1

gia đình mang gen gây bệnh đột biến như *OCA2*. Do vậy, nghiên cứu này được thực hiện trên một gia đình mang gen đột biến *OCA2* gây OCA tại Việt Nam, có nguyện vọng sinh con khoẻ mạnh, không mang gen bệnh. Mục tiêu của nghiên cứu là thiết kế quy trình ứng dụng các kỹ thuật sinh học phân tử và tiến hành chẩn đoán trước chuyển phôi đột biến gen *OCA2* gây OCA2.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu là mẫu máu của một gia đình 4 thành viên gồm: bố I-1 (40 tuổi - kiểu hình bình thường, không có triệu chứng của OCA), mẹ I-2 (31 tuổi - kiểu hình bình thường, không có triệu chứng của OCA) và 2 người con gái, trong đó người con gái II-1 (7 tuổi) đã được chẩn đoán mắc OCA, người con gái II-2 (2 tuổi - kiểu hình bình thường, không có triệu chứng của OCA); 6 mẫu sinh thiết phôi ngày 5 (L1-L6) của cặp vợ chồng này sau khi làm thụ tinh trong ống nghiệm (IVF).

Nghiên cứu đã được phê duyệt bởi Hội đồng xét duyệt đạo đức Học viện Quân y (Số 1068/2019/VMMU-IRB) cùng sự đồng ý tham gia của tất cả các đối tượng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Mẫu ADN của cả gia đình đã được đem giải trình tự NGS khảo sát đột biến của nhóm gen gây OCA và xác định được I-1 mang đột biến *OCA2* c.2323G>A (p.Gly775Ser) - một đột biến mới, chưa từng được công bố; I-2 và II-2 mang đột biến *OCA2* c.2344G>A (p.Gly782Arg) - đột biến nghi ngờ gây bệnh (theo dữ liệu ngân hàng đột biến gen ClinVar-NCBI) và II-1 mang cả 2 đột biến trên. Tuy nhiên, biến thể *OCA2* c.2323 G>A nằm trong vùng gen tín hiệu kém, cần kiểm chứng bằng giải trình tự Sanger. Do đó, nhóm nghiên cứu đã tiến hành thiết kế mồi cho phản ứng khuếch đại đoạn gen chứa 2 đột biến trên và giải trình tự Sanger nhằm kiểm tra lại đột biến mới và chẩn đoán di truyền tiền lâm cho các mẫu phôi đã sinh thiết ngày 5 và đem nhân toàn bộ hệ gen của gia đình. Phân tích di truyền liên kết được thực hiện nhằm kiểm tra lại kết quả chẩn đoán và hiện tượng mất alen (Allele drop-out - ADO) của các mẫu phôi sau WGA.

Kỹ thuật tách chiết và bảo quản ADN từ mẫu máu ngoại vi: Các mẫu máu lấy từ các đối tượng được chống đông bằng EDTA trước khi tiến hành tách chiết ADN bằng bộ kit QIAamp DNA Blood mini-Kit (Đức). Quy trình tách chiết được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Độ tinh sạch và nồng độ ADN sau tách chiết được xác định bằng máy SpectraMax QuickDrop. ADN được pha loãng với nước deion để đạt nồng độ khoảng 20 ng/μl, độ tinh sạch A260/280 là 1,8-2,2, sau đó được bảo quản ở -20°C trước khi tiến hành chạy PCR và giải trình tự gen Sanger.

Kỹ thuật sinh thiết phôi: 6 phôi (L1-L6) của cặp vợ chồng được nuôi cấy đến ngày thứ 5 và tiến hành sinh

thiết ở giai đoạn phôi nang (ngày thứ 5-6 sau thụ tinh). Mỗi phôi sinh thiết 3-5 tế bào, đem rửa với dung dịch PBS 1X và 1% PVP trước khi đựng trong các ống PCR 0,2 ml và bảo quản ở -20°C.

Kỹ thuật nhân bản toàn bộ hệ gene (Whole genome amplification - WGA): ADN tách chiết từ các phôi đã sinh thiết được khuếch đại bằng bộ kit REPLI-g® Single Cell Kit (Lot.No. 166013027). Nồng độ và độ tinh sạch được đo bằng máy SpectraMax QuickDrop để đảm bảo ADN phôi sau khuếch đại của các tế bào phôi đủ tiêu chuẩn sử dụng. Các mẫu ADN sau WGA đem bảo quản ở -20°C.

Phản ứng PCR khuếch đại đoạn gen chứa đột biến: Sử dụng phần mềm Primer-BLAST, nhóm nghiên cứu đã thiết kế được 2 cặp mồi để khuếch đại đoạn gen chứa đột biến *OCA2* c.2344G>A và *OCA2* c.2323G>A.

Cặp mồi *OCA2.1* khuếch đại đoạn gen chứa đột biến *OCA2* c.2344G>A như sau:

F: 5'-CACCACAGTCTCTCTACTTGCTAAAAA-3'

R: 5'-GAACAGAAGCTTACCACCAAGATGA-3'

Cặp mồi *OCA2.2* khuếch đại đoạn gen chứa đột biến *OCA2* c.2323G>A như sau:

F: 5'-ACTAACTGTTGCTTTGGGCTGA-3'

R: 5'-TGGATTTTCTAAATTGGTCACAGTATG-3'

Với nhiệt độ nóng chảy của các mồi trong khoảng 60,42-62,29°C, cặp mồi *OCA2.1* và *OCA2.2* khuếch đại cho toàn bộ exon 22 và exon 23 với kích thước lần lượt là 248 và 274 bp.

Mỗi ống phản ứng PCR để khuếch đại đoạn gen đột biến riêng có thể tích 12,5 µl, trong đó chứa 6,25 µl GoTaq Green Mastermix 2X, 2,75 µl nước, 0,5 µl mỗi mồi xuôi và ngược, 2,5 µl AND template. Dựa vào nhiệt độ nóng chảy của các cặp mồi, phản ứng PCR được thực hiện với dải gradient nhiệt độ gắn mồi là 52-62°C. Dựa vào kết quả phản ứng này, nghiên cứu lựa chọn được 59°C làm nhiệt độ gắn mồi tối ưu nhất. Chu trình nhiệt khuếch đại gen đột biến như sau: 95°C - 5 phút, 35 chu kỳ gồm 94°C - 30 giây, 59°C - 30 giây, 72°C - 45 giây và 72°C - 10 phút. Sau khi chạy phản ứng PCR, sản phẩm khuếch đại được điện di trên gel agarose 2% kiểm tra, trước khi tiến hành giải trình tự Sanger.

Giải trình tự Sanger: Sản phẩm PCR sau khi được kiểm tra bằng điện di sẽ được giải trình tự trên máy SeqStudio bằng bộ kit BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Hãng Thermo Fisher Scientific) theo nguyên lý Sanger để tìm đột biến *OCA2* c.2323G>A và *OCA2* c.2344G>A trên exon 22 và exon 23. Trình tự nucleotide của mỗi đoạn gen được xác định bằng phần mềm Bioedit Sequence Alignment Editor.

Phân tích di truyền liên kết: Dựa trên vị trí của gen *OCA2*, nhóm nghiên cứu lựa chọn 2 chỉ thị STR (Short

tandem repeats) liên kết với gen là D15S661 (nằm trong gen *OCA2*) và D15S1019 (cách gen *OCA2* khoảng 1,3 Mbps về phía telomere). Sau đó, tiến hành thiết kế mồi khuếch đại các STR này bằng phần mềm Primer-BLAST.

Cặp mồi khuếch đại STR D15S661 như sau:

F: 5'-/FAM/-TCACATTCTGGACCACGCATACTAG-3'

R: 5'-GTATGCTCTGTGTCCTTGCATTTCT-3'

Cặp mồi khuếch đại STR D15S1019 như sau:

F: 5'-/FAM/-GTGATAGGTGACAGACAGCTAGATG-3'

R: 5'-TGGTGTGTTGGATTAGTTGGTTTC-3'

Mỗi ống phản ứng PCR để khuếch đại đoạn STR riêng có thể tích 12,5 µl, trong đó chứa 6,25 µl GoTaq Green Mastermix 2X, 2,75 µl nước, 0,5 µl mỗi mồi xuôi và ngược, 2,5 µl AND mẫu. Chu trình nhiệt khuếch đại STR như sau: 95°C - 5 phút, 35 chu kỳ gồm 94°C - 30 giây, 56°C - 30 giây, 72°C - 45 giây và 72°C - 10 phút.

Hỗn hợp 1,0 µl sản phẩm PCR, 13,5 µl Hi-di và 0,5 µl Genscane LIZ 500 được trộn và đem biến tính ở 95°C trong vòng 5 phút. Tiến hành điện di mao quản các mẫu trên máy SeqStudio Genetic Analyzer, sau đó dùng phần mềm GeneMapper ID 6.0 để phân tích.

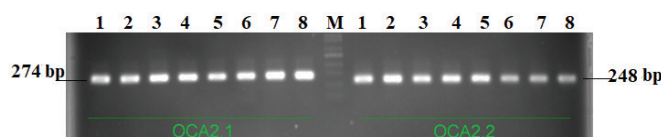
3. Kết quả và bàn luận

3.1. Phản ứng khuếch đại PCR đoạn gen mang đột biến

Quy trình phản ứng PCR khuếch đại đoạn gen đột biến đã được thực hiện 3 lần với thành phần phản ứng và chu trình nhiệt được mô tả như trên. Các kết quả thu được trong 3 lần là như nhau. Sau đó, sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 2%.

Kết quả kiểm tra sản phẩm PCR bằng điện di agarose 2% cho thấy nhóm nghiên cứu đã khuếch đại thành công các đoạn gen có kích thước như đã thiết kế (274 và 248 bp cho *OCA2.1* và *OCA2.2*) trên cả mẫu của các thành viên trên gia đình cũng như mẫu phôi.

Hình ảnh băng điện di các mẫu không có sản phẩm phụ, băng sáng, gọn và rõ nét (hình 1). Sản phẩm sau PCR này sẽ được tinh sạch bằng EXO-SAP IT và giải trình tự theo nguyên lý Sanger để phát hiện đột biến trên exon 22 và exon 23 của gen *OCA2*.

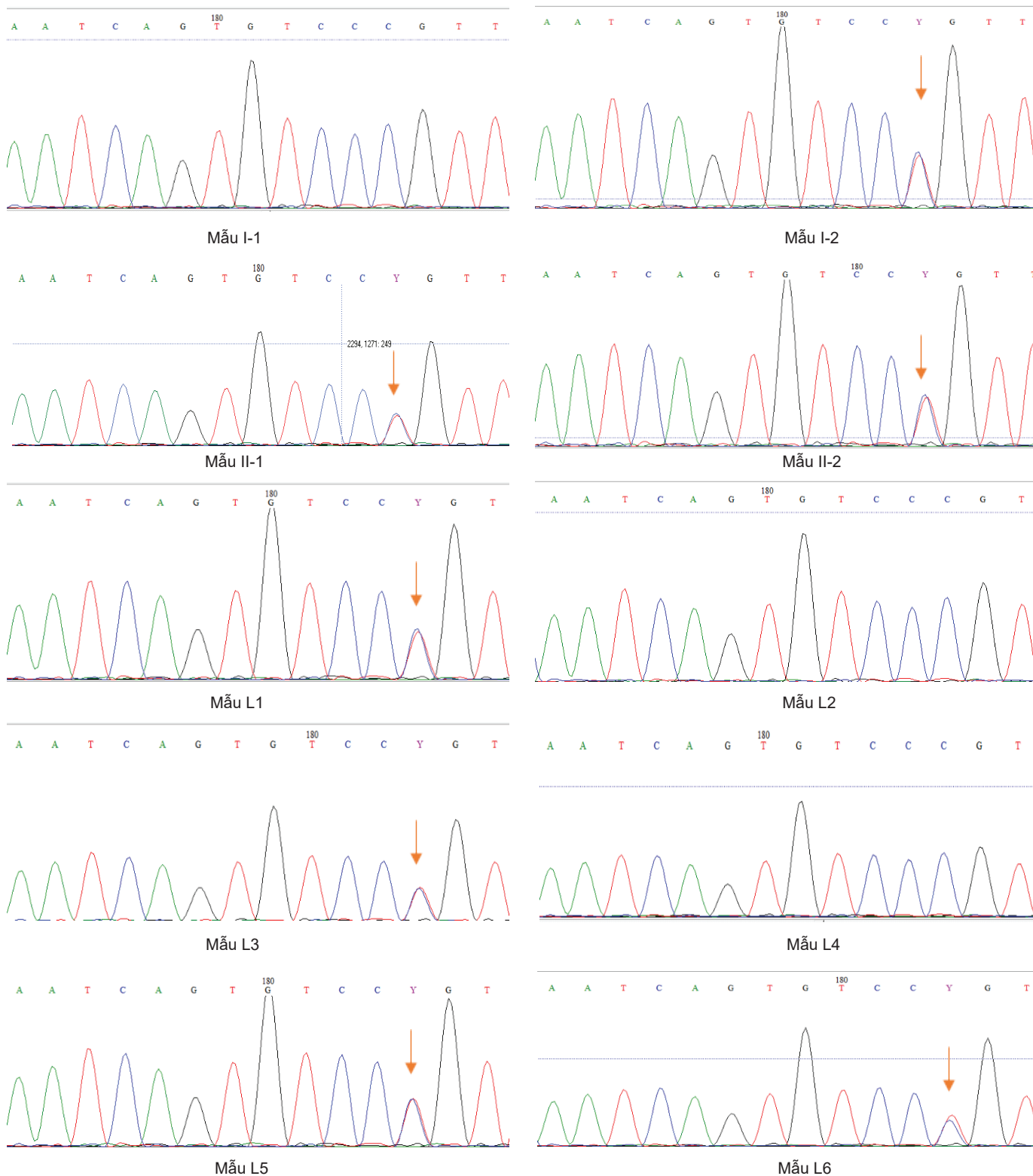


Hình 1. Kết quả khuếch đại đoạn gen chứa đột biến *OCA2.1* và *OCA2.2*. Giếng 1: mẫu 1-1; giếng 2: mẫu 1-2; giếng 3-8: mẫu L1-L6; M: marker 100 bp.

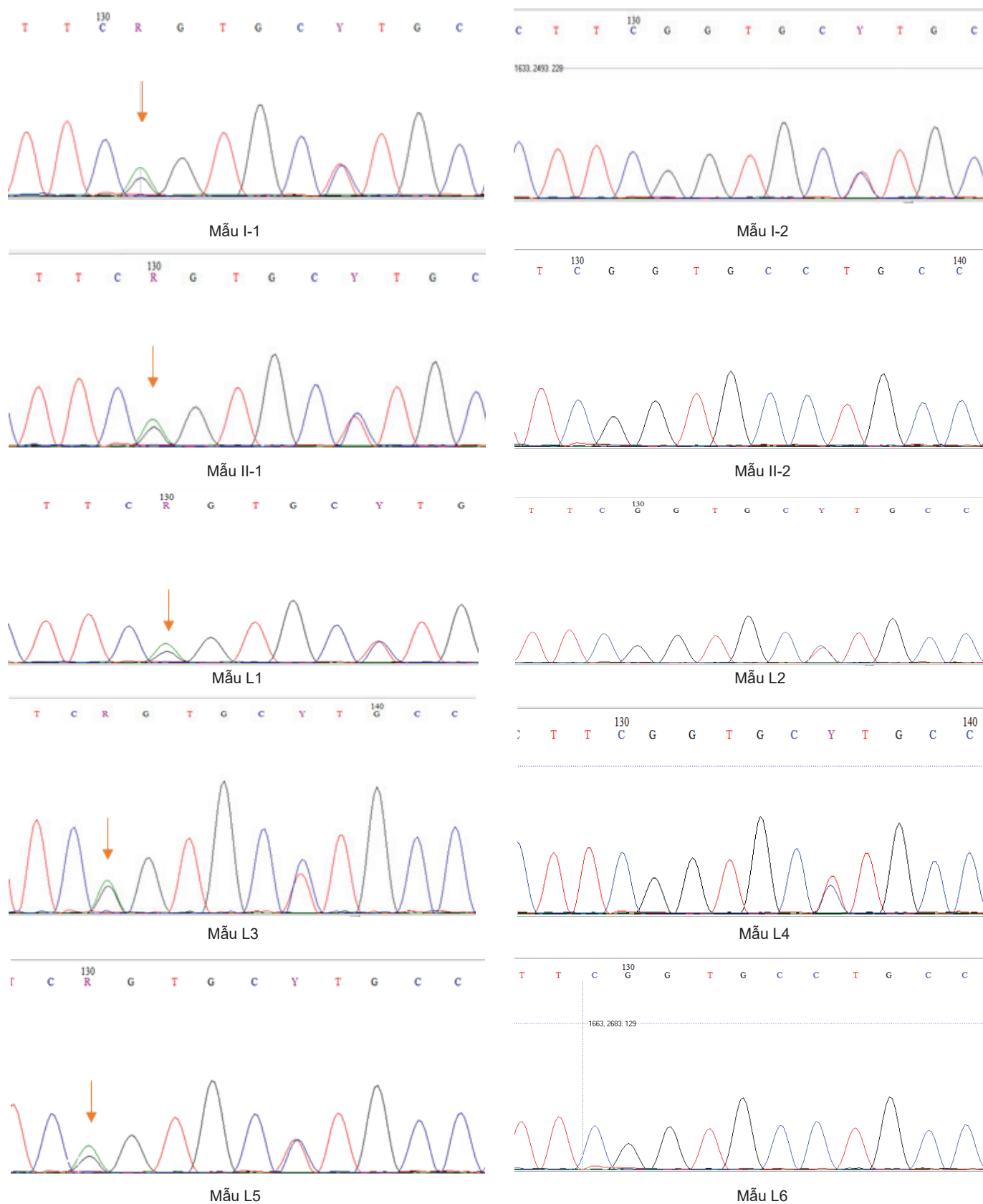
3.2. Kết quả giải trình tự Sanger

Thông qua giải trình tự Sanger (hình 2 và 3), nhóm nghiên cứu kết luận: Các mẫu chỉ mang đột biến *OCA2* c.2344G>A gồm:

I-2, II-2 và L6. Các mẫu chỉ mang đột biến *OCA2* c.2323G>A là I-1; mẫu II-1, L1, L3 và L5 mang cả 2 đột biến trên; chỉ có mẫu L2 và L4 là bình thường, không mang gen đột biến nào.



Hình 2. Kết quả giải trình tự Sanger xác định đột biến OCA2 c.2344G>A.



Hình 3. Kết quả giải trình tự Sanger xác định đột biến OCA2 c.2323G>A.

Các đối tượng nghiên cứu được kết luận là bị bệnh khi mang cả hai đột biến (trạng thái dị hợp tử phức); người mang gen đột biến khi mang một trong hai đột biến trên và người bình thường khi chỉ mang alen WT, không mang alen đột biến (bảng 1).

Bảng 1. Kết quả chẩn đoán đột biến bằng giải trình tự Sanger.

Mẫu	c.2323G>A	c.2344G>A	Kết luận
I-1	c.2323G>A/WT	WT/WT	Mang gen đột biến
I-2	WT/WT	c.2344G>A/WT	Mang gen đột biến
II-1	c.2323G>A/WT	c.2344G>A/WT	Bệnh
II-2	WT/WT	c.2344G>A/WT	Mang gen đột biến
L1	c.2323G>A/WT	c.2344G>A/WT	Bệnh
L2	WT/WT	WT/WT	Bình thường
L3	c.2323G>A/WT	c.2344G>A/WT	Bệnh
L4	WT/WT	WT/WT	Bình thường
L5	c.2323G>A/WT	c.2344G>A/WT	Bệnh
L6	WT/WT	c.2344G>A/WT	Mang gen đột biến

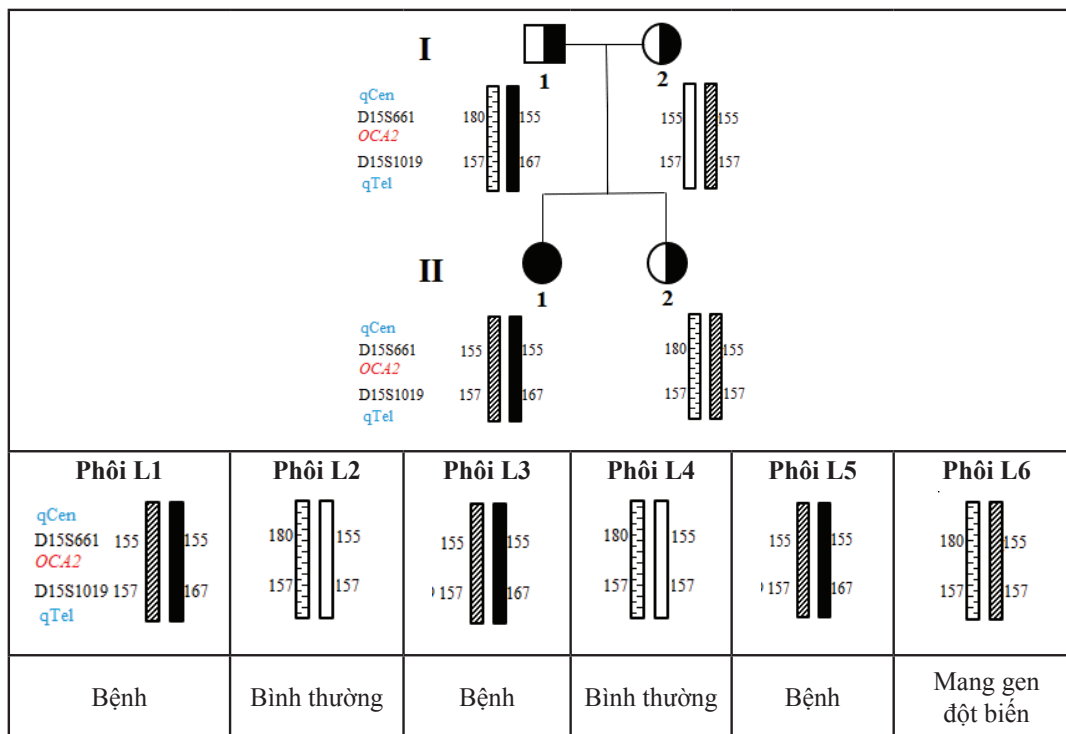
3.3. Kết quả phân tích di truyền liên kết

Nhằm kiểm tra lại kết quả chẩn đoán một lần nữa và hiện tượng ADO có xảy ra trên các mẫu phôi sau WGA không, nhóm nghiên cứu đã thiết kế và sử dụng thêm 2 chỉ thị STR liên kết gen *OCA2* là D15S661 và D15S1019. Kích thước các sản phẩm khuếch đại của chỉ thị này mang tính đặc trưng cao do số lần lặp trình tự khác nhau ở từng cá thể, nhờ đó dễ dàng tìm được các alen liên kết với gen đột biến (hình 4).

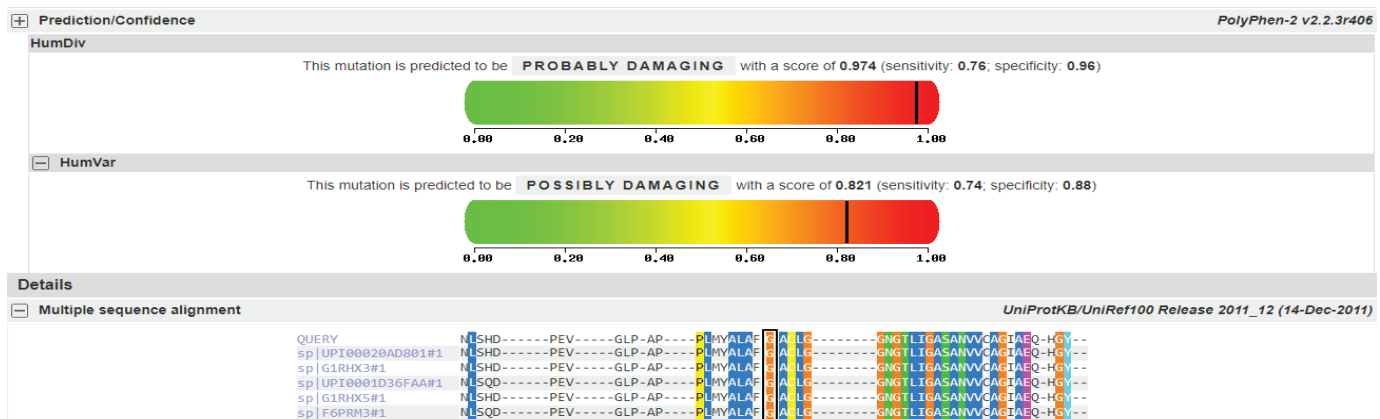
Qua kết quả điện di mao quản, nhóm nghiên cứu phân tích trên trường hợp bệnh nhân II-1 để suy luận ra các alen liên kết với đột biến gây bệnh. Nhận thấy, với locus D15S661, II-1 mang 2 alen có kích thước 155 bp, như vậy người bố I-1 mang 1 alen bệnh có kích thước 155 bp và người mẹ I-2 mang 1 alen bệnh có kích thước 155 bp. Tương tự, với locus D15S1019, người con II-1 mang 2 alen có kích thước 157 và 167 bp, do đó người bố I-1 sẽ mang 1 alen bệnh có kích thước 167 bp và người mẹ I-2 mang 1 alen bệnh có kích thước 157 bp. Căn cứ vào những dữ kiện này và kết quả giải trình tự Sanger đã nêu, nhóm nghiên cứu đã xác định được kết quả trên (hình 4). Trên mỗi phôi đều có hiện tượng dị hợp tử xảy ra trên ít nhất 1 locus STR, do vậy trên các phôi không xảy ra hiện tượng ADO. Ngoài ra, kết quả này cũng trùng khớp với kết quả giải trình tự Sanger mà nhóm nghiên cứu đã thực hiện. Như vậy, kết quả sàng lọc theo phương pháp mà nhóm nghiên cứu đã thiết kế là đáng tin cậy. Phôi L2 và L4 là bình thường, không mang gen bệnh và có thể sử dụng để tiến hành chuyển phôi.

3.4. Phát hiện đột biến mới trên gen *OCA2*

Theo kết quả nghiên cứu đột biến gen *OCA2* bằng kỹ thuật PCR và giải trình tự gen theo nguyên lý Sanger, bố I-1 là người mang đột biến NM_000275.3:c.2323G>A (NP_000266.2: p.Gly775Ser) thuộc exon 22 của gen *OCA2*. Đây là đột biến sai nghĩa, dẫn đến sự thay thế amino acid thứ 775 từ Glycine thành Serine (p.Gly775Ser).



Hình 4. Kết quả phân tích di truyền liên kết gen *OCA2*.



Hình 5. Dữ liệu phân tích khả năng gây OCA của đột biến *OCA2* c.2323G>A sử dụng phần mềm PolyPhen-2.

Phần mềm PolyPhen-2 đã được sử dụng để đánh giá ảnh hưởng của đột biến này tới cấu trúc và chức năng của protein *OCA2*. Kết quả cho thấy, cấu trúc và chức năng protein *OCA2* bị ảnh hưởng cao với điểm tin cậy HumDiv và HumVar đạt giá trị lần lượt là 0,974 và 0,821 (hình 5). Công cụ phân tích đột biến Mutation Taster cũng cho kết quả dự đoán đột biến *OCA2* c.2323G>A là nguyên nhân gây bệnh.

Đối chiếu kết quả đột biến này với các ngân hàng đột biến gen quốc tế như Human Gene Mutation Database (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/>), ClinVar-NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) thì *OCA2* c.2323G>A là một đột biến mới, chưa từng được công bố. Như vậy, một đột biến điểm mới trên gen *OCA2* đã được phát hiện nhờ ứng dụng quy trình kết hợp giữa phương pháp PCR truyền thống và giải trình tự NGS, Sanger mà nhóm nghiên cứu thiết kế.

Nhìn chung, việc kết hợp sử dụng phương pháp giải trình tự NGS và Sanger giúp xác định đột biến chính xác và dễ dàng hơn, đồng thời tiết kiệm về thời gian lẫn chi phí thực hiện. Việc chẩn đoán trước chuyển phôi nhờ đó có thể giảm thiểu chi phí, giúp ngày càng có nhiều gia đình tiếp cận được với phương pháp này. Từ quy trình phát hiện đột biến *OCA2* này, nhóm nghiên cứu đã đưa ra cách thức tương tự có thể áp dụng cho các đột biến điểm khác trên gen *OCA2* và với các bệnh di truyền đơn gen khác nói chung.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã phát hiện 1 đột biến mới là NM_000275.3: c.2323G>A (NP_000266.2: p.Gly775Ser) trên exon 22 của gen *OCA2* (đột biến chưa từng được công bố trên ngân hàng cơ sở dữ liệu về đột biến gen *OCA2*) và tiến hành chẩn đoán trước chuyển phôi thành công cho 6 phôi của một gia đình mang gen đột biến *OCA2* gây OCA2. Kết quả có 3 phôi bệnh, 2 phôi bình thường và 1 phôi mang gen bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] F.K. Deilamani, M.T. Akbari, M. Karimipoor, et al. (2015), "Sequence analysis of tyrosinase gene in ocular and oculocutaneous albinism patients: Introducing three novel mutations", *Molecular Vision*, **21**, pp.730-735.
- [2] K. Gronskov, J. Ek, K.B. Nielsen (2007), "Oculocutaneous albinism", *Orphanet Journal of Rare Diseases*, **2**, DOI: 10.1186/17501172-2-43.
- [3] C.J. Witkop, J.D. Niswander, D.R. Bergsma, et al. (1972), "Tyrosinase positive oculocutaneous albinism among the Zuni and the Brandywine triracial isolate: Biochemical and clinical characteristics and fertility", *American Journal of Physical Anthropology*, **36(3)**, pp.397-405, DOI: 10.1002/ajpa.1330360311.
- [4] J.G. Kromberg, T. Jenkins (1982), "Prevalence of albinism in the South African negro", *South African Medical Journal*, **61(11)**, pp.383-386.
- [5] H. Gul, M.Z. Ali, E. Khan, et al. (2017), "Ophthalmogenetic analysis of Pakistani patients with nonsyndromic oculocutaneous albinism through whole exome sequencing", *J. Pak. Med. Assoc.*, **67(5)**, pp.790-792.
- [6] Z. Zhong, L. Gu, X. Zheng, et al. (2019), "Comprehensive analysis of spectral distribution of a large cohort of Chinese patients with non-syndromic oculocutaneous albinism facilitates genetic diagnosis", *Pigment Cell & Melanoma Research*, **32(5)**, pp.672-686, DOI: 10.1111/pcmr.12790.
- [7] E. Lasseaux, C. Plaisant, V. Michaud, et al. (2018), "Molecular characterization of a series of 990 index patients with albinism", *Pigment Cell and Melanoma Research*, **31(4)**, pp.466-474, DOI: 10.1111/pcmr.12688.
- [8] C. Rooryck, P.F. Morice, E. Lasseaux, et al. (2011), "High resolution mapping of *OCA2* intragenic rearrangements and identification of a founder effect associated with a deletion in Polish albino patients", *Human Genetics*, **129(2)**, pp.199-208.